

Dédicaces

A mes parents. A mes très chers frères : Zine el abidine et Djamel
eddine . A ceux, qui me sont chers, je dédie ce travail.

M^{elle} LAIB Imen

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	01
Synthèse bibliographique	
1. Les polyphénols	04
1.1. Généralités sur les polyphénols	04
1.2. Classification des composés phénoliques	04
1.3. Localisation des composés phénoliques dans la plante	05
1.4. Métabolisme des polyphénols	07
1.4.1. Biosynthèse	07
1.4.2. Dégradation	08
1.5. Facteurs de variabilité des polyphénols	09
1.6. Activités antioxydante et anticholinestérase des polyphénols	11
1.6.1. Activité antioxydante des polyphénols	11
1.6.2. Activité anticholinestérase des polyphénols	13
2. L'effet de la cuisson sur les légumes	15
2.1. Généralité sur les légumes	15
2.2. Effet de la cuisson sur les légumes	16
2.2.1. Concept de la cuisson	16
2.2.2. Méthodes de cuisson	16
2.2.3. Paramètres de cuisson des légumes	17
2.2.3.1. Transfert de chaleur	17
2.2.3.2. Taux de chauffage	19
2.2.4. Changements de qualité pendant la cuisson	20
2.2.4.1. Changements de texture	20
2.2.4.2. Changements de couleur et de saveur	21
2.2.4.3. Changements nutritionnels	22
2.2.4.4. Aspects sanitaires	22
2.2.5. Effet de la cuisson sur la teneur en polyphénols des légumes	23
2.2.5.1. Polyphénols des légumes	23
2.2.5.2. Effet de la cuisson sur le contenu phénolique des légumes	24
Matériel et méthodes	
1. Matériel végétal	26
2. Méthodes	28
2.1. Préparation et cuisson des échantillons	28
2.1.1. Préparation des échantillons	28
2.1.2. Cuisson	29
2.1.2.1. Cuisson dans l'eau bouillante	29
2.1.2.2. Cuisson à la vapeur	29
2.1.2.3. Cuisson par microonde	29
2.2. Extraction et dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux	31
2.2.1. Préparation des échantillons crus et cuits	31
2.2.2. Extraction des polyphénols totaux	31
2.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux	32
2.2.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux	32
2.3. Identification et quantification des polyphénols par LC-MS/MS	32
2.3.1. Instruments et conditions chromatographiques	32
2.3.2. Méthode de validation des paramètres pour les LC-MS / MS	33
2.4. Évaluation de l'activité antioxydante	35
2.4.1. Détermination de l'activité antioxydante par la méthode DPPH	35
2.4.2. Méthode de piégeage du radical ABTS	36
2.4.2. Méthode de capacité antioxydante réductrice de cuivre (CUPRAC)	37
2.5. Détermination de l'activité anticholinestérase par le test d'Ellman	38

2.5.1.	Activité anti acétylcholinestérase (AChE).....	38
2.5.2.	Activité anti -butyrylcholinestérase (BChE)	38
2.6.	Plan d'expérience pour l'optimisation des conditions de cuisson combinées à la méthode d'extraction des composés phénoliques	39
2.6.1.	Plan de criblage	40
2.6.1.1.	Modèle mathématique	40
2.6.1.2.	Niveaux des variables	40
2.6.1.3.	Analyse du plan.....	44
2.6.2.	Optimisation	46
2.6.2.1.	Modèle mathématique	46
2.6.2.2.	Niveaux des variables	46
2.6.2.3.	Analyse du plan.....	47
2.7.	Analyse statistique	48

Résultats et discussions

1.	La pomme de terre	49
1.1.	La pomme de terre crue	49
1.1.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre crue.....	49
1.1.2.	Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre crue.....	50
1.1.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps de macération et d'ultrasonication des polyphénols totaux de la pomme de terre crue.....	53
1.2.	La pomme de terre cuite à la vapeur.....	53
1.2.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre.....	53
1.2.2.	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à la vapeur de la pomme de terre.....	54
1.2.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps et à la température de cuisson à la vapeur de la pomme de terre	57
1.3.	La pomme de terre cuite à l'eau.....	57
1.3.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à l'eau et d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre.....	57
1.3.2.	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à l'eau de la pomme de terre.....	58
1.3.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps et à la température de cuisson à l'eau de la pomme de terre	60
1.4.	La pomme de terre cuite par microonde	60
1.4.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux de pomme de terre cuite par microonde.....	60
1.4.2.	Modélisation et optimisation des conditions de la cuisson par microonde de la pomme de terre.....	62
1.4.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport à la puissance de la microonde et au temps de cuisson de la pomme de terre	64
1.5.	Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux de la pomme de terre	64
1.6.	Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC MS/MS) des extraits de la pomme de terre	67
1.7.	Activité antioxydante des extraits de la pomme de terre	70
1.8.	Activité anticholinestérase des extraits de la pomme de terre	74
2.	L'oignon.....	78
2.1.	L'oignon cru	78
2.1.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon cru	78
2.1.2.	Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon cru.....	79

2.1.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport à la concentration du solvant et au temps de macération des polyphénols de l'oignon cru	81
2.2.	L'oignon cuit à la vapeur	81
2.2.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon	81
2.2.2.	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon	83
2.2.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps de l'ultrasonication et de cuisson à la vapeur de l'oignon	85
2.3.	L'oignon cuit à l'eau	85
2.3.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à l'eau et d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon	85
2.3.2.	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à l'eau et d'extractions des polyphénols de l'oignon	86
2.3.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps d'ultrasonication et de cuisson à l'eau de l'oignon	88
2.4.	L'oignon cuit par microonde	89
2.4.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon	89
2.4.2.	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon	90
2.4.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps de macération et de cuisson par microonde de l'oignon	92
2.5.	Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux de l'oignon	92
2.6.	Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) des extraits de l'oignon	96
2.7.	Activité antioxydante des extraits d'oignon	99
2.8.	Activité anticholinestérase des extraits d'oignon	103
3.	L'épinard	106
3.1.	L'épinard cru	106
3.1.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cru	106
3.1.2.	Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cru	107
3.1.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport à la concentration du solvant et au temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'épinard cru	109
3.2.	L'épinard cuit à l'eau	109
3.2.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux et de la cuisson à l'eau de l'épinard	109
3.2.2.	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à l'eau de l'épinard	111
3.2.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps et à la température de cuisson à l'eau de l'épinard	113
3.3.	L'épinard cuit à la vapeur	113
3.3.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard	113
3.3.2.	Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cuit à la vapeur	115
3.3.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps de macération et d'ultrasonication de l'épinard cuit à la vapeur	117
3.4.	L'épinard cuit par microonde	117
3.4.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de la cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard	117
3.4.2.	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson par microonde de l'épinard	119
3.4.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport à la puissance de la microonde et au temps de cuisson de l'épinard	121

3.5	Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux de l'épinard ..	121
3.6.	Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) des extraits de l'épinard.....	124
3.7.	Activité antioxydante des extraits de l'épinard.....	127
3.8.	Activité anticholinestérase des extraits de l'épinard.....	129
4.	L'aubergine	133
4.1.	L'aubergine crue.....	133
4.1.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine crue.....	133
4.1.2.	Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine crue.....	134
4.1.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport à la concentration du solvant et au temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'aubergine crue.....	136
4.2.	L'aubergine cuite à l'eau	137
4.2.1.	Plan de criblage et sélection des conditions de cuisson à l'eau et d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine	137
4.2.2.	Modélisation et optimisation des conditions de la cuisson à l'eau de l'aubergine	138
4.2.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport à la température et au temps de la cuisson à l'eau de l'aubergine.....	140
4.3.	L'aubergine cuite à la vapeur.....	141
4.3.1.	Plan de criblage et sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine	141
4.3.2.	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols de l'aubergine	142
4.3.3	Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps d'ultrasonication et à la température de cuisson à la vapeur de l'aubergine.....	144
4.4.	L'aubergine cuite par microonde.....	144
4.4.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de la cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine.....	144
4.4.2	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson par microonde de l'aubergine	146
4.4.3	Confirmation du modèle optimisé par rapport au volume d'eau ajoutée et au temps de cuisson par microonde de l'aubergine.....	148
4.5	Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'aubergine	148
4.6.	Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) des extraits de l'aubergine.....	153
4.7.	Activité antioxydante des extraits de l'aubergine.....	156
4.8.	Activité anticholinestérase des extraits de l'aubergine.....	160
5.	La carotte.....	163
5.1.	La carotte crue	163
5.1.1.	Plan de criblage pour la sélection des facteurs d'extraction des polyphénols totaux de la carotte crue.....	163
5.1.2.	Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la carotte crue.....	164
5.1.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps de macération et d'ultrasonication pour l'extraction des polyphénols de la carotte crue.....	166
5.2.	La carotte cuite à l'eau.....	166
5.2.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à l'eau et d'extraction des polyphénols totaux de la carotte.....	166
5.2.2.	Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux et de la cuisson à l'eau de la carotte.....	168
5.2.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps d'ultrasonication et Température de cuisson à l'eau de la carotte	170
5.3.	La carotte cuite à la vapeur	170
5.3.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux de la carotte.....	170

5.3.2.	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à la vapeur de la carotte.....	171
5.3.3	Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps et la température de cuisson à la vapeur de la carotte	173
5.4.	La carotte cuite par microonde	173
5.4.1.	Plan de criblage et sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux et de la cuisson par microonde de la carotte	173
5.4.2	Modélisation et optimisation des conditions de la cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols totaux de la carotte.....	175
5.4.3	Confirmation du modèle optimisé par rapport a la concentration du solvant et le temps de cuisson de la carotte cuite par microonde	177
5.5	Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes des carottes.....	177
5.6.	Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) des extraits de la carotte	180
5.7.	Activité antioxydante des extraits de la carotte	183
5.8.	Activité anticholinestérase des extraits de la carotte.....	186
6.	Le piment	189
6.1.	Le piment cru	189
6.1.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux du piment cru	189
6.1.2.	Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux du piment cru.....	190
6.1.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport à la concentration du solvant et du temps d'ultrasonication pour l'extraction des polyphénols du piment cru	192
6.2.	Le piment cuit à l'eau	192
6.2.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à l'eau et d'extraction des polyphénols totaux du piment	192
6.2.2.	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à l'eau du piment.....	194
6.2.3.	Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps et à la température de cuisson à l'eau du piment.....	196
6.3.	Le piment cuit à la vapeur.....	196
6.3.1.	Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux du piment	196
6.3.2.	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux du piment	197
6.3.3	Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps de cuisson et la concentration du solvant du piment cuit à la vapeur.....	199
6.4.	Le piment cuit par microonde	199
6.4.1.	Plan de criblage et sélection des conditions de la cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols du piment	199
6.4.2	Modélisation et optimisation des conditions de cuisson de piment par microonde.....	201
6.4.3	Confirmation du modèle optimisé par rapport à la puissance du microonde et au temps de cuisson du piment.....	203
6.5	Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes du piment	203
6.6.	Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) des extraits du piment.....	205
6.7.	Activité antioxydante des extraits du piment	208
6.8.	Activité anticholinestérase des extraits du piment	211
7.	Synthèse globale des résultats obtenus.....	214
	Conclusion générale et perspectives.....	223
	Références bibliographiques.....	226
	Annexes	
	Publications scientifiques	
	Résumés	

Liste des abréviations

AAPH :2,2'-azo-bis (2-amidino-propane) dihydrochloride
ABTS^{•+} : 2,20-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid
ACh : acétylcholine
AChE : acétylcholinestérase
BHA : butylhydroxyanisol
BuChE : butyrylcholinestérase
ChE : cholinestérase
CHS : chalcone synthase
Cu⁺-Nc : copper-neocuproïne
CUPRAC : cupric reducing antioxidant capacity
DPPH :2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle
DTNB : 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)
EAG : équivalent acide gallique
EC :équivalent catéchine
EQ : équivalent quecétine
FAO : Food and Agriculture Organization
H₃PMo₁₂O₄₀ :phosphomolybdique
H₃PW₁₂O₄₀ : acide phosphotungstique
HOCl : acide hypochloreux
HPLC-DAD ESI- TOF-MS : High performance liquid chromatography combined with photo diode array detection/electrospray Time of Flight Mass Spectrometry).
HPLC-DAD-MS : High performance liquid chromatography combined with diode array detector and mass spectrometry
HPLC-MS : High performance liquid chromatography combined with mass spectrometry
IC₅₀ : concentration inhibitrice médiane
LC-MS/MS : Liquid chromatography–mass spectrometry/ mass spectrometry
LOD :limite de détection
LQ : limite de quantification
Mo₈O₂₃ : molybdène
NMDA :N-méthyl-d-aspartate
O₂^{•-} : anion superoxyde
OH[•] : radical hydroxyle
OMS :Organisation mondiale de la santé
ONOOH :acide peroxy-nitrique
PAL : phénylalanine ammoniacale lyase
POD : peroxydase
Ppm : partie par million
PPO :polyphénoloxydase
PT : polyphénols totaux
R² : coefficient de détermination,
RO₂ :radical peroxy
RSD : relative standard deviation (Ecart-type relatif)
RT : temps de rétention
W₈O₂₃ : sel de tungstène

Figure 1. Classification des polyphénols	05
Figure 2. Localisation des composés phénoliques solubles et insolubles dans les cellules végétales .	06
Figure3. Liaisons covalentes représentatives trouvées dans des composés phénoliques à liaison insoluble	07
Figure 4. Mécanismes de transfert des phénoliques après la synthèse au réticulum endoplasmique dans les cellules végétales	08
Figure 5. façons de cuire une pomme de terre	19
Figure 6. Photos des légumes utilisés	27
Figure 7. Site des prélèvements	28
Figure 8. Protocole d'extraction des polyphénols	31
Figure 9. Mécanisme d'action du DPPH	35
Figure10. Etapes de la réaction ABTS	36
Figure11. Principe de la méthode de CUPRAC	37
Figure12. Test d'Ellman avec l'AChE	38
Figure13. Test d'Ellman avec la BChE	39
Figure 14. Principales étapes d'un plan de criblage	45
Figure 15. Représentation graphique d'un plan d'expérience composite centré à deux facteurs (X1 et X2) et trois niveaux (-1, 0 et +1) avec les valeurs extrêmes $\pm\alpha$	46
Figure 16. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre crue	50
Figure 17. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre crue	51
Figure 18. Surface de réponse du taux des polyphénols totaux de la pomme de terre crue en fonction des temps de macération et d'ultrasonication	52
Figure 19. Optimisation des temps de macération et d'ultrasonication pour l'extraction des polyphénols de la pomme de terre crue en fonction de la désirabilité ¹	52
Figure 20. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à la vapeur de la pomme de terre	54
Figure 21. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à la vapeur de la pomme de terre	55
Figure 22. Surface de réponse du taux des polyphénols de la pomme de terre cuite à la vapeur en fonction du temps et de la température de cuisson	56
Figure 23. Optimisation du temps et de la température de cuisson à la vapeur de la pomme de terre en fonction de la désirabilité ¹	56
Figure 24. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) pour les conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à l'eau de la pomme de terre	58
Figure 25. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à l'eau de la pomme de terre	59
Figure 26. Surface de réponse du taux des polyphénols de la pomme de terre cuite à l'eau en fonction du temps et de la température de cuisson	59
Figure 27. Optimisation du temps et de température de cuisson à l'eau de la pomme de terre en fonction de la désirabilité ¹	60
Figure 28. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson par microonde de la pomme de terre.....	61
Figure29. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson par microonde de la pomme de terre	63
Figure 30. Surface de réponse du taux des polyphénols de la pomme de terre en fonction du temps de cuisson et de la puissance du microonde	63

Figure 31. Optimisation du temps de cuisson et de la puissance du microonde en fonction de la désirabilité 1	64
Figure 32. Effet de la cuisson sur le taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes de la pomme de terre	65
Figure 33. Analyse LC-MS/MS des extraits de la pomme de terre	67
Figure 34. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de la pomme de terre	71
Figure 35. Evaluation de l'activité anticholinestérase des extraits de la pomme de terre	75
Figure 36. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($P=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols de l'oignon cru	79
Figure 37. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon cru	80
Figure 38. Surface de réponse du taux des polyphénols totaux de l'oignon cru en fonction de la concentration du solvant et du temps de macération	80
Figure 39. Optimisation de la concentration du solvant et du temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'oignon cru en fonction de la désirabilité 1	81
Figure 40. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à la vapeur de l'oignon	82
Figure 41. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de cuisson à la vapeur de l'oignon	83
Figure 42. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction du temps de cuisson à la vapeur et du temps d'ultrasonication de l'oignon	84
Figure 43. Optimisation des temps de l'ultrasonication et de la cuisson à la vapeur de l'oignon en fonction de la désirabilité 1	84
Figure 44. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) pour les conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à l'eau de l'oignon	86
Figure 45. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de cuisson à l'eau de l'oignon	87
Figure 46. Surface de réponse du taux de polyphénols en fonction du temps d'ultrasonication et le temps de cuisson à l'eau de l'oignon	88
Figure 47. Optimisation des temps d'ultrasonication et de cuisson à l'eau de l'oignon en fonction de la désirabilité 1	88
Figure 48. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux et de la cuisson par microonde de l'oignon	90
Figure 49. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson par microonde de l'oignon	91
Figure 50. Surface de réponse du taux de polyphénols en fonction des temps de macération et de cuisson par microonde de l'oignon	91
Figure 51. Optimisation des temps de macération et de cuisson par microonde de l'oignon en fonction de la désirabilité 1	92
Figure 52. Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de l'oignon	93
Figure 53. Analyse LC-MS/MS des extraits de l'oignon	96
Figure 54. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de l'oignon	100
Figure 55. Evaluation de l'activité anticholinestérase des extraits de l'oignon	103
Figure 56. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cru	107
Figure 57. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cru	108

Figure 58. Surface de réponse du taux des polyphénols de l'épinard cru en fonction de la concentration du solvant et du temps de macération	108
Figure 59 . Optimisation de la concentration du solvant et du temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'épinard cru en fonction de la désirabilité ¹	109
Figure 60. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux et de la cuisson à l'eau de l'épinard	110
Figure 61. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à l'eau de l'épinard	112
Figure 62. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction du temps et de la température de cuisson à l'eau de l'épinard	112
Figure 63. Optimisation du temps et de la température de cuisson à l'eau de l'épinard en fonction de la désirabilité ¹	113
Figure 64. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux et de la cuisson à la vapeur de l'épinard	114
Figure 65. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cuit à l'eau	116
Figure 66. Surface de réponse du taux des polyphénols de l'épinard cuit à la vapeur en fonction des temps de macération et d'ultrasonication	116
Figure 67. Optimisation du temps et de la température de cuisson à la vapeur de l'épinard en fonction de la désirabilité ¹	117
Figure 68. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cuit par microonde	118
Figure 69. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson par microonde de l'épinard	120
Figure 70. Surface de réponse du taux des polyphénols de l'épinard en fonction du temps de cuisson et de la puissance du microonde	120
Figure 71. Optimisation de la puissance du microonde et du temps de cuisson de l'épinard en fonction de la désirabilité ¹	121
Figure 72. Taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de l'épinard	122
Figure 73. Analyse LC-MS/MS des extraits de l'épinard	124
Figure 74. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de l'épinard	127
Figure 75. Evaluation de l'activité anticholinestérase des extraits de l'épinard	130
Figure 76. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($P=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols de l'aubergine crue	134
Figure 77. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine crue	135
Figure 78. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction de la concentration du solvant et du temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'aubergine crue	136
Figure 79. Optimisation de la concentration du solvant et du temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'aubergine crue en fonction de la désirabilité ¹	136
Figure 80. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à l'eau de l'aubergine	138
Figure 81. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à l'eau de l'aubergine	139
Figure 82. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction du temps et de la température de cuisson à l'eau de l'aubergine	139
Figure 83. Optimisation de la température et du temps de la cuisson à l'eau de l'aubergine en fonction de la désirabilité ¹	140

Figure 84. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) pour les conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à la vapeur de l'aubergine	142
Figure 85. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à la vapeur de l'aubergine	143
Figure 86. Surface de réponse du taux des polyphénols totaux en fonction du temps d'ultrasonication et la température de cuisson à la vapeur de l'aubergine	143
Figure 87. Optimisation du temps d'ultrasonication et de la température de cuisson à la vapeur de l'aubergine en fonction de la désirabilité1	144
Figure 88. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) pour les conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson par microonde de l'aubergine	145
Figure 89. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson par microonde de l'aubergine	147
Figure 90. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction du volume d'eau et le temps de cuisson par microonde de l'aubergine	147
Figure 91. Optimisation du volume d'eau ajoutée et du temps de cuisson par microonde de l'aubergine en fonction de la désirabilité 1	148
Figure 92. Taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de l'aubergine	149
Figure 93. Analyse LC-MS /MS des extraits de l'aubergine	153
Figure 94. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de l'aubergine	157
Figure 95. Activité anticholinestérase des extraits de l'aubergine	161
Figure 96. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la carotte crue	164
Figure 97. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la carotte crue	165
Figure 98. Surface de réponse du taux des polyphénols de la carotte crue en fonction des temps de macération et d'ultrasonication	165
Figure 99. Optimisation des temps de macération et d'ultrasonication pour l'extraction des polyphénols de la carotte crue en fonction de la désirabilité1	166
Figure 100. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) pour les conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à l'eau de la carotte	167
Figure 101. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à l'eau de la carotte	168
Figure 102. Surface de réponse du taux des polyphénols de la carotte cuite à l'eau en fonction du temps d'ultrasonication et de la température de cuisson	169
Figure 103. Optimisation des temps d'ultrasonication et de la température cuisson à l'eau de la carotte en fonction de la désirabilité1	169
Figure 104. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de cuisson à la vapeur de la carotte	171
Figure 105. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à la vapeur de la carotte	172
Figure 106. Surface de réponse du taux des polyphénols de la carotte cuite à la vapeur en fonction du temps et de la température de cuisson	172
Figure 107. Optimisation du temps et de la température de cuisson à la vapeur de la carotte en fonction de la désirabilité 1	173
Figure 108. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson par microonde de la carotte	174
Figure 109. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson par microonde de la carotte	176

Figure 110. Surface de réponse du taux des polyphénols de la carotte cuite par microonde en fonction de la concentration du solvant et du temps de cuisson	176
Figure 111. Optimisation du temps de cuisson par microonde et la concentration du solvant en fonction de la désirabilité 1	177
Figure 112. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits de carotte	178
Figure 113. Analyse LC-MS/MS des extraits de la carotte	181
Figure 114. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de la carotte	184
Figure 115. Activité anticholinestérase des extraits de la carotte	187
Figure 116. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux du piment cru	190
Figure 117. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux du piment cru	191
Figure 118. Surface de réponse du taux des polyphénols totaux du piment cru en fonction de la concentration du solvant et du temps d'ultrasonication	191
Figure 119. Optimisation de la concentration du solvant et du temps d'ultrasonication pour l'extraction des polyphénols du piment cru en fonction de la désirabilité 1	192
Figure 120. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à l'eau du piment	193
Figure 121. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à l'eau du piment et d'extraction des polyphénols	194
Figure 122. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction du temps et de la température de cuisson à l'eau du piment	195
Figure 123. Optimisation du temps et de la température de cuisson à l'eau du piment en fonction de la désirabilité 1	195
Figure 124. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à la vapeur du piment	197
Figure 125. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à la vapeur du piment et d'extraction des polyphénols	198
Figure 126. Surface de réponse du taux des polyphénols totaux du piment cuit à la vapeur en fonction du temps de cuisson et de la concentration du solvant	198
Figure 127. Optimisation du temps de cuisson à la vapeur du piment et de la concentration du solvant en fonction de la désirabilité 1	199
Figure 128. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) pour les conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson du piment par microonde	200
Figure 129. Diagramme de <i>Pareto</i> des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson du piment par microonde	201
Figure 130. Surface de réponse du taux des polyphénols du piment en fonction du temps de cuisson et de la puissance du microonde	202
Figure 131. Optimisation du temps de cuisson et de la puissance du microonde en fonction de la désirabilité 1	202
Figure 132. Taux des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits du piment	203
Figure 133. Analyse LC-MS/MS des extraits du piment	205
Figure 134. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits du piment	209
Figure 135. Activité anticholinestérase des extraits du piment	212

Tableau 1. Facteurs d'expériences pour chaque mode de cuisson	30
Tableau 2 . Paramètres analytiques de LC-MS/MS	34
Tableau 3. Niveaux des facteurs des expériences pour chaque mode de cuisson des six légumes	41
Tableau 4. Matrice d'essais du plan <i>Plackett- Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre crue	49
Tableau 5. Matrice d'essai du plan de composite centré pour l'évaluation des polyphénols totaux de la pomme de terre crue	50
Tableau 6. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la pomme de terre crue	53
Tableau 7. Matrice d'essais du plan <i>Plackett –Burmman</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre cuite à la vapeur	53
Tableau 8. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols de la pomme de terre cuite à la vapeur	55
Tableau 9. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la pomme de terre cuite à la vapeur	57
Tableau 10 . Matrice d'essais du plan <i>Plackett –Burmman</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre cuite à l'eau	57
Tableau 11. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre cuite à l'eau	58
Tableau 12. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la pomme de terre cuite à l'eau	60
Tableau 13. Matrice d'essais du plan <i>Plackett- Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre cuite par microonde	61
Tableau 14. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre cuite par microonde	62
Tableau 15. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la pomme de terre cuite par microonde	64
Tableau 16. Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits de la pomme de terre par LC-MS/MS	68
Tableau 17. Synthèse des résultats d'études sur la détection de composés phénoliques dans les variétés de la pomme de terre	69
Tableau 18 . Valeurs d'IC50 des extraits de la pomme de terre	73
Tableau 19. Corrélations entre le taux des polyphénols et l'activité antioxydante des extraits de la pomme de terre	74
Tableau 20. Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase des extraits de la pomme de terre	76
Tableau 21. Corrélations entre les polyphénols totaux et l'activité anticholinestérase des extraits de la pomme de terre	77
Tableau 22. Matrice d'essais du plan <i>Plackett –Burmman</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cru	78
Tableau 23. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cru	79
Tableau 24. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'oignon cru	81
Tableau 25. Matrice d'essais du plan <i>Plackett –Burmman</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit à la vapeur	82
Tableau 26. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit à la vapeur	83
Tableau 27. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'oignon cuit à la vapeur.....	85
Tableau 28 . Matrice d'essais du plan <i>Plackett – Burmman</i> pour la détermination du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit à l'eau	85
Tableau 29. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit à l'eau	86
Tableau 30. Taux des polyphénols prédit et mesuré de l'oignon cuit à l'eau	89

Tableau 31 . Matrice d'essais du plan <i>Plackett- Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit par microonde	89
Tableau 32 . Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit par microonde	90
Tableau 33 . Taux de polyphénols prédit et mesuré (oignon cuit par microonde).....	92
Tableau 34 . Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits de l'oignon par LC-MS/MS	97
Tableau 35 . Valeurs d'IC50 pour l'activité antioxydante des extraits de l'oignon	101
Tableau 36 . Corrélations entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols totaux des extraits de l'oignon	102
Tableau 37 . Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase des extraits de l'oignon	104
Tableau 38 . Corrélations entre les polyphénols totaux et l'activité anticholinestérase des extraits de l'oignon	104
Tableau 39 . Matrice d'essais du plan <i>Plackett – Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'épinard cru	106
Tableau 40 . Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cru	107
Tableau 41 . Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'épinard cru	109
Tableau 42 . Matrice d'essais du plan <i>Plackett- Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit à l'eau	110
Tableau 43 . Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit à l'eau	111
Tableau 44 . Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'épinard cuit à l'eau	113
Tableau 45 . Matrice d'essais du plan <i>Plackett- Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit à la vapeur	114
Tableau 46 . Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit à la vapeur	115
Tableau 47 . Taux de polyphénols prédit et mesuré (épinard cuit dans l'eau).....	117
Tableau 48 . Matrice d'essais du plan <i>Plackett-Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit par microonde	118
Tableau 49 . Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit par microonde	119
Tableau 50 . Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'épinard cuit par microonde	121
Tableau 51 . Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits de l'épinard par LC-MS/MS	125
Tableau 52 . Valeurs d'IC50 pour l'activité antioxydante des extraits de l'épinard	128
Tableau 53 . Corrélations entre le taux des polyphénols et l'activité antioxydante des extraits de l'épinard	129
Tableau 54 . Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase des extraits de l'épinard	131
Tableau 55 . Corrélations entre la variation des taux des polyphénols par cuisson et l'activité anticholinestérase des extraits de l'épinard	132
Tableau 56 . Matrice d'essais du plan <i>Plackett – Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'aubergine crue	133
Tableau 57 . Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'aubergine crue	134
Tableau 58 . Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'aubergine crue	137
Tableau 59 . Matrice d'essais du plan <i>Plackett-Burmann</i> pour la détermination du taux en polyphénols totaux de l'aubergine cuite à l'eau	137

Tableau 60. Matrice d'essais du plan composite centré pour la détermination du taux en polyphénols totaux de l'aubergine cuite à l'eau	138
Tableau 61. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'aubergine cuite à l'eau	140
Tableau 62. Matrice d'essais du plan <i>Plackett-Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'aubergine cuite à la vapeur	141
Tableau 63. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'aubergine cuite à la vapeur	142
Tableau 64. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'aubergine cuite à la vapeur	144
Tableau 65. Matrice d'essais du plan <i>Plackett-Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'aubergine cuite par microonde.....	145
Tableau 66. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'aubergine cuite par microonde	146
Tableau 67. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'aubergine cuite par microonde	148
Tableau 68. Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits de l'aubergine par LC-MS/MS	154
Tableau 69. Valeurs d'IC50 pour l'activité antioxydante des extraits de l'aubergine	158
Tableau 70. Corrélations entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols totaux des extraits de l'aubergine	159
Tableau 71. Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase des extraits de l'aubergine	161
Tableau 72. Corrélations entre les polyphénols totaux et l'activité anticholinestérase des extraits de l'aubergine	162
Tableau 73. Matrice d'essais du plan <i>Plackett – Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la carotte crue	163
Tableau 74. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la carotte crue	164
Tableau 75. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la carotte crue	166
Tableau 76. Matrice d'essais du plan <i>Plackett – Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la carotte cuite à l'eau	167
Tableau 77. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de carotte cuite à l'eau	168
Tableau 78. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la carotte cuite à l'eau	170
Tableau 79. Matrice d'essais du plan <i>Plackett- Burmann</i> pour la détermination de la teneur en polyphénols de la carotte cuite à la vapeur	170
Tableau 80. Matrice d'essais du plan composite centré pour la détermination de la teneur en polyphénols de la carotte cuite à la vapeur	171
Tableau 81. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la carotte cuite à la vapeur	173
Tableau 82. Matrice d'essais du plan <i>Plackett – Burmann</i> pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la carotte cuite par microonde	174
Tableau 83. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la carotte cuite par microonde	175
Tableau 84. Taux des polyphénols prédit et mesuré de la carotte cuite par microonde	177
Tableau 85. Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits de la carotte par LC-MS/MS	182
Tableau 86. Valeurs d'IC50 pour l'activité antioxydante des extraits de la carotte	185
Tableau 87. Corrélations entre le taux des polyphénols et l'activité antioxydante des extraits de la carotte	186
Tableau 88. Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase	187

Tableau 89. Corrélations entre la variation de la teneur des polyphénols par la cuisson et l'activité anticholinestérase	188
Tableau 90. Matrice d'essais du plan <i>Plackett-Burmann</i> pour l'évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cru	189
Tableau 91. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cru	190
Tableau 92. Taux de polyphénols prédit et mesuré du piment cru	192
Tableau 93. Matrice d'essais du plan <i>Plackett-Burmann</i> pour l'évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cuit à l'eau	193
Tableau 94. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux des polyphénols du piment cuit à l'eau	194
Tableau 95. Taux de polyphénols prédit et mesuré du piment cuit à l'eau	196
Tableau 96. Matrice d'essais du plan <i>Plackett-Burmann</i> pour l'évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cuit à la vapeur	196
Tableau 97. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cuit à la vapeur	197
Tableau 98. Taux de polyphénols prédit et mesuré du piment cuit à la vapeur	199
Tableau 99. Matrice d'essais du plan <i>Plackett-Burmann</i> pour l'évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cuit par microonde	200
Tableau 100. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cuit par microonde	201
Tableau 101. Taux de polyphénols prédit et mesuré du piment cuit par microonde	203
Tableau 102. Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits du piment par LC-MS/MS	206
Tableau 103. Valeurs d'IC50 des extraits du piment	210
Tableau 104. Corrélations entre les taux des polyphénols totaux et les tests de l'activité antioxydante réalisés des extraits du piment	211
Tableau 105. Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase des extraits du piment	212
Tableau 106. Corrélations entre les taux des polyphénols totaux des piments cuits et l'activité anticholinestérase	213
Tableau 107 . Récapitulation des résultats des essais d'optimisation obtenus.....	214
Tableau 108 . Récapitulation des résultats des analyses qualitatives et quantitatives obtenus.....	217

Introduction générale

L'apparition et la propagation de certaines maladies sont clairement dues à plusieurs facteurs liés au mode de vie. La nutrition est un facteur déterminant et important pour la santé. Plusieurs études suggèrent que les régimes riches en légumes et fruits peuvent prévenir de nombreuses maladies (Kaulmann et Bohn, 2014). Bien que les mécanismes de ces effets n'ont pas été pleinement élucidés, la présence de métabolites secondaires, communément appelés composés phytochimiques, dans les fruits et les légumes pourraient jouer un rôle majeur (Aune *et al.*, 2012; Boeing, *et al.*, 2012).

De nombreux travaux montrent que la majorité des composés phytochimiques présentent un pouvoir antioxydant (Chiva-Blanch et Visioli, 2012; Giampieri *et al.*, 2012) et anti-inflammatoire (Zhao *et al.*, 2011; Singh *et al.*, 2012). Ces activités leur confèrent des propriétés pharmacologiques susceptibles d'empêcher et peut-être même de traiter des maladies différentes (Baldrick *et al.*, 2011). Parmi ces composés abondants dans les légumes, les composés phénoliques présentent le groupe le plus important d'antioxydants naturels (Henning *et al.*, 2017).

Les composés phénoliques des légumes ont suscité un grand intérêt depuis les années 1990 en raison de la preuve croissante de leurs effets bénéfiques pour la santé humaine. Ces composés peuvent avoir des mécanismes d'action complémentaires, y compris la stimulation du système immunitaire, la réduction de l'agrégation plaquettaire, la modulation de métabolisme des lipides et des hormones, des effets antioxydants, antibactériens et antimutagènes, la réduction de l'initiation de la tumeur, et l'induction de l'apoptose (Palermo *et al.*, 2014).

Des études récentes ont montré l'effet des polyphénols contre la maladie d'Alzheimer (Bhullar et Rupasinghe, 2013 ; Dal-Pan *et al.*, 2017 ; Sawikr *et al.*, 2017). Ces composés sont classés parmi des inhibiteurs des cholinestérases qui constituent des approches précieuses pour le traitement des maladies neurodégénératives, en raison de leur rôle dans le maintien du neurotransmetteur acétylcholine (Ayaz *et al.*, 2014). Les troubles neurodégénératives se caractérisent par une activité cholinergique réduite dans le cerveau (Nunes-Tavares *et al.*, 2012). Les enzymes acétylcholinesterase et butyrylcholinesterase provoquent l'hydrolyse de l'acétylcholine; par conséquent, l'inhibition de ces enzymes par les polyphénols joue un rôle clé dans l'amélioration de l'activité cholinergique et la prévention de la maladie d'Alzheimer (Lee *et al.*, 2012).

Plusieurs légumes, parmi lesquels figurent la pomme de terre, la carotte, l'aubergine, le piment, l'oignon, l'épinard doivent subir la cuisson afin d'être consommés. Selon les recettes et les traditions culinaires des divers pays, la cuisson ménagère englobe une variété de procédés, tels que l'ébullition, la friture, à la vapeur, la torrification et au four microonde (Tiwari et Cummins, 2013).

Malgré que la cuisson a des effets bénéfiques notamment la destruction des microorganismes, l'inactivation de facteurs anti-nutritionnels, l'amélioration de la digestibilité des aliments, la biodisponibilité des nutriments, la formation de composés souhaités tels que les composés aromatisants, antioxydants et colorants, elle a aussi des effets négatifs comme la modification de la structure des légumes conduisant à des effets sensoriels, nutritionnels et des changements de la texture. D'autre part, le traitement peut endommager la qualité des aliments, entraînant des conséquences indésirables, telles que les pertes de certains nutriments dues à des réactions chimiques, la formation de composés indésirables (par exemple l'acrylamide ou les molécules avec un effet négatif sur la perception de la saveur), la perte de texture et la décoloration (Palermo *et al.*, 2014).

Le groupe des polyphénols englobe beaucoup de composés qui se comportent différemment lors du traitement thermique (Andlauer *et al.*, 2003). Ces dernières années, de nombreuses études ont été focalisées sur les différents effets de cuisson sur la teneur en polyphénols totaux des légumes et leurs activités biologiques. Certains auteurs confirment l'hypothèse de la réduction de la teneur en polyphénols après cuisson (Zhang et Hamauzee, 2004a ; Ferracane *et al.*, 2008; Massaretto *et al.*, 2011; Carcea *et al.*, 2017), alors que d'autres ont montré un effet positif sur ces composés (Wachtel-Galor *et al.*, 2008; Faller et Fialho, 2009).

Les travaux sur l'optimisation des conditions des différents modes de cuisson sont peu nombreux. Connaître l'impact de transformations y compris le traitement thermique, peut aider le consommateur et les industriels en agro-alimentaire à améliorer la qualité nutritionnelle des légumes cuits. Optimiser les conditions selon le mode de cuisson constitue le premier objectif de cette thèse.

L'extraction des polyphénols à partir des matrices naturelles a pris de l'ampleur ces dernières années de façon à pouvoir les isoler, les purifier et les manipuler par la suite. Il n'y a pas de méthode unique ni standardisée à l'extraction des polyphénols, notamment en raison de leur diversité (Ignat, 2011). Toute extraction, qu'elle soit conventionnelle ou alternative, repose sur un principe de diffusion, lui-même tributaire d'un gradient de concentration donc de la solubilité dans le milieu extractant. Selon plusieurs travaux réalisés, la méthode, le solvant et les standards employés pour l'extraction, le dosage et l'expression des résultats influent la teneur en polyphénols. L'efficacité de l'extraction est donc dépendante des conditions du processus et notamment des paramètres de température, du ratio liquide/solide, de la concentration du solvant, de la taille des particules, de la nature du solvant et du temps d'extraction (Ignat, 2011).

Optimiser la méthode d'extraction des polyphénols totaux constitue un second objectif de cette thèse.

Le troisième objectif est d'évaluer les composés polyphénoliques, de mettre en évidence leur activité antioxydante par trois tests complémentaires (DPPH, ABTS et CUPRAC) et d'évaluer l'activité anticholinéestérase des extraits des légumes étudiés.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons jugé utile de structurer le manuscrit, en plus de l'introduction générale, la conclusion générale et les perspectives, en trois chapitres:

Le premier chapitre "*synthèse bibliographique*" est une étude bibliographique ayant pour objectif de dresser un bilan de connaissances sur les légumes et leur potentiel antioxydant, les composés phénoliques et les facteurs responsables de leur variabilité ainsi que des généralités sur le traitement thermique.

Le deuxième chapitre "*Matériel et Méthodes*" décrit globalement les techniques utilisées pour extraire les composés phénoliques, les modes et conditions de cuisson, l'évaluation des activités antioxydantes et anti cholinestérases. Pour optimiser les conditions de cuisson des légumes et d'extraction des polyphénols, nous nous sommes référés à la bibliographie, où une sélection des facteurs de cuisson et d'extraction ayant une influence significative sur la réponse taux des polyphénols a été réalisée par un plan d'expérience de criblage "*Plackett -Burmann*" et une optimisation par un plan composite centré. L'identification et la quantification des composés phénoliques des légumes crus et cuits ont été réalisées par LC-MS/MS.

Le troisième chapitre "*Résultats et discussion*" expose les principaux résultats obtenus et leurs interprétations. Des modèles statistiques ont été proposés pour obtenir un taux maximal des polyphénols ayant comme facteurs optimisés la concentration du solvant, le temps d'ultrasonication, le temps de macération, le broyage, le temps et la température de cuisson, ou la puissance (cas de cuisson par microonde) employés.

Synthèse bibliographique

1.1. Généralités sur les polyphénols

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH). Les représentants les plus nombreux (plus de 5 000 molécules isolées) et les plus connus sont les flavonoïdes (Kris-Etherton *et al.*, 2002 ; Hennebelle *et al.*, 2004).

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux.

Les principales sources alimentaires sont les fruits, les légumes, les boissons comme le thé, le café, les jus de fruits, les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols, les boissons tels que les jus de fruits, et surtout le café et le thé complète le reste (Middleton *et al.*, 2000; Edeas, 2007).

1.2. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols sont présents dans les plantes en tant que métabolites secondaires. Ils sont synthétisés par les plantes au cours du développement normal, ainsi qu'en réponse aux conditions de stress (rayonnement UV, infection, blessure, etc.) (Beckman, 2000, Malencic *et al.*, 2012).

La structure des polyphénols comporte au moins un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyles attachés (Galanakis *et al.*, 2013). Ils sont définis en fonction de la nature de leurs squelettes carbonés, des profils d'hydroxylation, de l'existence de stéréoisomères et des états d'oxydation, de glycosylation (des flavonoïdes) et d'acylation des hétérocycles (des acides phénoliques).

Il existe trois classes principales de polyphénols: (1) les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques), (2) les flavonoïdes (flavones, flavonols, flavan-3-ols, isoflavones, flavanones et anthocyanines), et (3) d'autres composés phénoliques (Stibènes, lignanes, tanins, xanthones, lignines, chromones et anthraquinones)(figure 1) (Martinez *et al.*, 2017)

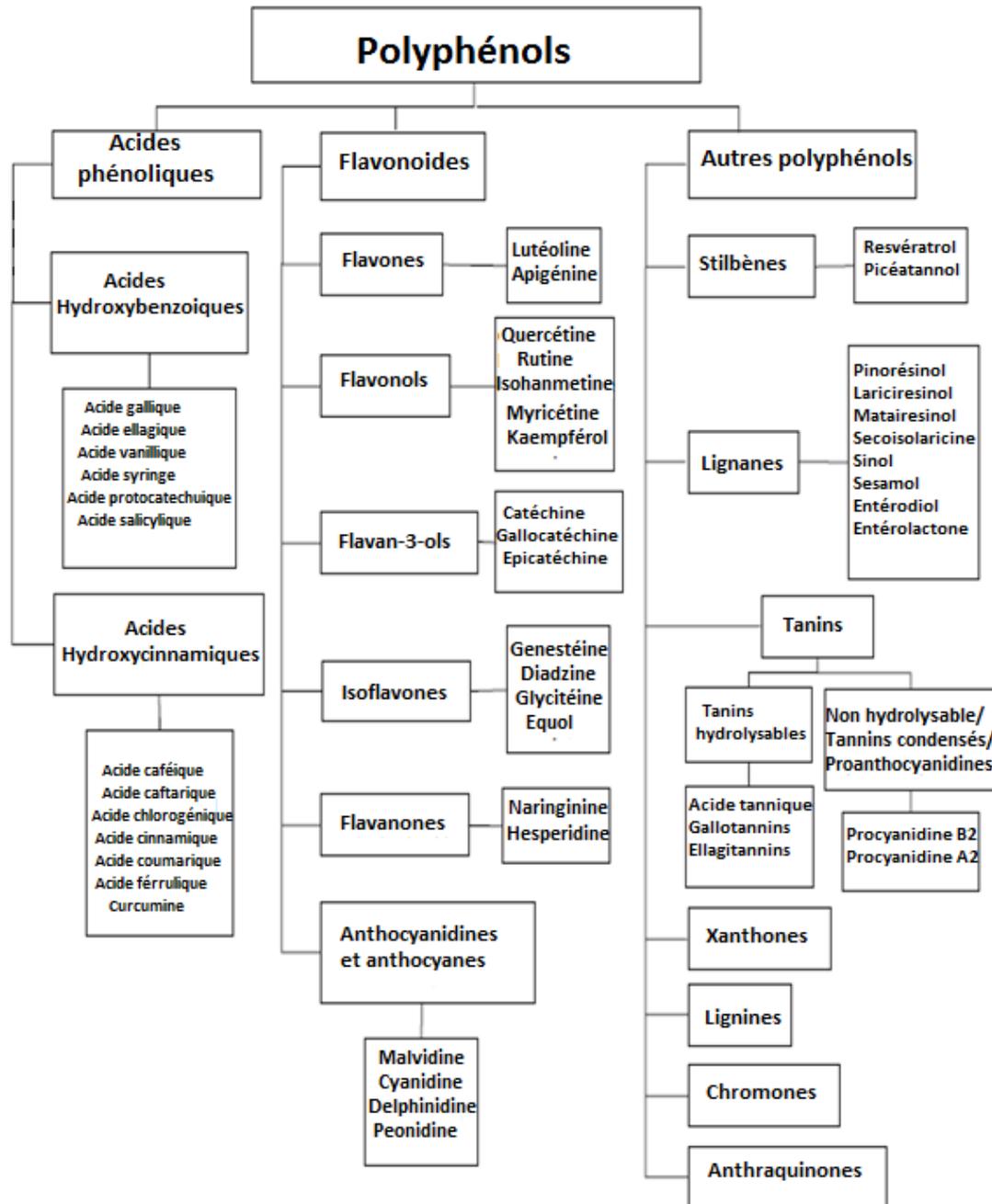


Figure 1. Classification des polyphénols (Martinez *et al.*, 2017)

1.3. Localisation des composés phénoliques dans la plante

Les composés phénoliques existent sous deux formes solubles et insolubles. A l'échelle cellulaire, les polyphénols solubles sont localisés dans les vacuoles des cellules végétales (figure 2). Quand les composés phénoliques sont incorporés à l'intérieur d'une vacuole, le faible pH induit par la forte concentration d'acides organiques à l'intérieur conduit à leur piégeage (Shahidi et Yeo, 2016). Les composés phénoliques insolubles sont localisés dans les parois des cellules végétales. Les composés phénoliques synthétisés dans les organes intracellulaires, principalement le réticulum endoplasmique, sont relâchés et transportés dans la matrice de la vacuole ou de la

paroi cellulaire à travers le système de transfert de vésicule. Ce dernier est un petit système de bicouche lipidique, pouvant contenir des composés phénoliques et facilite leur migration dans la matrice de la paroi cellulaire (Meyer *et al.*, 2009 ; Shahidi et Yeo, 2016).

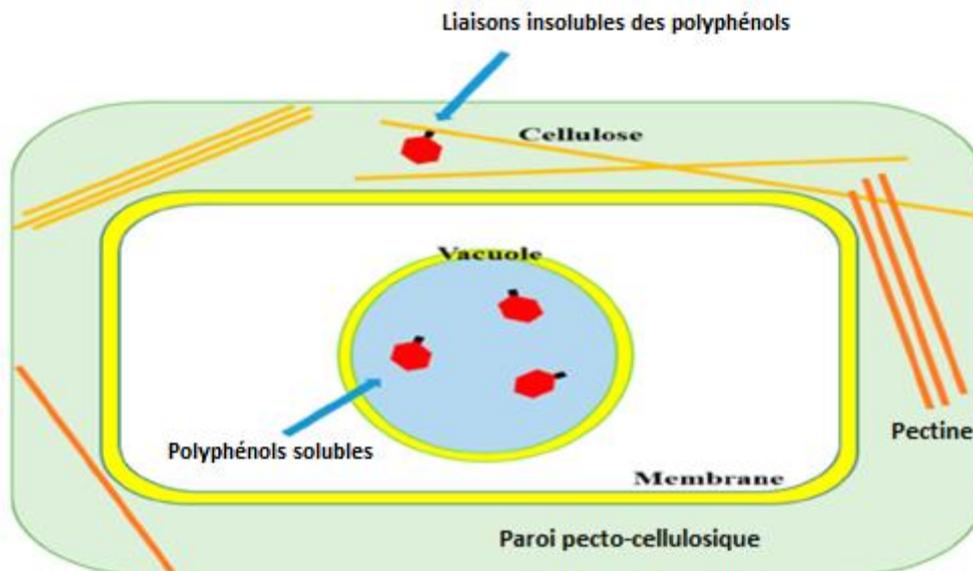


Figure 2. Localisation des composés phénoliques solubles et insolubles dans les cellules végétales (Shahidi et Yeo, 2016).

Les composés phénoliques transportés sont liés à des macromolécules telles que des protéines structurales, la cellulose et la pectine par des liaisons covalentes via des liaisons éther, ester et carbone-carbone dans la matrice de la paroi cellulaire, formant des composés phénoliques à liaisons insolubles (Figure 3) (Shahidi et Yeo, 2016).

La localisation des polyphénols dans la plante est liée à leur rôle, certains composés phénoliques ne s'accumulent que dans des organes bien définis ; les couches externes contiennent beaucoup plus de polyphénols que ceux situés à l'intérieur de la plante (Bengoechea *et al.*, 1997).

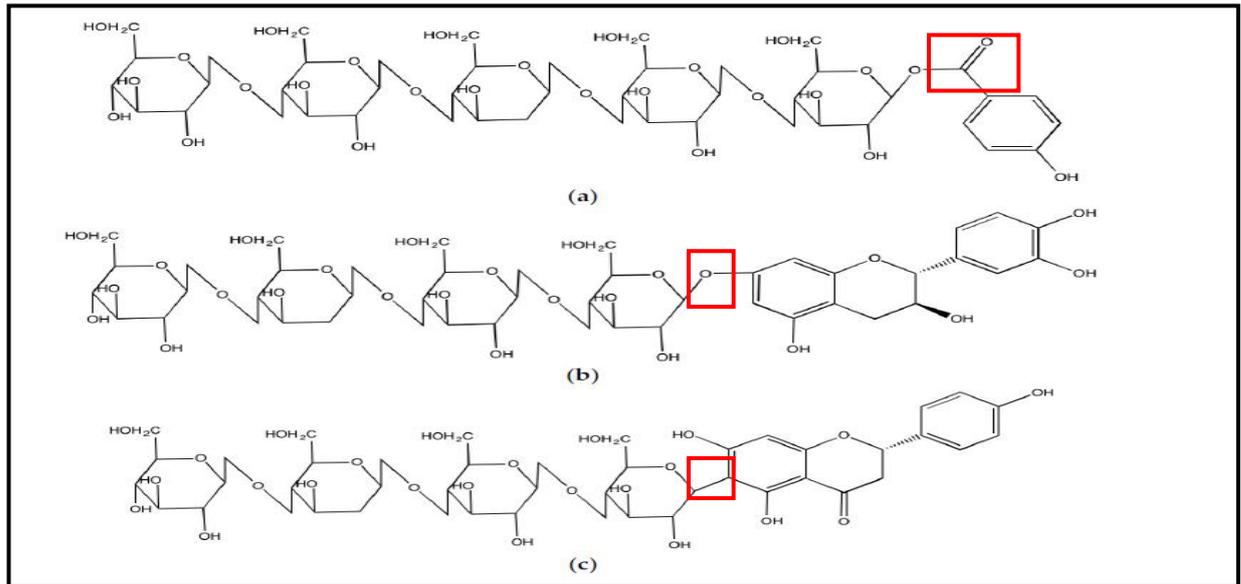


Figure 3. Liaisons covalentes représentatives trouvées dans des composés phénoliques à liaison insoluble; (a) liaison ester de 4-hydroxy benzoïque (b) liaison éther de la catéchine et (c) liaison carbone-carbone de la naringénine jointe à la molécule de cellulose (Shahidi et Yeo, 2016).

1.4. Métabolisme des polyphénols

1.4.1. Biosynthèse

La synthèse des composés phénoliques s'effectue surtout à la surface cytoplasmique du réticulum endoplasmique, et continue avec le noyau externe de la cellule végétale. De nombreux types d'enzymes sont impliqués dans la transformation de la structure des composés phénoliques, conduisant aux différentes classes, à savoir les acides phénoliques, les flavonoïdes, y compris les anthocyanidines et d'autres types des composés phénoliques.

La phénylalanine, l'un des acides aminés essentiels synthétisés par la voie de shikimate, de l'érythrose-4-phosphate et phosphoenolpyruvate, est un précurseur pour la synthèse des composés phénoliques et dans une moindre mesure la tyrosine. La phénylalanine libère le groupe ammoniac via l'action de la phénylalanine ammoniaque lyase (PAL), donnant l'acide trans-cinnamique avec la formation d'une double liaison. L'acide trans-cinnamique se transforme en acide p-coumarique par l'action de la P450 monooxygénase suivie de l'acide caféique avec de l'hydroxylase puis de l'acide ferulique par l'o-méthyltransférase. L'acide ferulique est encore modifié en acide sinapique par hydroxylase et l'o-méthyl transférase pour ajouter un groupe méthoxy à la molécule. Les dérivés de l'acide benzoïque peuvent être formés par la perte de deux groupes d'atomes de carbone à partir des phénylpropanoïdes.

La synthèse des flavonoïdes, connue sous le nom de voie de dérivation des flavonoïdes, se décline de la combinaison de p-coumaroyl CoA et trois molécules de malonyl CoA, en les transformant

en chalcone naringénine par l'action de la chalcone synthase (CHS), suivie par la formation de la flavonone par la chalcone isomérase. La flavonone résultante peut être convertie en différents types de flavonoïdes tels que le flavonol, l'isoflavone, la flavone, les anthocyanines et les catéchines par des réactions enzymatiques. Par exemple, la génistéine, le kaempferol et l'apigénine peuvent être synthétisés par l'isoflavone synthase, la flavonolsynthase / flavanone-3-hydroxylase et la flavone synthase, respectivement, à partir de la flavonone (Shahidi et Yeo, 2016).

Les composés phénoliques synthétisés dans la surface cytoplasmique du réticulum endoplasmique sont transférés aux autres organites de la cellule végétale par un système de transfert de vésicules et par médiation des transporteurs membranaires (figure 4) (Kitamura *et al.*, 2006, Zhao *et al.*, 2009).

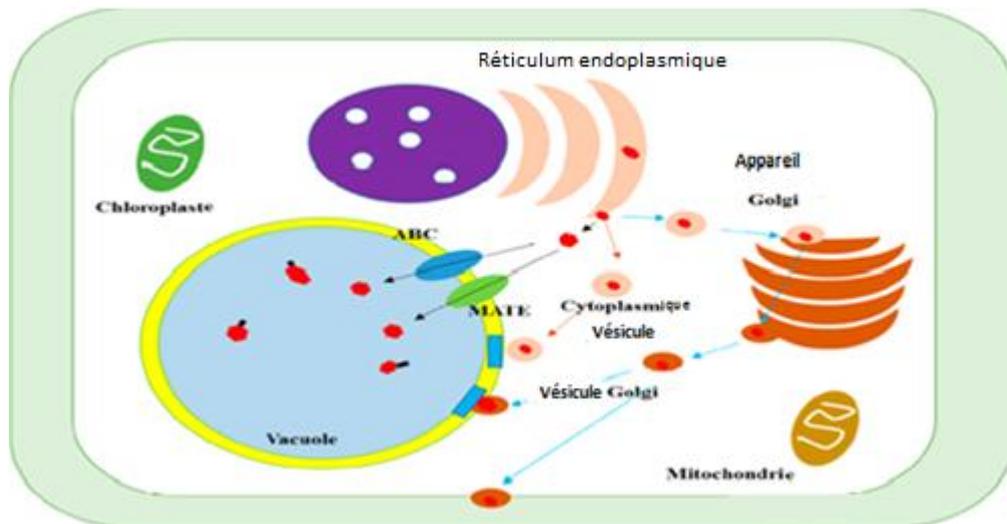


Figure 4. Mécanismes de transfert des composés phénoliques après la synthèse au réticulum endoplasmique dans les cellules végétales (Shahidi et Yeo, 2016).

1.4.2. Dégradation

La dégradation des polyphénols se fait par voie oxydative par le biais de deux enzymes : les polyphénoloxydases (PPO) et les peroxydases (Marques *et al.*, 1995; Thygesen *et al.*, 1995).

Le mécanisme d'action de la PPO est basé sur sa capacité à oxyder les composés phénoliques. Lorsque le tissu végétal est endommagé, entraînant la rupture des plastes (compartiment cellulaire où se trouve la PPO) et la vacuole (principal organite de stockage des composés phénoliques) ce qui conduit au contact de l'enzyme avec les composés phénoliques libérés par rupture. La PPO contient deux atomes de cuivre et elle catalyse deux réactions différentes en présence d'oxygène moléculaire: l'hydroxylation des monophénols (activité monophénolase) et

l'oxydation des o-diphénols aux o-quinones (activité diphénolase). Cette réaction est généralement suivie d'une polymérisation non-enzymatique des quinones entraînant la formation de mélanines, de pigments de masse moléculaire élevée et de couleur sombre (Yoruk et Marshall, 2003).

Le taux de brunissement enzymatique des fruits et légumes dépend largement de l'activité spécifique de la PPO, des concentrations de composés phénoliques, du pH et de la température (Jiang *et al.*, 2004 ; Jiang *et al.*, 2016).

Il est intéressant de noter qu'une autre enzyme oxydant les phénols, la laccase (p-diphénol: oxygène oxydoréductase), apparaît dans certaines plantes supérieures (exemple le litchi). La laccase est active sur le diphénol et les substrats à base de diphénol. En outre, l'anthocyanase (identifié comme une laccase) catalyse l'hydrolyse des fragments de sucre de l'anthocyane pour produire l'anthocyanidine. Ainsi, il pourrait être suggéré que la laccase contribue au brunissement du péricarpe en rendant les principaux constituants phénoliques (anthocyanes) accessibles à la PPO (Holzwarth *et al.*, 2012).

De plus, la contribution différente de la laccase au brunissement enzymatique de certains fruits et légumes nécessite également des éclaircissements. Dans les plantes supérieures, on pense que la PPO est liée à la membrane (Jiang *et al.*, 2016).

La signification relative de l'activité PPO est quelque peu obscurcie par la présence de la peroxydase (POD), une enzyme oxydative similaire. Il est relativement difficile d'attribuer un rôle significatif à la POD dans le brunissement enzymatique lorsque l'un de ses substrats, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), est généralement présent à de très faibles concentrations dans les cellules végétales (Ndiaye *et al.*, 2009). Des preuves récentes recueillies indiquent clairement que la POD pourrait améliorer les réactions de brunissement en présence de la PPO (Guerrero-Beltran *et al.*, 2005). Bien que le mécanisme de ce brunissement couplé à la PPO ne soit pas bien compris, il est possible que la génération de quinones formées par la PPO peut conduire à l'accumulation de H_2O_2 , fournissant une concentration plus élevée de cette espèce de radicaux libres, permettant ainsi l'apparition de l'oxydation des polyphénols par la POD (Jiang *et al.*, 2016).

1.5. Facteurs de variabilité des polyphénols

Le contenu des composés phénoliques varie selon la variété des légumes. Pour de nombreux végétaux, la composition en polyphénols est beaucoup moins connue, la connaissance est souvent limitée à une ou quelques variétés, et les données ne concernent parfois pas les parties comestibles. En outre, de nombreux facteurs autres que la variété peuvent affecter la teneur en polyphénols des plantes; ces facteurs comprennent la maturité au moment de la récolte, les

facteurs environnementaux, la transformation et le stockage. (Beckman, 2000; Malencic *et al.*, 2012).

Les facteurs environnementaux ont un effet majeur sur la teneur en polyphénols. Ces facteurs peuvent être pédoclimatiques (type de sol, exposition au soleil, pluviométrie) ou agronomiques (culture en serre ou en champs, culture biologique, culture hydroponique, rendement en fruit par arbre, etc.). L'exposition à la lumière a un effet considérable sur la plupart des flavonoïdes (Manach *et al.*, 2004).

Le degré de maturité affecte considérablement les concentrations et les proportions des différents polyphénols (Macheix *et al.*, 1990). En général, les concentrations d'acides phénoliques diminuent pendant la maturation, tandis que les concentrations d'anthocyanine augmentent. De nombreux polyphénols, en particulier les acides phénoliques sont directement impliqués dans la réponse des plantes à différents types de stress: ils contribuent à la cicatrisation par lignification des zones endommagées, ils possèdent des propriétés antimicrobiennes et leurs concentrations peuvent augmenter après l'infection (Macheix *et al.*, 1990 ; Shahidi et Naczki, 1995 ; Parr et Bolwell, 2000).

La teneur en polyphénols des légumes produits par l'agriculture biologique est certainement plus élevée que celle des autres légumes (Asami *et al.*, 2003).

Le stockage peut également affecter la teneur en polyphénols qui sont facilement oxydés. Les réactions d'oxydation entraînent la formation de substances plus ou moins polymérisées, qui conduisent à des modifications de la qualité des aliments, notamment en ce qui concerne les caractéristiques organoleptiques. De tels changements peuvent être bénéfiques (comme c'est le cas avec le thé noir) ou nocifs à leur acceptabilité (brunissement des fruits et légumes) (Wang *et al.*, 2016 ; Le Bourvellec *et al.*, 2018).

Les méthodes de préparation culinaire ont également un effet marqué sur la teneur en polyphénols des aliments. Par exemple, le simple épluchage des fruits et légumes peut éliminer une partie importante des polyphénols parce que ces substances sont souvent présentes à des concentrations plus élevées dans les parties externes que dans les parties internes (Fabbri et Crosby, 2016)

La cuisson présente un effet majeur. Les oignons et les tomates perdent entre 75% et 80% de leur teneur initiale en quercétine après ébullition pendant 15 min, 65% après cuisson dans un four à microonde et 30% après cuisson dans un four (Crozier *et al.*, 1997). La cuisson à la vapeur des légumes est préférable. Les pommes de terre contiennent jusqu'à 190 mg d'acide chlorogénique par kg, principalement dans la peau (Friedman *et al.*, 1997). Des pertes importantes se produisent pendant la cuisson, et une disparition des acides phénoliques a été obtenue dans les frites ou la purée lyophilisée (Clifford, 2000).

Le traitement des aliments industriels affecte également la teneur en polyphénols. Comme pour l'épluchage des fruits, le décorticage des graines de légumineuses et la décortication des céréales peuvent entraîner la perte de certains polyphénols. Le broyage des tissus végétaux peut entraîner une dégradation oxydative des polyphénols à la suite du décloisonnement cellulaire et du contact entre la polyphénoloxydase cytoplasmique et les substrats phénoliques présents dans les vacuoles. Les polyphénols sont ensuite transformés en pigments bruns qui sont polymérisés à des degrés différents. Ce processus indésirable peut se produire, par exemple, pendant le processus de fabrication de confiture ou de compote à partir de fruits. La production de jus de fruits implique souvent des étapes de clarification ou de stabilisation visant spécifiquement à éliminer certains polyphénols responsables de la décoloration et de la formation de trouble (Manach *et al.*, 2004). Les enzymes pectinolytiques utilisées lors d'un tel traitement hydrolysent également les esters de l'acide hydroxycinnamique (Macheix et Fleuriet, 1998). À l'inverse, les opérations de macération facilitent la diffusion des polyphénols dans le jus, comme cela se produit lors de la vinification du vin rouge. Cette macération explique que la teneur en polyphénols des vins rouges soit 10 fois plus élevée que celle des vins blancs (Vinson et Hontz, 1995) et qu'elle soit également supérieure à celle du jus de raisin (Abu-Amsha Caccetta, 1996).

En raison du large éventail de polyphénols existants et du nombre considérable de facteurs susceptibles de modifier leur concentration dans les aliments, aucun tableau de référence de composition alimentaire (tel qu'il existe pour d'autres micronutriments tels que les vitamines) n'a encore été établi. Depuis mars 2003, une base de données dans laquelle le contenu en flavonoïdes de 225 aliments sélectionnés a été compilée à partir de 97 sources bibliographiques est disponible sur le site Web du Département de l'agriculture des États-Unis d'Amérique (USA Department of Agriculture, 2003).

1.6. Activités antioxydante et anticholinestérase des polyphénols

1.6.1. Activité antioxydante des polyphénols

Parmi les divers avantages potentiels pour la santé d'une alimentation riche en polyphénols, leur capacité à inhiber l'oxydation. Les polyphénols agissent comme des antioxydants puissants, peuvent prévenir les dommages oxydatifs et réduire le risque de certaines maladies (Zhang et Tsao, 2016).

Les composés phénoliques alimentaires sont des antioxydants puissants *in vitro*, pouvant neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène aux espèces réactifs d'oxygène, d'azote et les espèces de chlore, y compris $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} , les radicaux peroxylys RO_2^{\cdot} , l'acide hypochloreux (HOCl) et l'acide peroxyntrique (ONOOH) (Tsao et Li, 2013).

Les polyphénols interrompent le stade de propagation dans la chaîne d'auto-oxydation des lipides, ils agissent comme inhibiteurs des radicaux ou comme des chélateurs. Les composés phénoliques peuvent inhiber directement la réduction de Fe^{3+} réduisant ainsi la production de $OH\cdot$ réactif par la réaction de Fenton (Perron et Brumaghim, 2009).

Les acides phénoliques et les flavonoïdes ne possèdent pas un pouvoir antiradicalaire puissant, cependant, le potentiel de chélation des métaux peut varier en fonction de leurs caractéristiques structurelles (Tsao et Li, 2013).

Le potentiel antioxydant d'un composé phénolique dépend principalement du nombre et de la position des groupes hydroxyles dans la molécule. Par exemple, les flavonols tels que la quercétine contenant le groupement 3-hydroxy a montré une activité antioxydante relativement plus élevée que les polyphénols qui ne possèdent ce groupement (Tsao, 2010). Le degré d'hydroxylation affecte également l'activité antioxydante (Tsao et Li, 2013).

Une distance plus longue séparant le groupe carbonyle et le cycle aromatique d'un acide phénolique augmente l'activité antioxydante comme dans le cas de l'acide cinnamique et des dérivés par rapport aux acides benzoïques. Les groupes hydroxyle sur le cycle benzoïque en position ortho et / ou para-position peuvent conduire à une activité antioxydante élevée par rapport à d'autres positions et des phénols non substitués (Göçer et Gulçin, 2011).

Les composés phénoliques qui possèdent un nombre accru de cycles hydroxyliques aromatiques tels que des flavonoïdes ont montré une activité antioxydante supérieure par rapport aux acides phénoliques. Le fragment de catéchol dans l'anneau B, la 2,3-double liaison et le 4-oxo conjugués dans le cycle C et le fragment hydroxy et 3 et 5-hydroxy des flavonoïdes ont été considérés comme importants pour leur activité chélatante élevée et leur pouvoir puissant de piégeage des radicaux libres (Zhang et Tsao, 2016).

Il convient de souligner que lorsqu'une molécule phénolique perd un électron où elle devient un radical, quoique relativement stable; ses intermédiaires oxydés peuvent également devenir prooxydants. L'interaction entre les polyphénols et les ions de métaux de transition peut engendrer un prooxydant (Bouayed et Bohn, 2010) et les produits intermédiaires oxydés ou les produits d'oxydation des polyphénols, tels que les semi-quinones et quinones peuvent devenir des prooxydants et avoir des effets néfastes sur la santé humaine lorsqu'ils sont présents à concentrations élevées (Halliwell, 2012).

Les polyphénols peuvent avoir deux effets ; d'une part, lorsqu'ils sont consommés à des doses correctes, ils sont des antioxydants puissants, ils réduisent le stress oxydatif et donc bénéfiques pour la santé, d'autre part, ils peuvent engendrer une activité prooxydante lorsqu'ils sont

consommés à des doses élevées, par exemple sous forme de compléments alimentaires (Bouayed et Bohn, 2010 ; Zhang et Tsao, 2016).

Cependant, le métabolisme rapide et la faible solubilité des composés phénoliques entraînent souvent une faible biodisponibilité *in vivo*. La concentration plasmatique des flavonoïdes est généralement inférieure à 1 $\mu\text{mol/L}$ qui est insuffisante pour exercer d'importantes activités antioxydantes mesurables par un piégeage direct des radicaux par les méthodes existantes de dosage *in vitro*. Le complexe intrinsèque du système antioxydant rend également difficile la vérification des effets antioxydants systémiques des faibles composés phénoliques absorbés *in vivo* (Van Duynhoven *et al.*, 2011).

1.6.2. Activité anticholinestérase des polyphénols

L'acétylcholine est présent dans le système nerveux, étant essentiel pour le développement et l'activité corticale cérébrale le contrôle du flux sanguin, le cycle sommeil-réveil et, surtout, l'apprentissage et les processus de mémoire (Pinhoa *et al.*, 2013)

Plusieurs études sur des modèles animales ont montré l'importance de l'acétylcholine (ACh) pour la performance cognitive (Sherman *et al.*, 2003). L'acétylcholine est stockée dans les vésicules dans les nerfs terminaux, étant libérée quand ils sont dépolarisés. Cependant, l'ACH libérée a une vie courte due à son hydrolyse par les enzymes cholinestérases (ChE). Ainsi, l'inhibition de la ChE induit à une persistance de la présence d'acétyl choline et, en conséquence, une prolongation de son activité (Pinhoa *et al.*, 2013).

Actuellement, deux cholinestérases principales sont connues: l'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BuChE) (Fukami et Yokoi, 2012). La BuChE, qui est également connue sous le nom de pseudocholinestérase, catalyse l'hydrolyse d'une grande variété d'esters de choline et de non-choline (butyrylcholine, succinylcholine, acétylcholine, acide acétylsalicylique, cocaïne et héroïne) (Darvesh *et al.*, 2003).

Plusieurs nouvelles options de traitement pour arrêter le développement de la maladie d'Alzheimer ont été étudiées. Cependant, les traitements actuellement disponibles ne sont que symptomatiques: la memantine, qui est un N-méthyl-d-aspartate (NMDA), et les inhibiteurs de ChE sont les seuls les médicaments disponibles (Association d'Alzheimer, 2012). Les inhibiteurs de ChE peuvent atténuer temporairement certains symptômes, car ces médicaments améliorent l'activation des synapses, améliorant ainsi la connaissance (Mattson, 2004 ; Zhang *et al.*, 2012).

Les polyphénols présentent un effet anticholinestérase puissant. La consommation d'aliments riches en polyphénols pourrait limiter la neurodégénération et prévenir ou inverser les

détériorations cognitives associées au vieillissement cérébral (Heo *et al.*, 2004 ; Jin *et al.*, 2009 ; Uriarte-Pueyo *et al.*, 2011 ; Pinho *et al.*, 2013). Cependant, la plupart des données obtenues jusqu'à présent proviennent d'études à court terme menées *in vitro* ou *in vivo* et avec des doses largement supérieures à celles obtenues au cours d'une alimentation normale (Vauzour, 2014).

L'inhibition de ces deux enzymes par les polyphénols est due à la formation des fortes liaisons d'hydrogène avec les résidus d'acides aminés importants des deux enzymes. Un certain nombre d'interactions hydrophobes pourraient également expliquer le pouvoir de ces composés à inhiber AChE et BChE (Khan *et al.*, 2009).

2.1. Généralités sur les légumes

Les légumes sont des plantes comestibles. Ils sont généralement regroupés en fonction de la partie comestible en : légumes racines, légumes tiges, légumes feuilles , légumes bulbes (Alvino et Barbieri, 2016).

En effet, la consommation des légumes est associée aux nombreux bienfaits pour la santé (Hagen *et al.*, 2009; Slavin et Lloyd, 2012; Tiwari et Cummins, 2013 ; Storey et Anderson, 2014). L'OMS et la FAO recommandent la consommation d'un minimum de cinq fruits et légumes par jour (à l'exclusion des pommes de terre et autres tubercules féculentes) pour prévenir les maladies chroniques, ainsi que pour prévenir et atténuer plusieurs carences en micronutriments, en particulier dans les pays moins développés (Keller et Tukuitoranga, 2007). Des études épidémiologiques et d'intervention ont suggéré qu'une prise de 14g de fibres alimentaires par 1000 kcal favoriserait la santé cardiaque (Storey et Anderson, 2014). Cependant, tous les légumes ne peuvent être mangés crus, et certaines personnes au système digestif affaibli ne les supportent pas sous cette forme (Florani, 2014).

Les légumes réduisent le risque de certaines maladies chroniques et fournissent des nutriments essentiels pour la santé et l'entretien du corps humain, comme la vitamine A, la vitamine C, l'acide folique, les fibres et le potassium (Keller et Tukuitoranga, 2007).

Le groupe des légumes comprend tous les légumes frais, congelés, en conserve et les jus de légumes (USDA, 2011). Les légumes constituent une excellente source de nutriments phytochimiques qui présentent de nombreux avantages pour la santé (Moreno *et al.*, 2006). Les produits phytochimiques sont des composés bioactifs naturels qu'on trouve dans les légumes et les fruits utilisés pour lutter contre les radicaux libres et la réduction des dommages oxydatifs responsables des maladies chroniques (Tiwari et Cummins, 2013).

Les légumes sont riches en flavonoïdes (Lin et Chang, 2005), en polyphénols (Faller et Fialho, 2009), en anthocyanine à forte activité antioxydante (Monero *et al.*, 2010) et en glucosinates et isothiocyanates qui sont les principaux composés biologiquement actifs connus par leur activité anti-cancérogène rapportée dans plusieurs études *in vitro* et *in vivo* (Verkerk *et al.*, 2009). Néanmoins, les légumes contiennent des anti-nutriments: les pommes de terre contiennent des alcaloïdes (la solanine), l'arsenic et le nitrite; les légumes à feuilles vertes présentent les oxalates toxiques (Karmas et Harris, 1988; Habiba, 2002). Selon Habiba (2002), donc la réduction ou l'élimination de ces anti-nutriments est nécessaire pour prévenir l'empoisonnement et pour améliorer l'utilisation biologique des légumes. La plupart des anti-nutriments peuvent être réduits ou détruits en utilisant la bonne méthode de cuisson.

2.2. Effet de la cuisson sur les légumes

2.2.1. Concept de la cuisson

La cuisson est une opération faisant augmenter la température des aliments, ce qui entraîne un certain nombre de processus simultanés et inter-reliés qui influencent la saveur, la texture, l'apparence, la teneur en éléments nutritifs et la sécurité alimentaire. Les différentes techniques de cuisson domestique reflètent la manière dont la température de l'aliment est augmentée (Bimbenet *et al.*, 2002).

2.2.2. Méthodes de cuisson

Il existe deux principales méthodes de cuisson de base: humide et sec. La cuisson humide comprend l'ébullition, le mijotage, la cuisson à la vapeur et la cuisson sous pression. Pendant la cuisson humide, la température de surface des aliments ne dépasse pas le point d'ébullition de l'eau (habituellement 100 °C, mais elle peut atteindre 120 °C dans les autocuiseurs domestiques); par conséquent, la surface reste humide. La cuisson à sec comprend la friture, la cuisson au four, la torréfaction, le barbecue et le grillage. La température de surface pendant la cuisson sèche peut dépasser 100°C, conduisant à l'évaporation de l'humidité et une surface sèche ou croquante (Rosenthal, 2016).

De nombreux auteurs ont étudié les variations des nutriments des légumes après la cuisson, et une grande variabilité dans les données a été rapportée. Les changements des composés phytochimiques lors de la cuisson peuvent résulter de deux phénomènes opposés: la dégradation thermique, ce qui réduit leur concentration, et un effet adoucissant matriciel, ce qui augmente l'extractible de ces composés, ce qui se traduit par une concentration plus élevée par rapport à la matière première. L'effet final de la cuisson sur la concentration des nutriments dépend des paramètres de traitement, de la structure de la matrice alimentaire et de la nature chimique du composé spécifique (Palermo *et al.*, 2013).

La cuisson dans l'eau regroupe en particulier les techniques culinaires de bouillon, de mijotage et de blanchiment des aliments. L'eau est souvent chauffée jusqu'à ébullition, et les aliments y sont plongés plus ou moins tôt et pour une durée variable, ce qui peut avoir une influence sur les caractéristiques du produit fini (Rocca-Polimeni, 2009).

La cuisson par microonde a gagné en popularité dans la transformation des aliments grâce à sa capacité à atteindre des vitesses de chauffage élevées, une réduction significative du temps de cuisson, un chauffage plus uniforme, une manipulation sûre, une facilité de fonctionnement et un entretien réduit. Elle peut modifier la saveur et les qualités nutritionnelles des aliments dans une moindre mesure (Chandrasekaran *et al.*, 2013).

Le processus de microonde peut être employé comme méthode alternative au processus conventionnel. Elle consiste à cuire les légumes en les plaçant dans un four microonde dont la friction moléculaire induite par les molécules d'eau va produire de la chaleur (Uslu et Özcan, 2017).

La friture est un procédé de cuisson des aliments à des températures supérieures au point d'ébullition (entre 155 et 190 °C). Les aliments doivent être immergés dans une grande quantité d'un corps gras porté à haute température et cuits très rapidement. La friture permet donc une évaporation de l'eau de la surface des aliments qui permet leur déshydratation et la formation d'une croûte (Baldwin, 2012).

La cuisson par vapeur consiste à cuire des aliments en les enveloppant de vapeur provoquant ainsi le contact direct de la chaleur avec les produits traités (Fabbri et Crosby, 2016).

La cuisson par grillage consiste à soumettre un aliment à l'action directe de la chaleur ou par contact d'un gril. Cette technique de cuisson rapide s'applique à des légumes, abats, produits de charcuteries, poisson et viandes (Fabbri et Crosby, 2016).

2.2.3. Paramètres de cuisson des légumes

2.2.3.1. Transfert de chaleur

Il existe deux manières fondamentales d'application d'énergie à une denrée alimentaire pour obtenir une élévation de température. La voie traditionnelle est par contact avec un milieu chauffé, ce qui provoque l'écoulement de la chaleur à la surface de l'aliment et, par la suite, au centre par conduction. Une voie alternative consiste à appliquer des rayonnements électromagnétiques. Deux types de rayonnement électromagnétique couramment utilisés dans la cuisine domestique, le chauffage par rayonnement infrarouge et les microondes.

Le chauffage par rayonnement infrarouge utilise un rayonnement de courte longueur d'onde qui ne peut pénétrer que de quelques millimètres en dessous de la surface d'aliment. Les régions internes d'aliment sont chauffées par conduction. Les micro-ondes ont des longueurs d'onde plus longues qui sont capables de pénétrer profondément dans les aliments, générant le chauffage *in situ* (Rosenthal, 2016).

La différence cruciale entre les différentes techniques de ce qui se passe à la surface d'aliment, lorsqu'un aliment solide est placé dans un liquide chaud, il y a une couche de liquide stagnante qui se forme autour de l'aliment. Cette couche limite agit comme une barrière isolante qui ralentit le flux de chaleur du fluide vers les aliments (Singh *et al.*, 2014).

Dans le cas de la cuisson par un four cette couche isolante est constituée d'air qui est un bon isolant (conductivité thermique, $0,024 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$); il ralentit considérablement le flux de chaleur (figure 5 (a))(McGee ,1991).

Pour réduire l'épaisseur de cette couche limite, il faut agiter le milieu de chauffage. Dans le cas des fours à ventilation assistée, l'air est forcé à circuler, en frappant ainsi la surface d'aliment, en réduisant physiquement l'épaisseur de la couche limite (Figure 5 (d)). Le coefficient de transfert de chaleur en surface dans un four ventilé est environ 10 fois plus grand que dans un four conventionnel (Rosenthal, 2016)..

La chaleur se déplace par conduction à travers des couches limites statiques. Les fluides sont de meilleurs conducteurs de la chaleur que l'air, ils augmenteront le débit de chaleur à la surface d'aliment. L'eau a une conductivité thermique de $0,573 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$, et les vitesses de transfert de chaleur par convection pendant l'ébullition et le mijotage sont donc considérablement plus rapides que dans les fours à la même température (Figure 5 (e)). Les milieux de chauffage liquides alternatifs, tels que l'huile, ont des conductivités thermiques proches de celle d'eau mais son point d'ébullition peut atteindre des températures d'environ $180 \text{ }^\circ \text{C}$. Par conséquent, les vitesses d'écoulement de la chaleur vers la surface lors de la friture sont considérablement plus élevées qu'à l'ébullition. Ceci est également attribuable en partie à l'agitation physique de la couche limite causée par la génération de vapeur d'eau à la surface d'aliment qui est en contact avec l'huile chaude (Figure 5 (g)). Lorsque la vapeur saturée est utilisée comme moyen de chauffage, le flux de chaleur vers la surface d'aliment s'accompagne simultanément d'une condensation de la vapeur qui entraîne l'occupation de vide et la formation d'une couche limite pratiquement négligeable (Figure 5). Cependant, si la vapeur n'est pas saturée, l'air non condensé s'accumule à la surface de l'aliment, formant une couche isolante. En fait, aussi peu que 6% d'air dans la vapeur réduit le transfert de chaleur à la surface de 90%(Rosenthal, 2016).

