

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie Appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Etude de l'effet de la conservation et de la cuisson sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante d'un légume : *Phaseolus vulgaris*

Présenté par :

M^{elle} Boulila Mounira & M^{elle} Chalal Nora

Soutenu le : 17 Juin 2017

Devant le jury composé de :

Mr Ouchemoukh S.	MCA	Président
Mr Tacherfiout M.	MAA	Encadreur
Mr Basli A.	MCA	Examineur

Année universitaire : 2016 / 2017

Dédicace

Avec l'aide de Dieu le tout puisent, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie :

A mon père, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A la meilleure femme au monde, la lumière des mes yeux, maman.

Pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité, tout le vocabulaire français ne me suffirait jamais pour te décrire avec justesse.

A mon très cher mari Djafer, en signe d'amour et de gratitude pour m'avoir supporté, soutenu et surtout compris en permanence, pour ces sacrifices, ces encouragements, sa fidélité et sa gentillesse.

A la joie et la lumière de ma vie que Dieu te protège mon Bébé.

A mes très chers frères, Samir, Zahir et Favez.

À mes très chers sœurs, Nadia et Warda ainsi que sa petite famille et ma perle Lilia.

A ma belle mère, pour son soutien, son encouragement, que Dieu vous protège maman.

A mes beaux frères, Moulod et Moufak, ma belle sœur Zakia et leur mari et enfant Anis et Lina.

A ma très chère Khalti Saliha ainsi que ma très chère amie et sœur Wiza merci pour tous que vous avez faits pour moi.

A toute la famille Boulila et Hammadi.

A mes amis, en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble, particulièrement Fouzia et Mariem.

A mon très cher binôme Nora ainsi que sa famille.

A tous ceux qui m'aiment.

Mounira

Dédicace

Avec l'aide de Dieu le tout puisent, j'ai pu achever ce modeste travail C'est avec un très grande honneur que je le dédie :

A la mémoire de ma très chère mère qui aurai tant aimé assister à cet exploit, en témoignage d'un profond amour et d'une grande reconnaissance pour tous les sacrifices qu'elle a consentis pour mon bonheur. Maman, vous étiez l'être le plus chère à mon cœur. Aujourd'hui plus que jamais, j'apprécie la valeur de tes efforts, la justesse de ton éducation et le caractère précieux de tes conseils. Maman tu resteras pour moi un exemple, mieux je dirai que tout enfant souhaitera de t'avoir comme mère. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime et l'amour que je porte pour vous. Que Dieux t'accueille dans son vaste paradis.

A mon père, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien, l'amour que vous me portez et l'encouragement durant toutes mes études et mes recherches. Pour toi je prie Dieu de te garder en bon santé.

A ma chère belle mère et 2^{ème} mère, merci pour tes conciles, ton aide et ton soutien qui m'ont donné confiance. Un profond amour pour tous les sacrifices que tu as consentis pour mon bonheur.

A mes très chers frères, Rahim, Achour et Nassim ainsi que sa femme Lamia

A mes très chères sœurs, Sabrina, Melissa et particulièrement Kahina qui a toujours pris soin de moi avec ses conciles et son amour.

A toute la famille Chalal

A mon très cher binôme Mounira ainsi que sa famille.

A tous mes chers amis, spécialement Chafiaa, Ouassima, Karima, Fouzia et Meriem, Pour leurs amitiés et soutiens.

A tous mes profs, dès la première année primaire jusqu'à aujourd'hui.

A toi, Celui qui est en train de lire mes dédicaces.

Nora

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la santé, la volonté, la patience et nous a guidé à réaliser ce modeste travail.

Nos plus vifs remerciements s'adressent en premier lieu à notre promoteur Monsieur TACHERFIOUT Mustapha pour avoir accepté de nous encadrer. On vous remercie pour tous vos conseils et directives. On remercie également Monsieur BOUKHALFA F. Qui nous a beaucoup aidé durant la réalisation de ce travail.

Nos remerciements vont également à Mr Basli pour avoir accepté de présider le jury et d'évaluer ce travail.

Nos tenons aussi à remercier Mr Ouchemoukh pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions très sincèrement M^{me} MIZAHM TASAADIT pour son aide et ses conseils.

Nous voudrions simplement exprimer nos remerciements à toutes les personnes travaillant au Laboratoire d'enzymologie, en particulier M^{elle} Mammasse H.

Nous adressent également nos remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Liste des annexes

Sommaire

Introduction.....01

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I- Haricot vert.....02

I-1-Origin et répartition géographique.....02

I-2-Description morphologique d'haricot vert.....03

I-3-Description botanique (systématique) et noms vernaculaires.....03

I-4-Composition et valeur nutritive de l'haricot vert.....04

I-5-Importance économique et production actuelle.....04

I-6- Aspect thérapeutique de l'haricot vert.....05

II-Composés phénoliques.....05

II-1-Généralités.....05

II- 2- Biosynthèse des polyphénols.....05

II-2-1 Voie de l'acide shikimique.....06

II-2-1-Voie de l'acide malonique.....06

II-3-Classification des polyphénols.....06

II-4-Rôle et intérêt des composés phénoliques.....08

II-4-1-Chez les végétaux.....	08
II-4-2-Chez l'homme.....	08
III-Stress oxydant.....	09
III-1-Radicaux libres.....	09
III-1-1- Définition.....	09
1-2- Nature des radicaux libres.....	09
III-1-2-1-Espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	09
III-1-2-1-1-Radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)	10
III-1-2-1-2- Radical hydroxyle (OH^{\bullet})	10
III-1-2-1-3-Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).....	10
III-1-2-1-L'oxygène singulet (1O_2)	10
III-1-2-2-Espèce réactive de l'azote (RNS).....	10
III-1-3- Rôle des radicaux libre.....	11
III-2- Antioxydants.....	11
III-2-1- Antioxydants enzymatiques.....	11
III-2-1-1-Superoxyde dismutase (SOD)	11
III-2-1-2-Catalases	12
III-2-1-3-Glutathion peroxydases (GPx)	12
III-2-1-4-Système thiorédoxine	12
III-2-2-1-Antioxydants non enzymatiques exogènes	13
III-2-2-1-1-Vitamine C.....	13
III-2-2-1-2-Vitamine E :	13
III-2-2-1-3-Polyphénol.....	13
III-2-2-1-4-Oligoéléments.....	13

III-2-2-2-Antioxydants non enzymatique endogène	14
III-2-2-2-1- Bilirubine.....	14
III-2-2-2-2-Acide urique.....	14
III-2-2-2-3-Le glutathion.....	14

Chapitre II : Matériel et méthodes

II-1-Matériel végétal.....	15
II-2- Traitement des échantillons	15
II-3- Caractérisation physique de l'haricot vert	15
II-4-Détermination des paramètres physico-chimiques des différents échantillons	16
II-4-1-Détermination de la teneur en eau.....	16
II-4-2-Détermination de potentiel d'hydrogène (pH).....	16
II-4-3-Détermination du degré de brunissement non enzymatique (BNE).....	17
II-4-4-Détermination de l'acidité titrable.....	17
II-4-5-Détermination de la teneur en cendres	17
II-5-Extraction des antioxydants	18
II-6-Dosage des antioxydants.....	18
II-6-1-Dosage des polyphénols totaux.....	18
II-6-2-Dosage des flavonoïdes.....	18
II-6-3- Dosage des anthocyanines.....	19
II-6-3-Dosage des flavonols.....	19
II-7-Évaluation du pouvoir antioxydant et antiradicalaire	20

II-7-1-Pouvoir réducteur.....	20
II-7-1-1-Réduction de chlorure ferrique.....	20
II-7-1-2- Réduction du phosphomolybdate (activité antioxydant totale).....	21
II-7-2-Pouvoir antiradicalaire.....	22
II-7-2-1-Pouvoir antiradical DPPH [•]	22
II-7-2-2- Pouvoir antiradical ABTS ^{•+}	23
II-8-Analyse statistique.....	24

Chapitre III : Résultat et discussion

III-1-Caractéristiques physiques.....	25
III-2-Détermination des paramètres physico-chimiques.....	25
III-2-1-Test d'humidité.....	25
III-2-2- pH.....	26
III-2-3- Brunissement non enzymatique.....	26
III-2-4-Acidité titrable.....	26
III-2-5-Cendres.....	27
III-3-Dosage des antioxydants.....	27
III-3-1-Polyphénols totaux.....	27
III-3-2-Flavonoïdes.....	29
III-3-3-Anthocyanine.....	30
III-3-4-Flavonols.....	31
III-4-Évaluation du pouvoir antioxydants et antiradicalaire.....	32
III-4-1-Réduction du chlorure ferrique.....	32

III-4-2-Réduction de phosphomolybdate.....	34
III-4-3-Pouvoir antiradical DPPH [•]	35
III-4-4-Pouvoir antiradical ABTS ^{•+}	37
Conclusion et perspectives.....	40

Bibliographie

Annexe

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	systematique de <i>phaseolus vulgaris L.</i>	03
II	La composition chimique de l'haricot vert	04
III	Structure des squelettes des polyphénols	07
IV	Caractéristiques physiques d'haricot vert	25
V	Paramètres physico-chimiques d'haricot vert	25
VI	Les valeurs des IC50 des différents extraits la réduction de chlorure ferrique	33
VII	Les valeurs des IC50 des différents extraits la réduction de phosphomolybdate	35
VIII	Les valeurs des IC50 des différents extraits pour le pouvoir antiradical du DPPH [•]	37
IX	Les valeurs des IC50 des différents extraits le pouvoir antiradical ABTS ^{•+}	38

Liste des annexes

N°	Titre
I	Courbes d'étalonnages utilisées pour le dosage des antioxydants
III	Corrélation entre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] et la teneur en antioxydants dosées.
IV	Produit et appareillage

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Fleur et Fruit d'haricot vert	03
02	Schéma des défenses antioxydants	12
03	Haricot vert (<i>phaseolus vulgarise L.</i>) (originale)	15
04	Réaction de réduction de DPPH [•]	22
05	Piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H [•]	23
06	La teneur en polyphénols totaux des différents échantillons d'haricot vert	28
07	La teneur en flavonoïdes des différents échantillons d'haricot vert	29
08	La teneur en anthocyanine des différents échantillons d'haricot vert	31
09	La teneur en flavonols des différents échantillons d'haricot vert	32
10	Pourcentage de réduction du chlorure ferrique en fonction de la concentration des extraits des différents échantillons d'haricot vert	33
11	Pourcentage de réduction du phosphomolybdate en fonction de la concentration des extraits des différents échantillons d'haricot vert	34
12	Pourcentage d'inhibition du radicale DPPH [•] en fonction de la concentration des extraits des différents échantillons d'haricot vert	36
13	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS ^{•+} en fonction de la concentration des extraits des différents échantillons d'haricot vert	38

Liste d'abréviations

Abs : Absorbance

ABTS⁺ : 2, 2-azino-bis-3-acide d'ethylbenzothiazoline-6-sulfonic

AC : Acide citrique

ANOVA : analysis of one variance

BNE : Brunissement non enzymatique

Ca : Calcium

Cd : Cendre

DPPH' : 2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl

EAA : Équivalent d'acide ascorbique

EAG : Équivalent d'acide gallique

EQ : Équivalent quercétine

ERO : Espèce réactif d'hydrogène

Fe : Fer

FRAP : Ferric reducing-antioxidant power

GPx : Glutathion peroxydase

GR : Glutathion réductase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

I : Iode

IC50 : Concentrations inhibitrices à 50 %

K : Potassium

Na : Sodium

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

P : Phosphore

pH : Potential d'hydrogène

RNS : Reactive nitrogen species

SOD : Superoxyde dismutase

TrxR : Thiorédoxine réductase

UV : Ultraviolet

Zn : Zinc

Au cours de la dernière décennie, une réelle prise de conscience de l'importance d'une alimentation riche en fruits et légumes est apparue, en particulier dans le cadre de la prévention des maladies telles que les pathologies cardiovasculaires, l'obésité, le diabète, les maladies neurodégénératives et le cancer...etc. (**Lenoir, 2011**). Une consommation élevée de fruits et légumes est associée à la diminution du risque de ces maladies dans de nombreuses études épidémiologiques. Cette protection est due à la présence de différents antioxydants dans les parties comestibles, telles que les vitamines, les caroténoïdes, les fibres, les minéraux et les composés phénoliques (**Minussi et al., 2003 ; Turkmene et al., 2005**).

Les polyphénols sont des micronutriments particulièrement abondants dans les fruits, les céréales et les légumes (**Bravo, 1998**). Leurs intérêts résident dans leurs propriétés antioxydantes. Ils sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme, ou formés en réponse à des agressions de notre environnement. Ces radicaux interagissent avec toute une série de molécules biologiques importantes qui peuvent les oxyder (**Barkat et kadri, 2011 ; Mehinagic et al., 2011**).

L'haricot vert, *Phaseolus vulgaris* L., est une légumineuse alimentaire appartenant à la famille des Fabaceae, originaire d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud (**Gepts, 1990**), elle joue un rôle important dans l'alimentation humaine comme source des vitamines, des protéines, des fibres, des sels minéraux et dans la fixation biologique de l'azote (**Fortin, 1996**). Cette plante occupe une importance agroéconomique mondiale avec une production annuelle de 20,4 millions de tonnes en 2008 pour une superficie cultivée de 26,47 millions d'hectares (**Djeugap et al., 2014**).

Plusieurs études ont démontré que l'haricot est recommandé aux personnes souffrant de l'obésité et ayant des troubles du système nerveux, des rhumatismes, de gastro-entérite et en cataplasme (**Torres, 2004**).

L'objectif de cette présente étude est d'évaluer les effets de la conservation et de la cuisson à la vapeur de l'haricot vert sur ses paramètres physico-chimiques, ses teneurs en différentes classes de composés phénoliques et son pouvoir antioxydant. En effet, ce manuscrit est divisé en trois parties. La première est une synthèse bibliographique sur l'haricot vert, les composés phénoliques et le stress oxydant. La deuxième partie résume le matériel et les méthodes utilisés pour réaliser l'objectif cité précédemment. Enfin, la troisième partie est une description des résultats obtenus et un essai de leurs interprétations.

I- Haricot vert

I-1-Origine et répartition géographique

L'Haricot est un fruit d'une plante originaire d'Amérique centrale et d'Amérique de sud. Le mot « haricot » désigne à la fois le fruit, la graine et la plante qui les produit. Il est dérivé de « ayacolt », nom de ce légume en nahuatl, langue parlée par les aztèques (**Fortin, 1996**).

Le haricot, connu sous l'appellation scientifique *Phaseolus vulgaris L.* est une légumineuse largement cultivée et consommée dans le monde (**Kaplan, 1981**). Ce légume a été introduit en Europe au début du XVI^e siècle mais il restera pendant de nombreuses années consommé en grains. Au XVIII^e siècle, ce sont les Italiens qui commencèrent à manger les gousses des haricots, cueillies avant maturité, comme légume (**Baudouin et al., 2001**).

I -2-Description morphologique d'haricot vert

L'haricot vert est une plante herbacée annuelle à croissance déterminée ou indéterminée. Elle est généralement caractérisée par une racine pivotante mais qui forme après des racines secondaires longues de 10 à 15 cm se développe sur toute la racine principale (**Baudouin et al., 2001**). A l'issue de la germination, deux feuilles opposées simples puis des feuilles trifoliées à folioles se forment sur une tige angulaire. Une floraison de couleur blanche, rose ou violette. Il s'agit d'une floraison zygomorphe du type papilionacée possède 5 sépales soudés, 5 pétales, 10 étamines et un sac ovarien multiple. Dans la plupart des cas, la fleur réalise une autofécondation et développe un fruit ou gousse droite ou légèrement courbé. Les graines sont rondes, ellipsoïdes quelque peu aplaties ou arrondies (**Broughton, 2003**). (Figure 01)

Chez l'haricot, la durée de stades de développement varie considérablement. Les graines semées directement dans un sol bien drainé germent au bout de 5 à 7 jours et les plantes fleurissent entre 24 et 42 jours après le semis selon les conditions de l'environnement, le remplissage des graines et entre 23 à 50 jours et leurs dates de maturation entre 60 à 130 jours. La nodulation apparaît de 15 à 30 jours après le semis (**Adams et al., 1985**).

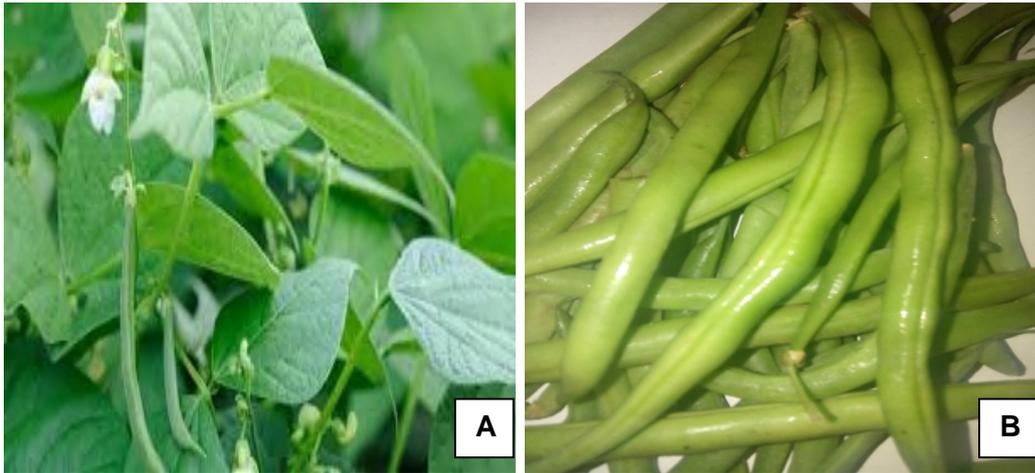


Figure 01 :(A) Fleur, (B) Fruit d'haricot vert (Photographie originale).

I-3-Description botanique (systématique) et noms vernaculaires

Le genre *Phaseolus* appartient à la famille des Fabaceae ou Papilionaceae renferme environ 50 espèces, cinq d'entre elles ont été domestiquées, et sont les plus importantes, à savoir, *P. acutifolius*, *P. coccineus*, *P. lunatus*, *P. polyanthus* et *P. vulgaris*. Cette dernière, communément nommée haricot vert fait partie de la chaîne trophique humaine (Gepts, 1990). *Phaseolus vulgaris* L. possède plusieurs noms vernaculaires : haricot vert, haricot mangetout (Torres, 2004). D'après Guignard (1998), la position systématique d'haricot vert est présentée dans le tableau I.

Tableau I : systématique de *phaseolus vulgaris* L.

Règne	Végétale
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Fabale
Famille	Fabacées
Sous famille	Papilionaceae
Genre	<i>Phaseolus</i>
Espèce	<i>Vulgaris</i>

I-4-Composition et valeur nutritive de l'haricot vert

Les haricots verts sont relativement riches en vitamines, en fibres, en sels minéraux, entre autre en iode, et en oligo-éléments (**Broughton et al., 2003**), qui sont présentés dans le tableau II.

Tableau II : La composition chimique de l'haricot vert (**Torres., 2004 ; Couplan., 1998**).

Composés	Minéraux (mg/100g)	Vitamines
Eau (90g/100g)	Iode, I (0.032mg/100g)	Vitamine A (170UI/100g)
Protides (8g/100g)	Zinc, Zn (0.1-0.2mg/100g)	Vitamine B ₁ (0.5-3mg/100g)
Lipides (0.5g/100g)	Calcium, Ca (37mg/100g)	Vitamine B ₂ (0.1mg/100g)
Glucides (21g/100g)	Phosphore, P (38mg/100g)	Vitamine B ₉ (61µg/100g)
Carotène (170UI/100g)	Fer, Fe (1mg/100g)	Vitamine C (2mg/100g)
Calories (120Kcal/100g)	Sodium, Na (6mg/100g)	Vitamine E (2.5mg/100g)
Fibers (0.07g/100g)	Potassium, K (208mg/100g)	Vitamine k (61,3 µg/100g)

I-5-Importance économique et production actuelle

Les haricots verts sont des légumes très consommés dans le monde et disponible toute l'année grâce aux procédés de conservation, principalement l'appertisation et la surgélation. La production totale de ce légume est de 23millions de tonnes pour une superficie cultivée de 26,47 millions d'hectares dont 30 % provient de l'Amérique, 10 à 25 % provient de l'Afrique et 40% de la chine (**Broughton et al., 2003**). Les petits exploitants africains cultivent chaque année plus de 4 millions d'hectares d'haricots dont les récoltes sont utilisées comme source d'alimentation pour plus de 100 millions d'africains (**Djeugap et al., 2014**).

Un aperçu de données de quatre ans de 2011 à 2014 indique que plus de 337 000 ha ont été consacrés à la production de 455 000 tonnes d'haricot vert annuellement (**Darkwa et al., 2016**).

I-6- Aspect thérapeutique de l'haricot vert

Plusieurs études ont démontré qu'une forte consommation d'haricots est inversement associé à certains types de cancers, tel que les cancers de la prostate, du sein et du côlon. Toutefois, les haricots contiennent des composés phénoliques, qui sont des puissants antioxydants responsables de la chélation des métaux (**Valdés et al., 2011**). On peut consommer des haricots pour les régimes amincissants, pour limiter et réguler le passage des sucres dans le sang en freinant notamment le pic d'hyperglycémie après les repas, pour diminuer le cholestérol ; la pectine de ce légume se fixe au cholestérol et empêche son absorption par les intestins. Ils sont aussi utilisés contre la nervosité, les spasmes et pour rééquilibrer le système nerveux (**Torres, 2004**).

II-Composés phénoliques

II-1-Généralité

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des molécules aromatiques synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales (**Dangles et al., 1992**). Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, allant de molécules simples de bas poids moléculaire tels que les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tanins (**Bravo, 1998 ; Mehinagic et al., 2011**).

Chimiquement, ce sont des composés organiques phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da, caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside, (**Dangles et al., 1992**). Ils sont subdivisés en plusieurs catégories : acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique), tanins, anthocyanines, coumarines, lignanes, quinones, stilbènes, et les flavonoïdes (**Bravo, 1998**).

Les polyphénols sont des molécules ubiquitaires localisées dans différentes parties des plantes à citer, les racines, les tiges, les feuilles et les fleurs. Les principales sources du point de vue alimentaire sont les fruits et légumes, les céréales et les boissons (vin rouge, cidre, bière, thé, café et jus de fruits) (**Mehinagic et al., 2011**).

II- 2- Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques sont issus par deux grandes voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate/malonate.

II-2-1-Voie de l'acide shikimique

Tous les composés phénoliques sont formés via la voie du shikimate, appelée également la voie de phénylpropanoïde. Ce dernier lie le métabolisme des carbohydrates à la voie de biosynthèse des composés aromatiques en conduisant à la synthèse de base, le noyau aromatique (**Hopkins, 1995**).

Dans cette voie, l'érythrose-4-phosphate et le phosphoénolpyruvate sont produits par les hydrates de carbones lors de leurs dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse respectivement. Ces derniers sont convertis en chorismates, le précurseur des acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine et tryptophane) et d'un certain nombre de métabolites secondaires indoliques et aromatiques (**Dewick, 1995**).

II-2-1-Voie de l'acide malonique

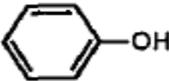
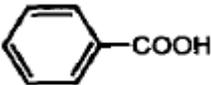
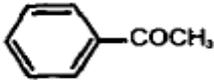
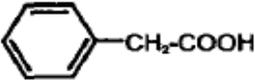
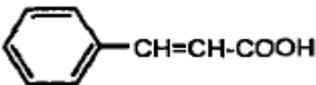
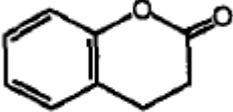
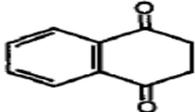
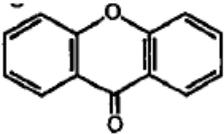
La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl-CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, et obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (**Fleeger et Flipse, 1964**).

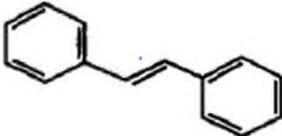
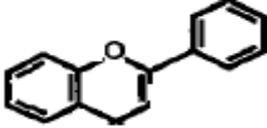
II-3-Classification des polyphénols

Les polyphénols peuvent être classés selon le nombre de noyaux aromatique qu'ils contiennent, ainsi que la nature et la structure du squelette de base. Ils se regroupent en deux grands groupes : les non flavonoïdes et les flavonoïdes (Tableau III) (**Crozier et al., 2006**).

Les non flavonoïdes dont les principaux composés sont : les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les lignines et les coumarines. Les flavonoïdes, tel que : les flavones, flavanones, flavonols, isoflavonones, anthocyanines, proanthocyanidines et flavanols (**Bravo, 1998**).

Tableau III : Structure des squelettes des polyphénols (Crozier *et al.*, 2006; Bravo, 1998).

Nombre de carbone	Squelette	Classe	Exemple	Structure
6	C ₆	Phénols simples	Catéchol	
7	C ₆ -C ₁	Acide phénolique	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	Acétophénone	Gallacétophenones	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétiques	Acides phydroxyphenyl-acétique	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acides p-coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculetine	
10	C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Jugulone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mgniferrine	

14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbenes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine	

II-4-Rôle et intérêt des composés phénoliques

II-4-1-Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans de nombreux processus physiologiques de la plante : croissance cellulaire, différenciation, lignification, floraison, tubérisation, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (blessures, symbioses) ou abiotiques (rayonnements UV, faible température) (**Dryune, 1999**). Ils jouent aussi un rôle important dans la qualité alimentaire des fruits et légumes (couleur, astringence, arôme, amertume) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation de ces organes végétaux (**Fleuriet et al., 2005**).

II-4-2-Chez l'homme

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment à cause de leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscitent de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Ces micronutriments forment, pour l'organisme, une sorte de pharmacopée nutritionnelle (**Valdés et al., 2011 ; Bravo, 1998**).

III-Stress oxydant

Les cellules et les tissus de l'organisme sont soumis à une grande variété d'agressions physiques, chimiques et métaboliques. La majorité de ces agressions aboutissent à un phénomène appelé stress oxydant qui défini comme un déséquilibre entre la production des espèces réactifs de l'oxygène (ERO) et des métabolites réactifs,

communément appelés oxydants, et leurs élimination par des mécanismes protecteurs, désignés sous le nom d'antioxydants (**walker et al., 1982**).

III-1- Radicaux libres

III-1-1- Définition

Un radical libre est une espèce prooxydante chimique, (molécule, morceau de molécule ou simple atome) qui possède un ou plusieurs électrons libres. Le plus souvent l'électron non apparié se trouve sur l'orbitale externe de la molécule (**Sen et al., 2010**). Cela lui confère une grande réactivité chimique donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable (**Halliwell et Gutteridge, 1984**). Ces radicaux sont des sous produits de réactions d'oxydation et de réduction, produit dans des conditions biologiques normales, mais aussi d'autres facteurs peuvent accroître leurs formation telles que : les rayonnements UV, le stress, la pollution, l'alcolisme, le tabagisme...etc. (**Sen et al., 2010**).

III-1-2- Nature des radicaux libres

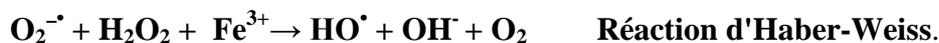
III-1-2-1-Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente conduite à la production d'eau. Cette réaction est catalysée par le cytochrome oxydase, accepteur terminal d'électrons de la chaîne respiratoire. Toutefois, cette chaîne de transport peut laisser « fuir » une certaine proportion d'électrons qui vont réduire l'oxygène, mais en partie seulement. C'est ainsi qu'environ 2 % de l'oxygène subit une réduction monoélectronique conduite à la formation des espèces réactive d'oxygénées (ERO) comme le radicale superoxyde, le radical hydroxyle, ainsi que des forme non radicalaire comme le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, l'oxygène singulet ¹O₂ (**Sen et al., 2010 ; Haleng et al., 2007**).

III-1-2-1-1-Radical superoxyde (O₂^{•-}) : C'est un dérivé très réactif de l'oxygène, relativement stable, n'est pas très toxique pour l'organisme, mais il est à l'origine de cascades de réactions conduite à la production des molécules très nocives (**Al-Mamun et al., 2007**).



III-1-2-1-2-Radical hydroxyle (OH[•]) : Le radical hydroxyle est le plus toxique qui est à l'origine de la production des radicaux libres « secondaires », se produit principalement à partir de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en Présence d'ions ferriques, au cours de la réaction d'Haber-Weiss (**Gardès-Albert et al., 2003**).



III-1-2-1-3-Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) : L'eau oxygénée (ou peroxyde d'hydrogène, H₂O₂) est une molécule non radicalaire, peut réactif. La majeure partie de la toxicité de H₂O₂ provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle OH[•] en présence de cations métalliques tels que Fe⁺² (**Gardès-Albert et al., 2003**). Cette molécule capable de traverser les membranes des cellules et des organites pour engendrer des dommages loin de son site de production (**Halliwell et Gutteridge, 1984**).

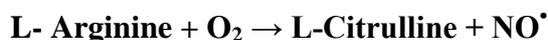


III-1-2-1-4-Oxygène singulet (¹O₂) : C'est la forme excitée de l'oxygène moléculaire très réactif, formé à partir de l'anion superoxyde. Il provoque la destruction de collagène et tissu sous cutané (**Halliwell et Gutteridge, 1984**).



III-1-2-2-Espèce réactive de l'azote (RNS)

Le monoxyde d'azote (NO[•]) est synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétases, qui transforme l'arginine en citrulline en présence de la NADPH. Il est aussi possible de le produire par réduction des nitrites en nitrates sans l'aide d'enzyme (**Jourd'heuil et al., 1997**).



Toutefois, le NO[•] peut former avec l'anion superoxyde le peroxynitrite (ONOO⁻), la forme protonnée du radical peroxynitrite, un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques (**Nordberg et Arnér, 2001**).

III-1-3- Rôle des radicaux libre

Le rôle des ERO est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leurs concentrations. Dans des conditions normales, elles

sont générées en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription. Citons aussi le processus de fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'ERO pour percer la paroi membranaire de l'ovule. Les ERO deviennent «pathologiques» en activant l'expression de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires ou des protéines d'adhésion. En outre, leur nature instable les rend très réactifs vis-à-vis de substrats biologiques et capables d'induire des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies (**Haleng et al., 2007 ; Pham-Huy et al., 2008**).

III-2-Antioxydants

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat (**Nordberg et Arnér, 2001**).

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble de complexes de défenses antioxydants. Il y a deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes ; l'autre est endogène et se compose d'enzymes et de protéines. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydants (**Haleng et al., 2007**).

III-2-1 Antioxydants enzymatiques

Il ya plusieurs systèmes d'enzymes qui catalysent des réactions pour neutraliser les ERO (Figure 02), ces enzymes sont :

III-2-1-1-Superoxyde dismutase (SOD)

C'est une métalloprotéine qui sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur, élimine l'anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$ par une réaction de dismutation, elle produit de l'oxygène et le peroxyde d'hydrogène (**Rahman, 2007**).