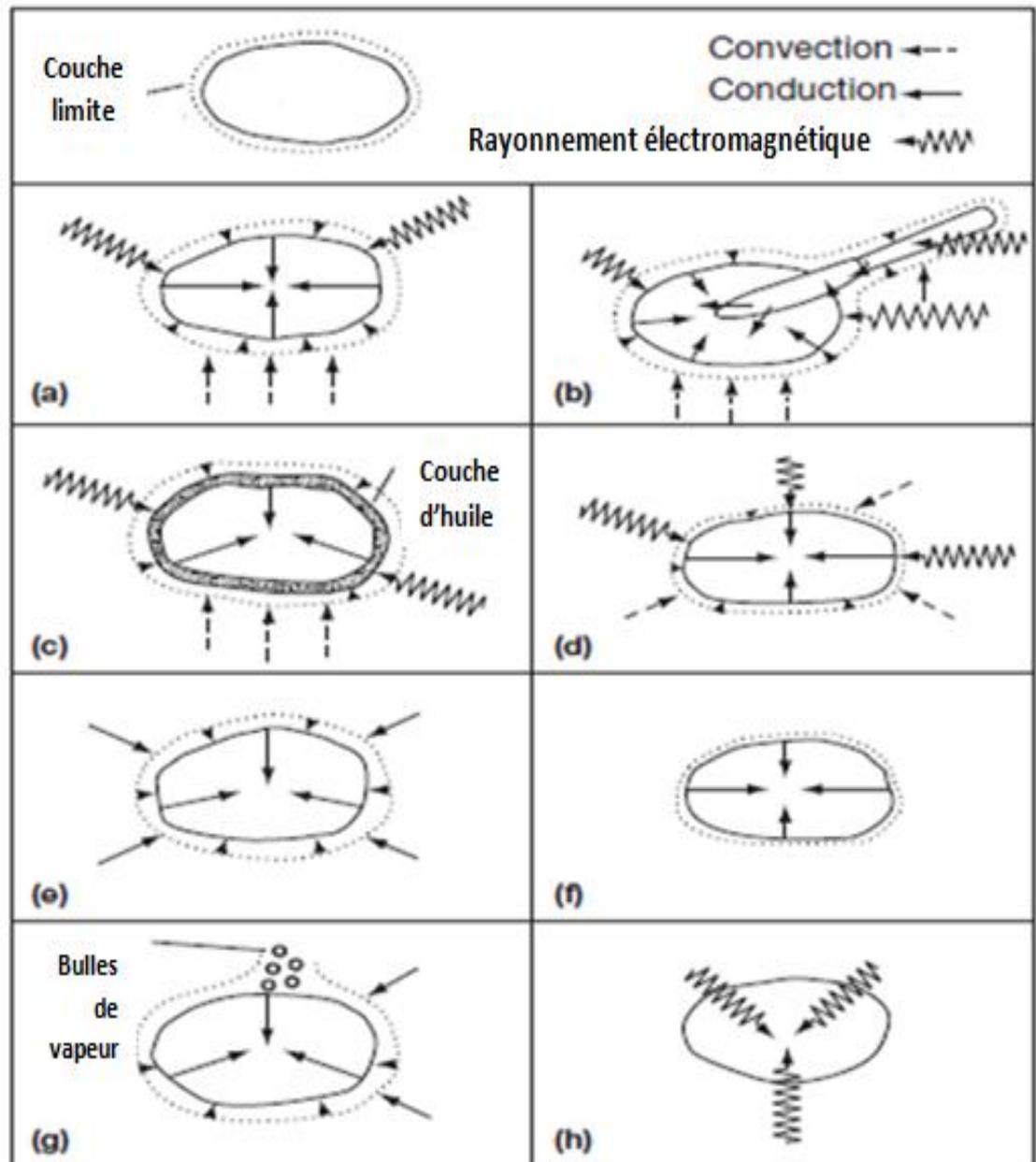


Figure 5. Façons de cuire une pomme de terre: (a) cuisson dans un four, (b) cuisson dans un four avec un bon conducteur (par exemple un couteau) inséré, (c) rôtissage, (d) convection forcée (four ventilé), (e) ébullition (f) cuisson à la vapeur ou cuisson sous pression; (g) friture (ébréchée), (h) micro-ondes (Rosenthal, 2016).

2.2.3.2. Taux de chauffage

Pendant le chauffage, la vitesse à laquelle la chaleur entre dans l'aliment dépend de sa forme et de sa taille et de la différence de température entre l'aliment et le milieu de chauffage ainsi que le taux de transfert de chaleur entre l'aliment et le milieu de chauffage (Cernela *et al.*, 2014).

Les formes ayant un rapport surface / volume plus élevé, chaufferont plus rapidement que d'autres formes. Par conséquent, compte tenu de la rapidité avec laquelle la chaleur pénètre au centre de deux pommes de terre «sphériques» de tailles différentes, il est évident que la pénétration de la chaleur au centre d'une pomme de terre plus longue prend plus de temps. Il y a deux raisons à cela: une plus grande distance pour le flux de chaleur et un plus petit rapport entre la surface et le volume. La force motrice de toute opération de chauffage est la différence de température entre l'aliment et le fluide caloporteur. Plus les différences sont grandes, plus les vitesses de transfert de chaleur sont rapides. Dans le cas de la cuisson domestique, les aliments sont chauffés par un transfert de chaleur instationnaire, c'est-à-dire que la différence de température diminue lorsque la température d'aliment augmente et, par conséquent, la force motrice diminue à mesure que le processus de chauffage s'ensuit. Les propriétés physiques de l'aliment et du système de chauffage contribuent à la vitesse de chauffage. Des facteurs tels que la facilité avec laquelle la chaleur peut s'écouler à travers la couche limite de la surface isolante et à travers la masse d'aliment par conduction vers le centre sont influents (Rosenthal, 2016).

2.2.4. Changements de qualité pendant la cuisson

2.2.4.1. Changements de texture

Les changements dans la structure des protéines et la solubilisation des polysaccharides (et de certaines protéines) sont les deux principaux phénomènes impliqués dans le changement de la texture des aliments (Cernela *et al.*, 2014)

Le chauffage pendant de longues périodes ou à des températures élevées entraînent fréquemment des changements irréversibles dans la structure tertiaire, la dénaturation, qui provoque des changements dans les propriétés fonctionnelles qui peuvent être souhaitables ou non (Fersht, 2013). Si la protéine est fortement chargée, les chaînes d'acides aminés non enroulées ont tendance à se repousser les unes des autres, ce qui augmente l'affinité pour l'eau et améliore la solubilité. Si la protéine est raisonnablement proche de son point isoélectrique, les chaînes d'acides aminés ont tendance à s'attirer les unes aux autres, avec des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogènes, formant un réseau de chaînes. Ce comportement d'association entraîne une réduction de la quantité d'eau associée aux protéines, une perte de solubilité des protéines; la précipitation de la protéine, une structure solide (thermo durcissement ou gélification); perte de capacité de rétention d'eau accompagnée d'un exsudat aqueux du produit (Fellows, 2017).

La solubilisation est également un processus qui affecte les polysaccharides des parois cellulaires des plantes. La dissolution de pectine, entraîne un ramollissement des tissus végétaux. L'addition

de bicarbonate de sodium améliore la solubilisation de la pectine, par la production du sel de sodium, et déplace les ions calcium qui sont naturellement chélatés dans la structure (Rosenthal, 2016).

La dénaturation des protéines est recherchée durant le blanchiment, une brève exposition à des températures d'environ 85°C permet l'inhibition des enzymes responsables du brunissement enzymatique (Fellows, 2017).

L'amidon est présent dans de nombreux aliments végétaux, et son chauffage avec un apport suffisant d'eau conduit à la gélatinisation. Les granules gonflent en absorbant l'eau et les structures cristallines sont perturbées et fusionnées ce qui permet d'engendrer à la fois un effet adoucissant et un effet épaississant, ce qui explique pourquoi l'amidon gélatinisé fournit la viscosité de nombreuses sauces. Dans le cas des végétaux amylacés, c'est autour de 60°C, en milieu riche en eau, qu'intervient la gélatinisation de l'amidon. Ceci correspond à la rupture des liaisons qui maintiennent l'ensemble amylose- le polymère linéaire de l'amidon et amylopectine - le polymère ramifié de l'amidon. Les grains d'amidon gonflent et s'hydratent. La paroi étant dénaturée, ces derniers sont éventuellement libérés dans le milieu de cuisson si celui-ci est aqueux. L'amidon gélatinisé qui se retrouve à l'extérieur des cellules peut alors donner une texture collante à l'aliment (Fujita, 2017)..

2.2.4.2. Changements de couleur et de saveur

À l'exception des couleurs ajoutées parfois utilisées en cuisine domestique (par exemple safran ou cochenille), deux types de changement de couleur résultent de la cuisson domestique: la modification des pigments naturels présents dans les matières premières et les réactions de brunissement. La plupart des couleurs naturelles sont relativement instables.

Dans la cuisson humide, la perte de couleur naturelle peut résulter de la lixiviation des pigments solubles dans l'eau dans le milieu de cuisson (Tian *et al.*, 2016).

Les chlorophylles sont également susceptibles de perdre leur couleur lorsqu'elles sont chauffées dans des conditions acides. Le passage du vert vif à un vert grisâtre est le résultat de la déminéralisation de l'atome de magnésium de la molécule. D'autres pigments naturels présentent une sensibilité au pH. Les anthocyanes, par exemple, passent du rouge (dans des conditions acides) à l'incolore (lorsqu'elles sont neutres), au bleu (lorsqu'elles sont alcalines).

Les réactions de brunissement ont tendance à se produire aux faibles niveaux d'eau.. Ils sont donc courants en cuisine sèche où les couches de surface peuvent s'assécher (Rosenthal, 2016).

Le brunissement de Maillard, qui comprend la réaction entre les groupes carbonyles (tels que trouvés dans les sucres réducteurs) et les groupements amine des protéines. La réaction donne

naissance à une variété de composés bruns et à des arômes caractéristiques. En règle générale, les composants volatils sont perdus pendant la cuisson, ce qui peut entraîner une perte de la saveur non cuite. Le chauffage soutenu des surfaces sèches peut entraîner une carbonisation, généralement accompagnée de fumée. Dans de telles circonstances, la surface brunit puis se noircit lorsque l'aliment brûle. Ces produits sont inappréciable par le consommateur (Sanguansri, 2016)

2.2.4.3. Changements nutritionnels

La perte de nutriments pendant la cuisson est attribuable à deux voies de base: les réactions chimiques induites thermiquement et la lixiviation de nutriments dans le milieu de cuisson. De nombreux nutriments sont thermiquement instables, et lorsqu'ils sont chauffés, les concentrations diminuent avec le temps. Évidemment, différents nutriments ont des taux de destruction différents. Les plus sensibles sont l'acide ascorbique (vitamine C) et l'acide folique, qui peuvent être complètement détruits par la cuisson domestique (McKillop *et al.*, 2002 ; Stea *et al.*, 2007 ; Fabbri et Crosby, 2016) . Parmi les acides aminés essentiels, la lysine est la moins stable et jusqu'à 40% peuvent être perdus par les pratiques de cuisson domestique. En général, les méthodes rapides de cuisson, qui utilisent des températures élevées pendant de courtes périodes ou des micro-ondes, provoquent moins de destruction des nutriments que les méthodes de cuisson à basse température et à longue durée, comme le ragoût. Les processus de courte durée à haute température, comme la friture, peuvent entraîner des niveaux de vitamine C similaires à ceux des pommes de terre crues. En plus de la décomposition thermique, les nutriments peuvent être perdus par des réactions entre eux (Rufian –Henares et Pastoriza, 2016).

Le bicarbonate de sodium est parfois ajouté aux légumes pour son effet adoucissant. Malheureusement, son addition conduit à la destruction de la vitamine C ainsi que des protéines modifiant chimiquement, abaissant leur valeur biologique. Les procédés de cuisson ne sont pas entièrement préjudiciables d'un point de vue nutritionnel. Par exemple, la friture peut entraîner une absorption d'huile, entraînant une augmentation de la densité énergétique des aliments (Rosenthal, 2016).

2.2.4.4. Aspects sanitaires

La cuisson donne des produits sûrs par la destruction des composants nocifs ou toxiques . Les composants nocifs dans les aliments se présentent sous la forme de toxines naturellement présentes (par exemple, cyanures dans les haricots et le manioc) ou de composés qui interfèrent avec la digestion, rendant ainsi les aliments moins nutritifs (par exemple, les inhibiteurs de la trypsine) (Eymar *et al.*, 2016 ; Areas *et al.*, 2016).

La présence de micro-organismes pathogènes peut entraîner des infections, tandis que d'autres micro-organismes produisent des toxines, qui entraînent toutes les deux des intoxications alimentaires. La cuisson est efficace pour détruire ou enlever beaucoup de ces composants nocifs. Cependant, certaines toxines sont relativement thermostables (par exemple, la toxine produite par *Staphylococcus aureus*) et ne peuvent pas être détruites par les températures et les temps encourus pendant la cuisson domestique (Dablood *et al.*, 2014).

Néanmoins, il ne faut pas oublier que la cuisson peut aussi avoir un effet néfaste. En particulier avec la création de molécules cancérigènes, d'autant plus générées que la température de cuisson est élevée (Sugimura, 2002). Jägerstad et Skog (2005) donnent la liste de ces principaux composés génotoxiques : les acrylamides, les amines hétérocycliques, les amines multi-azotées et les glucides polyaromatiques.

2.2.5. Effet de la cuisson sur la teneur en polyphénols des légumes

2.2.5.1. Polyphénols des légumes

Les légumes sont riches en polyphénols (colorés ou non) possédant de puissantes propriétés antioxydantes (Pincemail *et al.*, 2007). Globalement, le potentiel phénolique des légumes dépend de nombreux facteurs externes (conditions climatiques, itinéraires techniques, origines) et internes (état physiologique du fruit, position de celui-ci sur l'arbre, génotype) (Mehinagic *et al.*, 2011).

La composition phénolique varie au cours du développement et de la maturation (Burda *et al.*, 1990; Kondo *et al.*, 2002). Toutefois, certains facteurs externes comme les traitements culinaires ou le stockage des fruits peuvent également modifier la composition phénolique. La découpe et le broyage (étape commune à de nombreux procédés de transformation), le pressurage ou les traitements thermiques peuvent avoir des impacts significatifs sur la quantité et la qualité des composés phénoliques présents dans le produit fini.

Dans des conditions physiologiques normales, les composés phénoliques et les enzymes qui participent à leur dégradation sont compartimentés dans les cellules du légume. Lors des opérations de découpe ou de broyage, l'intégrité cellulaire est altérée. Les composés phénoliques solubles, généralement accumulés au sein des vacuoles, se retrouvent en contact avec les enzymes responsables du brunissement initialement présentes dans les parois cellulaires et le cytoplasme (Marquès *et al.*, 2003). En présence d'oxygène, il peut y avoir consommation des composés phénoliques par les polyphénoloxydases et peroxydases, aboutissant à la formation de pigments bruns et donc à une diminution de la concentration des polyphénols. Ce phénomène peut aussi apparaître lors des opérations de décongélation, en raison des perturbations des structures

cellulaires induites par la formation de cristaux de glace de grande taille dans les cellules lors d'une congélation lente.

Les différences de répartition tissulaire des classes de polyphénols entraînent également des pertes à la découpe si les tissus les plus riches en composés phénoliques sont retirés. C'est le cas des flavonols, concentrés dans l'épiderme, dont les plus grandes pertes sont observées après épluchage. Concernant l'impact de traitements thermiques sur la teneur et la composition en polyphénols de légumes, les données sont actuellement contradictoires. Selon ces auteurs, cet accroissement serait dû à une libération des composés phénoliques initialement associés aux parois des cellules, induite par le chauffage et donc liée à la dégradation de ces parois. De nombreuses modifications dans la teneur et la composition polyphénolique des légumes sont susceptibles d'apparaître au cours des différentes étapes de transformation. Etudier les effets de ces procédés à l'échelle industrielle, en analysant l'impact de chaque opération sur ces composés, reste une opération cruciale pour les industriels qui souhaitent préserver la qualité nutritionnelle de ces produits (Mehinagic *et al.*, 2011).

2.2.5.2. Effet de la cuisson sur le contenu phénolique des légumes

L'effet de la cuisson sur la teneur en composés phénoliques des légumes dépend de nombreux facteurs. En général, dans tous les cas où les légumes ont été mis en contact avec de l'eau, les pertes sont dues de leur bonne solubilité dans l'eau. Ces pertes peuvent être limitées en cas de cuisson des légumes sans pelage, mais le processus d'élimination de la peau est généralement associé à des pertes de polyphénols, car c'est là qu'ils sont le plus concentrés. Dans le procédé hydrothermal, une question importante est le degré de broyage des légumes: plus le degré de broyage augmente, plus la perte de composants hydrosolubles est importante. Les procédés thermiques réalisés sans l'apport d'eau entraînent souvent une augmentation des polyphénols (Smith *et al.*, 1997 ; Bartz et Brecht, 2002; Tiwari et Cummins, 2013 ; Fabbri et Crosby, 2016).

L'augmentation des polyphénols après cuisson est essentiellement due à une hydrolyse thermique des parois de la cellule et des compartiments subcellulaires, qui favorisent la libération de l'alimentation de fibres liés (De Santiago *et al.*, 2018).

La méthode de préparation peut affecter fortement le contenu phénoliques et l'acceptabilité des aliments. Selon les études, la vapeur semble être la meilleure méthode pour maintenir la qualité nutritionnelle des légumes (Stea *et al.*, 2007; Wachtel- Galor *et al.*, 2008 ; Mahn et Reyes, 2012 ; Bongoni *et al.*, 2014). Cependant, une augmentation de l'activité antioxydante a été obtenue cela

est peut être expliquée par les changements des propriétés des polyphénols par traitement thermique (Sikora et Borczak, 2014).

La connaissance des facteurs et de leur impact sur la teneur en composés phénoliques dans les légumes peut permettre la sélection de tels processus technologiques et de transformation culinaire, qui sera associée à une rétention optimale des composants (Palermo *et al.*, 2013).

Matériel et méthodes

Nous rappelons que les principaux objectifs de cette étude sont d'optimiser d'une part les conditions de cuisson, notamment le temps, la température et le volume d'eau utilisés dans le cas de la cuisson par ébullition et par vapeur, et le temps, la puissance et le volume d'eau utilisés dans le cas de la cuisson par microonde de six légumes (épinard, aubergine, carotte, oignon, pomme de terre et piment vert piquant), et d'autre part les conditions d'extraction des polyphénols (concentration du solvant, temps de macération, temps d'ultrasonication et broyage ou non du légume). La combinaison de ces facteurs optimisés va nous permettre de connaître les bonnes conditions de cuisson pour conserver un meilleur taux de polyphénols et la bonne méthode pour extraire le maximum de ces composés d'intérêt.

1. Matériel végétal

Cette étude a porté sur six légumes frais : la pomme de terre blanche (*Solanum tuberosum* L ; Var. *Spunta*), la carotte (*Daucus Carotta* L ; Var. *Premia*), l'oignon (*Allium cepa* L. Var. *Red Amposta*), l'aubergine (*Solanum melongena* L., Var. *Adria*), l'épinard (*Spinacia oleracea* L. ; Var.: *Géant d'hiver*) et le piment vert piquant (*Capsicum annuum* L. Var. *Capel hot*) (**Figure 6**).

Les échantillons ont été récoltés manuellement, à partir des champs de culture, suivant la disponibilité et la maturité de chaque légume à différents endroits de la commune de Beni Bechir, wilaya de SKIKDA (**Figure7**) durant le mois de Juin 2014, excepté l'épinard qui a été récolté le mois de Février de la même année. En effet, cette commune est située à 13 km de Skikda ville et 33 mètres d'altitude. C'est une zone agricole dont le climat est chaud et tempéré.

Le choix de ces espèces de légumes est fondé d'une part sur la diversité de la partie comestible de la plante : légume racine (carotte), légume tubercule (pomme de terre), légume bulbe (oignon), légume feuille (épinard) et légume fruit (aubergine et piment) et d'autre part par rapport à la fréquence de consommation ménagère algérienne de ces légumes. Concernant le choix de ces variétés, il est justifié par leur disponibilité sur le champ au moment de la réalisation des prélèvements.

Approximativement 1,5 kg de chaque légume ont été réservés pour les différents essais. Après lavage des légumes récoltés, afin de les débarrasser de la terre et d'autres impuretés, ils sont placés dans des sacs en plastique stériles, transportés dans une glacière et amenés au laboratoire pour analyse.

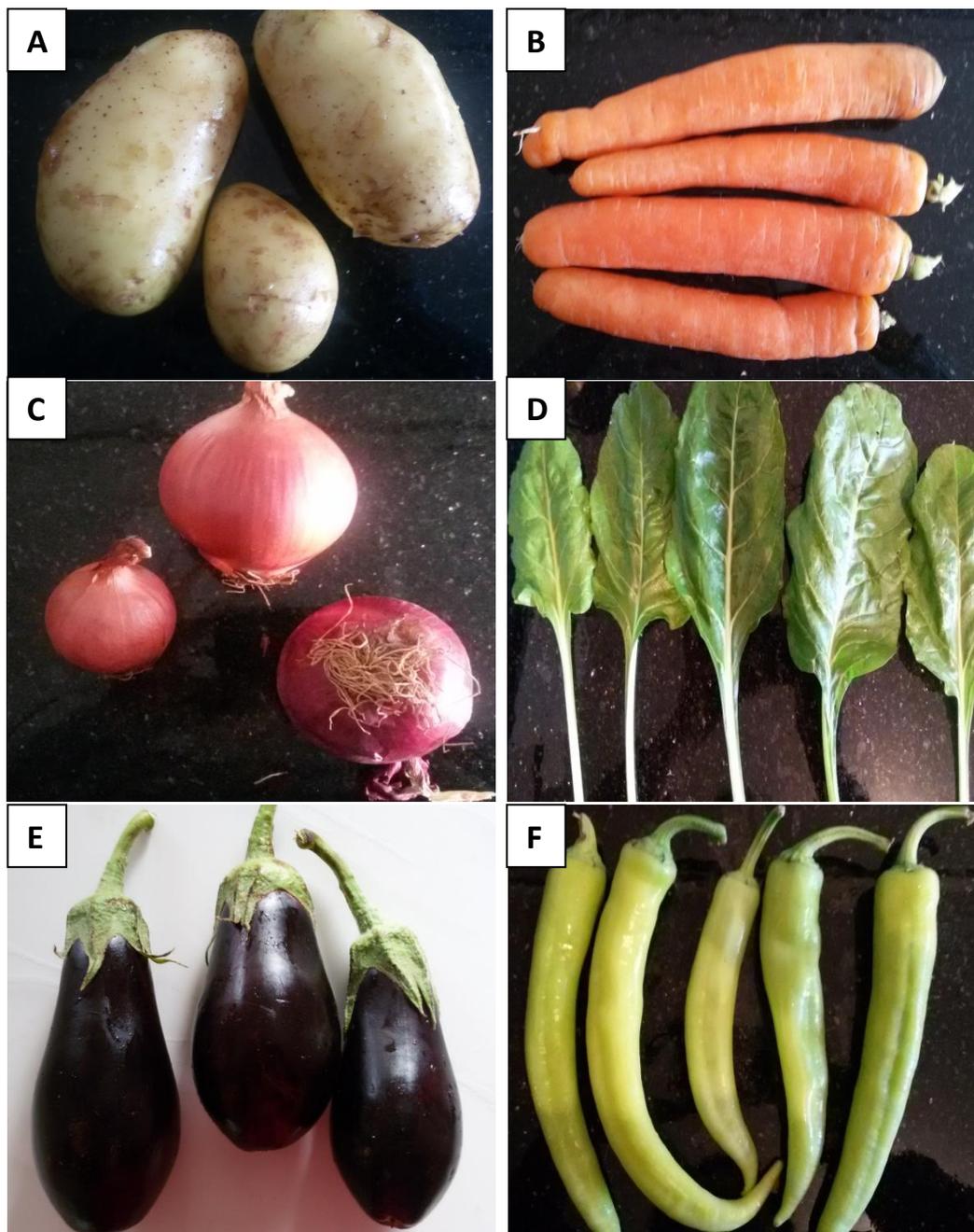


Figure 6.Photos des légumes utilisés

A : Pomme de terre blanche (*Solanum tuberosum* L ; Var. *Spunta.*) ; B : Carotte (*Daucus Carotta* L. ; Var. *Premia*) ; C : Oignon (*Allium cepa* L. Var. *Red amposta*) ; D : Epinard *Spinacia oleracea* L. ; Var.: *Géant d'hiver*) ; E : Aubergine (*Solanum melongena* L., Var. *Dourga*), F : piment vert piquant (*Capsicum annum* L. Var. *Capel hot*).

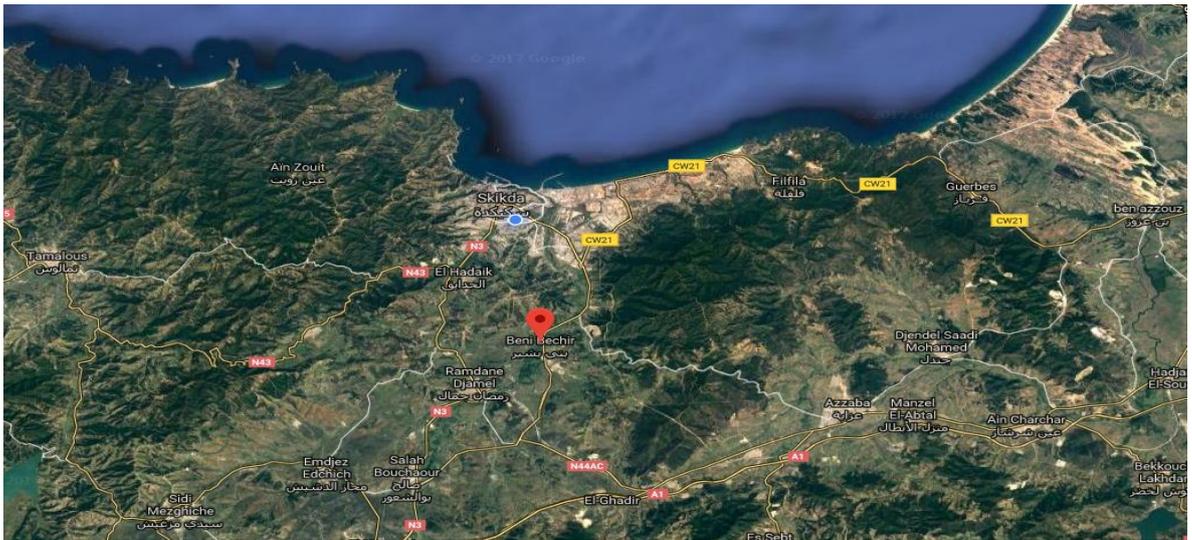


Figure 7. Site des prélèvements des légumes

2. Méthodes

L'évaluation des teneurs en polyphénols totaux et des flavonoïdes ainsi que la cuisson des légumes ont été réalisées au laboratoire de BIOTEchnologie et QUALité des ALiments (BIOQUAL) de l'Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro Alimentaires (I.N.A.T.A.A), Université Frères Mentouri Constantine1 (UFMC1). L'activité antioxydante, l'activité anticholinestérase et la caractérisation des composés phénoliques par LC-MS/MS ont été réalisées au laboratoire de pharmacie et pharmacologie, du Département de pharmacie, Université Dicle, Diyarbakir, Turquie.

2.1. Préparation et cuisson des échantillons

2.1.1. Préparation des échantillons

Avant d'être utilisés, les légumes ont été immédiatement triés : les légumes sains de forme et d'aspect réguliers ont été choisis pour l'expérimentation et ceux abimés ou défectueux ont été éliminés. Toutes les parties non comestibles ont été enlevées manuellement ou à l'aide d'un couteau en acier. Les légumes ont été lavés à l'eau du robinet, certains ont été pelés (pomme de terre et carotte) et découpés en petites pièces de taille homogène à l'aide d'un couteau inoxydable sur un support (planche de cuisine). Les dimensions des pièces varient d'un légume à l'autre. Nous avons coupé la pomme de terre et l'aubergine en cubes d'environ 2cm / 2 cm, le piment en demi rondelles d'environ 0,5 cm de largeur, la carotte en rondelles de 0,5 cm d'épaisseur, l'oignon en demi-rondelles de 0,5 cm de largeur et l'épinard en tranches de 0,5cm / 5cm.

2.1.2. Cuisson

1200 g de chaque légume ont été pris dont 300 g sont réservés à la détermination de la teneur en poly phénols totaux et flavonoïdes à l'état cru (témoins) et 900 g pour la cuisson, dont 300 g pour la cuisson à la vapeur d'eau, 300 g pour la cuisson par ébullition à dans l'eau et 300 g pour la cuisson par microonde (en tenant compte des trois répétitions).

Les facteurs utilisés pour l'optimisation de procédé de cuisson: volume d'eau, temps et température de cuisson (cas de la cuisson par ébullition et par vapeur) ; volume d'eau utilisé, temps et puissance (cas de la cuisson par microonde) ont été choisis en se référant à des analyses préliminaires et à la bibliographie (**tableau 1**).

2.1.2.1. Cuisson à l'eau bouillante

Chaque échantillon de légume (100 g) est placé dans une casserole d'acier inoxydable avec de l'eau distillée bouillante. La cuisson est faite à couvert, en utilisant un couvercle pour éviter le contact avec l'air libre.

2.1.2.2. Cuisson à la vapeur

Chaque échantillon de légume (100 g) est placé dans un cuiseur de vapeur en acier inoxydable «Couscoussier», et a été couvert et cuit à la vapeur au-dessus de l'eau bouillante.

2.1.2.3. Cuisson par microonde

De même, 100g de chaque légume est placé dans un plat en verre avec certain volume d'eau puis introduit dans un four microonde Géant CE137NM (consommation : 220-240V, fréquence de l'opération 245MHZ, puissance 800W, dimensions extérieures:262mm(H)x 452mm(W)x 330mm(D), dimension de la cavité du four : 198 mm(H)x315mm(W)x297mm(D).

Après chaque cuisson, les échantillons sont égouttés pour enlever le maximum d'eau puis refroidis dans un bain d'eau et conservés au congélateur pour être utilisés ultérieurement.

Tableau 1. Facteurs d'expériences pour chaque mode de cuisson

facteurs	Légume Cru		Cuisson à l'eau		Cuisson par vapeur		Cuisson par microonde	
	-	-	Temps de cuisson	(Dolinsky, <i>et al.</i> ,2016)	Temps de cuisson	(Dolinsky, <i>et al.</i> ,2016)	Temps de cuisson	(Zhao <i>et al.</i> , 2017)
	-	-	Température de cuisson	(Rocchetti <i>et al.</i> , 2017)	Température de cuisson	(Thoo <i>et al.</i> , 2010 ; Preti <i>et al.</i> , 2017)	puissance	(de Lima <i>et al.</i> , 2017)
	-	-	Volume d'eau de cuisson	(Carcea <i>et al.</i> , 2017)	Volume d'eau	Dolinsky, <i>et al.</i> ,2016)	Teneur en eau	(Cilla <i>et al.</i> , 2017)
	Concentration de solvant	(Spigno <i>et al.</i> , 2007, Galan <i>et al.</i> , 2017)	Concentration de solvant	(Spigno <i>et al.</i> , 2007, Galan <i>et al.</i> , 2017)	Concentration de solvant	(Spigno <i>et al.</i> , 2007, Galan <i>et al.</i> , 2017)	Concentration de solvant	(Spigno <i>et al.</i> , 2007, Galan <i>et al.</i> , 2017).
	Temps de macération	(Jovanović <i>et al.</i> , 2017)	Temps de macération	(Jovanović <i>et al.</i> , 2017)	Temps d'extraction	(Jovanović <i>et al.</i> , 2017)	Temps d'extraction	(Jovanović <i>et al.</i> , 2017)
	Temps d'ultrasonication	(Raza <i>et al.</i> ,2017)						
	Légumes broyés ou non	(Kim <i>et al.</i> , 2017)	Légumes broyés ou non	(Kim <i>et al.</i> , 2017)	Légumes broyés ou non	(Kim <i>et al.</i> , 2017)	Légumes broyés ou non	(Kim <i>et al.</i> , 2017)

2.2. Extraction et dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux

2.2.1. Préparation des échantillons crus et cuits

L'opération de broyage des échantillons de légumes crus et cuits a été l'un des facteurs à optimiser (tableau 1). Dans le cas du broyage des légumes, un broyeur automatique a été utilisé afin d'obtenir un extrait végétal liquide et les différentes analyses ont été effectuées sur ces extrais liquides.

2.3.2. Extraction des polyphénols totaux

La concentration du solvant d'extraction, le temps de macération, le temps d'ultrasonication et le broyage de l'échantillon utilisés ont été optimisés en se référant à des analyses préliminaires et à la bibliographie (tableau 1). L'extraction des polyphénols a été réalisée selon la méthode d'Ertas *et al.* (2016) (Figure 8)

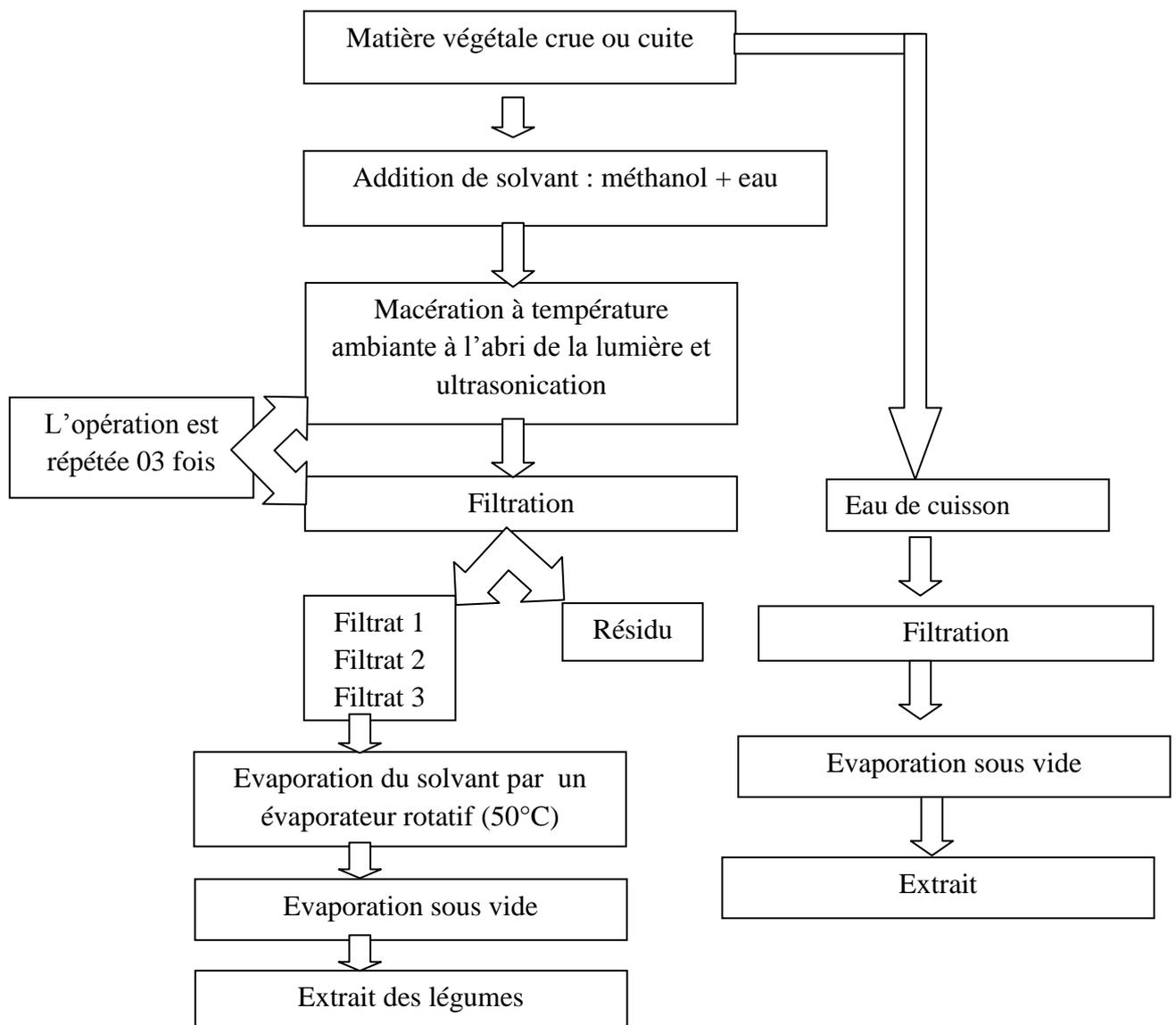


Figure 8. Protocole d'extraction des polyphénols (Ertas *et al.*, 2016).

2.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé en utilisant le Folin-Ciocalteu. C'est une solution d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) dont la réduction par l'action des polyphénols donne un mélange de complexes de sels de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) de couleur bleue (Waterhouse, 1999). La méthode adoptée dans la présente étude est celle d'Ertas *et al.*(2014). Dans chaque puits des microplaques (96 puits), 0,4µl d'extrait sont ajoutés à 0,4µl du réactif Folin-Ciocalteu et 1,2µl de Na_2CO_3 à 2 % (m/v). Le mélange est agité et incubé dans l'obscurité et à température ambiante pendant deux heures et l'absorbance est mesurée à 725 nm par un lecteur microplaque Bioteck, EON, USA lié à un microordinateur qui comporte un logiciel Gen 5. Les résultats sont exprimés en µg équivalent acide gallique/gramme d'extrait sec en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, réalisée avec 9 valeurs de concentrations (variant de 0- 1000µg/ml) (**Annexe 1**). Le taux de polyphénols totaux d'extrait a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Absorbance} = 0,0004 \text{ acide gallique } (\mu\text{g}) + 0,4204 \quad (R^2 = 0,952)$$

2.3.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), la quercétine a été utilisée comme étalon. La méthode appliquée est celle décrite par Ertas *et al.* (2014). Dans chaque puits de microplaque 20µl d'extrait à analyser sont ajoutés à 172 µl d'éthanol 80%, 4 µl de $AlCl_3$ (10% m/v).

Le mélange est agité puis incubé dans l'obscurité et à température ambiante pendant 40 minutes. Le blanc est réalisé par remplacement de l'extrait par du méthanol à 95% et l'absorbance est mesurée à 415 nm en utilisant un lecteur des microplaques Bioteck EON,USA. Les résultats sont exprimés en µg équivalent quercétine/g d'extrait sec en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (0- 1000µg/ml)(**Annexe 1**). La concentration des composés flavonoïdes a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Absorbance} = 0,0003 \text{ quercétine } (\mu\text{g}) + 0,6568 \quad (R^2 = 0,9326)$$

2.3. Identification et quantification des polyphénols par LC-MS/MS

2.3.1. Instruments et conditions chromatographiques

L'analyse des composés phénoliques LC-M /MS a été réalisée en utilisant un CLUHP modèle Shimadzu Nexera , Japan couplé à un instrument MS en tandem. Le chromatographe liquide est équipé de pompes binaires LC-30AD, un dégazeur DGU-20A3R, une colonne UDC CTO-10A et un échantillonneur SIL-30AC. La séparation automatique chromatographique a été

effectuée sur une colonne analytique C18 phase inverse ODS-4 (150 mm x 4,6 mm, 3 µm). La température de la colonne a été fixée à 40 ° C. Le gradient d'élution est composé de la phase mobile A (eau, du formiate d'ammonium 5mM et de l'acide formique à 0,1%) et la phase mobile B (méthanol, le formiate d'ammonium 5mM et de l'acide formique à 0,1%). Le programme de gradient avec les proportions suivantes du solvant B a été appliqué t (min)% B (0, 40) (20, 90), (23, 99, 90), (24, 40), (29, 40). Le débit de solvant a été maintenu à 0,5ml/min et le volume d'injection a été réglé à 4µl.

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

2.3.2. Méthode de validation des paramètres pour les LC-MS / MS

Dans cette étude, vingt-cinq composés phénoliques (flavonoïdes, glycosides flavonoïdes, acides phénoliques, phénolique aldéhyde, coumarine) et deux acides organiques non-phénoliques (acide quinique et acide malique) qui sont très répandus dans des matières végétales ont été qualifiés et quantifiés. Les équations de régression linéaire des étalons sont représentées dans le Tableau 11. La limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LQ) de la méthode décrite dans cette étude ont été dépendantes de la courbe d'étalonnage établie à partir de six mesures. Pour les différents composés, LOD variait de 0,05 à 25,8µg /l et la LQ variait de 0,17 à 85,9µg/l (**Tableau 2**). De plus, le taux de recouvrement des standards composés phénoliques varie entre 97% et 106,3% (Ertas *et al.*, 2016).

Tableau 2 . Paramètres analytiques de LC-MS/MS.

No	Standards	RT (min)	Equation	R ²	RSD%	Gamme de linéarité (mg/l)	LOD/LOQ (µg/l)	Taux de recouvrement (%)
1	Acide quinique	15	$f(x)=33,6626*x+25132,9$	0,9927	0,0388	250-10000	22,3 / 74,5	103,3
2	Acide mallique	17,2	$f(x)=93,6102*x-5673,77$	0,9975	0,1214	250-10000	19,2 / 64,1	101,4
3	Acide ferrulique	20,3	$f(x)=79,2908*x-28416,2$	0,9933	0,3908	250-10000	15,6 / 51,9	102,8
4	Acide gallique	21,23	$f(x)=358,069*x+26417,5$	0,9901	0,4734	25-1000	4,8 / 15,9	102,3
5	A.Chlorogenique	23,05	$f(x)=48,9828*x+26779,7$	0,9932	0,1882	250-10000	7,3 / 24,3	99,7
6	A.Protocatechuique	25,29	$f(x)=36,8568*x+6197,38$	0,9991	0,5958	100-4000	25,8 / 85,9	100,2
7	Acide Tannique	26,31	$f(x)=90,2704*x+30233,2$	0,9955	0,9075	100-4000	10,2 / 34,2	97,8
8	Acide caféique	27,15	$f(x)=1585,16*x+83957,5$	0,9942	1,0080	25-1000	4,4 / 14,7	98,6
9	Vanilline	29,11	$f(x)=44,5478*x-574,867$	0,9995	0,4094	250-10000	10,1 / 33,7	99,2
10	A. p-Coumarique	30,91	$f(x)=73,5303*x+27064,3$	0,9909	1,1358	100-4000	15,2 / 50,8	98,4
11	A. rosmarinique	32,06	$f(x)=18,0298*x-1149,86$	0,9992	0,5220	250-10000	10,4 / 34,8	101,7
12	Rutine	33,55	$f(x)=51,8835*x+3841,66$	0,9971	0,8146	250-10000	17,0 / 56,6	102,2
13	Hesperidine	35,04	$f(x)=195,773*x+105641$	0,9973	0,1363	250-10000	21,6 / 71,9	100,2
14	Hyperoside	38,66	$f(x)=0,978146*x+827,221$	0,9549	0,2135	100-4000	12,4 / 41,4	98,5
15	4-OH A.Benzoïque	39,01	$f(x)=635,003*x+54284,6$	0,9925	1,4013	25-1000	3,0 / 10,0	106,2
16	Acide salicylique	40,22	$f(x)=915,178*x+72571,4$	0,9904	0,6619	25-1000	4 / 13,3	106,2
17	Myricetine	41,88	$f(x)=54,2823*x+5414,67$	0,9991	2,8247	100-4000	9,9 / 32,9	106,0
18	Fisetine	43,86	$f(x)=331,870*x+34409,0$	0,9988	2,4262	100-4000	10,7 / 35,6	96,9
19	Coumarine	44,91	$f(x)=236,639*x+34370,3$	0,9924	0,4203	100-4000	9,1 / 30,4	104,4
20	Quercetine	47,91	$f(x)=206,102*x+1693,14$	0,9995	4,3149	25-1000	2,0 / 6,8	98,9
21	Naringenine	49,55	$f(x)=1100,55*x+39055,7$	0,9956	2,0200	25-1000	2,6 / 8,8	97,0
22	Hesperetine	50,05	$f(x)=160,323*x+6545,07$	0,9961	1,0164	25-1000	3,3/ 11,0	102,4
23	Luteoléine	55,80	$f(x)=111,474*x+3057,10$	0,9992	3,9487	25-1000	5,8 / 19,4	105,4
24	Kaempférol	59,84	$f(x)=20,9677*x+571,241$	0,9917	0,5885	25-1000	2,0 / 6,6	99,1
25	Apigenine	60,85	$f(x)=543,793*x+18525,6$	0,9954	0,6782	25-1000	0,1 / 0,3	98,9
26	Rhamnetine	62,33	$f(x)=110,091*x+632,444$	0,9994	2,5678	25-1000	0,2 / 0,7	100,8
27	Chryisine	63,67	$f(x)=698,787*x+23531,7$	0,9965	1,5530	25-1000	0,05 / 0,17	102,2

RT : temps de rétention, R² : coefficient de détermination, RSD : Ecart-type relatif, LD/LQ (µg/l) : limite de détection/ limite de quantification

2.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Les méthodes de dosage de la capacité antioxydante totale mesurent la capacité des antioxydants à neutraliser un radical libre. Les antioxydants ont différentes caractéristiques physiques et chimiques. Chaque antioxydant pouvant, dans la plupart des cas, agir de façon différente dans un système simple. De plus, les antioxydants peuvent réagir de manière différente face à différents radicaux ou sources oxydantes (Prior *et al.*, 2005).

Ces méthodes de dosage prennent donc en considération les antioxydants capables d'un transfert d'électron ou d'hydrogène. Les méthodes basées sur le transfert d'hydrogène sont : le DPPH et l'ABTS (Foegel *et al.*, 2011), tandis que la méthode CUPRAC est une méthode qui utilise le mécanisme de transfert d'électrons.

2.4.1. Détermination de l'activité antioxydante par la méthode DPPH

L'intérêt du test de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) permet de déterminer l'activité anti-oxydante en milieu organique (Blois, 1958). Ce test consiste en la réduction d'une solution méthanolique de l'espèce radicalaire DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non radicalaire DPPH-H (Figure 9). En effet, la présence des radicaux DPPH• donne une coloration pourpre foncée à la solution et qui absorbe fortement à 517 nm. Au cours de la réaction, la colorimétrie de la solution change sous l'effet d'un agent antioxydant qui entraîne la décoloration de la solution (Armun Hidayat *et al.*, 2017).

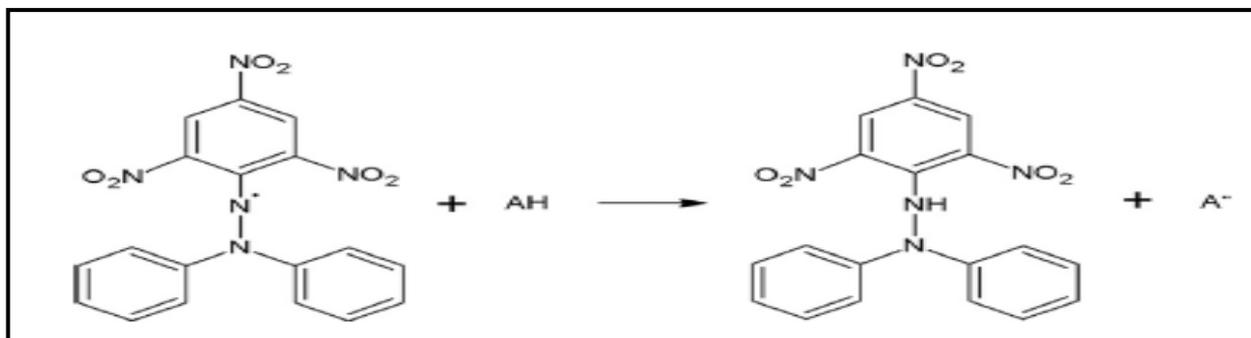


Figure 9. Mécanisme d'action du DPPH (Armun Hidayat *et al.*, 2017).

La méthode suivie est celle d'Ertas *et al.* (2014). Une solution de 0,1mM de DPPH a été préparée par solubilisation de 4mg de DPPH dans 10 ml de méthanol. Différentes concentrations de solutions échantillons (0-1000 µg/ml) (4 µl) sont ajoutées à 160µl de la solution de DPPH, après incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant par un lecteur des microplaques Biotek, EON, USA. Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures séparées ± écart type. Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante :

$$I\% = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}} \times 100$$

A blanc : Absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol) ;

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

Les concentrations d'extrait et d'antioxydant de référence (BHA), en fonction des pourcentages du DPPH inhibé, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH• initiale de 50% (Sharififar *et al.*, 2007).

2.4.2. Méthode de piégeage du radical ABTS

Cette méthode est basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cation ABTS^{•+}, (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique) (**Figure10**) de coloration bleu verdâtre. Ce radical cationique est formé suite à l'oxydation de l'ABTS initialement incolore avec les différents composés comme le persulfate de potassium (K₂S₂O₈). La réaction se déroule en deux étapes : au cours de la première étape le radical ABTS^{•+} est formé par arrachement d'un électron e⁻ à un atome d'azote de l'ABTS. La deuxième se déroule en présence d'un antioxydant donneur de H[•], le radical d'azote concerné piège un H[•], conduisant à l'ABTSH⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution (**Figure 10**).

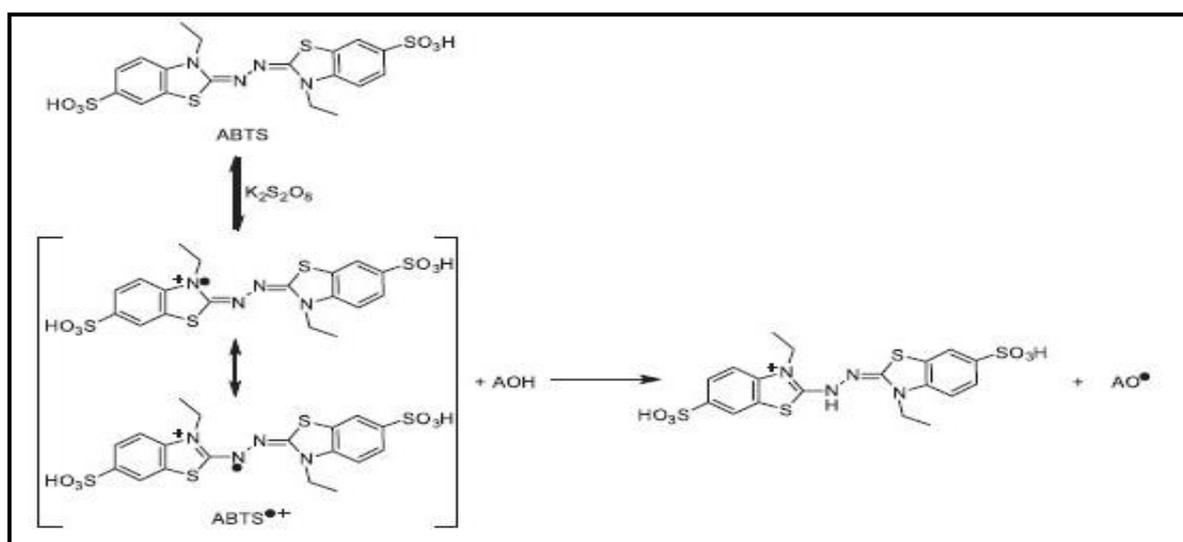


Figure10. Etapes de la réaction ABTS (Re *et al.*, 1999)

La méthode de piégeage du radical libre ABTS° suivie est celle décrite par Re *et al.*(1999) modifiée par Ertas *et al.*(2014). Dans un tube à essai, 5 ml d'eau ont été mélangé avec

19,2mg d'ABTS et 3,3 mg de K₂S₂O₈ ensuite le mélange est incubé à l'obscurité pendant 16h et cela pour la formation de la solution radicalaire bleu-verte. La solution a été diluée jusqu'à l'obtention d'une absorbance de $0,7 \pm 0,01$ à 734 nm pour former le réactif d'essai.

Dans chaque puits d'une plaque à 96 puits, des mélanges réactionnels contenant 20µl d'échantillon (0-1000 µg/ml) et 160 µl de réactif ont été incubés à l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 734 nm par un lecteur des microplaques Biotek Eon, USA . L'activité antioxydante a été calculée en utilisant la formule suivante:

$$I\% = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}} \times 100$$

A blanc : Absorbance du blanc (ABTS dans le méthanol) ;

A échantillon : Absorbance du composé d'essai

Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS ont été tracés en fonction des concentrations d'extrait pour déterminer l'index IC₅₀.

2.4.2. Méthode de capacité antioxydante réductrice de cuivre (CUPRAC)

C'est une méthode développée par Apak *et al.*, (2004). Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe Cu²⁺-Nc cuivre(II)-neocuproïne, produisant ainsi un complexe chromogène de Cu⁺-Nc qui absorbe à 450 nm (**Figure 11**) (Özyürek *et al.*, 2011).

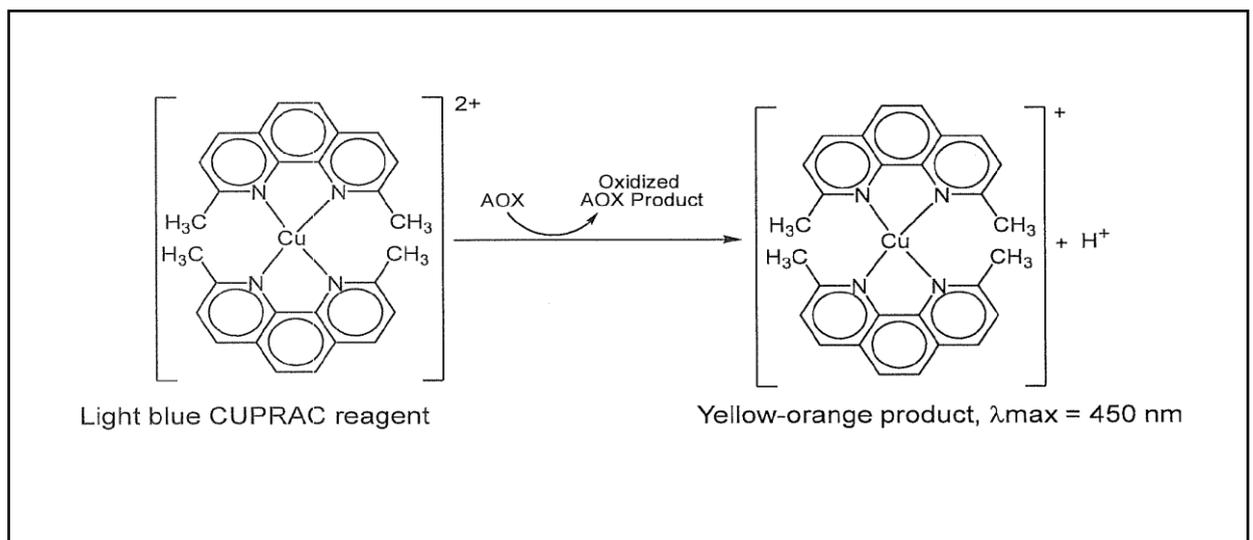


Figure11. Principe de la méthode de CUPRAC (Özyürek *et al.*, 2011).

La méthode appliquée est celle d'Ertas *et al.* (2014). Dans chaque puit des microplaques, des portions aliquotes de 61 µl de chlorure de cuivre (II), 61 µl de tampon de NH₄OAc (1M, pH 7,0) et 61 µl de solution de néocuproïde de 7,5 x 10⁻³ M ont été mélangés ensuite, 25 µl des solutions d'extrait et témoins (0-1000 µg/ml) et 42 µl d'eau distillée ont été ajoutés pour atteindre le volume final de 250 µl. Les microplaques ont été laissées au repos pendant une heure à température ambiante à l'obscurité. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 450 nm.

2.5. Détermination de l'activité anticholinestérase par le test d'Ellman

Le test d'Ellman permet de déterminer le potentiel inhibiteur d'un composé sur les cholinestérases (AChE et BChE). Cette réaction permet de quantifier l'inhibition exprimée en pourcentage (I%) et de déterminer l'IC₅₀ (concentration diminuant l'activité enzymatique de moitié) (Ellman *et al.*, 1961).

2.5.1. Activité antiacétylcholinestérase (AChE)

L'acétylthiocholine est habituellement utilisé comme substrat artificiel de l'AChE dont l'hydrolyse conduit à la formation de thiocholine. Celle-ci réagit par la suite avec le DTNB [acide 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoïque)], présent dans le milieu réactionnel, dont le clivage du pont disulfure présent dans sa structure permet de libérer l'anion 3-carboxy-4-nitrobenzène-thiolate de couleur jaune. Ce dernier devient alors détectable par spectrophotométrie UV à 412 nm (**Figure 12**).

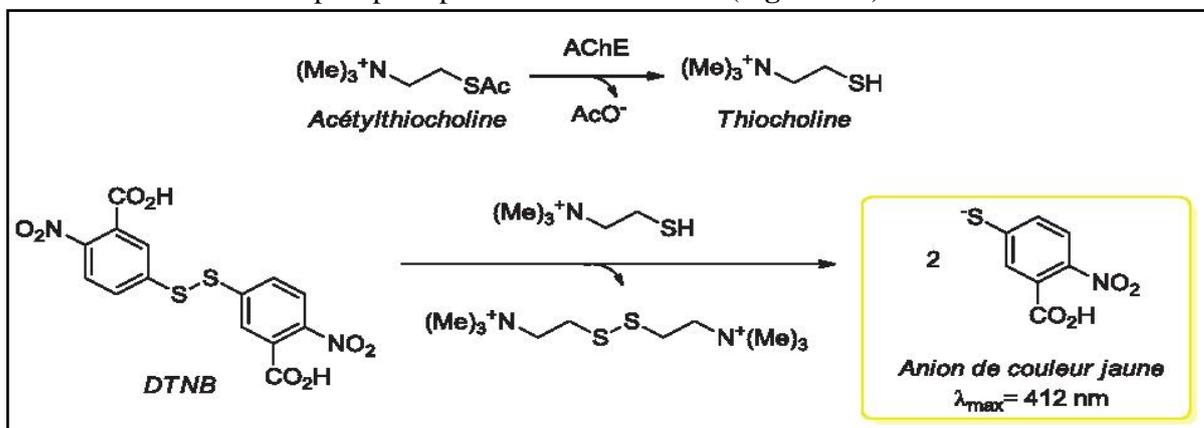


Figure12. Test d'Ellman avec l'AChE (Ellman *et al.*, 1961)

2.5.2. Activité antibutyrylcholinestérase (BChE)

Le principe du test reste le même pour la BChE sauf que l'on utilise de la butyrylthiocholine à la place de l'acétylthiocholine (**Figure 13**).

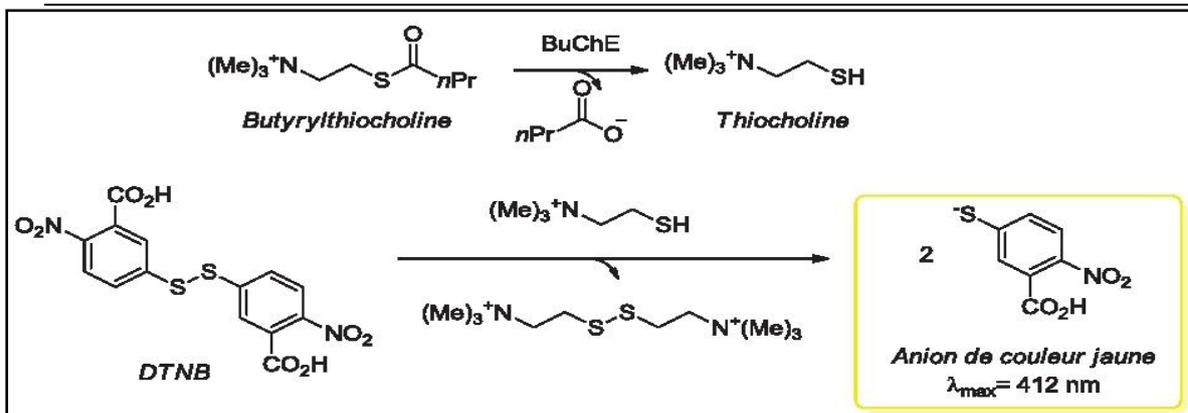


Figure13. Test d'Ellman avec la BChE (Ellman *et al.*, 1961)

La détermination de l'activité anticholinestérase est menée selon la méthode développée par Ferreira *et al.*, (2006) puis plus récemment par Ouchemoukh *et al.*, (2014) avec quelques modifications. Ainsi, dans chaque puits , on place successivement 150µl d'une solution tampon sodium phosphate (à pH = 8), 10µl de l'extrait méthanolique du légume à différentes concentrations et 20 µl de AChE (ou BChE), après l'incubation pendant 15minutes à 25°C,on ajoute 10µL du réactif d'Ellman DNTB (10mM) et 10 µl de substrat butyrylthiocholine iodide ou l'acétylthiocholine iodide .L'absorbance est mesurée à 412nm contre le blanc correspondant par un lecteur des microplaques BIOTECK, EON, USA. Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures séparés ± écart type. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition des deux enzymes (I%)

Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante :

$$I\% = \frac{A_{blanc} - A_{échantillon}}{A_{blanc}} \times 100$$

A blanc : Absorbance du

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

La concentration qui produit 50% d'inhibition est obtenue à partir de la courbe qui présente les pourcentages d'inhibitions contre les différentes concentrations de l'échantillon étudié.

2.6. Plan d'expérience pour l'optimisation des conditions de cuisson combinées à la méthode d'extraction des composés phénoliques

Dans ce travail, on cherche à optimiser les conditions de cuisson et d'extraction des composés phénoliques pour obtenir un maximum de polyphénols dans les extraits des légumes crus et cuits. Pour cela, un plan d'expérience a été élaboré. La méthodologie utilisée est répartie en deux étapes : un criblage des facteurs par un plan de *Plackett-Burmann* et une optimisation par exploitation des surfaces de réponses (Goupy et Creighton, 2006).

2.6.1. Plan de criblage

Le plan d'expérience de Plackett -Burman est utilisé pour sélectionner les facteurs les plus influents sur la réponse Y où les interactions sont négligeables ou supposées négligeables. Le plan Plackett-Burman est quelques fois dit plan de criblage ou matrice d'Hadamard (Plackett et Burman, 1946).

2.6.1.1. Modèle mathématique

Le modèle mathématique est un modèle sans interaction. Les coefficients de l'équation du modèle mathématique sont déterminés par une régression multilinéaire. Les matrices de calcul des plans de Plackett et Burman sont des matrices d'Hadamard. Elles permettent donc des expérimentations ayant un nombre d'essais intermédiaire de celui des plans factoriels qui, eux, ont seulement 2^k lignes, La réponse expérimentale Y s'écrit sous forme d'une équation du premier degré : elle traduit la dépendance de la réponse étudiée Y en fonction des variables codées s'écrit :

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_5X_5 + b_6X_6 + \varepsilon$$

Avec :

Y : Taux des polyphénols totaux (réponse).

b_0 représente la valeur moyenne théorique de la réponse.

b_1, b_2, b_3, b_4, b_5 et b_6 : Les effets principaux des facteurs X_1, X_2, X_3, X_4, X_5 et X_6 , respectivement ε : Le terme d'erreur (Reddy *et al.*, 2008 ; Lia *et al.*, 2016 ; Verma *et al.*, 2017).

2.6.1.2. Niveaux des variables

Les conditions opératoires choisies pour réaliser le plan de Plackett et Burmann à deux niveaux (-1) et (+1) pour chaque facteur sont sélectionnés en se basant des travaux antérieurs qui ont été réalisés dans ce contexte et les essais préliminaires effectués au laboratoire (**tableau 3**).

Tableau 3. Niveaux des facteurs des expériences pour chaque mode de cuisson des six légumes

La pomme de terre								
Facteurs	Cru		Cuisson à l'eau		Cuisson par vapeur		Cuisson par microonde	
	Niveau -1	Niveau + 1	Niveau -1	Niveau + 1	Niveau-1	Niveau+1	Niveau-1	Niveau+1
Temps de cuisson	/	/	10min	30min	30min	120min	10min	15min
Température de cuisson	/	/	80°C	100°C	80°C	100°C	80°C	100°C
Volume d'eau	/	/	100ml	500ml	500ml	1000ml	10ml	20ml
Concentration du solvant	60%	100%	60%	100%	60%	100%	60%	100%
Temps d'extraction	1H	24H	1H	24H	1H	24H	1H	24H
Temps d'ultrasonication	30min	1H	30min	1H	30min	1H	30min	1H
Broyage	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Puissance (Watt)	/	/	/	/	/	/	400	800
L'épinard								
Temps de cuisson	/	/	10min	15min	10min	20min	2min	5min
Température de cuisson	/	/	80°C	100°C	80°C	100°C	80°C	100°C
Volume d'eau	/	/	100ml	500ml	500ml	1000ml	10ml	50ml
Concentration du solvant	60%	100%	60%	100%	60%	100%	60%	100%
Temps d'extraction	1H	24H	1H	24H	1H	24H	1H	24H
Temps d'ultrasonication	30min	1H	30min	1H	30min	1H	30min	1H
Broyage	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Puissance (Watt)	/	/	/	/	/	/	400	800

La carotte								
Temps de cuisson	/	/	10min	30min	45min	60min	10min	15min
Température de cuisson	/	/	80°C	100°C	80°C	100°C	80°C	100°C
Volume d'eau	/	/	100ml	500ml	500ml	1000ml	10ml	50ml
Concentration du solvant	60%	100%	60%	100%	60%	100%	60%	100%
Temps d'extraction	1H	24H	1H	24H	1H	24H	1H	24H
Temps d'ultrasonication	30min	1H	30min	1H	30min	1H	30min	1H
Broyage	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Puissance (Watt)	/	/	/	/	/	/	400	800
L'oignon								
Temps de cuisson	/	/	15	20min	15min	25min	8min	12min
Température de cuisson	/	/	80°C	100°C	80°C	100°C	80°C	100°C
Volume d'eau	/	/	100ml	500ml	500ml	1000ml	10ml	50ml
Concentration du solvant	60%	100%	60%	100%	60%	100%	60%	100%
Temps d'extraction	1H	24H	1H	24H	1H	24H	1H	24H
Temps d'ultrasonication	30min	1H	30min	1H	30min	1H	30min	1H
Broyage	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Puissance (Watt)	/	/	/	/	/	/	400	800
Le piment piquant								
Temps de cuisson	/	/	10min	30min	30min	120Min	2min	10min
Température de cuisson	/	/	100°C	120°C	100°C	120°C		
Volume d'eau	/	/	100ml	500ml	500ml	1000ml	10ml	50ml

Matériel et méthodes

Concentration du solvant	60%	100%	60%	100%	60%	100%	60%	100%
Temps d'extraction	1H	24H	1H	24H	1H	24H	1H	24H
Temps d'ultrasonication	30min	1H	30min	1H	30min	1H	30min	1H
Broyage	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Puissance (Watt)	/	/	/	/	/	/	400	800
L'aubergine								
Facteurs	Cru		Cuisson à l'eau		Cuisson par vapeur		Cuisson par microonde	
	Niveau -1	Niveau + 1	Niveau -1	Niveau + 1	Niveau-1	Niveau+1	Niveau-1	Niveau+1
Temps de cuisson	/	/	10min	30min	30min	60min	15min	18min
Température de cuisson	/	/	80°C	100°C	80°C	100°C	80°C	100°C
Volume d'eau	/	/	100ml	500ml	500ml	1000ml	10ml	50ml
Concentration du solvant	60%	100%	60%	100%	60%	100%	60%	100%
Temps d'extraction	1H	24H	1H	24H	1H	24H	1H	24H
Temps d'ultrasonication	30min	1H	30min	1H	30min	1H	30min	1H
Broyage	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Puissance (Watt)	/	/	/	/	/	/	400	800

2.6.1.3. Analyse du plan

La génération de la matrice d'essai et l'analyse du plan ont été réalisées par le logiciel Minitab 17 (Minitab Inc., State College, PA, USA). L'analyse consiste à rechercher le meilleur modèle du plan d'expérience associé à chaque résultat. Le meilleur modèle est celui dont l'expression du résultat est constituée uniquement des paramètres dont les effets sont statistiquement significatifs avec des bons coefficients de détermination. Un paramètre est considéré comme ayant des effets significatifs (S) sur le résultat lorsqu'au cours de l'analyse de la variance, sa probabilité de nullité α est inférieure ou égale à 0,05% ($\alpha \leq 0,05\%$) (**Figure 14**) (Myer et Montgomery, 2002 ; Lia *et al.*, 2016).

Les effets principaux de chaque facteur sur les deux réponses sont estimés comme étant la différence entre chacune des moyennes des mesures effectuées au niveau supérieur et au niveau inférieur.

Mathématiquement, l'effet de chaque facteur est exprimé comme suit :

$$E = \frac{\sum \text{réponses au niveau (+)} - \sum \text{réponses au niveau (-)}}{n}$$

Où

E : Effet de chaque facteur ;

n : Nombre d'apparition du facteur au niveau supérieur ou inférieur.

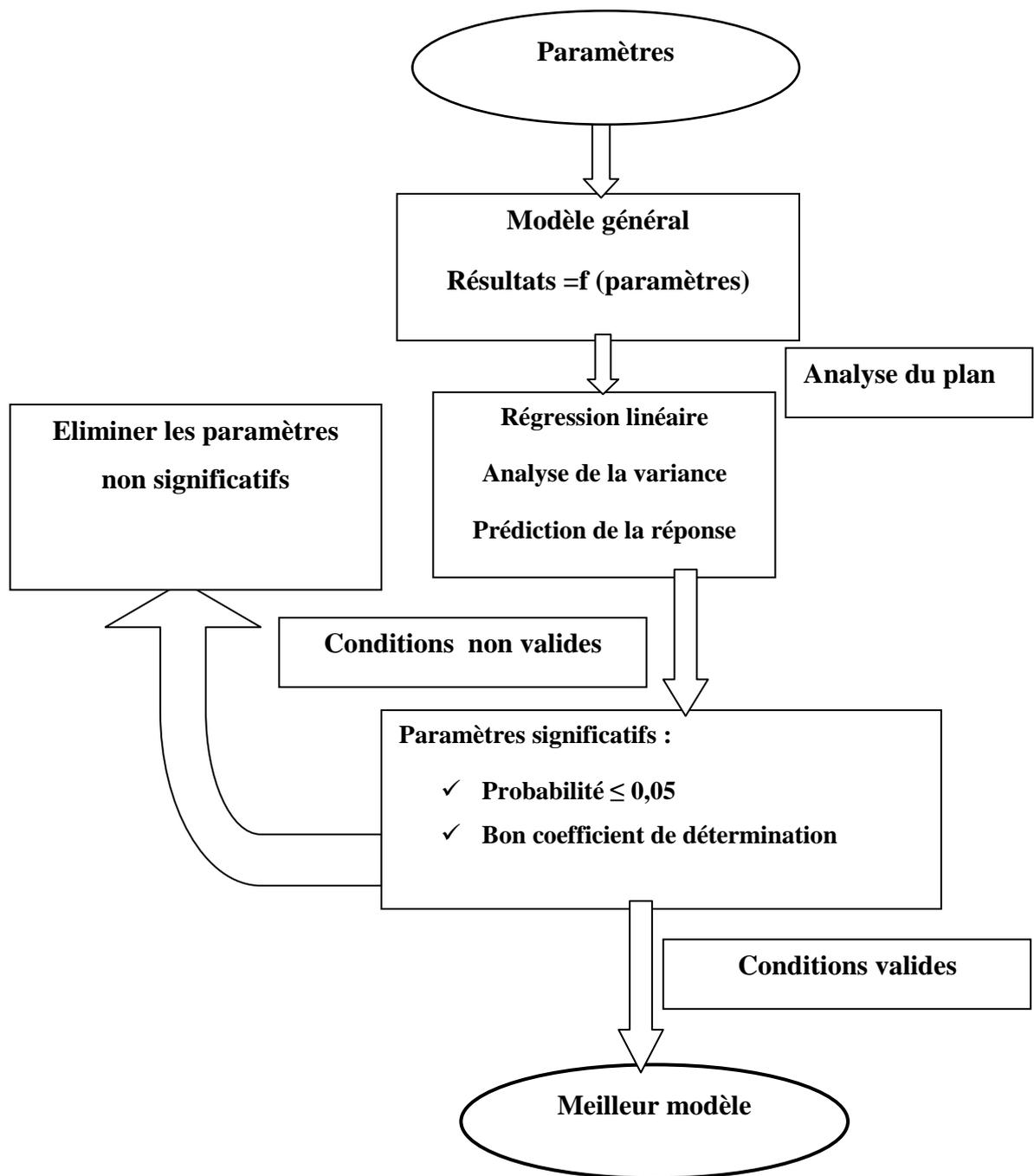


Figure 14. Principales étapes d'un plan de criblage

2.6.2. Optimisation

Un plan d'expérience central composite a été utilisé pour optimiser l'effet des facteurs sélectionnés par le plan de criblage sur la réponse notée taux en polyphénols. Ce plan est basé sur la méthode des surfaces de réponse qui est la plus couramment utilisée dans ce type d'expériences. Elle consiste à modéliser les résultats sous la forme de fonctions polynomiales du second degré (modèle quadratique) (Almansoory *et al.*, 2016).

2.6.2.1. Modèle mathématique

Les plans du second degré ou plans pour surfaces de réponse permettent d'établir des modèles mathématiques du second degré. Ils sont utilisés pour les variables continues.

$$Y = a_0 + \sum a_i X_i + \sum a_{ii} X_i^2 + \sum a_{ij} X_i X_j$$

Avec :

- a_i : coefficients de régression des effets linéaires ;
- a_{ii} : coefficients de régression des effets quadratiques ;
- X_i et X_j : variables expérimentales codées (Reddy *et al.*, 2008 ; Almansoory *et al.*, 2016).

2.6.2.2. Niveaux des variables

Nous avons attribué pour chaque variable codée (X_i) trois niveaux : -1, 0 et +1. Les $\pm \alpha$ représentent les valeurs extrêmes (max, min). Pour que le plan soit orthogonal et rotatable, la valeur de α a été fixée par le logiciel à 1,414 (**figure 15**).

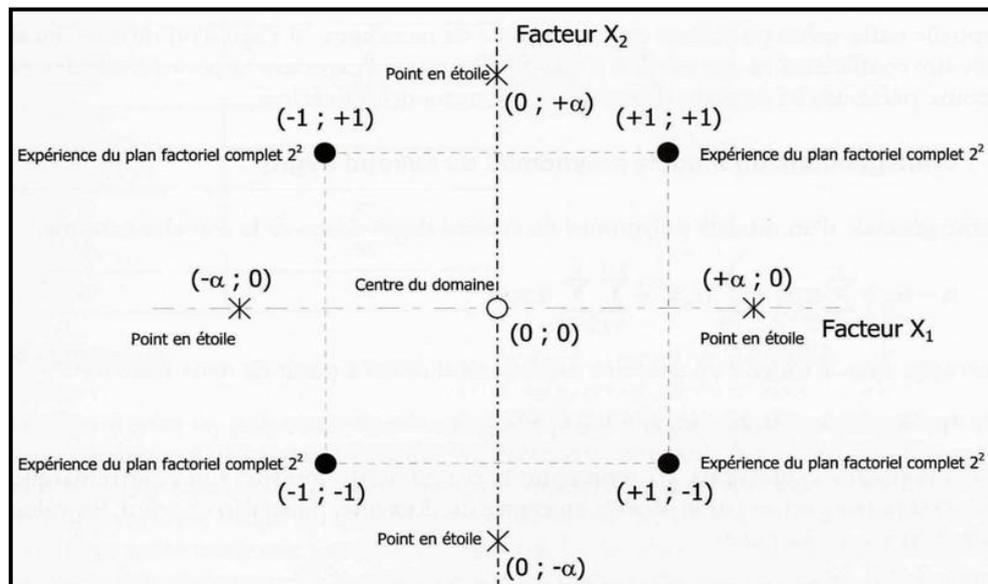


Figure 15. Représentation graphique d'un plan d'expérience composite centré à deux facteurs (X_1 et X_2) et trois niveaux (-1, 0 et +1) avec les valeurs extrêmes $\pm \alpha$.

Ce plan d'expérience central composite à deux variables est composé de :

- *Points factoriels* : également appelés points du cube, ils sont codés -1 et +1;

- *Points axiaux* : également appelés étoiles, sont à : $+\alpha, 0$; $-\alpha, 0$.
- *Points centraux* : le central du plan est à : $0,0$

Le nombre total d'essais n à réaliser est la somme des essais de ces trois parties, du plan factoriel (nf), du plan en étoile ($né$) et les essais au centre ($n0$). Donc : $n = nf + né + n0$ (Sadhukhan *et al.*, 2016).

La relation entre les valeurs codées (X_i) des variables entrées et ses valeurs réelles (A_i) est décrite par l'équation suivante :

$$X_i = (A_i - A_0)/\Delta A$$

Avec :

X_i : valeur codée du facteur ;

A_i : valeur réelle de ce facteur ;

A_0 : valeur réelle du même facteur au niveau central ;

ΔA : pas entre le niveau central et les niveaux ± 1 (Goupy, 2006).

2.6.2.3. Analyse du plan

Dans cette étude, la génération de la matrice d'essai a été réalisée par le logiciel Minitab 17 (Minitab Inc., State College, PA, USA). L'analyse des résultats obtenus est réalisée par la méthodologie de réponse en surface avec le logiciel STATISTICA 07.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, U.S.A). Cette méthode d'optimisation génère des profils en deux dimensions et des surfaces tridimensionnelles à partir des effets linéaires, quadratiques et interactifs de deux ou plusieurs variables indépendantes sur une variable dépendante. Elle y intègre ensuite les données expérimentales pour calculer la réponse optimale du système (Dey *et al.*, 2001 ;Shih *et al.*, 2002). L'identification des valeurs optimales se déroule en plusieurs étapes (Statsoft, 2004). En premier lieu, le logiciel transpose les effets des variables indépendantes et de leurs interactions sur la réponse de la variable dépendante dans un modèle polynomial de second ordre. Le modèle contient les composantes linéaires des variables indépendantes sur une variable dépendante ainsi que les effets interactifs entre chaque variable indépendante (deux à la fois). De plus, des composants quadratiques y sont intégrés afin d'explorer de façon plus approfondie la sous-région de la réponse en surface. Le degré d'importance de chaque variable indépendante sur la réponse de la variable dépendante est évalué par une estimation des effets. Une analyse de régression est également appliquée pour déterminer les coefficients de régression de chaque composante. Les coefficients de régression indiquent si les composantes ont une influence positive ou négative sur la réponse de la variable dépendante. Ils sont alors fixés dans une équation de régression permettant de prédire la réponse de la variable dépendante. La signifiante statistique des effets et

des coefficients de régression est évaluée par un test de Student (t) et les valeurs de probabilité (P) associées.

La seconde étape consiste à identifier le point de la surface de réponse qui correspond à la réponse maximale.

Finalement, l'ANOVA détermine la signifiante du modèle mathématique. Le meilleur modèle est celui qui présente une valeur de sa probabilité de nullité α est inférieure ou égale 0,05% avec des bons coefficients de détermination.

2.7. Analyse statistique

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

Les moyennes ont été comparées par analyse de variance ANOVA à un seul facteur suivi par test *Post hoc*-Tukey à l'aide de logiciel STATISTICA 07.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, U.S.A). Les lettres en exposant : a, b, c, d, e, indiquent une différence significative au seuil de signification 0,05. L'étude de la corrélation entre les polyphénols et les activités antioxydantes et anticholinestérasés des différents légumes a été réalisée par le logiciel Xlstat 2009.

Résultats et discussion

1.1. La pomme de terre crue

1.1.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre crue

Nous rappelons que le taux en composés phénoliques totaux a été déterminé à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (Annexe 1). Le coefficient de régression est proche de 1 ($R^2 = 0,952$). Les résultats des 12 essais de la matrice du plan *Plackett-Burmann* sont exposés dans le tableau 4.

Tableau 4. Matrice d'essais du plan *Plackett- Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre crue

N° d'essai	A	B	C	D	Taux des polyphénols (µg EAG/ g d'extrait sec)
1	1	1	-1	1	2,087 x 10 ⁴
2	1	-1	1	1	1,697 x 10 ⁴
3	-1	1	1	1	1,687 x 10 ⁴
4	-1	-1	-1	1	2,087 x 10 ⁴
5	-1	1	-1	-1	1,098 x 10 ⁴
6	1	-1	-1	-1	1,098 x 10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	1,068 x 10 ⁴
8	1	1	1	-1	0,987 x 10 ⁴
9	1	1	-1	1	2,099 x 10 ⁴
10	-1	1	1	-1	0,988 x 10 ⁴
11	-1	-1	1	1	1,698 x 10 ⁴
12	1	-1	1	-1	0,985 x 10 ⁴

A : concentration du solvant ; B: broyage ; C: temps de macération ; D: temps d'ultrasonication ;

L'équation polynomiale, générée pour chaque réponse et décrivant la corrélation entre le taux des polyphénols et les quatre facteurs étudiés (A : concentration du solvant ; B : broyage ; C: temps de macération et D : temps d'ultrasonication), est représentée comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 14685 + 242 A + 242 B - 1259 C + 4257 D$$

Les valeurs des coefficients de détermination et de détermination ajusté sont proches de 100%. Le modèle mathématique de ce plan est significatif ($p < 0,05$). Les valeurs de *P* obtenues pour chaque facteur ont montré que le temps de macération et le temps d'ultrasonication ont des effets significatifs sur la réponse "taux des polyphénols" (Annexe 2). Le signe du coefficient montre l'effet positif ou négatif du facteur sur la réponse. Si le coefficient est positif, la réponse augmente (effet synergique), s'il est négatif, la relation est inversée (effet antagoniste) (Verma *et al.*, 2017).

Le facteur temps de macération a présenté un effet négatif tandis que le temps d'ultrasonication a un effet positif sur la réponse. Les effets associés à la concentration du solvant et au broyage ne sont pas significatifs dans ce modèle ($p > 0,05$) (Annexe 2). Le diagramme de *Pareto* (Figure16) a

été également utilisé pour identifier les facteurs importants. Les effets linéaires des facteurs sont ici représentés en les classant du plus vers le moins important. La droite verticale ayant pour abscisse 2,36 correspond à la valeur que doit dépasser $|\beta_i|$ pour que l'effet linéaire soit jugé significatif avec un niveau égal au moins à 5%.