III-2-1-2-Catalases

L'une des principales enzymes du système antioxydant biologique localisé dans les peroxysomes et abondant dans le foie et les hématies. Le site actif de la catalase est l'hémoglobine, et elle agit en tant que catalyseur dans la décomposition de H_2O_2 en eau et oxygène moléculaire et d'éviter ainsi la formation de radicaux OH^{\cdot} (**Nordberg et Arnér, 2001**).

III-2-1-3-Glutathion peroxydases (GPx)

C'est une sélénoprotéine (cinq isoformes), constitue l'une des principales lignes de défense contre les agressions produites par les radicaux libres de l'oxygène, et ils réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, ces enzymes utilisent le glutathion réduit (GR) comme cofacteur, sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (Matés et al., 1999).

III-2-1-4- Système thiorédoxine

L'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit est la thiorédoxine qui sera régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR) qui possède un groupement sélénocystéine dans son site actif. Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Jun et Holmgren, 2014).

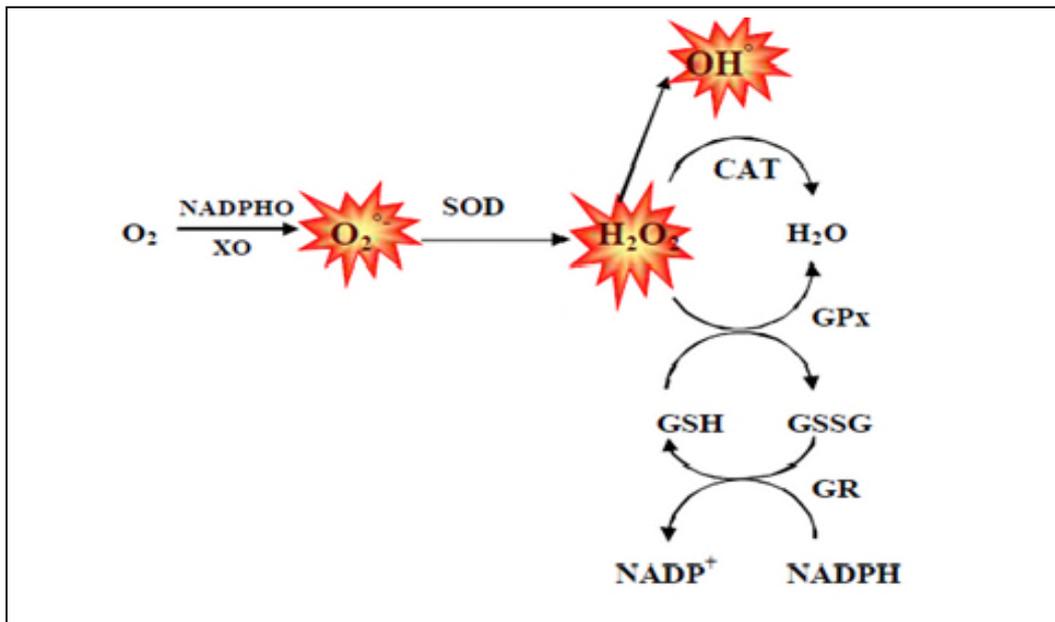


Figure 02 : Schéma des défenses antioxydantes (Matés et al., 1999).

III-2-2-Antioxydants non enzymatiques

La principale source d'approvisionnement de l'organisme en antioxydants non enzymatiques sont les aliments, soit d'origine animale ou d'origine végétale (Pham-Huy et al., 2008).

III-2-2-1-Antioxydants non enzymatiques exogènes

III-2-2-1-1-Vitamine C : La vitamine C ou acide ascorbique que est, avant tout, un excellent piègeur des ERO (HO^\bullet ou O_2^\bullet). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E et aide à prévenir des troubles du système immunitaire vis-à-vis des radicaux libres générés au cours d'un exercice intense (**Haleng et al., 2007 ; Pham-Huy et al., 2008**).

III-2-2-1-2-Vitamine E : La Vitamine E ou tocophérol, leur caractère hydrophobe lui permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes (ROO^\bullet) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (**Haleng et al., 2007**).

III-2-2-1-3-Polyphénols : Les polyphénols sont capables d'agir comme des antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres. Les groupes hydroxyle des polyphénols sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogènes, ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives d'azote, enfin de la réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu. Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques est également attribué à leur capacité de chélater les métaux ioniques impliqués dans la production des radicaux libres. Cependant, ils peuvent agir comme des prooxydants (**Apak et al., 2007**).

III-2-2-1-4-Oligoéléments : Plusieurs protéines qui circulent dans le sérum peuvent prendre en charge des ions métalliques libres qui sont potentiellement toxiques. Il s'agit de la transferrine et de la lactoferrine pour le fer et de la céruléoplasmine pour le cuivre, elles agissent comme des chélateurs et maintiennent les ions métalliques sous forme inactive par rapport à la combinaison possible avec le peroxyde dihydrogène (**Haleng et al., 2007 ; Pham-Huy et al., 2008**).

III-2-2-2-Antioxydants non enzymatique endogène

III-2-2-2-1-Bilirubine : La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème. Elle s'agit d'un composé non hydrosoluble, elle se lie à l'albumine, ce qui empêche sa pénétration dans des tissus riches en lipides tels que le cerveau. La bilirubine est capable de piéger le radical peroxyde (ROO^\bullet) et l'oxygène singlet. Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (**Lyoumi et al., 2007**).

III-2-2-2-2-Acide urique : Produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux. Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leurs tour réduites (notamment par la vitamine C) (**Haleng et al., 2007**).

III-2-2-2-3-Glutathion : Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il se présente sous forme essentiellement réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress. Les autres propriétés antioxydants du GSH sont nombreuses : cofacteur de la GPx, chélateur des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et C, à partir de leur forme radicalaire (**Nordberg et Arnér, 2001**).

II-Matériel et méthodes

II-1-Matériel végétal

Cette étude a été menée sur les haricots verts (*Phaseolus vulgaris* L), qui ont été achetées du marché local de la ville de Bejaia (Edimco) au mois de janvier 2017. Les haricots choisies ont été frais, sains (sans infection) et matures de couleur verte (Figure 03). Les haricots ont été ensuite bien nettoyés et les parties non comestibles ont été enlevées manuellement. Les parties comestibles ont été coupées en petits morceaux et divisées en trois lots qui ont été traités de différentes façons.



Figure 03 : Haricot vert (*Phaseolus vulgaris* L.) (Originale).

II-2- Traitement des échantillons

Le premier lot a été gardé à son état frais. Le deuxième lot a été placé dans un cuiseur de vapeur en acier inoxydable (couscoussier), qui a été couvert de couvercle et cuit à la vapeur au-dessus de l'eau bouillante. Le temps de cuisson était d'environ 15 à 20 minutes et après chaque cuisson, les échantillons ont été égouttés pour enlever le maximum d'eau. Enfin, le troisième lot a été mis dans une boîte en plastique bien fermé, puis mis dans le congélateur pendant un mois à une température d'environ -20 °C.

II-3- Caractérisation physique de l'haricot vert

Les caractéristiques physiques ont été évaluées sur 10 échantillons d'haricot vert frais seulement (avant d'être coupés) choisis au hasard pour déterminer :

- ✓ La couleur appréciée visuellement ;

- ✓ Les dimensions : la longueur et la largeur (cm) des échantillons ont été mesurées au moyen d'un pied à coulisse.
- ✓ Le poids moyen : la mesure de poids moyen d'haricot vert a été déterminée selon la méthode de **Dowsen et Atmen. (1963)**, au moyen d'une balance analytique de précision de ± 0.001 exprimé en gramme (g) du légume est obtenu selon la formule suivante :

$$P_m = P_t / n$$

P_m : Poids moyen d'un fruit (g).

P_t : Poids totale de l'échantillon (g).

n : Taille de l'échantillon.

II-4-Détermination des paramètres physico-chimiques des différents échantillons

II-4-1-Détermination de la teneur en eau et matière sèche

Consiste à sécher un échantillon de 05 g d'haricot vert (frais, cuit et congelé) à $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ dans une étuve jusqu'à la stabilité du poids (**Doymaz et al., 2004**). La teneur en eau à été déterminée selon la formule suivante :

$$MS (\%) = m / M \times 100$$

$$TH (\%) = 100 - MS$$

m : Masse résiduelle après évaporation de l'eau.

M : Masse de la prise d'essai.

MS (%) : Taux de la matière sèche.

TH (%) : Taux d'humidité.

II-4-2-Détermination de potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH de l'haricot vert (frais, cuit et congelé) est déterminé à l'aide d'un pH mètre selon la méthode **AFNOR. (1982)**. Une prise d'essai de 4g a été broyée et ajustée avec de l'eau distillé à un volume de 25 ml. Le mélange a été filtré sur papier Whatman après une agitation pendant 15 min. Le filtrat récupéré a servi à la détermination des valeurs du pH.

II-4-3-Détermination du degré de brunissement non enzymatique (BNE)

Le degré de brunissement non enzymatique a été déterminé selon la méthode de **Davoodi et al. (2006)**. Une prise d'essai de 02,5 g a été broyée et 50 ml d'éthanol ont été additionnés. Le mélange a été agité pendant 12 h, puis, la solution a été filtrée avec papier Whatman. L'indice de brunissement est exprimé par la mesure de l'absorbance du filtrat à 420 nm en utilisant l'éthanol comme blanc.

II-4-4-Détermination de l'acidité

Le principe de cette méthode consiste à neutraliser l'acidité par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH). L'acidité des différents échantillons a été déterminée selon la méthode décrite par **Saïdane et Marzouk. (2003)**. Une prise d'essai de 05 g a été broyée et ajustée avec de l'eau distillée à un volume final de 25 ml. Le mélange a été filtré après 15 min d'agitation. Un volume de 05 ml du filtrat a été ajouté à 05 ml d'eau distillée puis répartis dans 3 bécher en verre. La neutralisation a été effectuée par la solution NaOH (0,01N) en présence de quelques gouttes de phénophtaléine (C₂₀H₁₄O₄), jusqu'au virage d'une couleur rose. L'acidité est exprimée en gramme d'acide citrique par 100 g d'échantillon (g AC/100 g Ech) qui est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Acidité} = (N_b * V_b * M) / (V_a * P)$$

M : Masse molaire de l'acide citrique (192,13).

V_a : Volume de la prise d'essai (V=3,33 ml).

V_b : Volume de la solution NaOH.

N_b : Normalité de la solution NaOH (0,01N).

p : Nombre des protons porté par l'acide citrique (p=3).

II-4-5-Détermination de la teneur en cendres

L'estimation de la teneur en cendres est déterminée selon la méthode **AFNOR. (1982)**. Une prise d'essai de 02 g de chaque échantillon a été placée dans un four à moufle à 600 °C pendant 6 h jusqu'à l'apparition des cendres de couleur grise claire ou blanchâtre. Après refroidissement le taux des cendres (Cd) est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Cd (\%)} = 100 - \text{MO\%}$$

$$\text{MO (\%)} = (M_1 - M_2) * 100 / P$$

MO : Matière organique en (%).

M₁ : Masse de capsule + la masse de pris d'essai.

M₂ : Masse de capsule + la masse des cendres.

P : Masse de la pris d'essai.

II-5-Extraction des composés phénoliques

1g de broyat d'échantillon est homogénéisé avec 10 ml d'acétone 70 %. Après une agitation de 40 min, le mélange a été centrifugé à 4000 rpm pendant 25 min. Le surnageant récupéré a été ensuite filtré et gardé au réfrigérateur et a été utilisé pour le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes (Arkoub et al., 2015).

II-6-Dosage des antioxydants

II-6-1-Dosage des polyphénols totaux

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols totaux présents dans les extraits (Lapornik et al., 2005).

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie suivant le protocole décrit par Velioglu et al. (1998), avec quelques modifications. Un volume de 250 µl de chaque extrait est additionné de 1,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (1/10 dans de l'eau distillé). Le mélange a été vortexé et 1,5 ml de carbonate de sodium (Na₂CO₃) (6%) ont été ajoutés après 5 min. L'absorbance a été lue à 755 nm, après 90 min d'incubation à l'abri de la lumière.

La concentration en composée phénoliques des extraits est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard (Annexe I). Les résultats sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique/100 g d'échantillon (mg EAG/100 g Ech).

II-6-2-Dosages des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 ou 3 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe jaunâtre en présence de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). La coloration jaune est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présente dans l'extrait (**Djeridane et al., 2006**).

Les flavonoïdes contenus dans les différents extraits ont été dosés par la méthode **Djeridane et al. (2006)**. Un volume de 1 ml d'extrait sont ajoutés à 1 ml de la solution de trichlorure d'aluminium à 2 %. Le tout est bien mélangé et incubé pendant 45 min à une température ambiante et à l'obscurité, et l'absorbance a été mesuré à 430 nm.

La courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions que le dosage en utilisant la quercétine à différentes concentrations comme standard. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de quercétine par 100 g d'échantillon (mg EQ/100 g Ech) (Annexe I).

II-6-3- Dosage des anthocyanines

La teneur en anthocyanines des différents échantillons d'haricot vert à été déterminée par la méthode rapporté par **Ganjewala et al. (2008)**. 1g de chaque échantillon est additionné de 10 ml de méthanol/HCl (0,1N), le mélange a subi une agitation pendant 30 min et une centrifugation à 5000 rpm pendant 20 min. Un volume de 0,1 ml du surnageant a été additionné de 0,5 ml de méthanol/HCL (0,1N), l'absorbance de la solution est mesurée à 530 nm, et les résultats sont exprimés en mg équivalent cyanidine-3-glucoside par 100g d'échantillon (mg ECG/100 g Ech), en utilisant la formule suivante :

$$[C] \text{ (mg ECG/100g)} = \text{Abs} * \text{MM} * \text{FD} * 1000 / \epsilon * l$$

Abs : Absorbance à 530 nm.

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

FD : Facteur de dilution,

ε : Coefficient d'extinction molaire de la cyanidine -3-glucoside ($\epsilon=38000 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

l : Trajet optique.

II-6-3-Dosages des flavonols

La même procédure de dosages des anthocyanines est suivie pour le dosage des flavonols, sauf que l'absorbance a été mesurée à 360 nm. Les résultats exprimés en mg équivalent de quercétine-3-glucoside par 100 g d'échantillon (mg EQG/100 g Ech), ont été calculés en se référant à la formule suivante :

$$C \text{ (mg EQG/100 g)} = \text{Abs} * \text{MM} * \text{FD} * 1000 / \epsilon * l$$

Abs : Absorbance à 360 nm.

MM : Masse molaire de la quercétine 3-glucoside (464.4 g/mol).

FD : Facteur de dilution.

ϵ : Coefficient d'extinction molaire de la quercétine 3-glucoside ($\epsilon=20000 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

l : Trajet optique.

II-7-Évaluation du pouvoir antioxydants et antiradicalaire

L'activité antioxydante des extraits d'haricot verts étudié a été évaluée selon deux principes différents : le premier, regroupe les tests de réduction de chlorure ferrique et de molybdate, qui mesure la capacité antioxydant. Le deuxième inclus le test scavenger vis-à-vis les radicaux DPPH[•] et ABTS^{•+}, qui estime le pouvoir anti-radicalaire des différents extraits.

II-7-1-Pouvoir réducteur**II-7-1-1-Réduction de chlorure ferrique (FRAP)**

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le chlorure ferrique (FeCl₃) en chlorure ferreux (FeCl₂) en présence de ferrocyanure de potassium [K₃Fe(CN)₆]. La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Ribeiro et al., 2008**).

Le pouvoir réducteur a été estimé par la méthode décrite par **Oyaizu. (1986)** rapportée par **Kumar et al. (2005)** avec quelques modifications. Un volume de 2 ml d'extrait à différentes concentrations (0,5 à 4 mg/ml) sont additionnées de 0,75 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et de 0,75 ml de ferricyanure de potassium [K₃Fe(CN)₆] à 1%. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 min. 0,75 ml d'acide trichloracétique

(C₂HCl₃O₂) à 10% ont été ajoutés au mélange puis centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min. 1,25 ml du surnageant sont additionnée de 1,25 ml d'eau distillée et de 0,25 ml de chlorure ferrique (FeCl₃) à 0,1%. La solution a été homogénéisée et ensuite incubée pendant 10 min à l'abri de la lumière et l'absorbance a été lue à 700 nm.

Le pouvoir réducteur de chaque extrait à été estimé en pourcentage de réduction selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de réduction de chlorure ferrique} = [(A_E - A_T) / A_E] * 100$$

A_E : Absorbance de l'extrait à 700 nm.

A_T : Absorbance du témoin à 700 nm.

II-7-1-2- Réduction du phosphomolybdate (activité antioxydant totale)

Le test phosphomolybdate d'ammonium est une méthode quantitative pour évaluer la capacité antioxydant. Il est basé sur la réduction du Mo⁺⁶ en Mo⁺⁵ par les antioxydants présents dans l'échantillon. Cette réduction est suivi par l'apparition d'un complexe phosphate/Mo⁺⁵ de couleur verte qui est proportionnelle à la concentration des antioxydants qui donne un maximum d'absorption à 695 nm (**Jagon Mohan Rao, 2008**).

L'estimation de l'activité antioxydant totale avec le réactif de phosphomolybdate a été réalisée en utilisant la méthode de **Ramlakshmie et al. (2008)**. Elle consiste à ajouter 2 ml du réactif de phosphomolybdate (0,6 mM d'acide sulfurique (H₂SO₄), 28 mM de phosphate de sodium (KH₂PO₄) et molybdate d'ammonium ((NH₄)₂Mo₄O₁₃) à 4 mM) à 200 µl d'extrait ou standard à des concentrations variables. Après 90 min d'incubation dans le bain mari à 90 °C, l'absorbance est mesurée ensuite à 695 nm.

Le pouvoir réducteur de chaque extrait à été estimé en pourcentage de réduction selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de réduction de phosphomolybdate} = [(A_E - A_T) / A_E] * 100$$

A_E : Absorbance de l'extrait à 695 nm.

A_T : Absorbance du témoin à 695 nm.

II-7-2-Pouvoir antiradicalaire

II-7-2-1-Pouvoir antiradical DPPH[•]

L'activité antiradicalaire des différents composés des extraits a été évaluée *in vitro* par le test de DPPH[•]. Le DPPH[•] (2,2 diphenyl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette lorsqu'il est dissout dans le méthanol, vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2 diphenyl 1 picryl hydrazine comme le montre la (Figure04). Ceci permet de suivre la cinétique de la décoloration à 515-518 nm (Maataoui et al., 2006).

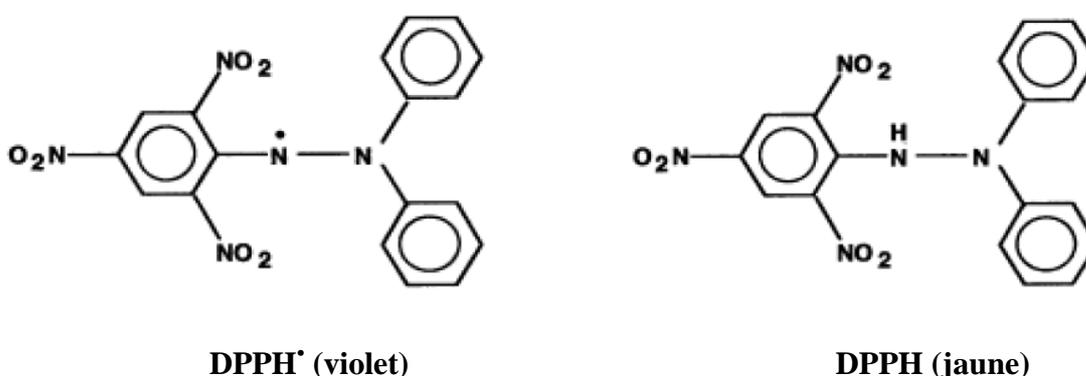


Figure 04 : Réaction de réduction de DPPH (Molyneux, 2004).

La mesure de l'activité scavenging du radical DPPH[•] a été effectuée en suivant le protocole d'Athamena et al. (2010). 2,45 ml d'extrait à différents concentrations sont ajoutés de 50 µl de DPPH[•] (5 mM), après une incubation de 30 min à l'obscurité et à une température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm.

Le pouvoir antiradicalaire des extraits est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition du radical DPPH}^{\bullet} = \frac{(\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{Extrait}})}{\text{Abs}}$$

Abs_{contrôle} : L'absorbance du contrôle à 517 nm.

Abs_{Extrait} : L'absorbance de l'échantillon étudié à 517 nm.

II-7-2-2- Pouvoir antiradical ABTS^{•+}

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} (2,2-azino-bis-3-acide d'ethylbenzothiazoline-6-sulfonic), de coloration bleu-verte en le transformant en ABTS^{•+} incolore à 734 nm (Figure 05), par piégeage d'un proton (H[•]) par l'antioxydant. La diminution de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre (Marc et al., 2004).

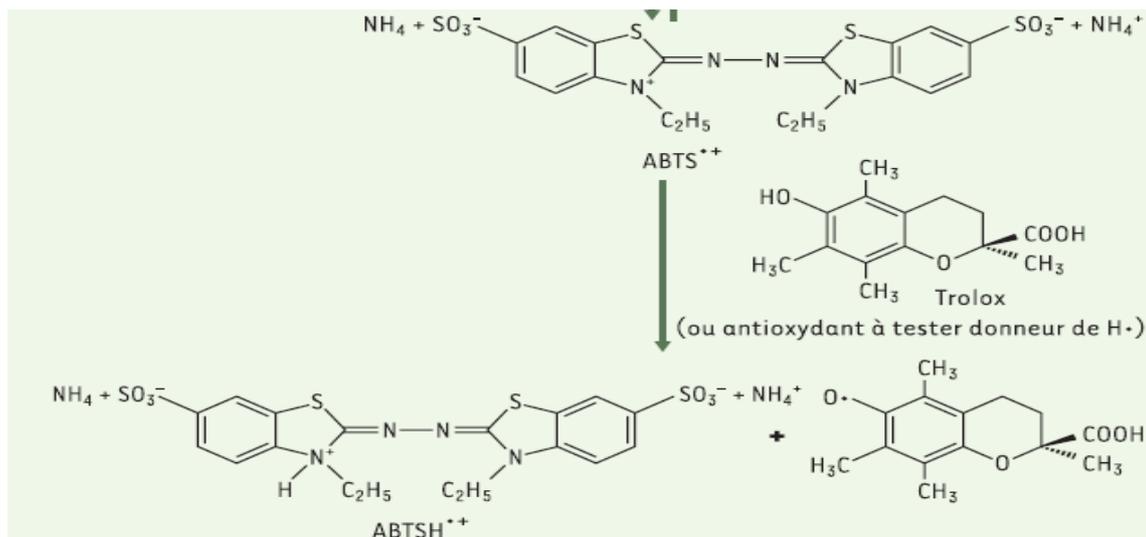


Figure 05 : Piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•] (Marc et al., 2004).

La mesure de l'activité scavenging du radical ABTS^{•+} a été effectuée en suivant le protocole de Re et al. (1998). Le radical ABTS^{•+} a été préparé par la réaction de la solution ABTS (7 mM) avec du persulfate de potassium (K₂O₈S₂) (2,45 mM). Cette solution est laissée à l'obscurité pendant 16 h et à une température ambiante (formation du radical cationique ABTS^{•+}). La solution a été diluée avec de l'eau distillé afin d'obtenir une absorbance de $A_{734nm} = 0,7 \pm 0,02$. Un volume de 100 μ l d'extrait à différentes concentrations ont été ajoutés à 1,9 ml de la solution d'ABTS^{•+}. Le mélange a été incubé pendant 10 min et l'absorbance est estimée à 734 nm par spectrophotométrie UV-visible.

Le pouvoir antiradicalaire exprimé en pourcentage d'inhibition a été calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition du radical ABTS}^{\bullet+} = \frac{(\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{Extrait}})}{\text{Abs}}$$

Abs_{Extrait} : L'absorbance de contrôle à 734 nm.

Abs_{Extrait} : L'absorbance de l'échantillon étudié à 734 nm.

II-8-Analyse statistique

Tous les tests ont été réalisés en triplicata et les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Les résultats sont comparés par une analyse de la variance, en utilisant ANOVA (STATISTICA 5.5) et le degré de signification est pris à la probabilité $P \leq 0,05$. De plus, les valeurs des concentrations inhibitrices à 50 % (IC50) ont été calculées en utilisant le logiciel Origin 9.

III-Résultat et discussion

III-1-Caractéristiques physiques

Les résultats de la mesure des caractéristiques physiques d'haricot vert sont récapitulés dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV : Caractéristiques physiques d'haricot vert.

Paramètres	Valeurs
La couleur	Vert
Longueur (Cm)	11,48±0,92
Largeur (Cm)	1,15±0,23
Le poids (g)	6,14±0,8

III-2-Détermination des paramètres physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques des trois échantillons sont résumés dans le tableau V.

Tableau V : Paramètres physico-chimiques d'haricot vert

Propriétés / États	Frais	Cuit	Congelé
Humidité (%)	89,53 ±0,23 ^b	91,53 ±0,46 ^a	91,50 ±1,06 ^a
Matière sèche (%)	10,46 ±0,23 ^a	8,46±0,46 ^b	8,43 ± 1,08 ^b
pH	6,56 ± 0,01 ^a	6,01 ± 0,01 ^c	6,21 ± 0,01 ^b
BNE	0,26 ±0,007 ^b	0,81 ± 0,1 ^a	0,21 ± 0,02 ^c
Acidité (g AC /100 g Ech)	0,51 ± 0,04 ^b	0,45 ±0,007 ^b	0,82 ± 0,04 ^a
Cendre (%)	1,36 ± 0,28 ^a	1,33 ± 0,28 ^b	1,26 ± 0,15 ^b

III-2-1-Humidité et la matière sèche

L'humidité et la matière sèche sont deux paramètres complémentaires importants pour connaître la teneur en eau, qui est une source de dégradation des antioxydants. Cet inconvénient peut être éliminé par un séchage rapide (Tomas-Barberà et Espin, 2001).

Les résultats du test d'humidité sont présentés dans le tableau V. L'haricot cuit à la vapeur d'eau et l'haricot congelé ne présentent pas une différence significative à $p < 0,05$ avec des taux d'humidité de $91,53 \pm 0,46$ % et $91,50 \pm 1,06$ % respectivement, par contre une différence significative a été constatée pour l'haricot frais avec un taux de $89,53 \pm 0,23$ %. Cette dernière valeur est équivalente à celle rapportée par **Letang. (1997)** sur la teneur en eau des différents fruits et légumes. **Kaloustian et al. (2008)** ont rapporté que la cuisson à la vapeur augmente la teneur en eau des légumes jusqu'à saturation.

III-2-2-pH

Le pH est un paramètre déterminant l'aptitude des aliments à la conservation, il constitue l'un des principaux obstacles, que la flore microbienne doit franchir pour assurer sa prolifération. Ainsi, un pH de l'ordre de 3 à 6 est très favorable au développement des levures et moisissures (**Doukani et Tabak, 2015**).

Le pH des échantillons présente des différences significatives à $p < 0,05$, le pH le plus élevé a été enregistré pour l'haricot frais ($6,56 \pm 0,01$), suivie d'haricot congelé ($6,21 \pm 0,01$) et enfin l'haricot cuit avec un pH de $6,01 \pm 0,01$. Ces résultats sont très proches, donc la cuisson et la congélation n'ont pas eu un grand effet sur le pH d'haricot vert. **Arkoub et al. (2015)** ont constaté une augmentation de taux de pH lors de la cuisson d'aubergine, cette différence est due probablement à la différence des méthodes de cuisson utilisées (four, grillé et friture) et le type de légume étudié.

III-2-3-Brunissement non enzymatique (BNE)

Les résultats obtenus pour les différents échantillons analysés présentent des différences significatives à $p < 0,05$. L'indice de BNE le plus élevé est enregistré pour l'haricot cuit ($0,81 \pm 0,1$), suivie d'haricot frais ($0,26 \pm 0,007$), enfin l'haricot congelé avec un indice de ($0,21 \pm 0,02$).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Arkoub et al. (2015)** qui ont constaté une augmentation de l'indice de BNE pour l'aubergine après la cuisson. Ce qui concerne l'état congelé, une légère diminution par rapport à l'état frais a été observée.

III-2-4-Acidité

L'acidité titrable nous renseigne sur la quantité en acides organiques présente dans l'échantillon. Les acides organiques sont, en général des intermédiaires des processus

métaboliques, ils influencent la croissance des micro-organismes et affectent la qualité de conservation des produits (**Doukani et Tabak. 2015**).

Les résultats de la présente étude sur les différents échantillons de l'haricot vert analysés ne présentent aucune différence significative à $p < 0,05$ entre l'échantillon frais et celui cuit à la vapeur, mais une différence significative a été constatée pour l'échantillon congelé par rapport aux deux autres échantillons. L'acidité titrable varie de 0,45 à 0,82 g AC /100 g Ech, La plus grande valeur est enregistrée dans l'haricot congelé $0,82 \pm 0,04$ g AC/100 g Ech, suivi d'haricot frais et l'haricot cuit à la vapeur d'eau avec des valeurs de $0,52 \pm 0,04$ g AC /100 g Ech de $0,45 \pm 0,007$ g AC /100 g Ech respectivement.

La valeur d'acidité d'haricot vert frais est inférieure à celle rapportée par **Arkoub et al. (2015)** sur l'aubergine qui est de $1,24 \pm 0,09$ g AC /100 g Ech. Cette variation est peut-être due aux conditions climatiques et au processus de maturation des légumes (**Doukani et Tabak, 2015**). La cuisson peut modifier l'acidité soit en l'augmentant ou en la diminuant, selon la méthode de cuisson (**Arkoub et al., 2015**).

III-2-5-Cendres

La détermination de la teneur en matière minérale nous renseigne sur la qualité nutritionnelle de l'échantillon à analyser (**Doukani et Tabak. 2015**).

La teneur en cendre des différents échantillons présente une différence significative à $p < 0,05$ entre l'haricot frais et les deux autres échantillons. En effet, l'haricot frais présente la valeur la plus élevée ($1,36 \pm 0,28$ %). Après la cuisson et la congélation, une légère diminution a été constatée ($1,33 \pm 0,28$ % et $1,26 \pm 0,15$ % respectivement).

III-3-Dosage des composés phénoliques

III-3-1-Polyphénols totaux

En se basant sur les valeurs d'absorbance des extraits, réagissant avec le réactif de Folin-Ciocalteu, et comparées à la solution standard d'acide gallique, les résultats de l'analyse quantitative des composés phénoliques totaux sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acides gallique par 100 g d'échantillon (mg EGA/100g Ech). Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 06.