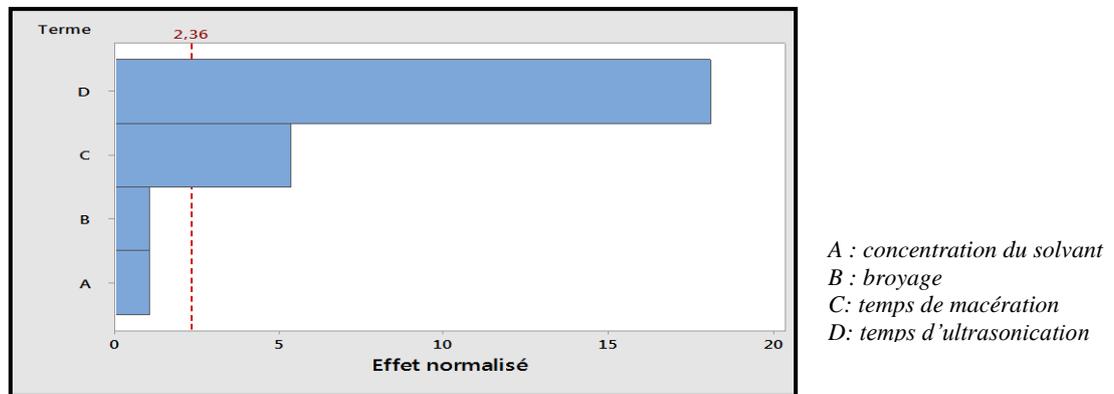


Figure 16. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre crue

1.1.2. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre crue

Après avoir cherché l'effet de chaque paramètre, les conditions d'extraction des polyphénols ont été optimisées. Le taux de polyphénols dépend de deux facteurs. Il est alors possible d'utiliser un plan composite centré (tableau 5).

Tableau 5. Matrice d'essai du plan de composite centré pour l'évaluation des polyphénols totaux de la pomme de terre crue.

N° d'essai	Niveaux du facteur temps de macération (A)	Niveaux du facteur temps d'ultrasonication (B)	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
1	0	0	$0,475 \times 10^4$
2	-1	1	$4,450 \times 10^4$
3	-1	-1	$1,221 \times 10^4$
4	0	0	$0,361 \times 10^4$
5	1	-1	$1,115 \times 10^4$
6	1	1	$1,231 \times 10^4$
7	0	0	$0,415 \times 10^4$
8	-1,414	0	$1,145 \times 10^4$
9	0	0	$0,388 \times 10^4$
10	1,414	0	$1,419 \times 10^4$
11	0	-1,414	$1,405 \times 10^4$
12	0	0	$0,204 \times 10^4$
13	0	1,414	$1,350 \times 10^4$

Les deux coefficients (coefficient de détermination et coefficient ajusté) sont proches à 100% ($p = 0,000$), ce qui indique que le modèle est extrêmement significatif et pourrait être utilisé pour

l'optimisation des conditions d'extraction des polyphénols (Annexe 2). L'équation polynomiale quadratique pour la réponse taux des polyphénols est:

$$\text{Taux en PT} = 14626 + 36,85 A - 745 B + 0,00591 A^2 + 22,03 B^2 - 1,331 A^2 B$$

Les facteurs (A, B, les termes quadratiques AA et BB ainsi que l'interaction à deux facteurs AB) sont très significatifs (Figure 17).

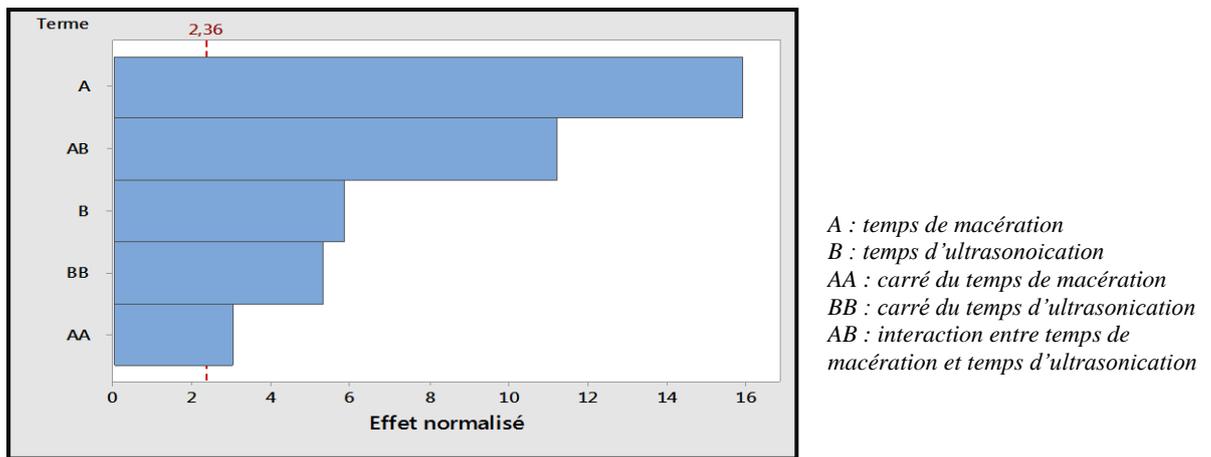


Figure 17. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre crue

Après la validation du modèle établi, l'optimum a été déterminé. Plusieurs outils mathématiques peuvent être utilisés, parmi lesquels figurent la représentation graphique des courbes d'iso-réponse, la surface de réponse et l'étude de la fonction de désirabilité.

La surface de réponse illustrant l'évolution de la réponse en fonction des niveaux des deux variables choisies est représentée dans la figure 18. Les diagrammes de surface sont des modèles quadratiques obtenus en faisant varier les variables à étudier dans les limites expérimentales qui sont : temps de macération (1h à 24h) et temps d'ultrasonication (30 à 60 min). Ils permettent d'illustrer les effets linéaires, quadratiques et interactifs sur chaque variable de sortie.

Selon la figure 18, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se situent dans la zone rouge limitée par les points : temps de macération (60-262min) et temps d'ultrasonication (57-60min).

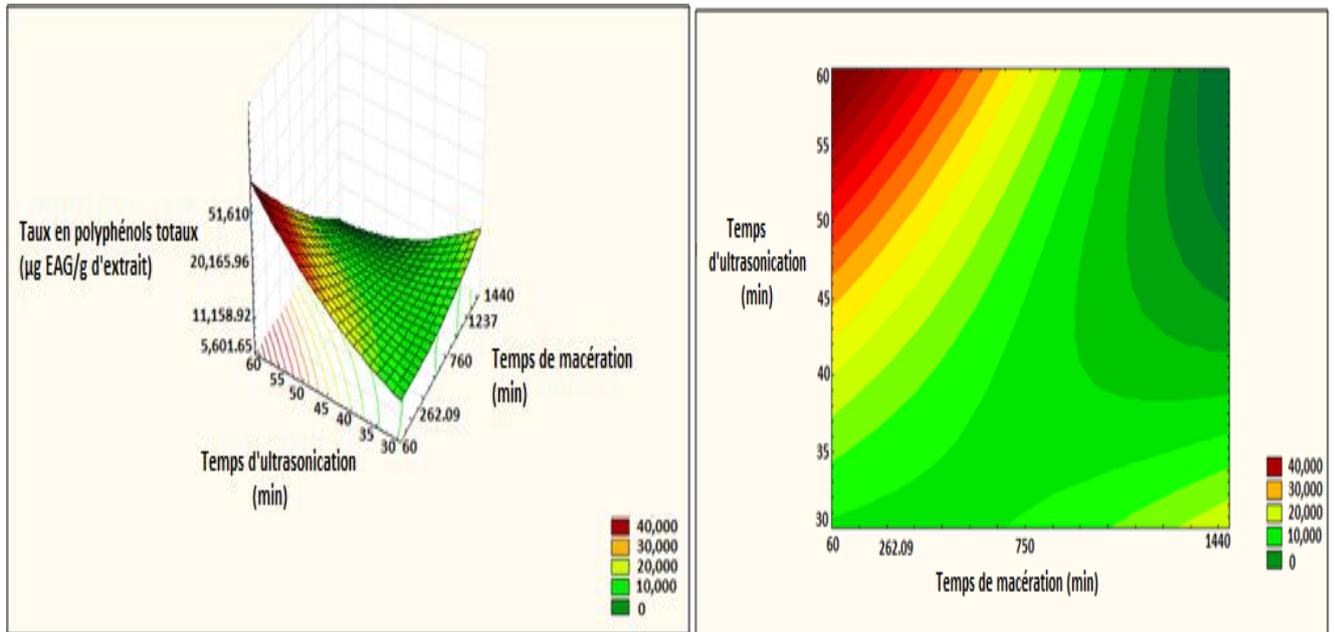


Figure 18. Surface de réponse du taux des polyphénols totaux de la pomme de terre crue en fonction des temps de macération et d’ultrasonication

La courbe de désirabilité permet de réaliser des simulations des conditions opératoires afin de maximiser le rendement des extraits. Le facteur de désirabilité (D) varie de 0 à 1, où 1 présente la satisfaction maximale et 0 le refus complet (Goupy et Creighton, 2006). Le maximum de précision est obtenu pour une désirabilité de 1 (figure 19).

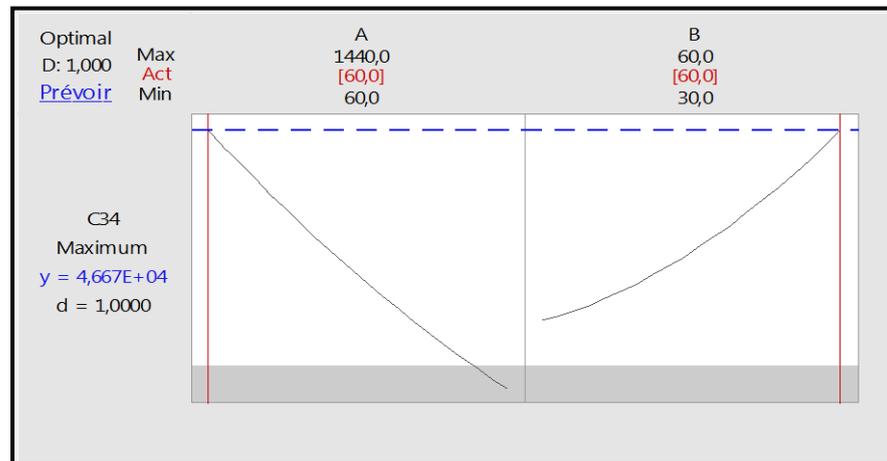


Figure 19. Optimisation des temps de macération et d’ultrasonication pour l’extraction des polyphénols de la pomme de terre crue en fonction de la désirabilité

La prédiction des conditions optimales est : temps de macération (60min) et temps d’ultrasonication (60 min).

1.1.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps de macération et d’ultrasonication des polyphénols totaux de la pomme de terre crue

Les résultats de l’optimisation sont confirmés par la détermination des polyphénols totaux avec les facteurs sélectionnés au point optimum (tableau 6).

Tableau 6. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la pomme de terre crue

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(60min, 60min)	$4,667 \times 10^4$	$4,6671 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

1.2. La pomme de terre cuite à la vapeur

1.2.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d’extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre

Les résultats d’essais pour le taux des polyphénols de la pomme de terre cuite à la vapeur en fonction des sept facteurs (A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d’eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : temps de macération ; C : temps d’ultrasonication et G : broyage) sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7. Matrice d’essais du plan *Plackett –Burmman* pour l’évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre cuite à la vapeur

N° d’essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/ g d'extract sec}$)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	$0,050 \times 10^4$
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	$1,060 \times 10^4$
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	$0,090 \times 10^4$
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	$0,049 \times 10^4$
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	$1,205 \times 10^4$
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	$1,258 \times 10^4$
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	$1,059 \times 10^4$
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	$1,059 \times 10^4$
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	$1,304 \times 10^4$
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	$0,0305 \times 10^4$
11	1	1	1	-1	1	1	-1	$0,080 \times 10^4$
12	1	1	-1	1	1	-1	1	$0,008 \times 10^4$

A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d’eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : Temps de macération ; C : temps d’ultrasonication ; G : broyage

L'analyse de variance a été appliquée pour tester l'effet des sept facteurs sur les réponses Y (taux des polyphénols totaux). Parmi les variables testées, le temps et la température de cuisson ont eu des effets significatifs sur la réponse. Le coefficient de détermination (R^2) indique que 99,3% de la variabilité de la réponse pourrait être expliquée par le modèle prédit. Le modèle de régression obtenu est significatif ($P = 0,0001$) (Annexe 2). Ce modèle polynomial est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 6049 + 531 A - 5530 B + 291 C - 92 D - 274 E + 169 F - 27 G$$

Le diagramme de *Pareto* (Figure 20) montre la signification des facteurs : temps et température de cuisson. Les résultats obtenus montrent que le modèle ajusté est de bonne qualité et nous renseigne sur les effets linéaires de chacun des facteurs considérés. Les effets de la température et du temps de cuisson sont opposés, dont le premier a présenté un effet positif et le second a un effet négatif sur le taux en polyphénols totaux (Annexe 2).

Les effets associés au volume d'eau de cuisson, au temps de macération, au temps d'ultrasonication, à la concentration du solvant et au broyage ne sont pas significatifs dans ce modèle.

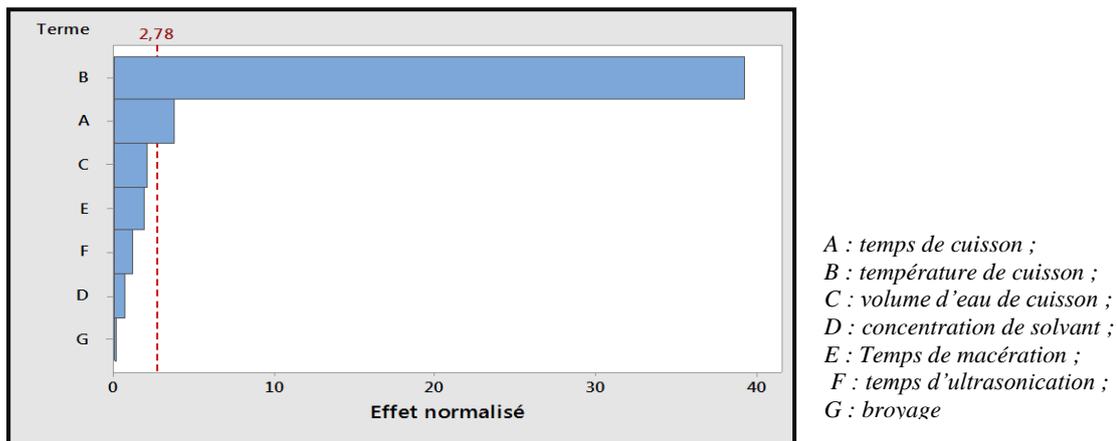


Figure 20. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à la vapeur de la pomme de terre

1.2.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à la vapeur de la pomme de terre

Les deux facteurs (température et temps de cuisson) sélectionnés par le plan de criblage sont optimisés par le plan composite centré. La réponse de chaque variable indépendante est exposée dans le tableau 8.

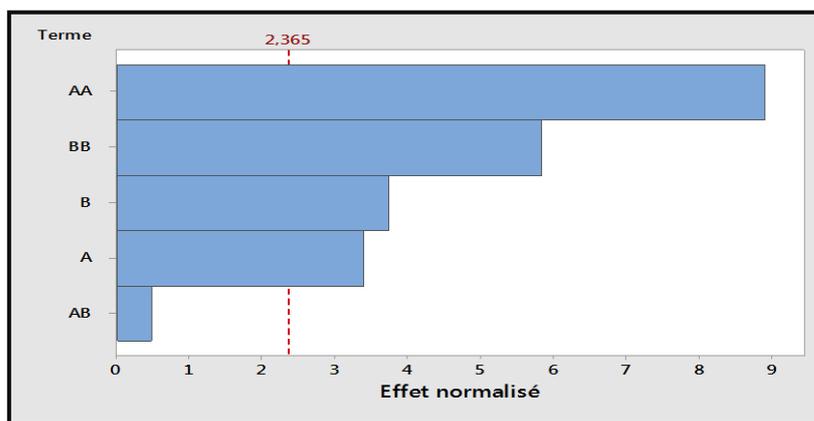
Tableau 8. Matrice d’essais du plan composite centré pour l’évaluation du taux en polyphénols de la pomme de terre cuite à la vapeur

N° d’essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur température de cuisson (B)	Taux des polyphénols (µg EAG/ g d’extrait sec)
1	0	0	0,050 x 10 ⁴
2	-1	1	0,905 x 10 ⁴
3	-1	-1	0,254 x 10 ⁴
4	0	0	0,050 x 10 ⁴
5	1	-1	0,879 x 10 ⁴
6	1	1	1,200 x 10 ⁴
7	0	0	0,060 x 10 ⁴
8	-1,414	0	1,109 x 10 ⁴
9	0	0	0,050 x 10 ⁴
10	1,414	0	1,109 x 10 ⁴
11	0	-1,414	0,673 x 10 ⁴
12	0	0	0,050 x 10 ⁴
13	0	1,414	1,086 x 10 ⁴

Le modèle mathématique, décrivant le taux en polyphénols totaux, est le suivant:

$$\text{Taux en PT} = 524 + 1961 A + 2162 B + 5527 A*A + 3629 B*B - 391 A*B$$

Le modèle prédit est très significatif (p=0,0007). Les effets associés aux facteurs A, B et aux termes quadratiques (AA et BB) sont significatifs. L’interaction entre les deux facteurs (AB) n’est pas significative pour ce modèle. La valeur du coefficient de détermination est de 94,79% et celle du coefficient de détermination ajusté est de 91,08% (Annexe 2). Les résultats obtenus sont confirmés par le diagramme de Pareto (Figure 21).



A : temps de cuisson ;
 B : température de cuisson,
 AA : carré du temps de cuisson,
 BB : carré de température de cuisson,
 AB : interaction entre le temps de cuisson et la température de cuisson

Figure 21. Diagramme de Pareto des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés (p=0,05) des conditions de cuisson à la vapeur de la pomme de terre

La surface de réponse a été tracée en fonction des deux facteurs (temps et température de cuisson) (figure 22).

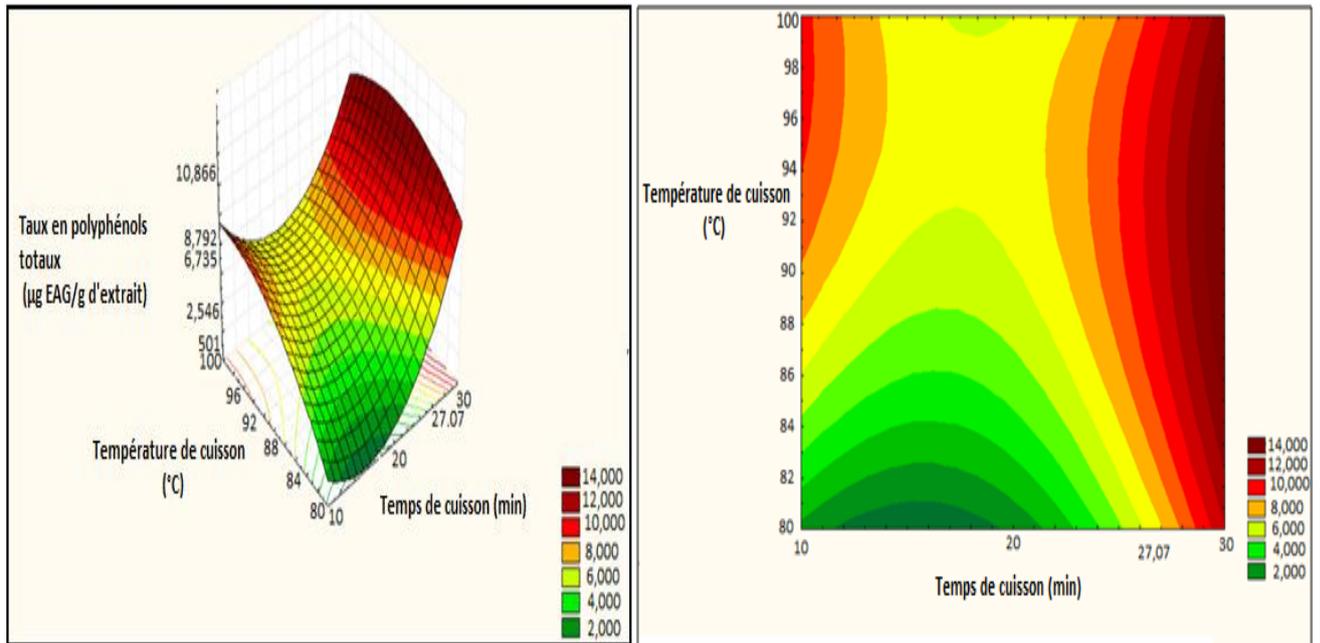


Figure 22. Surface de réponse du taux des polyphénols de la pomme de terre cuite à la vapeur en fonction du temps et de la température de cuisson

A la lecture de la figure 22, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se localisent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (29-30min) et température de cuisson (87-97 $^{\circ}\text{C}$). L'optimisation des deux facteurs est prédite en fonction de la désirabilité 1 (figure 23).

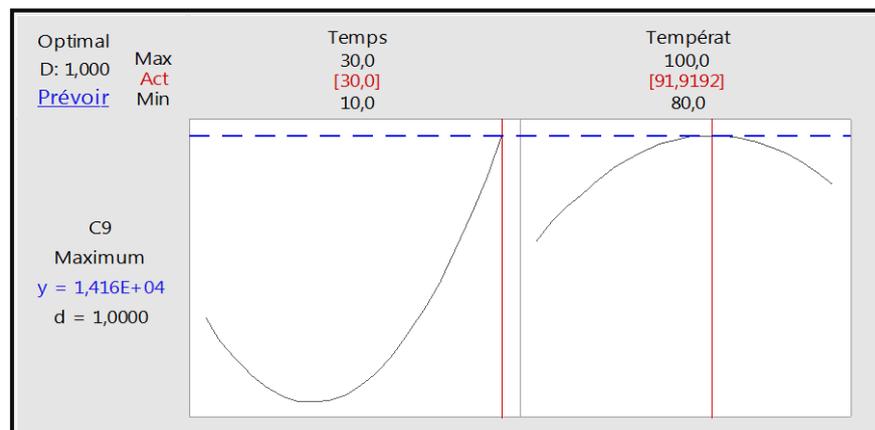


Figure 23. Optimisation du temps et de la température de cuisson à la vapeur de la pomme de terre en fonction de la désirabilité 1

En effet, l'optimum a été obtenu par la fonction de désirabilité 1. Celle-ci nous permet d'avoir les meilleurs temps et température de cuisson. Les conditions optimales ont été fixées comme suit: température de cuisson (91,919 $^{\circ}\text{C}$) et temps de cuisson (30 min.).

1.2.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps et à la température de cuisson à la vapeur de la pomme de terre

Les résultats de l'optimisation sont confirmés par la détermination du taux des polyphénols totaux avec les facteurs sélectionnés au point optimum (tableau9).

Tableau 9. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la pomme de terre cuite à la vapeur

Points	Taux de polyphénols prédit (μg EAG/g d'extrait sec)	Taux de polyphénols mesuré (μg EAG/g d'extrait sec)
(91,919°C, 30min.)	$1,416 \times 10^4$	$1,415 \times 10^4$

La valeur mesurée est très proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

1.3. La pomme de terre cuite à l'eau

1.3.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à l'eau et d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre

Les résultats des 12 essais de la matrice du plan *Plackett-Burmann*, établie avec les facteurs A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : temps de macération ; C : temps d'ultrasonication et G : broyage) sont mentionnés dans le tableau 10.

Tableau 10 . Matrice d'essais du plan *Plackett –Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre cuite à l'eau

N° d'essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols
1	-1	1	1	1	-1	1	1	$0,001 \times 10^4$
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	$0,254 \times 10^4$
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	$0,054 \times 10^4$
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	$0,016 \times 10^4$
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	$0,154 \times 10^4$
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	$0,153 \times 10^4$
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	$0,25 \times 10^4$
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	$0,087 \times 10^4$
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	$0,249 \times 10^4$
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	$0,015 \times 10^4$
11	1	1	1	-1	1	1	-1	$0,087 \times 10^4$
12	1	1	-1	1	1	-1	1	$0,0065 \times 10^4$

A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : temps de macération ; C : temps d'ultrasonication ; G : broyage

L'équation polynomiale générée pour chaque réponse, décrivant la corrélation entre le taux des polyphénols et les sept facteurs étudiés, est représentée comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 1408 - 567 A + 615 B + 163 C + 107 D + 101 E - 99 F + 156 G$$

Les valeurs des coefficients de détermination et de détermination ajustée sont proches à 100%. La probabilité est inférieure à 0,05 ce qui indique que le modèle est significatif (Annexe 2). L'analyse des variables testées (temps et température de cuisson) ont eu un effet significatif sur la réponse (figure 24). Le temps de cuisson a un effet négatif tandis que la température a présenté un effet positif sur la réponse taux des polyphénols.

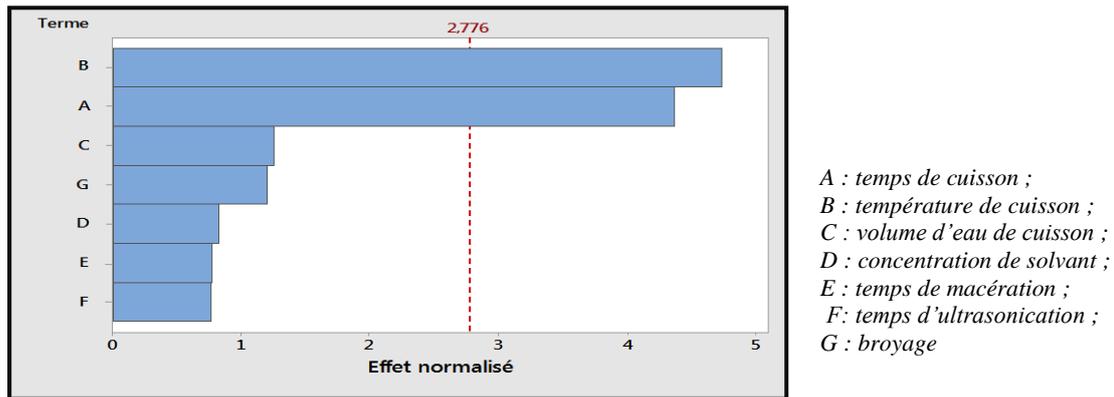


Figure 24. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) pour les conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à l'eau de la pomme de terre

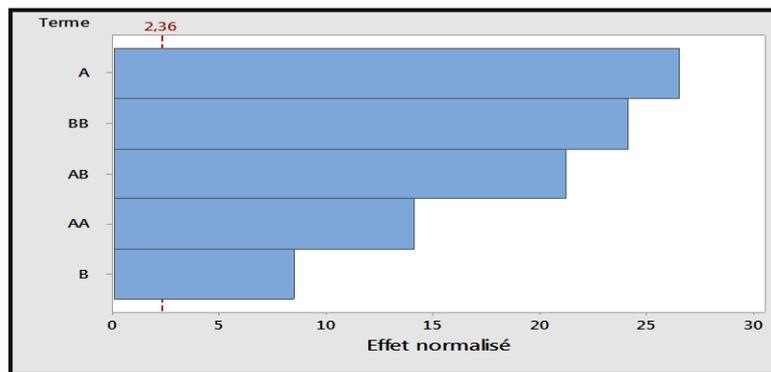
1.3.2. Modélisation et optimisation des conditions de la cuisson à l'eau de la pomme de terre

La conception du plan composite centré a permis l'optimisation des paramètres de la cuisson à l'eau (température et temps) pour obtenir un maximum de polyphénols. Les résultats des 13 essais de la matrice du plan composite centré sont exposés dans le tableau 11.

Tableau 11. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre cuite à l'eau

N° d'essai	Niveaux du facteur Temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur température de cuisson (B)	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/ g d'extract sec}$)
1	0	0	$0,219 \times 10^4$
2	-1	1	$0,072 \times 10^4$
3	-1	-1	$0,331 \times 10^4$
4	0	0	$0,216 \times 10^4$
5	1	-1	$0,209 \times 10^4$
6	1	1	$0,0717 \times 10^4$
7	0	0	$0,246 \times 10^4$
8	-1,414	0	$0,091 \times 10^4$
9	0	0	$0,219 \times 10^4$
10	1,414	0	$0,092 \times 10^4$
11	0	-1,414	$0,0915 \times 10^4$
12	0	0	$0,256 \times 10^4$
13	0	1,414	$0,056 \times 10^4$

L'analyse de variance a montré que les effets de tous les facteurs (A, B, AA, BB et AB) présentent des différences significatives ($P < 0,05$). Les coefficients de détermination obtenus sont élevés ce qui indique une réponse satisfaisante par rapport à l'ajustement des données du modèle de régression quadratique. Par conséquent, le temps (A), la température de la cuisson (B), les effets du second ordre, les carrés de temps (AA), les carrés de températures (BB) et l'interaction entre les deux facteurs (AB) ont affecté significativement la réponse (taux des polyphénols) (Annexe 2). Ces résultats sont confirmés par le diagramme de *Pareto* (figure 25).



A : temps de cuisson ;
 B : température de cuisson,
 AA : carré du temps de cuisson,
 BB : carré de température de cuisson ,
 AB : interaction entre le temps de cuisson et la température de cuisson

Figure 25. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à l'eau de la pomme de terre

L'équation polynomiale quadratique pour la réponse taux des polyphénols est:

$$\text{Taux en PT} = 917,4 - 483,9 A + 153,9 B + 275,6 A*A + 472,0 B*B + 546,4 A*B$$

La surface de réponse illustrant l'évolution de la réponse en fonction des niveaux des deux facteurs choisis (temps et température de cuisson) est illustrée dans la figure 26.

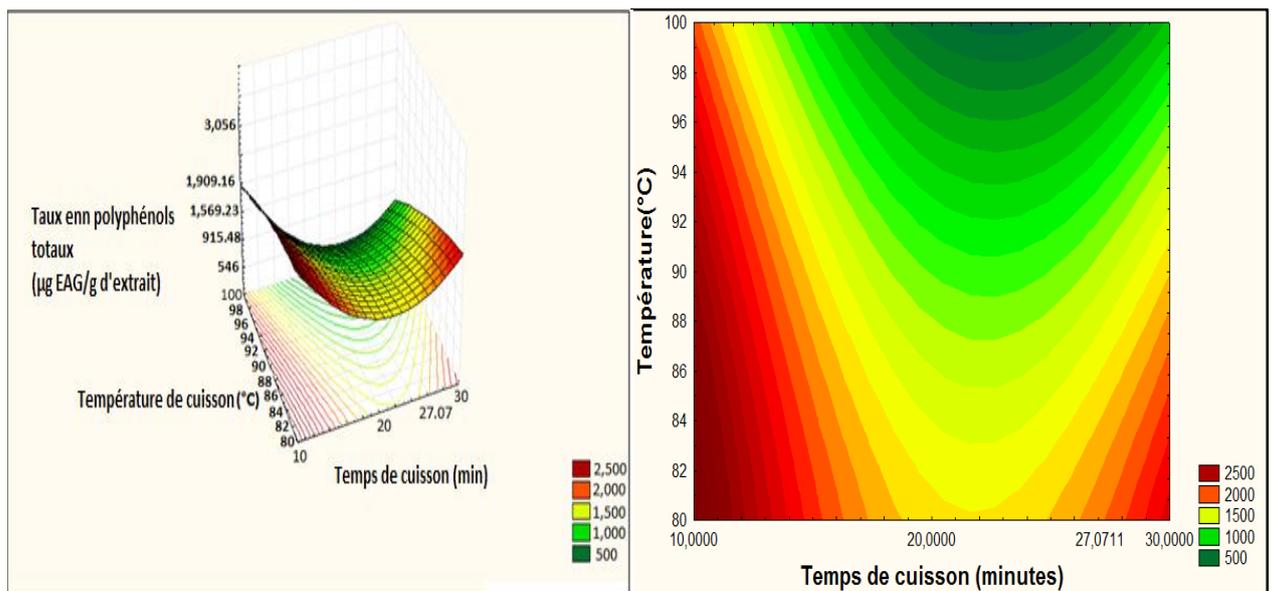


Figure 26. Surface de réponse du taux des polyphénols de la pomme de terre cuite à l'eau en fonction du temps et de la température de cuisson

Les résultats illustrés dans la figure 26 montrent que les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se localisent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (10-11,3 min) et température (80 -84°C)

Les valeurs des variables optimales ont été identifiées et calculées à une désirabilité de 1. Les résultats obtenus sont montrés dans la figure 27:

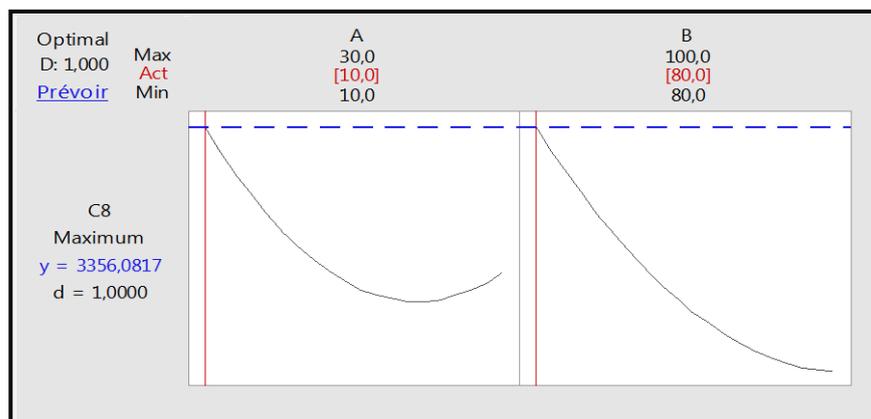


Figure 27. Optimisation du temps et de température de cuisson à l'eau de la pomme de terre en fonction de la désirabilité

Les conditions optimales pour atteindre le meilleur taux de polyphénols sont : temps de cuisson (10 minutes) et température de cuisson (80 °C).

1.3.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps et à la température de cuisson à l'eau de la pomme de terre

Les conditions optimales ont été appliquées au laboratoire pour confirmer la validité du modèle (tableau 12).

Tableau 12. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la pomme de terre cuite à l'eau

Points	Taux de polyphénols prédit (μg EAG/g d'extrait sec)	Taux de polyphénols mesuré (μg EAG/g d'extrait sec)
(80°C, 10minutes)	$0,3356 \times 10^4$	$0,3357 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

1.4. La pomme de terre cuite par microonde

1.4.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols totaux de la pomme de terre

Les résultats des essais de la matrice de *Plackett -Burmann* sont exposés dans le tableau 13.

Tableau 13. Matrice d’essais du plan *Plackett- Burmann* pour l’évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre cuite par microonde

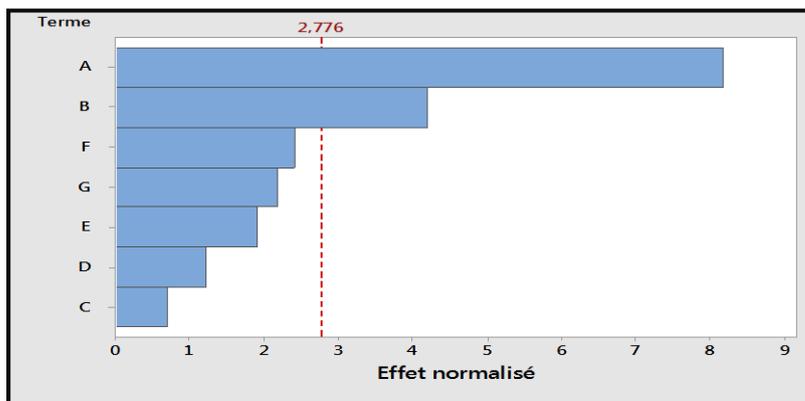
N° d’essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols (µg EAG/ g d’extrait sec)
1	1	1	1	-1	1	1	-1	1,457 x10 ⁴
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1,538 x10 ⁴
3	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1,564 x10 ⁴
4	1	-1	1	1	-1	1	-1	1,274 x10 ⁴
5	1	1	-1	1	1	-1	1	0,728 x10 ⁴
6	-1	-1	-1	1	1	1	-1	0,674 x10 ⁴
7	-1	1	1	1	-1	1	1	1,457 x10 ⁴
8	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1,268 x10 ⁴
9	-1	-1	1	1	1	-1	1	1,629 x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1,457 x10 ⁴
11	1	-1	-1	-1	1	1	1	1,608 x10 ⁴
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1,457 x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B : puissance ; C : volume d’eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : temps de macération ; C : temps d’ultrasonication ; G : broyage

Les valeurs des coefficients de détermination et de détermination ajusté sont proches de 100% et la valeur de *P* obtenue pour ce modèle est inférieure à 0,05 ce qui indique que le modèle est significatif. Les variables ayant un effet significatif (*p* <0,05) sur la réponse "taux des polyphénols" sont le temps de cuisson et la puissance du microonde (Annexe 2). L’équation polynomiale pour la réponse (taux des polyphénols) est représentée comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 10224 + 5058 A + 2593 B - 425 C + 749 D + 1181 E - 1497 F - 1348 G$$

Les coefficients obtenus pour les deux facteurs sont positifs, ce qui signifie que ces deux variables (temps de cuisson et puissance du microonde) influent positivement sur la réponse. L’ensemble de ces résultats sont résumés dans le diagramme de *Pareto*, les barres qui dépassent la valeur 2,776 présentent un effet positif sur la réponse (figure 28).



A : temps de cuisson ;
 B : puissance de la microonde ;
 C : volume d’eau de cuisson ;
 D : concentration de solvant ;
 E : temps de macération ;
 F : temps d’ultrasonication ;
 G : broyage

Figure 28. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés (*p*=0,05) des conditions d’extraction des polyphénols et de la cuisson par microonde de la pomme de terre

1.4.2. Modélisation et optimisation des conditions de la cuisson par microonde de la pomme de terre

Les deux facteurs (temps de cuisson et puissance du microonde) ont été utilisés pour l’optimisation de la réponse polyphénols totaux (tableau 14).

Tableau 14. Matrice d’essais du plan composite centré pour l’évaluation du taux en polyphénols totaux de la pomme de terre cuite par microonde

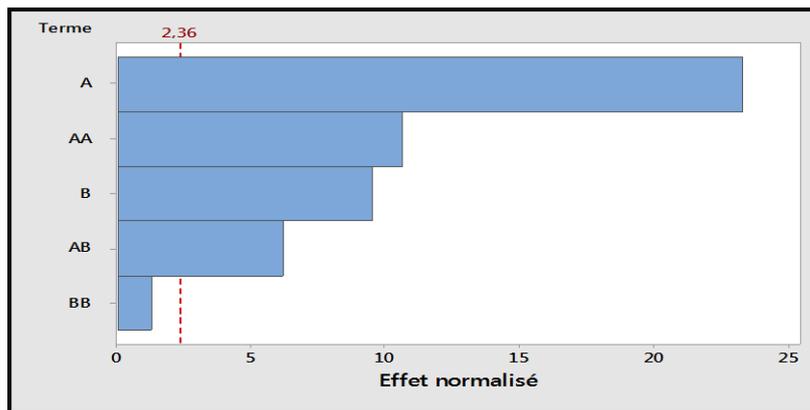
N° d’essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur puissance de la microonde (B)	Taux des polyphénols (µg EAG/ g d’extrait sec)
1	0	0	1,457 x10 ⁴
2	-1	1	1,538 x10 ⁴
3	-1	-1	1,564 x10 ⁴
4	0	0	1,444 x10 ⁴
5	1	-1	0,728 x10 ⁴
6	1	1	0,674 x10 ⁴
7	0	0	1,457 x10 ⁴
8	-1,414	0	1,268 x10 ⁴
9	0	0	1,629 x10 ⁴
10	1,414	0	1,457 x10 ⁴
11	0	-1,414	1,608 x10 ⁴
12	0	0	1,457 x10 ⁴
13	0	1,414	1, 317 x10 ⁴

La probabilité obtenue pour ce modèle est <0,0001 ce qui indique que le modèle mathématique correspond bien à la réponse. Les coefficients de détermination obtenus sont élevés ce qui indique une réponse satisfaisante par rapport à l’ajustement des données du modèle de régression quadratique. L’équation correspondante est la suivante :

$$\text{Taux en PT} = 14570 + 4418 A + 1803 B - 3050 A*A - 373 B*B - 2344 A*B$$

les facteurs (temps de cuisson : A et puissance de la microonde :B) ont affecté significativement le taux des polyphénols totaux. De même, l’effet du second ordre ou carré du temps(AA) a affecté significativement la réponse tandis que le carré de la puissance du microonde (BB) n’a présenté aucune différence significative.

L’analyse des interactions entre les deux facteurs a montré que l’interaction entre les deux facteurs (AB) a un effet significatif sur la réponse (taux des polyphénols) (Annexe 2). Ces résultats sont confirmés par le diagramme de *Pareto* (figure 29).



A : temps de cuisson ;
 B : puissance,
 AA : carré du temps de cuisson,
 BB : carré de puissance,
 AB : interaction entre le temps de cuisson et la puissance

Figure 29. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson par microonde de la pomme de terre

La surface de réponse, illustrant la réponse en fonction des niveaux des deux facteurs (temps de cuisson et puissance du microonde), sont illustrées dans la figure 30.

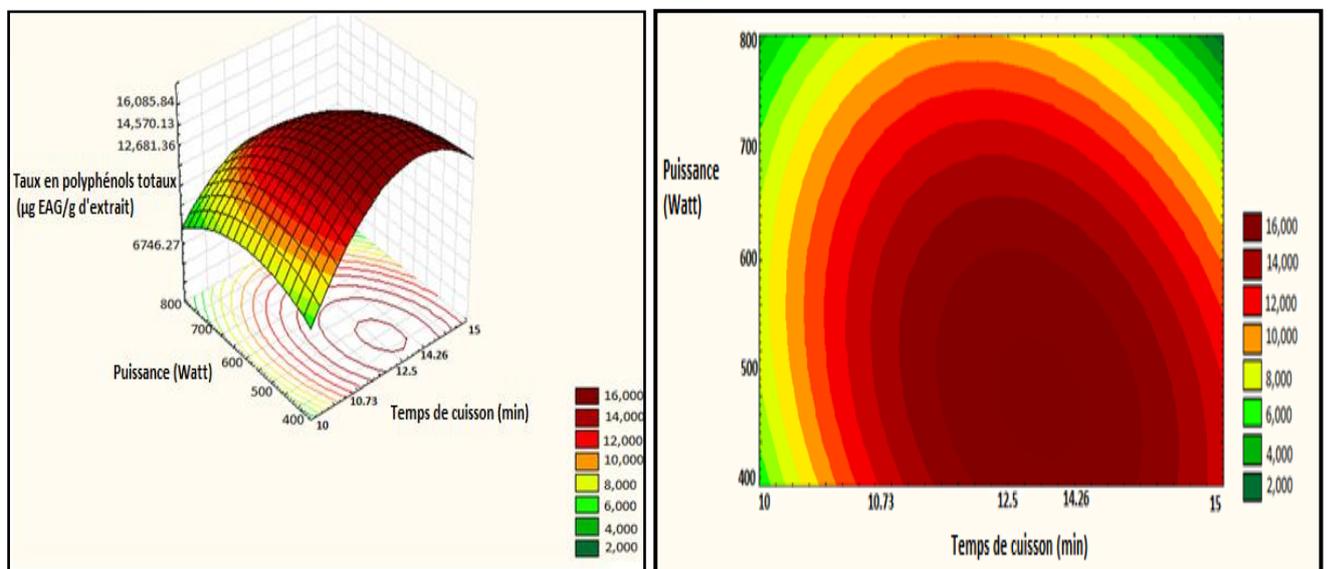


Figure 30. Surface de réponse du taux des polyphénols de la pomme de terre en fonction du temps de cuisson et de la puissance du microonde

La figure 30 montre que les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (12,5-14,5min) et puissance de la microonde (400-500 Watt). Les valeurs optimales des facteurs ont été calculées à une désirabilité de 0,99 proche de 1 (figure 31).

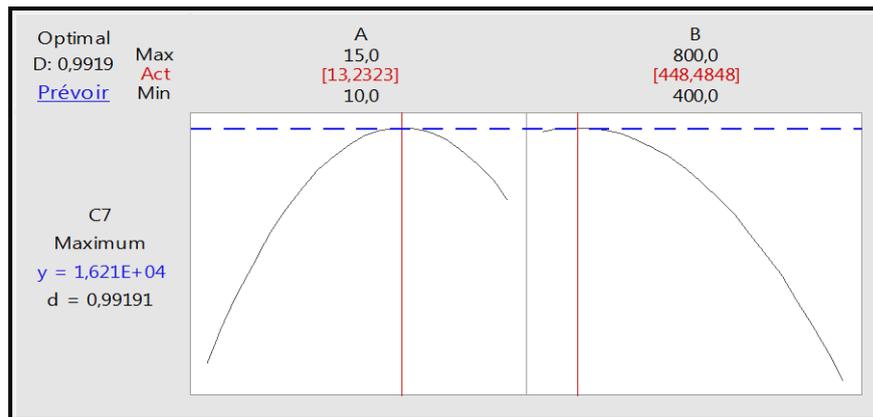


Figure 31. Optimisation du temps de cuisson et de la puissance du microonde en fonction de la désirabilité 1

Les conditions optimales obtenues à une désirabilité de 0,99 sont comme suit: temps de cuisson (13,23 minutes) et puissance du microonde (448,48Watt).

1.4.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport à la puissance du microonde et au temps de la cuisson de la pomme de terre

Les valeurs optimales obtenues ont été vérifiées expérimentalement. Les résultats obtenus sont enregistrés dans le tableau 15

Tableau 15. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la pomme de terre cuite par microonde

Points	Taux de polyphénols prédit (µg EAG/g d'extrait sec)	Taux de polyphénols mesuré (µg EAG/g d'extrait sec)
(13, 23minutes, 448,48 Watt)	1,6210 x10 ⁴	1,6208 x10 ⁴

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative (p = 0,05), ce qui confirme la validation du modèle.

1.5. Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux de la pomme de terre

Les effets des trois modes de cuisson sur les teneurs en polyphénols totaux et des flavonoïdes sont illustrés dans la figure 32. Les taux en polyphénols totaux sont équivalents à 46190 ; 3357,009 ; 14060 et 16208,99 µg EAG/g d'extrait sec des pommes de terre : crue, cuite dans l'eau, cuite à la vapeur et par microonde respectivement. Cependant, les taux en flavonoïdes sont de l'ordre de 24100,0; 1000,9 ; 9870,9 et 10540,0 µg EQ /g d'extrait sec des pommes de terre : crue, cuite dans l'eau, cuite à la vapeur et par microonde respectivement. En comparant les différents modes de cuisson, il existe une différence significative (p< 0,05) entre les taux des polyphénols totaux et les taux des flavonoïdes des pommes de terre crues et cuites.

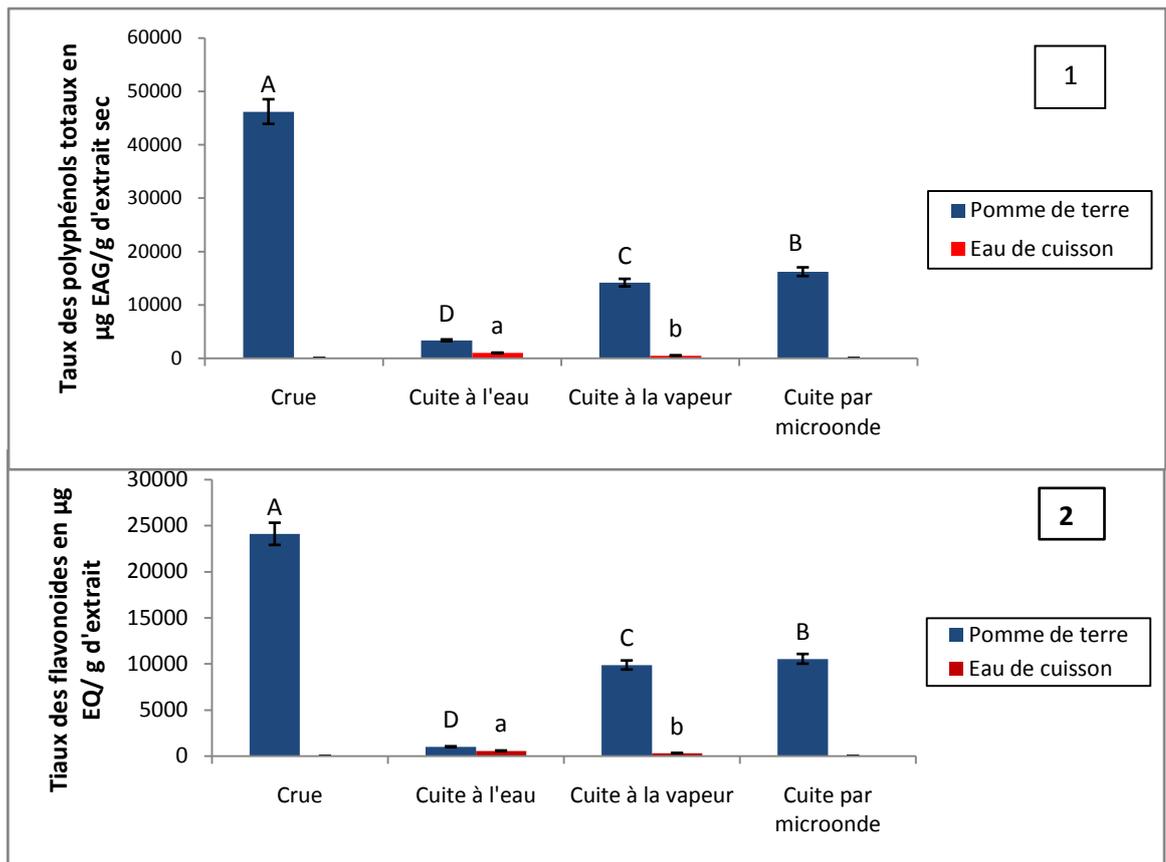


Figure 32. Effet de la cuisson sur le taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes de la pomme de terre (1 : polyphénols, 2 : flavonoïdes)

De même, les résultats obtenus indiquent que la pomme de terre est riche en polyphénols et en flavonoïdes. Ce même constat a été évoqué par plusieurs études (Andre *et al.*, 2007, Deußer *et al.*, 2012; Zarzecka *et al.*,2013; Rytel *et al.*, 2014 ; Zarzecka *et al.*, 2017).

A la lecture de ces résultats obtenus, les trois modes de cuisson semblent provoquer une diminution des taux des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Cette réduction est constatée à des degrés différents selon la méthode de cuisson. La cuisson qui semble préserver les meilleurs taux des polyphénols est celle du microonde en première position puis vient la cuisson à la vapeur et en dernière position la cuisson à l'eau. Plusieurs études ont montré que la méthode de cuisson affecte l'ampleur des pertes de composés phénoliques et des flavonoïdes (Mulinacci *et al.*, 2008 ; Friedman et Levin, 2009 ; Jung *et al.*, 2011; Perla *et al.*, 2012 ; Rothwell *et al.*, 2015 ; Rytel *et al.*, 2017).

En effet, la réduction des composés phénoliques peut être due à la destruction thermique de ces composés (Vallejo *et al.*, 2003 ; Zhao *et al.* ,2017) et/ou la solubilisation de certains composés phénoliques dans l'eau de cuisson (Makris et Rossiter, 2001).

L'analyse des eaux de cuisson a montré la présence des composés phénoliques avec des teneurs très faibles. Les taux en polyphénols totaux pour les eaux de cuisson sont de 1000,76 et 500,06 µg EAG/g d'extrait sec d'eau de cuisson par ébullition et à la vapeur respectivement. Quant à la teneur en flavonoïdes, elles sont de 567,00 et 297,98 µg EQ/g d'extrait sec d'eau issue de la cuisson par ébullition et celle issue de la cuisson à la vapeur respectivement.

L'eau de la cuisson par ébullition a révélé des taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes élevés par rapport à celle qui provient de la cuisson à la vapeur. L'analyse de la variance a révélé une différence significative entre les deux teneurs. La révélation des composés phénoliques dans les eaux de cuisson est due probablement à leur grande solubilisation suite à la lyse des parois cellulaires d'où leur passage direct dans l'eau de cuisson par ébullition. Quant à la cuisson à la vapeur et par microonde, elles permettent une meilleure rétention des polyphénols solubles dans les tissus végétaux.

En effet, la structure chimique des composés phénoliques influence fortement leur solubilité. Selon Rothwell *et al.*, (2015), les polyphénols sont regroupés en sous-classes avec des squelettes chimiques courantes, il se pourrait que les composants de la même sous-classe soient affectés de manière différente par la cuisson. Ces variations peuvent s'expliquer par le degré d'hydroxylation, la liaison aux sucres, la taille moléculaire, la polarité et la solubilité de ces composés.

En se référant à la bibliographie, les résultats obtenus concernant l'effet de la cuisson sur les composés phénoliques sont contradictoires. Plusieurs études ont confirmé que les différentes méthodes de cuisson réduisent les composés phénoliques dans les pommes de terre quelque soit les conditions de cuisson (Dao et Friedman, 1994; Orsak *et al.*, 2001 ; Friedman et Levin, 2009 ; Rytel *et al.*, 2014). Perla *et al.* (2012) ont étudié l'impact des méthodes de cuisson par ébullition et par micro-onde sur les composés phénoliques de la pomme de terre de cinq variétés stockées durant six mois et ayant différentes couleurs de peau et de chair. Ils ont constaté que le niveau des composés phénoliques était réduit par les deux méthodes de cuisson, mais l'ébullition a minimisée ces pertes. Burgos *et al.* (2013) ont montré que la cuisson des pommes de terre non pelées n'a causé aucune perte des composés phénoliques. Cependant, certains auteurs ont rapporté que la cuisson augmente la teneur de ces composés. Cette augmentation est attribuée à la libération facile de composés phénoliques auparavant liés aux constituants cellulaires lors de la cuisson. Cette libération compenserait une éventuelle perte par dégradation thermique (Dewanto *et al.*, 2002).

Navarre *et al.* (2010) ont prouvé qu'une cuisson dans l'eau durant 18 minutes provoque une augmentation des teneurs en polyphénols totaux. De même, Faller et Fialho (2009), ont signalé

que la cuisson de la pomme de terre durant 6,5 minutes augmente la teneur en polyphénols hydrolysables, par contre elle diminue le taux des fractions solubles.

1.6. Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) des extraits de la pomme de terre

Les variations des composés phénoliques et leurs dérivés ont été évaluées après cuisson (par ébullition, à la vapeur et par microonde) (figure 33, tableau 16).

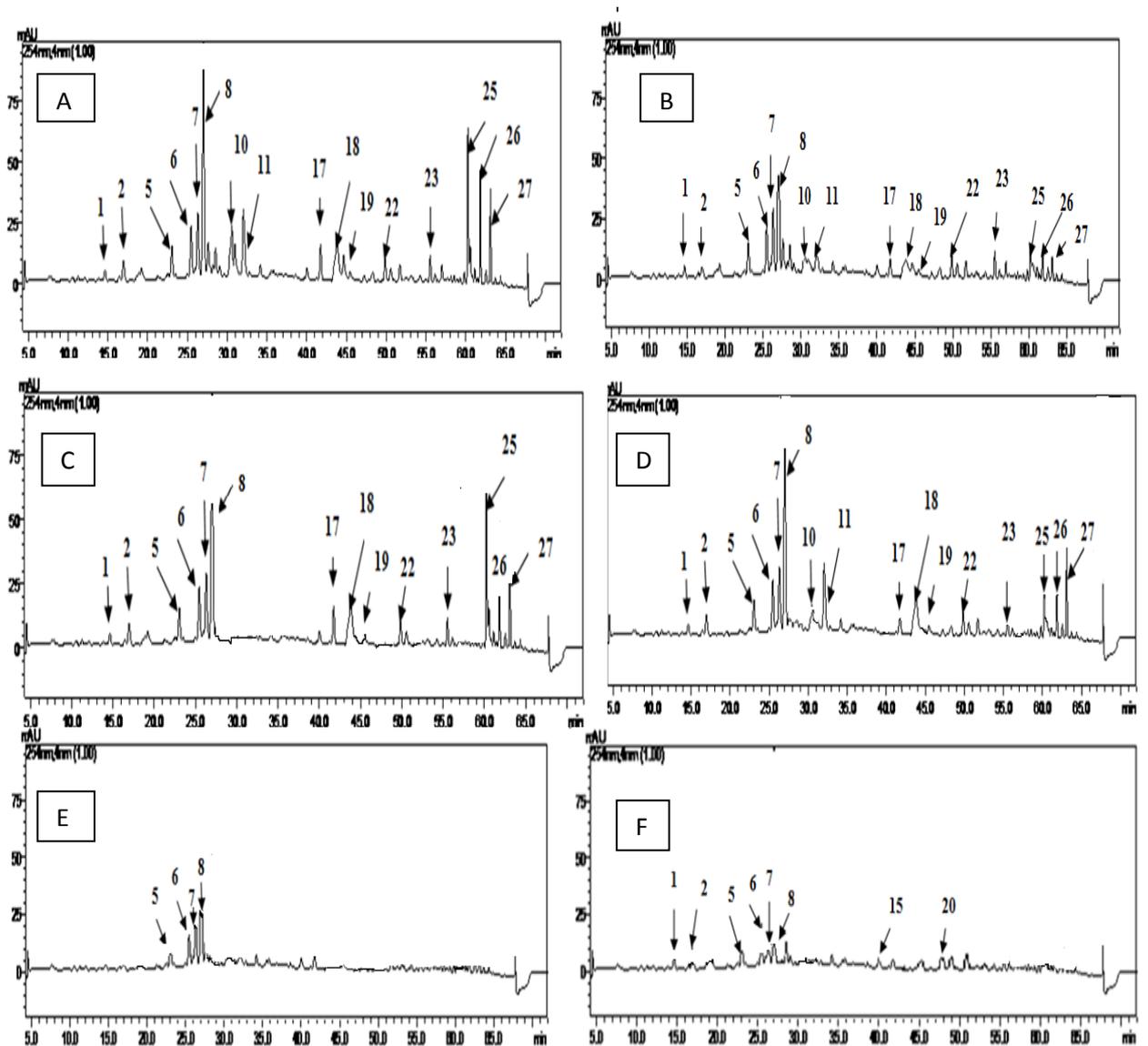


Figure 33. Analyse LC-MS/MS des extraits de la pomme de terre

A : pomme de terre crue, B : cuite à l’eau, C : cuite par vapeur, D : cuite par microonde, E : eau de cuisson (ébullition), F : eau de cuisson(vapeur) :

- 1 : acide quinique, 2 : acide malique, 3 : acide ferrulique, 4 : acide gallique, 5 : acide chlorogénique, 6 : acide protocatechuique, 7 : acide tannique, 8 : acide caféique, 9 : vanilline, 10 : p-acide coumarique, 11 : Acide rosmarinique 12 : Hesperidine, 13 : Rutine, 14 : Hyperoside, 15 : 4-OH Acide benzoïque, 16 : Acide salicylique, 17 : Myricétine, 18 : Coumarine 19 Kaempferol :, 20 : Quercétine, 21 : Hesperetine, 22 : Naringénine , 23 : Luteoline, 24 : Fisetine, 25 : Apigenine, 26 : Rhamnetine, 27 : Chrysrine

Tableau 16. Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits de la pomme de terre par LC-MS/MS

N°	Composé	Ion parent (m/z)	MS2 (énergie de collision)	Quantification (µg analyte / g d'extrait)					
				CR	CE	CV	CM	ECE	ECV
1	Acide quinique	190,95	85 (22), 93 (22)	250,87	100,54	234,98	243,76	ND	42,67
2	Acide mallique	133,05	115 (14), 71 (17)	340,67	90,65	338,76	339,76	ND	34,76
3	Acide Férrulque	172,85	85 (12), 129 (9)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	Acide gallique	169,05	125 (14), 79 (25)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	Acide chlorogénique	353	191 (17)	4500,87	4490,76	4497,87	4498,78	67,67	56,78
6	Acide protocatéchique	152,95	109 (16), 108 (26)	5500,66	5499,56	5500,21	5500,65	2500,78	49,78
7	Acide tannique	182,95	124 (22), 78 (34)	7032,373	7029,65	7030,76	7031,87	3500,78	49,98
8	Acide caféique	178,95	135 (15), 134 (24), 89 (31)	10011,193	8907,87	9345,78	10000,76	4500,78	52,78
9	Vanilline	151,05	136 (17), 92 (21)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	Acidep- coumarique	162,95	119 (15), 93 (31)	7058,25	345,76	ND	540,76	ND	ND
11	Acide rosmarinique	358,9	161 (17), 133 (42)	8054,233	209,76	ND	7098,76	ND	ND
12	Hespéridine	611,1	303,465	ND	ND	ND	ND	ND	ND
13	Rutine	609,1	300 (37), 271 (51), 301 (38)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	Hyperoside	463,1	300,301	ND	ND	ND	ND	ND	ND
15	4-OH acide benzoïque	136,95	93,65	ND	ND	ND	ND	ND	60,43
16	Acide salicylique	136,95	93,65,75	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	Myricétine	317	179,151,137	4657,87	367,76	4569,76	456,78	ND	ND
18	Coumarine	146,95	103,91,77	5098,76	567,78	5189,54	5188,76	ND	ND
19	Kaempférol	264,95	217,133,151	119,76	89,76	99,76	99,45	ND	ND
20	Quercétine	300,9	179,151,121	ND	ND	ND	ND	ND	56,87
21	Hespéretine	300,95	164,136,108	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	Naringinine	270,95	151,119,107	218 ,123	217,99	218,06	218,16	ND	ND
23	Lutéoléine	284,95	175,151,133	225,980	224,76	225	112,78	ND	ND
24	Fisétine	284,95	135,121	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	Apigénine	268,95	151,117	9452,76	450,76	9065,78	5687,78	ND	ND
26	Rhamnétine	314,95	165,121,300	8564,78	345,99	567,98	789,87	ND	ND
27	Chryisine	253	143,119,107	7456,65	234,78	709,78	4987,76	ND	ND

ND : non déterminé; CR : pomme de terre crue; CE : pomme de terre cuite dans l'eau; CV : pomme de terre cuite à la vapeur; CM : pomme de terre cuite par microonde ; ECE : eau de cuisson par ébullition ; ECV : eau de cuisson par vapeur

L'analyse LC-MS/MS a montré que la pomme de terre contient des quantités considérables d'acide chlorogénique, d'acide protocatéchique, d'acide tannique, d'acide caféique, d'acide p-coumarique, d'acide rosmarinique, de myricétine, de coumarine, d'apigénine, de rhamnetine et de chrysin et de faibles quantités de kaempférol, de naringinine et de lutéoline. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par d'autres études (tableau 17).

Les eaux de cuisson ont révélé de faibles quantités de composés phénoliques. L'analyse de l'eau de cuisson par ébullition a montré la présence de l'acide chlorogénique, l'acide protocatechique, l'acide tannique et l'acide caféique mais l'eau de cuisson à la vapeur a révélé la présence de l'acide quinique, l'acide malique, l'acide chlorogénique, l'acide protocatechique, l'acide tannique, et l'acide caféique. Nous signalons l'apparition de deux composés phénoliques (acide 4-OH benzoïque et quercétine) dans l'eau de cuisson à la vapeur et qui n'ont été pas détectés dans la matrice végétale.

Tableau 17. Synthèse des résultats d'études sur la détection de composés phénoliques dans les variétés de la pomme de terre

Technique analytique	Variété de la pomme de terre	Composés phénoliques	Références
HPLC-MS	Ranger Russet Norkotah Russet	Acide néochlorogénique, Acide chlorogénique Acide caféique, Quercétine-3-o-glu-rut, Rutine, Kaempferol-3-o-rutinoside, Acide cryptochlorogène, Acide quinique	(Shakya et Navarre, 2006)
HPLC-MS	Jasim, Atlantic, Jawan, Superior, Jopung'	Acide chlorogénique, Acide caféique, Acide ferulique, Acide p-coumarique, Acide trans-cinnamique	(Im <i>et al.</i> , 2008)
HPLC-MS	Goldrosh, Nordonna, Dakota Pearl, Norkotah, Sangre, iking, noir, Nordland rouge	Acide chlorogénique, Acide caféique, Acide gallique, Acide ferulique, Catéchine, Acide p-coumarique, Acide o-coumarique	(Xu <i>et al.</i> , 2009)
HPLC-MS	Purple, Innovator, Russet, Jaune	Acide chlorogénique, Acide caféique, Acide p-coumarique, Acide ferulique	(Albishi <i>et al.</i> , 2013)
HPLC-DAD-MS	Bell bleue, Melody	Acide chlorogénique, Acide caféique, Acide quinique, Acide ferulique, Acide cryptochlorogène, Rutine	(López-Cobo <i>et al.</i> , 2014)

L'identification et la quantification des composés phénoliques avant et après cuisson ont confirmé les résultats du dosage spectrophotométrique. Les trois modes de cuisson ont provoqué une diminution des composés phénoliques. Le mode de cuisson par microonde s'est avéré le plus efficace quant à la rétention du contenu phénolique. Les eaux de cuisson ont présenté de faibles quantités en polyphénols. Au cours des traitements culinaires de la pomme de terre, ses structures intracellulaires subissent une dégradation, ce qui entraîne la libération d'acides phénoliques de leurs complexes non solubles (Tudela *et al.*, 2002).

Les composés qui sont peu retenus sont l'acide p-coumarique et l'acide rosmarinique. Ils ont été trouvés en traces dans le cas de cuisson à l'eau et totalement absents dans le cas de cuisson à la vapeur. Bien que la rétention varie largement entre les différents composés polyphénoliques, beaucoup d'entre eux ont été affectés de la même façon par les trois modes de cuisson étudiés. Le contenu de certains acides phénoliques comme l'acide chlorogénique, l'acide protocatechique, l'acide tannique, l'acide caffeique n'a pas pratiquement changé lors du traitement malgré leur présence et leur solubilisation dans les eaux de cuisson. Ce constat est probablement dû à leur libération par la rupture des polyphénols complexes en simples composés (Rotwell *et al.*, 2015).

Une légère augmentation de la coumarine a été constatée après la cuisson à la vapeur et par microonde et deux composés phénoliques (acide 4-OH benzoïque et quercétine) sont apparus dans l'eau de cuisson à la vapeur et qui n'ont été pas détectés dans la matrice végétale. Ce constat peut être dû à la libération des aglycones suite à la rupture de glycosides ou d'esters plus complexes pendant ce traitement thermique. En outre, certains composés phénoliques peuvent également être liés à des composants non digestibles de la matrice alimentaire, et la rupture de la structure cellulaire par traitement thermique peut provoquer leur libération et leur solubilisation (Acosta-Estrada *et al.*, 2014). Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Tudela *et al.* (2002) qui ont abouti à environ 50% de perte d'acide chlorogénique ; et ceux de Dao et Friedman (1994) qui ont montré que la cuisson en eau provoque une diminution de la teneur de cette acide phénolique de 60%. Les plus faibles variations du contenu de l'acide chlorogénique ont été observées après la cuisson par micro-onde (45%) (Friedman et Levin, 2009).

1.7. Activité antioxydante des extraits de la pomme de terre

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, deux approches méthodiques ont été appliquées : d'une part, la détermination de la réduction relative de DPPH, d'ABTS et du cuivre et d'autre part la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH, ABTS et Cu^{+2} .

L'activité antioxydante des extraits de pomme de terre crue et cuite (à l'eau bouillante, à la vapeur et par microonde) a été testée puis comparée à celle d'un antioxydant de référence (BHA). Les résultats obtenus pour les trois méthodes sont présentés dans la figure 34

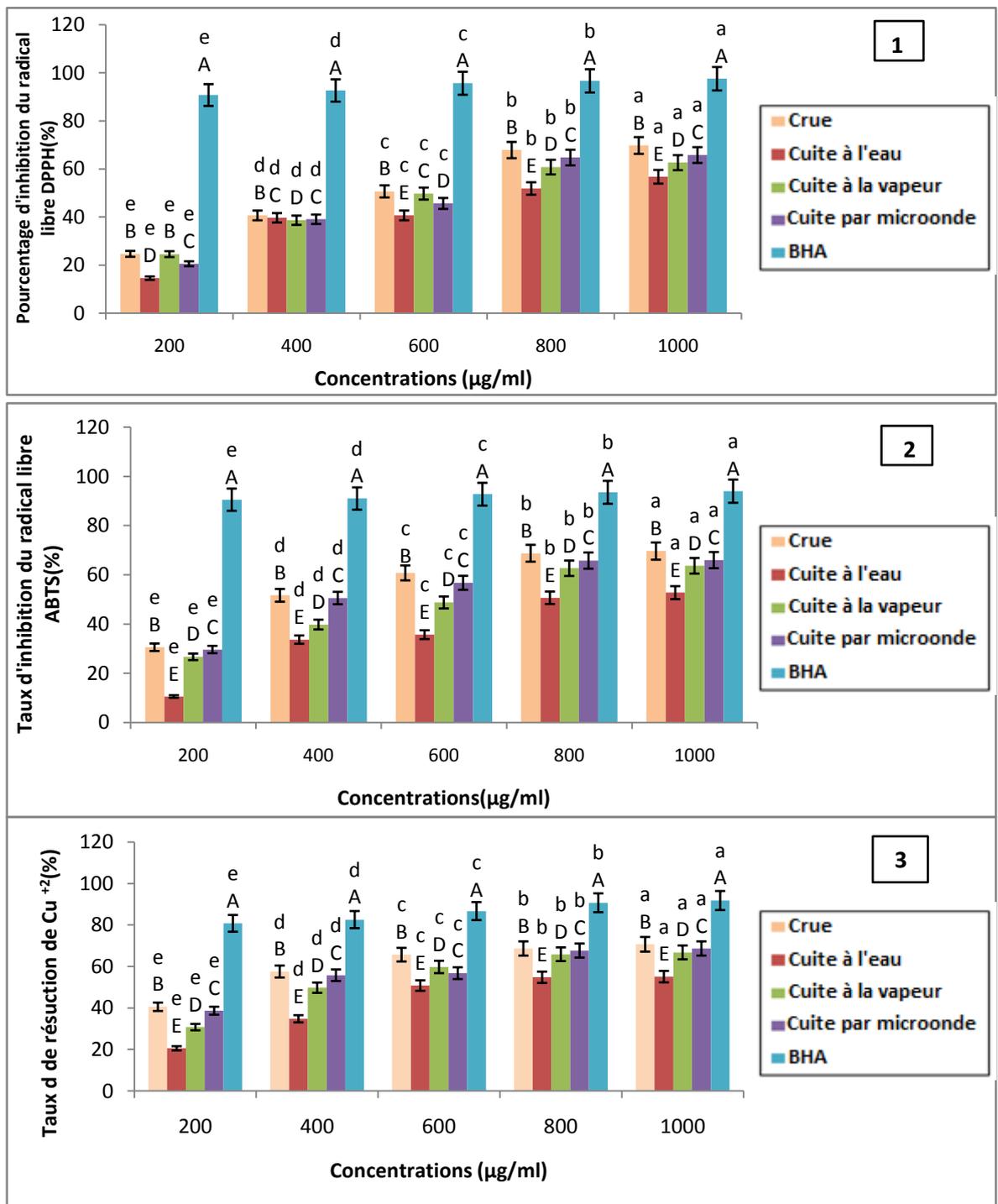


Figure 34 . Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de la pomme de terre (1 : Méthode DPPH, 2 : Méthode ABTS, 3 : Méthode CUPRAC)

Pour la méthode DPPH, l'analyse de la variance a montré l'existence d'une différence significative ($P < 0,05$) entre les différentes activités antioxydantes des extraits de pomme terre

crue et cuite. Nous signalons que pour des concentrations des extraits de l'ordre de 200µg/ml et 400µg/ml, aucune différence significative n'a été observée d'une part entre les pommes de terre crues et cuites à la vapeur et d'autre part entre les pommes de terre cuites dans l'eau et par microonde respectivement. D'une manière générale pour la méthode de DPPH, l'activité antioxydante semble augmenter avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

De même pour la méthode ABTS, l'analyse de la variance a montré l'existence d'une différence significative ($P < 0,05$) entre les activités antioxydantes des extraits de pommes de terre crue et cuites, quel que soit les concentrations testées.

Pour la méthode CUPRAC, une différence significative ($P < 0,05$) entre les extraits de la pomme de terre crue et cuite a été enregistrée pour les différentes concentrations des extraits testés.

Les résultats, des trois méthodes d'évaluation de l'activité réductrice, exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) montrent clairement que les extraits de pomme de terre présentent un pouvoir antioxydant modéré par rapport au témoin et que l'activité antioxydante augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

Le traitement thermique réduit l'activité antioxydante à des degrés différents selon le mode de cuisson appliqué. La classification des modes de cuisson (selon le degré de réduction de l'activité antioxydante) place la cuisson à la microonde en première position puis vient la cuisson à la vapeur et en dernière position la cuisson à l'eau.

La diminution de l'activité antioxydante est peut être liée à la réduction des polyphénols provoquée par les différentes méthodes de cuisson. Selon la littérature, plusieurs auteurs signalent qu'il y a une relation entre le contenu des composés phénoliques et les propriétés antioxydantes (Zhao *et al.*, 2006 ; Rumbaoa *et al.*, 2009 ; Lachman *et al.*, 2009 ; Hamouz *et al.*, 2011). Selon Hayes *et al.* (2011), l'activité antioxydante dépend généralement du nombre et de la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels.

Parmi les composés phénoliques, les flavonoïdes sont des composés qui présentent une activité antioxydante élevée (Montoro *et al.*, 2006).

L'acide caféique (acide 3,4-dihydroxycinnamique), l'un des principaux acides hydroxycinnamiques présent dans l'extrait de pomme de terre, a été identifié comme l'un des antioxydants actifs. Gulcin (2006) a évalué l'activité antioxydante de cet acide en utilisant différents tests antioxydants *in vitro* tels que le test ABTS et le test de DPPH où il a montré une puissante activité antioxydante par rapport aux antioxydants de référence (BHA, BHT et l' α -Tocophérol).

Pour confirmer ces résultats, nous avons procédé au calcul du paramètre IC50 qui correspond à la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH, ABTS et Cu⁺². Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante du composé est importante (Hebi et Eddouks, 2016). Les IC50 des extraits de pomme de terre et du BHA ont été évalués (tableau 18).

Tableau 18 . Valeurs d'IC50 des extraits de la pomme de terre

	DPPH	ABTS	CUPRAC
Crue	586,65±0,76 ^d	380,67±0,23 ^d	300,87±0,26 ^d
Cuite dans l'eau	703,54±0,56 ^a	686,76±0,49 ^a	592,78±0,74 ^a
Cuite à la vapeur	620,76±0,89 ^b	610,76±0,67 ^b	410±0,25 ^b
Cuite par microonde	609,8±0,23 ^c	395,65±0,98 ^c	330,65±0,14 ^c
BHA (témoin)	85,13±0,45 ^e	86,56±0,34 ^e	96,5±0,09 ^e

Pour chaque test, le même exposant signifie l'absence de différence significative

A la lecture du tableau 18, les valeurs des IC50 diffèrent selon le test et le mode de cuisson appliqués. Elles sont inversement proportionnelles aux valeurs de l'activité antioxydante. L'analyse de la variance montre l'existence d'une différence significative (P<0,05) entre les IC50 des extraits de pommes de terre crues et cuites et cela a été constatée pour tous les tests appliqués pour l'évaluation de l'activité antioxydante.

Les IC50 des pommes de terre cuites sont supérieures aux l'IC50 des pommes de terre crues. Par conséquent, une diminution des valeurs de l'activité antioxydante causée par le procédé de cuisson a été enregistrée. La cuisson à l'eau bouillante des pommes de terre a montré la plus haute IC50, donc la plus faible activité antioxydante ; suivie par la cuisson à la vapeur et à la fin la cuisson par microonde. Toutes les valeurs des IC50 des pommes de terre restent supérieures aux IC50 du témoin BHA, ce qui signifie que les pommes de terre crues et cuites possèdent des activités antioxydantes inférieures à celle de l'antioxydant de référence. Des résultats similaires ont également été obtenus dans des études antérieures notamment celle de Tian *et al.* (2016) qui ont observé une réduction modérée de l'activité antioxydante après cuisson par ébullition et par microonde tandis qu'une réduction assez importante de 21,57% par la cuisson à la vapeur. De même Perla *et al.* (2012) ont enregistré des baisses significatives de 42,22%, et 50,47% de l'activité antiradicalaire due à la cuisson par ébullition et par a microonde respectivement. Lemos *et al.* (2015) ont également rapporté que la cuisson diminue l'activité antioxydante des pommes de terre.

Selon Faller et Fialho (2009), la cuisson mène à des réductions de la capacité antioxydante pour la plupart légumes, avec de faibles différences entre la cuisson par ébullition, par microondes et la cuisson à la vapeur. Les variations des taux des polyphénols ont montré une corrélation positive avec la capacité antioxydante des extraits de pommes de terre crues et cuites.

Pour vérifier la corrélation entre les taux des polyphénols après cuisson et l'activité antioxydante des pommes de terre, le coefficient de corrélation de *Pearson* (r) a été calculé.

Les coefficients de *Pearson* de corrélation et les valeurs de p sont présentés dans le (tableau 19).

Tableau 19. Corrélations entre le taux des polyphénols et l'activité antioxydante des extraits de la pomme de terre

	DPPH		ABTS		CUPRAC	
	r	P	r	p	r	p
Cuite dans l'eau	0,935	0,020	0,894	0,041	0,937	0,02
Cuite à la vapeur	0,976	0,005	0,976	0,004	0,970	0,006
Cuite par microonde	0,970	0,006	0,967	0,005	0,980	0,003

r : coefficient de *Pearson*, p : probabilité

A l'issu du tableau 19, les activités antioxydantes des pommes de terres crues et cuites évaluées par les trois tests (DPPH, ABTS, CUPRAC) se sont révélées fortement et positivement liées à la teneur en polyphénols totaux. Ce même constat a été évoqué par Kalita et Jayanty (2014) qui ont montré une forte corrélation entre les activités antioxydantes déterminées par trois tests (ORAC, ABTS et DPPH) et la teneur en polyphénols des pommes de terre ($r = 0,9499$; $0,9251$ et $0,8081$ respectivement). Une forte corrélation a également été obtenue entre les flavonoïdes et les activités antioxydantes évaluées par les même tests ($r=0,8037$; $0,9138$ et $0,7065$ respectivement).

A l'inverse, d'autres travaux cités dans la littérature ne concordent pas avec nos observations, notamment ceux de Lee *et al.*(2016) qui ont rapporté que le test peut influencer l'activité antioxydante. Ils ont constaté que l'activité anti radicalaire évaluée par l'ABTS des variétés de pomme de terre de couleur violette est fortement corrélée à la teneur totale en polyphénols ($r = 0,897$) tandis que celle déterminée par la méthode de DPPH est négativement corrélée à la teneur en polyphénols totaux ($r = -0,933$). .

1.8. Activité anticholinestérase des extraits de la pomme de terre

Les activités antiacétylcholinestérase et antibutyrylcholinestérase des extraits de pommes de terre crue et cuite (à l'eau, à la vapeur et par microonde) ont été testées puis comparées à celle d'un inhibiteur de référence qui est la galantamine. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 35

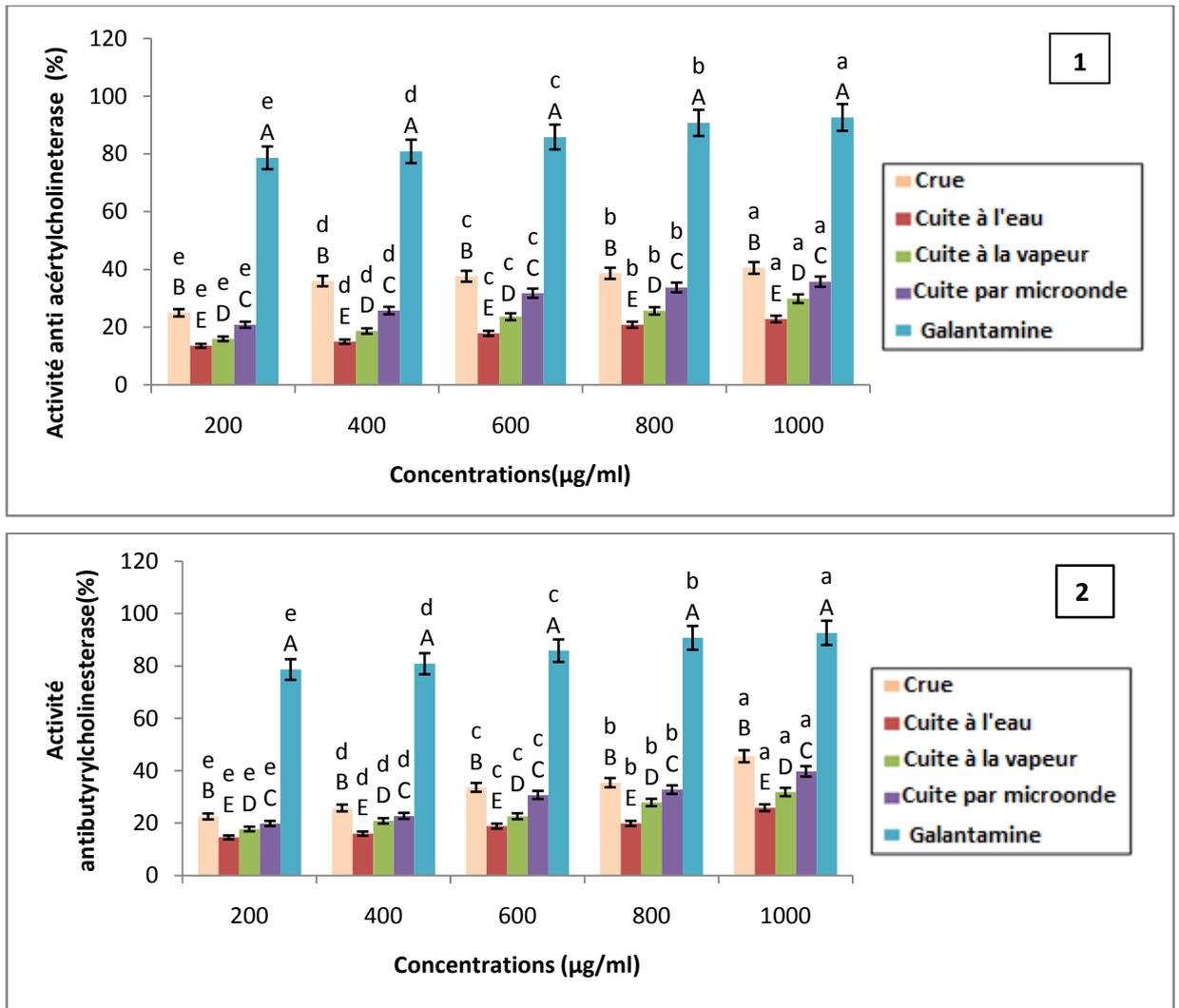


Figure 35. Evaluation de l'activité anticholinestérase des extraits de la pomme de terre
 1 : Activité antiacétylcholinestérase, 2 : Activité antibutyrylcholinestérase

Les extraits de pomme de terre crue ont présenté des activités inhibitrices modérées de l'AChE et de l'BChE par rapport au témoin (la galantamine). Elles sont respectivement de $40,55 \pm 0,89\%$ et $45,55 \pm 0,45\%$ pour une concentration de $1000 \mu\text{g/ml}$. Il apparaît que l'activité anticholinestérase augmente relativement avec l'augmentation de la concentration d'extrait.