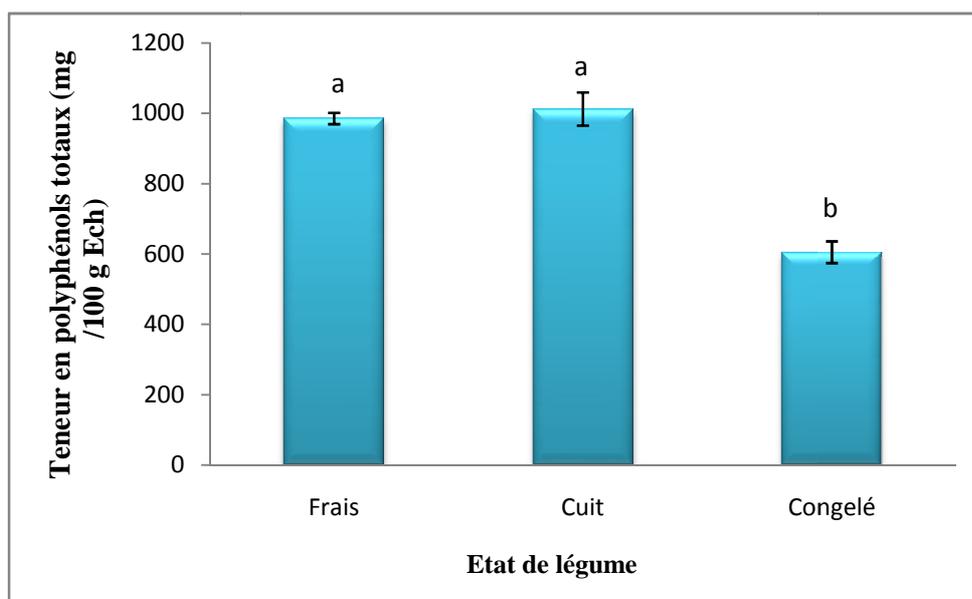


Figure 06 : La teneur en polyphénols totaux des différents échantillons d'haricot vert.

Les valeurs portant des lettres différents sont différentes significativement ($p < 0,05$) les résultats sont classés par ordre décroissant ; $a > b$.

Les résultats enregistrés ci-dessus montrent que la teneur en polyphénols totaux varie selon l'état de légume. L'haricot cuit à la vapeur et frais sont les plus riches en composés phénoliques avec les teneurs suivantes $1011,67 \pm 47$ mg/100 g Ech et 985 ± 16 mg/100g Ech respectivement, suivi de celui congelé avec la teneur de 605 ± 31 mg/100 g Ech.

Les résultats de la présente étude sont en accord avec ceux trouvés par **Barkat et Kadri. (2011)**. Ils ont rapporté une augmentation de la teneur en polyphénols d'haricot vert dans le cas de la cuisson à la vapeur, cette augmentation pourrait s'expliquer par la grande facilité avec laquelle les polyphénols sont extraits des échantillons cuits, suite à la rupture et la forte fragilisation des parois cellulaires des tissus végétaux par la chaleur.

Turkmen et al. (2005) et **McDougall et al. (2010)** ont conclu que la cuisson entraîne une augmentation des composés phénoliques dans les légumes, par décomposition des anthocyanines en produits phénoliques non colorés.

Pour l'état congelé, **Bunea et al. (2008)** ont rapporté une diminution de la quantité des composés phénoliques totaux d'environ 20% après le stockage des épinards à différentes températures (4 °C ou -18 °C). Dans la présente étude, la diminution a été d'environ 40 %, cette différence peut être expliquée par la durée de stockage, les légumes étudiés, la méthode d'extraction et/ou la sensibilité de la méthode de dosage.

La diminution de la teneur en composés phénoliques au cours du stockage post-récolte des végétaux a été attribuée variablement aux réactions de polymérisation/condensation pour former des polymères et de l'oxydation de ces composés (Kadam *et al.*, 1982).

III-3-2-Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont l'un des plus diversifiés et répandus groupe de composés naturels appartenant aux polyphénols. Ces composés possèdent un large éventail d'activités chimiques et biologiques (Ghafar *et al.*, 2009).

Les résultats de dosages des flavonoïdes des échantillons sont représentés dans la figure 07. D'après ces résultats, l'étude statistique montre que les teneurs en flavonoïdes sont significativement plus élevées dans l'échantillon qui a subi la cuisson à la vapeur d'eau, suivi de l'échantillon frais, et enfin, du congelé avec des teneurs respectives de l'ordre de $105,52 \pm 8,75$; $71,35 \pm 6,42$; $50 \pm 5,4$ milligramme équivalent de quercétine par 100 g d'échantillon (mg EQ/100 g Ech).

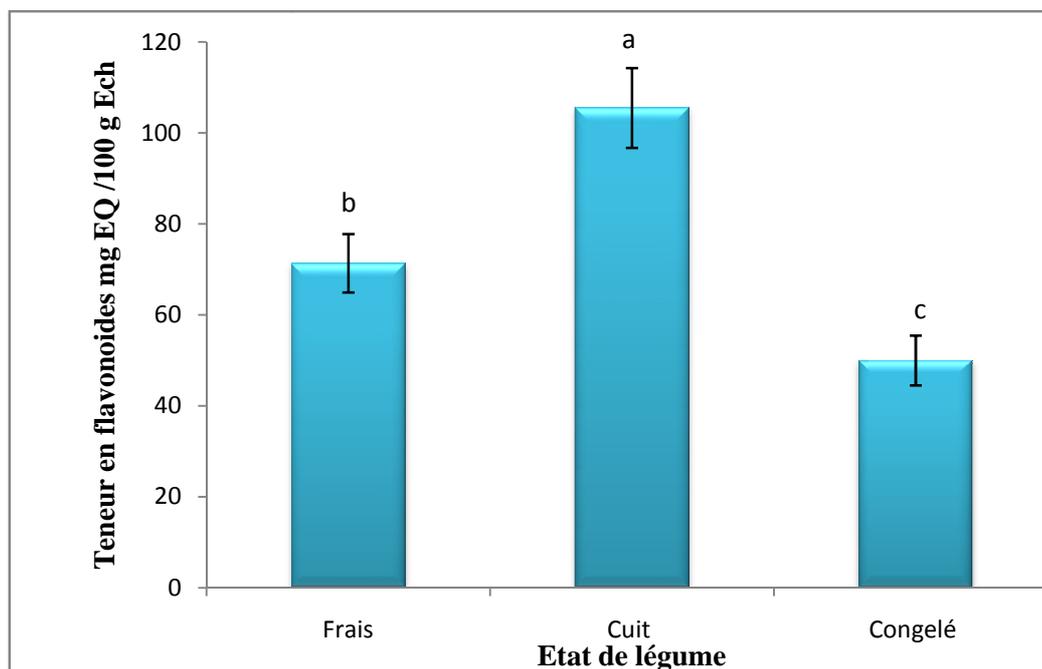


Figure07 : La teneur en flavonoïdes des différents échantillons d'haricot vert.

Les valeurs portant des lettres différents sont différentes significativement ($p < 0,05$) les résultats sont classés par ordre décroissant $a > b > c$.

Rodrigues *et al.* (2009) ont montré, lors de leur étude sur l'effet de différents modes de cuisson sur une variété d'oignon, que la cuisson à la vapeur a entraîné une

élévation de la teneur en quercitrine par rapport aux échantillons qui n'ont subi aucun traitement thermique (une augmentation de 33 à 40 %). Cette augmentation est probablement due à la grande facilité avec laquelle les flavonoïdes sont extraits des échantillons cuits, suite à une forte fragilisation des parois cellulaires des tissus végétaux par la chaleur.

Selon **Olivera et al. (2008)**, l'augmentation de la teneur en flavonoïde dans les extraits de chou de Bruxelles après cuisson est liée à la perte d'intégrité des tissus, des cellules, des membranes et des organites après traitement thermique.

Une légère diminution des flavonoïdes a été observée chez l'haricot vert conservé. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Dupont et al. (2000)** qui ont constaté une diminution de la teneur en flavonoïdes dans la laitue après 7 jours de stockage.

III-3-3-Anthocyanines

Les anthocyanines sont des métabolites phénoliques des plantes, appartenant à la famille des flavonoïdes. Ce sont des pigments solubles dans l'eau responsables des couleurs rouge, bleue et pourpre de la plupart des fleurs et fruits (**Kosir et al., 2004**). Les propriétés antioxydants des anthocyanines résultent de leurs réactivité élevée comme donneurs d'électrons (**Duan et al., 2007**).

De manière similaire aux flavonoïdes, les teneurs en anthocyanines des extraits d'haricot vert analysés présentent des différences significatives à $p < 0,05$, la teneur la plus élevée est enregistrée pour l'haricot cuit à la vapeur avec un taux de $3,9 \pm 0,32$ mg ECG/100 g Ech, puis celle frais et congelé avec $1,9 \pm 0,17$ mg ECG/100 g Ech et $1,6 \pm 0,23$ mg ECG/100 g Ech respectivement (Figure 08).

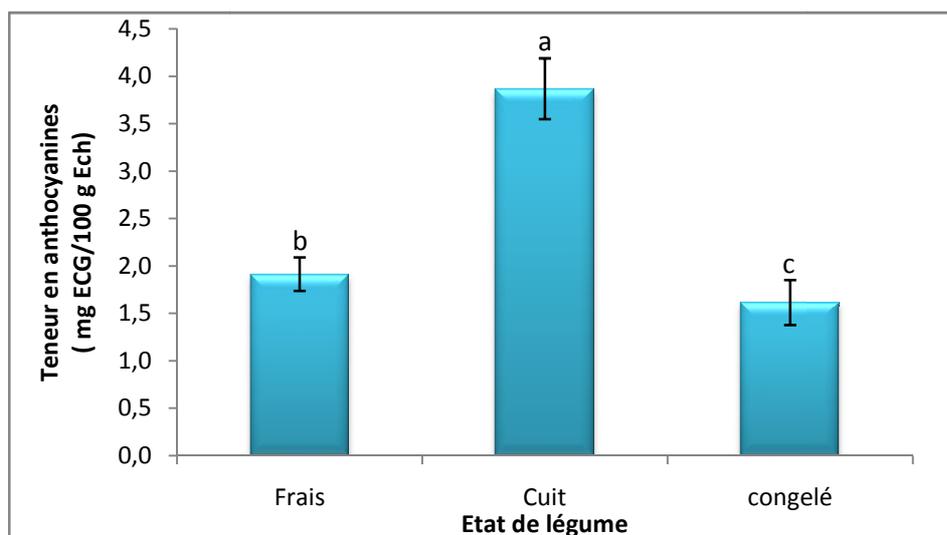


Figure 08 : La teneur en anthocyanine des différents échantillons d'haricot vert.

Les valeurs portant des lettres différents sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre décroissant $a > b$.

Mc Dougall et al. (2010), ont constaté dans leur étude sur la rhubarbe que le taux élevé d'anthocyanines dans l'échantillon cuit est due à la grande facilité avec laquelle elles sont extraites, suite à une forte fragilisation des parois cellulaires par la chaleur. Parmi les différents modes de cuisson existant. La cuisson à la vapeur offre le meilleur entretien de la couleur par la préservation des anthocyanines.

Les résultats de la présente étude ont montré une diminution de la teneur en anthocyanines au cours de la congélation, aucun résultat n'a été rapporté sur l'effet de stockage sur la teneur des anthocyanines d'haricot vert pour pouvoir comparer nos résultats.

III-3-4-Flavonols

Les flavonols appartiennent à la famille des flavonoïdes, ce sont le groupe le plus répandu dans cette famille. On les retrouvent dans des fruits et légumes (Chira et al., 2008).

Les teneurs en flavonols des extraits d'haricots analysés sont présentées dans la figure 09, elles sont significativement différentes à $p < 0,05$. Le taux le plus élevé est enregistré dans l'haricot cuit à la vapeur avec $15,15 \pm 0,62$ mg EQG/100 g, suivi par le lot frais avec $12,83 \pm 0,87$ mg EQG/100 g et en fin l'haricot congelé avec une concentration de $9,19 \pm 0,04$ mg EQG/100 g.

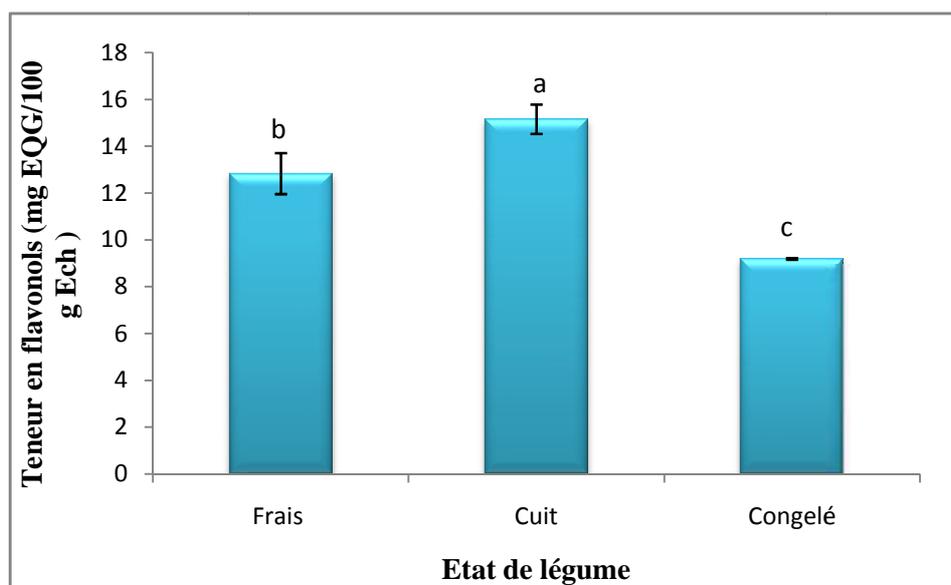


Figure 09 : La teneur en flavonols différents échantillons d'haricot vert.

Les valeurs portant des lettres différents sont différentes significativement ($p < 0,05$). les résultats sont classés par ordre décroissant ; $a > b > c$.

Les résultats de la présente étude sont en accord avec ceux rapportés par **Rodrigues et al. (2009)**, qui ont constatés une élévation de la teneur en flavonols d'une variété d'oignon après la cuisson à la vapeur. **Dupont et al. (2000)**, ont rapporté une diminution de la teneur en flavonols après stockage de la laitue ce qui concorde avec les résultats constatés dans la présente étude.

III-4-Évaluation du pouvoir antioxydants et antiradicalaire

III-4-1-Réduction du chlorure ferrique

Le pouvoir réducteur est la capacité d'une substance à transférer un électron ou a libéré un atome d'hydrogène. La présence des antioxydants au niveau des extraits a tendance à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanure Fe^{+3} en en fer ferreux Fe^{+2} (**Sousa et al., 2008**).

Les résultats obtenus (Figure 10) révèlent que le pouvoir réducteur est proportionnelle à la concentration des extrait acétonique .L'échantillon cuit à la vapeur a présenté la meilleure activité (88,18 % une concentration de 4 mg/ml), suivi de l'échantillon frais (76,18 %), et enfin, l'échantillon congelé (71,5 %).

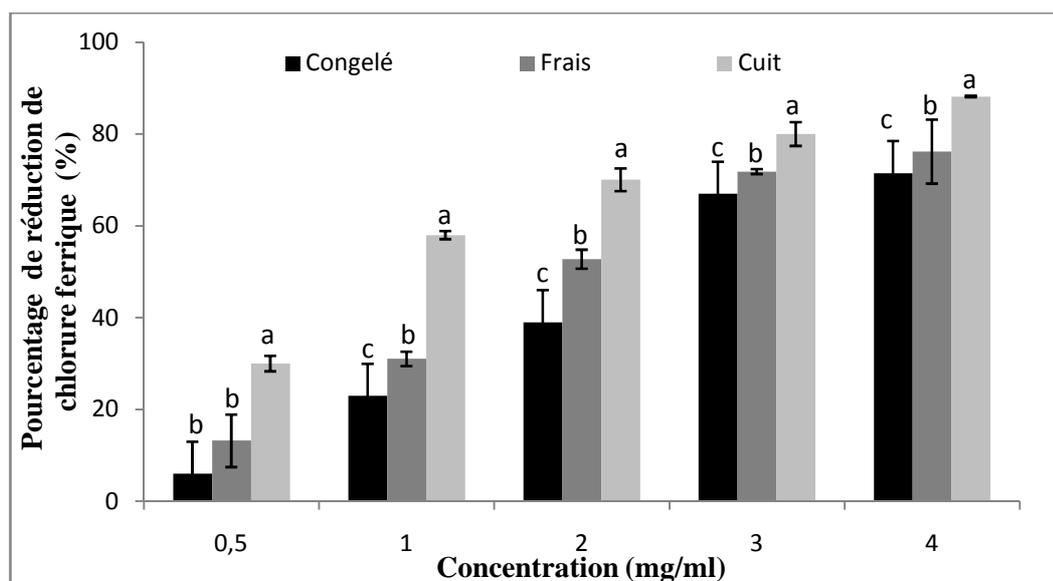


Figure 10 : Pourcentage de réduction du chlorure ferrique en fonction de la concentration des extraits des différents échantillons d’haricot vert.

Les valeurs portant des lettres différents sont différentes significativement ($p < 0,05$). les résultats sont classés par ordre décroissant ; $a > b > c$.

Huang et al. (2006) ont rapporté que la cuisson à la vapeur a augmenté le pouvoir réducteur de la patate douce suite à une meilleure extraction des composés antioxydants, ce qui confirme les résultats de la présente étude. Ils ont suggéré que la cuisson à la vapeur induit des dommages dans les structures cellulaires, facilitent ainsi leur extraction et leur diffusion.

Une diminution du pouvoir réducteur de l’extrait congelé a été observée par rapport à l’extrait frais. Cela est probablement due à la diminution de la teneur en composés phénoliques (**Klimczak et al., 2006**).

Les valeurs des IC50 exprimées en (mg/ml) des différents extraits sont regroupées dans le tableau VI

Tableau VI : Les valeurs des IC50 des différents extraits pour la réduction de chlorure ferrique.

État du légume	IC50 (mg/ml)
Frais	1,8 ±0,08(b)
Cuit à la vapeur	0,92±0,03(c)
Congelé	2,31±0,24(a)

D'après les résultats obtenue l'haricot cuit à la vapeur a donné l'IC50 le plus faible, donc l'activité la plus importante, l'haricot congelé a donné l'IC50 le plus élevé ce qui correspond à l'activité la plus faible.

III-4-2-Réduction de phosphomolybdate

L'activité antioxydant des extraits d'haricot vert étudié est mesurée également en utilisant le test de phosphomolybdate d'ammonium. C'est une méthode quantitative pour l'évaluation de la capacité antioxydante (Ramalakshmi et al., 2008).

Les résultats de la mesure de l'activité antioxydant totale sont présentés dans la figure 11. L'analyse statistique a montré des différences significatives à $p < 0,05$ entre l'activité des différents échantillons. L'activité la plus élevée est observée dans l'échantillon cuit à la vapeur (87 % à une concentration de 4 mg/ml), suivie de celle de l'état frais (79 %), enfin, l'échantillon congelé avec la plus faible activité (65,78 %).

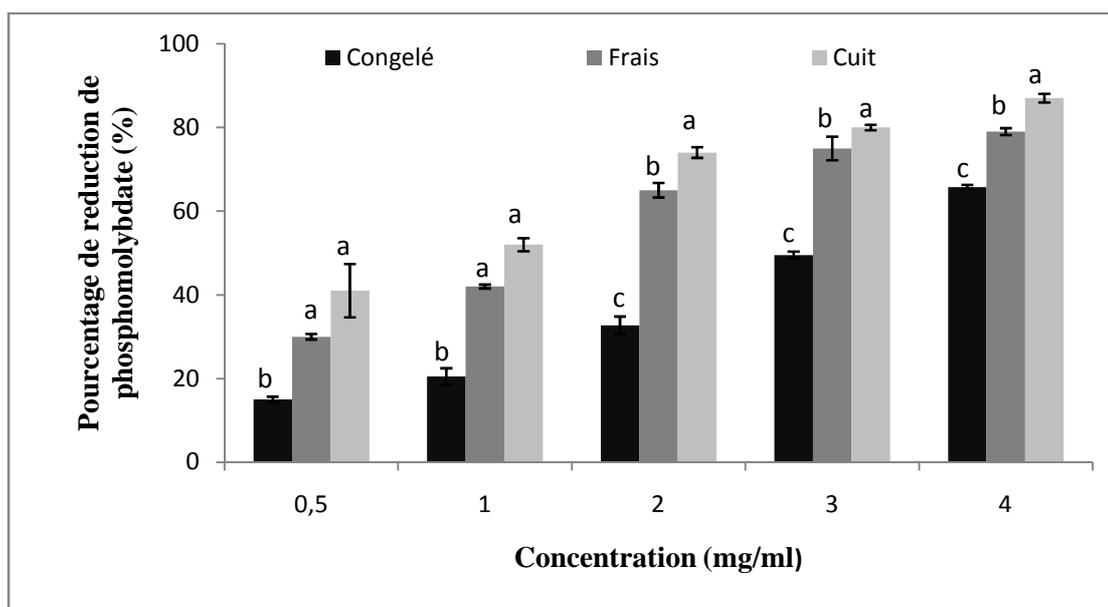


Figure 11 : Pourcentage de réduction du phosphomolybdate en fonction de la concentration des extraits des différents échantillons d'haricot vert.

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre décroissant ; $a > b > c$.

L'augmentation de l'activité antioxydant de l'haricot cuit par rapport à l'état crue peut s'expliquer par l'augmentation de leur teneur en polyphénols totaux. Cela peut être interpréter de deux manières ; soit le chauffage entraîne la libération des composés phénoliques initialement associés aux parois des cellules (Mehinagic et al., 2011). Soit par la formation de nouvelles substances chimiques issues de la réaction de Maillard. Ces

substances peuvent augmenter le pourcentage de l'activité antioxydant (Manzocco *et al.*, 2001).

La capacité antioxydante a été diminuée au cours du stockage au congélateur à -20 °C durant un mois de l'haricot verts. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Kevers *et al.* (2007), dans leur étude sur les épinards et le brocoli. Cependant, la diminution de l'activité antioxydant dans la présente étude a été moins importante par rapport à celle qu'ils ont constatée dans leur étude. Ceci pourrait s'expliquer par la différence des légumes étudiés, la durée et la température de stockage. Serrano *et al.* (2006), ont également montré une diminution de la capacité antioxydante dans le brocoli au cours du stockage. Ces résultats montrent que le stockage peut modifier les teneurs en composés phénolique et donc la capacité antioxydante des légumes.

Les valeurs des IC50 des différents extraits sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau VII : Les valeurs des IC50 des différents extraits pour la réduction de phosphomolybdate.

État de légume	IC50 (mg/ml)
frais	1,21±0,2(b)
Cuit à la vapeur	0,84±0,1(b)
Congelé	3,02±0,09(a)

D'après l'analyse statistique, les IC50 des extraits frais et cuit la vapeur ne présentent pas une différence significative à $p \leq 0,05$, par contre l'extrait subi la congélation a présenté une différence significative par rapport aux deux autres extraits. L'IC50 de ce dernier est la plus élevée donc l'activité la plus faible.

III-4-3-Pouvoir antiradical DPPH[•]

Le DPPH[•] est un radical organique relativement stable qui a été largement utilisé dans la détermination de l'activité antioxydant des différents extraits de plantes. Les antioxydants interagissent avec le DPPH[•] en lui transférant un électron ou un atome d'hydrogène, ce qui entraîne sa neutralisation, par conséquent la couleur change de pourpre vers le jaune (Sharififar *et al.*, 2009).

Les résultats de pouvoir antiradicalaire sont exprimés en pourcentage et sont illustrés dans la figure ci-dessous (Figure 12). Le pourcentage d'inhibition du radicale

DPPH^{*}, par les différents extraits, est significativement différent ($p < 0,05$). En effet, les extraits issus des échantillons cuits sont plus actifs que ceux issus d'haricot cru avec les pourcentages de 87 % et 80 % respectivement à la concentration de 4 mg/ml, par contre l'extrait congelé présente la plus faible activité antiradicalaire (74 %).

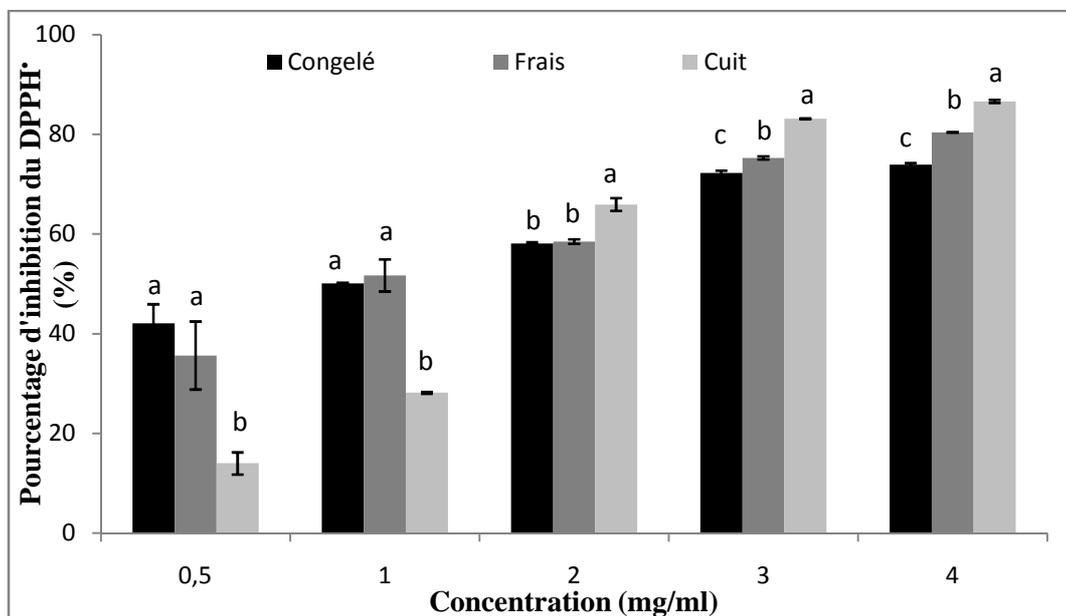


Figure 12 : Pourcentage d'inhibition du radicale DPPH^{*} en fonction de la concentration des extraits des différents échantillons d'haricot vert.

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre décroissant ; $a > b > c$.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Turkmen et al. (2005)** et **McDougall et al. (2010)**, qui ont enregistré une activité élevée des échantillons cuits comparativement ou échantillons crus suite à une étude faite sur plusieurs légumes (poivron, haricot vert, petit pois, brocoli et le pétiole de rhubarbe). Cette augmentation de la capacité antiradicalaire des légumes peut être due à l'inactivation des enzymes oxydantes par le chauffage (**Yamaguchi et al., 2001**).

Une légère diminution de l'activité antioxydante a été constatée après une congélation pendant un mois. Ces résultats concordent avec l'étude de **Puupponen-Pimia et al. (2003)** sur les épinards qui ont enregistré une diminution de 20 %. Cette diminution est probablement liée à une teneur inférieure des composés phénoliques et de la vitamine C de l'état stocké par rapport à l'état frais (**Klimczak et al., 2006**).

Les valeurs des IC₅₀ des différents extraits sont présentées dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Les valeurs des IC50 des différents extraits pour le pouvoir antiradical du DPPH[•].

État du légume	IC50 (mg/ml)
Frais	1,00±0,04(a)
Cuit à la vapeur	1,54±0,01(b)
Congelé	0,90±0,09(c)

D'après le calcul et l'analyse statistique des IC50 de différents échantillons, l'extrait congelé est le plus actif avec un IC50 le plus faible. Ces résultats sont présentés seulement à des faibles concentrations, mais à des concentrations $\geq 2,02$ l'extrait cuit à la vapeur a enregistré l'activité antiradicalaire la plus élevée par rapport aux deux autres extraits.

L'étude statistique révèle l'existence d'une bonne corrélation linéaire entre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] et les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes, en anthocyanines et en flavonols avec des coefficients de corrélation de l'ordre de $r = 0,668$, $r = 0,928$, $r = 0,963$ et $r = 0,867$ respectivement (Annexe III).

III-4-4-Pouvoir antiradical ABTS^{•+}

Les résultats du pourcentage d'inhibition du radical cationique ABTS^{•+} sont représentés dans la figure 13. Ils montrent que le pourcentage d'inhibition augmente au fur et à mesure que la concentration en extrait augmente. L'haricot cuit a donné le pourcentage le plus élevé (87 % à une concentration de 4 mg/ml), suivi de celle frais (72 %) et enfin l'haricot congelé avec le pourcentage le plus faible (60 %). Ces résultats sont confirmés par l'évaluation des valeurs d'IC50 présenté dans le tableau IX.

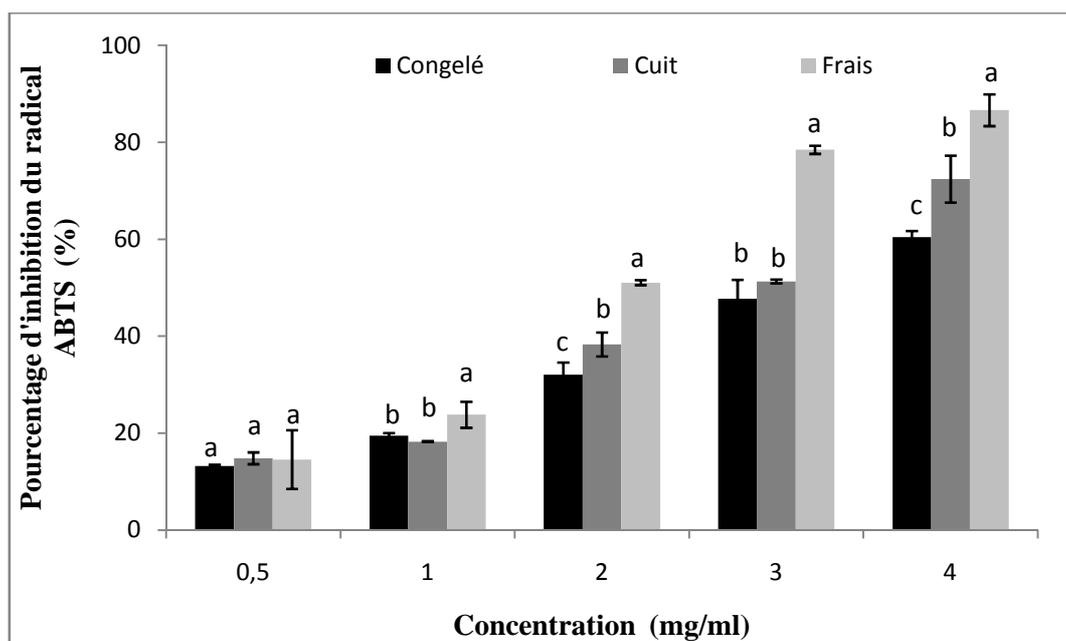


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{•+} en fonction de la concentration des extraits des différents échantillons d'haricot vert.

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre décroissant ; $a > b > c$.

Tableau IX : Les valeurs des IC₅₀ des différents extraits le pouvoir antiradical ABTS^{•+}.

État du légume	IC ₅₀ (mg/ml)
Frais	2,82 ± 0,02 (b)
Cuit à la vapeur	1,91 ± 0,04 (c)
Congelé	3,23 ± 0,21 (a)

Huang *et al.* (2006) ont rapporté que la cuisson à la vapeur de la patate douce a provoqué une augmentation de l'activité antiradicalaire. Arkoube *et al.* (2015) ont constaté le même effet de la cuisson de l'aubergine sur l'activité antiradicalaire. Cette augmentation peut être due à une réaction thermique (destruction des parois et des compartiments cellulaires et libération des composés antioxydants, et/ou l'inactivation des enzymes oxydantes par le chauffage). Soit par une réaction chimique par la formation de nouveau composé tel que des produits de réaction de Maillard.