La galantamine a présenté la meilleure activité inhibitrice de l'AChE et l'BChE par rapport aux extraits de pommes de terre. La concentration de 200ppm de la galantamine a produit un pourcentage d'inhibition puissant équivalent à $78,76 \pm 0,72\%$ pour l'AChE et $78,67 \pm 0,76\%$ pour la BChE.

De même, la cuisson a provoqué une diminution significative ($P < 0,05$) de l'activité anticholinestérase des pommes de terre pour différentes concentrations de l'extrait. La réduction a été constatée à des degrés différents selon la méthode de cuisson. La classification des modes de cuisson, selon le degré de réduction de l'activité anticholinestérase, place la cuisson par

microonde en première position, la cuisson à la vapeur en deuxième position et en dernière position la cuisson à l'eau (tableau 20).

Tableau 20. Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase des extraits de la pomme de terre

	Activité antiacétylcholinestérase	Activité antibutyrylcholinestérase
Crue	1105,29±0,24 ^d	1087,84±0,54 ^d
Cuite dans l'eau	2471,27±0,67 ^a	2129,42±0,21 ^a
Cuite à la vapeur	1967,72±0,98 ^b	1611,22±0,18 ^b
Cuite par microonde	1363,6±0,56 ^c	1234,68±0,54 ^c
Galantamine	84,23±0,21 ^e	86,56±0,08 ^e

Pour chaque test, le même exposant signifie l'absence de différence significative

D'après les valeurs obtenues, il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre la pomme de terre crue, cuite et la galantamine. Les extraits de pomme terre crue et cuite présentent des IC50 élevées pour les activités anti acétylcholinestérase et antibutyrylcholinestérase, ce qui indique une activité anticholinestérase faible. L'IC50 obtenue pour la galantamine utilisée comme référence est inférieure à celles de l'extrait, donc la galantamine possède une meilleure activité inhibitrice de l'AChE et l'BChE. La galantamine est largement utilisée comme une substance de référence dans les tests *in vitro* du fait de son fort pouvoir inhibiteur de l'AChE (Lopez *et al.*, 2002). Aujourd'hui, elle est autorisée dans plusieurs pays Européens comme un des traitements de la maladie d'Alzheimer à des stades avancés (Sramek *et al.*, 2000).

Le mode de cuisson des pommes de terre à l'eau bouillante a montré la plus haute IC50 c'est-à-dire la plus faible activité anticholinestérase, suivie par la cuisson à la vapeur et la cuisson par microonde. Bien que dans la pomme de terre, la plupart des inhibiteurs de l'enzyme AChE connus de cholinergique soient des alcaloïdes (Szwajgier et Borowiec, 2012), récemment, plusieurs études ont été faites pour identifier d'autres molécules naturelles pouvant avoir une activité importante anti-AChE. Ainsi, selon Houghton *et al.* (2006) plusieurs composés, autres que les alcaloïdes, présentent une grande capacité d'inhiber l'enzyme AChE tels que les terpenoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes et les isocoumarines. Plusieurs études ont montré l'existence d'une forte activité anticholinestérase des composés phénoliques (Heinrich et Theoh, 2004 ; Ryu *et al.*, 2012 ; Aderogba *et al.*, 2013 ; Xian *et al.*, 2014). Cependant, le mécanisme exact de l'interaction avec les polyphénols n'est pas encore bien expliqué (Zhang *et al.*, 2009).

Malgré la richesse de pomme de terre crue et cuite en polyphénols, une faible activité anticholinestérase a été obtenue. Cela est peut être due à la nature et la structure chimique ainsi qu'aux effets synergie, antagonisme ou interactions entre les différents composés phénoliques existants et ceux néoformés après cuisson.

Selon Szwajgier (2013), le nombre et la position des autres groupes hydroxyles dans les molécules testées jouent un rôle mineur dans ce contexte. Les aglycones sont les inhibiteurs les plus efficaces du cholinestérase que leurs formes glycosylées correspondantes. De même, Szwajgier (2015) a mesuré les activités anticholinestérasiques de 9 acides phénoliques et 6 flavonoïdes, seuls ou en combinaison. La synergie, l'antagonisme et l'absence d'interaction entre les composés ont été évalués. La méthode spectrophotométrique d'Ellman modifiée a été utilisée pour la mesure de l'activité anticholinestérase. Les activités anti-acétylcholinestérase ont été classées selon cet ordre: l'acide homogentisique > acide 4-hydroxyphénylpyruvique > acide nordihydroguaiaretic > acide rosmarinique > acide caféique > acide gallique > acide homovanillique > acide sinapique. Les interactions entre les acides phénoliques en paires avec des flavonoïdes (cyanidine, delphinidine, kaempférol, myricetin, phloridzine, pélargonidine ou quercétine) ont présenté, dans la plupart des cas, une activité d'inhibition plus faible que celle calculée séparément pour les deux composés ($p > 0,05$) (**Tableau 21**).

Tableau 21. Corrélations entre les polyphénols totaux et l'activité anticholinestérase des extraits de la pomme de terre

	Activité anti acétylcholinestérase		Activité anti butyrylcholinestérase	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Cuite à l'eau	0,995	0,000	0,999	< 0,0001
Cuite à la vapeur	0,996	0,000	0,995	0,000
Cuite par microonde	0,998	< 0,0001	0,994	0,000

r : coefficient de Pearson, *P* : probabilité

Des valeurs de *r* proches de 1 et des valeurs de *P* extrêmement inférieures à 0,05 ont été obtenues ce qui indique que les activités antiacétylcholinestérase et antibutyrylcholinestérase des pommes de terres crues sont fortement et positivement liées à la teneur en polyphénols totaux. Plusieurs travaux ont montré une corrélation entre les composés phénoliques et l'activité anticholinestérase (Zhang *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2011 ; Liu *et al.*, 2012 ; Liu *et al.*, 2014).

2.1. L'oignon cru

2.1.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon cru

Le taux en polyphénols totaux a été déterminé à partir de la courbe d'étalonnage (Annexe 1). Au total, quatre variables (A : concentration du solvant ; B : temps de macération ; C: temps d'ultrasonication et D: broyage) ont été analysées en fonction de leurs effets sur la teneur en polyphénols totaux en utilisant le plan de criblage *Plackett-Burman*. La matrice de dépistage des variables et les réponses correspondantes sont présentées dans le tableau 22.

Tableau 22. Matrice d'essais du plan *Plackett –Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cru

N° d'essai	A	B	C	D	Taux des polyphénols (µg EAG/ g d'extrait sec)
1	1	1	-1	1	2,640x10 ⁴
2	1	-1	1	1	1,117 x10 ⁴
3	-1	1	1	1	1,684 x10 ⁴
4	-1	-1	-1	1	1,728 x10 ⁴
5	-1	1	-1	-1	2,627 x10 ⁴
6	1	-1	-1	-1	2,016 x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	1,225 x10 ⁴
8	1	1	1	-1	1,741 x10 ⁴
9	1	1	-1	1	1,548 x10 ⁴
10	-1	1	1	-1	1,584 x10 ⁴
11	-1	-1	1	1	2,520 x10 ⁴
12	1	-1	1	-1	1,237 x10 ⁴

A : concentration du solvant ; B : temps de macération ; C: temps d'ultrasonication ; D: broyage

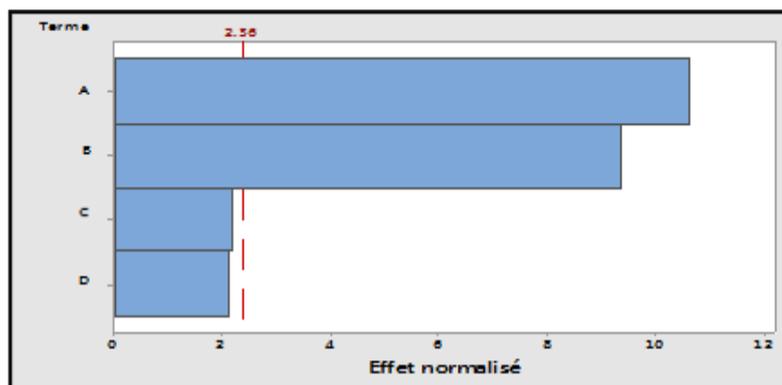
L'équation polynomiale générée pour chaque réponse, décrivant la corrélation entre le taux des polyphénols et les quatre facteurs étudiés, est représentée comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 18061 + 3728 A - 730 B + 3285 C - 767 D$$

La probabilité obtenue pour ce modèle est inférieure à 0,05 ainsi que les valeurs des deux coefficients (coefficient de détermination et coefficient de détermination ajusté) sont proches de 100% ce qui indique que le modèle est significatif. La concentration du solvant et le temps de macération sont significatifs ($p \leq 0,05$). Toutes les variables insignifiantes ont été négligées (Annexe 3).

En tenant compte des signes des coefficients, on remarque que la concentration du solvant a présenté un effet positif tandis que le temps de macération a montré un effet négatif sur la réponse "taux des polyphénols totaux" (Annexe 3).

Ces résultats sont confirmés par le diagramme de *Pareto*, les facteurs qui dépassent la droite verticale ayant pour abscisse 2,36 sont considérés comme significatifs (figure 36).



A : concentration du solvant ;
 B : temps de macération ;
 C : temps d'ultrasonication ;
 D : broyage

Figure 36. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés (P=0,05) des conditions d'extraction des polyphénols de l'oignon cru

2.1.2. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon cru

La matrice des essais du plan composite centré et les réponses obtenues sont mentionnées dans le tableau 23.

Tableau 23. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cru

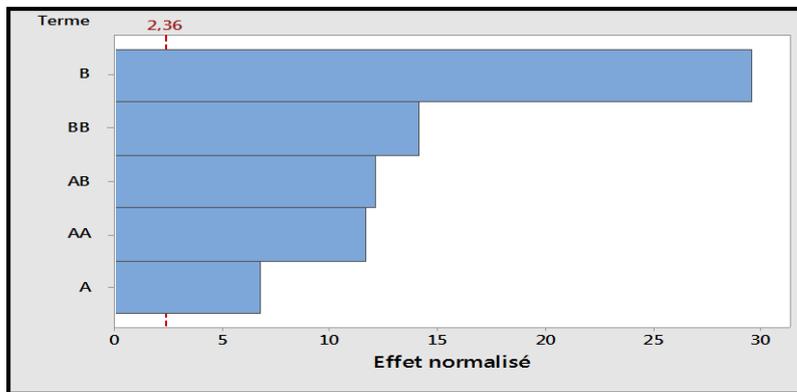
N° d'essai	Niveaux du facteur concentration du solvant	Niveaux du facteur Temps de macération	Taux des polyphénols (µg EAG/g D'extrait sec)
1	0	0	1,943 x10 ⁴
2	-1	1	1,616 x10 ⁴
3	-1	-1	1,626 x10 ⁴
4	0	0	1,924 x10 ⁴
5	1	-1	2,380x10 ⁴
6	1	1	2,281x10 ⁴
7	0	0	1,846 x10 ⁴
8	-1,414	0	1,562x10 ⁴
9	0	0	1,805x10 ⁴
10	1,414	0	1,646x10 ⁴
11	0	-1,414	1,674x10 ⁴
12	0	0	1,813x10 ⁴
13	0	1,414	1,646 x10 ⁴

L'analyse de variance partitionne la variabilité de taux des polyphénols pour chacun des effets. La valeur-p est inférieure à 0,05 ce qui signifie que le modèle est significatif. Le R² ajusté indique le modèle explique plus de 99,12% de la variabilité de la réponse (Annexe 3). L'équation polynomiale quadratique pour la réponse taux des polyphénols est:

$$\text{Taux en PT} = 75 - 1111,2 A - 31,94 B + 5,627 A*A + 0,005728 B*B + 0,2236 A*B$$

L'analyse de variance montre que les effets A, B, AA, BB et l'interaction à deux facteurs AB sont significatifs ($p < 0,05$).

Le diagramme de *Pareto* standardisé (figure 37) démontre que l'effet du temps de macération et son terme quadratique ont l'effet le plus important suivi par l'interaction des deux facteurs, le terme quadratique de la concentration du solvant et l'effet de la concentration du solvant.



A : Concentration solvant;
 B : temps de macération,
 AA : carré de concentration du solvant,
 BB : carré du temps de macération
 AB : interaction entre concentration du solvant et le temps de macération

Figure 37. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p = 0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon cru

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponse qui illustrent l'évolution de la réponse en fonction des niveaux des deux facteurs (concentration de solvant et temps de macération) sont illustrées dans la figure 38.

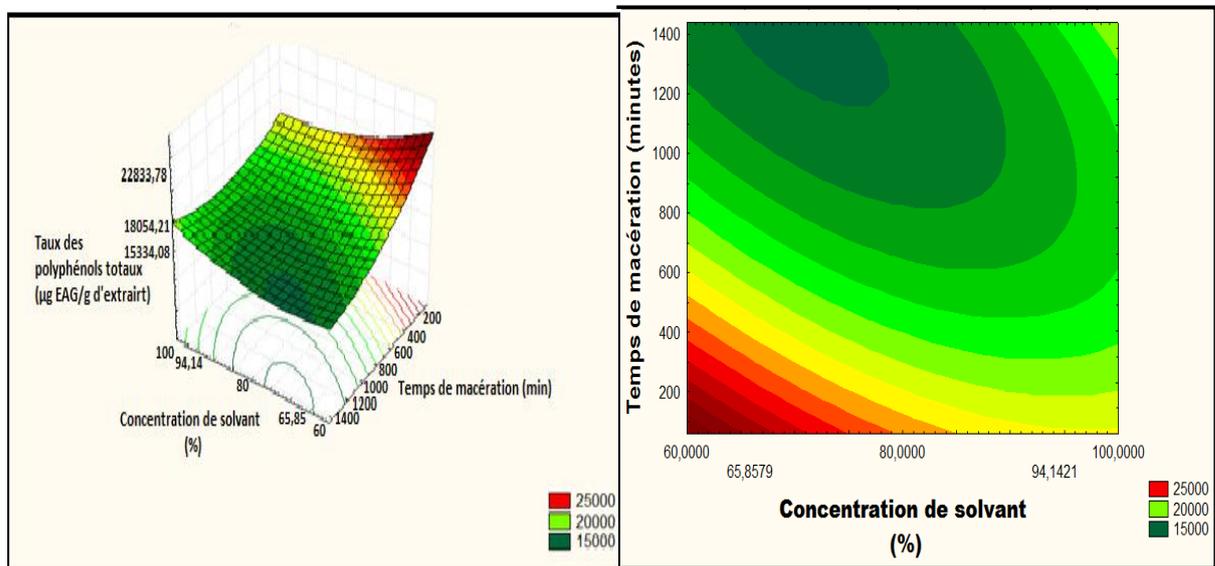


Figure 38. Surface de réponse du taux des polyphénols totaux de l'oignon cru en fonction de la concentration du solvant et du temps de macération

Selon la figure 38, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se situent dans la zone rouge limitée par les points : concentration du solvant (60-63,76 %) et temps de macération (60-100 min). La courbe de désirabilité permet de réaliser des simulations des conditions opératoires à

fin de maximiser le taux des polyphénols. Le maximum de précision est obtenu pour une désirabilité égale à 1 (Figure 39).

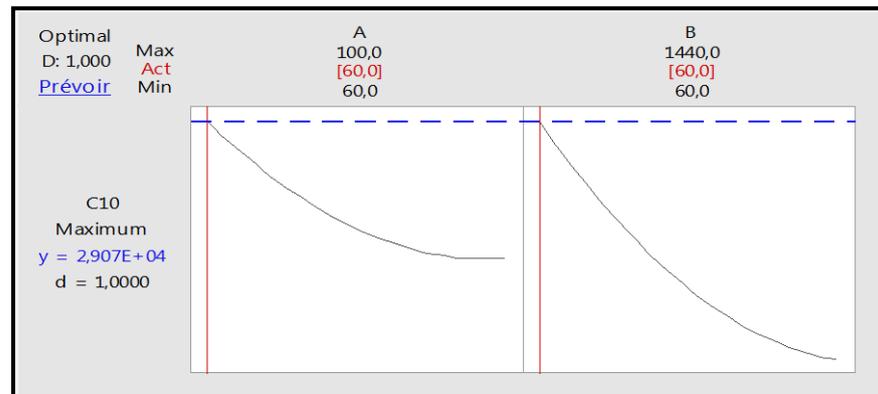


Figure 39. Optimisation de la concentration du solvant et du temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'oignon cru en fonction de la désirabilité 1

La prédiction des conditions optimales sont : concentration du solvant (60%) et temps de macération (60min).

2.1.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport à la concentration du solvant et au temps de macération des polyphénols de l'oignon cru

Les résultats de l'optimisation sont confirmés par la détermination du taux des polyphénols totaux avec les facteurs sélectionnés au point optimum (Tableau 24).

Tableau 24. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'oignon cru

Points	Taux de polyphénols prédit (μg EAG/g d'extrait sec)	Taux de polyphénols mesuré (μg EAG/g d'extrait sec)
(60%, 60min)	$2,907 \times 10^4$	$2,9069 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

2.2. L'oignon cuit à la vapeur

2.2.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon

Les résultats de la matrice d'essais du plan *Plackett- Burmann* pour le taux des polyphénols des oignons cuits à la vapeur en fonction des sept facteurs(A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication et G : broyage) sont présentés dans le tableau 25.

Tableau 25. Matrice d'essais du plan *Plackett –Burmman* pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit à la vapeur

N° d'essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols totaux (µg EAG/g d'extrait sec)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	1,498 x10 ⁴
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	2,847 x10 ⁴
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1,899 x10 ⁴
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	2,029 x10 ⁴
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	0,876 x10 ⁴
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1,058 x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1,051 x10 ⁴
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	2,549 x10 ⁴
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	1,235 x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	2,764 x10 ⁴
11	1	1	1	-1	1	1	-1	1,268 x10 ⁴
12	1	1	-1	1	1	-1	1	1,783 x10 ⁴

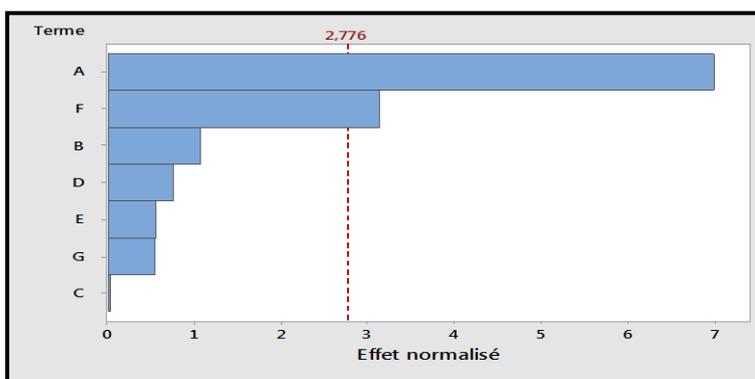
A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ;
 D : concentration du solvant ; E : Temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage

Les deux facteurs qui ont montré des effets significatifs sur la réponse sont le temps de cuisson et le temps d'ultrasonication. Le R² indique que le modèle explique plus de 93,85% de la variabilité de la réponse ce qui est fort acceptable. La valeur de P du modèle mathématique est inférieure à 0,05 ce qui indique la signification du modèle (Annexe 3).

Le modèle polynomial qui prédit la réponse taux des polyphénols est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 17386 - 5736 A - 878 B - 26 C - 626 D + 461 E - 2581 F + 442 G$$

Les deux facteurs : temps de cuisson et temps d'ultrasonication ont des effets négatifs sur la réponse taux des polyphénols. Les effets associés à la température de cuisson, la concentration du solvant, le temps de macération et le broyage ne sont pas significatifs dans ce modèle. Le diagramme de *Pareto* (figure 40) montre que le taux des polyphénols dépend principalement du temps de cuisson suivi par le temps d'ultrasonication.



A : temps de cuisson ;
 B : température de cuisson ;
 C : volume d'eau de cuisson ;
 D : concentration de solvant ;
 E : temps de macération ;
 F : temps d'ultrasonication ;
 G : broyage

Figure 40. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés (p=0,05) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à la vapeur de l'oignon

2.2.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon

Les deux facteurs temps de cuisson et temps d'ultrasonication ont été sélectionnés par le plan de criblage pour effectuer l'optimisation (tableau 26).

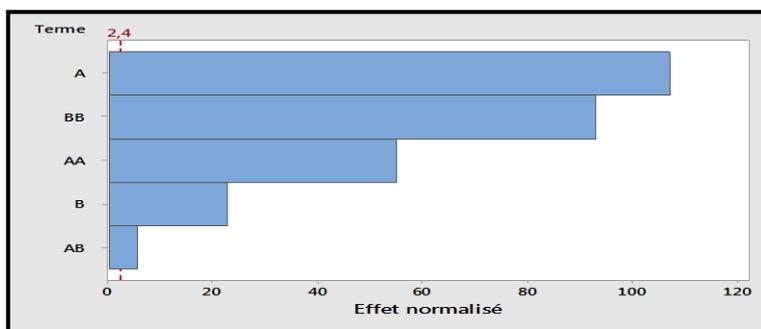
Tableau 26. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit à la vapeur

N° d'essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur temps d'ultrasonication (B)	Taux des polyphénols totaux (µg EAG/g d'extrait sec)
1	0	0	1,347x10 ⁴
2	-1	1	2,310x10 ⁴
3	-1	-1	1,628x10 ⁴
4	0	0	1,201x10 ⁴
5	1	-1	1,521x10 ⁴
6	1	1	1,638 x10 ⁴
7	0	0	1,362 x10 ⁴
8	-1,414	0	1,618 x10 ⁴
9	0	0	1,356 x10 ⁴
10	1,414	0	2,019 x10 ⁴
11	0	-1,414	1,727x10 ⁴
12	0	0	1,363x10 ⁴
13	0	1,414	2,115x10 ⁴

L'analyse de la variance des effets des termes linéaires, quadratiques et des interactions (A, B, AA, BB, AB) a montré qu'ils sont significatifs (p<0,05). Le R² indique que le modèle explique plus de 99,97% de la variabilité de la réponse. Le modèle polynomial qui prédit la réponse taux des polyphénols est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 16323,8 + 3106,3 A - 662,2 B - 1713,5 A*A + 2889,9 B*B + 230,1 A*B$$

Le diagramme de Pareto (figure 41) démontre que le taux des polyphénols dépend principalement de l'effet du temps de cuisson (A) suivi du terme quadratique du temps d'ultrasonication (BB), du terme quadratique du temps de cuisson (AA), du temps d'ultrasonication (B) et de l'interaction des deux facteurs (AB).



A : temps de cuisson ;
 B : temps d'ultrasonication,
 AA : carré du temps de cuisson,
 BB : carré de temps d'ultrasonication,
 AB : interaction entre le temps de cuisson et le temps d'ultrasonication

Figure 41. Diagramme de Pareto des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés (p=0,05) des conditions d'extraction des polyphénols et de cuisson à la vapeur de l'oignon

La surface de réponse et les courbes d'iso-réponse sont présentées dans la figure 42

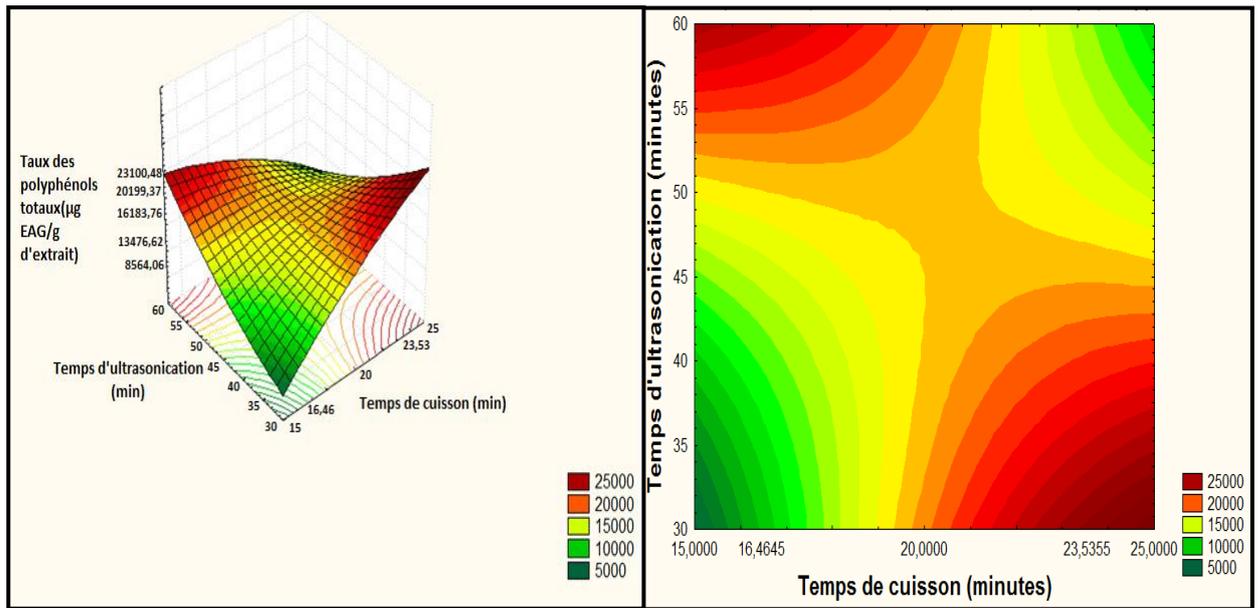


Figure 42. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction du temps de cuisson à la vapeur et du temps d'ultrasonication de l'oignon

A la lecture de la figure 42, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se localisent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (23,53- 25min) et temps d'ultrasonication (30- 33,67min). Ces valeurs ont été calculées à une désirabilité de 1 (figure 43).

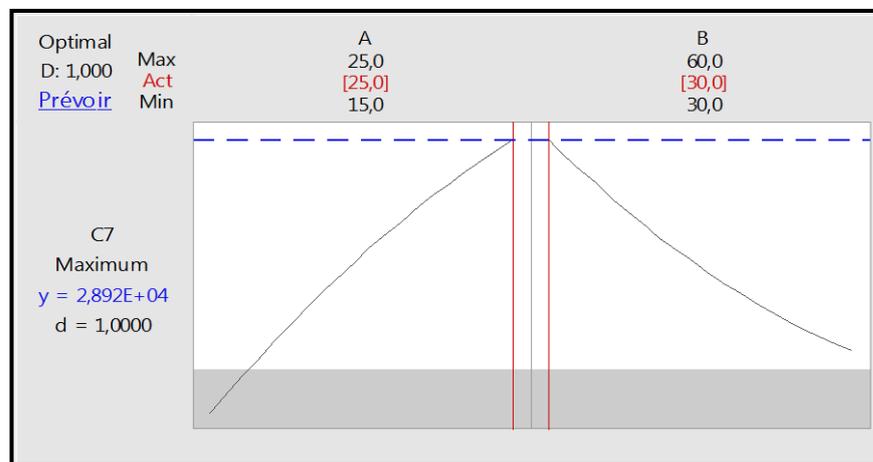


Figure 43. Optimisation des temps de l'ultrasonication et de la cuisson à la vapeur de l'oignon en fonction de la désirabilité 1

Les conditions optimales obtenues sont comme suit: temps de cuisson (25 min.) et temps d'ultrasonication (30min). La teneur prédite des taux polyphénols est de $2,892 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extrait sec}$.

2.2.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps de l'ultrasonication et de la cuisson à la vapeur de l'oignon

La valeur optimale a été vérifiée expérimentalement. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 27.

Tableau 27. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'oignon cuit à la vapeur

Points	Taux de polyphénols prédit (µg EAG/g d'extrait sec)	Taux de polyphénols mesuré (µg EAG/g d'extrait sec)
(25min, 30min)	2,892x 10 ⁴	2,8919x 10 ⁴

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans avoir de différence significative (p = 0,05), ce qui confirme la validation du modèle.

2.3. L'oignon cuit à l'eau

2.3.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à l'eau et d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon

Le criblage des 7 facteurs (A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage) a été effectué par le plan de *Plackett et Burmann*. Un nombre total de 12 essais a été nécessaire pour compléter ce plan d'expérience (tableau 28).

Tableau 28 . Matrice d'essais du plan *Plackett – Burmann* pour la détermination du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit à l'eau

N° d'essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols totaux (µg EAG/g d'extrait sec)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	0,456x10 ⁴
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	0,343x10 ⁴
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	0,472x10 ⁴
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	0,207x10 ⁴
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	0,470x10 ⁴
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	0,104x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,475x10 ⁴
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	0,218x10 ⁴
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	0,757x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	0,353x10 ⁴
11	1	1	1	-1	1	1	-1	0,437x10 ⁴
12	1	1	-1	1	1	-1	1	0,267x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage

Le modèle prédit est significatif (P <0,05). Deux facteurs (temps de cuisson et temps d'ultrasonication) ont présenté des effets significatifs (p < 0,05). Le R² ajusté indique que le modèle explique plus de 96,91% de la variabilité de la réponse (Annexe 3).

Le modèle polynomial, qui prédit la réponse taux des polyphénols, est exprimé en termes des codes facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 3804 + 1311A - 339B + 387C - 313D - 394E - 489F + 371G$$

Le temps de cuisson a un effet positif tandis que le temps d'ultrasonication a un effet négatif sur la réponse "taux des polyphénols totaux" (Annexe 3). Le diagramme de Pareto (figure 44) résume l'ensemble des résultats obtenus. La réponse dépend principalement du temps de cuisson suivi par le temps d'ultrasonication. Les effets associés à la température de cuisson, la concentration du solvant, le temps de macération et le broyage ne sont pas significatifs dans ce modèle.

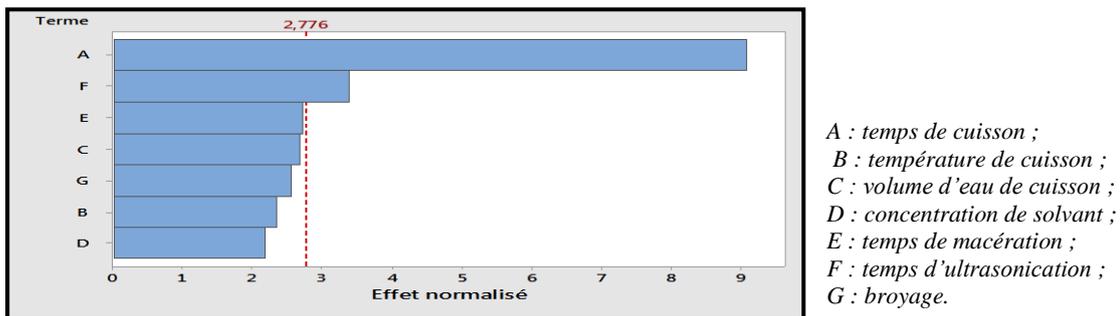


Figure 44. Diagramme de Pareto des effets linéaires normalisés (p=0,05) pour les conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à l'eau de l'oignon

2.3.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à l'eau et d'extractions des polyphénols de l'oignon

Les deux facteurs (temps de cuisson et temps d'ultrasonication) sont optimisés par le plan de composite centré. Les résultats des 13 essais sont récapitulés dans le tableau 29.

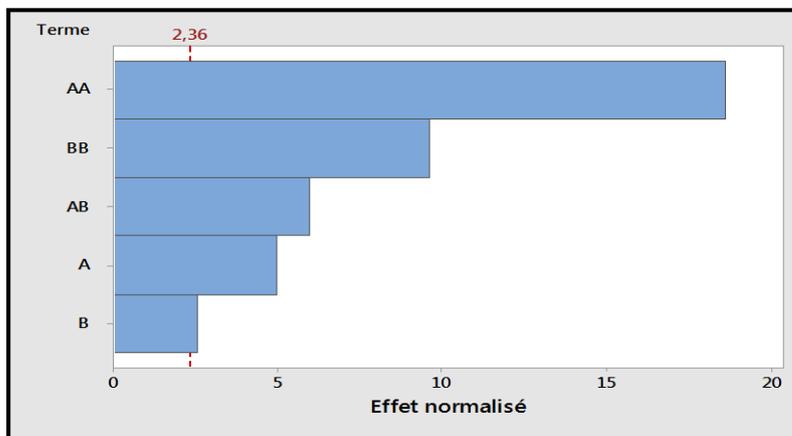
Tableau 29. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit à l'eau

N° d'essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur temps d'ultrasonication (B)	Taux des polyphénols totaux (µg EAG/g d'extrait sec)
1	0	0	0,956x10 ⁴
2	-1	1	0,770x10 ⁴
3	-1	-1	1,175x10 ⁴
4	0	0	0,958 x10 ⁴
5	1	-1	0,449 x10 ⁴
6	1	1	0,739x10 ⁴
7	0	0	0,947x10 ⁴
8	-1,414	0	0,529 x10 ⁴
9	0	0	0,932 x10 ⁴
10	1,414	0	0,679 x10 ⁴
11	0	-1,414	1,147 x10 ⁴
12	0	0	0,956 x10 ⁴
13	0	1,414	0,770 x10 ⁴

La probabilité obtenue pour ce modèle est <0,0001 ce qui indique que le modèle mathématique correspond bien à la réponse. Les coefficients de détermination obtenus sont élevés (98,52% et 97,47%) ce qui indique une réponse satisfaisante par rapport à l'ajustement des données du modèle de régression quadratique. Les résultats obtenus montrent que les 5 effets (A, B, AA, BB, AB) ayant une valeur-p plus petite que 0,05 indiquant ainsi que l'effet est significatif pour un intervalle de confiance de 95% (Annexe 3). Le modèle polynomial qui prédit la réponse taux des polyphénols est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 152568 - 14590 A - 936,4 B + 378,1 A*A + 5,419 B*B + 26,45 A*B$$

Le diagramme de *Pareto* montre que le taux des polyphénols dépend principalement des termes quadratiques du temps de cuisson et du temps d'ultrasonication suivi par l'interaction des deux facteurs, l'effet du temps de cuisson et l'effet du temps d'ultrasonication (figure 45).



A : temps de cuisson,
 B : temps d'ultrasonication,
 AA : carré du temps de cuisson,
 BB : carré du temps d'ultrasonication,
 AB : interaction entre le temps de cuisson et le temps d'ultrasonication

Figure 45. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés (p=0,05) des conditions d'extraction des polyphénols et de cuisson à l'eau de l'oignon

La surface de réponse matérialise l'équation de régression à partir d'un graphique dans un espace à trois dimensions. Le plan horizontal de la figure 46 matérialise le domaine de variation de 2 facteurs (temps de cuisson et temps d'ultrasonication), l'axe vertical représente la variation de la réponse à partir du modèle. Les courbes iso-réponses, constituent une projection de la surface de réponse dans le plan horizontal.

A la lecture de la figure 46, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (15- 15,73min) et temps d'ultrasonication (30-35min).

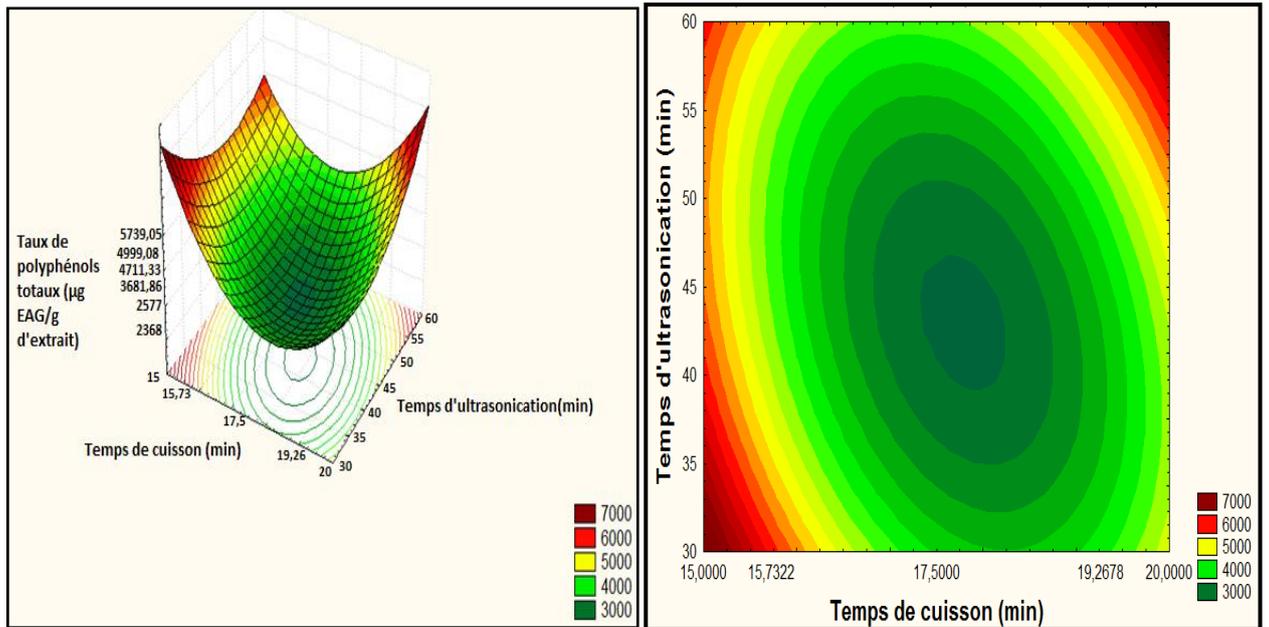


Figure 46. Surface de réponse du taux de polyphénols en fonction du temps d’ultrasonication et du temps de cuisson à l’eau de l’oignon

Les valeurs des variables optimales ont été identifiées et calculées à une désirabilité de 1 (figure 47).

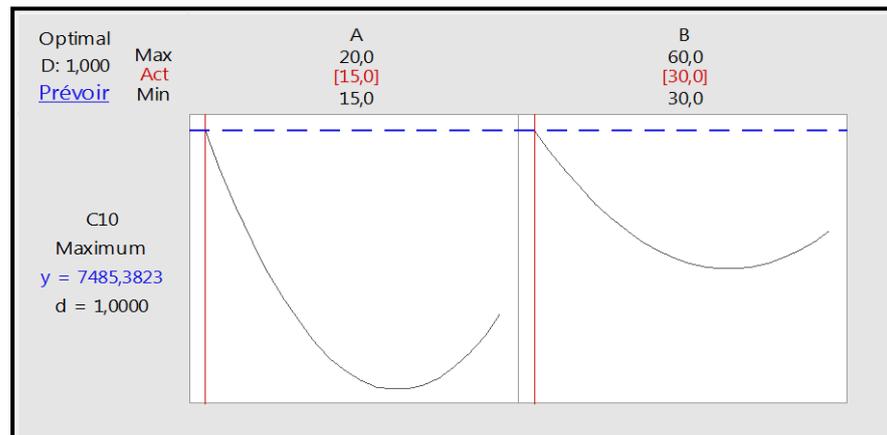


Figure 47. Optimisation des temps d’ultrasonication et de cuisson à l’eau de l’oignon en fonction de la désirabilité 1

Les conditions optimales obtenues sont: temps de cuisson (15 min.) et temps d’ultrasonication (30min). La teneur prédite des taux polyphénols est de 7485,3823µg EAG/g d’extract sec.

2.3.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps d’ultrasonication et de cuisson à l’eau de l’oignon

La valeur optimale obtenue a été vérifiée expérimentalement. Le résultat obtenu est exposé dans le tableau 30.

Tableau 30. Taux des polyphénols prédit et mesuré de l'oignon cuit à l'eau

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(15min, 30min)	7485,3823	7484,96

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

2.4. L'oignon cuit par microonde

2.4.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon

Les résultats des 12 essais des sept facteurs (A : temps de cuisson ; B : puissance ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : temps de macération ; C : temps d'ultrasonication ; G : broyage) de la matrice du plan *Plackett-Burmann* sont exposés dans le tableau 31.

Tableau 31 . Matrice d'essais du plan *Plackett- Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit par microonde

N° d'essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG /g d'extract sec}$)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	$1,117 \times 10^4$
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	$1,012 \times 10^4$
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	$0,815 \times 10^4$
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	$1,175 \times 10^4$
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	$0,601 \times 10^4$
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	$1,111 \times 10^4$
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	$0,702 \times 10^4$
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	$1,134 \times 10^4$
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	$0,687 \times 10^4$
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	$0,625 \times 10^4$
11	1	1	1	-1	1	1	-1	$0,849 \times 10^4$
12	1	1	-1	1	1	-1	1	$1,098 \times 10^4$

A : temps de cuisson ; B : Puissance ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration de solvant ;
E : Temps de macération ; C : temps d'ultrasonication ; G : broyage

Le coefficient de détermination (R^2) du modèle indique que 90,71% de la variabilité de la réponse (taux des polyphénols) peut être expliquée par le modèle. Ce modèle est significatif, ($p = 0,018$). Les deux facteurs (temps de cuisson et temps de macération) ont des effets significatifs sur la réponse "Taux des polyphénols" (Annexe 3). Le facteur temps de cuisson a présenté un effet positif tandis que le temps de macération a un effet négatif sur la réponse (Annexe 3). L'équation de régression, représentant le taux des polyphénols totaux dans l'espace expérimental étudié, est la suivante :

$$\text{Taux en PT} = 9109 + 1312 A - 9 B - 106 C - 735 D - 1101 E + 717 F + 132 G$$

Le diagramme de *Pareto* (figure 48) montre que le taux des polyphénols dépend principalement du temps de cuisson suivi par le temps de macération.

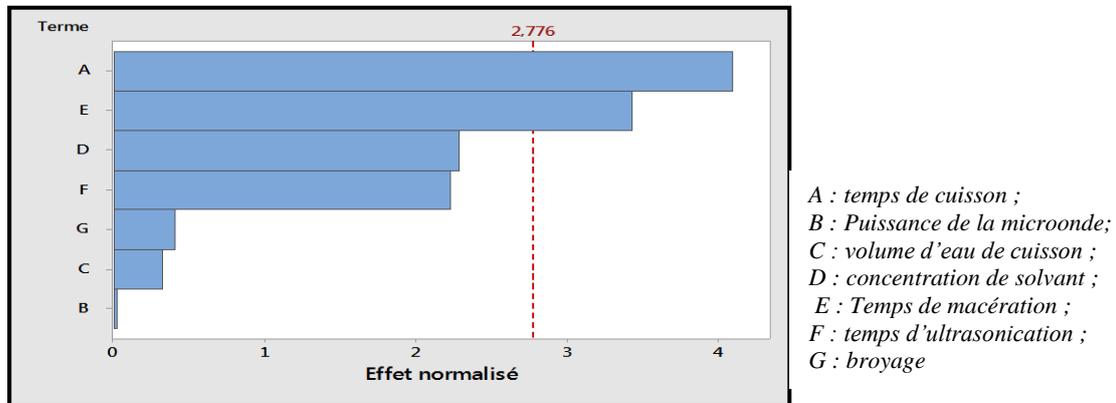


Figure 48. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux et de la cuisson par microonde de l'oignon

2.4.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols totaux de l'oignon

Les résultats des 13 essais sont récapitulés dans le tableau 32.

Tableau 32. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'oignon cuit par microonde

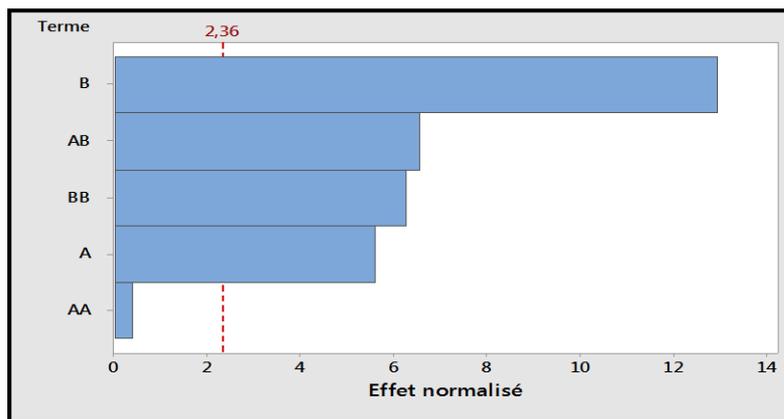
N° d'essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur température de macération (B)	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
1	0	0	$1,106 \times 10^4$
2	-1	1	$0,903 \times 10^4$
3	-1	-1	$0,837 \times 10^4$
4	0	0	$1,011 \times 10^4$
5	1	-1	$0,921 \times 10^4$
6	1	1	$1,180 \times 10^4$
7	0	0	$0,876 \times 10^4$
8	-1,414	0	$0,905 \times 10^4$
9	0	0	$1,016 \times 10^4$
10	1,414	0	$0,905 \times 10^4$
11	0	-1,414	$0,752 \times 10^4$
12	0	0	$1,158 \times 10^4$
13	0	1,414	$0,911 \times 10^4$

Le coefficient de détermination (R^2) du modèle est 97,58%. Il indique que 97,58% de la variabilité de la réponse (taux des polyphénols) peut être expliquée par le modèle prédit. Les effets linéaires du temps de cuisson et du temps de macération (A, B) et l'effet quadratique du temps de macération (BB) et l'interaction des deux facteurs (AB) sont hautement significatifs. Ces effets ont un impact important sur la réponse du modèle, tandis que l'effet quadratique du

facteur temps de cuisson (AA) ne présente aucune différence significative (Annexe 3). Le modèle polynomial qui prédit la réponse « taux des polyphénols » est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 8820 + 138 A + 5,31 B + 17,9 A*A + 0,002283 B*B - 1,088 A*B$$

Le diagramme de *Pareto* montre que le taux des polyphénols dépend principalement du temps de macération suivi par l'interaction des deux facteurs, le terme quadratique du temps de macération et le temps de cuisson (figure 49).



A : temps de cuisson ;
 B : temps de macération,
 AA : carré du temps de cuisson,
 BB : carré du temps de macération,
 AB : interaction entre le temps de cuisson et le temps de macération

Figure 49. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson par microonde de l'oignon

La surface de réponse et les courbes d'iso-réponse sont présentées dans la figure 50.

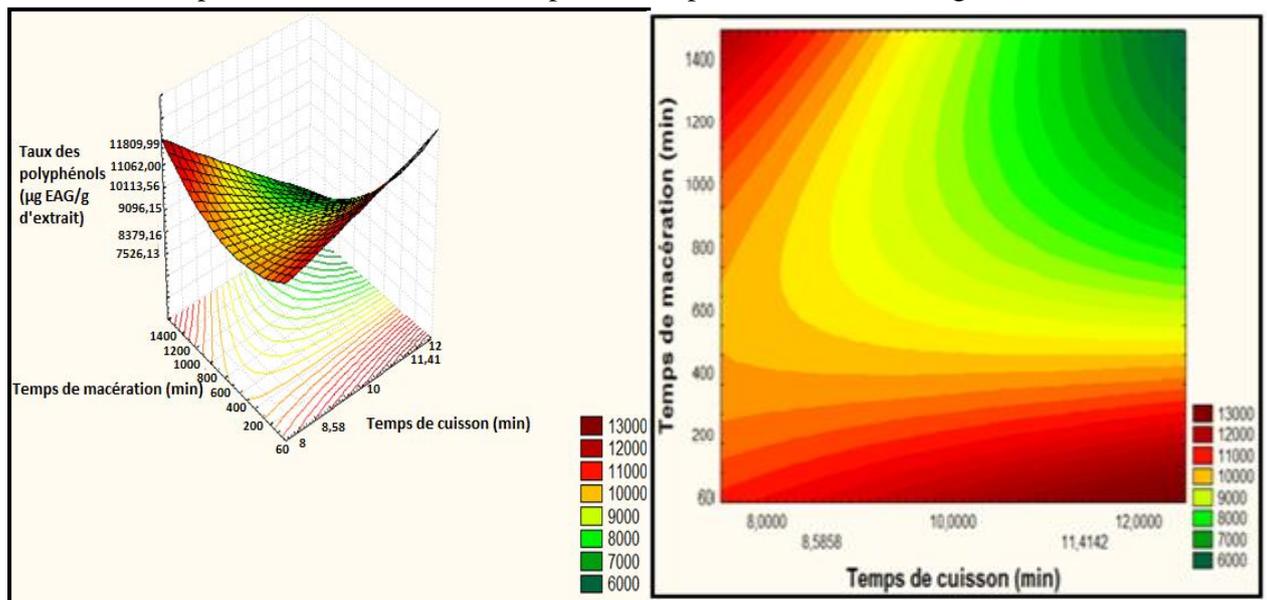


Figure 50. Surface de réponse du taux de polyphénols en fonction des temps de macération et de cuisson par microonde de l'oignon

Les résultats illustrés dans la figure 50 montrent que les valeurs optimales des taux des polyphénols totaux se localisent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson : (11,41-12min) et temps de macération (60-101min).

Les valeurs optimales des facteurs ont été calculées à une désirabilité de 1 (figure 51).

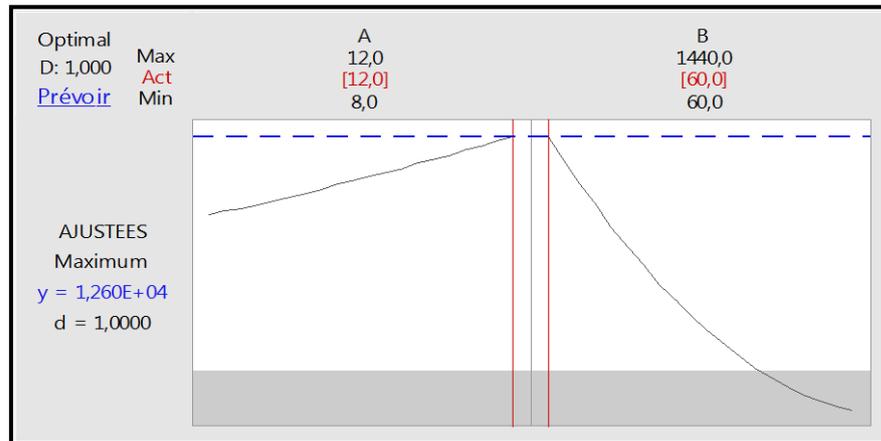


Figure 51. Optimisation des temps de macération et de cuisson par microonde de l'oignon en fonction de la désirabilité

Les conditions optimales obtenues sont comme suit: temps de cuisson (12 min.) et temps de macération (60min.). La teneur prédite des taux polyphénols est de $1,260 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract}$.

2.4.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps de macération et de cuisson par microonde de l'oignon

La valeur optimale obtenue a été vérifiée expérimentalement (tableau 33).

Tableau 33. Taux de polyphénols prédit et mesuré (oignon cuit par microonde)

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(12min, 60min)	$1,260 \times 10^4$	$1,2602 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

2.5. Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux de l'oignon

L'effet des trois modes de cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes est illustré dans la figure 52. L'oignon semble être riche en composés phénoliques et en flavonoïdes. L'échantillon cru contient un taux de polyphénols de $2,9069 \times 10^4 \mu\text{g EAG /g d'extract sec}$. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Manohar *et al.*(2017) qui ont

trouvé que les teneurs en polyphénols totaux des variétés d'Ontario varient entre 1,27 et 1,95 mg EAG / g d'extrait sec.

Dans autres études, Rodríguez Galdón *et al.* (2008) ont signalé que les teneurs en polyphénols totaux de six variétés d'oignon varient entre 25,2 et 75,9 mg EAG / 100 g du poids frais. Lu *et al.* (2011) ont observé que la teneur totale en polyphénol des variétés d'oignon fluctuent entre 142 et 428 mgEAG / 100 g du poids frais. Une étude rapportée par Seddiq *et al.* (2013) a montré que la teneur en polyphénols totaux de l'oignon cru est de 44,92 mg EAG/ 100g du poids frais.

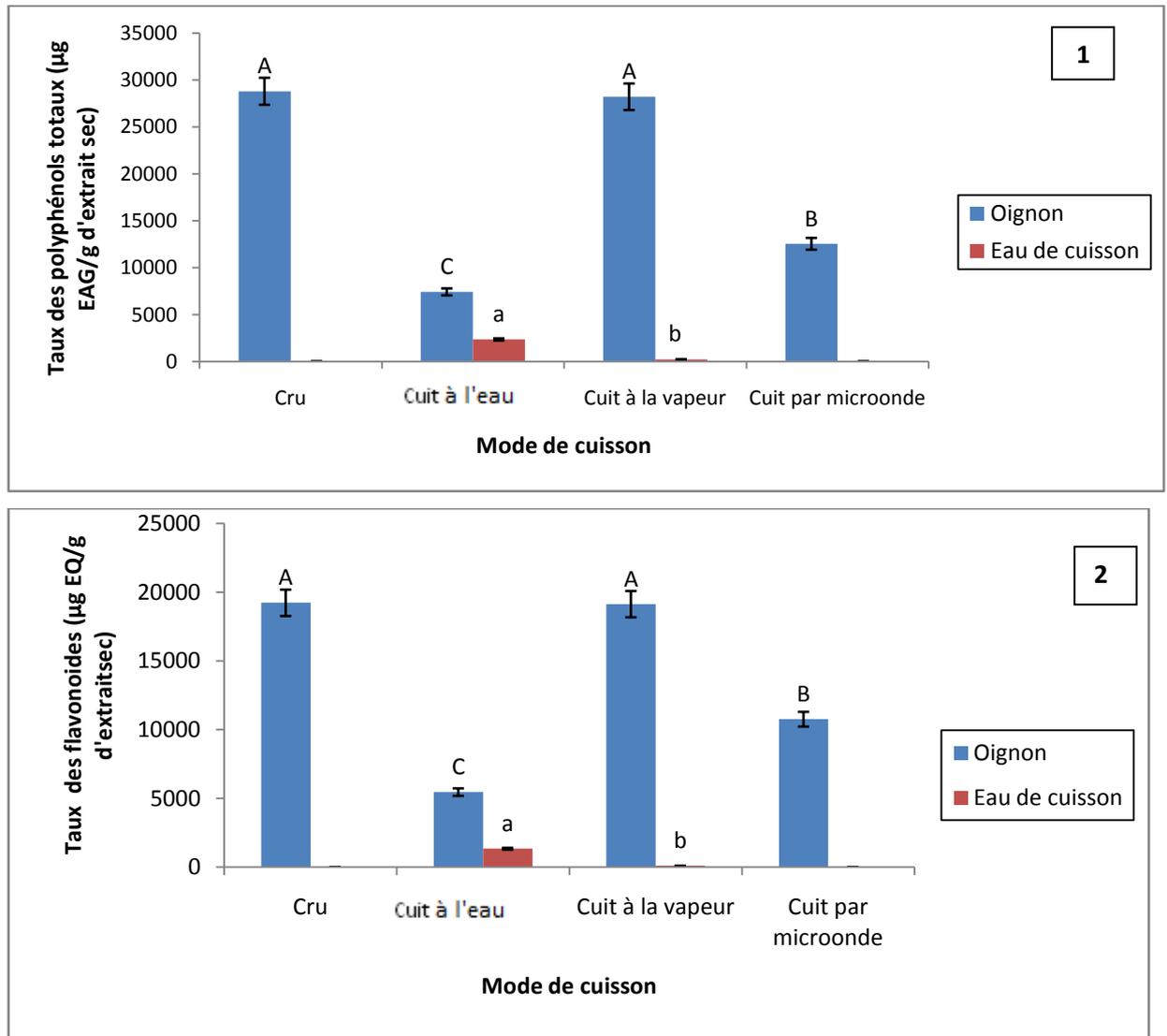


Figure 52. Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de l'oignon (1 : Polyphénols totaux, 2 : Flavonoïdes)

Concernant le taux de flavonoïdes de l'oignon cru, il est de 19234 µg EQ/g d'extrait sec (soit 19,234 mg EQ/ g d'extrait sec) (figure 52). Cette teneur est relativement proche de celle obtenue par Lee *et al.* (2014) qui ont signalé que la teneur en flavonoïdes totaux varie entre $19,5 \pm 10,43$ et $27,1 \pm 2,05$ (mg EQ/ g d'extrait sec). Par contre, des taux inférieurs ont été trouvés par Manohar *et*

al.(2017) qui ont rapporté que les teneurs en flavonoïdes varient entre 0,12 et 0,33 mg EQ/g d'extrait sec .

Cependant, une étude rapportée par Rhodes et Price (1997) indique que les teneurs en flavonoïdes sont de 91,8 ; 71,1 et 80,3 mg EQ / 100 g du poids frais pour les oignons rouges, roses et marrons respectivement. Rodríguez Galdón *et al.* (2008) ont signalé que la teneur en flavonoïdes des variétés d'oignons espagnoles varient entre 7 et 9 mg EQ/ 100 g du poids frais. Majid *et al.* (2016) ont étudié cinq variétés d'oignons indiens, ils ont observé que la teneur en flavonoïdes varient de 10,0 à 13,2 mg EQ / 100 g du poids frais.

La différence du contenu phénolique et des flavonoïdes totaux peut être due aux différences génétiques et aux conditions de croissance (climat, maturité, saison de récolte, etc.). C'est communément connu que les facteurs génétiques et environnementaux jouent un rôle essentiel dans la variation de la composition phénolique (Manohar *et al.*, 2017) .

L'étude de l'effet de la cuisson sur la teneur en polyphénols totaux et des flavonoïdes montre que les deux modes de cuisson (dans l'eau et par microonde) provoquent une diminution de ces composés. La perte des polyphénols pendant la cuisson et leur présence dans l'eau chaude est causée principalement par le lessivage ou la diffusion (Mukherjee *et al.*, 2007). Les eaux de cuisson contiennent de faibles quantités en polyphénols. L'eau issue de la cuisson par ébullition contient un taux plus élevée en polyphénols que l'eau issue de la cuisson à la vapeur. La diminution de la teneur des polyphénols totaux par les deux procédés de cuisson (par ébullition et par microonde) est peut être due à la destruction thermique des composés phénoliques par la chaleur (Siddiq *et al.*, 2013 ; Sharma *et al.*, 2014).

En effet, la cuisson peut entraîner des changements structuraux dans les tissus végétaux tels que la rupture des membranes cellulaires, le relâchement des réseaux de l'hemi-cellulose, de la cellulose et de la pectine, et l'augmentation de la porosité de la paroi cellulaire. Ceux-ci peuvent améliorer l'extraction et la solubilisation des composés bioactifs (Xiao *et al.*, 2016). Habituellement les polyphénols sont stockés dans les légumes dans des réseaux de pectine ou de cellulose et peuvent être libérés pendant le traitement thermique. Ils peuvent augmenter parfois parce que la chaleur peut détruire les structures supramoléculaires, libérant les parties glucosidiques du sucre phénolique, qui réagissent mieux avec le réactif Folin-Ciocalteau (Bunea *et al.*, 2008).

La diminution de la teneur en polyphénols lors de la cuisson par microonde peut être engendrée par la rupture des liaisons hydrogènes faibles par la rotation dipolaire des molécules (Kratchanova *et al.*, 2004 ; Yeoh *et al.*, 2008) . Ce traitement accélère la rupture des cellules en provoquant une augmentation rapide de la température et de la pression interne dans les parois des cellules

végétales ce qui peut entraîner une destruction thermique des polyphénols (Inoue *et al.*, 2010; Jawad et Langrish, 2012).

L'analyse de la variance a montré l'inexistence d'une différence significative ($p > 0,05$) entre la teneur en polyphénols des oignons crus et cuits à la vapeur. La cuisson à la vapeur n'a pas affecté le contenu en composés phénoliques malgré leur présence dans l'eau de cuisson. Ce résultat peut s'expliquer par une dégradation, avec en parallèle l'augmentation des composés phénoliques produits lors de la réaction, ou bien par leur libération dans le milieu. Gliszczynska-Swiglo *et al.* (2008) ont constaté que la vapeur augmente la teneur totale en polyphénols de 52% par rapport aux échantillons crus. La dégradation des polyphénols d'oignon n'est pas seulement due à leur sensibilité et aux grandeurs du chauffage, mais cela pourrait dépendre également d'autres paramètres tels que le pH, la présence de l'oxygène et des ions dans le milieu tels que les ions ferreux (Bernaert *et al.*, 2013). Les résultats de Roy *et al.* (2007) ont montré que l'oignon a perdu environ 7% de son contenu total des polyphénols, respectivement, lorsque les extraits bruts ont été soumis à un traitement thermique (100 ° C, 60 min). De même, Turkmen *et al.* (2005) ont remarqué une diminution de 36% de la teneur en polyphénols après cuisson de l'oignon à l'eau bouillante pendant 5 min, alors que la cuisson à la vapeur (7,5 min) provoque la perte de 15% de sa teneur initiale en polyphénols.

2.6. Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) des extraits de l'oignon

Les résultats de l'analyse LC-MS/MS sont présentés dans la figure 53 et le tableau 34.

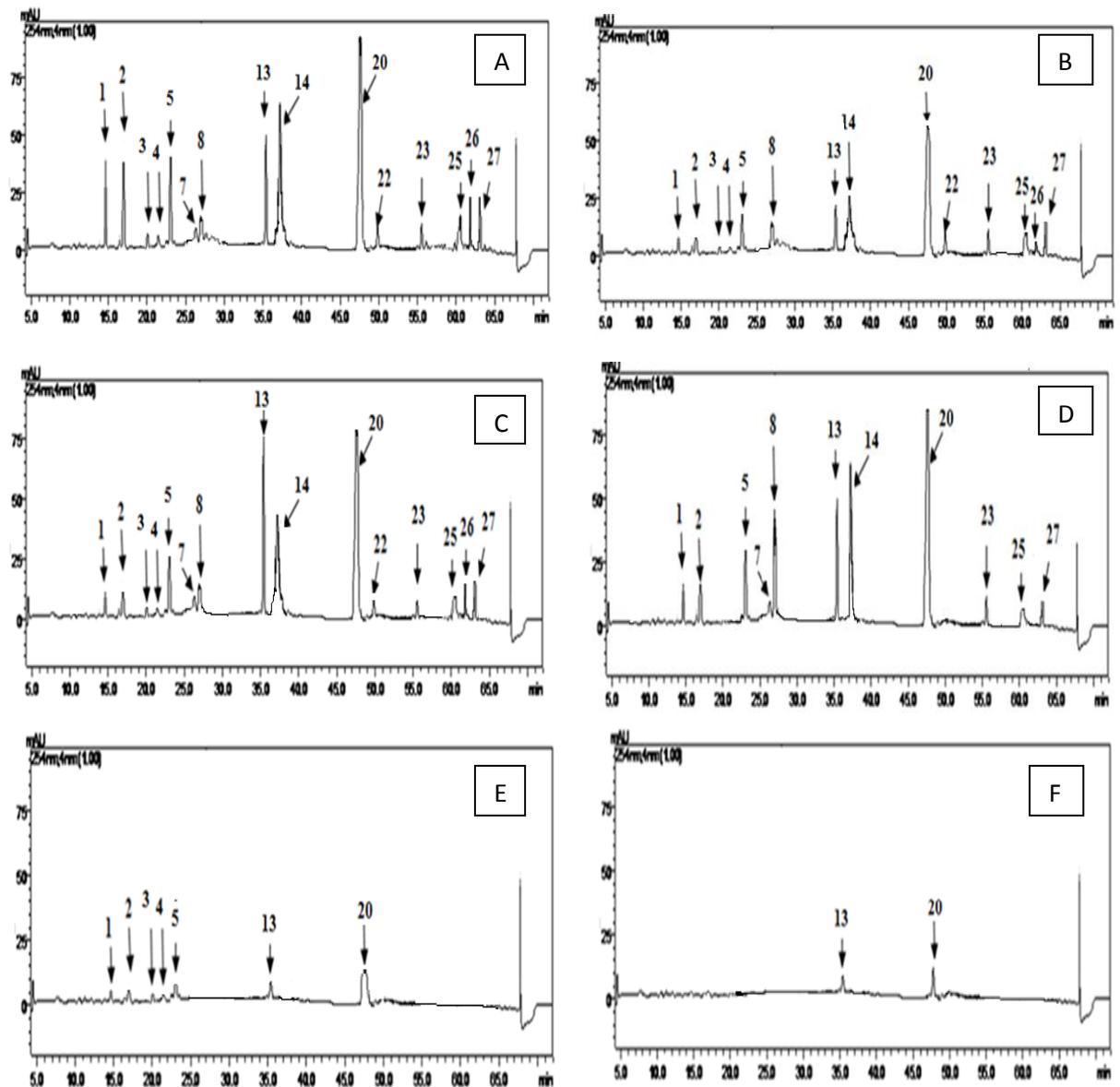


Figure 53. Analyse LC-MS/MS des extraits de l'oignon

A : oignon cru, B : Cuit à l'eau, C : cuit par vapeur, D : cuit par microonde, E : eau de cuisson (ébullition), F : eau de cuisson(vapeur) :

1 : acide quinique, 2: acide malique, 3: acide ferrulique, 4: acide gallique, 5: acide chlorogénique, 6: acide protocatechuique, 7: acide tannique, 8: acide caféique, 9: vanilline, 10: p-acide coumarique, 11: Acide rosmarinique 12: Hesperidine, 13: Rutine, 14: Hyperoside, 15: 4-OH Acide benzoïque, 16: Acide salicylique, 17: Myricétine, 18: Coumarine 19 Kaempferol , 20: Quercétine, 21: Hesperetine, 22: Naringénine , 23: Luteoline, 24: Fisetine, 25: Apigenine, 26: Rhamnetine, 27: Chrysrine

Tableau 34. Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits de l'oignon par LC-MS/MS

N°	Composé	Ion parent (m/z)	MS2 (énergie de collision)	Quantification (µg analyte / g d'extrait)					
				CR	CE	CV	CM	ECE	ECV
1	Acide quinique	190,95	85 (22), 93 (22)	632,89	86,78	87,08	397,06	20,78	ND
2	Acide mallique	133,05	115 (14), 71 (17)	1911,2	96,09	95,98	539,76	32,08	ND
3	Acide Ferrulique	172,85	85 (12), 129 (9)	505,23	97,06	96,45	ND	19,87	ND
4	Acide gallique	169,05	125 (14), 79 (25)	102,55	81,98	82,78	ND	25,25	ND
5	Acide chlorogénique	353	191 (17)	3513,08	909,98	1497,27	1798,78	85,23	ND
6	Acide protocatéchique	152,95	109 (16), 108 (26)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	Acide tannique	182,95	124 (22), 78 (34)	108,33	ND	107,98	106,00	ND	ND
8	Acide caféique	178,95	135 (15), 134 (24), 89 (31)	107,99	107,08	107,11	3700,76	ND	ND
9	Vanilline	151,05	136 (17), 92 (21)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	Acidep- coumarique	162,95	119 (15), 93 (31)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	Acide rosmarinique	358,9	161 (17), 133 (42)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
12	Hespéridine	611,1	303,465	ND	ND	ND	ND	ND	ND
13	Rutine	609,1	300 (37), 271 (51), 301 (38)	6723,24	3456,23	10000,7	7894	86,98	44,87
14	Hyperoside	463,1	300,301	9993,57	4783,98	6799,09	10098,76	ND	ND
15	4-OH acide benzoïque	136,95	93,65	ND	ND	ND	ND	ND	ND
16	Acide salicylique	136,95	93,65,75	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	Myricétine	317	179,151,137	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18	Coumarine	146,95	103,91,77	ND	ND	ND	ND	ND	ND
19	Kaempférol	264,95	217,133,151	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20	Quercétine	300,9	179,151,121	12100,56	7800,09	7892,98	11000,7	103,87	86,17
21	Hespéretine	300,95	164,136,108	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	Naringinine	270,95	151,119,107	203,55	202,99	202,78	ND	ND	ND
23	Lutéoléine	284,95	175,151,133	89,89	88,76	89,07	ND	ND	ND
24	Fisétine	284,95	135,121	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	Apigénine	268,95	151,117	605,22	590,96	595,78	587,78	ND	ND
26	Rhamnétine	314,95	165,121,300	703,55	701,09	702,08	702,87	ND	ND
27	Chryisine	253	143,119,107	701,55	87,98	88,02	700,09	ND	ND

ND : non déterminé; CR : oignon cru; CE : oignon cuit dans l'eau; CV : oignon cuit à la vapeur; CM : oignon cuit par microonde; ECE : eau de cuisson par ébullition; ECV : eau de cuisson par vapeur

L'analyse LC-MS/MS a permis l'identification de 15 composés phénoliques. Les composés majeurs trouvés sont: la quercétine, l'hyperoside(3-O- galactoside quercétine), la rutine et l'acide chlorogénique . Pour la cuisson à l'eau, la teneur de tous les polyphénols identifiés a été réduite avec une disparition totale de l'acide tannique. L'analyse de l'eau de cuisson a montré la présence de faibles quantités d'acide quinique, d'acide malique, d'acide gallique, d'acide ferrulique , d'acide chlorogénique, de la rutine et de la quercétine.

En effet, la perte des polyphénols peut s'expliquer par deux phénomènes : la lixiviation de ces composés dans l'eau de cuisson (Xu *et al.*, 2008 ; Bernaert *et al.*, 2013) et la dégradation thermique (Rothwell *et al.* 2015).

Concernant la cuisson à la vapeur, les résultats obtenus montrent l'augmentation de la teneur en rutine et une diminution des teneurs de tous les autres composés phénoliques identifiés. De faibles quantités de rutine et de quercétine ont été observées dans l'eau de cuisson. Quant à la cuisson par microonde, elle a provoqué la disparition totale de l'acide ferrulique et l'acide gallique et l'augmentation de la teneur de l'hyperoside.

Ces deux traitements ont augmenté l'extraction des flavonoïdes de la matrice. Ce qui entraînerait un contenu élevé de ces molécules après cuisson à la vapeur et par microonde (Bernaert *et al.*, 2013 ; Rothwell *et al.* 2015).

Le degré de modification des produits phytochimiques au cours du traitement thermique semble dépendre de la sensibilité de ces composés à la dégradation, au mode et au temps de cuisson. Des études, menées sur l'effet du traitement thermique sur les flavonoïdes, montrent une différence de leur sensibilité à la dégradation selon leur structure. La quercétine 3-O-rutinoside (rutine) montre une stabilité plus élevée par rapport à sa forme aglycone (quercétine). La dégradation dépend de la fonction 3-hydroxy au cycle C du flavonoïde dans le cas de la rutine, cette position est bloquée par un fragment de sucre. La dégradation de la rutine diffère donc de celle de la quercétine où cette position est inoccupée (Bernaert *et al.*, 2013) . De même, certaines études ont montré que les acides phénoliques sont sensibles aux traitements thermiques et cela peut expliquer les pertes de ces composés après cuisson (Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

En effet, indépendamment de leur structure, une dégradation est observée pour les températures élevées. Les pertes ou gains de polyphénols peuvent varier avec le mode de cuisson (Ewald *et al.*, 1999 ; Lee *et al.*, 2008). Selon nos résultats, nous pouvons conclure que la cuisson par vapeur est une meilleure méthode pour maintenir les polyphénols.

Rodríguez *et al.*(2009) ont prouvé que la cuisson modérée de l'oignon par microonde n'affecte pas la teneur en flavonol, cependant une cuisson intense par microonde cause des pertes de 18% de flavonol et 16% de (quercétine3,4'glucoside etquercétine4'glucoside). En effet, la cuisson

d'oignon à l'eau bouillante pour une durée de 30 minutes, provoque une perte de 37% de quercétine, ce pourcentage est préservé en fin de compte dans l'eau de cuisson. Une cuisson dans l'eau qui dure 60 minutes dégrade 53% de quercétine. Les pertes en anthocyanes provoquées par la cuisson en microonde sont relativement faibles en comparaison avec celles obtenues par la cuisson à l'eau bouillante.

Kevin *et al.*, (2005) ont montré que la cuisson à l'eau cause des pertes à 18% de quercétine.

Lee *et al.* (2008) qui ont comparé différents processus thermiques. Ils ont signalé les pertes en flavonoïdes ont été de 21% pour l'ébullition, 4% pour la cuisson au micro-onde tandis que la cuisson à la vapeur n'a pas affecté le contenu phénolique.

D'autres paramètres comme le pH du milieu ont une influence sur la rétention ou la dégradation la teneur en polyphénols totaux. Buchner *et al.* (2006) ont montré que la dégradation de la rutine et de la quercétine est plus élevée dans des milieux faiblement alcalins et neutres.

Makris et Rossiter (2000) et Buchner *et al.*(2006) ont montré que la présence d'oxygène accélère la dégradation de la quercétine et la rutine. La désintégration est causée par les espèces dites d'oxygène. Ces radicaux (par exemple un radical anion superoxyde, un radical hydroperoxyde et radical hydroxyle) sont souvent formés en solution aqueuse et peuvent être capturés par les flavonols. En revanche, les ions ferreux supplémentaires accélèrent la perte de flavonoïdes et des acides phénoliques..

La dégradation thermique des hétérosides de quercétine aboutit au clivage entre le sucre et la partie aglycone (la quercétine) et augmente ainsi la quantité de quercétine dosée. Le pH du produit (3,4 à 4,0) et la température appliquée (90 °C) pourraient contribuer à l'hydrolyse acide de certains composés phénoliques ce qui engendre leur diminution (Duchene, 2015).

2.7. Activité antioxydante des extraits d'oignon

Les pourcentages d'inhibition des radicaux libres DPPH et ABTS et le pouvoir réducteur de Cu⁺² sont consignés dans la **figure 54**.

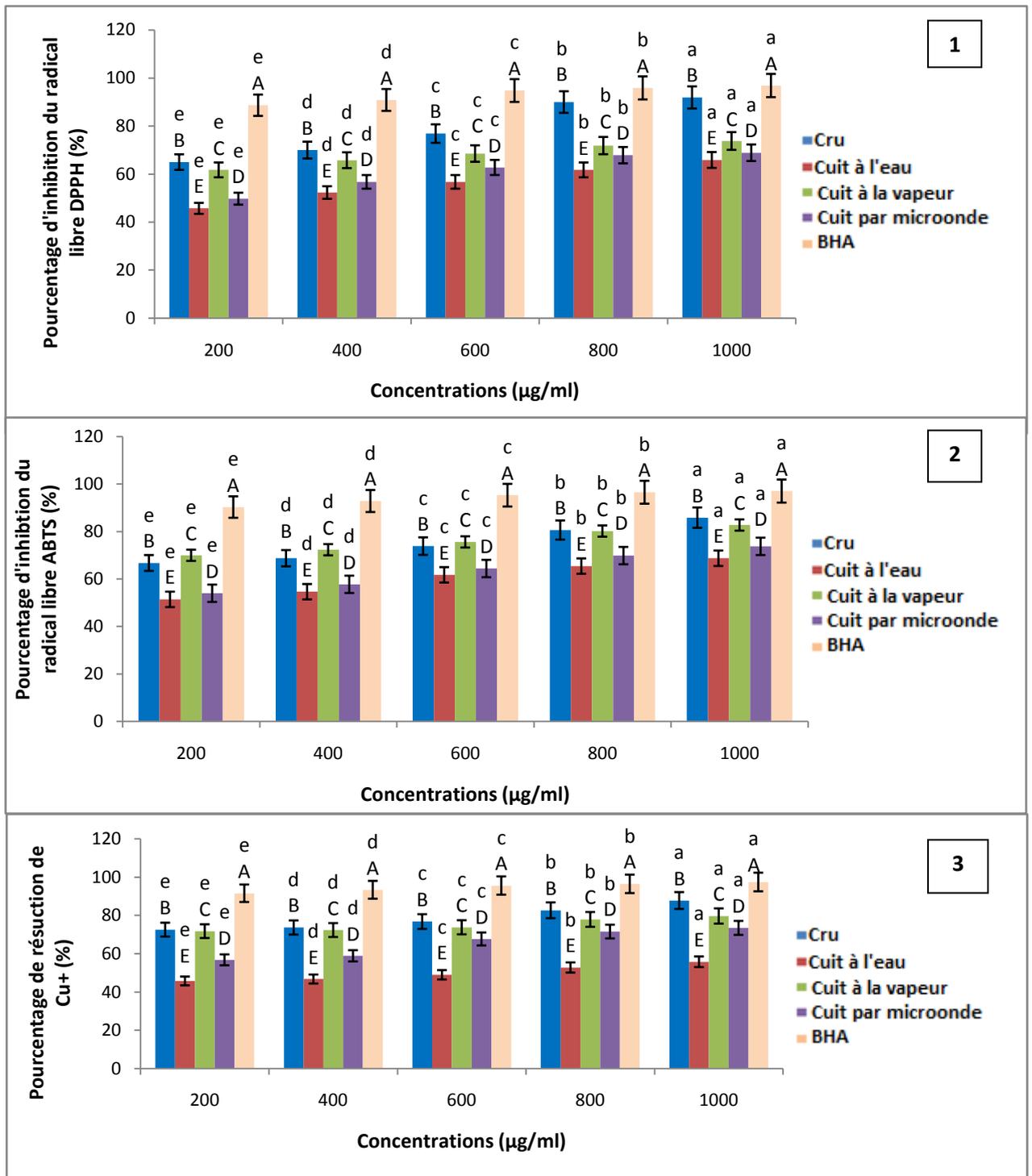


Figure 54. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de l'oignon (1 : Méthode DPPH, 2 : Méthode ABTS, 3 : Méthode CUPRAC)

Pour toutes les méthodes testées (DPPH, ABTS et CUPRAC) une différence significative ($P < 0,05$) entre les différentes activités antioxydantes de l'oignon cru et l'oignon cuit (à la vapeur, à l'eau et par microonde) a été constatée. L'activité antioxydante augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les activités antioxydantes des différentes concentrations.

Les trois méthodes d'évaluation d'activité antioxydante DPPH, ABTS et CUPRAC, ont abouti au même résultat. L'oignon cru a présenté des taux d'inhibition élevés des radicaux libres DPPH (91,91% pour la concentration 1000µg/ml), ABTS (89,32% et une bonne réduction des ions Cu⁺² (92,76%). Ce même constat a été rapporté par plusieurs auteurs (Bouba *et al.*, 2014 ; Harris *et al.*, 2015 ; Sharma *et al.*, 2014).

Cette activité a été réduite par les trois modes de cuisson, la plus haute activité antioxydante a été observée pour les oignons cuits à la vapeur suivis par les oignons cuits par microonde et les oignons cuits dans l'eau. Ces résultats sont confirmés par le calcul du paramètre IC50 (**tableau 35**).

Tableau 35 . Valeurs d'IC50 pour l'activité antioxydante des extraits de l'oignon

	DPPH	ABTS	CUPRAC
Cru	50,45±0,76 ^d	48,55±0,09 ^d	42,56±0,83 ^d
Cuit dans l'eau	235,56±0,34 ^a	191±0,34 ^a	612,67±0,43 ^a
Cuit à la vapeur	56,76±0,12 ^c	49,23±0,38 ^c	43,56±0,14 ^c
Cuit par microonde	202,76±0,43 ^b	180±0,19 ^b	175,87±0,28 ^b
BHA	15,08±0,35 ^e	15,46±0,98 ^e	15,5±0,43 ^e

Pour chaque test, le même exposant signifie l'absence de différence significative

Les résultats de l'analyse de la variance ont montré l'existence d'une différence significative (P<0,05) entre les IC50 des oignons crus et cuits (à l'eau, à la vapeur et par microonde) et cela a été observée pour toutes les méthodes appliquées pour l'évaluation de l'activité antioxydante (DPPH, ABTS et CUPRAC).

Les IC50 des oignons cuits sont supérieures à l'IC50 de l'oignon cru, ce qui indique une diminution de l'activité antioxydante pour les différents modes de cuisson. Le mode de cuisson de l'oignon à l'eau bouillante a montré la plus haute IC50 c'est-à-dire la plus faible activité antioxydante, suivi par la cuisson par microonde et la cuisson à la vapeur. Les IC50 des oignons sont inférieures aux IC50 du témoin (BHA), ce qui signifie que les oignons cuits possèdent des activités antioxydantes inférieures à celle de l'antioxydant de référence (BHA).

Ces variations dépendent du légume lui même (en tant que structure bioactive), la méthode de cuisson, la biodisponibilité des polyphénols (Sultana *et al.*, 2007), la température, la localisation des polyphénols dans le légume, la coupe et le hachage (Makris et Rossiter 2001), la stabilité des antioxydants (Pedraza-Chaverri *et al.*, 2006) et l'activité synergique des structures ayant les propriétés antioxydantes (Yamaguchi *et al.*, 2001).

Un test de corrélation a été effectué pour vérifier la corrélation entre la variation du taux des polyphénols et l'activité antioxydante de l'oignon. Les valeurs des coefficients de Pearson (r)et les valeurs de p sont consignées dans le **tableau 36**.