La congélation d'haricot vert pendant un mois a montré une diminution de l'activité antiradicalaire. Ces résultats concordent avec l'étude de Serrano *et al.* (2006), qui ont également montré une diminution de la capacité antioxydante dans le brocoli au cours de

stockage. Cela peut être le résultat de la diminution de la teneur en composés phénoliques et de vitamine C **Klimczak et al. (2006)**.

L'étude statistique a révélé l'existence d'une différence significative entre les différents échantillons à $p \leq 0,05$. Une meilleure activité antiradicalaire a été enregistrée dans l'haricot cuit à la vapeur d'eau avec l'IC50 le plus faible, suivi de l'extrait frais et enfin, de celui congelé.

Ce travail est consacré à l'étude de l'effet de la conservation et de la cuisson à la vapeur sur les paramètres physico-chimiques, la teneur des différents antioxydants : polyphénols totaux, flavonoïdes, anthocyanines et flavonols, ainsi que le pouvoir antioxydants et antiradicalaire de l'haricot vert.

Les résultats obtenus indiquent que 89 % de la masse d'haricot verts frais est constitué d'eau. La cuisson à la vapeur provoque une augmentation du taux d'humidité et de brunissement non enzymatique. La congélation a aussi augmenté le taux d'humidité et l'acidité titrable par rapport à l'état frais, par contre, une diminution du pH, de brunissement non enzymatique et de taux des cendres a été enregistrée.

L'évaluation du contenu en polyphénols totaux a montré que l'extrait d'haricot cuit à la vapeur est le plus riche avec un taux de $1011,67 \pm 47$ mg/100 g Ech, suivi de celui de l'extrait frais, puis congelé avec des taux de 985 ± 16 mg/100 g Ech et 605 ± 31 mg/100 g Ech respectivement. En ce qui concerne les teneurs des flavonoïdes, des anthocyanine et des flavonols de l'état cuit ($105,52 \pm 8,75$ mg /100 g Ech ; $3,9 \pm 0,32$ mg ECG/100 g Ech ; $15,15 \pm 0,62$ mg EQG/100 g Ech respectivement), il y a une augmentation de ces teneurs par rapport à l'état frais ($71,35 \pm 6,42$ mg/100 g Ech, $1,9 \pm 0,17$ mg ECG/100 g Ech et $12,83 \pm 0,87$ mg EQG/100 g Ech respectivement), alors que la congélation a provoqué une diminution de la teneur de ces derniers $6,42, 50 \pm 5,4$ mg EQ/100g Ech ; $1,6 \pm 0,23$ mg ECG/100 g Ech et $9,19 \pm 0,04$ mg EQG/100 g Ech respectivement.

Les meilleurs pouvoirs réducteurs (réduction du chlorure ferrique et réduction de phosphomolybdate) et les meilleures activités antiradicalaire (avec le radical DPPH[•] et ABTS^{•+}) sont obtenus avec l'extrait d'haricot cuit à la vapeur avec les pourcentages suivant : 88.18 % et 87% pour les trois autres tests avec des IC50 d'ordre de $0,92 \pm 0,03$; $0,84 \pm 0,1$; $1,54 \pm 0,01$ et $1,91 \pm 0,04$ respectivement. Concernant, l'état congelé une légère diminution a été enregistré par rapport à l'état frais.

Ces résultats permettent de conclure que l'haricot frais ou cuit est une source de plusieurs antioxydants. Afin de compléter ce travail, il serait souhaitable d'élargir l'échantillonnage pour l'ensemble du territoire national, de quantifier la teneur en minéraux, en vitamines, en fibres, en protéines et en lipides et de tester les antioxydants de l'haricot vert *in vivo* et effectuer d'autres activités biologiques.

-A-

Adams, M.W., Coyne, D.P., Davis, J.H.C., Graham, P.H. et Francis, C.A. (1985). Common bean (*Phaseolus vulgaris L.*), In R. J. Summerfield and E H. Roberts (Eds.), Grain Legume Crops, Collins. London.433-476.

AFNOR. (1982). Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruit. Ed. AFNOR. 1-325.

Al-Mamun, M., Yamaki, K., Masumizu, T., Nakai, Y., Saito, K., Sano, H. et Tamura, Y. (2007). Superoxide anion radical scavenging activities of herbs and pastures in northern japan determined using electron spin resonance spectrometry. *International Journal of Biological Sciences*. 3: 349-355.

Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I. et Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules Journal*. 12: 1496-1547.

Arkoub-Djarmoune, L., Boulekbache-Makhlouf, L., Zeghichi-Hamri, S., Bellili, S., Boukhalfa, F. et Madani, K. (2015). Influence of the thermal processing on the physicochemical properties and the antioxidant activity of a solanaceae vegetable: eggplant. *Journal of Food Quality*. 1745-4557.

Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S. et Khebri, S. (2010). Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *decuminum cyminum*. *Journal Lebanese Science*. 11 (1) : 69.

-B-

Barkat, M. et Kadri, F. (2011). Impact de deux modes de cuisson sur la teneur en polyphénols solubles de six légumes. *Revue de génie industriel*. 6 : 41-45.

Baudouin, J.P., Vanderborght, T., Kimani, P.M. et Mwangombe, A.W. (2001). Légumes à grains : Haricot, Q Agriculture en Afrique Tropicale. Bruxelles. 337 – 355.

Bougatef, A Hajji, M Balti, R., soued, I., Triki-Ellouz, Y. et Nasri, M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*. 114: 1198-1205.

Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*. 56 (11): 317-333.

Broughton, W.J. (2003). Roses by Other Names: Taxonomy of the *Rhizobiaceae*. *Journal of Bacteriology*. 185: 2975-79.

Bunea, A., Andjelkovic, M., Socaciu, C., Bobis, O., Neacsu, M., Verhe, R. et Camp, J.V. (2008). Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh, refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea L.*). *Food Chemistry*. 108: 649–656.

-C-

Cauplan F. (1998). Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées. Ed : Delachaux et Niestle. Paris. France. 111.

Chira, K., Suh, J.H., Saucier, C. et Teissédre, P.L. (2008). Phytonutrition fondamentale : Les polyphénols du raisin. *Phytotherapy research*. 6: 75–82.

Crozier, A., Clifford, M.N. et Ashihara, H. (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. (Eds.), Wiley-Blackwell, Oxford. 1-19.

-D-

Dangles, O., Stoeckel, C., Wigand, M.C. et Brouillard, R. (1992). Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Letter*. 33: 5227-5230.

Darkwa, K., Ambachew, D., Mohammed, H., Asfaw, A. et Blair, M.W. (2016). Evaluation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for drought stress adaptation in Ethiopia. *The Crop Journal*. 4: 367-376.

Dewick, P.M. (1995). The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*. 12: 579-607.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. et Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. 97: 654–660.

Djeugap, F.J., Mefire, M.h., Nguéfack, J. N., Gueguim, M. et Fontem, D.A. (2014). Effet variétal et du traitement fongicide sur la sévérité de la maladie des taches angulaires et le rendement du haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) à l'Ouest-Cameroun. *International Journal of Biological and chemical science*. 8(3): 1221-1233.

Doukani, K. et Tabak, S. (2015). Profil physicochimique du fruit "Lendj" (*Arbutus unedo* L.). *Nature and Technologie*. 12: 53-66.

Dowson, W.H. et Atmen, B. (1963). Composition et maturation, récolte et conditionnement des dattes. (Eds.), Collection FAO, Rome. 334 .

Doymaz, I., Gorel, O. et Akgum, N.A. (2004). Drying characteristics of the solid by product of olive oil extraction. *Biosystems Engineering*. 88 (2): 213-219.

Druyne, T. (1999). Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*. 27 (4): 445-459.

Duan, X., Jing, Y., Su, X., Zhang, Z. et Shi, J. (2007). Antioxydant properties of anthocyanins extracted from litchi fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning. *Food Chemistry*. 101: 1365-1371.

Dupont, M.S., Mondin, Z., Williamson, G. et Price, K.R. (2000). Effect of variety, processing, and storage on the flavonoid glycoside content and composition of lettuce and endive. *Journal of agriculture and food Chemistry*. 48(9): 3957-3964.

-F-

Fleeger, J.L. et Flipse, I.J. (1964). Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. *Journal of Dairy Science*. 47 (5): 535-538.

Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. et Macheix, J-J. (2005). Composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*. 121-216.

Fortin, J. (1996). Le guide des aliments. (Eds.), Québec Amérique Inc, Canada.137-139.

-G-

Ganjewala, D., Boda, S. et Raghavendra, A.S. (2008). Sodium nitroprusside affects the level of anthocyanin and flavonols glycosides in pea (*pisum sativum L.cv .arkel*). *Acta Biologica Szegediensis*. 52(2) : 301-305.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Z Abedinzadeh, Z. et Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique?. *l'actualité chimique*. 91-95.

Gepts, P. (1990). Biochemical Evidence Bearing on the Domestication of *Phaseolus* (Fabaceae) Beans. *Economic Botan*. 44(3): 28-38.

Ghafar, A.M.F., Prasad, N., Weng, K.K. et Ismail, A. (2009). Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from Citrus species. *Full Length Research Paper*. 9(3): 326-330.

Guignard, J.L. (1998). Boutanique. Les familles de plantes (Eds). Masson, 159.

-H-

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C. et Chapelle, J.P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Medicale De Liege*. 62 (10): 628-638.

Hallwell, B. et Gutteridge, J.M.C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*. 219: 1-14.

Hopkin, W.G. et William, G (1995). Physiologie végétale. De Boeck Supérieur, Bruxelles. 278-280.

Huang, Y.C., Chang, Y.H. et Shao, Y.Y. (2006). Effects of genotype and treatment on the antioxidant activity of sweet potato in Taiwan. *Food Chemistry*. 98: 529-538.

-J-

Jourd'heuil, D., Kang, D. et Grisham, M.B. (1997). Interactions between superoxide and nitric oxide: implications in DNA damage and mutagenesis. *International Journal of Biological Sciences*. 3: 349-355.

Jun, L., Holmgren, A. (2014). The thioredoxin antioxidant system *Free Radical Biology and Medecin*. 66: 75–87.

-K-

Kadam, S.S., Kute, L.S., Lawande, K.M. et Salunke, D.K. (1982). Changes in chemical composition of winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus L.*) during seed development. *Journal of Food Science*. 47: 2051-2053.

Kaloustian, J., Alhanout, K., Amiot-Carlin, M.J., Lairon, D., Portugal, H. et Nicolay, A. (2008). Effect of water cooking on free phytosterol levels in beans and vegetables. *Food Chemistry*. 107: 1379–1386.

Kaplan, L. (1981). What is the origin of the common bean?. (Eds.), *Eton Botanique* . 19: 358-368 .

Kevers, C., Falkowski, M., Tabart, J., Defraigne, J, O., Dommès, J. et Pincemail, J. (2007). Evolution of Antioxidant Capacity during Storage of Selected Fruits and Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 8596–8603.

Klimczak, I., Maecka, M., Szlachta, M., Gliszczynska-Swig Lo, A. (2006). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*. 10: 60-967.

Košir, I.J., Lapornik, U., Andrenšek, S., Wondra, AG., Vrhovšek, U. et Kidric, J. (2004). Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Analytica Chimica Acta*. 513: 277–282.

Kumar, R.S., Sivakumar, T., Sunderam, R.S., Gupta, M., Mazumdar, U.k., Gomathi, P., Ajeshwar, Y., Sravanan, S., Kumar, M.S., Murugesh, K. et Kumr, K.K.A. (2005). Antioxydant and antimicrobial activities of *Bauhinia rcemosa L.* Stem bark. Brazilian. *journal of Medical and biological Research*. 38: 1015-1024.

-L-

Lapornik, B., Posek, M. et Golc Wondra, A. (2005). Coparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of food Engineering*. 71: 214-222.

Laughton, M.J., Halliwell, B., Evans, P.J., et Hoult, J.R. (1989). Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. Effects on lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin-dependent damage to DNA. *Biochemistry and Pharmacology*. 38: 2859–2865.

Lenoir, L. (2011). Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modele d'inflammation colique chez le rat. Médecine humaine et pathologie. Thèse de Doctorat de Nutrition. Université d'Auvergne. Science de la vie et de la sante, 1.

Letang, G. (1997). La perte d'eau au cours de la réfrigération dans l'air des fruits et des légumes. *Générale du Froid*. 969: 37-42.

Lyoumi, S., Tamion, F., Leplingard, A., Beaumont, C., Puy, H. et Lebreton, .P. (2007). Rôles protecteurs de l'hème oxygénase et des catabolites de l'hème. *Hématologie*. 13 (4): 251-265.

-M-

Maataoui, B. S., Hmyene, L.A. et Hilaliet, S. (2006). Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*. 7 (1): 3-8.

Manzocco, L., Calligaris, Y.S., Mastrocola, M., Cristina Nicoli, M. et Raffaele Lerici, C. (2001). Review of nonenzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Food Science and Technology*. 11: 340-346.

Marc, F., Davin, A., Benbrahim, L., Ferrand, C. et Fritch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine Science*. 20: 458-463 p.

Matés, J.M., Perez-gomez, C. et Nunez de castro, I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Journal of Clinical Biochemistry*. 32(8): 595-603.

McDougall, G.J., Dobson, P. et Jordan-Mahy, N. (2010). Effect of different cooking regimes on rhubarb polyphenols. *Food Chemistry*. 119: 758-764.

Mehinagic, E., Bourles, E. et Jourjon, F. (2011). Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*. 43 (6): 364-368.

Minussi, R. C., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, G. M., et al. (2003). Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chemistry*. 82: 409-416.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Food Science and Technology*. 26: (2) 211-219.

-N-

Nordberg, J. et Arnér, E. S. J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31 (11): 1287-1312.

-O-

Olivera, D.F., Vina, S.Z., Marani, C.M., Ferreyra, R.M., Mugridge, A., Chaves, A.R et Mascheroni RH.(2008). Effect of blanching on the quality of Brussels sprouts (*Brassica oleracea L. gemmifera DC*) after frozen storage. *Journal of Food Engineering*, 84: 148-155.

Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44: 315-707.

-P-

Pham-Huy,L.A., He.H. et Pham-Huy.C.(2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *The International journal of Biomedical science*. 4(2): 89-96.

Puupponen-Pimia",R., T Ha" kkinen,S., Aarni, M., Suortti,T., Lampi.A. , Eurola.M. Piironen ,v., Nuutila1,A.M.et Oksman-Caldentey.K. (2003). Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83: 1389–1402.

-R-

Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical interventions in aging*. 2(2): 219.

Ramlakshmie, K., Rahalh kubra, L. et Jagan-Mohan- Rao, L. (2008). Antioxidants potentialle of low- grade coffee beans. *Food research International*. 41: 96-103.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice- Evans, C., (1998). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26: 1231–1237.

Ribeiro, S.M.R., Barbosa, L.C.A., Queiroz, J.H., Knodler, M. et Schieber, A. (2008). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangi feraindica L.*) varieties. *Food chemistry*. 110: 620-626.

Rodrigues. A.S., Perez, R.G.et Simal-Gandara, J. (2009). Effect of curing and cooking on flavonols and anthocyanins in traditional varieties of onion bulbs. *Food Research International*. 8(6): 619-624.

-S-

Saïdane, M. et Marzouk, B. (2003). Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon,bergamot and bitter orange. *Phytochemistry*. 62: 1283-1289.

Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy,Y.S.R. et Biplab,D. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 3: 91-99.

Serrano, M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Castillo, S. et Valero D. (2006). Maintenance of broccoli quality and functional properties during cold storage as affected by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology*. 39: 61–68.

Sharififar, M., Dehghn-Nudeh. G. et Mirtajaldini, M. (2009). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium L.* *Food Chemistry*. 112: 885–888.