Tableau 36. Corrélations entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols totaux des extraits de l'oignon

	DPPH		ABTS		CUPRAC	
	r	P	r	p	r	p
Cuit à l'eau	0,996	0,000	0,974	0,006	0,996	0,000
Cuit à la vapeur	0,994	0,001	0,894	0,041	0,979	0,004
Cuit par microonde	0,974	0,001	0,979	0,005	0,994	0,001

r : Coefficient de Pearson, *P* : probabilité

Une forte corrélation positive a été observée entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante évaluée par les trois tests (DPPH, ABTS et CUPRAC). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Ren *et al.* (2016) qui ont rapporté que l'activité antioxydante de l'oignon est fortement corrélée à la teneur en polyphénols totaux. Santos *et al.* (2008) ont montré une corrélation positive entre les polyphénols et l'activité antioxydante de deux variétés d'oignons cultivés. Certains auteurs suggèrent que les composés phénoliques peuvent contribuer à l'activité antioxydante des échantillons. Certaines études ont montré que l'activité antioxydante a été liée en partie à la présence de constituants phénoliques en raison de leurs capacités à éliminer les radicaux libres (Ravichandran *et al.*, 2012). La cuisson conduit à des modifications de la quantité de polyphénols, mais elle peut également modifier la structure des polyphénols, ce qui pourrait affecter la capacité antioxydante (Makris et Rossiter, 2001). La plus faible activité antioxydante a été obtenue dans le cas de l'ébullition de l'oignon et cela est dû au phénomène de lixiviation qui entraîne une perte des composés phénoliques totaux (Bunea *et al.*, 2008).

La concentration des acides phénoliques est plus élevée dans les couches externes de certains légumes (Turkmen *et al.*, 2005) et ceux-ci sont extrêmement exposés à l'eau (Andlauer *et al.*, 2003) réduisant ainsi leur pouvoir antioxydant (Sultana *et al.*, 2007). Jastrzebski *et al.* (2007) ont signalé une diminution significative du taux d'inhibition de DPPH après la cuisson de l'oignon à l'eau. Les résultats obtenus montrent que les oignons cuits à la vapeur ou par micro-onde étaient généralement plus élevés que ceux qui sont cuits à l'eau bouillante, car ces deux modes de cuisson ne stimulent pas la libération des polyphénols ou d'autres antioxydants provenant de tissus cuits (Yamaguchi *et al.*, 2001 ; Pedraza-Chaverri *et al.*, 2006). Faller et Fialho (2009) ont montré que la cuisson à l'eau, par vapeur ou par microonde diminuent l'activité antioxydante. Cette activité est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques. Cependant, Nencini *et al.* (2007) ont montré une faible corrélation entre le contenu phénolique et la capacité antioxydante. En effet, des composés autres que les polyphénols de la réaction de Maillard, pourraient également être responsables de la capacité antioxydante (Makris, et Rossiter., 2001). L'activité antioxydante peut également être due à la

teneur en acide ascorbique, un antioxydant qui se décompose pendant le traitement thermique (Bernaert *et al.*, 2013).

2.8. Activité anticholinestérase des extraits de l'oignon

L'effet des méthodes de cuisson (à l'eau, par microonde et à la vapeur) sur l'activité antiacetylcholinestérase et anti butyrylcholinestérase des extraits de l'oignon est exposé dans la figure 55.

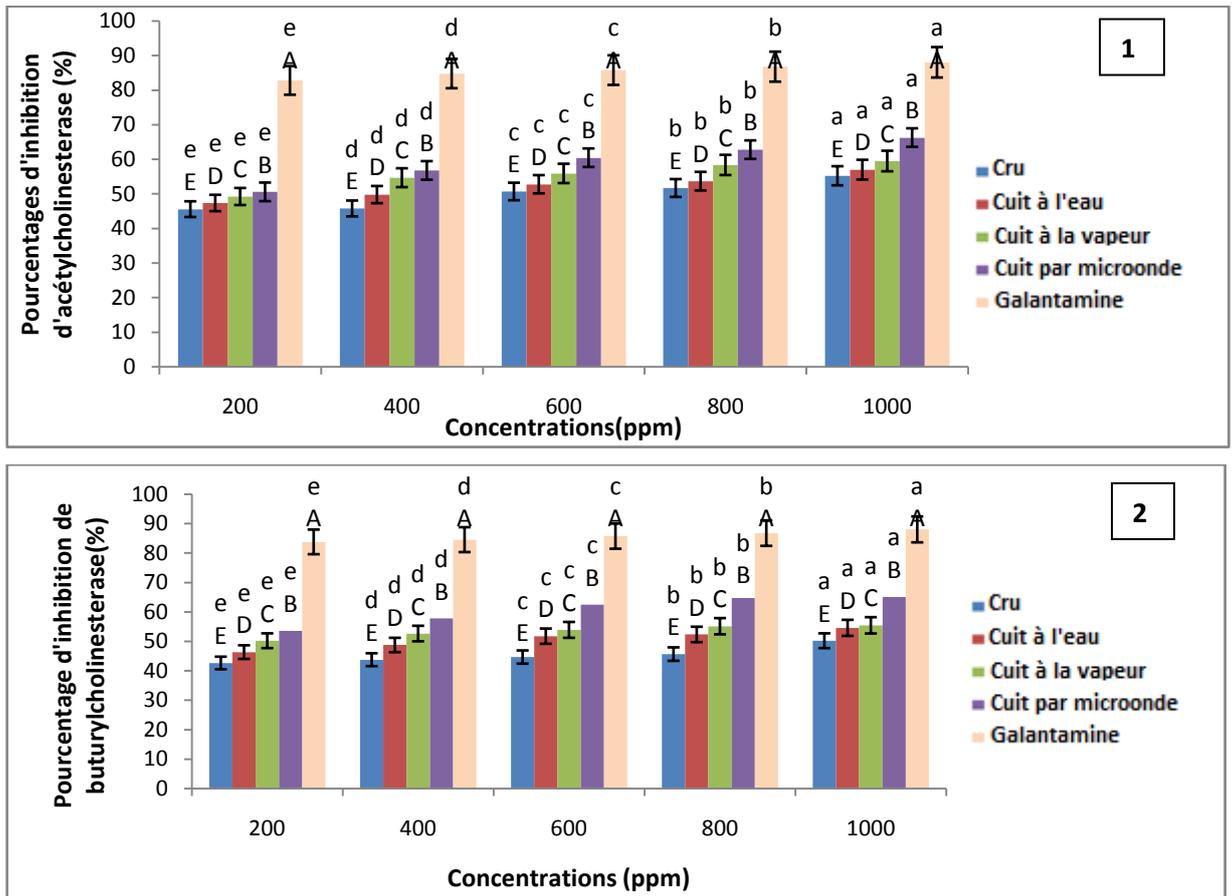


Figure 55 . Evaluation de l'activité anticholinestérase des extraits de l'oignon (1 : Activité antiacetylcholinestérase, 2 : Activité antibutyrylcholinestérase)

L'oignon cru a montré une activité modérée qui a augmenté après cuisson. Le plus haut niveau d'activité est observé après cuisson par microonde.

Les IC50 des extraits d'oignon et de la galantamine ont été évalués. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 37.

Tableau 37. Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase des extraits de l'oignon

	Activité antiacétylcholinestérase	Activité antibutyrylcholinestérase
Cru	602,01±0,56 ^a	987±0,09 ^a
Cuit à l'eau	588,76±0,34 ^b	586±0,76 ^b
Cuit à la vapeur	204,67±0,65 ^c	198,78±0,13 ^c
Cuit par microonde	195,89±0,78 ^d	140,87±0,17 ^d
Galantamine	34,23±0,21 ^e	36,56±0,08 ^e

Pour chaque test, le même exposant signifie l'absence de différence significative

D'après les valeurs obtenues, il existe une différence significative ($p < 0.05$) entre les activités antiacétylcholinestérase et antibutyrylcholinestérase des extraits d'oignon cru et cuit (à l'eau, à la vapeur, et par microonde);

De même, l'extrait d'oignon cru a présenté la plus haute valeur d'IC50 ce qui signifie la plus faible activité anticholinestérase. Selon les valeurs d'IC50 obtenus, la classification des échantillons cuits selon leur capacité à inhiber les deux enzymes (acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase) classe la cuisson par microonde en première position puis vient la cuisson à la vapeur et en dernière position la cuisson à l'eau. L'IC50 obtenue pour la galantamine utilisée comme molécule de référence est bien plus inférieure à ceux de l'extrait, donc la galantamine possède une meilleure activité inhibitrice de l'AChE et l'BChE.

L'extrait d'oignon contient des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase. Ces deux enzymes sont impliquées dans la fin des impulsions dans les synapses cholinergiques où l'acétylcholinestérase (AChE) joue un rôle important dans le maintien de la transmission normale des impulsions neuronales dans les synapses. Sur la base d'études récentes, il a été montré qu'une légère diminution des concentrations d'acétylcholine dans les synapses s'associe au développement de la démence d'Alzheimer. Par conséquent, établir les niveaux d'acétylcholine par inhibition de l'activité d'AChE semble être une approche efficace dans le traitement de déficit cognitif et de la maladie d'Alzheimer (Xie *et al.*, 2014).

Les coefficients de Pearson(r) et la valeur de probabilité p sont mentionnés dans le tableau 38.

Tableau 38. Corrélations entre les polyphénols totaux et l'activité anticholinestérase des extraits de l'oignon

	Activité anti acétylcholinestérase		Activité anti butyrylcholinestérase	
	r	P	r	p
Cuit à l'eau	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001
Cuit à la vapeur	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001
Cuit par microonde	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001

r : Coefficient de Pearson ; P : probabilité

Le taux des polyphénols est fortement et négativement corrélé à l'activité anticholinestérase ($r = -1$, $p < 0,0001$). Cette corrélation indique qu'une diminution de la teneur en polyphénols totaux s'accompagne d'une augmentation de l'activité antioxydante. Cela est dû à l'effet de la cuisson sur les polyphénols tributaires de cette activité.

Dans cette étude, on remarque une diminution des polyphénols totaux tandis que les teneurs de certains flavonoïdes ont augmenté après cuisson.

Les flavonoïdes ont été identifiés comme inhibiteurs puissants de l'acétylcholinestérase (AChE). L'extrait d'oignon est très riche en quercétine et en rutine qui sont considérées comme des flavo-neuroprotectants (Bakhtiari *et al.*, 2017). Dans une étude de dépistage sur les composés efficaces contre la maladie Alzheimer, la quercétine, la 3-méthoxy quercétine, la quercétine et la tiliroside ont été identifiés comme étant des inhibiteurs puissants de l'acétylcholinestérase (Khan *et al.*, 2009). Malgré de nombreuses études *in vitro*, les études *in vivo* qui ont étudié l'amélioration des effets cognitifs dus à l'activité inhibitrice d'AChE sont limitées (Bakhtiari *et al.*, 2017). Par exemple, la luteoline a montré une forte activité anticholinestérase *in vitro* et également une augmentation des taux d'acétylcholine dans le cortex cérébral *in vivo* (Jung *et al.*, 2007). Des fortes activités anticholinestérases ont été obtenues pour la rutine, l'apéginine et la naringine (Bakhtiari *et al.*, 2017). La quercétine qui est le composé majeur de l'oignon améliore la capacité cognitive et exhibe la neuroprotection contre la neurotoxicité induite par la triméthylamine par l'inhibition de l'AChE (Choi *et al.*, 2012). Khan *et al.* (2009) ont indiqué que cette inhibition par la quercétine est attribuée à la formation des interactions hydrophobes et des fortes liaisons hydrogènes avec les deux enzymes. La cuisson provoque une augmentation de l'activité anticholinestérase malgré la diminution de la teneur en polyphénols totaux après cuisson. Cela est susceptible de provenir des interactions formées entre les polyphénols après cuisson. Szwajgier (2015) a rapporté que les interactions et l'action synergique des polyphénols diminuent l'efficacité de ces composés, d'autre part l'augmentation de l'activité anticholinestérase dans le cas de la cuisson à la vapeur et par microonde est peut être due à l'augmentation de certains flavonoïdes comme la rutine et l'hyperoside qui présentent une forte activité anticholinestérase (Bakhtiari *et al.*, 2017).

3.1. L'épinard cru

3.1.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cru

Les valeurs de concentration des polyphénols sont établies à partir de la courbe d'étalonnage (Annexe 1). Les résultats des essais de la matrice générée sont présentés dans le tableau 39.

Tableau 39. Matrice d'essais du plan *Plackett – Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'épinard cru

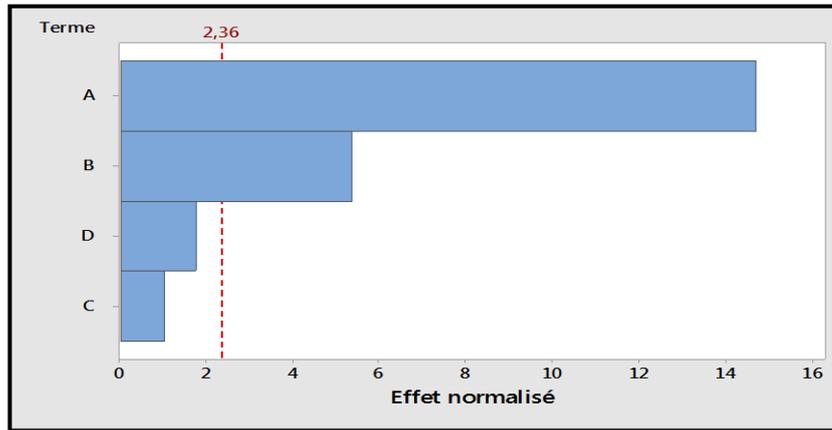
N° d'essai	A	B	C	D	Taux des polyphénols (µg EAG /g d'extrait sec)
1	1	1	-1	1	1,344x10 ⁴
2	1	-1	1	1	1,412x10 ⁴
3	-1	1	1	1	1,012x10 ⁴
4	-1	-1	-1	1	0,404 x10 ⁴
5	-1	1	-1	-1	0,587x10 ⁴
6	1	-1	-1	-1	0,555x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	1,179x10 ⁴
8	1	1	1	-1	0,720x10 ⁴
9	1	1	-1	1	0,537x10 ⁴
10	-1	1	1	-1	0,669x10 ⁴
11	-1	-1	1	1	1,487x10 ⁴
12	1	-1	1	-1	1,062 x10 ⁴

A : concentration du solvant ; B : temps de macération ; C: temps d'ultrasonication ; D: broyage

Le coefficient de détermination (R^2) du modèle prédit est de 97,27%. Ce modèle est significatif ($P < 0,0001$). La concentration du solvant et le temps de macération ont des effets significatifs sur la réponse " Taux des polyphénols ", tandis que le temps d'ultrasonication et le broyage ne présentent aucune différence significative (Annexe 4). L'équation polynomiale générée pour chaque réponse, décrivant la corrélation entre le taux des polyphénols et les quatre facteurs étudiés (A : Concentration du solvant ; B : Temps de macération ; C: Temps d'ultrasonication ; D: Broyage), est la suivante :

$$\text{Taux en PT} = 9147 + 3353 A + 1225 B - 234 C + 399 D$$

Les deux facteurs (concentration du solvant et temps de macération) ont des effets positifs sur la réponse " Taux des polyphénols " (Annexe 4). Le diagramme de *Pareto* montre que le taux des polyphénols dépend principalement de la concentration du solvant suivi par le temps de macération (figure 56).



A : concentration de solvant ;
 B : temps de macération ;
 C : temps d'ultrasonication
 D : broyage

Figure 56. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cru

3.1.2. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cru

Les deux facteurs sélectionnés par le plan de criblage *Plackett-Burmann* sont optimisés par le plan composite centré. Les résultats des essais de la matrice sont mentionnés dans le tableau 40.

Tableau 40 . Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cru

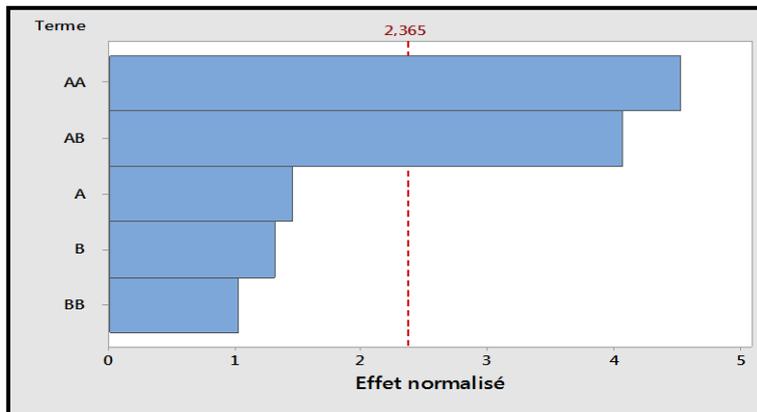
N° d'essai	Niveaux du facteur concentration de solvant (A)	Niveaux du facteur temps de macération (B)	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG /g d'extract sec}$)
1	0	0	$0,965 \times 10^4$
2	-1	1	$0,891 \times 10^4$
3	-1	-1	$1,302 \times 10^4$
4	0	0	$0,947 \times 10^4$
5	1	-1	$0,881 \times 10^4$
6	1	1	$0,771 \times 10^4$
7	0	0	$0,811 \times 10^4$
8	-1,414	0	$0,751 \times 10^4$
9	0	0	$0,820 \times 10^4$
10	1,414	0	$1,522 \times 10^4$
11	0	-1,414	$0,915 \times 10^4$
12	0	0	$0,999 \times 10^4$
13	0	1,414	$0,835 \times 10^4$

L'analyse de la variance a partitionné la variabilité des taux des polyphénols totaux pour chaque effet. Le modèle est significatif ($P < 0,05$), et présente un R^2 élevé (85,45%). L'analyse de variance montre que les effets du terme quadratique AA et l'interaction à deux facteurs AB ont des effets significatifs ($P < 0,05$).

Les effets des linéaires des facteurs A, B et le terme quadratique BB ne sont pas significatifs pour ce modèle. L'équation polynomiale pour la réponse taux des polyphénols est:

$$\text{Taux en PT} = 107371 - 2165A - 37,50 B + 11,93 A*A + 0,00225 B*B + 0,410 A*B$$

Le diagramme de *Pareto* montre que le taux des polyphénols dépend principalement de l'effet du terme AA suivi par l'interaction AB (figure 57).



A : concentration solvant;
 B : temps de macération ;
 AA : carré du concentration de solvant,
 BB : carré du temps de macération,
 AB : interaction entre la concentration de solvant et le temps de macération

Figure 57 Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cru

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponses sont exposés dans la figure 58. Les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se situent dans la zone rouge limitée par les points : Concentration du solvant (98-100 %) et temps de macération (1400-1440 min).

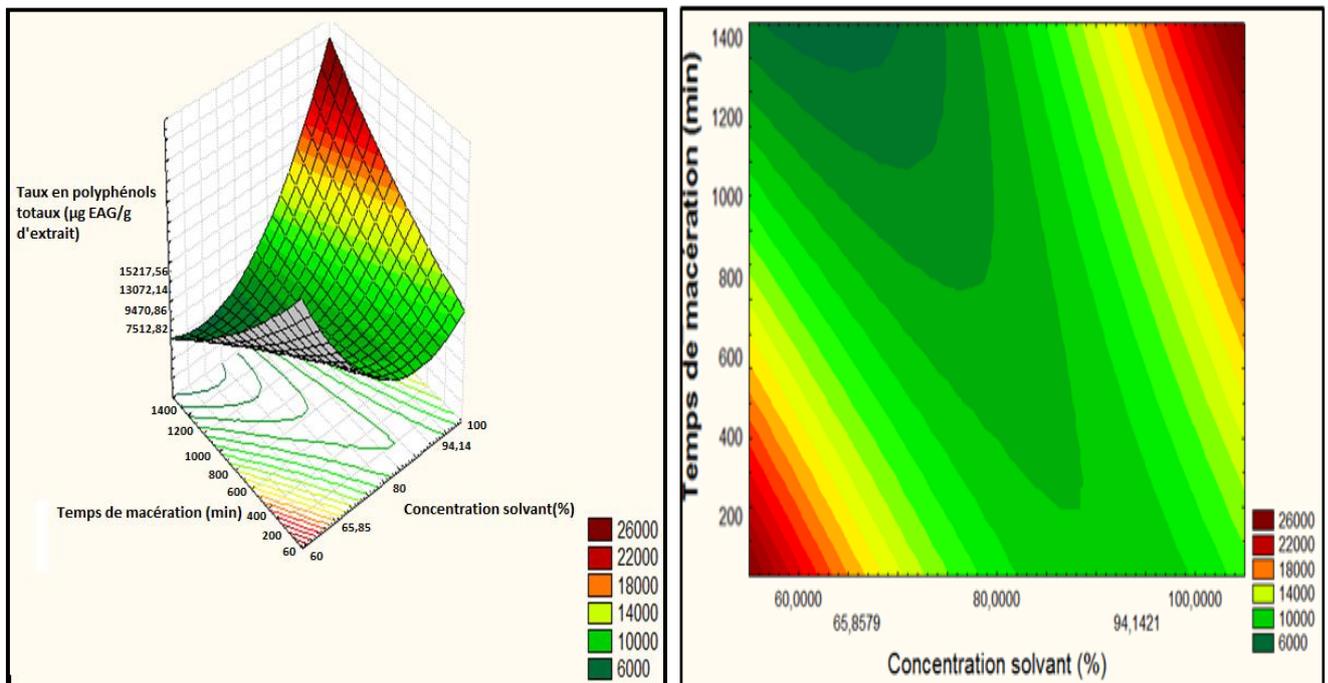


Figure 58. Surface de réponse du taux des polyphénols de l'épinard cru en fonction de la concentration du solvant et du temps de macération

Le maximum de précision est obtenu pour une désirabilité égale à 1 (figure 59).

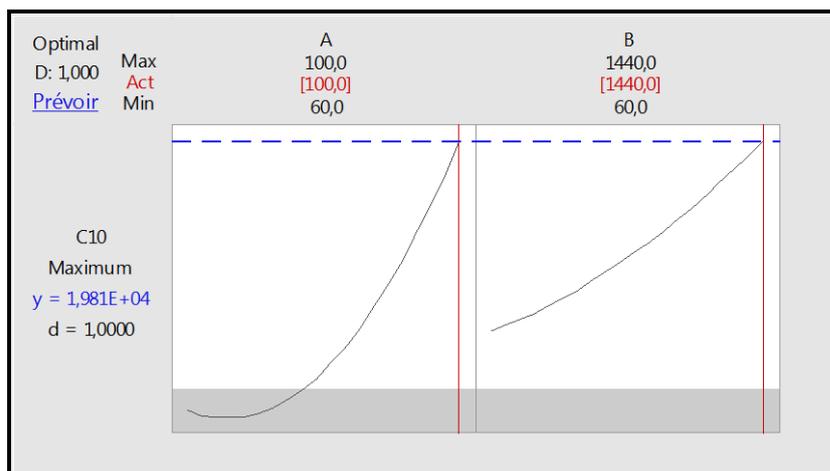


Figure 59 .Optimisation de la concentration du solvant et du temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'épinard cru en fonction de la désirabilité

La prédiction des conditions optimales est : concentration du solvant (100%) et temps de macération (24h).

3.1.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport à la concentration du solvant et au temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'épinard cru

Les résultats de l'optimisation sont confirmés par la détermination des polyphénols totaux expérimentalement avec les facteurs sélectionnés au point optimum (tableau 41).

Tableau 41 . Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'épinard cru

Points	Taux de polyphénols prédit (µg EAG/g d'extrait sec)	Taux de polyphénols mesuré (µg EAG/g d'extrait sec)
(100%, 24h)	$1,981 \times 10^4$	$1,979 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

3.2. L'épinard cuit à l'eau

3.2.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux et de la cuisson à l'eau de l'épinard

Les résultats des essais pour l'évaluation du taux des polyphénols des épinards à l'eau bouillante en fonction des sept facteurs A : temps de cuisson ; B : température de cuisson; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication et G : broyage) sont présentés dans le tableau 42.

Tableau 42. Matrice d'essais du plan *Plackett- Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit à l'eau

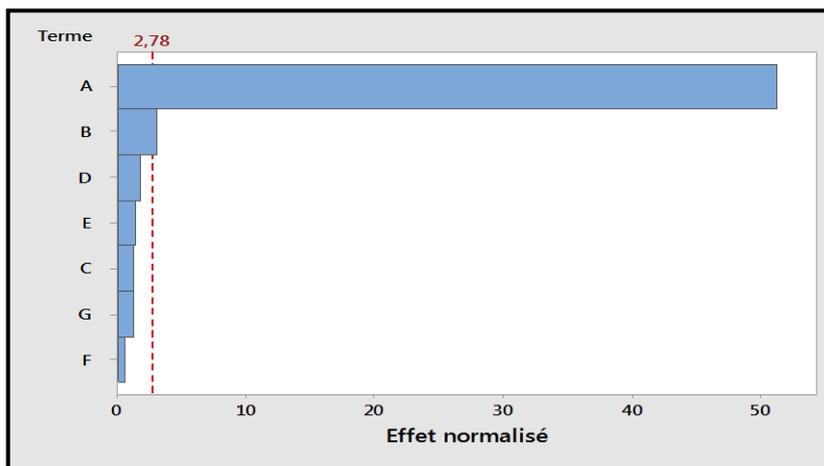
N° d'essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols (µg EAG /g d'extrait sec)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	0,020 x10 ⁴
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	1,526 x10 ⁴
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1,563 x10 ⁴
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	0,030 x10 ⁴
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	1,605 x10 ⁴
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	0,020 x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,020 x10 ⁴
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1,562 x10 ⁴
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	0,200 x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1,548 x10 ⁴
11	1	1	1	-1	1	1	-1	1,520 x10 ⁴
12	1	1	-1	1	1	-1	1	0,200 x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ;
 D : concentration du solvant ; E : Temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage

Le modèle prédit est significatif ($P < 0,05$), avec un coefficient (R^2) équivalent à 99,85%. Les deux facteurs (temps de cuisson et température de cuisson) sont significatifs ($P < 0,05$) (Annexe 4). Le modèle polynomial qui prédit la réponse "taux des polyphénols" est exprimé en codes des facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 8333 + 7210 A + 424 B + 186 C - 250 D - 201 E + 91 F + 172 G$$

Les deux facteurs ont des effets positifs sur la réponse taux des polyphénols (Annexe 4). Le diagramme de Pareto montre que le taux des polyphénols dépend principalement du temps de cuisson suivi par la température de cuisson (Figure 60).



A : temps de cuisson ;
 B : température de cuisson ;
 C : volume d'eau de cuisson ;
 D : concentration de solvant ;
 E : temps de macération ;
 F : temps d'ultrasonication ;
 G : broyage

Figure 60. Diagramme de Pareto des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux et de la cuisson à l'eau de l'épinard

3.2.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson dans l'eau de l'épinard

Les facteurs (temps de cuisson et température de cuisson) sont optimisés par le plan de composite centré. Les résultats des 13 essais sont récapitulés dans le tableau 43.

Tableau 43. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit à l'eau.

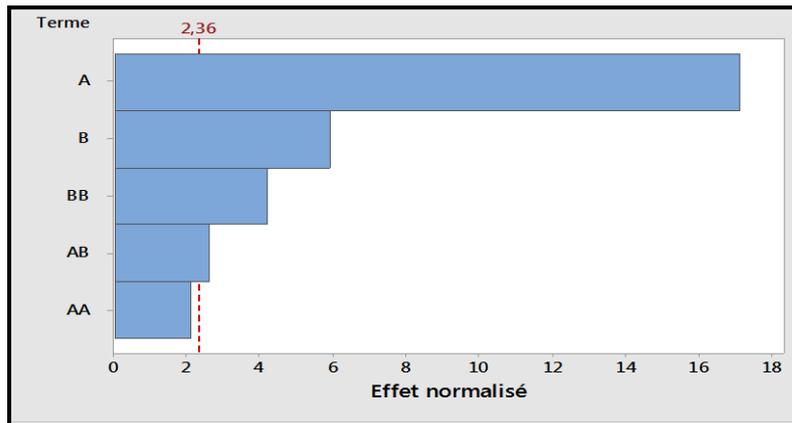
N° d'essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur température de cuisson (B)	Taux des polyphénols (µg EAG / g d'extrait sec)
1	0	0	0,950 x10 ⁴
2	-1	1	1,169 x10 ⁴
3	-1	-1	0,940 x10 ⁴
4	0	0	0,908 x10 ⁴
5	1	-1	0,697 x10 ⁴
6	1	1	0,926 x10 ⁴
7	0	0	0,960 x10 ⁴
8	-1,414	0	0,587 x10 ⁴
9	0	0	0,960 x10 ⁴
10	1,414	0	1,166 x10 ⁴
11	0	-1,414	0,643 x10 ⁴
12	0	0	0,953 x10 ⁴
13	0	1,414	0,870 x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ;
 D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage

Le coefficient de détermination et le coefficient ajusté obtenus sont élevés (98,07% et 96,69%) ce qui indique une réponse satisfaisante par rapport de l'ajustement des données du modèle de la régression quadratique. Le modèle mathématique prédit est significatif ($P < 0,05$). Les quatre effets (temps de cuisson, température de cuisson, carré de température de cuisson et interaction entre les deux facteurs) ont des effets significatifs ($P < 0,05$) (Annexe 4). Par contre, l'effet du terme carré de temps de cuisson n'est pas significatif. Le modèle polynomial, qui prédit la réponse taux des polyphénols, est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = -79659 + 129 A + 1680 B - 90,4 A*A - 11,34 B*B + 37,3 A*B$$

De la même manière, le diagramme de *Pareto* (figure 61) montre que le taux des polyphénols dépend principalement du facteur temps de cuisson suivi par la température de cuisson, le carré de température de cuisson et l'interaction des deux facteurs.



A : temps de cuisson ,
 B : température de cuisson,
 AA : carré du temps de cuisson,
 BB : carré de température de cuisson,
 AB : interaction entre le temps de cuisson et la température de cuisson

Figure 61. Diagramme de Pareto des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à l'eau de l'épinard

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponse sont indiquées dans la figure 62

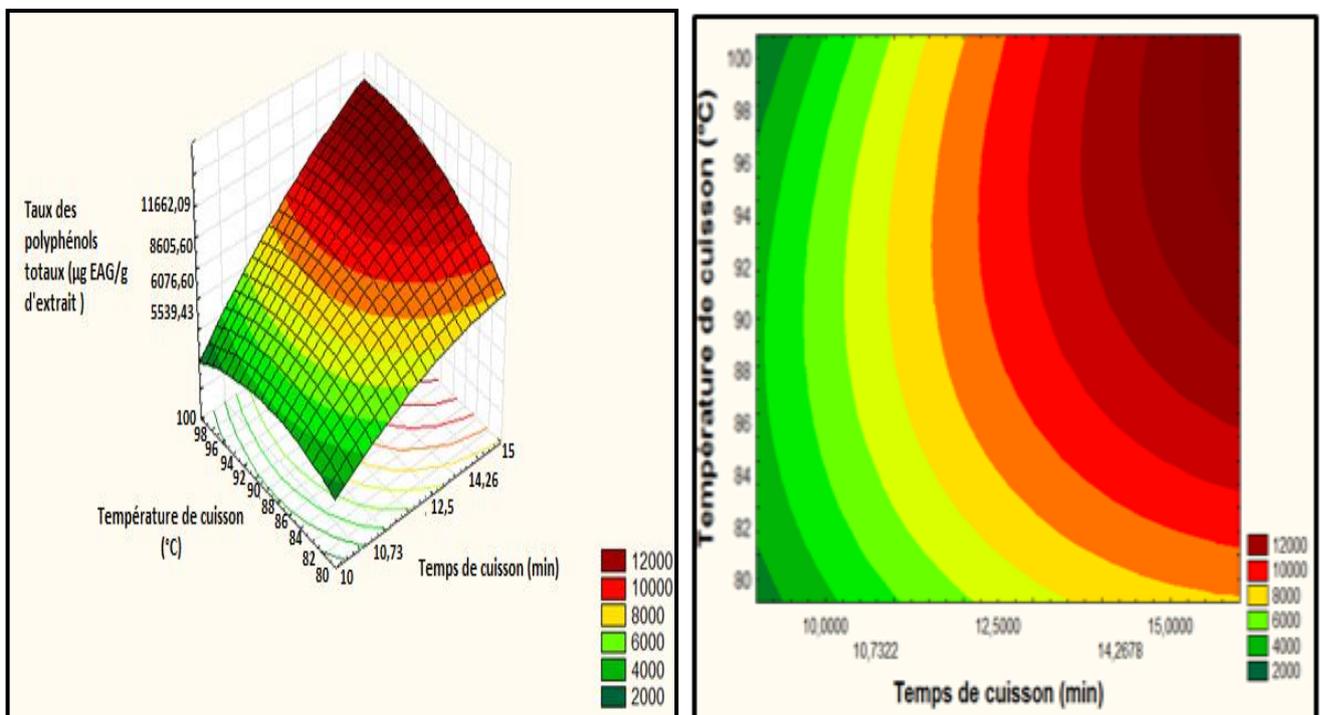


Figure 62. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction du temps et de la température de cuisson à l'eau de l'épinard

Selon la figure 62, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (14,6-15min) et température de cuisson (89-100°C). Ces valeurs optimales ont été calculées à une désirabilité de 1 (figure 63).

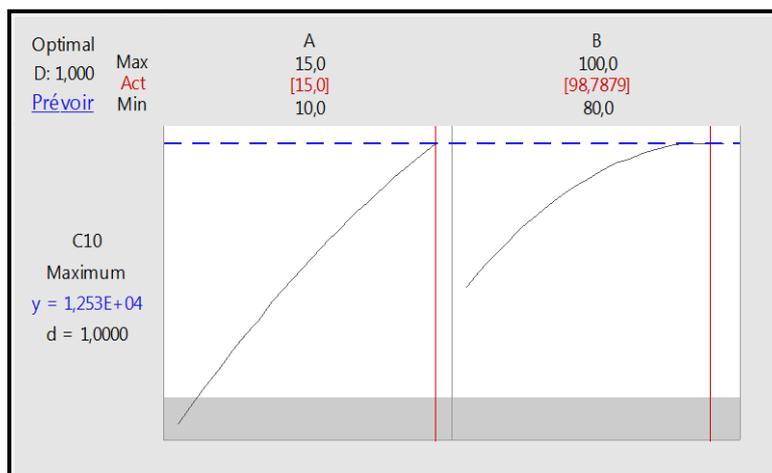


Figure 63. Optimisation du temps et de la température de cuisson à l'eau de l'épinard en fonction de la désirabilité 1

Les conditions optimales obtenues sont comme suit: le temps de cuisson (15 min) et température de cuisson (98,788°C). Le taux prédit des taux polyphénols est de $1,253 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract sec}$.

3.2.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps et à la température de cuisson à l'eau de l'épinard

La valeur optimale obtenue a été vérifiée expérimentalement (tableau 44).

Tableau 44. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'épinard cuit à l'eau

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(15min, 98,7879°C)	$1,253 \times 10^4$	$1,254 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

3.3. L'épinard cuit à la vapeur

3.3.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard

Les résultats des 12 essais de la matrice pour la détermination du taux des polyphénols des épinards cuits à la vapeur en fonction des sept facteurs (A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication et G : broyage) sont présentés dans le tableau 45.

Tableau 45 . Matrice d'essais du plan *Plackett- Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit à la vapeur

N° d'essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols (µg EAG / g d'extrait sec)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	0,400x10 ⁴
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	0,286x10 ⁴
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1,074x10 ⁴
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	0,342x10 ⁴
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	0,109x10 ⁴
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	0,241x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,255x10 ⁴
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	0,678x10 ⁴
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	0,962x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	0,988x10 ⁴
11	1	1	1	-1	1	1	-1	0,896x10 ⁴
12	1	1	-1	1	1	-1	1	0,586x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ;

D : concentration du solvant ; E : Temps de macération ; F : temps d'ultrasonication et G : broyage

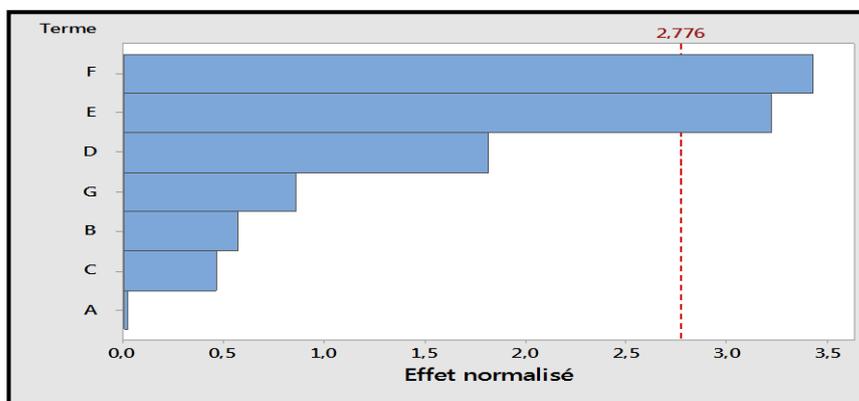
Le modèle prédit est significatif ($p < 0,05$). Le coefficient R^2 obtenu indique que le modèle explique plus de 86,96% de la variabilité de la réponse.

Deux facteurs (le temps de macération et le temps d'ultrasonication) se sont révélés significatifs ($p < 0,05$) (Annexe 4). Le modèle polynomial, qui prédit la réponse taux des polyphénols, est exprimé en codes des facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 5685 + 14 A + 337 B - 274 C + 1073 D - 1900 E + 2023 F - 504 G$$

Le temps de macération a présenté un effet négatif sur la réponse tandis que le temps d'ultrasonication a présenté un effet positif sur la teneur en polyphénols totaux (Annexe 4).

Le diagramme de *Pareto* (figure 64) montre que le taux des polyphénols dépend principalement du temps d'ultrasonication suivi par le temps de macération.



A : temps de cuisson ;
 B : température de cuisson ;
 C : volume d'eau de cuisson ;
 D : concentration de solvant ;
 E : temps de macération ;
 F : temps d'ultrasonication ;
 G : broyage

Figure 64. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux et de la cuisson à la vapeur de l'épinard

3.3.2. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cuit à la vapeur

Les facteurs sélectionnés pour l'optimisation de la réponse polyphénols totaux sont le temps de macération et le temps d'ultrasonication (tableau 46).

Tableau 46. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit à la vapeur

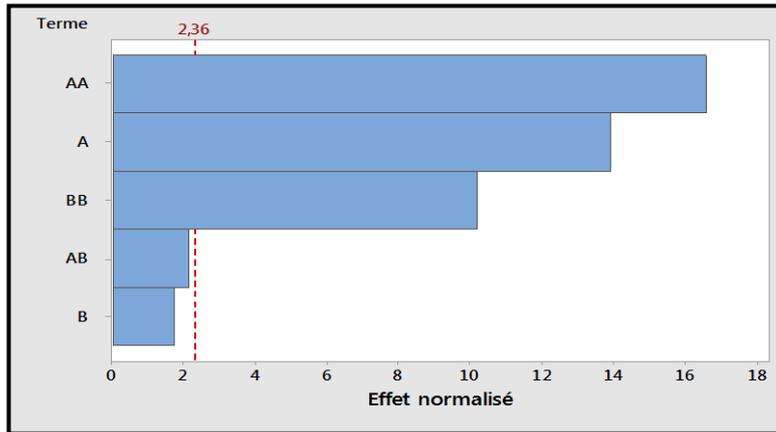
N° d'essai	Niveaux du facteur Temps de macération (A)	Niveaux du facteur Temps d'ultrasonication (B)	Taux des polyphénols (µg EAG /g d'extrait sec)
1	0	0	0,903x10 ⁴
2	-1	1	1,076x10 ⁴
3	-1	-1	1,008x10 ⁴
4	0	0	0,900x10 ⁴
5	1	-1	1,003x10 ⁴
6	1	1	0,188 x10 ⁴
7	0	0	0,916 x10 ⁴
8	-1,414	0	0,803x10 ⁴
9	0	0	0,921 x10 ⁴
10	1,414	0	0,764 x10 ⁴
11	0	-1,414	0,768 x10 ⁴
12	0	0	0,914 x10 ⁴
13	0	1,414	0,643 x10 ⁴

Une réponse satisfaisante a été obtenue par rapport à l'ajustement des données du modèle de régression quadratique, le coefficient de détermination pour ce modèle est de 98,73%.

Le modèle mathématique obtenu est très significatif (p<0,0001). Le temps de macération, les carrés de temps de macération et du temps d'ultrasonication ont des effets significatifs sur la réponse (p< 0,05). Le terme linéaire du temps d'ultrasonication (B) et l'interaction entre les facteurs(AB) ne sont pas significatifs. Le modèle polynomial prédit est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = -23952 + 16,24 A + 1334 B - 0,011032 A*A - 14,37 B*B - 0,0866 A*B$$

Le diagramme de *Pareto* (figure 65) montre que le taux des polyphénols dépend principalement du carré de temps de macération suivi par le facteur temps de macération et le carré du facteur temps d'ultrasonication.



A: temps de macération ;
 B : temps d'ultrasonication,
 AA : carré du temps de macération,
 BB : carré du temps d'ultrasonication,
 AB : interaction entre le temps de macération et le temps d'ultrasonication

Figure 65. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cuit à la vapeur

La surface de réponse et la courbe d'iso réponse sont montrées dans la figure 66.

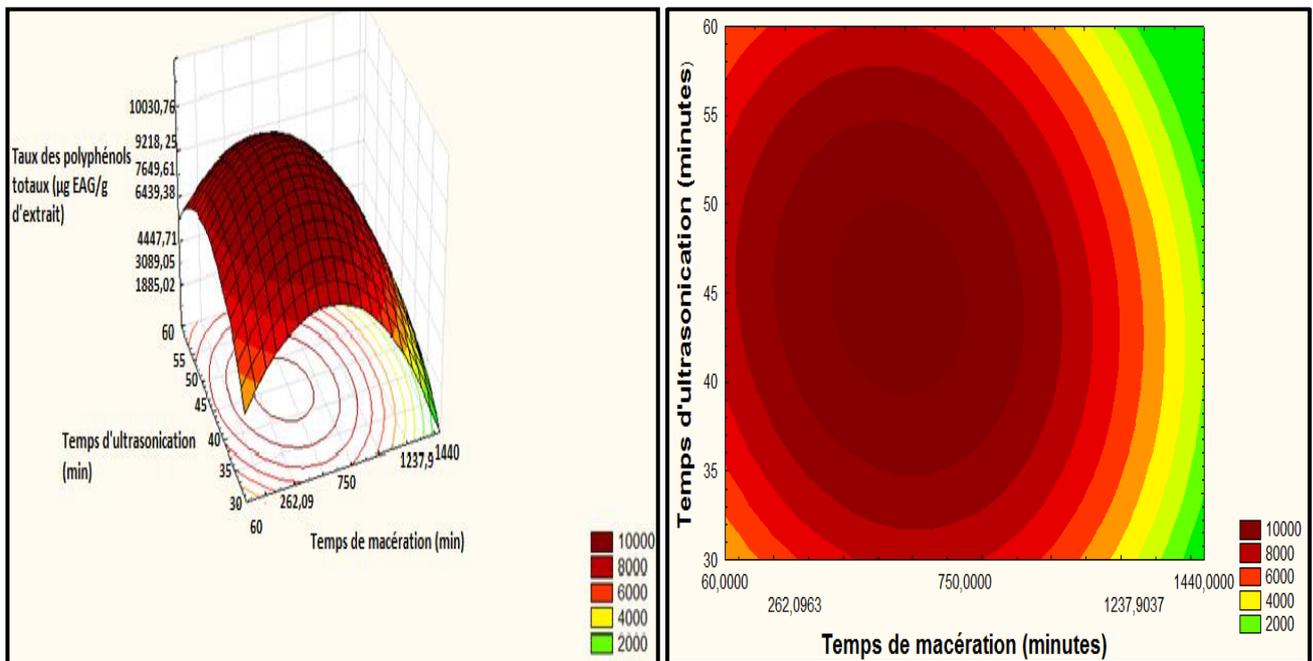


Figure 66. Surface de réponse du taux des polyphénols de l'épinard cuit à la vapeur en fonction des temps de macération et d'ultrasonication

D'après ces résultats, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : temps de macération (400-750min) et temps d'ultrasonication (40-50min) (figure 66).

Les valeurs optimales des facteurs ont été calculées à une désirabilité de 1. Les résultats obtenus sont montrés dans la figure 67.

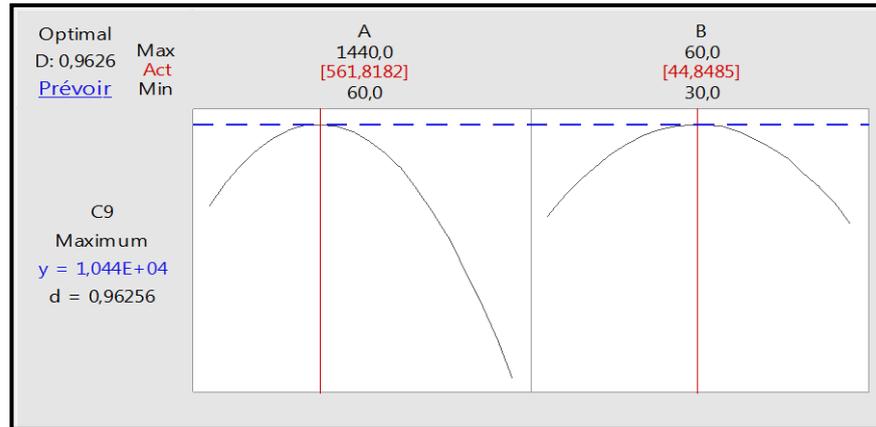


Figure 67. Optimisation du temps et de la température de cuisson à la vapeur de l'épinard en fonction de la désirabilité 1

Les conditions optimales obtenues à une désirabilité de 1 sont comme suit: temps de macération (562 min.) et temps d'ultrasonication (45min). La teneur prédite des taux polyphénols est de $1,044 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract sec}$.

3.3.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps de macération et d'ultrasonication de l'épinard cuit à la vapeur

Les valeurs optimales obtenues ont été vérifiées expérimentalement (tableau 47).

Tableau 47. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'épinard cuit à la vapeur

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(562min, 45min)	$1,044 \times 10^4$	$1,044 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

3.4. L'épinard cuit par microonde

3.4.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de la cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard

Les résultats des 12 essais de la matrice pour la détermination du taux des polyphénols des épinards cuits par microonde sont présentés dans le tableau 48.

Tableau 48. Matrice d'essais du plan *Plackett-Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit par microonde

N° d'essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols (µg EAG /g d'extrait sec)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	0,723x10 ⁴
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	1,234x10 ⁴
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	0,725 x10 ⁴
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1,678x10 ⁴
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	0,976x10 ⁴
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1,214x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1,675x10 ⁴
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1,654x10 ⁴
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	0,815x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	0,923x10 ⁴
11	1	1	1	-1	1	1	-1	1,200x10 ⁴
12	1	1	-1	1	1	-1	1	0,890x10 ⁴

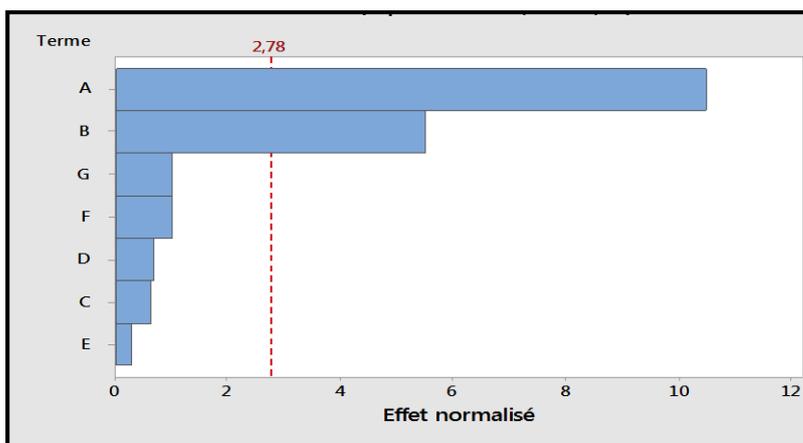
A : temps de cuisson ; B : puissance ; C : volume d'eau de cuisson ;
 D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage

Le coefficient de détermination (R²) du modèle est de 97,29 % ; ce pourcentage indique que 97,21% de la variabilité de la réponse (taux des polyphénols) peut être expliqué par le modèle. Le modèle qui prédit est significatif (p=0,006). Le temps de cuisson et la puissance sont les facteurs qui ont des effets significatifs sur la réponse "taux des polyphénols" (P< 0,05) (Annexe 4).

L'équation polynomiale est :

$$\text{Taux en PT} = 11426 + 3002 A + 1571 B - 172 C + 190 D + 81 E - 288 F - 291 G$$

Les deux facteurs (temps de cuisson et puissance de la microonde) ont des effets positifs sur la réponse "Taux des polyphénols" (Annexe 4). Le diagramme de *Pareto* (figure 68) montre que la réponse dépend principalement du temps de cuisson suivi par la puissance de la microonde.



A : temps de cuisson ;
 B : puissance de la microonde ;
 C : volume d'eau de cuisson ;
 D : concentration de solvant ;
 E : temps de macération ;
 F : temps d'ultrasonication ;
 G : broyage

Figure 68. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés (p=0,05) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'épinard cuit par microonde

3.4.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson par microonde de l'épinard

Le temps de cuisson et la puissance du microonde sont les facteurs sélectionnés pour l'optimisation de la réponse polyphénols totaux (tableau 49).

Tableau 49. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'épinard cuit par microonde

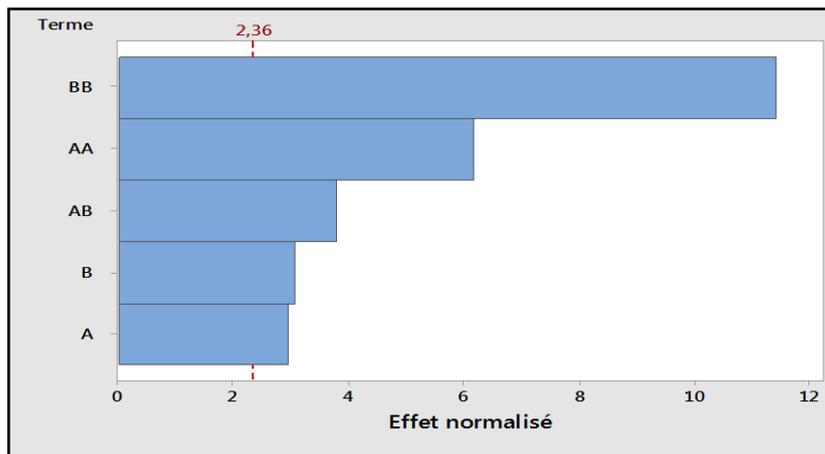
N° d'essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur puissance de la microonde (B)	Taux des polyphénols (µg EAG /g d'extrait sec)
1	0	0	1,374x10 ⁴
2	-1	1	1,046x10 ⁴
3	-1	-1	1,013x10 ⁴
4	0	0	1,274x10 ⁴
5	1	-1	0,800 x10 ⁴
6	1	1	0,824x10 ⁴
7	0	0	1,452x10 ⁴
8	-1,414	0	1,216x10 ⁴
9	0	0	0,811x10 ⁴
10	1,414	0	1,260x10 ⁴
11	0	-1,414	1,360 x10 ⁴
12	0	0	1,355 x10 ⁴
13	0	1,414	0,987 x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B :puissance; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage

L'analyse de la variance montre que le modèle prédit est significatif ($P < 0,05$) avec un R^2 élevé. Les cinq termes (A : temps de cuisson, B : puissance, AA : carré du temps de cuisson, BB : carré de puissance et AB : interaction entre le temps de cuisson et la puissance) ont montré des effets significatifs au seuil de 0,05. Le modèle polynomial, qui prédit la réponse taux des polyphénols, est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 68614 - 3907 A - 163,3 B + 169,8 A*A + 0,1260 B*B + 2,762 A*B$$

Le diagramme de *Pareto* montre que le taux des polyphénols dépend principalement du carré de la puissance de la microonde suivie par le carré du temps de cuisson, l'interaction entre les deux facteurs, la puissance du microonde et le temps de cuisson (figure 69).



A : temps de cuisson,
 B : puissance,
 AA : carré du temps de cuisson,
 BB : carré de puissance,
 AB : interaction entre le temps de cuisson et la puissance

Figure 69. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson par microonde de l'épinard

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponse sont illustrées dans la figure 70.

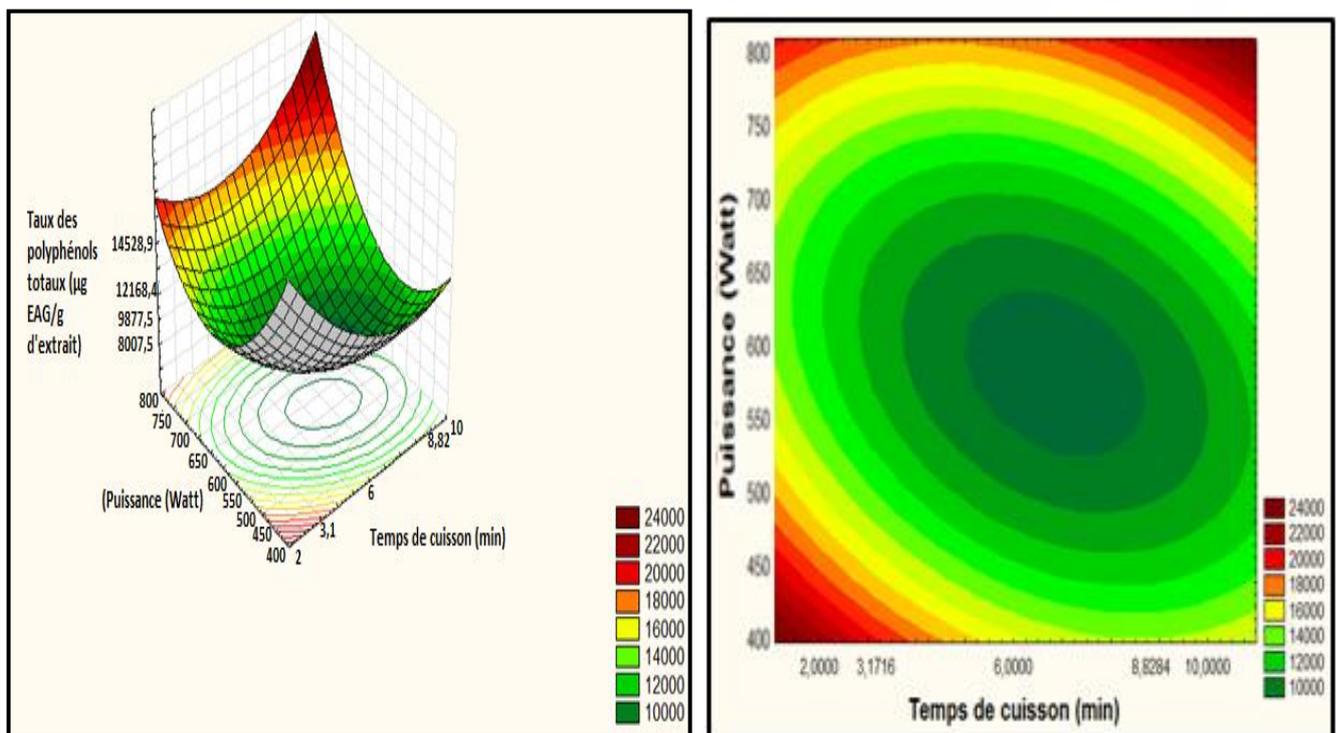


Figure 70. Surface de réponse du taux des polyphénols de l'épinard en fonction du temps de cuisson et de la puissance du microonde

La figure 70 montre que les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (9-10min) et puissance (780-800 watt).

Les valeurs optimales des facteurs ont été calculées à une désirabilité de 1. Les résultats obtenus sont montrés dans la figure 71.

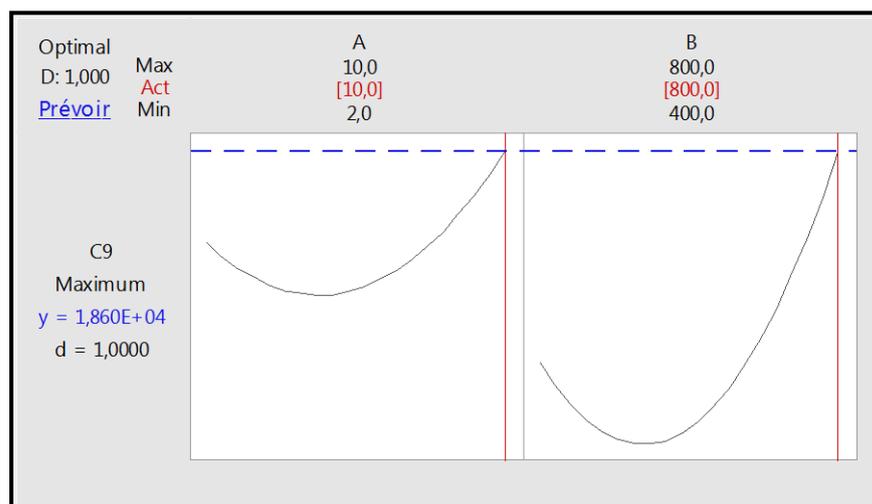


Figure 71. Optimisation de la puissance du microonde et du temps de cuisson de l'épinard en fonction de la désirabilité

Les conditions optimales obtenues sont comme suit: temps de cuisson (10 min) et puissance du microonde (800watt). La teneur prédite du taux des polyphénols est de $1,86 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g}$ d'extrait sec.

2.4.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport à la puissance du microonde et au temps de cuisson de l'épinard

Les valeurs optimales obtenues ont été vérifiées expérimentalement. Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau 50.

Tableau 50. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'épinard cuit par microonde

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g}$ d'extrait sec)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g}$ d'extrait sec)
(10min, 800 watt)	$1,86 \times 10^4$	$1,862 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

3.5. Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux de l'épinard

L'effet des trois modes de cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'épinard est illustré dans la figure 72.

Il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des épinards crus et cuits.

Les taux des polyphénolos totaux enregistrés sont de 19790 ; 12540 ; 10440 et 18620 $\mu\text{g EAG/g}$ d'extrait sec d'épinard cru, cuit à l'eau, cuit à la vapeur et par microonde respectivement. Cependant, les teneurs en flavonoïdes sont de 10876 ; 9867,76 ; 7654 et 10456 $\mu\text{g EQ/g}$ d'extrait sec d'épinard cru, cuit à l'eau, cuit à la vapeur et par microonde respectivement.

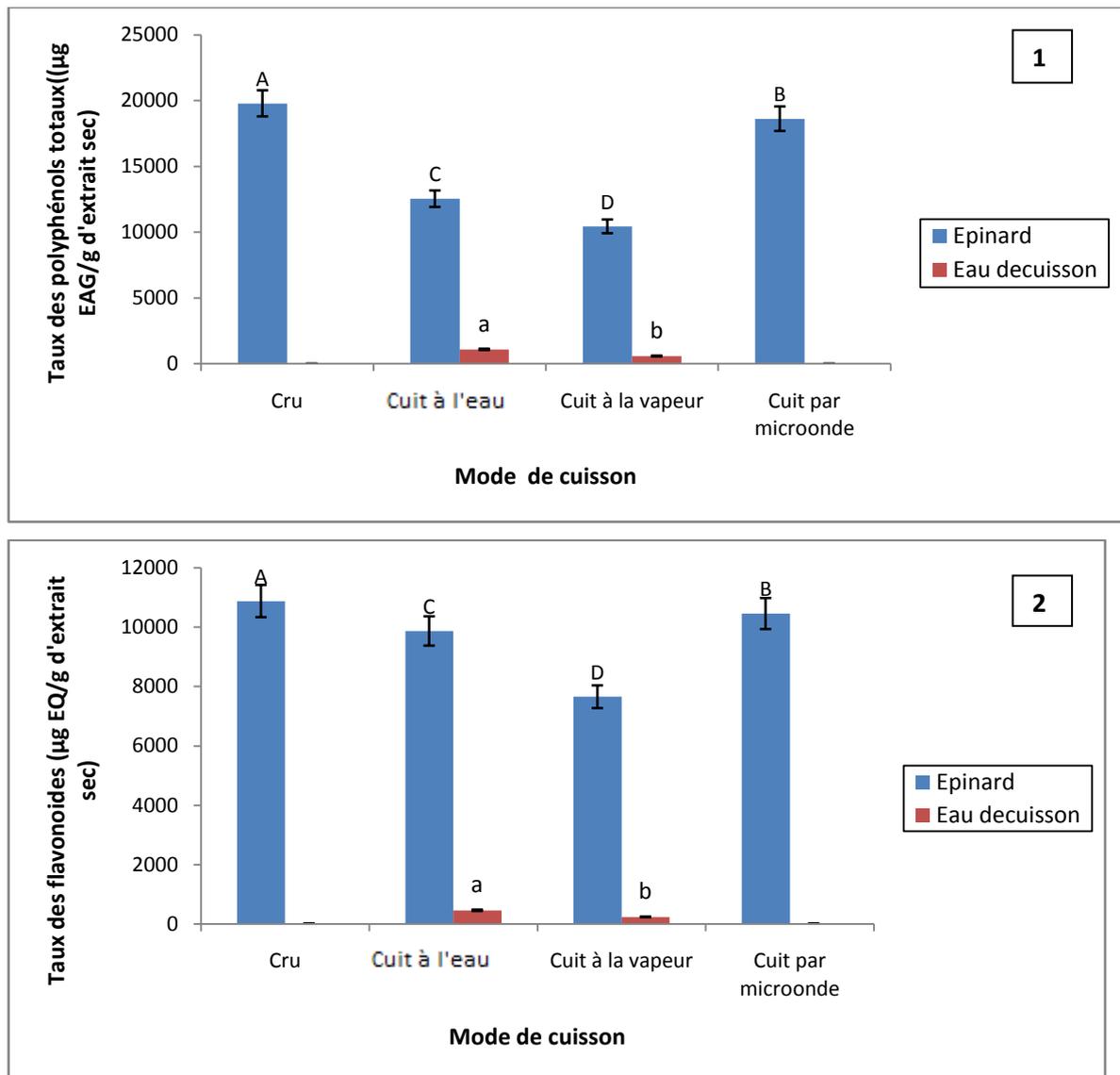


Figure 72. Taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de l'épinard (1 : polyphénols, 2 : flavonoïdes)

Les résultats enregistrés indiquent que les épinards sont riches en polyphénols et en flavonoïdes. Ce résultat concorde avec certains travaux notamment ceux d'Altemimi *et al.*(2015) qui ont étudié l'effet du traitement par ultrasons sur la teneur en polyphénols totaux, où ils ont constaté que le rendement moyen en polyphénols totaux varie entre 13,76 et 33,97 mg EAG/g de matière sèche alors que la teneur en flavonoïdes varie entre 6,08 et 27,37mg EQ/g de matière sèche.

De même, Dobrinas *et al.* (2017) ont rapporté que la teneur en polyphénols totaux de l'épinard est de 56,98 mg EAG/100g du poids frais. En effet la méthode d'extraction peut influencer les taux des composés phénoliques. Dans ce contexte, Do Thi et Hwang (2015) ont trouvé que la teneur en polyphénols totaux varie selon le solvant utilisé, ils ont montré que les extraits d'épinard contiennent des teneurs en polyphénols totaux de 24,1 et 30,3 mg EAG/g d'extrait sec pour des extractions effectuées par l'eau et l'éthanol respectivement. Les teneurs en flavonoïdes ont été de

10,7mg équivalent catéchine/g d'extrait sec pour une extraction avec l'eau et 28,8 mg équivalent catéchine/g d'extrait sec pour une extraction avec l'éthanol.

Dans la présente étude, les différentes méthodes de cuisson appliquées ont montré des effets négatifs sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes des épinards. Ces composés ont été réduits à des degrés différents selon la méthode de cuisson, le classement des teneurs en polyphénols place la cuisson par microonde en première position, la cuisson à l'eau en deuxième position et la cuisson à la vapeur en dernière position. L'analyse de la variance montre qu'il existe une différence significative entre l'épinard cru et l'épinard cuit (à l'eau, à la vapeur et par microonde).

La diminution des différents composés phénoliques au cours de la cuisson est due probablement à leur solubilisation dans l'eau de cuisson suite à la destruction des parois cellulaires par un effet thermique en d'autres composés plus solubles (Zaro *et al.*, 2015), ou par le frottement engendré par la rotation entre les molécules de la matrice végétale, qui provoque la rupture des liaisons entre les polyphénols et la matrice végétale (Inoue *et al.*, 2010; Jawad et Langrish, 2012).

La cuisson par microonde s'est avérée la plus efficace, cela est peut être due à une meilleure rétention des polyphénols totaux dans les tissus végétaux après leur extraction par la chaleur. Ce constat est similaire à d'autres études antérieures (Ismail *et al.*, 2004 ; Şengület *et al.*, 2013). Cependant des résultats différents ont été signalés par Do Thi et Hwang (2015) qui ont rapporté que le processus de cuisson augmente la teneur en polyphénols totaux. Ils ont montré que les extraits des épinards crus avaient des teneurs en polyphénols plus faibles que ceux des épinards bouillis et cuits à la vapeur.

Concernant les flavonoïdes, la cuisson à la vapeur et par microonde se sont avérées les plus efficaces quant à l'augmentation de ces composés. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans des études antérieures de Xu et Chang (2008), Mazzeo *et al.*(2011).

3.6 . Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) des extraits de l'épinard

Quinze composés phénoliques ont été identifiés dont six composés sont majoritaires et qui sont : l'acide chlorogénique, l'acide protocatechuique, l'acide tannique, l'acide tr-caféique et l'acide *p*-coumarique et l'acide rosmarinique (Figure 73, Tableau 51)

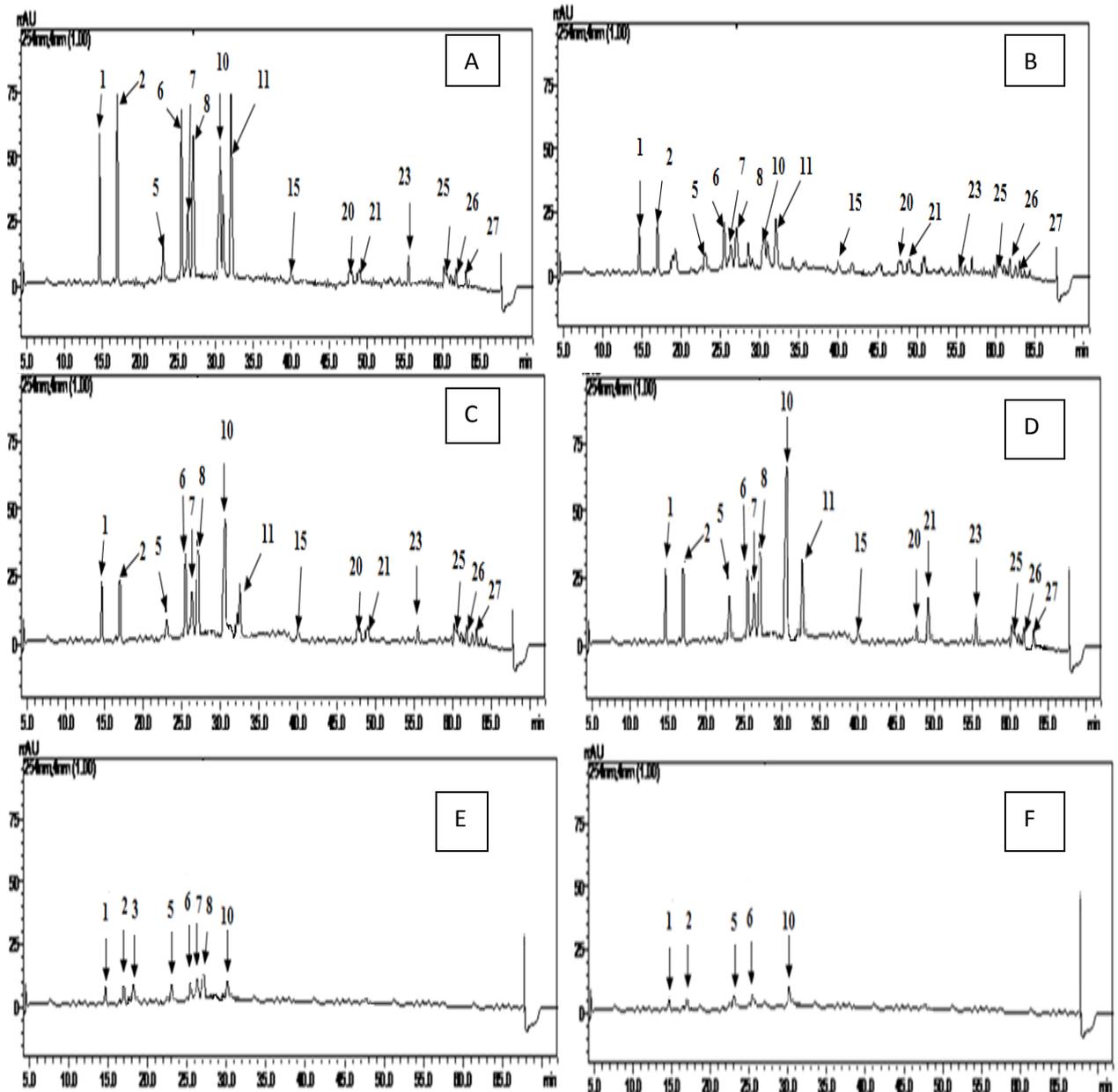


Figure 73. Analyse LC-MS/MS des extraits de l'épinard

A : épinard cru, B : Cuit à l'eau, C : cuit par vapeur, D : cuit par microonde, E : eau de cuisson (ébullition), F : eau de cuisson(vapeur) :

1 : acide quinique, 2: acide malique, 3: acide ferrulique, 4: acide gallique, 5: acide chlorogénique, 6: acide protocatechuique, 7: acide tannique, 8: acide caféique, 9: vanilline, 10: *p*-acide coumarique, 11: Acide rosmarinique 12: Hesperidine, 13: Rutine, 14: Hyperoside, 15: 4-OH Acide benzoïque, 16: Acide salicylique, 17: Myricétine, 18: Coumarine 19 Kaempferol :, 20: Quercétine, 21: Hesperetine, 22: Naringénine , 23:

Tableau 51. Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits de l'épinard par LC-MS/MS

N°	Composé	Ion parent (m/z)	MS2 (énergie de collision)	Quantification (µg analyte / g d'extrait)					
				CR	CE	CV	CM	ECE	ECV
1	Acide quinique	190,95	85 (22), 93 (22)	9300	2345,87	2400,78	2567,90	45,76	42,67
2	Acide mallique	133,05	115 (14), 71 (17)	10345,87	2987,98	2809,87	3008,78	43,87	35,96
3	Acide Ferrulique	172,85	85 (12), 129 (9)	ND	ND	ND	ND	46,78	ND
4	Acide gallique	169,05	125 (14), 79 (25)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	Acide chlorogénique	353	191 (17)	3500,87	356,78	345,78	2598,78	47,65	36,08
6	Acide protocatéchique	152,95	109 (16), 108 (26)	9900,66	599,06	3008,87	3000,65	51,87	39,87
7	Acide tannique	182,95	124 (22), 78 (34)	10002,33	366,89	1230,06	2001,87	43,78	ND
8	Acide caféique	178,95	135 (15), 134 (24), 89 (31)	7098,09	601,76	3345,08	4900,76	50,78	ND
9	Vanilline	151,05	136 (17), 92 (21)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	Acidep- coumarique	162,95	119 (15), 93 (31)	5678,09	595,76	4678,98	10540,76	45,76	39,87
11	Acide rosmarinique	358,9	161 (17), 133 (42)	10804,09	703,16	1987,87	3798,76	ND	ND
12	Hespéridine	611,1	303,465	ND	ND	ND	ND	ND	ND
13	Rutine	609,1	300 (37), 271 (51), 301 (38)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	Hyperoside	463,1	300,301	ND	ND	ND	ND	ND	ND
15	4-OH acide benzoïque	136,95	93,65	80,87	65,78	66,09	80,09	ND	ND
16	Acide salicylique	136,95	93,65,75	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	Myricétine	317	179,151,137	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18	Coumarine	146,95	103,91,77	ND	ND	ND	ND	ND	ND
19	Kaempférol	264,95	217,133,151	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20	Quercétine	300,9	179,151,121	81,78	79,87	78,78	81,87	ND	ND
21	Hespéretine	300,95	164,136,108	79,87	78,98	79,98	456,98	ND	ND
22	Naringinine	270,95	151,119,107	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23	Lutéoléine	284,95	175,151,133	125,098	67,89	65,87	115,78	ND	ND
24	Fiséttine	284,95	135,121	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	Apigénine	268,95	151,117	94,67	65,78	64,98	94,87	ND	ND
26	Rhamnétine	314,95	165,121,300	78,87	55,78	56,98	89,67	ND	ND
27	Chryssine	253	143,119,107	77,76	54,76	59,78	98,26	ND	ND

ND : non déterminé; CR : épinard cru; CE : épinard cuit dans l'eau; CV : épinard cuit à la vapeur; CM : épinard cuit par microonde ; ECE : eau de cuisson par ébullition ; ECV : eau de cuisson par vapeur

Divers auteurs ont signalé que les principaux composés phénoliques des épinards sont: les dérivés de l'acide glucuronique des flavonoïdes et des dérivés de l'acide p-coumarique (Bergman *et al.*, 2001).

Les résultats de LC-MS/MS indiquent que, dans le cas de la cuisson dans l'eau, une diminution de tous les composés phénoliques a été constatée. L'analyse de l'eau de cuisson a montré la présence des quantités faibles d'acide férulique l'acide chlorogénique, d'acide protocatechuique, d'acide tannique, d'acide caféique et d'acide p-coumarique. La présence de ces composés polyphénoliques pourrait être due à leur passage directement dans l'eau de cuisson, ou à la dégradation de certains polymères suite à la rupture des liaisons et la libération des composés phénoliques insolubles liés de manière covalente aux substances de la matrice de la paroi cellulaire telles que la cellulose, l'hémicellulose, les arabinoxylanes, les protéines structurales et la pectine via des liaisons ester, éther et C-C (Shahidi et Yeo, 2016) .

Pour la cuisson à la vapeur, une diminution des composés a été observée après cuisson. L'eau de cuisson a révélé la présence de l'acide chlorogénique, l'acide protocatechuique et l'acide p-coumarique.

Pour la cuisson par microonde, les composés phénoliques détectés n'ont pas été affectés de la même manière. Une diminution de l'acide chlorogénique, de l'acide protocatechuique, de l'acide tannique, l'acide caféique et de l'acide rosmarinique a été constatée. Cependant, une augmentation de la teneur de de l'acide p-coumarique l'hespérétine, la chrysin et la rhamnétine a été obtenue et cela peut être due à la libération de ces composés liés à la paroi cellulaire par la cuisson. Un certain nombre d'études ont été menées sur l'identification et la quantification des acides phénoliques liés à la matrice végétale. Ils ont montré que l'acide caféique figure parmi ces composés encapsulés dans la paroi cellulaire des végétaux (Chandrasekara et Shahidi, 2010 ; Iraklib *et al.*, 2012 ; Alshikh *et al.*, 2015).

La cuisson par microonde a permis la rétention de certains composés : l'acide 4-OH benzoïque, la quercétine, et l'apigénine. Cette rétention est peut être attribuée à l'équilibre entre la dégradation des composés phénoliques et la libération des flavonoïdes. Dans la même optique, Gui et Ryu (2014) rapportent que le processus de cuisson améliore la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Cela est dû à la libération de composés phénoliques liés à la matrice de la paroi cellulaire d'épinard. Ng *et al.*(1999) ont rapporté que la cuisson par extrusion affecte la matrice de la paroi cellulaire entraînant une dépolymérisation des pectines et des hémicelluloses en plus la cuisson par micro-onde produit une meilleure libération des composés phénoliques à liaison insoluble à partir de matrice végétale d'épinard (Shahidi et Yeo, 2016) .

3.7. Activité antioxydante des extraits de l'épinard

Les résultats d'évaluation de l'activité antioxydante, évaluée par trois méthodes (DPPH, ABTS et CUPRAC), sont consignés dans la figure 74.

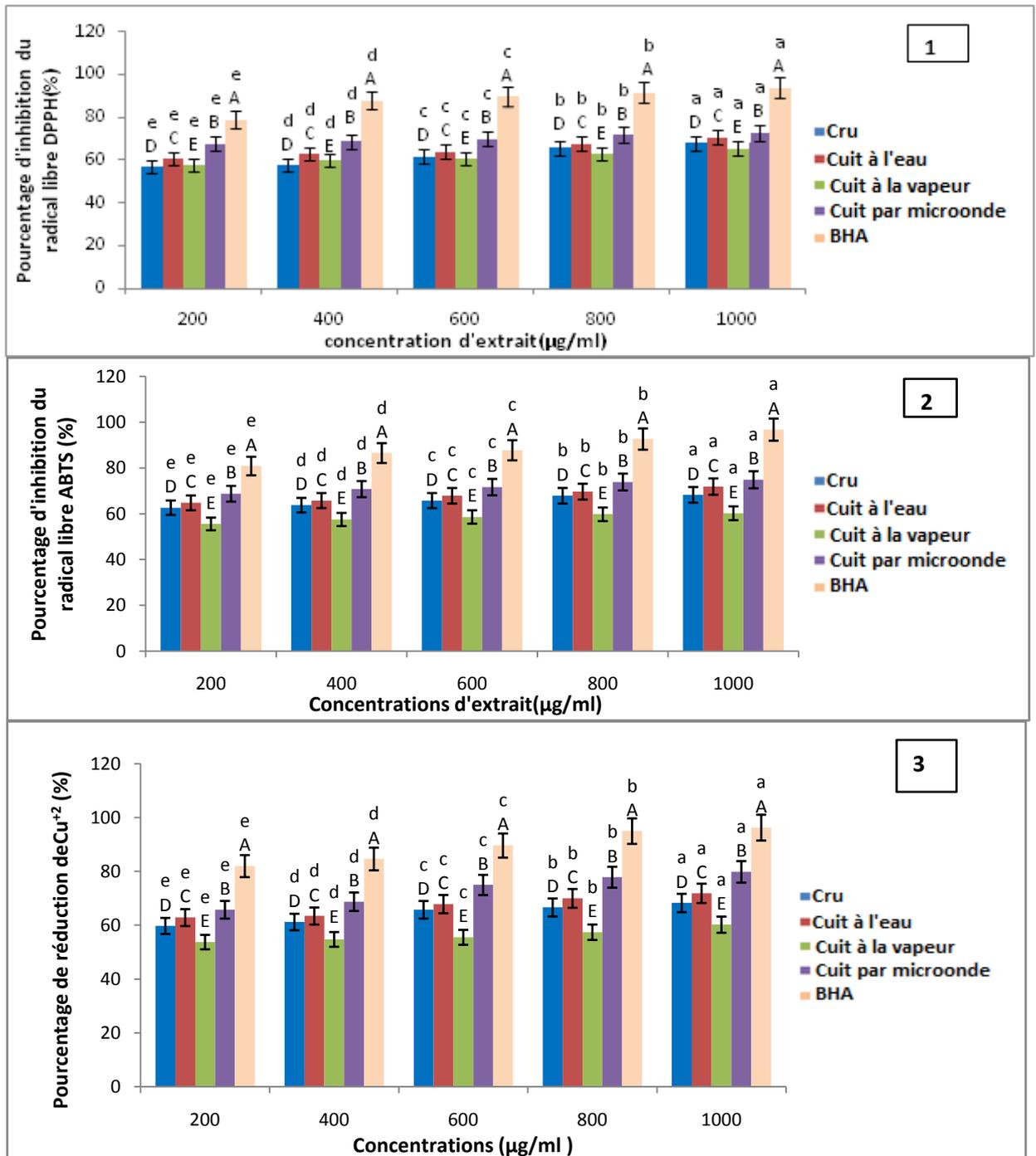


Figure 74. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de l'épinard

(1 : Méthode DPPH, 2 : Méthode ABTS, C : Méthode CUPRAC)

Nous rappelons que l'activité antioxydante des épinards crus et cuits a été déterminée par trois méthodes (DPPH, ABTS et CUPRAC). Les résultats obtenus sont similaires pour toutes les méthodes. Il existe une différence significative ($P < 0,05$) entre l'activité antioxydante des épinards crus et des épinards cuits (à la vapeur, à l'eau et par microonde) (tableau 52).

De même une différence significative a été constatée entre les activités antioxydantes des différentes concentrations des extraits d'épinard testées ($p < 0,05$).

Tableau 52 . Valeurs d'IC50 pour l'activité antioxydante des extraits de l'épinard

	DPPH	ABTS	CUPRAC
Cru	123±0,16 ^b	108,55±0,90 ^a	122,06±0,13 ^b
Cuit à l'eau	85,76±0,24 ^c	79±0,01 ^c	82,27±0,31 ^c
Cuit à la vapeur	129,65±0,04 ^a	113,23±0,20 ^b	123,06±0,24 ^a
Cuit par microonde	55,76±0,43 ^d	43,34±0,49 ^d	55,07±0,27 ^d
Témoin (BHA)	20,23±0,35 ^e	14,46±0,08 ^e	19,5±0,09 ^e

Pour chaque test, le même exposant signifie l'absence de différence significative

L'analyse de la variance montre l'existence d'une différence significative ($P < 0,05$) entre les IC50 des épinards crus et cuits (à l'eau, à la vapeur et par microonde) et cela a été constaté pour toutes les méthodes appliquées pour la détermination de l'activité antioxydante (DPPH, ABTS et CUPRAC).

Les IC50 des épinards cuits à l'eau et par microonde sont inférieures à ceux des épinards crus ce qui indique une augmentation de l'activité antioxydante provoquée par le procédé de cuisson.

Le mode de cuisson à la vapeur a montré la plus haute valeur d'IC50 c'est-à-dire la plus faible activité antioxydante suivie par la cuisson à l'eau et la cuisson par microonde. Les IC50 des épinards sont inférieures aux IC50 du BHA, ce qui signifie que les épinards crus et cuits possèdent des activités antioxydantes inférieures à celle de l'antioxydant de référence.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Do Thi et Hwang (2015) qui ont rapporté que l'épinard cuit à la vapeur a montré une activité antioxydante supérieure à celle de l'épinard cru et l'épinard cuit à l'eau. Une étude antérieure de Zhang et Hamazu (2004) a montré qu'il n'y a pas de différences significatives entre l'activité antioxydante des épinards crus et des épinards cuits par micro-onde. Ismail *et al.* (2004) ont signalé que le pouvoir antioxydant des épinards bouillis a été semblable à celui des épinards crus. Il a constaté que, malgré la diminution des polyphénols, on remarque une augmentation du pouvoir antioxydant. Pour vérifier la contribution de ces composés dans l'activité antioxydante, une étude de corrélations entre la variation du taux des polyphénols après cuisson et l'activité antioxydante a été effectuée. Les coefficients de Pearson et les valeurs de p sont mentionnés dans le tableau 53.

Tableau 53. Corrélations entre le taux des polyphénols et l'activité antioxydante des extraits de l'épinard

	DPPH		ABTS		CUPRAC	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Cuit à l'eau	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001
Cuit à la vapeur	1	< 0,0001	1	< 0,0001	1	< 0,0001
Cuit par microonde	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001

r: coefficient de Pearson, *p* : probabilité

A l'issue de ces résultats, l'activité antioxydante semble être fortement et négativement corrélée au taux des polyphénols des épinards cuits (à l'eau et par microonde) ($r = -1$, $p < 0,0001$) et fortement et positivement corrélée au taux des polyphénols des épinards cuits par vapeur ($r = 1$, $p < 0,0001$) pour toutes les méthodes utilisées pour la détermination de l'activité antioxydante (DPPH, ABTS, CUPRAC). L'augmentation de la teneur en polyphénols a provoqué une diminution de l'activité antioxydante. Cela est peut être dû à la dégradation des composés phénoliques durant la cuisson. Les composés phénoliques subissent une décomposition due à leur exposition prolongée à la température, ce qui conduit ensuite à la diminution de la capacité antioxydante. Par conséquent, le type de composés actifs qui contribue à la capacité antioxydante d'un extrait brut est crucial dans le choix du temps d'extraction optimal (Liyana- Pathirana et Shahidi, 2005; Thoo *et al.*, 2010). Par ailleurs, Turkmen *et al.* (2005) ont montré qu'il n'y a aucune corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols totaux des épinards cuits à l'eau, à la vapeur et par microonde. Beaucoup de composés, y compris les polyphénols, la chlorophylle et les caroténoïdes influent sur l'activité antioxydante des épinards (Ligor *et al.*, 2012). Cette augmentation de l'activité est peut être attribuée à la formation de composés de Maillard qui possèdent un pouvoir antioxydant puissant (Nicoli *et al.*, 1999; Del Castillo *et al.*, 2002).

3.8. Activité anticholinestérase des extraits de l'épinard

L'effet des méthodes de cuisson (ébullition, microonde et à la vapeur) sur l'activité antiacetylcholinestérase et anti butyrylcholinestérase d'épinard a été évalué. Les résultats sont consignés dans la figure 75.

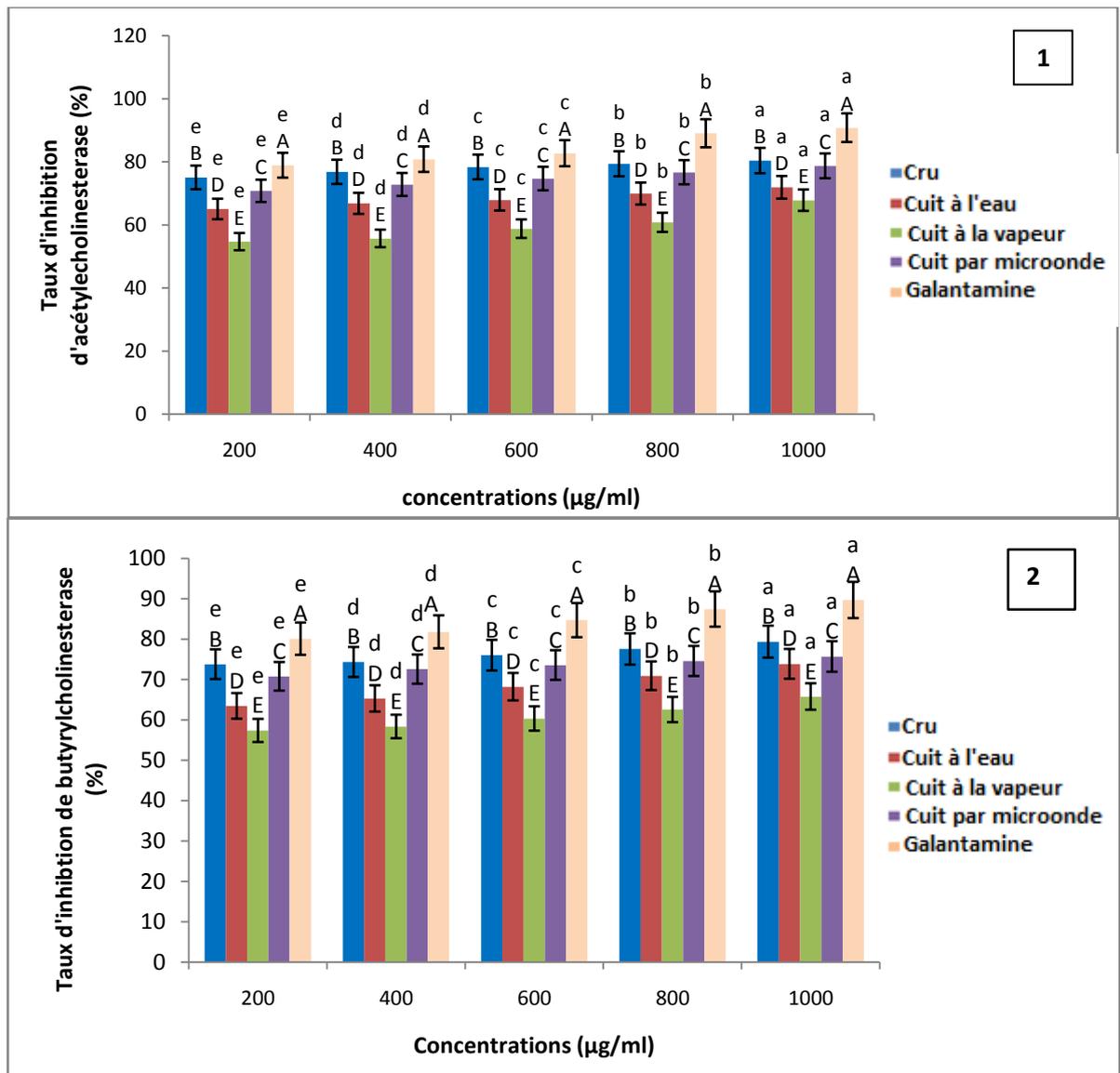


Figure 75. Evaluation de l'activité anticholinestérase des extraits de l'épinard. (1 : Activité antiacétylcholinestérase, 2 : Activité antibutyrylcholinestérase)

L'épinard a montré une forte activité anticholinestérase qui diminue après cuisson. La cuisson par microonde s'est avérée le mode le plus efficace suivi par la cuisson à l'eau et en dernière position la cuisson à la vapeur. Les IC50 des extraits et du témoin (la galantamine) ont été déterminés. Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau 54.

Tableau 54. Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase des extraits de l'épinard

	Activité antiacétylcholinestérase	Activité antibutyrylcholinestérase
Cru	34,65±0,34 ^d	39,76±0,45 ^d
Cuit à l'eau	108,65±0,54 ^b	113,65±0,05 ^b
Cuit à la vapeur	187,65±0,45 ^a	184,64±0,34 ^a
Cuit par microonde	46,67±0,67 ^c	45,76±0,23 ^c
Témoin (Galantamine)	23,67±0,09 ^e	22,56±0,09 ^e

Pour chaque test, le même exposant signifie l'absence de différence significative

Les valeurs d'IC50 des extraits des épinards cuits sont supérieures à celles des épinards crus ce qui indique une diminution de l'activité anticholinestérase par le procédé de cuisson. Le mode de cuisson à la vapeur a montré la plus haute valeur d'IC50 c'est-à-dire la plus faible activité anticholinestérase, suivi par la cuisson à l'eau et la cuisson par microonde. Les valeurs d'IC50 des épinards sont inférieures aux IC50 de la galantamine, ce qui signifie que les épinards crus et cuits possèdent des activités anticholinestérases inférieures à celle du composé de référence qui est utilisé actuellement comme médicament pour traiter la maladie d'Alzheimer. Les approches pour améliorer la fonction cholinergique ont inclus la stimulation des récepteurs cholinergiques ou le prolongement de la disponibilité de l'acétylcholine libérée dans la fente synaptique neuronale en inhibant l'hydrolyse de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase (Mehta *et al.*, 2012). Le traitement disponible actuellement, c'est-à-dire l'inhibition de l'acétylcholinestérase, est l'emploi de la rivastigmine (Ferris *et al.*, 2013), ou la galantamine (Prins *et al.*, 2014) ou le dopegézil (Andersen *et al.*, 2012).

Ces médicaments ralentissent la progression de la maladie et fournissent un soulagement symptomatique mais ne parviennent pas à un remède définitif (NICE Technology Appraisal Guidance, 2011). Boga *et al.* (2011) ont rapporté que les extraits de dichlorométhane, d'éthanol et d'eau des épinards ont des activités anticholinestérases puissantes. Wang *et al.* (2005) ont démontré que les rats qui ont reçu un régime enrichi par des épinards ont manifesté une réduction significative des symptômes d'Alzheimer.

Pour vérifier la corrélation entre la variation des taux des polyphénols par la cuisson et l'activité anti acétylcholinestérase et anti butyrylcholinestérase, un test de corrélation de *Pearson* a été effectuée. Les résultats sont enregistrés dans le tableau 55.

Tableau 55. Corrélations entre la variation des taux des polyphénols par cuisson et l'activité anticholinestérase des extraits de l'épinard

	Activité anti acetylcholinestérase		Activité anti butyrylcholinestérase	
	r	P	r	p
Cuit à l'eau	1	< 0,0001	1	< 0,0001
Cuit à la vapeur	1	< 0,0001	1	< 0,0001
Cuit par microonde	1	< 0,0001	1	< 0,0001

r: coefficient de Pearson, *p* : probabilité

Les résultats du tableau 64 montrent qu'il existe une corrélation positive entre les polyphénols totaux et l'activité anticholinestérase des épinards cuits ($r = 1$, $p < 0,0001$). Cette forte activité obtenue dans cette étude est peut être attribuée aux flavonoïdes, c'est-à-dire l'apigénine, la lutéoline et la quercétine qui sont connus par leurs fortes activités anticholinestrases. Selon Schmitt-Schillig (2005), les épinards riches en ces composés sont capables de prévenir de la maladie d'Alzheimer et cela par l'inhibition de la formation des peptides β -amyloïdes et / ou les toxicités provoquées par le stress oxydatif.

4.1. L'aubergine crue

4.1.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine crue

Le tableau 56 résume la matrice des différentes conditions d'extraction des polyphénols (A : concentration du solvant; B: temps de macération; C: temps d'ultrasonication et D : broyage) selon la conception d'expérience de *Plackett-Burman*. Les taux en composés phénoliques totaux ont été déterminés à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (Annexe 1) dont le coefficient de régression est 0,952.

Tableau 56. Matrice d'essais du plan *Plackett – Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'aubergine crue

N° d'essai	A	B	C	D	Taux des polyphénols (µg EAG/g d'extrait sec)
1	1	1	-1	1	1,081x10 ⁴
2	1	-1	1	1	0,876x10 ⁴
3	-1	1	1	1	0,908x10 ⁴
4	-1	-1	-1	1	0,907x10 ⁴
5	-1	1	-1	-1	0,567x10 ⁴
6	1	-1	-1	-1	0,570x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	1,090 x10 ⁴
8	1	1	1	-1	0,879x10 ⁴
9	1	1	-1	1	0,854 x10 ⁴
10	-1	1	1	-1	0,913x10 ⁴
11	-1	-1	1	1	0,556x10 ⁴
12	1	-1	1	-1	1,176x10 ⁴

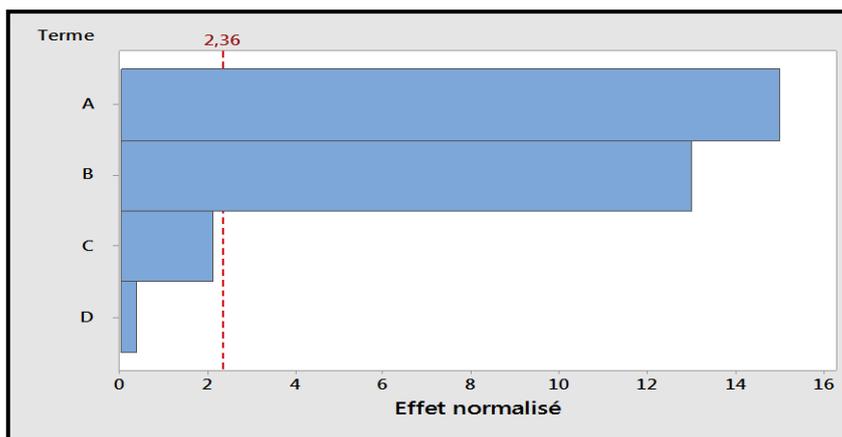
A : Concentration du solvant ; B : Temps de macération ; C: temps d'ultrasonication ; D: broyage

Les deux facteurs qui ont montré des effets significatifs sur la réponse sont la concentration du solvant et le temps de macération. Les deux autres facteurs (temps d'ultrasonication et broyage) ne possèdent pas des effets significatifs sur la réponse. Le modèle présente une valeur de P inférieure à 0,05 ce qui indique que le modèle de ce plan est significatif.

Le R² indique que le modèle explique plus de 98,28% de la variabilité de la réponse ce qui est excellent (Annexe 5). Le modèle polynomial qui prédit la réponse taux des polyphénols est exprimé en termes des codes facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 8651,8 - 1476,6 A - 1279,4 B + 209,3 C - 38,7 D$$

D'après ces résultats, les deux facteurs : concentration de solvant et temps de macération ont des effets négatifs sur la réponse « taux des polyphénols » (Annexe 5). Le diagramme de *Pareto* classe les facteurs selon leurs effets (figure 76).



A : concentration du solvant ;
 B : temps de macération ;
 C : temps d'ultrasonication
 D : Broyage

Figure 76. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés (P=0,05) des conditions d'extraction des polyphénols de l'aubergine crue

Le diagramme de *Pareto* standardisé démontre que le facteur concentration du solvant possède l'effet le plus important suivi par le temps de macération.

4.1.2. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine crue

Les deux facteurs sélectionnés par le plan de criblage sont optimisés par le plan composite centré. La matrice des essais et les réponses obtenues sont mentionnées dans le tableau 57.

Tableau 57. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'aubergine crue

N° d'essai	Niveaux du facteur concentration du solvant (A)	Niveaux du facteur temps de macération (B)	Taux des polyphénols (µg EAG/g d'extrait sec)
1	0	0	1,625x10 ⁴
2	-1	1	1,655x10 ⁴
3	-1	-1	1,814x10 ⁴
4	0	0	1,615 x10 ⁴
5	1	-1	2,034 x10 ⁴
6	1	1	1,943 x10 ⁴
7	0	0	1,650 x10 ⁴
8	-1,414	0	1,940 x10 ⁴
9	0	0	1,655 x10 ⁴
10	1,414	0	1,654 x10 ⁴
11	0	-1,414	1,938x10 ⁴
12	0	0	1,650 x10 ⁴
13	0	1,414	1,633 x10 ⁴

Les coefficients de détermination et le coefficient de détermination ajusté obtenus sont élevés (99,20% et 96,8720%) ce qui signifie que la réponse est très bien expliquée par le modèle proposé. Les résultats obtenus montrent que les termes quadratiques « AA, BB » des deux

facteurs concentration de solvant et temps de macération, l'interaction AB et le facteur temps de macération B ont des effets significatifs tandis que le facteur concentration de solvant A n'est pas significatif (Annexe 5). Le modèle polynomial qui prédit la réponse taux des polyphénols est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 79632 - 1378,4 A - 20,42 B + 7,648 A*A + 0,001763 B*B + 0,2074 A*B$$

Le diagramme de *Pareto* (figure 77) indique que le taux des polyphénols dépend principalement du terme quadratique de concentration du solvant suivi par l'interaction des deux facteurs (concentration du solvant et temps de macération), du temps de macération et du terme quadratique du temps de macération. Le terme linéaire de concentration de solvant n'est pas significatif pour ce modèle.

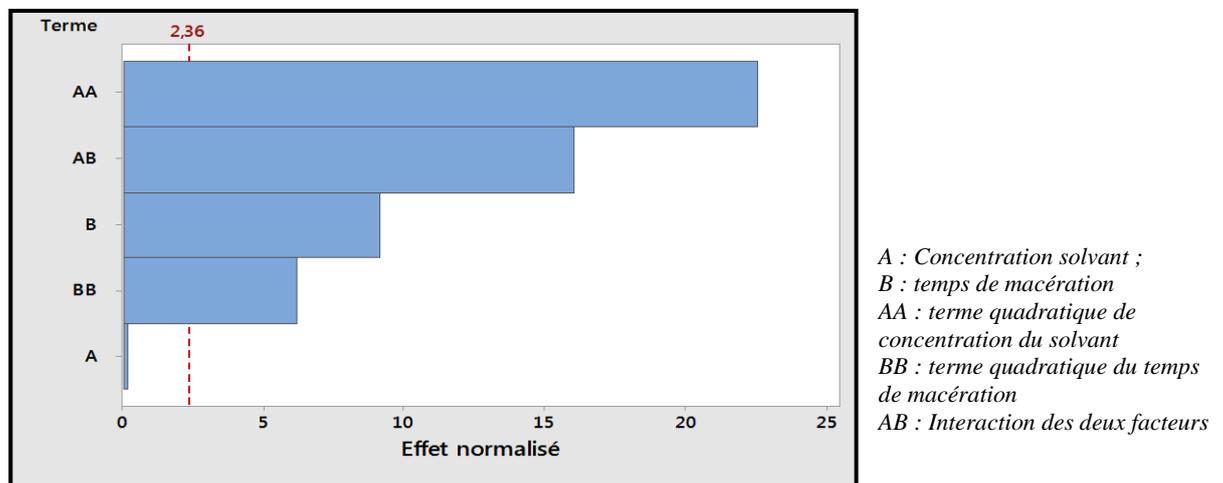


Figure 77. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine crue

La figure 78 représente la surface de réponse et la courbe d'iso-réponse. D'après ces résultats, on remarque que les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : concentration du solvant (60-63,5 %) et temps de macération (60-200 min).

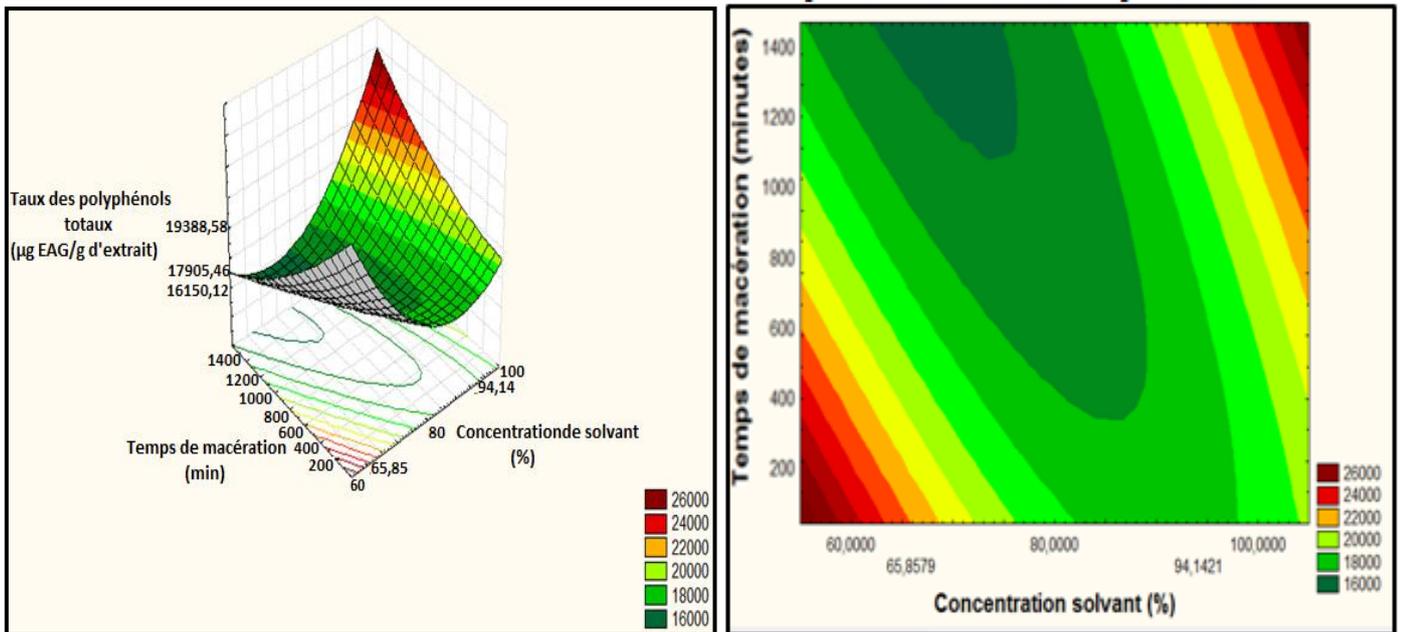


Figure 78. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction de la concentration du solvant et du temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'aubergine crue

Les valeurs optimales des facteurs et la prédiction de la réponse ont été calculées en fonction de la désirabilité 1 (figure 79).

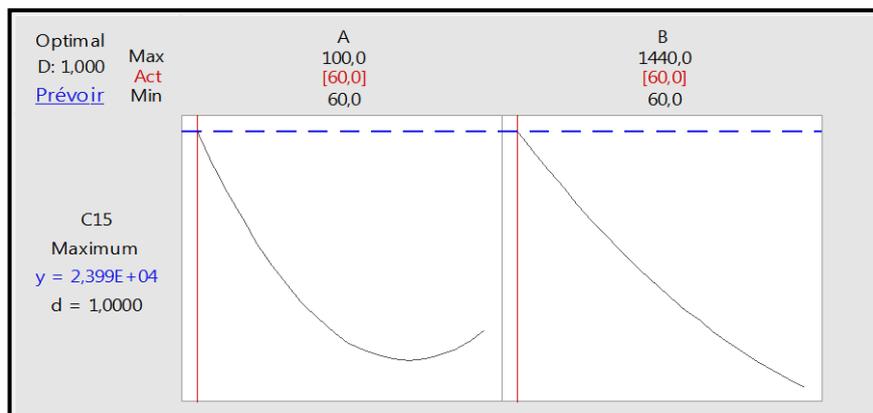


Figure 79. Optimisation de la concentration du solvant et du temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'aubergine crue en fonction de la désirabilité 1

Les conditions optimales sont comme suit: concentration du solvant (60%) et temps de macération (60min). La teneur prédite des taux polyphénols est de $2,399 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract}$ sec

4.1.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport à la concentration du solvant et au temps de macération pour l'extraction des polyphénols de l'aubergine crue

Les valeurs optimales obtenues ont été vérifiées expérimentalement (tableau 58).

Tableau 58. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'aubergine crue

Points	Taux de polyphénols prédit (μg EAG/g d'extrait sec)	Taux de polyphénols mesuré (μg EAG/g d'extrait)
(60%, 60min)	$2,399 \times 10^4$	$2,400 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

4.2. L'aubergine cuite à l'eau

4.2.1. Plan de criblage et sélection des conditions de cuisson à l'eau et d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine

La conception de la matrice de *Plackett-Burmann* a été réalisée en tenant compte des sept facteurs (A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication et G : broyage). Les réponses obtenues des 12 essais sont enregistrées dans le tableau 67.

Tableau 59. Matrice d'essais du plan *Plackett-Burmann* pour la détermination du taux en polyphénols totaux de l'aubergine cuite à l'eau

N° d'essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols (μg EAG/g d'extrait sec)
1	1	1	1	-1	1	1	-1	$1,784 \times 10^4$
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1	$1,764 \times 10^4$
3	1	-1	1	-1	-1	-1	1	$1,094 \times 10^4$
4	1	-1	1	1	-1	1	-1	$0,987 \times 10^4$
5	1	1	-1	1	1	-1	1	$1,574 \times 10^4$
6	-1	-1	-1	1	1	1	-1	$0,868 \times 10^4$
7	-1	1	1	1	-1	1	1	$1,503 \times 10^4$
8	-1	1	1	-1	1	-1	-1	$0,675 \times 10^4$
9	-1	-1	1	1	1	-1	1	$1,254 \times 10^4$
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	$1,106 \times 10^4$
11	1	-1	-1	-1	1	1	1	$1,553 \times 10^4$
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	$1,191 \times 10^4$

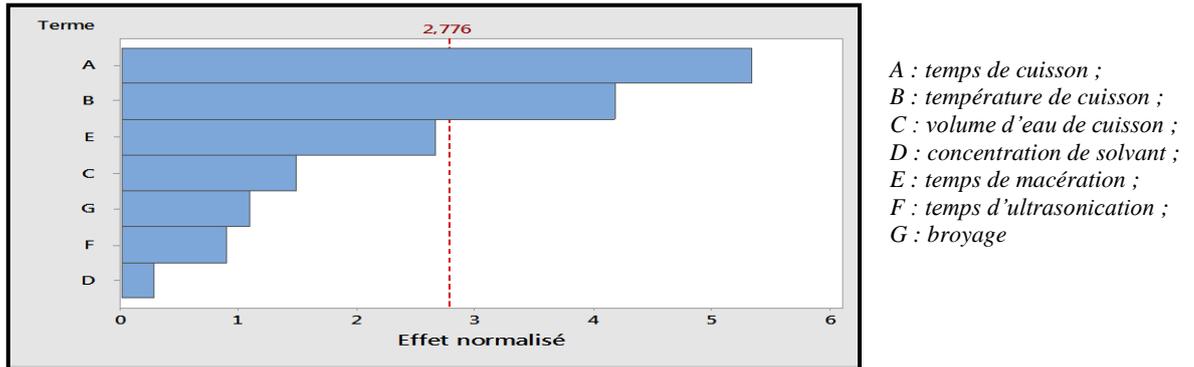
A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ;
D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage

Le modèle prédit est significatif ($P < 0,05$). Les deux facteurs qui ont montré des effets significatifs sur la réponse sont le temps de cuisson et la température de cuisson. Les coefficients de détermination et de détermination ajusté obtenus sont élevés (93,48% et 82,06%) ce qui signifie que la réponse est très bien expliquée par le modèle proposé (Annexe 5).

Le modèle polynomial qui prédit la réponse taux des polyphénols est exprimé en termes des facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 12799 - 2323 A - 1818 B - 646 C + 124 D + 1159 E - 388 F + 477 G$$

Les deux facteurs (temps et température de cuisson) ont des effets négatifs sur la réponse taux des polyphénols (Annexe5). Le diagramme de *Pareto* (figure 80) montre que le taux des polyphénols dépend principalement du temps de cuisson suivi par la température de cuisson. La concentration du solvant, le temps de macération, le temps d’ultrasonication et le broyage ne présentent pas des effets significatifs sur la réponse.



4.2.2. Modélisation et optimisation des conditions de la cuisson à l'eau de l'aubergine

Les deux facteurs (temps de cuisson et température de cuisson) ont été sélectionnés par le plan de criblage pour effectuer l'optimisation (tableau 60).

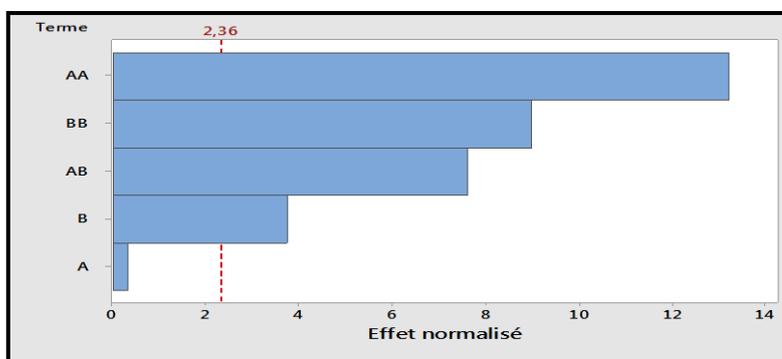
Tableau 60. Matrice d'essais du plan composite centré pour la détermination du taux en polyphénols totaux de l'aubergine cuite à l'eau

N° d'essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur température de cuisson (B)	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
1	0	0	$1,133 \times 10^4$
2	-1	1	$1,343 \times 10^4$
3	-1	-1	10010,96
4	0	0	$1,140 \times 10^4$
5	1	-1	$1,609 \times 10^4$
6	1	1	$1,233 \times 10^4$
7	0	0	$1,119 \times 10^4$
8	-1,414	0	$0,810 \times 10^4$
9	0	0	$1,133 \times 10^4$
10	1,414	0	$1,233 \times 10^4$
11	0	-1,414	$1,242 \times 10^4$
12	0	0	$1,133 \times 10^4$
13	0	1,414	$0,817 \times 10^4$

Quatre termes ayant une valeur p inférieure à 0,05 indiquant ainsi un effet significatif. Ces facteurs sont : les termes quadratiques des deux facteurs (temps de cuisson et température de cuisson), l'interaction entre les deux facteurs et le terme linéaire du facteur température de cuisson. Le R² indique que le modèle explique plus de 98,11% de la variabilité de la réponse (Annexe 5). Le modèle polynomial, qui prédit la réponse taux des polyphénols, est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 174945 + 4527A - 4548B - 41,70 A*A + 28,36 B*B - 31,69 A*B$$

Le diagramme de *Pareto* (figure 81) montre que le taux des polyphénols dépend principalement des termes quadratiques des deux facteurs (temps de cuisson et température de cuisson), l'interaction entre les deux facteurs et le terme linéaire du facteur température de cuisson.



A : temps de cuisson;
 B : température de cuisson
 AA : carré du temps de cuisson
 BB : carré de de la température de cuisson
 AB : interaction entre les deux facteurs

Figure 81. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés (p=0,05) des conditions de cuisson à l'eau de l'aubergine

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponse sont présentées dans la figure 82.

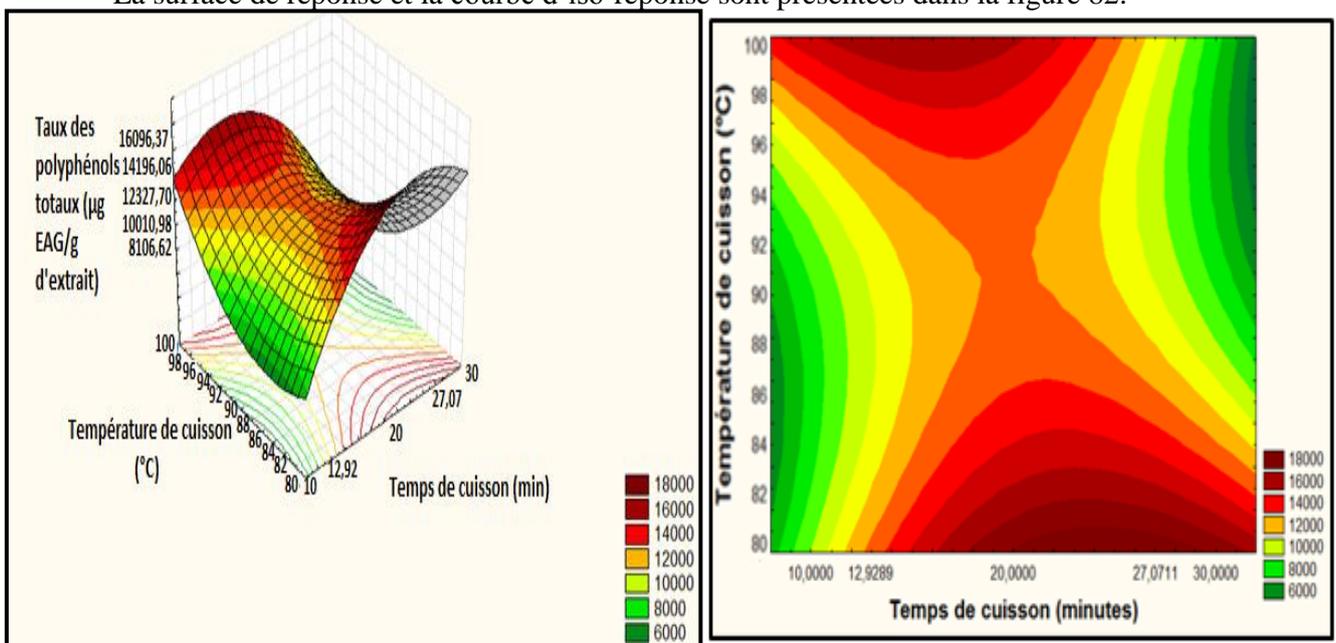


Figure 82. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction du temps et de la température de cuisson à l'eau de l'aubergine

D'après ces résultats, on remarque que les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (20- 27,07 min) et température de cuisson (80-81°C).

L'optimisation des deux facteurs a été réalisée en fonction d'une désirabilité de 1. Les résultats obtenus sont montrés dans la figure 83.

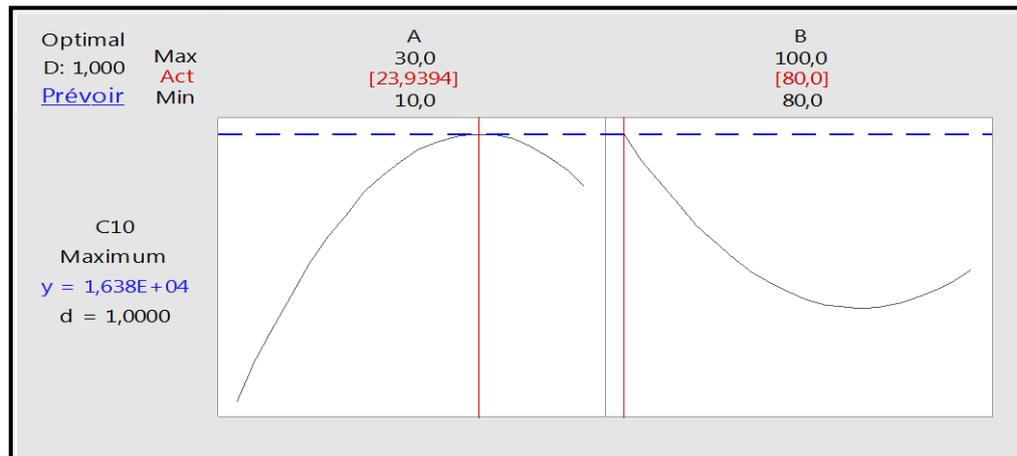


Figure 83. Optimisation de la température et du temps de la cuisson à l'eau de l'aubergine en fonction de la désirabilité

Les conditions optimales obtenues sont comme suit: temps de cuisson (24 min.) et température de cuisson (80°C). La teneur prédite des taux polyphénols est de $1,638 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract sec.}$

4.2.4. Confirmation du modèle optimisé par rapport à la température et au temps de la cuisson à l'eau de l'aubergine

Les valeurs optimales obtenues ont été vérifiées expérimentalement. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau 61.

Tableau 61. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'aubergine cuite à l'eau

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(24 min, 80°C)	$1,638 \times 10^4$	$1,639 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

4.3. L'aubergine cuite à la vapeur

4.3.1. Plan de criblage et sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine

Les résultats des essais de la matrice de Plackett –Burmman, en termes des facteurs testés (A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : Temps de macération ; F : temps d'ultrasonication et G : broyage) sont récapitulés dans le tableau 62.

Tableau 62. Matrice d'essais du plan *Plackett-Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'aubergine cuite à la vapeur

N° d'essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols (µg EAG/g extrait sec)
1	1	1	1	-1	1	1	-1	1,277x10 ⁴
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1,289x10 ⁴
3	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1,026x10 ⁴
4	1	-1	1	1	-1	1	-1	1,006x10 ⁴
5	1	1	-1	1	1	-1	1	1,554 x10 ⁴
6	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1,366 x10 ⁴
7	-1	1	1	1	-1	1	1	1,128 x10 ⁴
8	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1,376 x10 ⁴
9	-1	-1	1	1	1	-1	1	1,675x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1,765x10 ⁴
11	1	-1	-1	-1	1	1	1	1,087x10 ⁴
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1,087x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage

La valeur de coefficient de détermination R² indique que le modèle explique plus de 89,85% de la variabilité de la réponse. La valeur de *P* pour ce modèle est inférieure à 0,05 ce qui indique que le modèle est significatif. Les variables ayant un effet significatif (*p* < 0,05) sur la réponse « taux des polyphénols » sont la température de cuisson et le temps d'ultrasonication.

L'équation polynomiale pour la réponse (taux des polyphénols) est représentée comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 13035 + 627 A - 1451 B - 3 C - 431 D - 780 E + 1214 F + 763 G$$

Le facteur température de cuisson présente un effet négatif sur la réponse tandis que le temps d'ultrasonication présente un effet positif (Annexe 5).

Le diagramme de *Pareto* (figure 84) montre que le taux des polyphénols dépend principalement de la température de cuisson suivi par le temps d'ultrasonication. Les effets associés au volume d'eau de cuisson, le temps de cuisson, le temps de macération et la concentration du solvant et le broyage ne sont pas significatifs dans ce modèle.

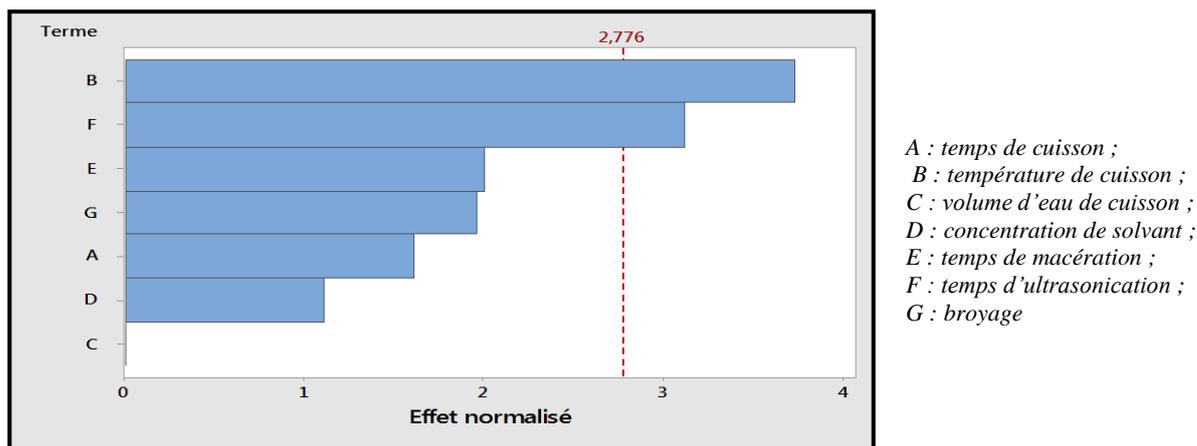


Figure 84. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) pour les conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à la vapeur de l'aubergine

4.3.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols de l'aubergine

Les deux facteurs sélectionnés par le plan de criblage sont optimisés par le plan composite centré (tableau 63).

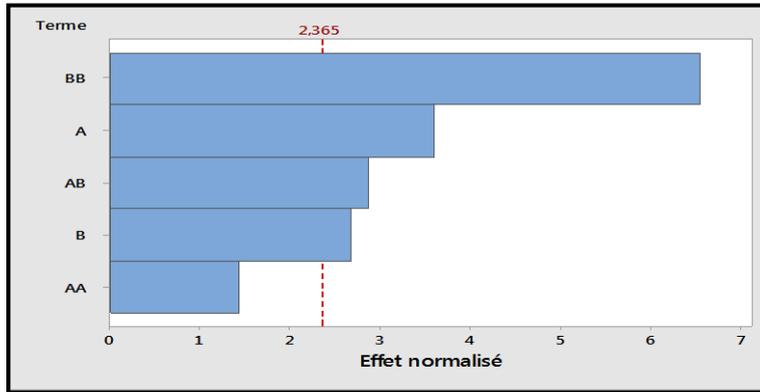
Tableau 63. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols de l'aubergine cuite à la vapeur

N° d'essai	Niveaux du facteur température de cuisson (A)	Niveaux du facteur temps d'ultrasonication (B)	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
1	0	0	$1,838 \times 10^4$
2	-1	1	$0,979 \times 10^4$
3	-1	-1	$1,513 \times 10^4$
4	0	0	$1,727 \times 10^4$
5	1	-1	$1,515 \times 10^4$
6	1	1	$1,228 \times 10^4$
7	0	0	$1,700 \times 10^4$
8	-1,414	0	$1,495 \times 10^4$
9	0	0	$1,786 \times 10^4$
10	1,414	0	$1,319 \times 10^4$
11	0	-1,414	$1,228 \times 10^4$
12	0	0	$1,783 \times 10^4$
13	0	1,414	$1,838 \times 10^4$

La valeur de R^2 est de 91,66% ce qui signifie que le modèle mathématique correspond bien à la réponse. Les coefficients de détermination obtenus sont élevés ce qui indique une réponse satisfaisante par rapport à l'ajustement des données du modèle de régression quadratique (Annexe 5). Le modèle polynomial exprimé en termes des codes facteurs est comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 109755 - 2461 A + 323 B + 10,14 A^2 - 20,52 B^2 + 17,85 A \cdot B$$

La température de cuisson (A) et le temps d'ultrasonication (B) ont affecté significativement le taux des polyphénols totaux. Le carré de temps d'ultrasonication (BB) a affecté significativement la réponse tandis que AA n'a présenté aucune différence significative. L'analyse des interactions entre les deux facteurs a montré que AB a eu un effet significatif sur la réponse (taux des polyphénols) ces résultats sont représentés dans le diagramme de *Pareto* (figure 85).



A : température de cuisson ;
 B : temps d'ultrasonication
 AA : carré de température de cuisson
 BB : carré de temps d'ultrasonication
 AB : interaction des deux facteurs

Figure 85. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à la vapeur de l'aubergine

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponse pour le taux des polyphénols en fonction de la température de cuisson et le temps d'ultrasonication, sont représentées dans la figure 86.

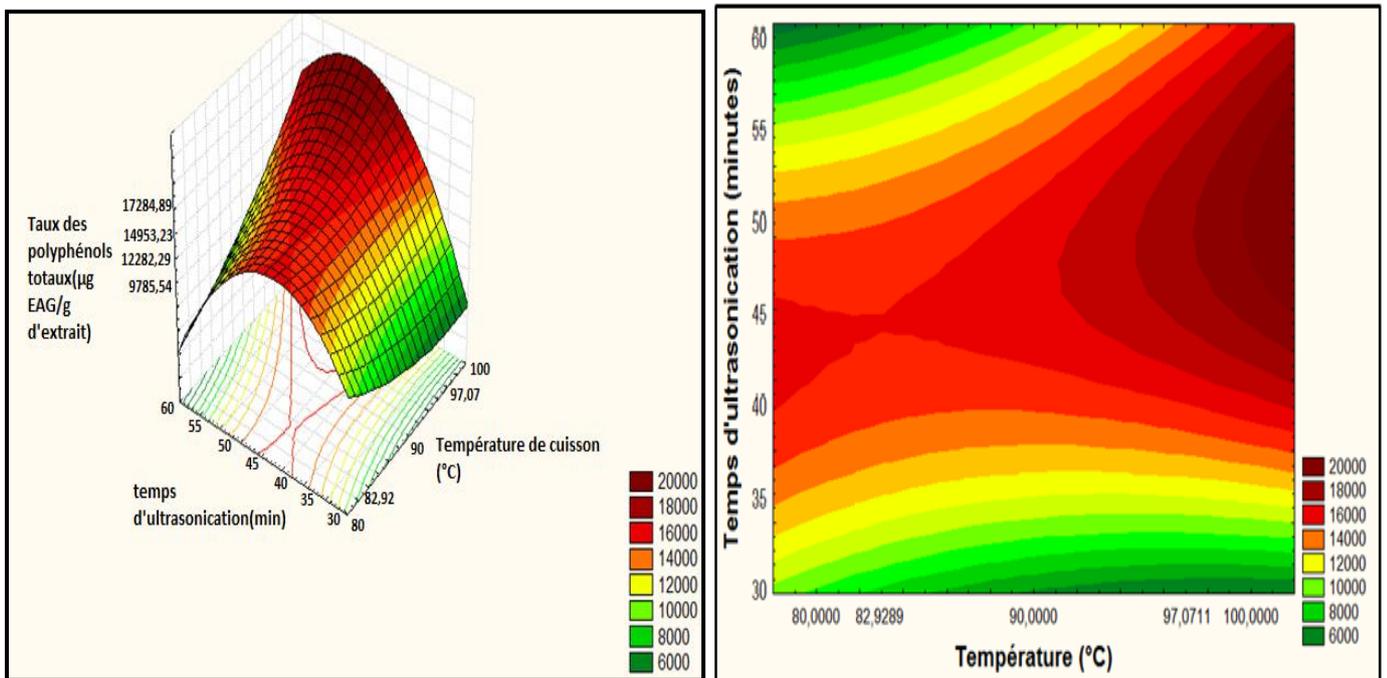


Figure 86. Surface de réponse du taux des polyphénols totaux en fonction du temps d'ultrasonication et la température de cuisson à la vapeur de l'aubergine

D'après ces résultats, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se situent dans la zone rouge limitée par les points : température de cuisson (97,07-100°C) et temps d'ultrasonication

(45-60min). Les valeurs optimales des deux facteurs ont été calculées à une désirabilité de 1 (figure 87).

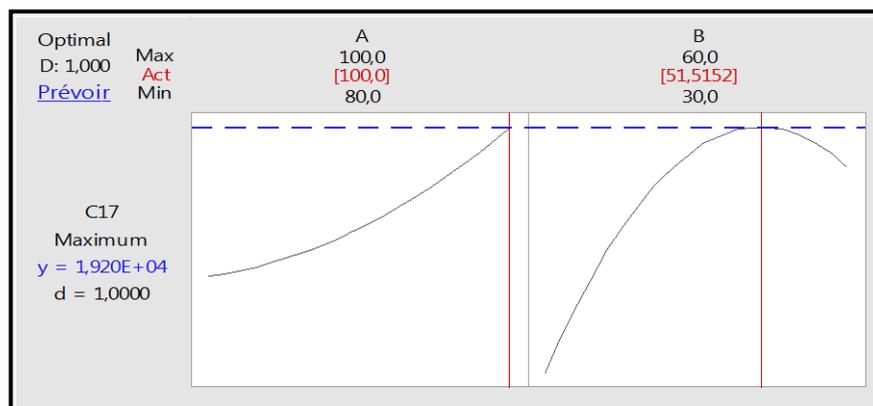


Figure 87. Optimisation du temps d'ultrasonication et de la température de cuisson à la vapeur de l'aubergine en fonction de la désirabilité

Les conditions optimales obtenues sont comme suit: température de cuisson (100°C) et temps d'ultrasonication (51,51min), la valeur prédite de la réponse taux des polyphénols est de $1,92 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract sec}$.

4.3.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps d'ultrasonication et à la température de cuisson à la vapeur de l'aubergine

Les valeurs optimales obtenues ont été vérifiées expérimentalement. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau 64.

Tableau 64. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'aubergine cuite à la vapeur

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(100°C, 51,51)	$1,92 \times 10^4$	$1,88 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

4.4. L'aubergine cuite par microonde

4.4.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de la cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols totaux de l'aubergine

Les résultats des 12 essais de la matrice du plan *Plackett-Burmann* en fonction des sept facteurs (A : temps de cuisson; B : puissance; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication et G : broyage) sont regroupés dans le tableau 65.

Tableau 65. Matrice d'essais du plan *Plackett-Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'aubergine cuite par microonde

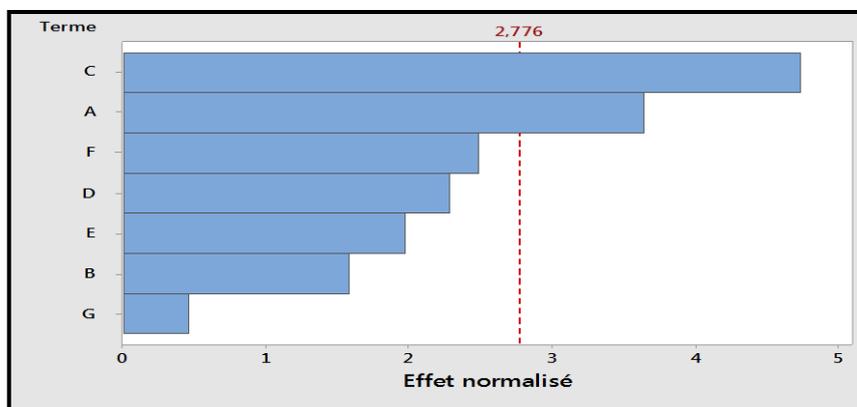
N° d'essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols (µg EAG/g MS)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	1,890 x10 ⁴
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	2,209x10 ⁴
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1,564x10 ⁴
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1,00 x10 ⁴
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	1,456x10 ⁴
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	2,345x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,987x10 ⁴
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	2,287x10 ⁴
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	1,498x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1,865x10 ⁴
11	1	1	1	-1	1	1	-1	1,235x10 ⁴
12	1	1	-1	1	1	-1	1	1,798x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B : puissance ; C : volume d'eau de cuisson ;
 D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage

Les résultats obtenus montrent que la valeur de R² est de 93,05% ce signifie que le modèle explique plus de 93,05% % de la variabilité de la réponse. Le modèle mathématique prédit est significatif (p <0 ,05). Les variables ayant un effet significatif (p < 0,05) sur la réponse « taux des polyphénols » sont : le temps de cuisson et le volume d'eau ajoutée pendant la cuisson. L'équation polynomiale pour la réponse (taux des polyphénols) est représentée comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 16782 - 2155 A + 932 B + 2801 C - 1348 D - 1163 E + 1472 F + 272 G$$

Le facteur temps de cuisson présente un effet négatif sur la réponse tandis que le volume d'eau présente un effet positif. Le diagramme de *Pareto* (figure 88) apporte les mêmes conclusions que les valeurs-p. Il montre que le taux des polyphénols dépend principalement du volume d'eau ajouté suivi par le temps de cuisson.



A : temps de cuisson ;
 B : puissance du microonde
 C : volume d'eau de cuisson ;
 D : concentration de solvant ;
 E : temps de macération ;
 F : temps d'ultrasonication ;
 G : broyage

Figure 88. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés (p=0,05) pour les conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson par microonde de l'aubergine

4.4.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson par microonde de l'aubergine

L'optimisation des paramètres significatifs de la cuisson (temps de cuisson et volume d'eau ajouté lors de la cuisson) pour obtenir un maximum de polyphénols totaux a été réalisée par le plan de composite centré (tableau 66).

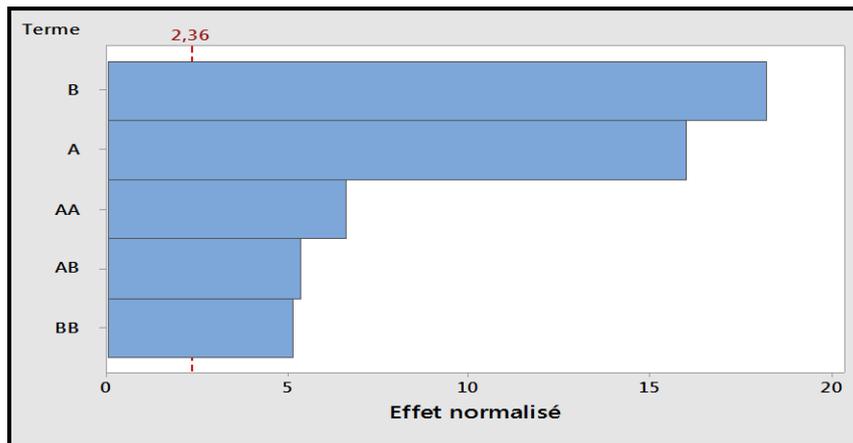
Tableau 66. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de l'aubergine cuite par microonde

N° d'essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur volume d'eau ajouté (B)	Taux des polyphénols (µg EAG/g d'extrait sec)
1	0	0	1,555x10 ⁴
2	-1	1	2,184 x10 ⁴
3	-1	-1	1,655x10 ⁴
4	0	0	1,545 x10 ⁴
5	1	-1	1,555 x10 ⁴
6	1	1	2,180 x10 ⁴
7	0	0	1,326 x10 ⁴
8	-1,414	0	1,865x10 ⁴
9	0	0	1,461 x10 ⁴
10	1,414	0	1,522 x10 ⁴
11	0	-1,414	1,087 x10 ⁴
12	0	0	1,548 x10 ⁴
13	0	1,414	1,88 x10 ⁴

Le modèle mathématique explique 98,98% de la réponse ce qui est excellent. Les coefficients de détermination obtenus sont élevés ce qui indique une réponse satisfaisante par rapport de l'ajustement des données du modèle de régression quadratique (Annexe 5). Le modèle polynomial prédit est exprimé comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 366120 - 37920 A - 1389 B + 1003 A*A + 4,399 B*B + 80,7 A*B$$

Les résultats obtenus montrent que les cinq termes ont des effets significatifs sur la réponse. Le diagramme de *Pareto* (figure 89) montre que le taux des polyphénols dépend principalement du facteur volume d'eau ajouté, suivi par les facteurs : temps de cuisson, terme quadratique du temps de cuisson, interaction des deux facteurs et terme quadratique du volume d'eau.



A : temps de cuisson;
 B : volume d'eau ajouté
 AA : carré du temps de cuisson
 BB : carré de volume d'eau de cuisson
 AB : Interaction entre le temps de cuisson et le volume d'eau de cuisson

Figure 89. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés (p=0,05) des conditions de cuisson par microonde de l'aubergine

La surface de réponse et les courbe d'iso réponse sont présentées dans la figure 90.

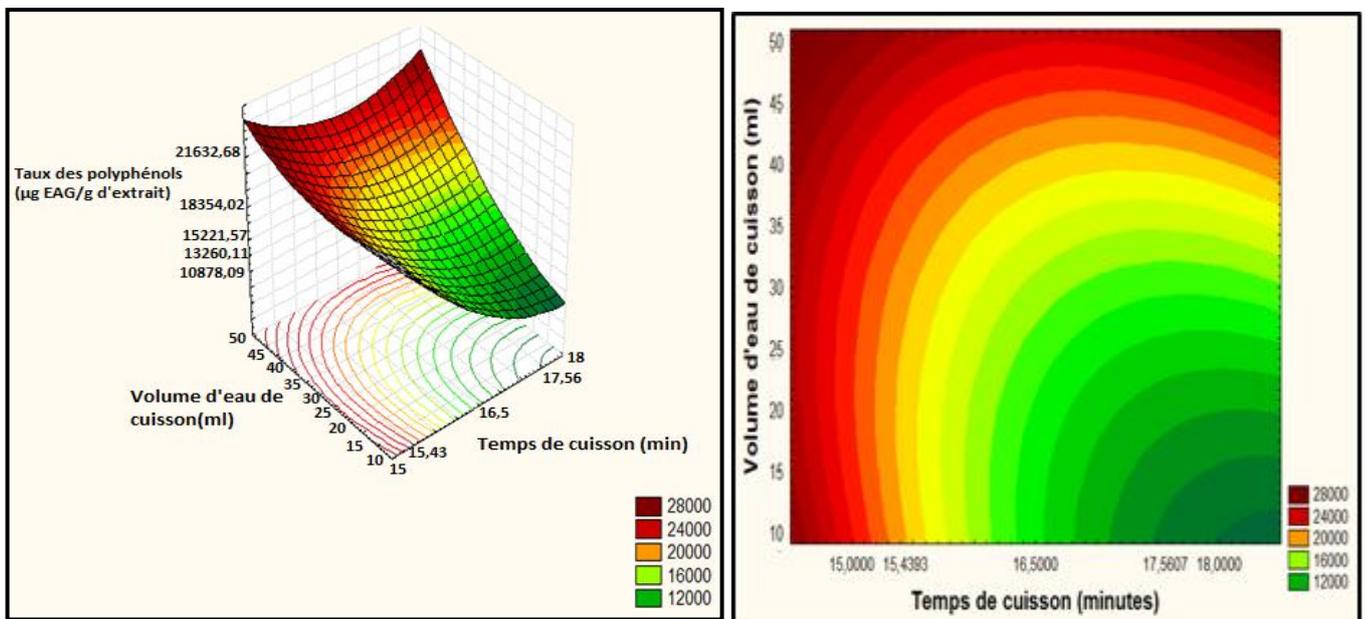


Figure 90. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction du volume d'eau et le temps de cuisson par microonde de l'aubergine

D'après la figure 90, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (15-15,2 min) et volume d'eau (48-50 ml). Les valeurs optimales des facteurs ont été calculées à une désirabilité de 1. Les résultats obtenus sont montrés dans la figure 91.

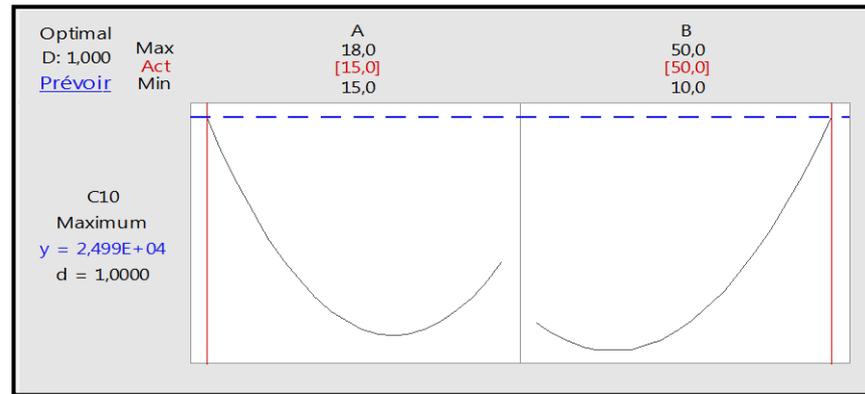


Figure 91. Optimisation du volume d'eau ajoutée et du temps de cuisson par microonde de l'aubergine en fonction de la désirabilité 1.

Les conditions optimales obtenues sont comme suit: temps de cuisson (15 min) et volume d'eau ajouté (50ml). La teneur prédite des taux polyphénols est de $2,499 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract sec}$.

4.4.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport au volume d'eau ajoutée et au temps de cuisson par microonde de l'aubergine

Les valeurs optimales obtenues ont été vérifiées expérimentalement. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 67.

Tableau67. Taux de polyphénols prédit et mesuré de l'aubergine cuite par microonde

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(15min, 50ml)	$2,499 \times 10^4$	$2,498 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

4.5.Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'aubergine

Les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes des aubergines crues et cuites sont mentionnés dans la figure 92.

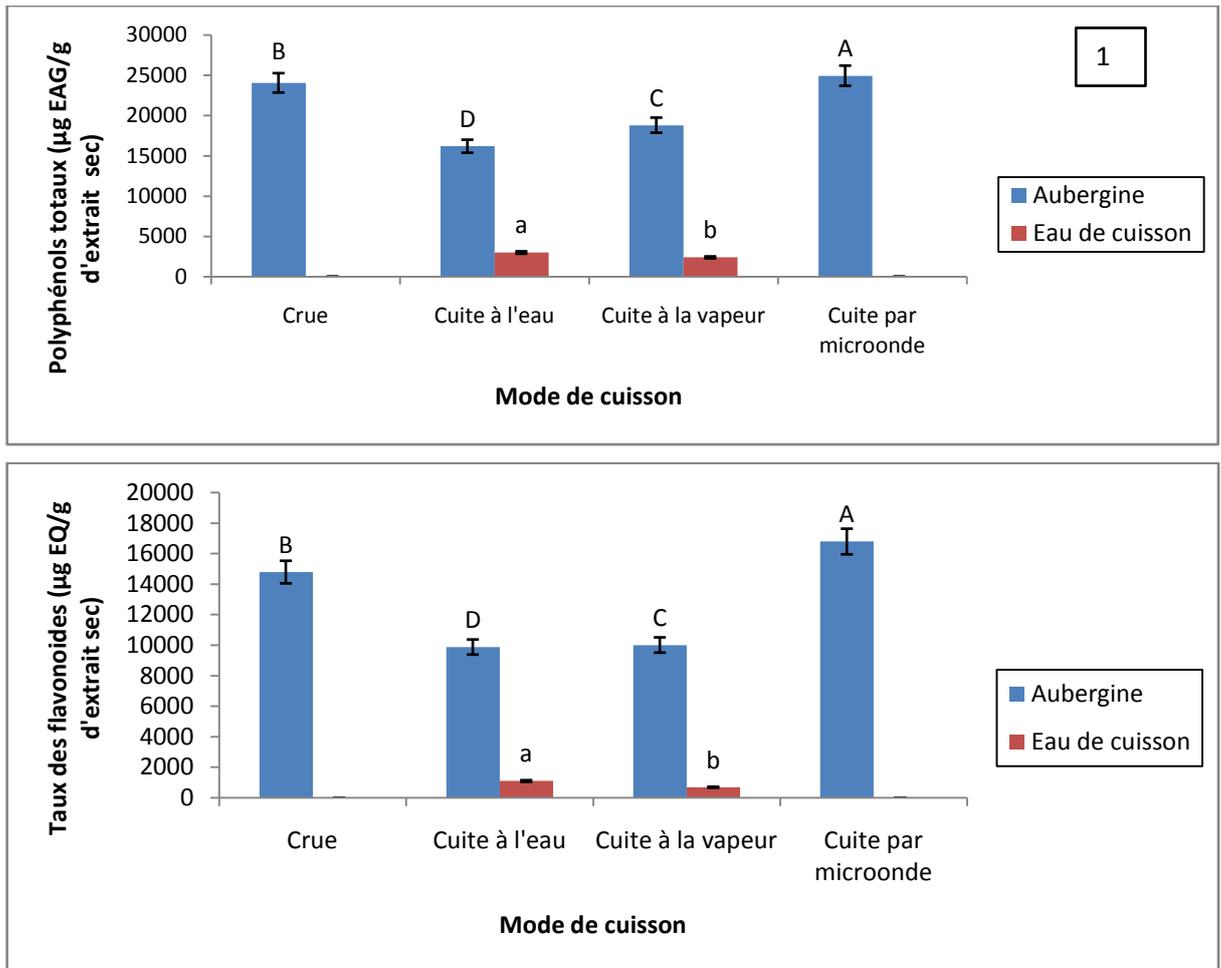


Figure 92. Taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de l'aubergine (1 :Polyphénols totaux, 2 : flavonoïdes)

A l'issue des résultats obtenus, l'aubergine semble être riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Les teneurs obtenues sont de 24000 µg EAG/ g d'extrait sec et 14789 EQ µg EAG/ g d'extrait sec respectivement.

Lima *et al.* (2008), Raigón *et al.* (2010) et Zambrano-Moreno *et al.* (2015) ont également signalé des teneurs élevées en polyphénols et en flavonoïdes dans l'aubergine. Zambrano-Moreno *et al.* (2015) ont montré que la teneur en polyphénols est de 38,95 mg EAG /100 g du poids frais. Raigón *et al.* (2008) ont obtenu une teneur de 48,26 mg EAG /100 g du poids frais, bien que ces auteurs aient étudié plusieurs variétés différentes d'aubergines qui n'incluent pas la variété utilisée dans cette étude.

Dans le but d'étudier les fluctuations des polyphénols au cours de développement de trois variétés d'aubergines, Esteban *et al.* (1992) ont constaté que les valeurs les plus élevées des polyphénols totaux ont été atteintes à la maturation physiologique. Les teneurs obtenues sont de

130, 160 et 200 mg EAG/100g du poids frais pour les variétés 'semi-ronde dépouillée ', 'ronde noire, logue noire ', respectivement.

Par comparaison à d'autres travaux, nos résultats sont différents. Cette différence pourrait être due à plusieurs facteurs notamment le standard polyphénolique utilisé pour l'expression des résultats, la variété d'aubergine étudiée, le génotype et les conditions pédoclimatiques de leur culture. A titre d'exemple, Niño-Medina *et al.* (2017) ont analysé les composés polyphénoliques de cinq types d'aubergines commercialisés provenant de différents pays et cultivés en Mexique. Les teneurs en polyphénols totaux obtenues sont de 1350 à 2049 mg d'équivalents d'acide chlorogénique /100 g du poids frais. De même, Ninfalli *et al.* (2005) ont évalué le contenu des composés phénoliques de deux variétés d'aubergines «*Beauté*» et «*Violetta Lunga*», ils ont signalé des teneurs de 57 et 64 mg d'équivalents d'acide caféique/ 100 g du poids frais respectivement.

Dans le même contexte, San José *et al.* (2013) ont étudié la composition chimique de sept variétés d'aubergines, se caractérisant par des fruits de différentes formes (longue, ovale, semi longue) et couleurs (violette foncée, violette, blanches avec rayures violettes et blanche) d'aubergine. Ces auteurs ont trouvé des teneurs qui varient de 41 à 81 mg d'équivalent d'acide chlorogénique /100 g du poids frais. Kaur *et al.* (2014) ont évalué teneur en polyphénols totaux de 34 génotypes d'aubergines indiennes (8 sauvages, 4 vertes, 2 blanches et 20 violettes). Ils ont constaté une grande variabilité de teneurs, comprises entre 22-234, 44-90, 50-56 et 22-73mg EAG / 100 g du poids frais pour les génotypes sauvages, verts, blancs et pourpres respectivement. Ils ont conclu que la plupart des génotypes sauvages représentent un germoplasme précieux pour les composés bioactifs par rapport aux génotypes commercialisés.

Concernant les taux en flavonoïdes obtenus des aubergines crues, ils sont équivalents à 14789 µg EQ / g d'extrait sec. Cette valeur est nettement différente de celles obtenues par d'autres auteurs. De même, cette différence pourrait être due à plusieurs facteurs notamment le solvant d'extraction et le standard utilisés pour l'expression des résultats, en plus des facteurs génotypiques et pédoclimatiques. Bor *et al.* (2006) ont effectué l'extraction avec l'eau, ils ont trouvé une teneur totale en flavonoïdes plus élevée, équivalent à 1733 mg EQ / 100 g du poids frais. D'autres auteurs ont utilisé la catéchine comme standard polyphénolique au lieu de la quercétine, notamment Akanitapichat *et al.* (2010) qui ont rapporté que les teneurs en flavonoïdes de cinq variétés d'aubergine de Thaïlande varient de 1991 à 3954 mg EC/ 100 g du poids frais et Kaur *et al.* (2014) cités précédemment ont quantifié la teneur en flavonoïdes de 34 génotypes d'aubergines indiennes, ils ont signalé des teneurs allant de 5 à 26 mg de EQ / 100 g du poids frais chez les génotypes sauvages, 6 à 12 mg de EQ/ 100 g dans les génotypes verts, 9 à 11 mg EQ /

100 g du poids frais chez les géotypes blancs et 3 à 10 mg d'EQ / 100 g du poids frais dans les géotypes pourpres.

La cuisson à l'eau et à la vapeur a diminué la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Les teneurs en polyphénols totaux obtenues sont de 16390 et 18800 µg EAG/g d'extrait sec respectivement. Cependant, les teneurs en flavonoïdes sont de 9876 et 10008,7 µg EQ/ g d'extrait secs pour les deux échantillons d'aubergines cuites à l'eau et à la vapeur respectivement.

L'analyse des eaux de cuisson montre qu'elles contiennent des quantités non négligeables de polyphénols totaux et de flavonoïdes, résultants du phénomène de diffusion. Les teneurs en polyphénols totaux enregistrées dans les eaux de cuisson des deux modes (par ébullition et à la vapeur) sont de 3006 et 2400 µg EAG/g d'extrait sec, respectivement. Tandis que les teneurs en flavonoïdes obtenues dans ces eaux sont de 1098,78 et 689,23 µg EQ/ g d'extrait secs, respectivement. Cette réduction observée pendant la cuisson est due soit à la destruction de ces composés, soit aux réarrangements chimiques telles que les liaisons formées entre les composés phénoliques avec d'autres substances organiques (Volf *et al.*, 2014 ; Leticia *et al.*, 2017). De plus, les températures élevées peuvent augmenter la perméabilité des membranes facilitant ainsi la lixiviation des composés phénoliques et cela est confirmé par l'obtention des quantités considérables des composés phénoliques dans les eaux de cuisson des aubergines à l'eau et à la vapeur (Leticia *et al.*, 2017).

Les résultats enregistrés dans la présente étude sont différents de ceux obtenus par Lo scalzo *et al.* (2010) et Chumyam *et al.* (2013) qui ont trouvé une augmentation de la teneur des polyphénols après cuisson à l'eau et à la vapeur

La cuisson a provoqué une augmentation du contenu en composés phénoliques et en flavonoïdes des aubergines cuites par microonde. Les teneurs obtenues en polyphénols et en flavonoïdes sont de 24989 µg EAG/g et 16789,89 µg EQ/ g d'extrait sec respectivement. Cela peut être expliqué par le fait que les polyphénols peuvent se diffuser des tissus végétaux mais restent conservés dans les cellules des aubergines cuites.

En se référant à la bibliographie, Gómez-Mascaraque *et al.* (2017) ont montré que la quantité de tous les composés phénoliques liés aux cellules a considérablement augmenté après cuisson et les polyphénols restent encapsulés dans la matrice végétale.

Selon Inoue *et al.* (2010) et Jawad et Langrish, (2012), le traitement par microonde provoque la rupture des cellules végétales ce qui provoque la libération des composés phénoliques.

Cependant, Zaro *et al.*, (2015) ont signalé une rétention différentielle de ces composés dans les géotypes d'aubergines après cuisson et traitement.

Zambrano-Moreno *et al.* (2015) ont rapporté que les polyphénols solubles, hydrolysables et les flavonoïdes ont augmenté lorsque l'aubergine a été soumise à des traitements thermiques. La teneur en polyphénols a augmenté jusqu'à près de 60% après l'ébullition, et jusqu'à 69% pour les aubergines cuites à la vapeur. Braga *et al.* (2011) ont rapporté que la teneur en polyphénols totaux d'aubergine bouillie avait augmenté de 77% par rapport à l'aubergine fraîche.

Ces augmentations sont dues à la libération de polyphénols qui se produisent suite à la destruction thermique des parois cellulaires et des compartiments intracellulaires. En outre, un contenu accru de polyphénols résulte de la réduction de l'oxydation des polyphénols qui se produit par l'inactivation thermique de l'oxydation enzymatique (Mennella *et al.*, 2010 ; Braga, *et al.*, 2011).

4.6. Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) des extraits de l'aubergine

Les résultats de la quantification et l'identification des composés phénoliques par LC-MS /MS sont consignés dans la figure 93 et le tableau 68.

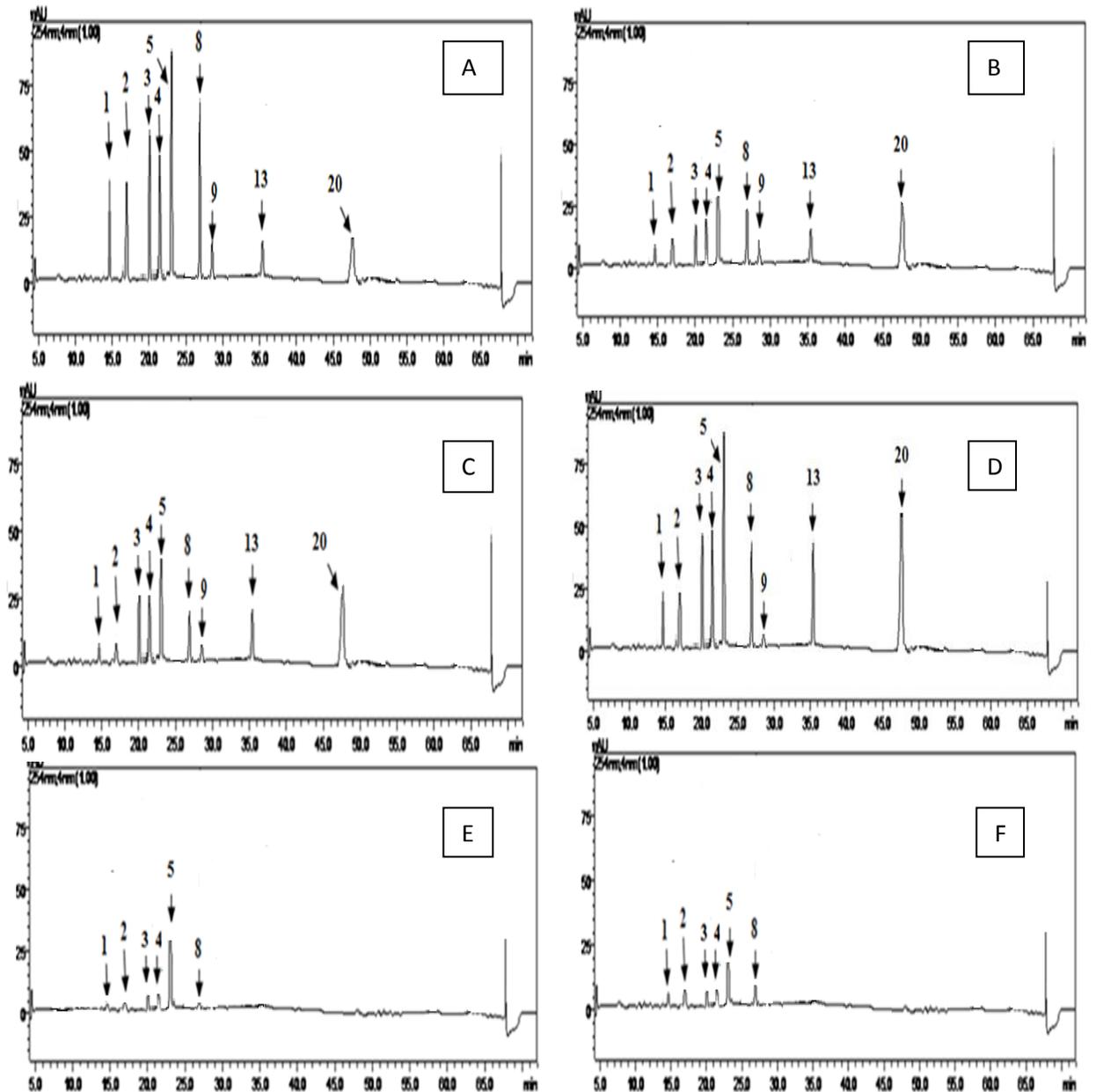


Figure 93. Analyse LC-MS /MS des extraits de l'aubergine

A : aubergine crue, B : Cuite à l'eau, C : Cuite à la vapeur, D, Cuite par microonde, E : eau de cuisson (ébullition), F : eau de cuisson (à la vapeur) acide quinique, 2: acide malique, 3: acide ferrulique, 4: acide gallique, 5: acide chlorogénique, 6: acide protocatechuique, 7: acide tannique, 8: acide caféique, 9: vanilline, 10: p-Coumaricacide, 11: Rosmarinic Acide 12: Hesperidine, 13: Rutine, 14: Hyperoside, 15: 4-OH Acide benzoïque, 16: Acide salicylique, 17: Myricétine, 18: Coumarin 19 Kaempferol :, 20: Quercétine, 21: Hesperetine, 22: Naringénine , 23: Luteolin, 24: Fisetin, 25: Apigenin, 26: Rhamnetin, 27: Chrysrine

Tableau 68. Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits de l'aubergine par LC-MS/MS

N°	Composé	Ion parent (m/z)	MS2 (énergie de collision)	Quantification (µg analyte / g d'extrait)					
				CR	CE	CV	CM	ECE	ECV
1	Acide quinique	190,95	85 (22), 93 (22)	3456,87	108,87	110,08	1273,06	49,89	12,78
2	Acide mallique	133,05	115 (14), 71 (17)	3567,87	156,76	160,76	1339,06	50,78	24,46
3	Acide Ferrulque	172,85	85 (12), 129 (9)	7897,01	345,76	1023,78	8578,87	49,78	25,87
4	Acide gallique	169,05	125 (14), 79 (25)	5984,87	398,78	1200,76	6107,98	123,87	24,98
5	Acide chlorogénique	353	191 (17)	10089,87	1000,87	4209,87	10098,78	345,76	376,98
6	Acide protocatéchique	152,95	109 (16), 108 (26)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	Acide tannique	182,95	124 (22), 78 (34)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	Acide caféique	178,95	135 (15), 134 (24), 89 (31)	9087,193	999,87	9086,78	4568,96	51,87	9,78
9	Vanilline	151,05	136 (17), 92 (21)	346,87	56,78	46,78	49,78	ND	ND
10	Acidep- coumarique	162,95	119 (15), 93 (31)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	Acide rosmarinique	358,9	161 (17), 133 (42)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
12	Hespéridine	611,1	303,465	ND	ND	ND	ND	ND	ND
13	Rutine	609,1	300 (37), 271 (51), 301 (38)	356,87	354,90	567,87	5634 ,98	ND	ND
14	Hyperoside	463,1	300,301	ND	ND	ND	ND	ND	ND
15	4-OH acide benzoïque	136,95	93,65	ND	ND	ND	ND	ND	ND
16	Acide salicylique	136,95	93,65,75	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	Myricétine	317	179,151,137	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18	Coumarine	146,95	103,91,77	ND	ND	ND	ND	ND	ND
19	Kaempférol	264,95	217,133,151	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20	Quercétine	300,9	179,151,121	508,87	2546,89	3450,87	8760,87	ND	ND
21	Hespéretine	300,95	164,136,108	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	Naringinine	270,95	151,119,107	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23	Lutéoléine	284,95	175,151,133	ND	ND	ND	ND	ND	ND
24	Fisétine	284,95	135,121	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	Apigénine	268,95	151,117	ND	ND	ND	ND	ND	ND
26	Rhamnétine	314,95	165,121,300	ND	ND	ND	ND	ND	ND
27	Chryisine	253	143,119,107	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND :non déterminé CR : aubergine crue ;CE : aubergine cuite dans l'eau; CV : aubergine cuite à la vapeur; CM : aubergine cuite par microonde ; ECE : eau de cuisson par ébullition ; ECV : eau de cuisson par vapeur

Deux acides organiques (acide quinique et acide malique) et sept composés phénoliques ont été détectés et quantifiés dans l'aubergine et qui sont : acide ferrulique, acide gallique, acide chlorogénique, acide caféique, vanilline, rutine et quercétine.

Le composé major est l'acide chlorogénique, ce composé a été déjà cité dans plusieurs études. Clifford (1999) et Clifford (2000) ont rapporté que l'acide chlorogénique (ou acide 5-caffeoylquinique) est le plus largement répandu dans l'aubergine, tandis que ses isomères : acide cryptochlorogénique (acide 4-caffeoylquinique) et acide néochlorogénique (acide 3-caffeoylquinique) se trouvent en petites quantités.

Plazas *et al.* (2013) ont évalué le contenu d'acide chlorogénique dans 18 variétés d'aubergines d'origine espagnole de différentes tailles, formes et couleurs (noire-blanche, violette, rayé violette et verte blache stries violettes). Ils ont trouvé une teneur moyenne qui varie entre 355 mg / 100 g et 627 mg / 100 g de matière sèche.

García-Salas *et al.* (2014) ont identifié de nouveaux acides phénoliques par HPLC-DADESI- TOF-MS dans l'aubergine (variété à rayures violettes) incluant six isomères de déshydrodimère caffeoylquinique et l'acide caffeoylshikimique, bien que les structures chimiques de ces composés n'ont pas été signalées par les auteurs.

On remarque que la teneur en composés phénoliques détectée varie en fonction du mode de cuisson. Pour les aubergines cuites à l'eau, une diminution des teneurs de tous les composés phénoliques sauf la quercétine qui a augmenté après cuisson. L'analyse d'eau de cuisson a montré la présence de faibles quantités de l'acide ferrulique, de l'acide gallique, de l'acide caféique et une quantité considérable de l'acide chlorogénique,

Pour la cuisson à la vapeur, l'effet de la vapeur varie selon la structure des composés phénoliques. Ce mode de cuisson a provoqué une diminution de l'acide ferrulique, de l'acide gallique, de l'acide chlorogénique et de la vanilline, une rétention de l'acide caféique et une augmentation de la teneur en rutine et en quercétine. L'analyse de l'eau de cuisson a montré de faibles quantités de l'acide ferrulique, l'acide gallique, l'acide caféique et l'acide chlorogénique.

Quant à la cuisson par microonde, elle a entraîné une augmentation des teneurs en acide ferrulique, acide gallique, rutine, en quercétine ; une rétention de l'acide chlorogénique et une diminution de la teneur d'acide caféique et de vanilline.

Ces variations quantitatives et qualitatives des composés polyphénoliques sont dues peut être à la différence de solubilité de ces composés. Les composés phénoliques se rencontrent à la fois dans des formes solubles et insolubles. La plupart des polyphénols solubles sont localisés dans les vacuoles des cellules végétales (Shahidi et Yeo, 2016). La diminution des composés phénoliques

des différents composés au cours de la cuisson est due à l'extractibilité accrue de ces composés phénoliques dans les tissus mous cuits et humides (Zaro *et al.*, 2015).

D'autre part, l'augmentation de certains composés après cuisson est due à la libération des composés phénoliques liés ou insolubles qui sont localisés dans la matrice des parois des cellules végétales. Les composés phénoliques synthétisés dans les organes intracellulaires, principalement le réticulum endoplasmique sont relâchés et transportés dans la vacuole ou au niveau de la paroi cellulaire, à travers le système de transfert de vésicules qui est un petit système bicouche lipidique, qui peut contenir des composés phénoliques et facilite leur migration vers la matrice de la paroi cellulaire (Meyer *et al.*, 2009).

Les composés phénoliques transportés sont liés à des macromolécules telles que des protéines structurales, de la cellulose et de la pectine par des liaisons covalentes via des liaisons éther-ester et carbone-carbone dans la matrice de la paroi cellulaire, formant des composés phénoliques à liaison insoluble, la fragilisation de ces liaisons par la chaleur (Shahidi et Yeo, 2016).