Sousa. A., Ferreira. R., Barros. L., Bento, A. et Pereira, J.A. (2008). Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives ‘‘alcaparras’’. *Food Science and Technology*. 41: 739–745.

-T-

Tomas-Barberàn, F.A. et Espin, 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: 853-876.

Torres, M. (2004). Légumes et céréales. (Eds.), Delville, Paris, 104-108.

Turkmen, N., Sari Fet Velioglu, Y.S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*. 93: 713–718.

-V-

Valdés, S.T., Coelho. C.M.M., Michelluti, D.J., Cardoso, G. et Tramonte, V.L. (2011). Association of genotype and preparation methods on the antioxidant activity, and antinutrients in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Science and Technology*. 44: 2104-2111.

Velioglu, Y.S., Mazza. G., Gao, L et Oomah, B.D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 4113-4117.

-W-

Walker, J.E., Saraste, M. et Runswick, M.J. (1982). Distantly related sequences in alpha-and beta –subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *Journal of the European Molecular Biology Organization*. 1(8): 945.

-Y-

Yamaguchi, T., Mizobuchi , T., Kajikawa , R., Kawashima, H., Miyabe, F., Terao, J., Takamura, H. et Matoba, T. (2001). Radical scavenging activity of vegetables and the effect of cooking on their activity. *Food Science and Technology*.7: 250–7 .

Annexe I : Courbes d'étalonnages utilisées pour le dosage des composés phénoliques

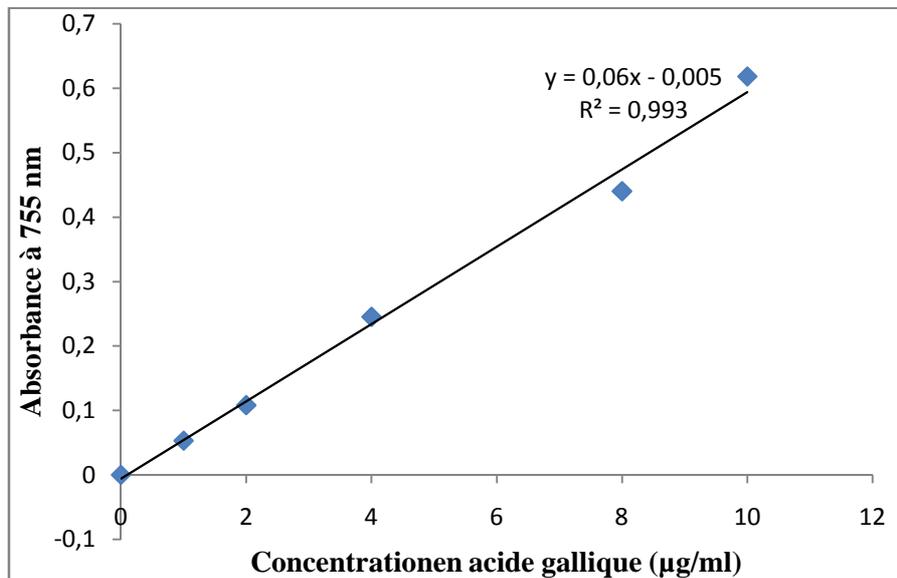


Figure 01 : Courbe étalon pour dosage des polyphénols totaux

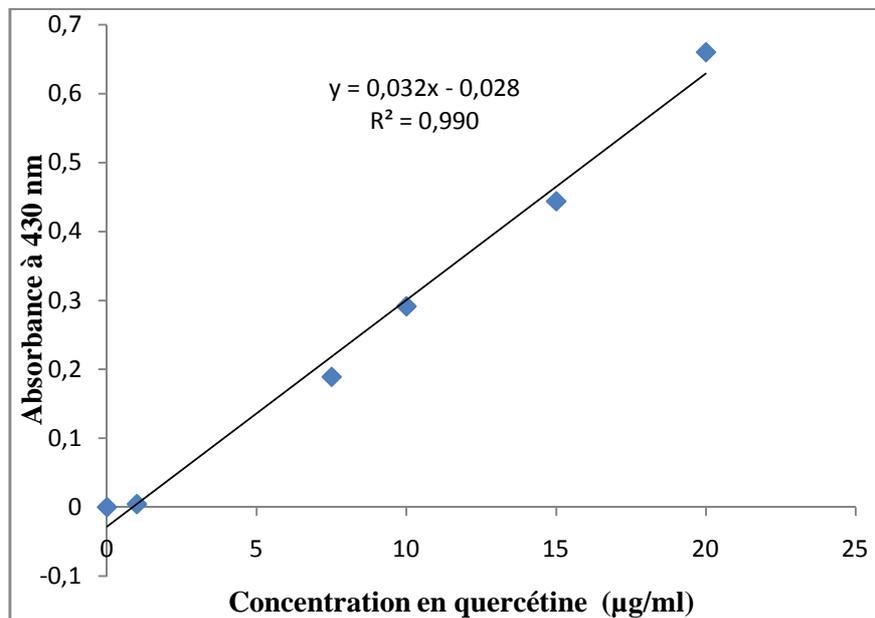
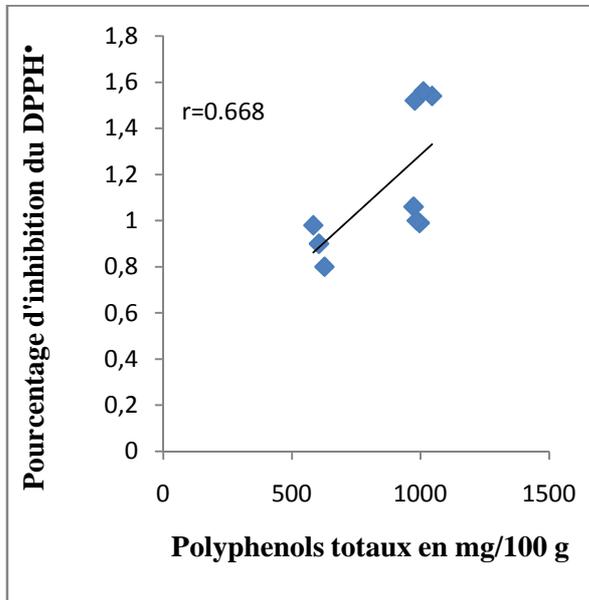
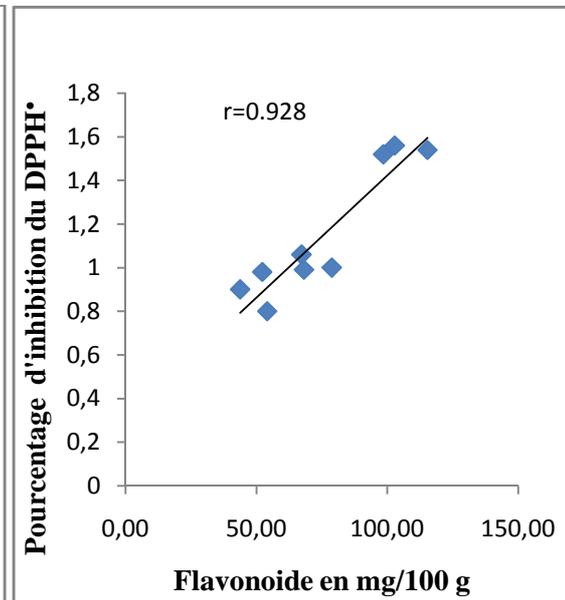


Figure 02 : Courbe étalon pour le dosage des flavonoïdes

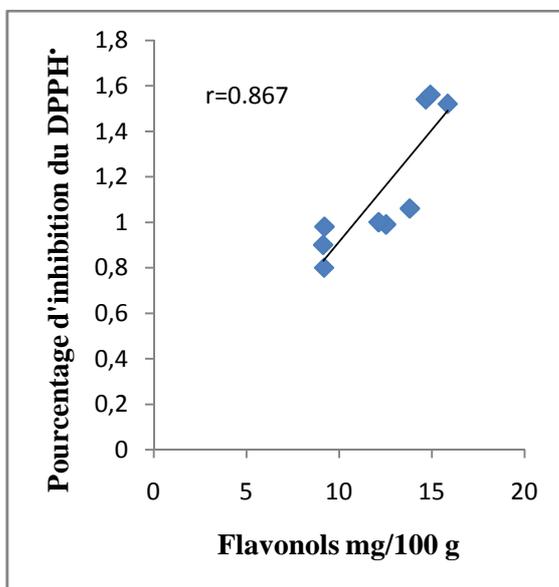
Annexe II : Corrélation entre le pourcentage d'inhibition du radical DPPH et la teneur en composés phénoliques dosées.



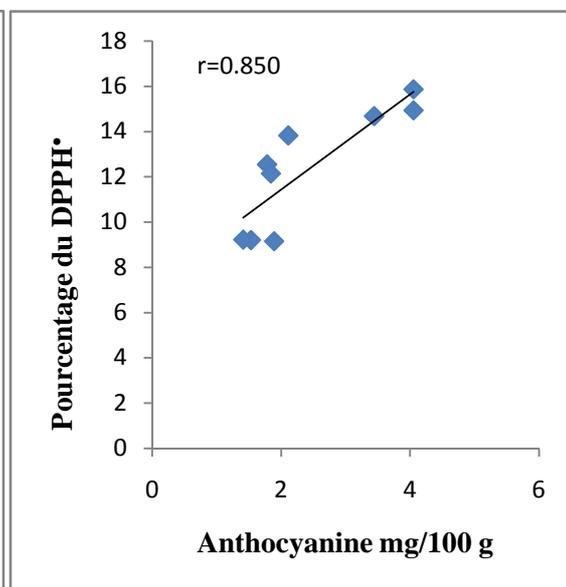
1-Avec les polyphénols



2-Avec flavonoïdes



3-Avec flavonols



4-Avec anthocyanine

Annexe III : produit et appareillage

Produits chimiques	Appareillages utilisés
-ABTS(C ₁₈ H ₁₂ NO ₆ S ₄) -Acétate de sodium(C ₂ H ₃ NaO ₂) -Acétate de Zinc(C ₄ H ₆ O ₄ Z _n) -Acétone -Acide chlorhydrique (HCl) -Acide sulfurique (H ₂ SO ₄) -Acide trichloroacétique (C ₂ HC ₁₃ O ₂) -Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃) - Chlorure d'aluminium (AlCl ₃) -Chlorure ferrique (FeCl ₃) -Dihydrogénophosphate de sodium (NaH ₂ PO ₄) -DPPH (C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆) -Éthanol -Ferricyanure de potassium (K ₃ Fe(CN) ₆) -Folin-Ciocalteu Hydrogénophosphate de sodium (Na ₂ HPO ₄) -Hydroxyde de sodium (NaOH) -Méthanol -Molybdate d'ammonium ((NH ₄) ₂ Mo ₄ O ₁₃) -Persulfate de potassium(K ₂ S ₂ O ₈) -Phénophtaléine (C ₂₀ H ₁₄ O ₄) -Phosphate de potassium (KH ₂ PO ₄) -Standards (Quercétine, Acide gallique, Acide ascorbique).	- Balance -Bain marie -Balance de précision -Baro magnétique -Béchers -Burette -Centrifugeuse -Entonnoir -Éprouvette graduée - Erlenmeyer -Étuve ventilée -Fiole jüge -Four a moufle -Micro spatule -Micropipette -Mortier avec pilon -Papier aluminium -Papier filtre -Para film -PH mètre -Pipette graduée -Pissette -Plaque agitatrice - Portoir -Spatule -Spectrophotomètre UV-Visible -Tubes à essais -Tubes coniques -Vortex

Résumé

Le but de la présente étude est d'évaluer l'effet de la cuisson et de la conservation sur la physico-chimie, la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de *Phaseolus vulgarise L.* (l'haricot vert). Les résultats obtenus indiquent que 89 % d'haricot vert frais est constitué d'eau, la cuisson provoque une augmentation significative de taux d'humidité et de brunissement non enzymatique. La conservation provoque une augmentation significative de taux d'humidité et l'acidité titrable par rapport à l'état frais. Les résultats du dosage des composés phénoliques montrent que l'extrait cuit à la vapeur est plus riche en polyphénols, flavonoïdes, anthocyanines et Flavonols (1011.67±47 mg/100 Ech 105.5±8.75 mg /100g, 3.9±0.32 mg ECG/100g Ech, 15.15±0.62 mg EQG/100g respectivement). Cependant, une diminution de la teneur de ces composés a été constatée pour l'haricot vert congelé. L'activité antioxydante est évaluée par quatre testes différents (le test de chlorure ferrique, l'activité antioxydant totale et l'activité scavenging d'ABTS⁺⁺ et de DPPH^{*}), l'extrait de l'haricot cuit à la vapeur présente la meilleure activité antioxydante.

Mot clé : *Phaseolus vulgarise L.*, antioxydants, activité antioxydante, effet de cuisson, effet de conservation, physico-chimie.

Abstract

The present study is interested in the evaluation of the effect of cooking and conservation on the physical and chemical parameters, the content of phenolic compounds and the antioxidant activity of common bean (*Phaseolus vulgarise L.*). The results obtained indicate that 89% of the mass of the common bean was water, the cooking causes a significant increase in non enzymatic browning index and moisture. Conservation causes a significant increase in moisture and acidity compared to the fresh state. The results of the determination of phenolic compounds show that the extract cooked with the steam is rich in polyphenols, flavonoids, anthocyanins and Flavonols (1011.67±47 mg/100 Ech 105.5±8.75 mg EQ/100g, 3.9±0.32 mg ECG/100g Ech, 15.15±0.62 mg EQG/100g, respectively). However, a reduction in the content of these compounds was noted in frozen common bean. The antioxidant activity was evaluated by four different tests (the reducing power test, total antioxidant capacity and scavenging activity of ABTS⁺⁺ and DPPH^{*}), the common bean cooked with the steam presents the best antioxidant activity.

Key words: *Phaseolus vulgarise L.*, antioxidant, antioxidant activity, effect of cooking, effect of conservation, physico-chemical parameters.

ملخص

سمحت لنا هذه الدراسة بتقييم تأثير الطهي والتجميد على العوامل الفيزيوكيميائية، متعددات الفينول والنشاط المضاد للأكسدة *Phaseolus vulgarise L.* تشير النتائج إلى أن 89% من الفاصوليا الخضراء الطازجة مكونة من المياه، ويتسبب الطبخ في زيادة نسبة الرطوبة و الاسمرار الغير الأنزيمي. يتسبب تجميد الفاصولياء الخضراء في زيادة الرطوبة و الحموضة مقارنة بالنسبة للفاصولياء الطازجة. أظهرت نتائج تحديد المركبات الفينولية أن المستخلص المطبوخ بالبخر غني بمتعدد الفينولات، الفلافونويدات، الأنثوسيانين والفلافونول (1011.67±47 ملغ/100غ من العينة، 105.5±8.75 ملغ/100غ من العينة، 3.9±0.32 ملغ/100غ من العينة، 15.15±0.62 ملغ/100غ من العينة و EQG/100g، respectively). ولقد لوحظ انخفاض في محتوى هذه المركبات في المستخلص المجمد. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال أربع اختبارات مختلفة (قوة الإرجاع، إجمالي القدرة المضادة للأكسدة والنشاط الكاسح DPPH⁺ و ABTS⁺⁺). مستخلص الفاصولياء الخضراء المطبوخة على البخار تمثل أحسن نشاط مضاد للأكسدة

الكلمات المفتاحية : الفاصولياء الخضراء ، مضادات الأكسدة، النشاط المضاد للأكسدة، تأثير الطهي، تأثير التجميد، العوامل الفيزيوكيميائية.

INTRODUCTION

SYNTHESE

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

BIBLIOGRAPHIQUE

**MATERIEL
ET
METHODES**

**RESULTATS
ET
DISCUSSION**

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