Des résultats différents sont rapportés par Zaro *et al.* (2015) qui ont trouvé que le contenu en acide chlorogénique a augmenté considérablement après cuisson à la vapeur et par ébullition. Cependant la cuisson par microonde a entraîné des réductions significatives de ce composé.

4.7. Activité antioxydante des extraits de l'aubergine

Les résultats de la détermination de l'activité antioxydante des aubergines crues et cuites sont consignés dans la figure 94.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH a montré l'existence d'une différence significative ($P < 0,05$) entre les différents extraits d'aubergine (crus et cuits à la vapeur, à l'eau et par microonde). Le meilleur pourcentage d'inhibition a été constaté pour la cuisson par microonde, suivie par la cuisson à la vapeur mais ils restent inférieurs au témoin (BHA). Concernant les concentrations testées, l'activité antioxydante a augmenté avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les activités antioxydantes des différentes concentrations.

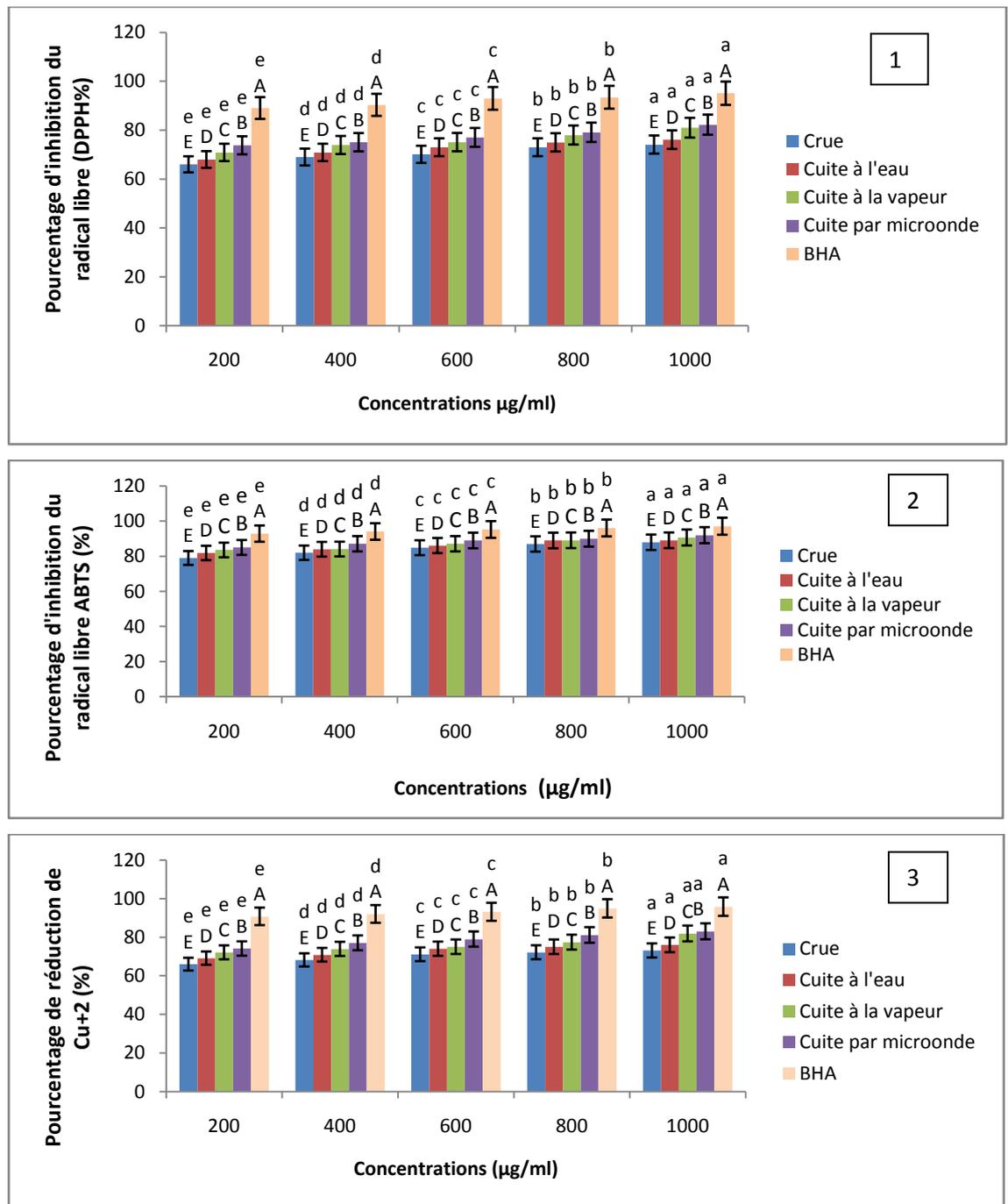


Figure 94. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de l'aubergine

(1 : Méthode DPPH, 2 : Méthode ABTS, 3 : Méthode CUPRAC)

De même pour la méthode ABTS, il existe une différence significative ($P < 0,05$) entre la l'aubergine crue et les aubergines cuites. Le meilleur pourcentage d'inhibition a été constaté avec le témoin (BHA). Concernant les concentrations testées, l'activité antioxydante a augmenté avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les activités antioxydantes des différentes concentrations.

Pour la méthode CUPRAC, une différence significative ($P < 0,05$) entre les extraits d'aubergine crue et des aubergines cuites a été enregistrée. Le pourcentage d'inhibition des extraits d'aubergines cuites a été plus important que celui des extraits d'aubergines crues. Une différence significative a été obtenue entre les activités antioxydantes des différentes concentrations d'extraits testées.

Les trois méthodes de détermination de l'activité antioxydante (DPPH, ABTS et CUPRAC) montrent que l'aubergine crue présente une forte activité antioxydante par rapport à l'aubergine cuite. Les pourcentages pour une concentration de 1000 $\mu\text{g/ml}$ sont de 79,09% pour la méthode DPPH, 87,96% pour la méthode ABTS et 73,09% pour la méthode CUPRAC.

La valeur d'IC50 est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour réduire 50% de la concentration du radical. Plus IC50 est faible, l'activité antioxydante d'un composé est élevée. Les valeurs d'IC50 sont présentées dans le tableau 69.

Tableau 69. Valeurs d'IC50 pour l'activité antioxydante des extraits de l'aubergine

	DPPH	ABTS	CUPRAC
Crue	51.60±0.74 ^a	25.34±0.38 ^a	45.18±0.89 ^a
Cuite dans l'eau	45.89±0.85 ^b	22.26±0.63 ^b	38.42±1.02 ^b
Cuite à la vapeur	22.35±0.97 ^c	16.74±0.70 ^c	26.29±0.60 ^d
Cuite par microonde	18.98±0.53 ^d	12.07 ±1.09 ^a	23.62±0.47 ^c
Témoin (BHT)	12.97±0.50 ^e	10.67±0.11 ^e	15.13±0.54 ^e

Pour chaque test, le même exposant signifie l'absence de différence significative

Les trois modes de cuisson ont augmenté les valeurs de la capacité antioxydante par rapport à l'état cru. Les extraits de l'aubergine cuite par microonde ont la capacité antioxydante la plus élevée par rapport aux extraits des aubergines cuites par ébullition à l'eau et à la vapeur.

La capacité antioxydante, mesurée en tant que potentiel de piégeage des radicaux libres DPPH, ABTS et réduction du Cu^{+2} , a considérablement changé après cuisson.

L'activité déterminée par ABTS est supérieure à celle déterminée par DPPH et CUPRAC. Ce constat est en accord avec les résultats de Floegel *et al.* (2011) qui ont rapporté que la capacité antioxydante détectée par le test ABTS est significativement plus élevée pour les fruits, les légumes et les boissons par rapport à celles obtenues par les tests DPPH.

La capacité antioxydante est augmentée. Cette tendance s'explique par l'extraction de polyphénols facilitée par la cuisson et les interactions et la synergie entre les composés phénoliques après la cuisson. Les valeurs IC50 pour différentes méthodes de cuissons étudiées indiquent que la cuisson

par microonde est la plus efficace avec les valeurs IC50 les plus faibles, suivies de la cuisson par à la vapeur et enfin de l'ébullition.

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Zambrano-Moreno *et al.* (2015) qui ont montré une augmentation de l'activité antioxydante par la cuisson.

Les valeurs des coefficients de Pearson et les valeurs de p sont consignés dans le tableau 70.

Tableau 70. Corrélations entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols totaux des extraits de l'aubergine

	DPPH		ABTS		CUPRAC	
	r	P	r	p	r	p
Cuite à l'eau	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001
Cuite à la vapeur	-0,999	< 0,0001	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001
Cuite par microonde	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001

Une forte corrélation négative a été obtenue entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante des aubergines cuites à l'eau et à la vapeur et par microonde. Ce qui indique que la diminution des composés phénoliques s'accompagne d'une augmentation de l'activité antioxydante.

Uchida *et al.* (2017) ont trouvé une corrélation positive ($r= 0,65$) entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante des aubergines.

Pour chaque traitement thermique, Chumyam *et al.*, 2013 ont trouvé une corrélation très positive entre la capacité antioxydante déterminée par DPPH et ABTS et le contenu phénolique total. Pour l'activité anti radicalaire DPPH, la cuisson par micro-onde a eu la corrélation la plus élevée ($R^2 = 0,9803$), suivie de la cuisson à la vapeur ($R^2 = 0,9511$), puis vient l'ébullition ($R^2 = 0,9473$). De même, pour la méthode ABTS, la cuisson par microonde avait la corrélation la plus élevée ($R^2 = 0,9631$), suivie par la cuisson à la vapeur ($R^2 = 0,9277$), et l'ébullition ($R^2 = 0,9108$).

La cuisson conduit à des modifications de la quantité de polyphénols, mais elle peut également modifier la structure des polyphénols, ce qui pourrait affecter la capacité antioxydante (Makris et Rossiter, 2001). Toutefois, d'autres études ont rapporté que la cuisson augmente l'activité antioxydante. L'augmentation de l'activité antioxydante est attribuée soit à la décomposition des composés phénoliques, la synergie entre les composés phénoliques ou la formation de composés de Maillard (Nicoli *et al.*, 1999; Del castillo et al., 2002). L'oxydation des polyphénols peut également modifier la capacité antioxydante. Ces composés peuvent présenter, dans un état d'oxydation intermédiaire, un potentiel à piéger les radicaux libres supérieurs aux composés natifs non oxydés (Nicoli *et al.*, 1999). En plus, la capacité antioxydante d'un mélange de polyphénols n'est donc pas équivalente à la somme des capacités antioxydantes des composés, des effets

d'antagonisme ou de synergie et des effets de matrice pouvant apparaître. Une modification dans les différentes proportions des composants phénoliques du légume peut donc avoir une répercussion difficile à prévoir sur la capacité antioxydante. La capacité antioxydante est donc une mesure sensible et sujette à de nombreuses variations. (Chinnici *et al.*, 2004 ; Tsao *et al.*, 2005).

Ces résultats sont similaires aux résultats de Chumyam *et al.* (2013) qui ont signalé que les traitements thermiques améliorent la capacité antioxydante de quatre cultivars d'aubergines: «Muang Lek», «Muang Lot Fai», «Muang Kan Dam» et «Muang Kan Khiao». Ils estiment que cette capacité antioxydante (DPPH et ABTS) et le contenu phénolique total ont considérablement augmenté dans toutes les variétés d'aubergines par toutes les méthodes de cuisson par rapport à ceux des fruits crus. Les aubergines cuites au micro-onde pendant 10 et 15 minutes ont présenté la capacité antioxydante la plus élevée et la teneur en polyphénols totaux dans toutes les variétés. «Muang Lot Fai» avait la capacité antioxydante et la teneur en polyphénols les plus élevées des quatre variétés examinées.

Ramírez-Anaya *et al.* (2015) ont étudié l'effet de différentes techniques de cuissons méditerranéenne sur la composition qualitative et quantitative des polyphénols d'aubergine. Toutes les modes de cuisson ont augmenté la capacité antioxydante de l'aubergine. Les modes de cuisson peuvent être classés dans l'ordre décroissant des capacités antioxydantes déterminées comme suit: friture > sautée > ébullition > cru. Zaro *et al.* (2015) ont testé un certain nombre de méthodes de cuisson humides et sèches. Ils ont trouvé que l'activité antioxydante a augmenté considérablement après les procédures de cuisson humide: cuisson à la vapeur et ébullition. Les extraits d'aubergines de petites tailles ont démontré les meilleures activités antioxydantes que les autres échantillons (longue de taille verte, couleur violette, taille modérée de couleur violette).

4.8. Activité anticholinestérase des extraits de l'aubergine

L'effet des méthodes de cuisson (à l'eau, par microonde et à la vapeur) sur l'activité antiacetylcholinestérase et anti butyrylcholinestérase d'aubergine sont montrées dans la figure 95.

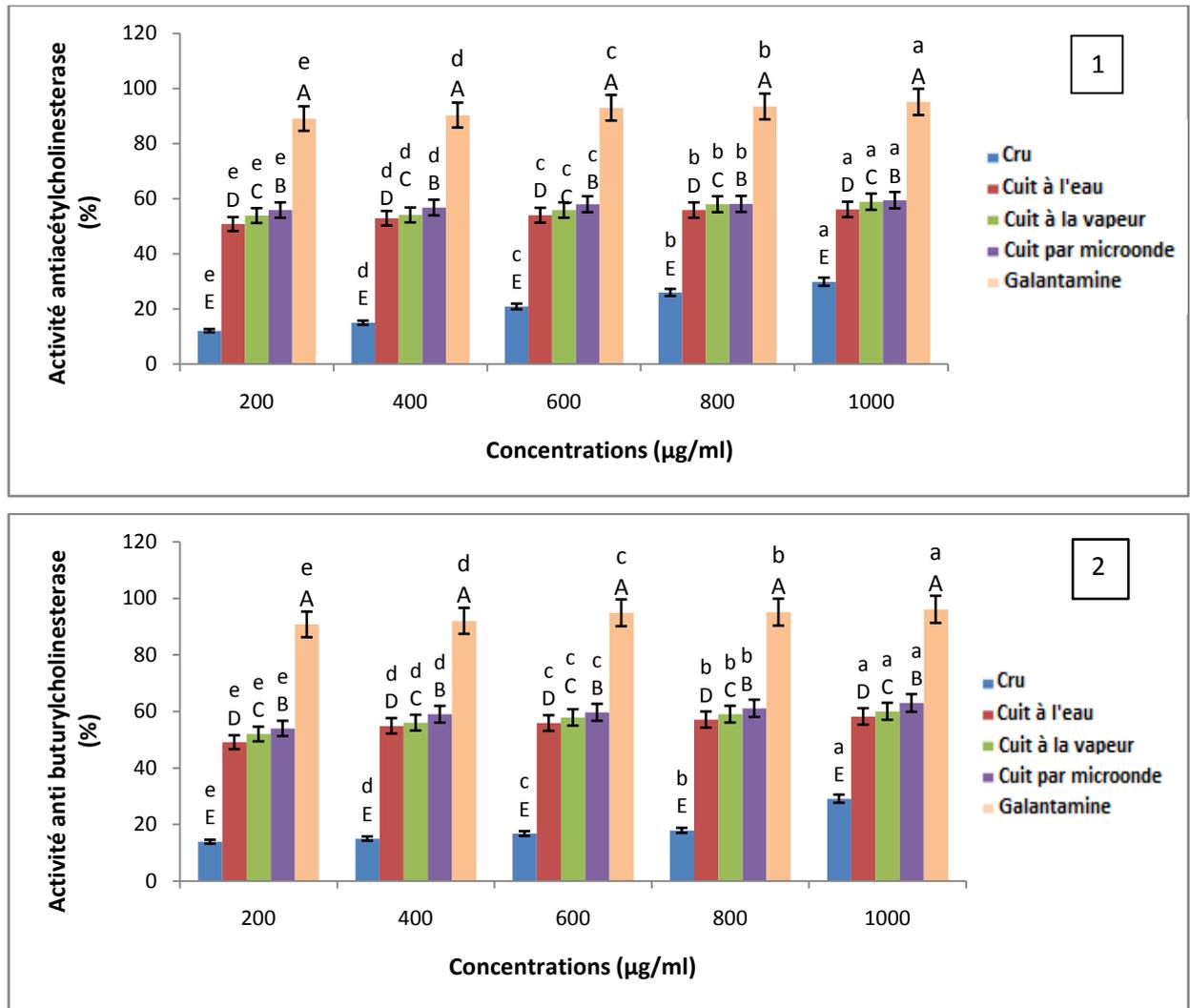


Figure 95. Activité anticholinestérase des extraits de l'aubergine (1 : Activité antiacétylcholinestérase 2 : activité antibutyrylcholinestérase)

L'aubergine crue montre une faible activité antiacétylcholinestérase et antibutyrylcholinestérase. Cependant, les extraits des aubergines cuites à l'eau, par microonde et à la vapeur ont montré une activité inhibitrice modérée contre les enzymes acétyl- et butyryl-cholinestérase. Les IC50 des extraits et du galantamine ont été évalués. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 71.

Tableau 71. Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase des extraits de l'aubergine

	Activité antiacétylcholinestérase	Activité antibutyrylcholinestérase
Crue	602,01±0,56 ^a	987±0,09 ^a
Cuite dans l'eau	588,76±0,34 ^b	586±0,76 ^b
Cuite à la vapeur	204,67±0,65 ^c	198,78±0,13 ^c
Cuite par microonde	195,89±0,78 ^d	140,87±0,17 ^d
Témoin (Galantamine)	34,23±0,21 ^e	36,56±0,08 ^e

Pour chaque test, le même exposant signifie l'absence de différence significative

Une différence significative ($p < 0.05$) a été obtenue entre les activités antiacétylcholinestérase et antibutyrylcholinestérase des extraits d'aubergine crue et cuite (à l'eau, à la vapeur, et par microonde). Selon ces résultats la classification des échantillons cuits selon leur capacité d'inhiber les deux enzymes acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase place la cuisson par microonde en première position, la cuisson à la vapeur en deuxième position et la cuisson à l'eau en dernière position. Cependant, l'extrait d'aubergine crue présente la plus haute valeur d'IC50 ce qui signifie la plus faible activité anticholinestérase.

L'IC50 obtenue pour la galantamine utilisée comme molécule de référence est bien plus inférieur à ceux de l'extrait, donc la galantamine possède une meilleure activité inhibitrice de l'AChE et l'BChE. Malgré la diminution de la teneur en polyphénols totaux après cuisson à la vapeur et par ébullition, on remarque une augmentation de l'activité anticholinestérase. Pour confirmer la participation des polyphénols dans cette activité, une étude de la corrélation a été effectuée. Les coefficients de Pearson et la valeur de probabilité p sont mentionnés dans le tableau 72.

Tableau 72.Corrélations entre les polyphénols totaux et l'activité anticholinestérase des extraits de l'aubergine

	Activité anti acetylcholinestérase		Activité anti butyrylcholinestérase	
	r	P	r	p
Cuite à l'eau	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001
Cuite à la vapeur	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001
Cuite par microonde	1	< 0,0001	1	< 0,0001

Le taux des polyphénols est fortement et négativement corrélé à l'activité anticholinestérase des extraits d'aubergines cuites par les deux modes de cuisson (à l'eau, à la vapeur) et positivement et fortement corrélé à l'activité anticholinestérase des extraits d'aubergine cuite par microonde. Cette corrélation peut être attribuée à l'acide chlorogénique, qui a amélioré l'activité des deux enzymes et a réduit leur inhibition. On remarque que les aubergines crues possèdent une quantité élevée de ce composé qui diminue après cuisson à l'eau et à la vapeur. Selon Szwajgier (2015), les corrélations constatées peuvent s'expliquer par des effets d'antagonisme ou de synergie et un effet de matrice pouvant apparaître après cuisson et qui diminuent l'efficacité des polyphénols.

L'augmentation de l'activité anticholinestérase est peut être due à l'augmentation de certains flavonoïdes comme la rutine et la quecétine qui présentent une forte activité anticholinestérase (Bakhtiari *et al.*, 2017).

5.1. La carotte crue

5.1.1. Plan de criblage pour la sélection des facteurs d'extraction des polyphénols totaux de la carotte crue

Les effets des facteurs relatifs aux conditions d'extraction des polyphénols de la carotte (A : concentration du solvant ; B: temps de macération ; C: temps d'ultrasonication et D : broyage) ont été testés. Les résultats de la matrice présentant 12 essais du plan *plackett- burmann* sont récapitulés dans le tableau 73.

Tableau 73. Matrice d'essais du plan *Plackett – Burmann* pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la carotte crue

N° d'essai	A	B	C	D	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
1	1	1	-1	1	$1,077 \times 10^4$
2	1	-1	1	1	$0,783 \times 10^4$
3	-1	1	1	1	$0,869 \times 10^4$
4	-1	-1	-1	1	$0,879 \times 10^4$
5	-1	1	-1	-1	$1,085 \times 10^4$
6	1	-1	-1	-1	$0,899 \times 10^4$
7	-1	-1	-1	-1	$0,810 \times 10^4$
8	1	1	1	-1	$1,319 \times 10^4$
9	1	1	-1	1	$0,879 \times 10^4$
10	-1	1	1	-1	$0,805 \times 10^4$
11	-1	-1	1	1	$0,734 \times 10^4$
12	1	-1	1	-1	$0,980 \times 10^4$

A : concentration du solvant ; B : temps de macération ; C: temps d'ultrasonication ; D: broyage

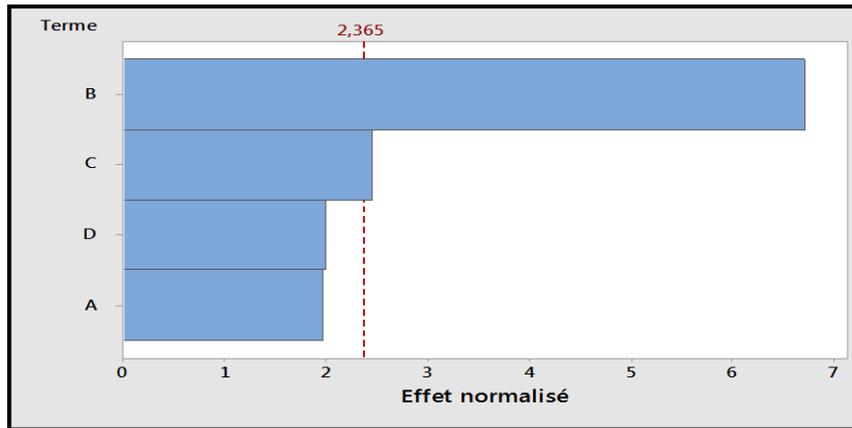
Le facteur de détermination (R^2) indique que le modèle explique 89,38% de la variabilité de la réponse. Le modèle prédit est significatif ($p < 0,05$). Deux facteurs ont montré des effets significatifs sur la réponse et qui sont le temps de macération et le temps d'ultrasonication (Annexe 6).

L'équation polynomiale qui décrit la corrélation entre le taux des polyphénols et les quatre facteurs étudiés est :

$$\text{Taux en PT} = 9413 + 571 A - 1952 B - 714 C - 579 D$$

Le temps de macération et le temps d'ultrasonication ont présenté des effets négatifs sur la réponse taux des polyphénols. Les effets associés à la concentration du solvant et au broyage ne sont pas significatifs dans ce modèle (Annexe 6).

Le diagramme de *Pareto* montre que la réponse dépend principalement du temps de macération suivi par le temps d'ultrasonication (figure 96).



A : concentration de solvant ;
 B: temps de macération ;
 C: temps d'ultrasonication,
 D : broyage

Figure 96. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la carotte crue

5.1.2. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la carotte crue

Les deux facteurs sélectionnés par le plan de criblage sont optimisés par le plan composite centré. Les réponses obtenues sont mentionnées dans le tableau 74. Le R^2 ajusté indique le modèle explique 98,54% de la variabilité de la réponse.

Tableau 74. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la carotte crue

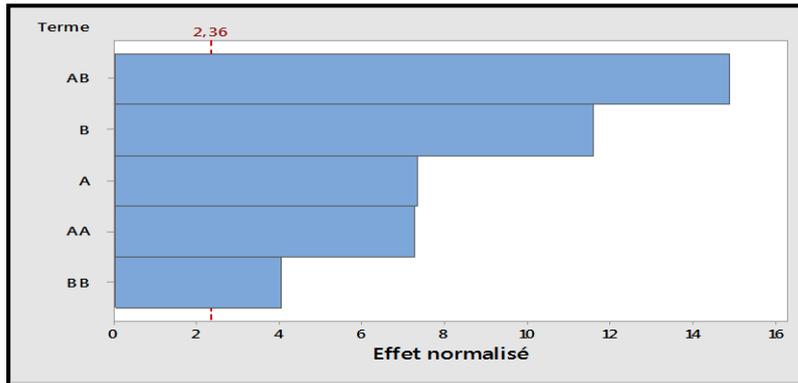
N° d'essai	Niveaux du facteur temps de macération (A)	Niveaux du facteur temps d'ultrasonication (B)	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/ g d'extract sec}$)
1	0	0	$0,887 \times 10^4$
2	-1	1	$0,783 \times 10^4$
3	-1	-1	$0,869 \times 10^4$
4	0	0	$0,879 \times 10^4$
5	1	-1	$1,085 \times 10^4$
6	1	1	$0,899 \times 10^4$
7	0	0	$0,810 \times 10^4$
8	-1,414	0	$1,319 \times 10^4$
9	0	0	$0,879 \times 10^4$
10	1,4142	0	$0,805 \times 10^4$
11	0	-1,414	$0,734 \times 10^4$
12	0	0	$0,880 \times 10^4$
13	0	1,414	$0,829 \times 10^4$

L'équation polynomiale quadratique pour la réponse taux des polyphénols est:

$$\text{Taux en PT} = 1445 + 10,69A + 61,3B + 0,002925A^2 + 3,448 B^2 - 0,3649A \cdot B$$

Le modèle ci-dessus est significatif ($P < 0,05$). L'analyse de variance a montré que les cinq termes (A, B, AA, BB, AB) sont significatifs ($p < 0,05$) (Annexe 6).

Le diagramme de *Pareto* montre que le taux des polyphénols dépend principalement de l'interaction des deux facteurs (AB), suivi par les termes linéaires du temps d'ultrasonication (B) et du temps de macération (A), puis le terme quadratique du temps de macération (AA) et enfin le terme quadratique du temps d'ultrasonication (BB) (figure 97).



A : temps de macération ;
 B : temps d'ultrasonication
 AB : interaction des deux facteurs
 AA : terme quadratique du temps de macération
 BB : terme quadratique du temps d'ultrasonication

Figure 97. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux de la carotte crue

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponse sont illustrées dans la figure 98.

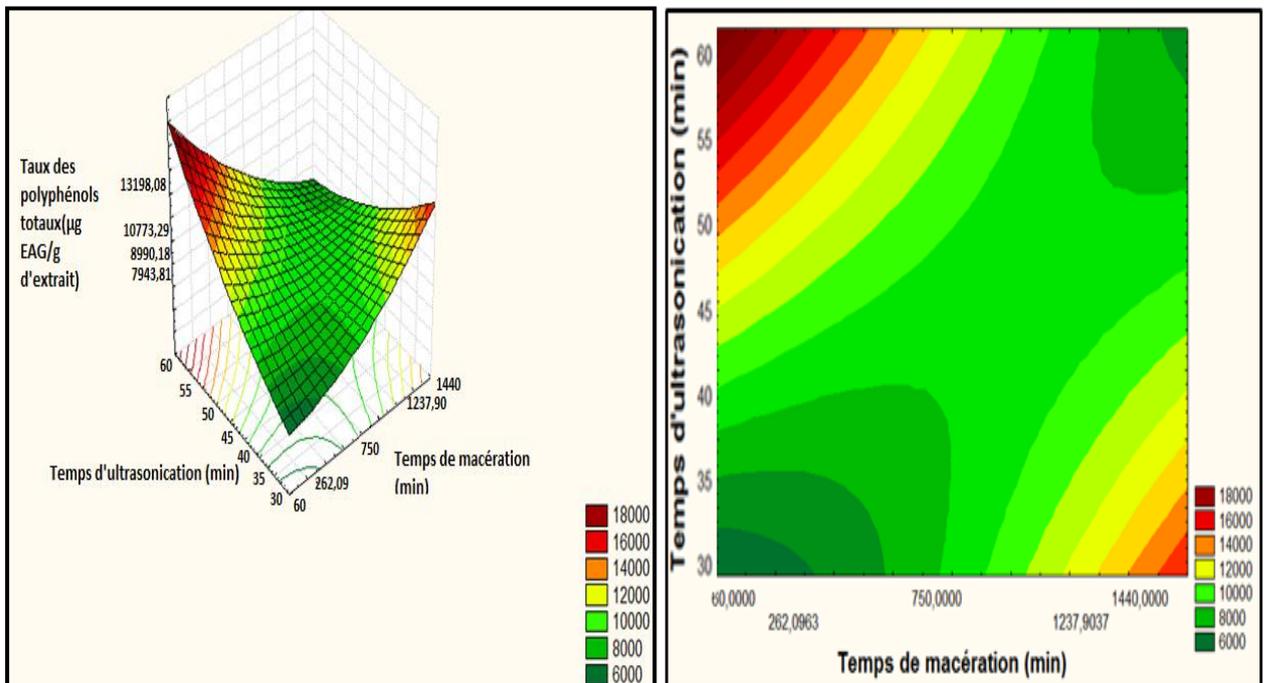


Figure 98. Surface de réponse du taux des polyphénols de la carotte crue en fonction des temps de macération et d'ultrasonication

D'après ces résultats (figure 98), on remarque que les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : temps de macération (60-150 min) temps d'ultrasonication(57-60min).

Le maximum de précision est obtenu pour une désirabilité égale à 1 (figure 99). La prédiction des conditions optimales est: temps de macération (60min) et temps d'ultrasonication (60 min). La valeur prédite des polyphénols est de $1,687 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract sec}$.

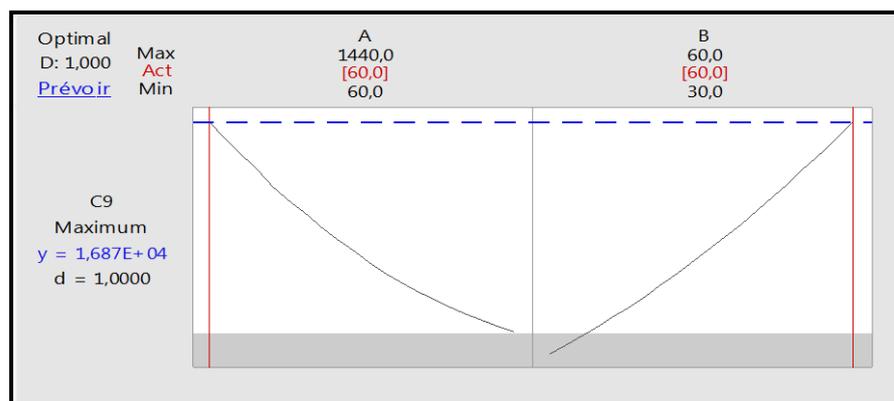


Figure 99. Optimisation des temps de macération et d'ultrasonication pour l'extraction des polyphénols de la carotte crue en fonction de la désirabilité

5.1.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps de macération et d'ultrasonication pour l'extraction des polyphénols de la carotte crue

Les résultats de l'optimisation sont confirmés par l'évaluation des polyphénols totaux avec les facteurs sélectionnés au point optimum (tableau 75).

Tableau 75. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la carotte crue

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(60min, 60min)	$1,687 \times 10^4$	$1,688 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p= 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

5.2. La carotte cuite à l'eau

5.2.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à l'eau et d'extraction des polyphénols totaux de la carotte

Les résultats des 12 essais en tenant compte des facteurs (A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage) sont présentés dans le tableau 76.

Les deux facteurs qui ont montré des effets significatifs sur la réponse sont la température de cuisson (B) et le temps d’ultrasonication (F).

Le facteur de détermination (R^2) indique que le modèle explique 84,85% de la variabilité de la réponse. Le modèle mathématique prédit est significatif ($p < 0,05$) (Annexe 6).

Tableau 76. Matrice d’essais du plan *Plackett – Burmann* pour l’évaluation du taux en polyphénols totaux de la carotte cuite à l’eau

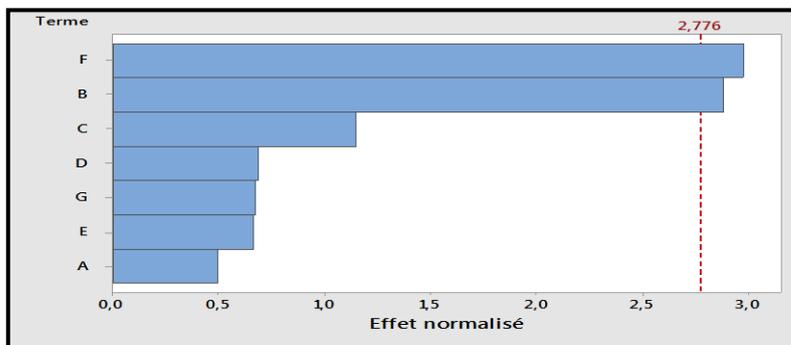
N° d’essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols (µg EAG/ g d’extrait sec)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	$0,839 \times 10^4$
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	$0,785 \times 10^4$
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	$0,874 \times 10^4$
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	$0,554 \times 10^4$
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	$1,156 \times 10^4$
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	$0,896 \times 10^4$
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	$0,419 \times 10^4$
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	$0,548 \times 10^4$
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	$0,769 \times 10^4$
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	$0,251 \times 10^4$
11	1	1	1	-1	1	1	-1	$1,000 \times 10^4$
12	1	1	-1	1	1	-1	1	$0,978 \times 10^4$

A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d’eau de cuisson ;
 D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d’ultrasonication ; G : broyage

Le modèle polynomial, qui prédit la réponse taux des polyphénols en fonction des sept facteurs, est exprimé comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 7561 - 254A + 1481B + 590 C - 354 D + 341 E - 1529 F + 347 G$$

La température de cuisson a présenté un effet positif sur le taux des polyphénols tandis que le temps d’ultrasonication a un effet négatif (Annexe 6). Le diagramme de *Pareto* montre que le taux des polyphénols dépend principalement du temps d’ultrasonication suivi par la température de cuisson. Les autres facteurs n’ont pas des effets significatifs sur la réponse (figure 100).



A : temps de cuisson ;
 B : température de cuisson ;
 C : volume d’eau de cuisson ;
 D : concentration de solvant ;
 E : temps de macération ;
 F : temps d’ultrasonication ;
 G : broyage

Figure 100. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) pour les conditions d’extraction des polyphénols et de la cuisson à l’eau de la carotte

5.2.2. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux et de la cuisson à l'eau de la carotte

Les deux facteurs significatifs (temps d'ultrasonication et température de cuisson) ont été sélectionnés par le plan de criblage pour effectuer l'optimisation. L'optimisation est réalisée par le plan de composite centré (tableau 77).

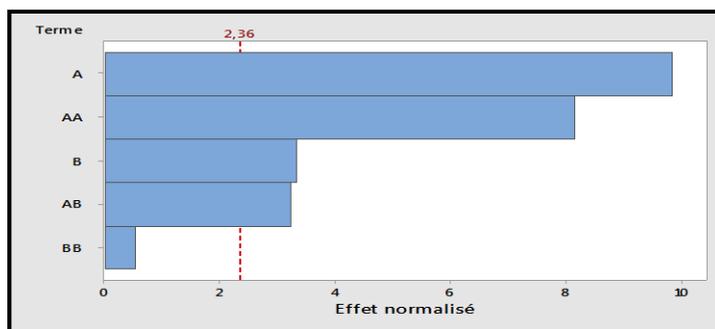
Tableau 77. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de carotte cuite à l'eau

N° d'essai	Niveaux du facteur température de cuisson (A)	Niveaux du facteur temps d'ultrasonication (B)	Taux des polyphénols (µg EAG/ g d'extrait sec)
1	0	0	0,841x10 ⁴
2	-1	1	0,825x10 ⁴
3	-1	-1	0,842 x10 ⁴
4	0	0	0,866x10 ⁴
5	1	-1	0,849 x10 ⁴
6	1	1	0,797 x10 ⁴
7	0	0	0,849 x10 ⁴
8	-1,414	0	0,811 x10 ⁴
9	0	0	0,850 x10 ⁴
10	1,414	0	0,566 x10 ⁴
11	0	-1,414	0,809 x10 ⁴
12	0	0	0,716 x10 ⁴
13	0	1,414	0,540 x10 ⁴

Les effets des facteurs (A, B, AA et AB) sont significatifs (p < 0,05). A l'exception, le terme quadratique BB n'a pas présenté un effet significatif (figure 101). Le R² indique que le modèle explique plus de 96,36% de la variabilité de la réponse. Le modèle polynomial, qui prédit la réponse taux des polyphénols, est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = -138563 + 3144 A + 540 B - 16,74 A*A - 0,492 B*B - 5,84 A*B$$

Le diagramme de *Pareto* (Figure 100) montre que le taux des polyphénols dépend principalement de l'effet de la température de cuisson A, suivi par son terme quadratique AA, le temps d'ultrasonication B, puis l'interaction entre les deux facteurs en dernière position AB.



A : température de cuisson;
 B : temps d'ultrasonication
 AA : carré du température de cuisson
 BB : carré du temps d'ultrasonication
 AB : interaction entre température de cuisson et temps d'ultrasonication

Figure 101. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés (p=0,05) des conditions de cuisson à l'eau de la carotte

La surface de réponse et la courbe d'iso réponse sont mentionnées dans la figure 102.

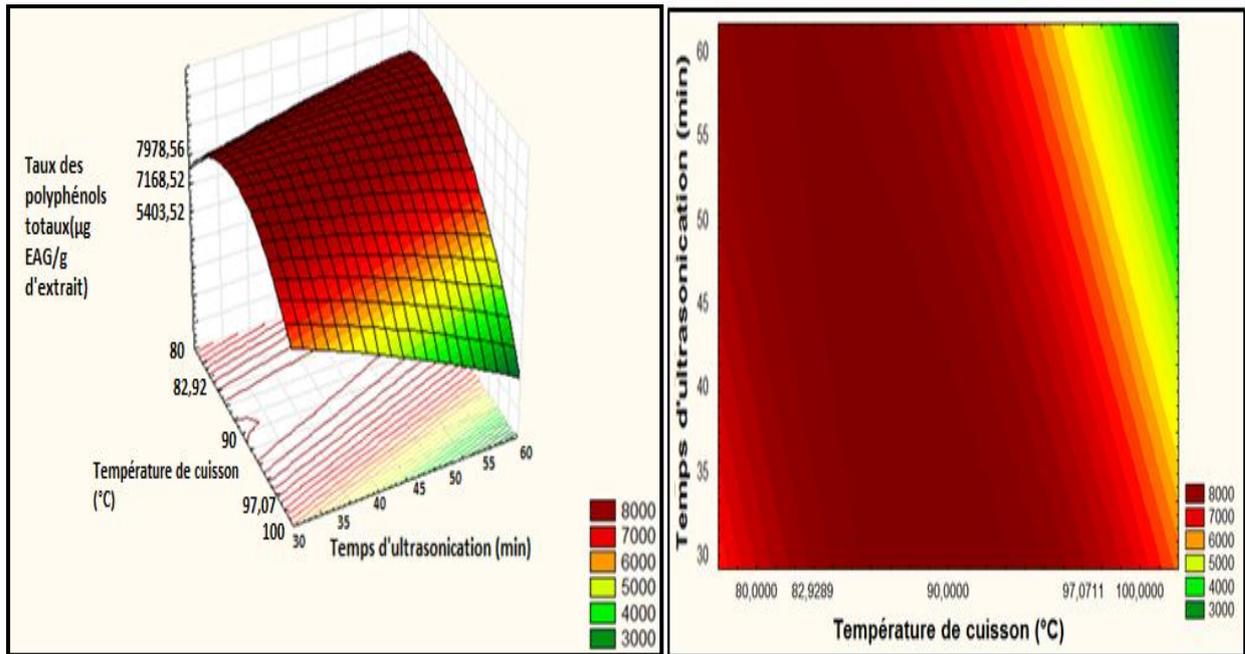


Figure 102. Surface de réponse du taux des polyphénols de la carotte cuite à l'eau en fonction du temps d'ultrasonication et de la température de cuisson

Selon la figure 102, on remarque que les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : température de cuisson (87,8-91,6°C) et temps d'ultrasonication (30-33min).

Les valeurs optimales des facteurs ont été calculées à une désirabilité de 1. Les résultats obtenus sont montrés dans la figure 103.

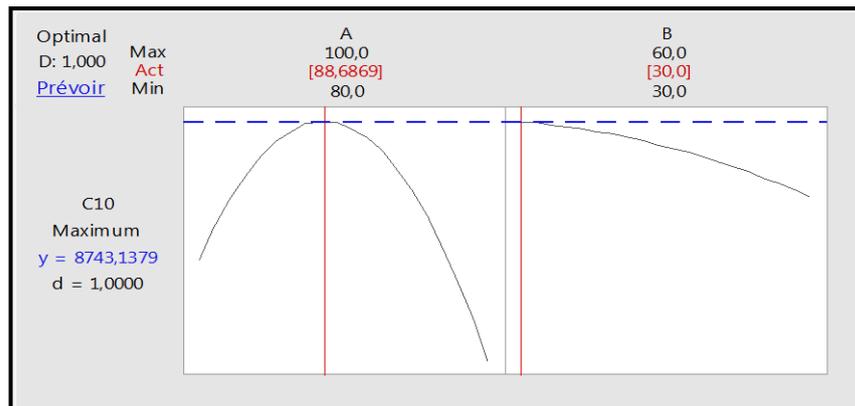


Figure 103. Optimisation du temps d'ultrasonication et la température de cuisson à l'eau de la carotte en fonction de la désirabilité

Les conditions optimales obtenues à une désirabilité de 1 sont comme suit: température de cuisson (88,68 °C) et temps d'ultrasonication (30min). La teneur prédite des taux polyphénols est de 8743,1379 µg EAG/ g d'extrait sec.

5.2.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport aux temps d’ultrasonication et température de cuisson à l’eau de la carotte

Les valeurs optimales ont été vérifiées expérimentalement. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau 78.

Tableau 78. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la carotte cuite à l’eau

Points	Taux de polyphénols prédit (µg EAG/g d’extrait sec)	Taux de polyphénols mesuré (µg EAG/g d’extrait sec)
(88,68°C, 30min)	8743,138	8744,000

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans différence significative (p = 0,05), ce qui confirme la validation du modèle.

5.3. La carotte cuite à la vapeur

5.3.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d’extraction des polyphénols totaux de la carotte

Le criblage des sept facteurs (A : temps de cuisson ; B: température de cuisson ; C: volume d’eau de cuisson ; D: concentration de solvant ; E: Temps de macération ; C: temps d’ultrasonication et G: broyage) a été effectué par le plan de *Plackett-Burmann*. Un nombre total de 12 essais a été réalisé pour compléter le plan d’expérience proposé. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 79.

L’analyse de la variance montre que ce modèle est significatif (P< 0,05). Parmi les sept facteurs testés, deux ont présenté des effets significatifs sur la réponse « polyphénols totaux » et qui sont le temps de cuisson et la température de cuisson. Le R² ajusté indique que le modèle explique plus de 92 ,74% de la variabilité de la réponse (Annexe 6).

Tableau 79 . Matrice d’essais du plan *Plackett- Burmann* pour la détermination de la teneur en polyphénols de la carotte cuite à la vapeur

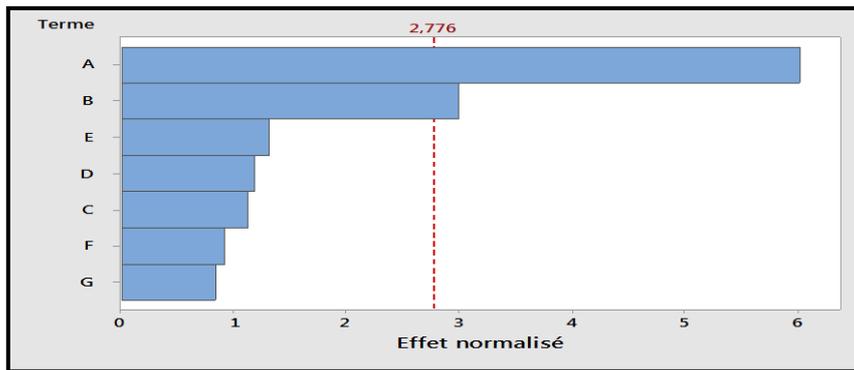
N° d’essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols(µg EAG/ g d’extrait sec)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	0,456 x10 ⁴
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	0,343 x10 ⁴
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	0,472 x10 ⁴
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	0,207 x10 ⁴
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	0,470 x10 ⁴
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	0,104 x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,475 x10 ⁴
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	0,218 x10 ⁴
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	0,757 x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	0,353 x10 ⁴
11	1	1	1	-1	1	1	-1	0,437 x10 ⁴
12	1	1	-1	1	1	-1	1	0,267 x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d’eau de cuisson ; D : concentration du solvant ; E : Temps de macération ; F : temps d’ultrasonication ; G : broyage

Le modèle polynomial qui prédit la réponse taux des polyphénols est exprimé en fonction des sept codes facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 8597 + 1519 A - 756 B - 284 C + 299 D + 332 E - 233 F - 213 G$$

Les coefficients obtenus pour les deux facteurs montrent que la temps de cuisson influe positivement sur la réponse tandis que la température de cuisson présente un effet négatif (Annexe 6). L'ensemble de ces résultats est résumé dans le diagramme de Pareto (figure 104). Il indique que la réponse dépend principalement de l'effet du temps de cuisson, suivi par l'effet de la température de cuisson.



A : temps de cuisson ;
 B : température de cuisson ;
 C : volume d'eau de cuisson ;
 D : concentration de solvant ;
 E : Temps de macération ;
 C : temps d'ultrasonication ;
 G : broyage

Figure 104. Diagramme de Pareto des effets linéaires normalisés (p=0,05) des conditions d'extraction des polyphénols et de cuisson à la vapeur de la carotte

5.3.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à la vapeur de la carotte

Les facteurs temps de cuisson et température de cuisson ont été sélectionnés par le plan de criblage pour l'optimisation de la réponse polyphénols totaux (tableau 80).

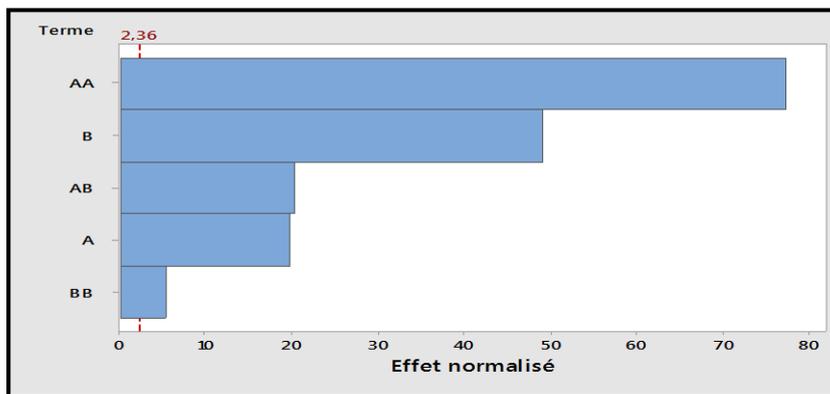
Tableau 80. Matrice d'essais du plan composite centré pour la détermination de la teneur en polyphénols de la carotte cuite à la vapeur

N° d'essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur température de cuisson(B)	Taux des polyphénols (µg EAG/ g d'extrait sec)
1	0	0	0,902x10 ⁴
2	-1	1	0,782x10 ⁴
3	-1	-1	0,928x10 ⁴
4	0	0	0,905x10 ⁴
5	1	-1	0,759x10 ⁴
6	1	1	0,905x10 ⁴
7	0	0	0,900x10 ⁴
8	-1,414	0	0,905x10 ⁴
9	0	0	0,844x10 ⁴
10	1,414	0	0,706x10 ⁴
11	0	-1,414	0,983x10 ⁴
12	0	0	0,906x10 ⁴
13	0	1,414	0,766x10 ⁴

Le modèle mathématique est significatif ($p < 0,0001$), il correspond bien à la réponse. Le R^2 indique que le modèle explique plus de 99,93% de la variabilité de la réponse (Annexe 6). Le modèle polynomial qui prédit la réponse taux des polyphénols est exprimé en termes des codes facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = -19204 + 2422,8 A - 692,5 B - 30,180 A*A + 1,158 B*B + 7,868 A*B$$

Par conséquent, les cinq termes (A : temps de cuisson, B : température de cuisson, AA : effet quadratique du temps de cuisson, BB : effet quadratique de la température de cuisson, AB : interaction entre les deux facteurs) ont affecté significativement le taux des polyphénols totaux. Ces résultats sont représentés dans le diagramme de Pareto (figure 105). Il indique que le taux des polyphénols dépend principalement de l'effet quadratique du temps de cuisson suivi par la température de cuisson, l'interaction des deux facteurs, le temps de cuisson puis vient l'effet du second ordre de la température de cuisson en dernière position.



A : temps de cuisson ;
 B : température de cuisson
 AA : effet quadratique du temps de cuisson
 BB : effet quadratique de la température de cuisson
 AB : interaction entre les deux facteurs

Figure 105. Diagramme de Pareto des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à la vapeur de la carotte. La surface de réponse et la courbe d'iso réponse sont illustrées dans la figure 106.

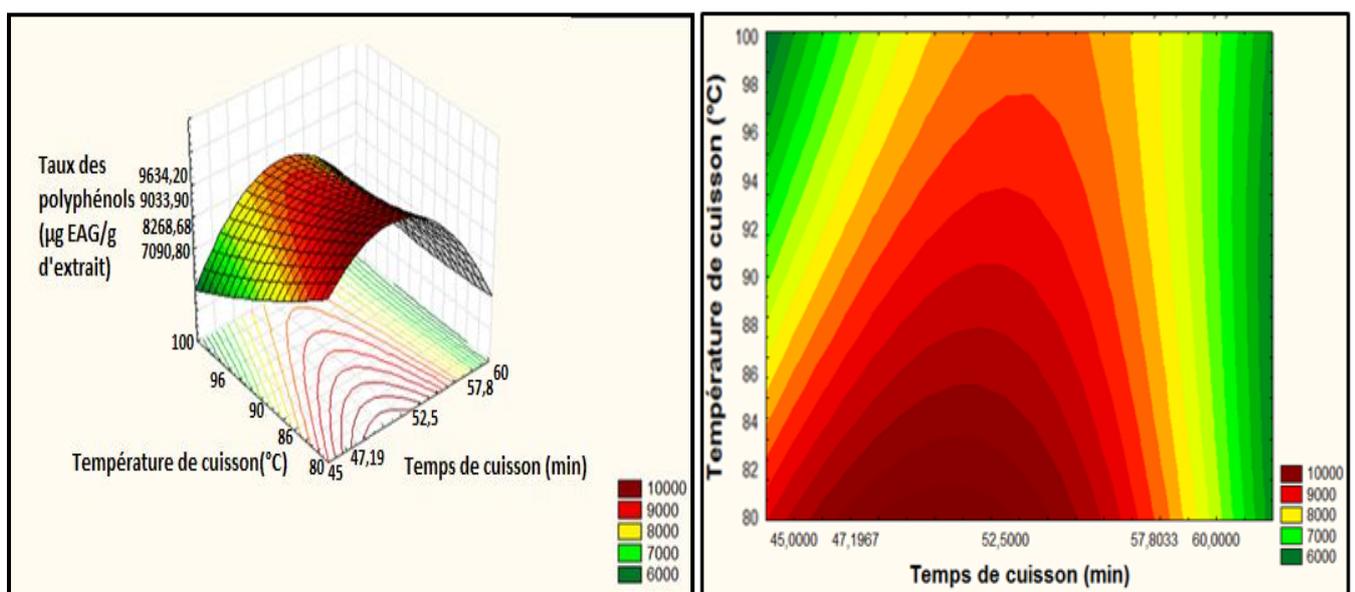


Figure 106. Surface de réponse du taux des polyphénols de la carotte cuite à la vapeur en fonction du temps et de la température de cuisson

D’après ces résultats , les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (47- 52,9) et température de cuisson(80- 82°C). Les valeurs optimales des facteurs ont été calculées à une désirabilité de 1 (figure 107).

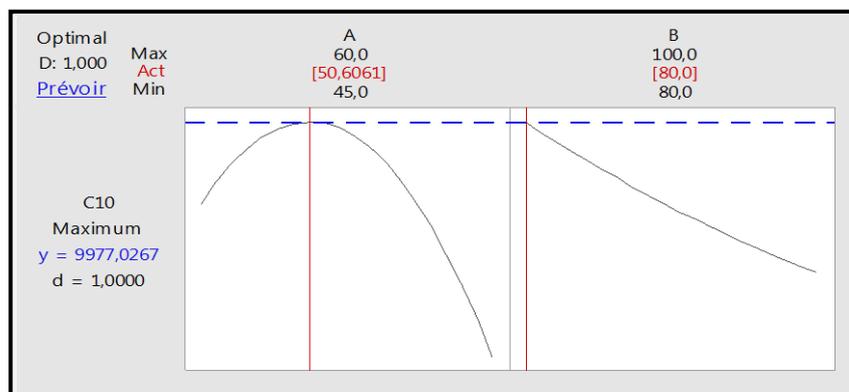


Figure 107. Optimisation du temps et de la température de cuisson à la vapeur de la carotte en fonction de la désirabilité 1

La prédiction des conditions optimales est: temps de cuisson (51min) et température de cuisson (80°C). La valeur prédite des polyphénols est de 9977,0267µg EAG/g d’extrait sec.

5.3.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps et la température de cuisson à la vapeur de la carotte

Les résultats de l’optimisation sont confirmés par la détermination des polyphénols totaux avec les facteurs sélectionnés au point optimum (tableau 81).

Tableau 81. Taux de polyphénols prédit et mesuré de la carotte cuite à la vapeur

Points	Taux de polyphénols prédit (µg EAG/g d’extrait sec)	Taux de polyphénols mesuré (µg EAG/g d’extrait sec)
(51min, 80°C)	9977,027	9977,000

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans différence significative (p = 0,05), ce qui confirme la validation du modèle.

5.4. La carotte cuite par microonde

5.4.1. Plan de criblage et sélection des conditions d’extraction des polyphénols totaux et de la cuisson par microonde de la carotte

Les résultats d’essais pour le taux des polyphénols des carottes cuites par microonde en fonction des sept facteurs (A : temps de cuisson ,B : puissance du microonde, C : volume d’eau de cuisson, D : concentration de solvant, E : temps de macération, C : temps d’ultrasonication et G : broyage) sont présentés dans le tableau 82.

Tableau 82. Matrice d’essais du plan *Plackett – Burmann* pour l’évaluation du taux en polyphénols totaux de la carotte cuite par microonde

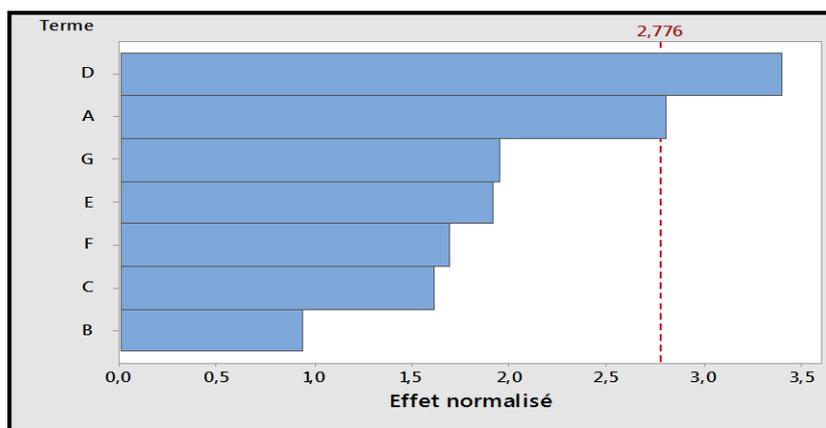
N° d’essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols (µg EAG/ g d’extrait sec)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	0,857x10 ⁴
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	0,946x10 ⁴
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1,105x10 ⁴
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1,014x10 ⁴
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	0,769x10 ⁴
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	0,911x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,842x10 ⁴
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	0,258x10 ⁴
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	0,825x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	0,863x10 ⁴
11	1	1	1	-1	1	1	-1	1,033x10 ⁴
12	1	1	-1	1	1	-1	1	1,052x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B : puissance ; C : volume d’eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : temps de macération ; C : temps d’ultrasonication ; G : broyage

Le modèle mathématique prédit est significatif (P< 0,05). Deux facteurs ont manifesté des effets significatifs (p<0,05) et qui sont le temps de cuisson et la concentration du solvant d’extraction. Le R² ajusté indique que le modèle explique plus de 89,27% de la variabilité de la réponse (Annexe 6). Le modèle polynomial qui prédit la réponse taux des polyphénols est exprimé en termes des codes facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 8733 - 967 A + 323 B - 558 C - 1172 D + 661 E - 583 F + 672 G$$

D’après le tableau 90, les deux facteurs cités influent négativement sur le taux des polyphénols. Le diagramme de *Pareto* (figure 108) montre que le taux des polyphénols dépend principalement de la concentration du solvant suivi par le temps de cuisson.



A : temps de cuisson ;
 B : Puissance ;
 C : volume d’eau de cuisson ;
 D : concentration de solvant ;
 E : Temps de macération ;
 C : temps d’ultrasonication ;
 G : broyage

Figure 108. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés (p=0,05) des conditions d’extraction des polyphénols et de la cuisson par microonde de la carotte

5.4.2. Modélisation et optimisation des conditions de la cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols totaux de la carotte

Les deux facteurs (temps de cuisson et concentration du solvant) sont optimisés par le plan de composite centré tableau 83.

Tableau 83. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux en polyphénols totaux de la carotte cuite par microonde

N° d'essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur concentration du solvant (B)	Taux des polyphénols (µg EAG/ g d'extrait sec)
1	0	0	0,956 x10 ⁴
2	-1	1	0,770 x10 ⁴
3	-1	-1	1,175 x10 ⁴
4	0	0	0,968 x10 ⁴
5	1	-1	0,449 x10 ⁴
6	1	1	0,739 x10 ⁴
7	0	0	0,817 x10 ⁴
8	-1,414	0	0,529 x10 ⁴
9	0	0	0,922 x10 ⁴
10	1,414	0	0,679 x10 ⁴
11	0	-1,414	1,147 x10 ⁴
12	0	0	0,956 x10 ⁴
13	0	1,414	0,770 x10 ⁴

Le modèle est significatif (p=0,000). L'effet des deux facteurs temps de cuisson, concentration de solvant A, B et l'effet du second ordre de concentration de solvant BB sont extrêmement significatifs. Les effets du carré de temps de cuisson AA et l'interaction entre les deux facteurs AB ne sont pas significatifs pour ce modèle. Le R² indique que le modèle explique 99,74% de la variabilité (Annexe 6).

Le modèle polynomial qui prédit la réponse taux des polyphénols est exprimé en termes des codes facteurs comme suit :

$$Taux\ en\ PT = 37915 - 1572 A - 308,5 B + 26,9 A*A + 1,425 B*B + 0,81 A*B$$

Le diagramme de Pareto a apporté les mêmes conclusions : la réponse dépend principalement des facteurs : temps de cuisson A, concentration de solvant B, suivi par l'effet quadratique de la concentration du solvant (figure 109).

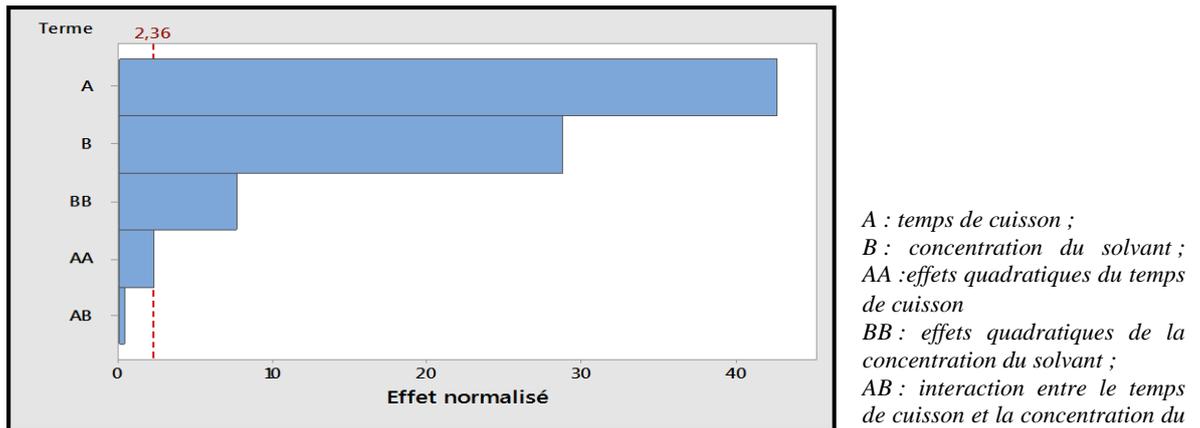


Figure 109. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson par microonde de la carotte

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponse sont illustrées dans la figure 110.

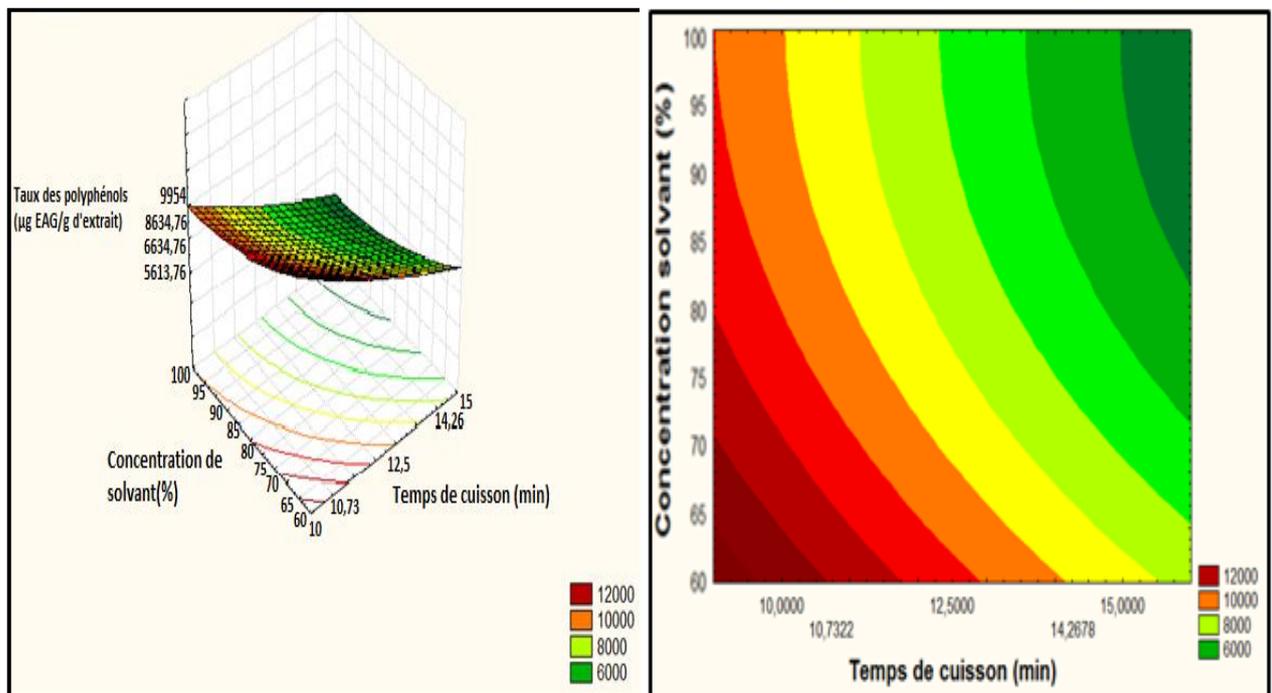


Figure 110. Surface de réponse du taux des polyphénols de la carotte cuite par microonde en fonction de la concentration du solvant et du temps de cuisson

D'après la figure 110, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se trouvent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (10- 10,24 min) et concentration de solvant (60- 70%)

Les valeurs optimales des facteurs ont été calculées à une désirabilité de 1 (figure 111).

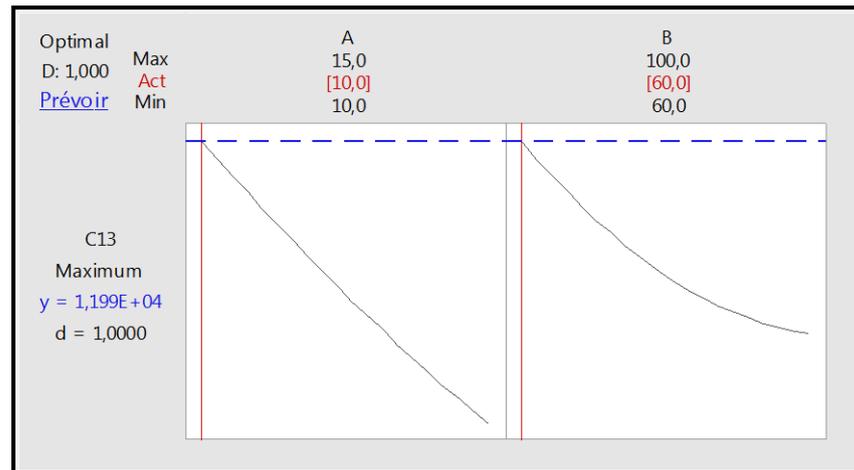


Figure 111. Optimisation du temps de cuisson par microonde et la concentration du solvant en fonction de la désirabilité 1

La prédiction des conditions optimales est : temps de cuisson (10min) et concentration du solvant (60%). La valeur prédite des polyphénols est de $1,199 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract sec}$.

5.4.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport à la concentration du solvant et le temps de cuisson de la carotte cuite par microonde

Les résultats de l'optimisation sont confirmés par la détermination des polyphénols totaux avec les facteurs sélectionnés au point optimum (tableau 84).

Tableau 84. Taux des polyphénols prédit et mesuré de la carotte cuite par microonde

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(10min, 60%)	$1,199 \times 10^4$	$1,200 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

5.5. Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes des carottes

Les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes des carottes sont indiqués dans la figure 112.

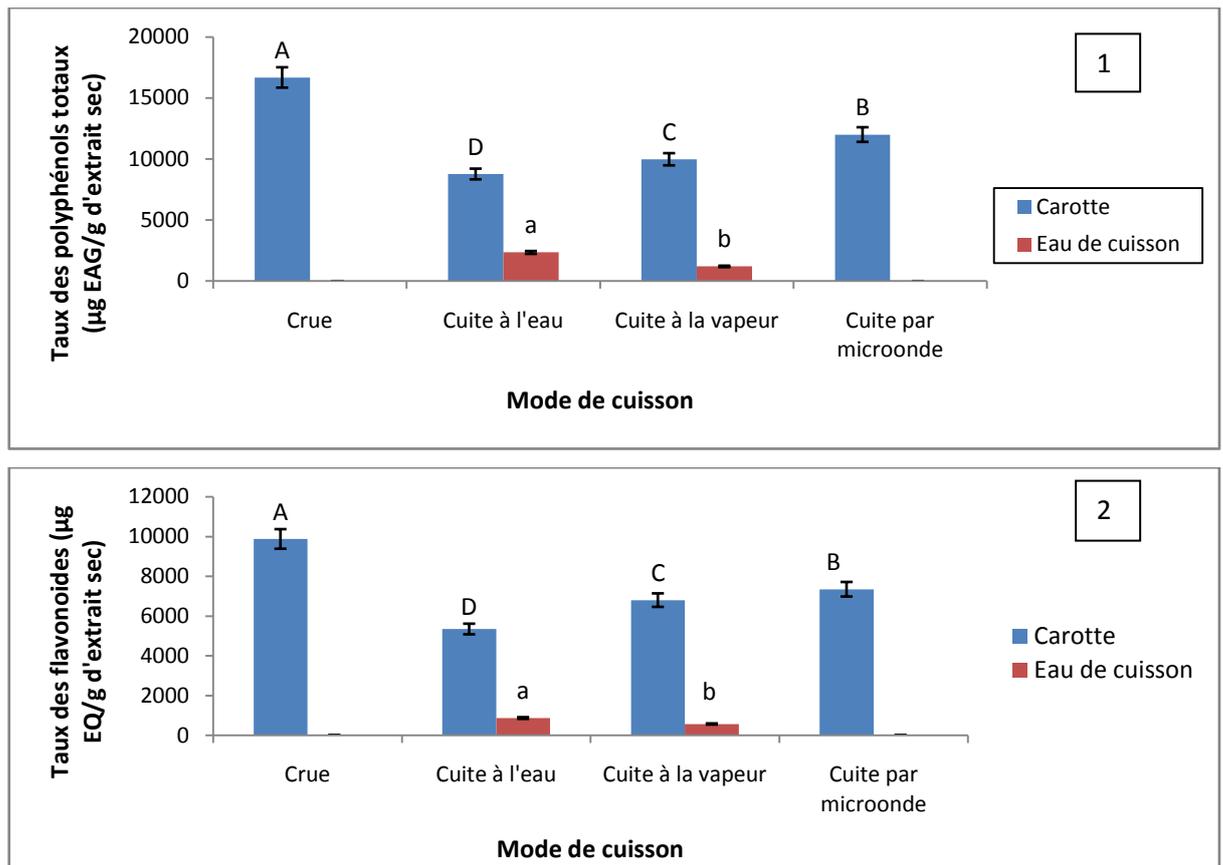


Figure 112. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits de carotte (1 : Polyphénols totaux, 2 : flavonoïdes)

Il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de carottes (crue, cuite à l'eau, cuite à la vapeur, et par microonde). Les extraits de carotte crues ont révélé des quantités considérables de polyphénols totaux et de flavonoïdes. Ces teneurs sont de $16880 \mu\text{g EAG/g}$ et $9878 \mu\text{g EQ/g}$ d'extrait sec respectivement. Cette valeur est différente de celles obtenues dans plusieurs études, notamment celle d'Oviasogie *et al.* (2009) qui ont rapporté que la teneur en polyphénols totaux de carotte est de $26,6 \pm 1,70 \mu\text{g EAG/g}$ d'extrait sec. Lako *et al.* (2007) ont trouvé que les carottes crues contiennent 16 mg EAG/g d'extrait sec des polyphénols totaux.

Rakcejeva *et al.* (2012) ont montré que la teneur en polyphénols totaux de cinq carottes hybrides cultivées varie entre $272,21\text{-}539,76 \text{ mg EAG/g}$ d'extrait sec. Ghasemzadeh *et al.* (2012) ont montré que la teneur en flavonoïdes des carottes des régions tropicales $0,362 \pm 0,031 \text{ mg EQ/g}$ d'extrait sec tandis que Chatatikun et Chiabchalard (2013) ont rapporté une teneur de $20,4 \pm 2,8 \text{ mg EQ/g}$ de matière sèche. Bembem et Sadana (2014) ont montré que la teneur en flavonoïdes totaux est de $5,34 \text{ mg EQ/g}$ d'extrait sec.

Les taux des polyphénols totaux et des flavonoïdes des différents extraits de carottes cuites sont récapitulés dans la figure 111. Les résultats obtenus montrent que les trois modes de cuisson ont

provoqué une diminution des composés phénoliques et des flavonoïdes à des degrés différents selon le mode de cuisson appliqué. Les taux les plus élevés en polyphénols et en flavonoïdes sont constatés dans les extraits issus de carottes cuites par microonde en première position puis à la vapeur et en dernière position à l'eau bouillante.

L'analyse des eaux de cuisson (issues de la cuisson dans l'eau bouillante et à la vapeur) ont révélé des quantités considérables des composés phénoliques. Les quantités enregistrées sont de : 2345 µg EAG/g et 1200 µg EAG/g d'extrait sec respectivement. Ces composés proviennent probablement de la solubilisation des polyphénols de la matrice végétale dans l'eau de cuisson. Des études antérieures ont rapporté que l'ébullition des carottes dans l'eau pendant une minute provoque la réduction de la teneur en polyphénols de 14% jusqu'à 40%.

La diminution des composés phénoliques et des flavonoïdes de la carotte peut être due à plusieurs phénomènes, comme la dégradation thermique (auto-oxydation) (Yoruk *et al.*, 2003) et la diffusion et/ou la lixiviation (Ismail *et al.*, 2004; Turkmen *et al.*, 2005).

En se référant à la littérature, des résultats controverses ont été cités. Les travaux de Miglio *et al.* (2008) ont révélé que les carottes perdent complètement leur polyphénols après l'ébullition dans l'eau, tandis que la cuisson à la vapeur et la friture ont provoqué une réduction sur la teneur en polyphénols totaux de -43% et -31%, respectivement. Par contre, Dolinsky *et al.* (2016) ont signalé que la cuisson ne provoque aucune perte des composés phénoliques, il n'existe aucune différence significative entre la teneur en polyphénols totaux des échantillons crus et cuits.

Sultana *et al.* (2008) ont évalué la teneur en polyphénols dans sept légumes, y compris la carotte. Contrairement aux résultats obtenus dans la présente étude, ils ont montré une augmentation de la teneur en polyphénols totaux des carottes cuites par l'ébullition et au four micro-onde. Par contre, Bembem et Sadana (2014) ont montré que les différents modes de cuisson (ébullition, à la vapeur, cuisson sous pression et par microonde) provoquent une diminution de la teneur en polyphénols totaux et des flavonoïdes.

5.6. Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) des extraits de la carotte

Les résultats de l'identification et la quantification de LC-MS/MS sont montrés dans la figure et le tableau 85 et la figure 113.

Quinze composés ont été identifiés dans la carotte, dont deux sont des acides organiques : l'acide quinique et l'acide malique et treize composés phénoliques : l'acide ferrulique, l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide protocatechuique, l'acide tannique, l'acide cafeique , l'acide p-Coumarique, l'acide rosmarinique, la myricétine, la coumarine ,le kaempferol , l'apigénine et la chrysin .

Par comparaison à la littérature, les travaux d'Alasalvar *et al.* (2001) ont rapporté que la carotte contient principalement des dérivés d'acides hydroxycinnamiques, à savoir, l'acide néochlorogénique (3 'caféylquinique l'acide), l'acide chlorogénique (acide 5'-caféoylquinique), l'acide 3' coumaroylquinique -p, l'acide 3' feruloylquinique, l'acide 3'4' dicaféoylquinique, l'acide 5'-feruloylquinique, l'acide 5'-coumaroylquinique p-, l'acide 4'-feruloylquinique, l'acide 3'5'-dicaféoylquinique, l'acide 3'4'-diferuloylquinique, et l'acide 3'5'-diferuloylquinique. Les études de Kammerer *et al.* (2004) ont été menées sur les acides phénoliques extraits des racines de carottes noires (*Daucus carota subsp. Sativus var. Atrorubens*) et le jus concentré de la carotte noire. Les composés détectés sont : l'acide p - coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique, trois dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et un glycoside de quercétine. Le 5- O -acide cafféoylquinique (acide chlorogénique) a représenté le composé prédominant avec une teneur de 657 mg / kg dans les racines et 5,815 mg / kg dans le jus concentré. Les produits de fragmentation spécifiques des acides mono- et dihydroxycinnamoylquinique ont permis la distinction de plusieurs stéréo-isomères. L'acide 4- O -cafféoylquinique et d'autres esters des acides hydroxycinnamiques ont été également trouvés.

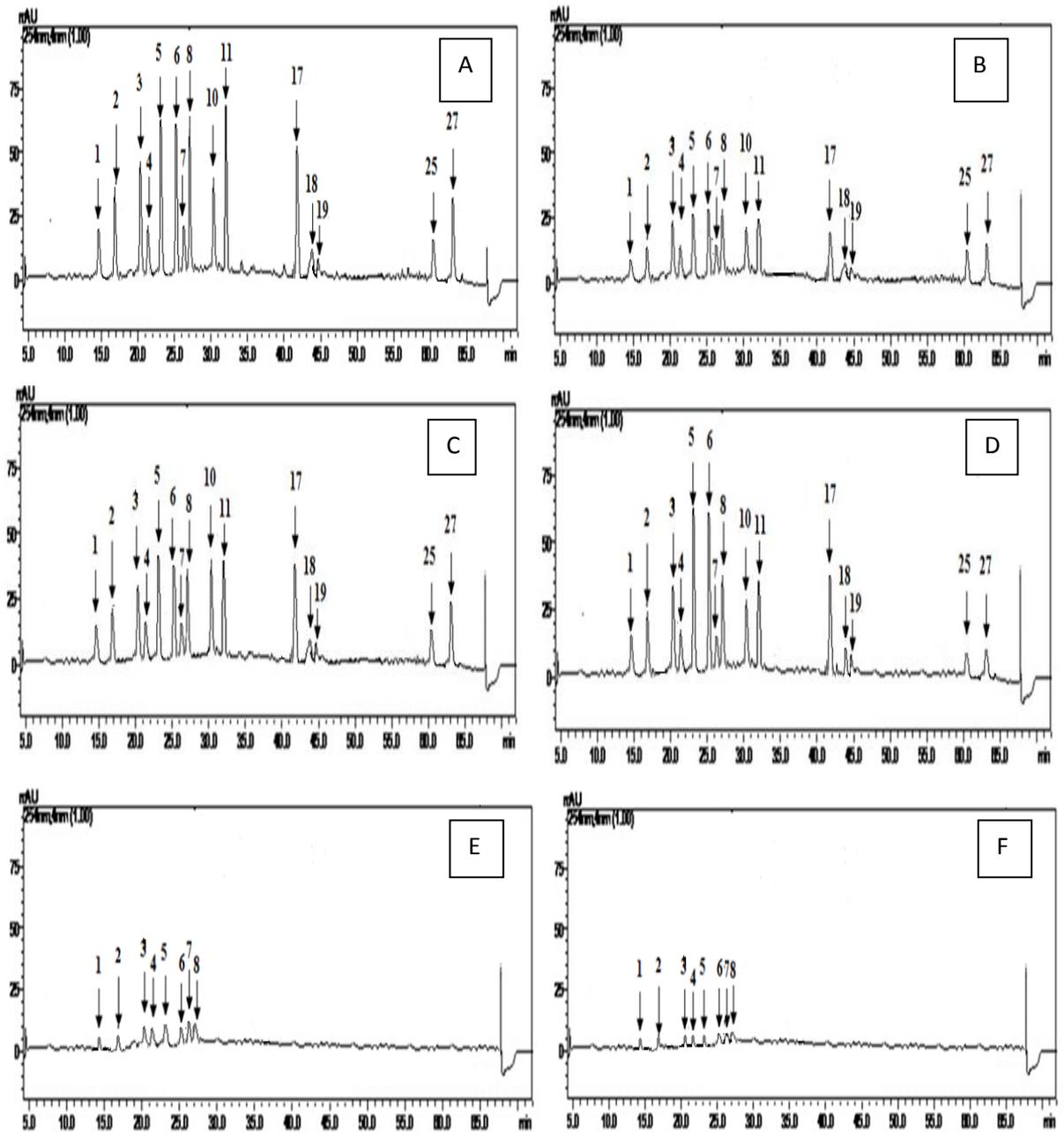


Figure113. Analyse LC-MS/MS des extraits de la carotte

A : carotte crue, B : Cuite à l'eau, C : cuite à la vapeur, D : cuite par microonde, E : eau de cuisson (ébullition), F : eau de cuisson (par vapeur) :

1 : acide quinique, 2: acide malique, 3: acide ferrulique, 4: acide gallique, 5: acide chlorogénique, 6: acide protocatechuique, 7: acide tannique, 8: acide caféique, 9: vanilline, 10: p-acide coumarique, 11: Acide rosmarinique 12: Hesperidine, 13: Rutine, 14: Hyperoside, 15: 4-OH Acide benzoïque, 16: Acide salicylique, 17: Myricétine, 18: Coumarine 19 Kaempferol :, 20: Quercétine, 21: Hesperetine, 22: Naringénine , 23: Luteoline, 24: Fisetine, 25: Apigenine, 26: Rhamnetine, 27: Chrysin.

Tableau 85. Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits de la carotte par LC-MS/MS

N°	Composé	Ion parent (m/z)	MS2 (énergie de collision)	Quantification (µg analyte / g d'extrait)					
				CR	CE	CV	CM	ECE	ECV
1	Acide quinique	190,95	85 (22), 93 (22)	795,76	88,54	634,98	743,76	39,76	22,67
2	Acide mallique	133,05	115 (14), 71 (17)	3467,87	120,05	988,76	2239,76	40,76	24,76
3	Acide Férrulque	172,85	85 (12), 129 (9)	5687,76	657,87	2345,78	3876,87	55,87	19,87
4	Acide gallique	169,05	125 (14), 79 (25)	755,87	134,87	746,87	749	42,76	19,76
5	Acide chlorogénique	353	191 (17)	9809,89	990,76	4007,87	9808,78	67,07	16,78
6	Acide protocatéchique	152,95	109 (16), 108 (26)	8900,66	1009,96	3620,21	8901,05	67,78	19,78
7	Acide tannique	182,95	124 (22), 78 (34)	798,33	129,05	630,76	531,87	65,78	10,98
8	Acide caféique	178,95	135 (15), 134 (24), 89 (31)	9911,193	1007,87	3345,78	4000,76	62,87	12,78
9	Vanilline	151,05	136 (17), 92 (21)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	Acidep- coumarique	162,95	119 (15), 93 (31)	3458,25	645,76	3256,87	2940,76	ND	ND
11	Acide rosmarinique	358,9	161 (17), 133 (42)	9954,93	709,86	3287,65	3098,76	ND	ND
12	Hespéridine	611,1	303,465	ND	ND	ND	ND	ND	ND
13	Rutine	609,1	300 (37), 271 (51), 301 (38)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	Hyperoside	463,1	300,301	ND	ND	ND	ND	ND	ND
15	4-OH acide benzoïque	136,95	93,65	ND	ND	ND	ND	ND	ND
16	Acide salicylique	136,95	93,65,75	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	Myricétine	317	179,151,137	7657,87	667,76	6569,76	5006,78	ND	ND
18	Coumarine	146,95	103,91,77	278,76	77,78	189,54	2088,76	ND	ND
19	Kaempférol	264,95	217,133,151	50,96	39,76	49,76	49,45	ND	ND
20	Quercétine	300,9	179,151,121	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	Hespérétine	300,95	164,136,108	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	Naringinine	270,95	151,119,107	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23	Lutéoléine	284,95	175,151,133	ND	ND	ND	ND	ND	ND
24	Fiséline	284,95	135,121	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	Apigénine	268,95	151,117	452,76	150,76	445,78	207,78	ND	ND
26	Rhamnétine	314,95	165,121,300	ND	ND	ND	ND	ND	ND
27	Chryisine	253	143,119,107	2476,95	234,78	230,78	237,76	ND	ND

ND : Non déterminé CR : carotte crue; CE : carotte cuite dans l'eau; CV : carotte cuite à la vapeur; CM : carotte cuite par microonde ; ECE : eau de cuisson par ébullition ; ECV : eau de cuisson par vapeur

Dans le même contexte, Lako *et al.* (2007) ont signalé que les carottes crues contiennent des teneurs de moins 1 mg de myricétine, de quercétine, des traces de fisétine, des traces de morin et des traces de isorhamnétine.

À partir des extraits des racines de carottes, six flavonoïdes ont été isolés et identifiés: trois flavonols (le kaempférol, la quercétine et la rutine 3-rutinoside) et trois flavones (apigénine, chrysin et lutéoline) (Rhlid *et al.*, 1993).

En outre, Zhang et Hamauzee (2004) ont étudié la teneur en composés phénoliques et leur distribution dans la carotte, ils ont constaté qu'elle contenait principalement les acides hydroxycinnamiques et leurs dérivés. L'acide chlorogénique est l'acide hydroxycinnamique majeur, il représente 42,2-61,8% des composés phénoliques totaux détectés dans les différents tissus de carottes. Le contenu phénolique dans différents tissus diminue dans l'ordre suivant, épiderme > phloème > xylème.

Dans autres études, les auteurs ont montré que la carotte contient 37,5 mg / kg de lutéoline (Miean et Mohaned , 2001); <1,4 mg / kg de luteoline, <1 mg / kg de myricétine (Hertog *et al.*, 1992), Kaempferol 15,3 µg / g de poids humide (Arai *et al.*, 2000); 3.1-14.3 mg / kg de flavonols (Tsanova-Savova et Ribarova, 2013)

Les résultats de LC-MS/MS confirment ceux obtenus par dosage spectrophotométrique. La cuisson dans l'eau et la cuisson à la vapeur ont réduit les teneurs de tous les composés identifiés. Six composés phénoliques et deux acides organiques ont été identifiés dans les eaux de cuisson et qui sont : l'acide quinique, acide malique, acide ferrulique, acide gallique, acide chlorogénique, acide protocatéchique, acide tannique et acide caféique .

La cuisson par microonde a permis la diminution des teneurs de tous les composés phénoliques à part l'acide chlorogénique et l'acide protocatéchique où une rétention de ces composés a été constatée. Cela est peut être expliqué par l'effondrement de la structure cellulaire par le traitement thermique ce qui augmente les polyphénols libres , soit en raison de l'hydrolyse des glycosides de flavonol , et l'inactivation des enzymes oxydatives de la carotte, comme la polyphénol oxydase. Par conséquent, l'ensemble de ces facteurs peut empêcher la perte de composés phénoliques libérés des parois cellulaires après la lyse des cellules végétales (Tasca, 2007).

5.7. Activité antioxydante des extraits de la carotte

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante par les trois méthodes (DPPH, ABTS et CUPRAC) sont montrés dans la figure 114.

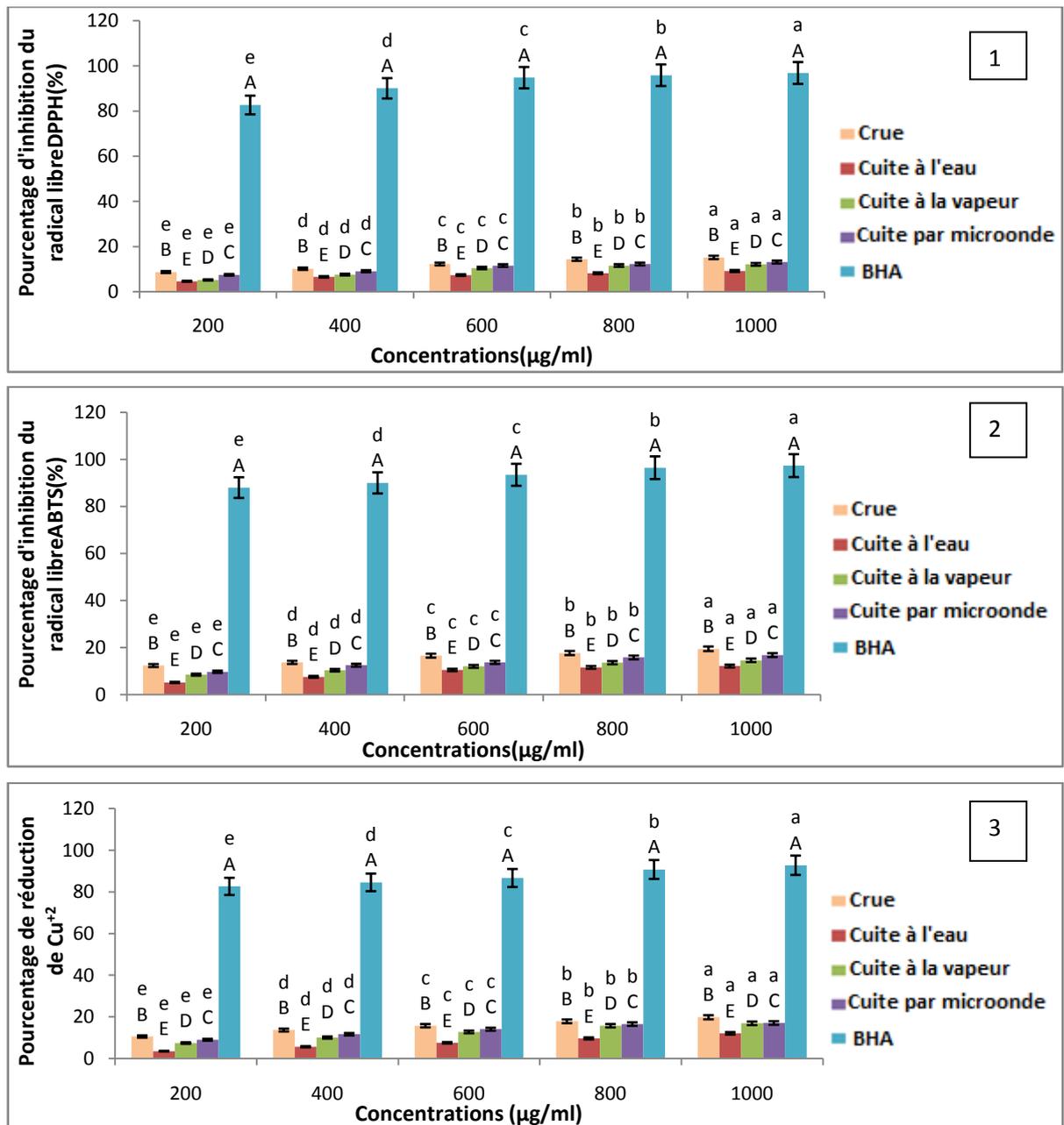


Figure 114. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de la carotte (1 : Méthode DPPH, 2 : Méthode ABTS, 3 : Méthode CUPRAC)

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de carotte par les trois méthodes montre que la carotte présente une faible activité antioxydante, elle varie entre $8,65 \pm 0,65\%$ et $15,14 \pm 0,34\%$ pour la méthode DPPH, entre $12,34 \pm 0,76$ et $19,45 \pm 0,45\%$ pour la méthode ABTS et entre $10,56 \pm 0,56$ et $19,83 \pm 0,09\%$ pour la méthode CUPRAC. Cette activité augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Il existe une différence significative ($P < 0,05$) entre les différentes concentrations des extraits de carotte. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Dolinsky *et al.* (2016) qui ont obtenu un pourcentage d'inhibition de $3,5 \pm 0,60\%$ pour les échantillons de carotte crue.

L'activité antioxydante a été réduite à des degrés différents selon le mode de cuisson appliqué. La cuisson par microonde s'est avérée la plus efficace, suivie par la cuisson à la vapeur et en dernière position la cuisson dans l'eau bouillante (tableau 86).

Tableau 86 . Valeurs d'IC50 pour l'activité antioxydante des extraits de la carotte

	DPPH	ABTS	CUPRAC
Crue	1586,65±0,06 ^d	1180,67±0,13 ^d	1100,87±0,07 ^d
Cuite à l'eau	2703,54±0,23 ^a	2686,76±0,89 ^a	2592,78±0,70 ^a
Cuite à la vapeur	1820,76±0,13 ^b	1710,76±0,87 ^b	1610±0,21 ^b
Cuite par microonde	1609,8±0,98 ^c	1295,65±0,09 ^c	1230,65±0,24 ^c
Témoin (BHA)	55,13±0,34 ^e	55,56±0,18 ^e	56,5±0,09 ^e

Pour chaque test, le même exposant signifie l'absence de différence significative

D'après le tableau 86, les résultats de l'analyse de la variance ont montré l'existence d'une différence significative ($P < 0,05$) entre les IC50 des carottes crues et cuites (à l'eau, à la vapeur et par microonde) et cela a été observée pour toutes les méthodes appliquées pour l'évaluation de l'activité antioxydante (DPPH, ABTS, CUPRAC).

les IC50 des carottes cuites sont supérieures à ceux de la carotte crue. Ce qui indique une diminution de l'activité antioxydante par le procédé de cuisson. Le mode de cuisson à l'eau a montré la plus haute IC50 c'est-à-dire la plus faible activité antioxydante, suivi par la cuisson à la vapeur et la cuisson par microonde.

Les résultats obtenus sont semblables à ceux obtenus par Jimenez-monreal *et al.* (2009) qui ont rapporté des réductions de l'activité antioxydante d'environ 30% à 50% pour la carotte cuite à l'eau. La carotte cuite par microonde a présenté peu de variations dans ses activités antioxydantes. Cependant, une autre étude menée par Gayatri *et al.* (2007) ont montré que la cuisson présente un effet négatif sur l'activité antioxydante des carottes.

Des résultats controverses ont été évoqués dans la littérature, notamment Dolinsky *et al.* (2016), qui ont signalé une augmentation de l'activité antioxydante après cuisson des carottes par ébullition et par vapeur. Sultana *et al.* (2008), ont signalé que la cuisson par microonde a engendré une faible diminution de la teneur en polyphénols totaux et une augmentation de l'activité antioxydante des carottes soumises à l'ébullition dans l'eau. Faller et Fialho (2009) ont conclu que les trois modes de cuisson (par ébullition, par microonde et à la vapeur) diminuent l'activité antioxydante des carottes.

La diminution de l'activité antioxydante est peut être due à la dégradation ou la transformation des composés phénoliques par le procédé de cuisson en d'autres composés moins actifs. Pour

vérifier la corrélation entre la variation des taux des polyphénols par la cuisson et l'activité antioxydante de la carotte, un test de corrélation de *Pearson* a été effectué (tableau 87).

Tableau 87. Corrélations entre le taux des polyphénols et l'activité antioxydante des extraits de la carotte

	DPPH		ABTS		CUPRAC	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Cuite à l'eau	1	< 0,0001	1	< 0,0001	1	< 0,0001
Cuite à la vapeur	1	< 0,0001	1	< 0,0001	1	< 0,0001
Cuite par microonde	1	< 0,0001	1	< 0,0001	1	< 0,0001

A la lecture du tableau 87, une forte corrélation positive entre la variation de la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante des carottes ($r = 1, p < 0,0001$) ce qui confirme que les polyphénols sont les responsables de cette activité et leur diminution provoque une diminution du pouvoir antioxydant.

Selon Dolinsky *et al.*(2016), la réduction du pouvoir antioxydant de la carotte est attribuée à plusieurs facteurs, comme la réduction du contenu phénolique par la cuisson et la méthode de cuisson utilisée.

5.8. Activité anticholinestérase des extraits de la carotte

Les activités antiacétylcholinestérase et antibutyrylcholinestérase des extraits de carotte crue et cuite (à l'eau, à la vapeur et par microonde) ont été testées puis comparées à celle d'un inhibiteur de référence qui est la galantamine. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 115.

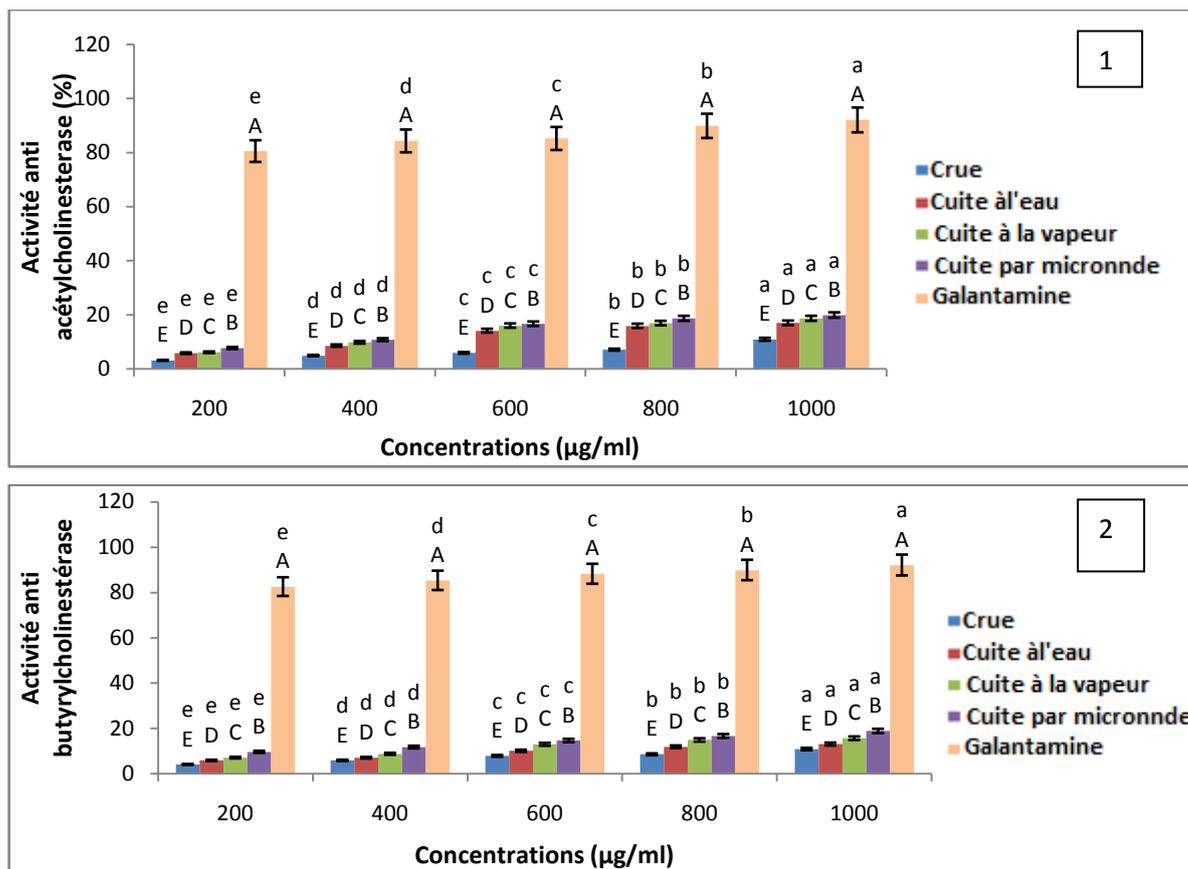


Figure 115. Activité anticholinestérase des extraits de la carotte (1 : Activité antiacétylcholinestérase 2: activité antibutyrylcholinestérase)

La carotte a présenté des faibles activités anti acétylcholinestérase et anti butyrylcholinestérase respectivement $10,89 \pm 0,29\%$ et $10,67 \pm 0,45\%$ pour une concentration de $1000 \mu\text{g/ml}$, on remarque que l'activité augmente avec l'augmentation de la concentration d'extrait. La galantamine a présenté la meilleure activité inhibitrice de l'AChE et l'BChE par rapport aux extraits. On remarque une augmentation de l'activité anticholinestérase après la cuisson. L'activité anticholinestérase a été augmentée, à des degrés différents, les IC50 des extraits et du galantamine. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 88.

Tableau 88. Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase

	Activité antiacétylcholinestérase	Activité antibutyrylcholinestérase
Crue	$2471,27 \pm 0,67^a$	$2129,42 \pm 0,21^a$
Cuite dans l'eau	$2105,29 \pm 0,24^b$	$2087,84 \pm 0,54^b$
Cuite à la vapeur	$1967,72 \pm 0,98^c$	$1611,22 \pm 0,18^c$
Cuite par microonde	$1363,6 \pm 0,56^d$	$1234,68 \pm 0,54^d$
Témoin (Galantamine)	$84,23 \pm 0,21^e$	$86,56 \pm 0,08^e$

Pour chaque test, le même exposant signifie l'absence de différence significative

Ces résultats montrent qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les IC50 de la carotte crue, cuite et la galantamine. Les extraits ont présenté des IC50 élevés pour les activités anti acétylcholinestérase et antibutyrylcholinestérase, ce qui indique une activité anticholinestérase faible. La valeur d'IC50 obtenue pour la galantamine utilisée comme molécule de référence est bien plus inférieure à ceux des extraits, donc le témoin a manifesté la meilleure activité inhibitrice de l'AChE et l'BChE. La classification des modes de cuisson selon le degré d'augmentation de l'activité anticholinestérase place la cuisson par microonde en première position puis la cuisson à la vapeur et en dernière position la cuisson à l'eau. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Vasudevan *et al.* (2010) qui ont confirmé que les extraits de la carotte ont un potentiel antialzheimer lorsqu'ils sont administrés pendant sept jours chez le rat. Par ailleurs, nous signalons que malgré la diminution des composés phénoliques, une augmentation de l'activité anticholinestérase après cuisson a été enregistrée. Pour vérifier la corrélation entre la variation du taux des polyphénols par la cuisson et l'activité anti acétylcholinestérase et anti butyrylcholinestérase, un test de corrélation de *Pearson* a été effectué, les résultats sont enregistrés dans le tableau 89.

Tableau 89. Corrélations entre la variation de la teneur des polyphénols par la cuisson et l'activité anticholinestérase

	Activité anti acétylcholinestérase		Activité anti butyrylcholinestérase	
	r	P	r	p
Cuite à l'eau	-1	< 0,0001	-1	< 0,0001
Cuite à la vapeur	-0,99	< 0,0001	-1	< 0,0001
Cuite par microonde	-1	< 0,0001	-0,98	< 0,0001

D'après le tableau 89, l'activité anticholinestérase de la carotte est fortement négativement corrélée à la variation de la teneur en polyphénols totaux après cuisson. Ce qui indique que l'augmentation de l'activité anticholinestérase peut être expliquée par la dégradation des polyphénols après cuisson et la néoformation des composés phénoliques plus actifs. La capacité anticholinestérase d'un mélange de polyphénols n'est donc pas équivalente à la somme des capacités anticholinestérases des composés, des effets d'antagonisme ou de synergie et des effets de matrice pouvant apparaître. Une modification dans les différentes proportions des composants phénoliques de la carotte peut donc avoir une répercussion difficile à prévoir sur la capacité anticholinestérase. La capacité anticholinestérase est donc une mesure sensible et sujette à de nombreuses variations (Chinnici *et al.*, 2004 ; Schmitt-Schilling *et al.*, 2005 ; Tsao *et al.*, 2005). De même, Bozkurt *et al.* (2017) ont signalé que d'autres composés libérés par la cuisson peuvent participer à cette activité tels que les alcaloïdes qui sont connus par leurs effets contre la maladie d'Alzheimer.

6.1. Le piment cru

6.1.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions d'extraction des polyphénols totaux du piment cru

Le criblage des facteurs (A : concentration du solvant ; B : temps de macération ; C: temps d'ultrasonication ; D: broyage) qui semblent avoir un effet sur la réponse "taux des polyphénols totaux" sont récapitulés dans le tableau 90. Un nombre total de 12 essais a été nécessaire pour compléter le plan d'expérience.

Tableau 90. Matrice d'essais du plan *Plackett-Burmann* pour l'évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cru

N° d'essai	A	B	C	D	Taux des polyphénols (µg EAG/ g d'extrait sec)
1	-1	1	1	1	1,025x10 ⁴
2	-1	-1	1	1	1,562x10 ⁴
3	1	1	-1	1	1,249x10 ⁴
4	-1	1	1	-1	0,895x10 ⁴
5	1	-1	-1	-1	1,245x10 ⁴
6	1	-1	1	-1	1,248x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	0,900x10 ⁴
8	-1	-1	-1	1	1,600x10 ⁴
9	1	-1	1	1	1,405x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	1,258x10 ⁴
11	1	1	1	-1	1,612x10 ⁴
12	1	1	-1	1	0,875x10 ⁴

A : concentration du solvant ; B : temps de macération ; C: temps d'ultrasonication ; D: broyage

L'analyse du plan indique que le modèle polynomial, qui prédit la réponse "taux des polyphénols totaux", est significatif ($P < 0,05$). Les effets "concentration du solvant et temps d'ultrasonication" se sont avérés significatifs pour un intervalle de confiance de 95%. Le coefficient de détermination (R^2) est remarquablement très important. Il indique que le modèle prédit explique plus de 94,82% de la variabilité de la réponse (Annexe 7).

Le modèle polynomial, exprimé en termes des codes facteurs, est comme suit :

Taux en PT = 12398 - 2064 A - 283 B - 1441 C - 71 D

Les deux facteurs : concentration du solvant et temps d'ultrasonication ont des effets négatifs et significatifs sur la réponse "taux des polyphénols totaux"

Le diagramme de *Pareto* montre que la réponse dépend principalement de la concentration du solvant suivi par le temps d'ultrasonication. Les effets associés au temps de macération et au broyage ne sont pas significatifs dans ce modèle (Figure 116).

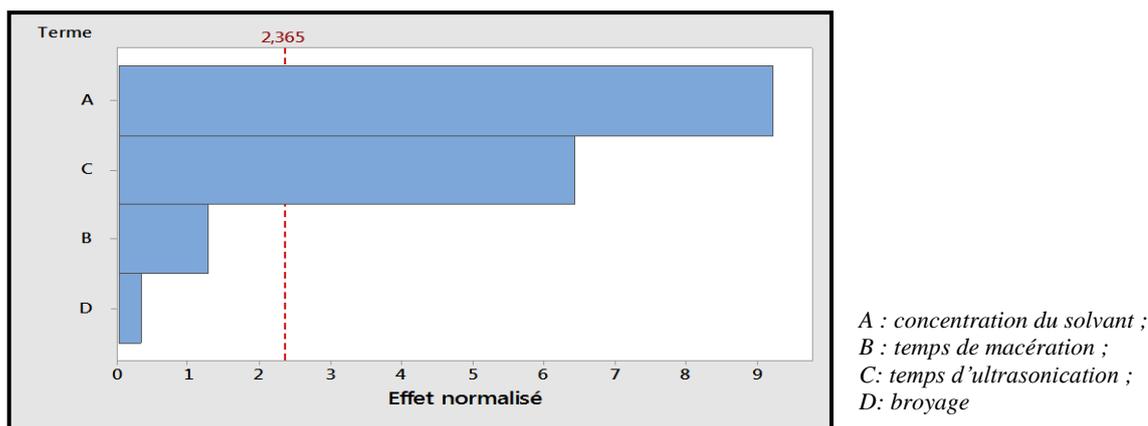


Figure116. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux du piment cru

6.1.2. Modélisation et optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux du piment cru

Les deux facteurs, ayant un effet significatif et qui ont été sélectionnés par le plan de criblage, sont optimisés par le plan composite centré. Les réponses obtenues sont mentionnées dans le tableau 91.

Tableau 91. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cru

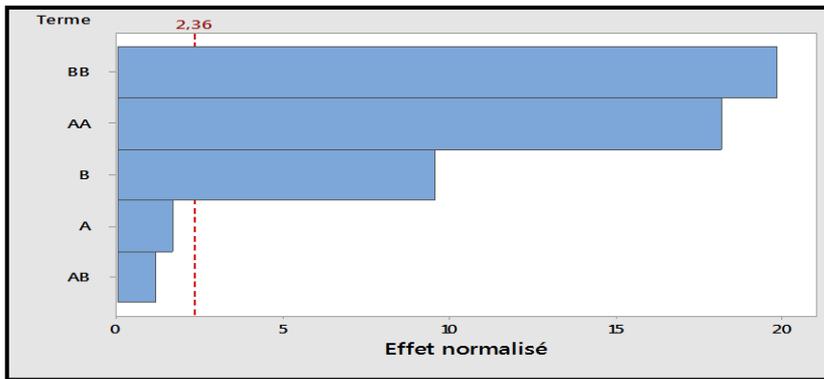
N° d'essai	Niveaux du facteur concentration du solvant (A)	Niveaux du facteur temps d'ultrasonication(B)	Taux des polyphénols totaux ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
1	0	0	$1,174 \times 10^4$
2	-1	1	$2,054 \times 10^4$
3	-1	-1	$2,056 \times 10^4$
4	0	0	$1,187 \times 10^4$
5	1	-1	$1,078 \times 10^4$
6	1	1	$1,536 \times 10^4$
7	0	0	$1,128 \times 10^4$
8	-1,414	0	$1,427 \times 10^4$
9	0	0	$1,105 \times 10^4$
10	1,414	0	$1,449 \times 10^4$
11	0	-1,414	$1,342 \times 10^4$
12	0	0	$1,155 \times 10^4$
13	0	1,414	$2,055 \times 10^4$

L'analyse du plan indique que le modèle prédit est significatif ($p < 0,05$). L'ANOVA a montré que les trois termes : carré du temps d'ultrasonication (BB), carré de la concentration du solvant (AA) et terme linéaire du temps d'ultrasonication (B) sont significatifs ($p < 0,05$). Le terme linéaire de la concentration du solvant et l'interaction des deux facteurs n'ont pas d'effet significatif pour ce modèle. Le R^2 ajusté indique que le modèle prédit explique 99,06% de la variabilité de la réponse (Annexe 7).

L'équation polynomiale quadratique pour la réponse "taux des polyphénols totaux" est:

$$\text{Taux en PT} = -185509 + 3088 A + 3451 B - 19,78 A*A - 38,32 B*B + 2,26 A*B$$

Le diagramme de *Pareto* (Figure 117) montre que le taux des polyphénols totaux dépend principalement du carré du temps d'ultrasonication BB, suivi du carré de la concentration du solvant AA et en dernière position le terme linéaire du temps d'ultrasonication B.



A : concentration du solvant;
 B : temps d'ultrasonication,
 AA : carré de concentration de solvant,
 BB : carré du temps d'ultrasonication,
 AB : interaction entre la concentration du solvant et le temps d'ultrasonication

Figure 117. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols totaux du piment cru

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponse sont indiquées dans la figure 118.

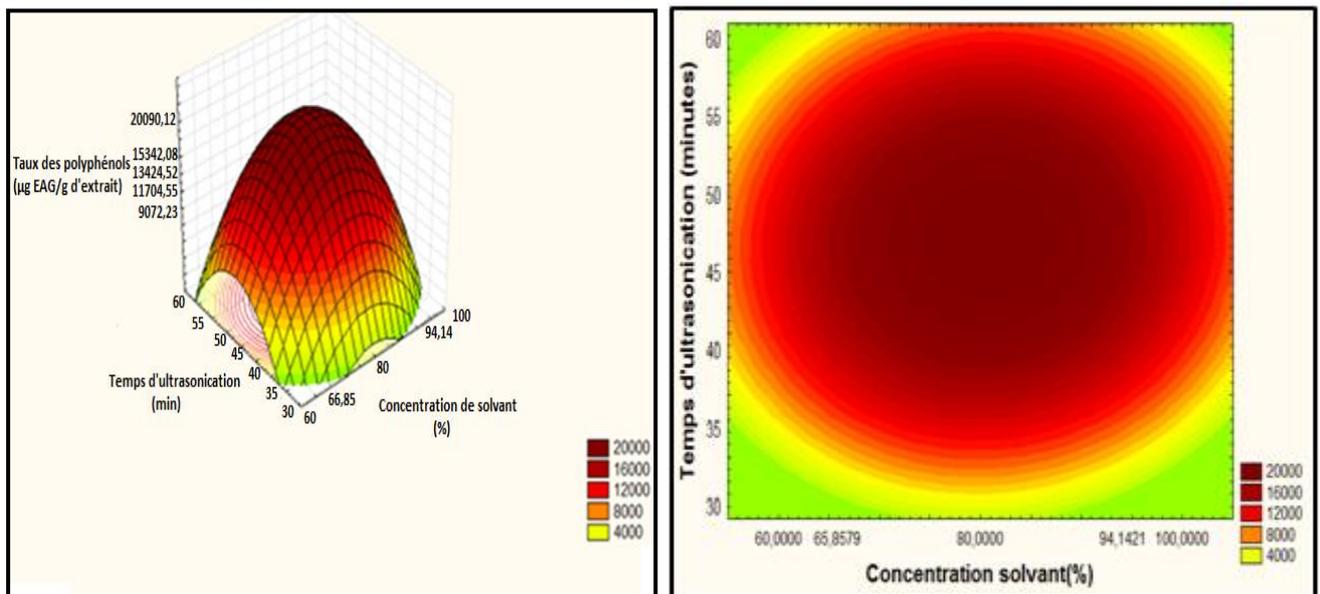


Figure 118. Surface de réponse du taux des polyphénols totaux du piment cru en fonction de la concentration du solvant et du temps d'ultrasonication

Selon la figure 118, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se situent dans la zone rouge limitée par les points : concentration du solvant (73-87%) et temps d'ultrasonication (42-52 min).

Les valeurs optimales obtenues des facteurs déterminés à une désirabilité de 0,952 sont illustrées dans la figure 119.

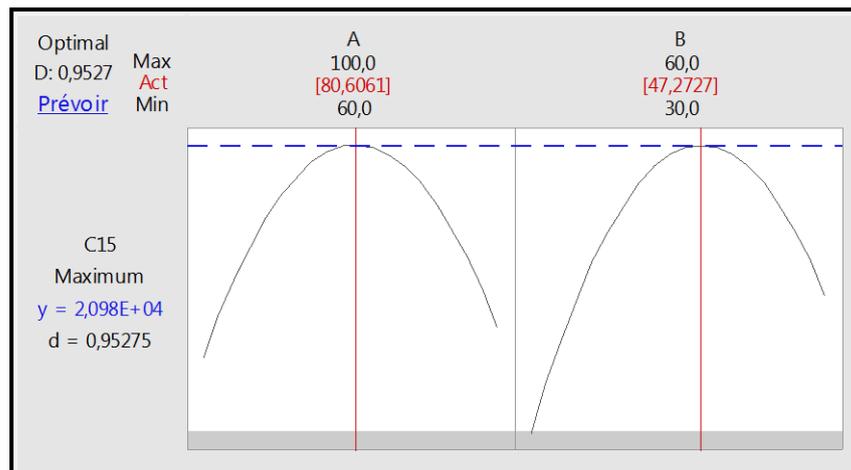


Figure 119. Optimisation de la concentration du solvant et du temps d’ultrasonication pour l’extraction des polyphénols du piment cru en fonction de la désirabilité 1

Les conditions optimales obtenues sont comme suit: concentration du solvant est de 80,66% et temps d’ultrasonication est de 47,27 min. La prédiction du taux polyphénols est de $2,098 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract sec}$.

6.1.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport à la concentration du solvant et du temps d’ultrasonication pour l’extraction des polyphénols du piment cru

Les valeurs optimales obtenues ont été vérifiées expérimentalement. Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau 92.

Tableau 92. Taux de polyphénols prédit et mesuré du piment cru

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(80,66% ; 47,27min)	$2,098 \times 10^4$	$2,099 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans aucune différence significative ($P = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

6. 2. Le piment cuit à l’eau

6.2.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à l’eau et d’extraction des polyphénols totaux du piment

L’évaluation du taux des polyphénols totaux de piment cuit à l’eau en fonction des sept facteurs (A : temps de cuisson ; B : température de cuisson; C : volume d’eau de cuisson ; D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; C : temps d’ultrasonication et G : broyage) sont présentés dans le tableau 93.

Tableau 93. Matrice d’essais du plan *Plackett- Burmann* pour l’évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cuit à l’eau

N° d’essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols totaux (µg EAG/g d’extrait sec)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	0,985x10 ⁴
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	0,856x10 ⁴
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	0,785 x10 ⁴
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	0,785 x10 ⁴
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	0,860 x10 ⁴
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	0,817 x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,779 x10 ⁴
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	0,958 x10 ⁴
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	0,984 x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	0,856 x10 ⁴
11	1	1	1	-1	1	1	-1	0,810 x10 ⁴
12	1	1	-1	1	1	-1	1	0,810 x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d’eau de cuisson ; D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; C : temps d’ultrasonication ; G : broyage

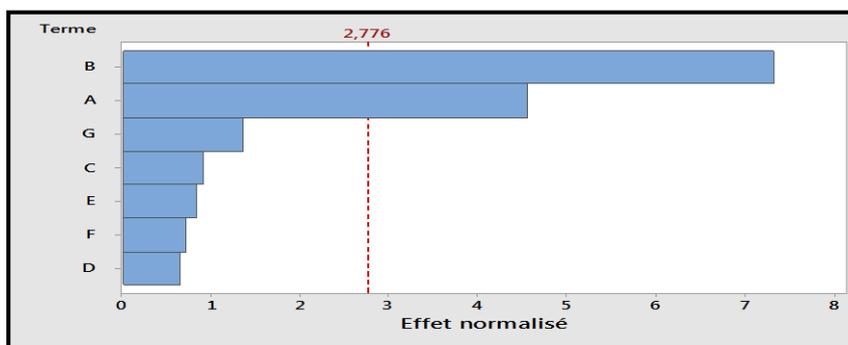
Le R² indique que le modèle prédit explique 95,17% de la variabilité de la réponse. Ce modèle est significatif (p < 0,05). De même, les deux effets (temps et température de cuisson) se sont avérés significatifs (p < 0,05) (Annexe 7).

Le modèle polynomial qui prédit la réponse "taux des polyphénols totaux" est exprimé en termes des codes facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 8575,0 + 368,0 A + 593,4 B - 73,5 C + 53,2 D + 68,2 E - 57,5F - 110,1 G$$

Les deux facteurs temps et température de cuisson ont des effets positifs et significatifs sur la réponse "taux des polyphénols totaux" (Annexe 7).

Le diagramme de *Pareto* montre que la réponse dépend principalement de la température de cuisson suivie par le temps de cuisson. Les effets associés à la concentration du solvant, le temps de macération, le temps d’ultrasonication et le broyage ne sont pas significatifs dans ce modèle (Figure 120).



A : temps de cuisson ;
 B : température de cuisson ;
 C : volume d’eau de cuisson ;
 D : concentration du solvant ;
 E : temps de macération ;
 C : temps d’ultrasonication ;
 G : broyage

Figure 120. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés (p=0,05) des conditions d’extraction des polyphénols et de la cuisson à l’eau du piment.

6.2.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à l'eau du piment

Les deux facteurs (temps et température de cuisson) sont optimisés par le plan composite centré. Les résultats des 13 essais sont récapitulés dans le tableau 94.

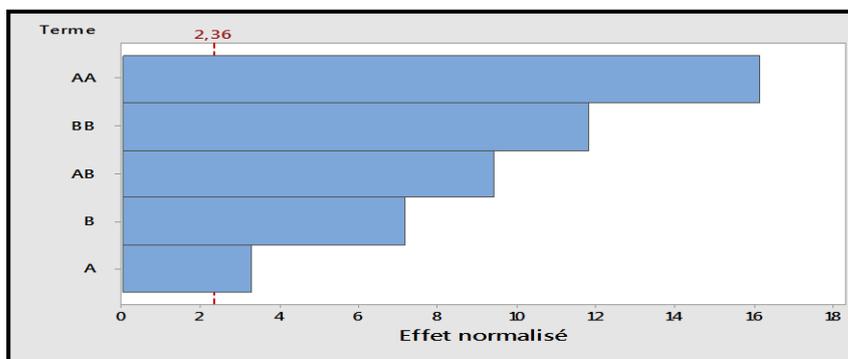
Tableau 94. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux des polyphénols du piment cuit à l'eau

N° d'essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur température de cuisson (B)	Taux des polyphénols totaux (µg EAG/ g d'extrait sec)
1	0	0	0,903x10 ⁴
2	-1	1	0,803x10 ⁴
3	-1	-1	0,845x10 ⁴
4	0	0	0,902x10 ⁴
5	1	-1	0,873x10 ⁴
6	1	1	0,823x10 ⁴
7	0	0	0,902x10 ⁴
8	-1,414	0	0,881x10 ⁴
9	0	0	0,903 x10 ⁴
10	1,414	0	0,894x10 ⁴
11	0	-1,414	0,813x10 ⁴
12	0	0	0,922x10 ⁴
13	0	1,414	0,803x10 ⁴

Le modèle est extrêmement significatif ($p= 0,000$). Les cinq termes (A, B, AA, BB et AB) ont des effets significatifs sur la réponse. Le R^2 indique que le modèle explique plus de 98,64% de la variabilité de la réponse (Annexe 7). Le modèle polynomial, qui prédit la réponse taux des polyphénols, est exprimé en termes des codes facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 90979 - 8270 A - 364 B + 369,3 A*A + 6,069 B*B - 42,70 A*B$$

Le diagramme de *Pareto* apporte les mêmes conclusions ; il indique que la réponse dépend principalement du carré de temps de cuisson, du carré de température de cuisson suivis par l'interaction des deux facteurs (le terme linéaire du facteur température de cuisson et le terme linéaire du temps de cuisson) (Figure 121).



A : temps de cuisson ;
 B : température de cuisson,
 AA: carré du temps de cuisson,
 BB : carré de la température de cuisson,
 AB : interaction entre le temps de cuisson et la température de cuisson

Figure 121. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés ($p=0,05$) des conditions de cuisson à l'eau du piment et d'extraction des polyphénols

La surface de réponse et la courbe d'iso réponse sont illustrées dans la figure 122.

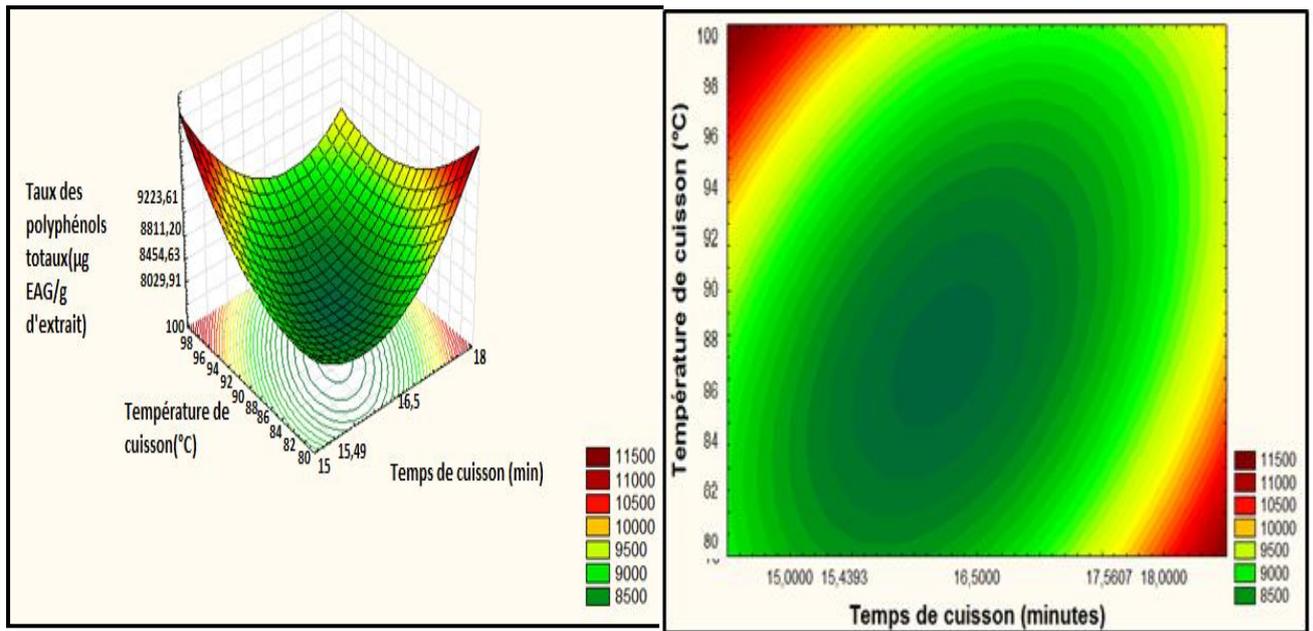


Figure 122. Surface de réponse du taux des polyphénols en fonction du temps et de la température de cuisson à l'eau du piment

A la lecture de la figure 122, les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se localisent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (15- 15,43min) et température de cuisson (98-100°C). Ces valeurs ont été calculées à une désirabilité de 1. Les résultats obtenus sont exposés dans la figure 123.

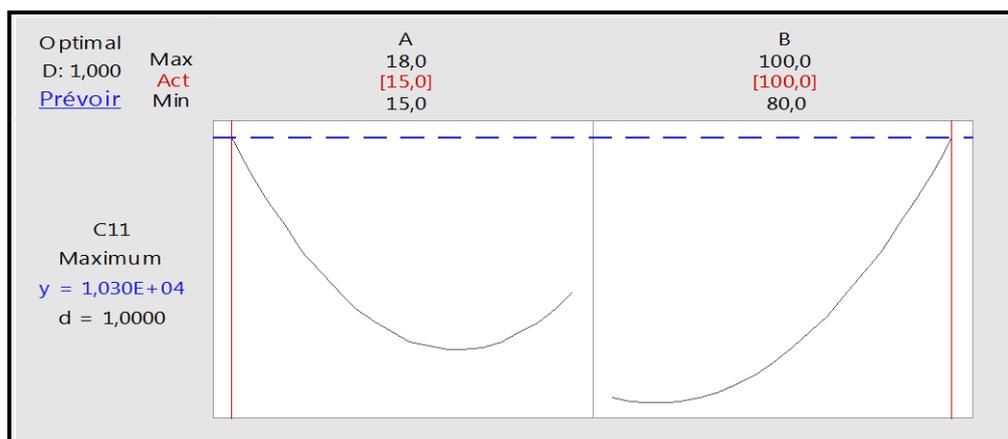


Figure 123. Optimisation du temps et de la température de cuisson à l'eau du piment en fonction de la désirabilité

Les conditions optimales obtenues à une désirabilité de 1 sont comme suit: temps de cuisson (15 min) et température de cuisson (100°C). Le taux prédit des polyphénols totaux est de $1,030 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extrait sec}$.

6.2.3. Confirmation du modèle optimisé par rapport au temps et à la température de cuisson à l'eau du piment

La valeur optimale a été vérifiée expérimentalement. Les résultats obtenus sont enregistrés dans le tableau 95.

Tableau 95. Taux de polyphénols prédit et mesuré du piment cuit à l'eau

Points	Taux de polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Taux de polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
(15min, 100°C)	$1,030 \times 10^4$	$1,029 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans avoir de différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

6.3. Le piment cuit à la vapeur

6.3.1. Plan de criblage pour la sélection des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux du piment

Le taux des polyphénols totaux du piment cuit à la vapeur en fonction des sept facteurs sont présentés dans le tableau 96.

Tableau 96. Matrice d'essais du plan *Plackett –Burmann* pour l'évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cuit à la vapeur

N° d'essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	$0,502 \times 10^4$
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	$0,859 \times 10^4$
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	$0,785 \times 10^4$
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	$0,785 \times 10^4$
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	$1,110 \times 10^4$
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	$2,608 \times 10^4$
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	$2,627 \times 10^4$
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	$1,033 \times 10^4$
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	$4,554 \times 10^4$
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	$0,790 \times 10^4$
11	1	1	1	-1	1	1	-1	$1,120 \times 10^4$
12	1	1	-1	1	1	-1	1	$0,845 \times 10^4$

A : temps de cuisson ; B : température de cuisson ; C : volume d'eau de cuisson ;
D : concentration du solvant ; E : temps de macération ; F : temps d'ultrasonication ; G : broyage

L'analyse du plan montre que le modèle est significatif ($p < 0,05$). Parmi les facteurs testés, le temps de cuisson et la concentration de solvant ont révélé un effet significatif sur la réponse. Le coefficient de détermination (R^2) obtenu indique que 92,01% de la variabilité de la réponse pourrait être expliquée par ce modèle (Annexe 7). Le modèle polynomial, qui prédit la réponse taux des polyphénols, est exprimé en termes des codes facteurs comme suit:

$$\text{Taux en PT} = 23128 + 12254A + 8999B - 12033C + 11439D - 8408E - 11171F - 9232G$$

Les résultats obtenus montrent que le temps de cuisson et la concentration du solvant présentent des effets positifs sur la réponse "taux des polyphénols totaux". Les effets associés aux facteurs : température de cuisson, volume d'eau, temps d'ultrasonication, temps de macération et broyage ne sont pas significatifs dans ce modèle (Annexe 7).

Le diagramme de *Pareto* montre que la réponse dépend principalement du temps de cuisson suivi par la concentration du solvant (figure 124).

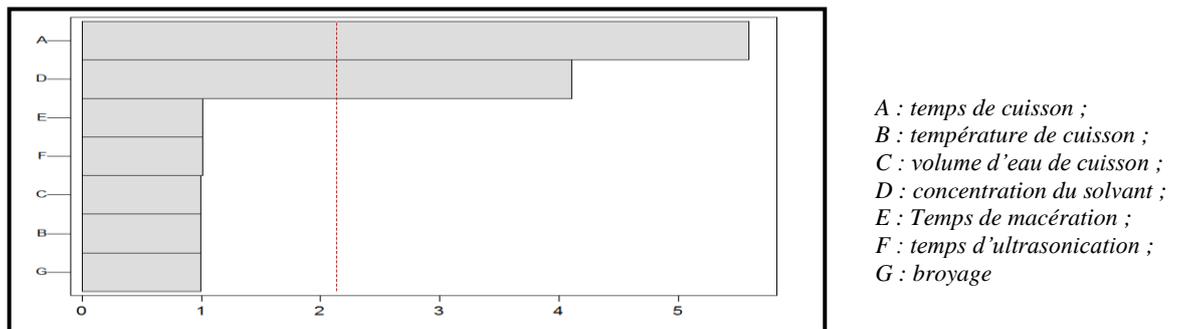


Figure 124. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés ($p=0,05$) des conditions d'extraction des polyphénols et de la cuisson à la vapeur du piment

6.3.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson à la vapeur et d'extraction des polyphénols totaux du piment

Les deux facteurs (temps de cuisson et concentration du solvant) ont été sélectionnés par le plan de criblage pour être optimisés. Les résultats des 13 essais de la matrice sont consignés dans le tableau 97.

Tableau 97. Matrice d'essais du plan composite centré pour l'évaluation du taux des polyphénols totaux de piment cuit à la vapeur

N° d'essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur concentration de solvant (B)	Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG / g d'extract sec}$)
1	0	0	$0,756 \times 10^4$
2	-1	1	$0,509 \times 10^4$
3	-1	-1	$2,690 \times 10^4$
4	0	0	$0,756 \times 10^4$
5	1	-1	$0,509 \times 10^4$
6	1	1	$2,689 \times 10^4$
7	0	0	$1,087 \times 10^4$
8	-1,414	0	$2,689 \times 10^4$
9	0	0	$0,748 \times 10^4$
10	1,414	0	$1,087 \times 10^4$
11	0	-1,414	$0,756 \times 10^4$
12	0	0	$0,756 \times 10^4$
13	0	1,414	$1,098 \times 10^4$

La valeur p calculée est de 0,015, ce qui indique que le modèle est significatif. Le R^2 indique que le modèle explique plus de 82,29% de la variabilité de la réponse. Ces résultats montrent que les

termes linéaires des deux facteurs (temps de cuisson et concentration du solvant), et le carré du temps de cuisson ont des effets significatifs sur la réponse tandis que les effets associés au carré de concentration du solvant et l'interaction des deux facteurs ne sont pas significatifs dans ce modèle (Annexe 7). Le modèle polynomial, qui prédit la réponse "taux des polyphénols totaux", est exprimé en termes des codes facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = -847264 + 96197 A - 503 B - 2534 A*A + 11,20 B*B - 58,6 A*B$$

Le diagramme de *Pareto* apporte les mêmes conclusions, où la réponse dépend principalement de la concentration du solvant suivie par le carré du temps de cuisson puis vient le temps de cuisson (Figure 125).

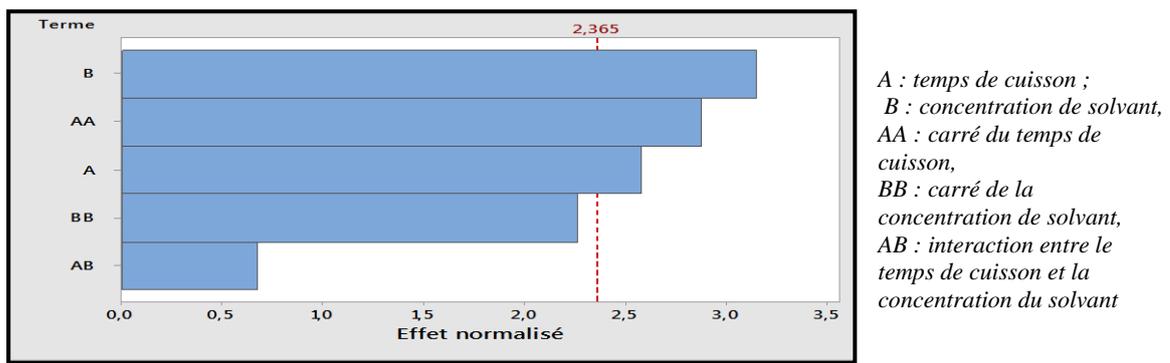


Figure 125. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés (p=0,05) des conditions de cuisson à la vapeur du piment et d'extraction des polyphénols

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponse sont représentées dans la figure 126. Elles indiquent que les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se situent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson (17-19,3min) et concentration du solvant (95-100%).

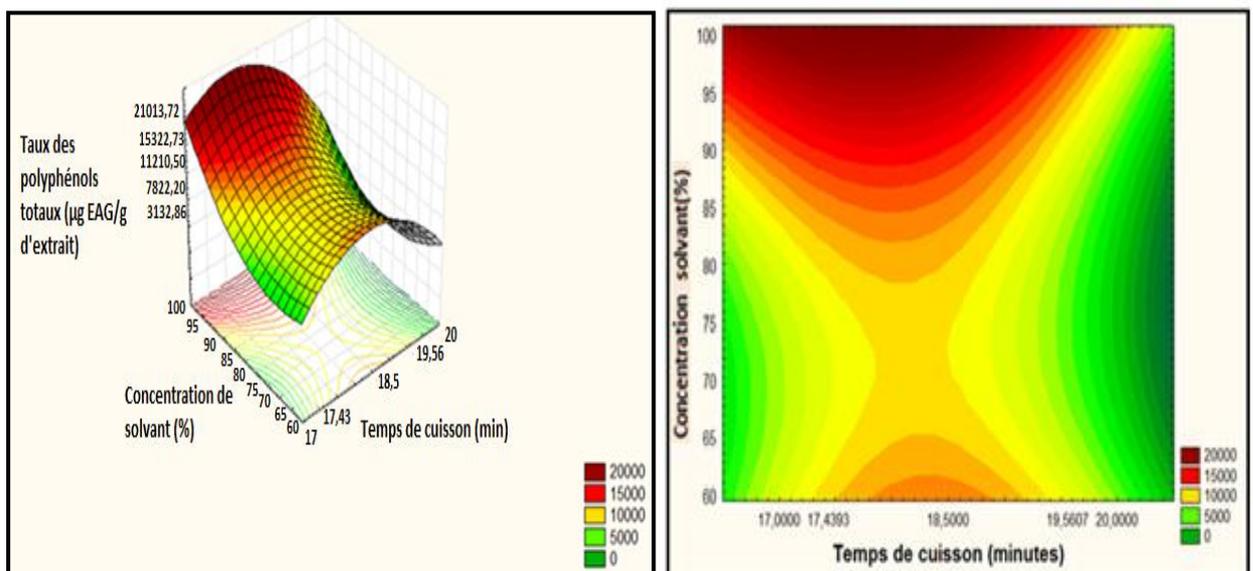


Figure 126. Surface de réponse du taux des polyphénols totaux du piment cuit à la vapeur en fonction du temps de cuisson et de la concentration du solvant

Les valeurs optimales des facteurs (temps de cuisson et concentration du solvant) ont été calculées à une désirabilité de 1. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 127.

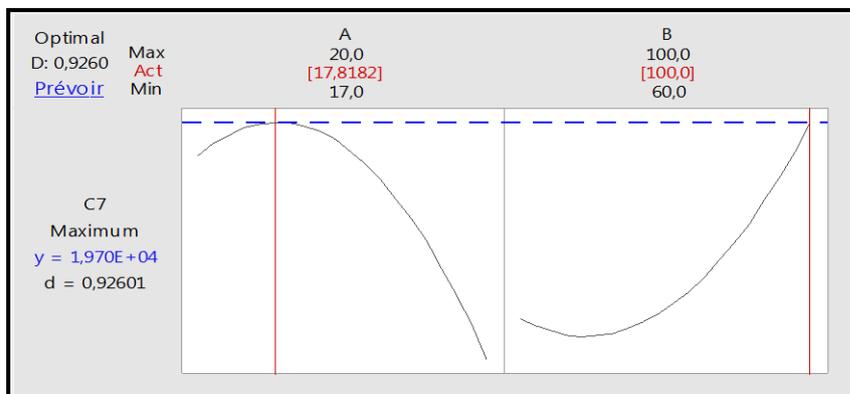


Figure 127. Optimisation du temps de cuisson à la vapeur du piment et de la concentration du solvant en fonction de la désirabilité 1

Les conditions optimales prédites sont: temps de cuisson (17,81 min), concentration du solvant (100%), taux des polyphénols ($1,970 \times 10^4 \mu\text{gEAG/g d'extract sec}$).

6.3.3. Confirmation du modèle optimisé du piment cuit à la vapeur par rapport aux temps de cuisson et la concentration du solvant

Les résultats de l'optimisation sont confirmés par la détermination des polyphénols totaux avec les facteurs sélectionnés au point optimum (tableau 98).

Tableau 98. Taux de polyphénols prédit et mesuré du piment cuit à la vapeur

Points	Taux des polyphénols prédit ($\mu\text{g EAG / g d'extract sec}$)	Taux des polyphénols mesuré ($\mu\text{g EAG / g d'extract sec}$)
(17,81min, 100%)	$1,970 \times 10^4$	$1,971 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans avoir de différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

6.4. Le piment cuit par microonde

6.4.1. Plan de criblage et sélection des conditions de la cuisson par microonde et d'extraction des polyphénols du piment

Les résultats d'essais pour le taux des polyphénols totaux du piment cuit par microonde en fonction des sept facteurs (A : temps de cuisson ; B : Puissance ; C : volume d'eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : temps de macération ; C : temps d'ultrasonication ; G : broyage) sont présentés dans le tableau 99.

Tableau 99. Matrice d’essais du plan *Plackett-Burmann* pour l’évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cuit par microonde

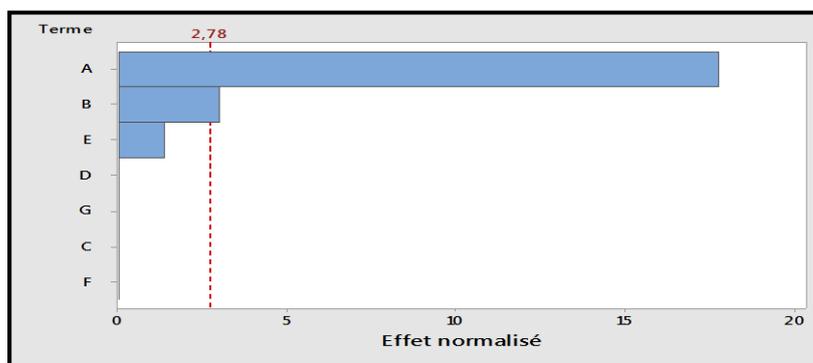
N° d’essai	A	B	C	D	E	F	G	Taux des polyphénols (µg EAG /g d’extrait sec)
1	-1	1	1	1	-1	1	1	1,111 x10 ⁴
2	-1	-1	1	1	1	-1	1	0,589 x10 ⁴
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	0,589 x10 ⁴
4	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1,00 x10 ⁴
5	1	-1	-1	-1	1	1	1	1,111 x10 ⁴
6	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1,111 x10 ⁴
7	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,584 x10 ⁴
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1,000 x10 ⁴
9	1	-1	1	1	-1	1	-1	0,584 x10 ⁴
10	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1,000 x10 ⁴
11	1	1	1	-1	1	1	-1	0,582 x10 ⁴
12	1	1	-1	1	1	-1	1	0,698 x10 ⁴

A : temps de cuisson ; B : puissance ; C : volume d’eau de cuisson ; D : concentration de solvant ; E : temps de macération ; C : temps d’ultrasonication ; G : broyage

L’analyse du plan montre que les valeurs du coefficient de détermination et du coefficient de détermination ajusté sont de 98,79% et 96,67% respectivement. La valeur de *P* obtenue pour ce modèle est inférieure à 0,05 ce qui indique que le modèle est significatif. Les facteurs qui ont montré des effets significatifs (*p* <0,05) sur la réponse « taux des polyphénols totaux » sont le temps de cuisson et la puissance du microonde (Annexe 7). L’équation polynomiale pour la réponse (taux des polyphénols totaux) est représentée comme suit :

$$\text{Taux en PT} = 8301 - 2256 A + 382 B - 4 C + 4 D - 178 E - 2 F - 4 G$$

Le facteur temps de cuisson influe négativement sur la réponse tandis que la puissance a montré un effet positif (Annexe 7). Le diagramme de *Pareto* montre que le taux des polyphénols totaux dépend principalement du temps de cuisson suivi par la puissance du microonde (Figure 128).



A : temps de cuisson ;
 B : Puissance ;
 C : volume d’eau de cuisson ;
 D : concentration de solvant ;
 E : temps de macération ;
 C : temps d’ultrasonication ;
 G : broyage

Figure 128. Diagramme de *Pareto* des effets linéaires normalisés (*p*=0,05) pour les conditions d’extraction des polyphénols et de la cuisson du piment par microonde

6.4.2. Modélisation et optimisation des conditions de cuisson de piment par microonde

Les deux facteurs (temps de cuisson et puissance du microonde) ont été optimisés par le plan de composite centré. Les résultats des 13 essais sont récapitulés dans le tableau 100.

Tableau 100. Matrice d’essais du plan composite centré pour l’évaluation du taux des polyphénols totaux du piment cuit par microonde

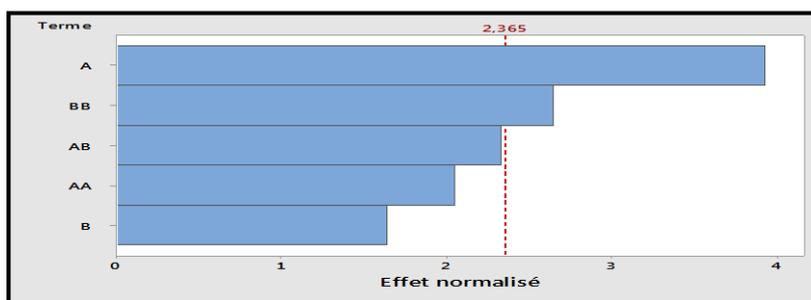
N° d’essai	Niveaux du facteur temps de cuisson (A)	Niveaux du facteur puissance de la microonde (B)	Taux des polyphénols (µg EAG /g d’extrait sec)
1	0	0	0,907 x10 ⁴
2	-1	1	0,644 x10 ⁴
3	-1	-1	0,748 x10 ⁴
4	0	0	0,910 x10 ⁴
5	1	-1	1,054 x10 ⁴
6	1	1	1,101 x10 ⁴
7	0	0	0,789 x10 ⁴
8	-1,414	0	0,837 x10 ⁴
9	0	0	0,905 x10 ⁴
10	1,414	0	0,485 x10 ⁴
11	0	-1,414	0,857 x10 ⁴
12	0	0	0,856 x10 ⁴
13	0	1,414	0,856 x10 ⁴

Le R² indique que le modèle explique plus de 83,88% de la variabilité de la réponse. Le modèle prédit est significatif (p= 0,011). Les effets du terme linéaire du facteur temps de cuisson et du terme quadratique de la puissance sont significatifs tandis que les effets associés à l’interaction des deux facteurs (carré du temps de cuisson et puissance du microonde) ne sont pas significatifs pour ce modèle (Annexe 7).

Le modèle polynomial, qui prédit la réponse "taux des polyphénols totaux", est exprimé en termes des codes facteurs comme suit :

$$\text{Taux en PT} = -5632 + 8798 A - 116,1 B - 620 A*A + 0,0449 B*B + 6,94 A*B$$

De même, le diagramme de *Pareto* montre que la réponse dépend principalement du temps de cuisson suivi par l’effet quadratique de la puissance (figure 129)



A : temps de cuisson ;
 B : puissance du microonde,
 AA : carré du temps de cuisson,
 BB : carré de puissance,
 AB : interaction entre le temps de cuisson et la puissance

Figure129. Diagramme de *Pareto* des effets (linéaires, quadratiques et interactif) normalisés (p=0,05) des conditions de cuisson du piment par microonde

La surface de réponse et la courbe d'iso-réponse sont représentées dans la figure 130. Les résultats illustrés montrent que les valeurs optimales du taux des polyphénols totaux se localisent dans la zone rouge limitée par les points : temps de cuisson : (10,56-11min) et puissance (796-800 Watt).

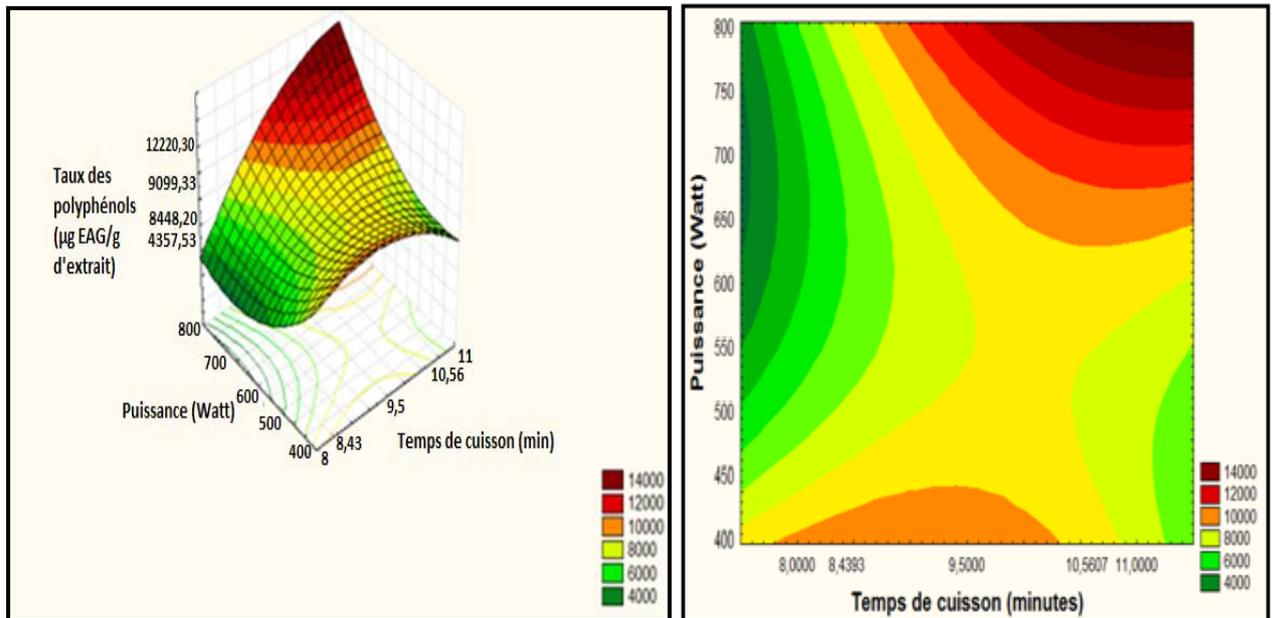


Figure 130. Surface de réponse du taux des polyphénols du piment en fonction du temps de cuisson et de la puissance du microonde

Les valeurs optimales des facteurs ont été calculées à une désirabilité de 1 (figure 131). La prédiction des conditions optimales est : temps de cuisson (11min) et puissance du microonde (800Watt). Pour ces valeurs, le taux prédit des polyphénols totaux est de $1,299 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extrait sec}$.

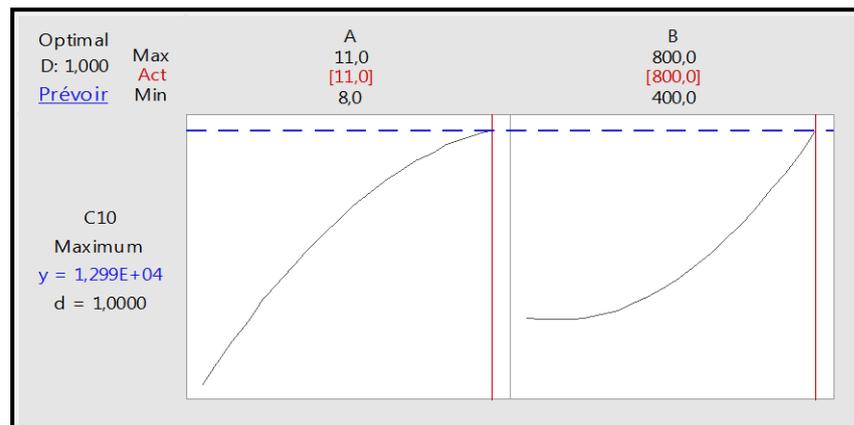


Figure 131. Optimisation du temps de cuisson et de la puissance du microonde en fonction de la désirabilité 1

6.4.3 Confirmation du modèle optimisé par rapport à la puissance du microonde et au temps de cuisson du piment

Les résultats de l'optimisation sont confirmés par l'évaluation expérimentale du taux des polyphénols totaux avec les facteurs sélectionnés au point optimum (tableau 101).

Tableau 101. Taux de polyphénols prédit et mesuré du piment cuit par microonde

Points	Taux de polyphénols prédit (μg EAG /g d'extrait sec)	Taux de polyphénols mesuré (μg EAG /g d'extrait sec)
(11min, 800Watt)	de $1,299 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$

La valeur mesurée est proche de celle prédite par le modèle mathématique sans avoir de différence significative ($p = 0,05$), ce qui confirme la validation du modèle.

6.5. Effet de la cuisson sur les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes du piment

Les taux des polyphénols totaux et des flavonoïdes des piments crus et cuits sont enregistrés dans la figure 132.

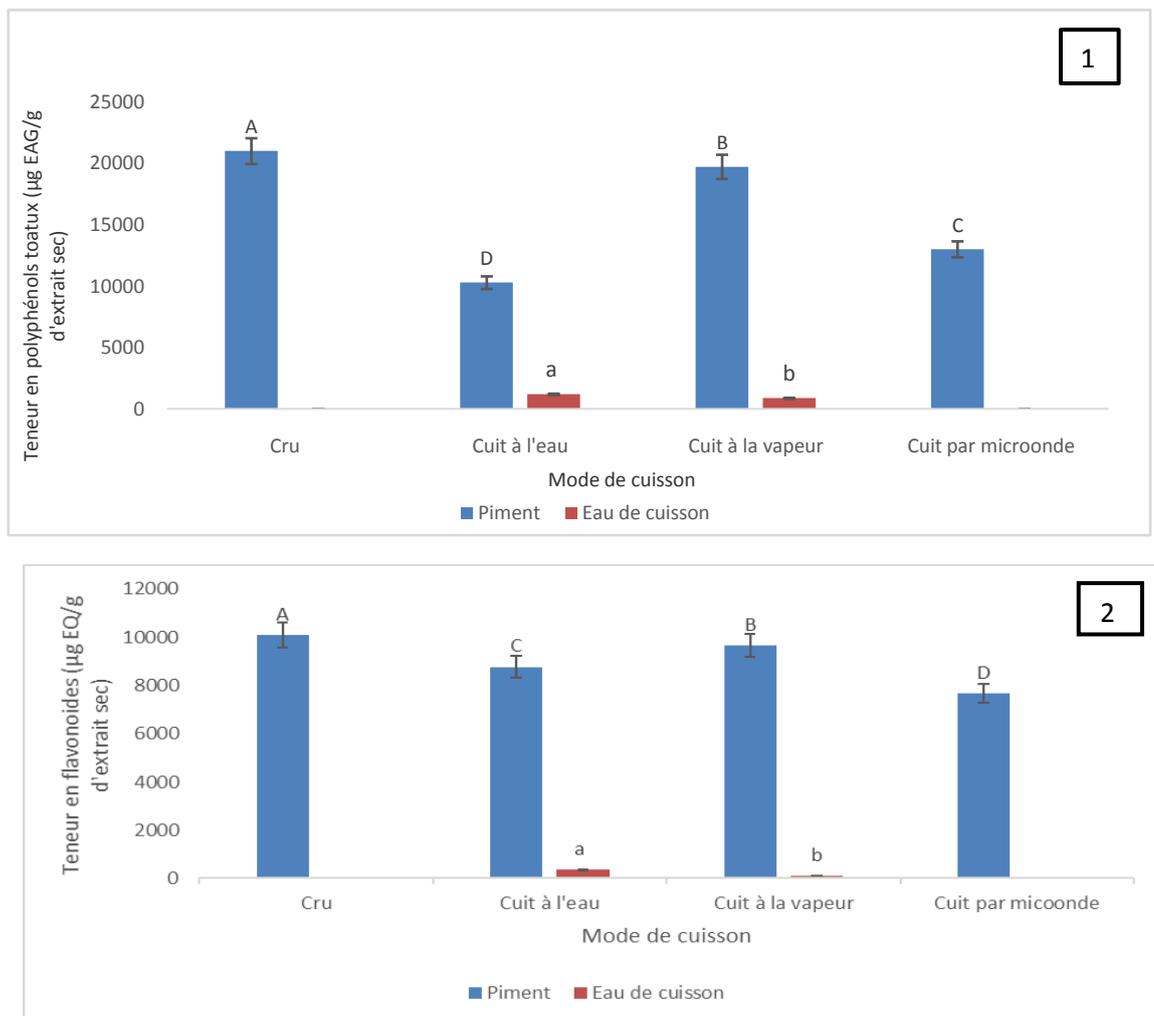


Figure 132. Taux des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits du piment (1 : polyphénols totaux, 2 : Flavonoïdes)

Le piment cru a présenté un taux en polyphénols totaux de 20990 µgEAG/g d'extrait sec. Ce taux est relativement élevé par rapport à la littérature. Selon Ornelas-Paz *et al.* (2010), Menichini *et al.* (2008) et Obohet Rocha (2007), le contenu phénolique total dans le piment piquant cru varie entre 1150,5 et 2190,0 µg EAG/ g d'extrait sec ; 200 et 7820 µg EAG/ g d'extrait sec et 1321,7 µg EAG / g d'extrait sec respectivement. De même, Howard *et al.* (2000) ont montré que les piments mexicains contiennent des taux faibles, variant entre 4042-7820 µg EAG/ g d'extrait sec.

Cette variabilité, constatée dans les taux des polyphénols totaux, peut être due à plusieurs facteurs notamment des facteurs extrinsèques (climat, sol, etc.) et des facteurs intrinsèques (variété, stade de maturation) (Beckman, 2000; Malencic *et al.*, 2012). Concernant l'effet variétal, Chuah *et al.* (2008) ont évalué le taux des polyphénols totaux de plusieurs variétés de piment, ils ont constaté que le piment rouge avait le plus haut taux en polyphénols (191 mg EAG/100 g du poids frais), suivis des : paprika orange (163 mg EAG/100 g du poids frais), paprika rouge (144 mg EAG/100 g du poids frais), paprika jaune (142 mg EAG/ 100 g du poids frais) et du paprika vert (85,1 mg EAG/ 100 g du poids frais).

Le taux, enregistré des flavonoïdes totaux des piments crus, est de 10100 µg EQ/g d'extrait sec. Cette valeur est proche de celle de Shaimaa *et al.* (2016) (10280 à 15520 µg EQ/g d'extrait sec). Par contre, Materska et Perucka (2005) ont trouvé des taux de flavonoïdes fluctuant entre 16700 et 40700 µg EQ/g d'extrait sec. Ghasemnezhad *et al.* (2011) ont rapporté que les changements de composés flavonoïques tels que la quercétine et la catéchine sont dépendantes des variétés de piments.

A la lecture des résultats enregistrés (figure 131), les trois modes de cuisson semblent réduire le taux en polyphénols totaux à des degrés différents. Par rapport à cette réduction, la cuisson à la vapeur semble être la plus efficace, suivie de la cuisson par microonde et en dernière position la cuisson à l'eau. Nous signalons que des quantités des polyphénols totaux de l'ordre de 1200 et 876 µgEAG/g d'extrait sec ont été trouvées dans l'eau bouillante et l'eau de la cuisson à la vapeur respectivement.

Kalt (2005) et Somsu *et al.* (2008) ont attribué les pertes en polyphénols à la dégradation thermique pendant la cuisson ou à la lixiviation de ces composés dans l'eau de cuisson. De même, ce constat a été évoqué par Chuah *et al.* (2008) qui ont montré une diminution de la teneur en composés phénoliques des piments après cuisson. Cependant, des résultats différents ont été cités par Ornelas-Paz *et al.* (2010) qui ont montré que l'ébullition et le grillage provoquent une augmentation du contenu phénolique des piments. De même, Turkmen *et al.* (2005) ont constaté

que plusieurs méthodes de cuisson testées (y compris l'ébullition) provoquent des augmentations de 2 à 26% dans la teneur en polyphénols totaux des piments.

6.6. Analyse chromatographique liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) des extraits du piment

Les résultats de l'analyse LC-MS/MS des extraits de piment sont mentionnés dans la figure 133 et le tableau 102.

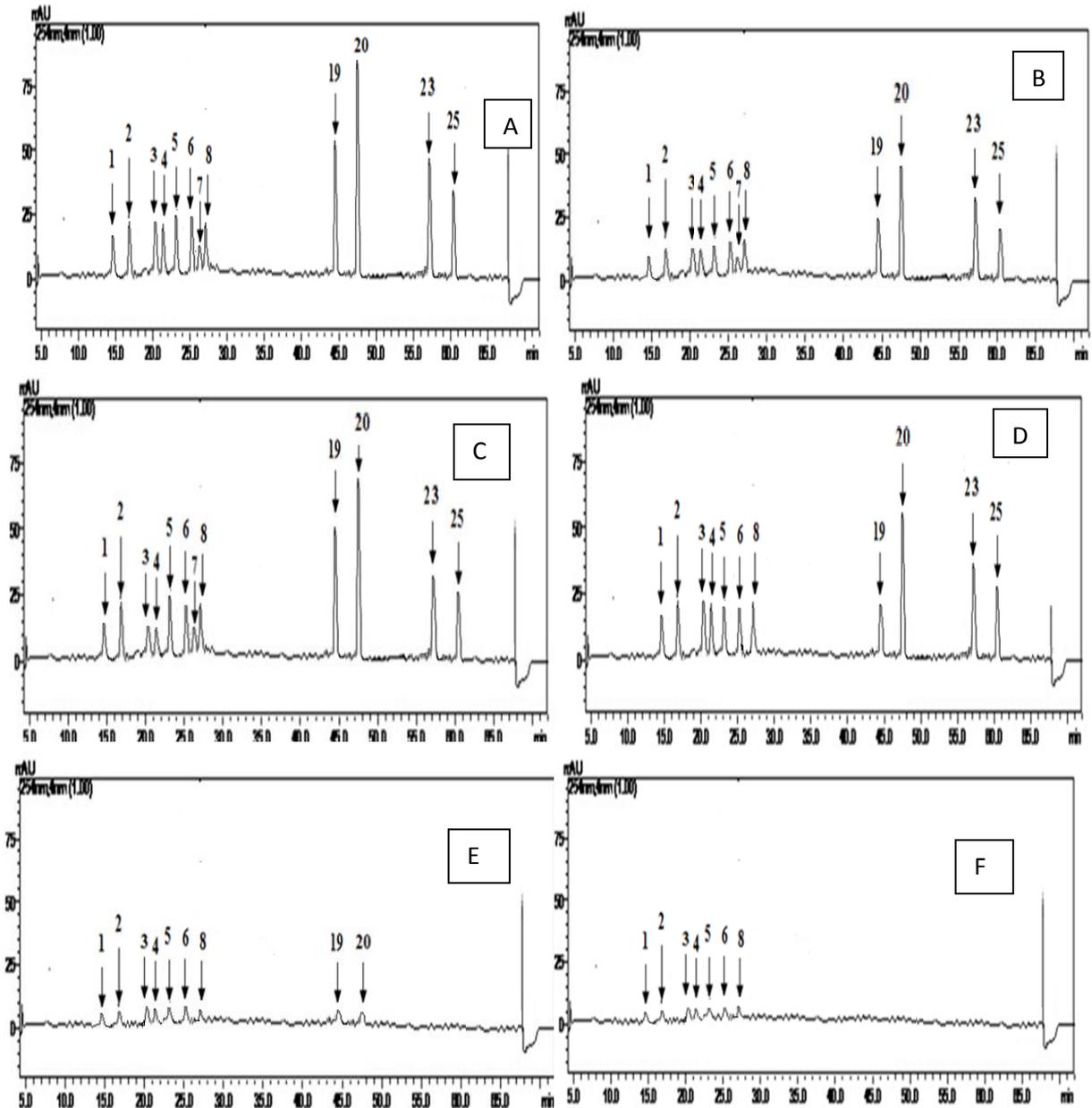


Figure133. Analyse LC-MS/MS des extraits du piment

A : piment cru, B : Cuit à l'eau, C : cuit par vapeur, D : cuit par microonde, E : eau de cuisson (ébullition), F : eau de cuisson(vapeur) :

1 : acide quinique, 2: acide malique, 3: acide ferrulique, 4: acide gallique, 5: acide chlorogénique, 6: acide protocatechuique, 7: acide tannique, 8: acide caféique, 9: vanilline, 10: p-acide coumarique, 11: Acide rosmarinique 12: Hesperidine, 13: Rutine, 14: Hyperoside, 15: 4-OH Acide benzoïque, 16: Acide salicylique, 17: Myricétine, 18: Coumarine 19 Kaempferol :, 20: Quercétine, 21: Hesperetine, 22: Naringénine , 23: Luteoline, 24: Fisetine, 25: Apigénine, 26: Rhamnetine, 27: Chrysin

Tableau 102. Identification et quantification des composés phénoliques et leurs dérivés des extraits du piment par LC-MS/MS

N°	Composé	Ion parent (m/z)	MS2 (énergie de collision)	Quantification (µg analyte / g d'extrait)					
				CR	CE	CV	CM	ECE	ECV
1	Acide quinique	190,95	85 (22), 93 (22)	565,57	206,54	544,98	534,98	35,96	19,67
2	Acide mallique	133,05	115 (14), 71 (17)	763,08	280,05	756,16	755,16	37,96	18,76
3	Acide Férrulque	172,85	85 (12), 129 (9)	607,06	267,07	375,20	605,20	38,55	19,67
4	Acide gallique	169,05	125 (14), 79 (25)	585,08	204,78	363,97	553,87	38,76	20,06
5	Acide chlorogénique	353	191 (17)	809,99	290,06	607,87	597,87	39,07	17,98
6	Acide protocatéchique	152,95	109 (16), 108 (26)	707,87	309,34	700,87	560,87	40,78	19,08
7	Acide tannique	182,95	124 (22), 78 (34)	208,98	39,05	207,88	ND	ND	ND
8	Acide caféique	178,95	135 (15), 134 (24), 89 (31)	571,67	307,87	569,98	545,98	22,87	17,09
9	Vanilline	151,05	136 (17), 92 (21)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	Acidep- coumarique	162,95	119 (15), 93 (31)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	Acide rosmarinique	358,9	161 (17), 133 (42)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
12	Hespéridine	611,1	303,465	ND	ND	ND	ND	ND	ND
13	Rutine	609,1	300 (37), 271 (51), 301 (38)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	Hyperoside	463,1	300,301	ND	ND	ND	ND	ND	ND
15	4-OH acide benzoïque	136,95	93,65	ND	ND	ND	ND	ND	ND
16	Acide salicylique	136,95	93,65,75	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	Myricétine	317	179,151,137	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18	Coumarine	146,95	103,91,77	ND	ND	ND	ND	ND	ND
19	Kaempférol	264,95	217,133,151	8769,98	2039,76	8709,26	749,26	29,78	ND
20	Quercétine	300,9	179,151,121	12097,98	7987,54	12006,78	8006,78	28,89	ND
21	Hespéretine	300,95	164,136,108	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	Naringinine	270,95	151,119,107	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23	Lutéoléine	284,95	175,151,133	5748,98	3456,97	4348,45	4008,87	ND	ND
24	Fiséline	284,95	135,121	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	Apigénine	268,95	151,117	3852,06	970,76	2495,08	1445,78	ND	ND
26	Rhamnétine	314,95	165, 121, 300	ND	ND	ND	ND	ND	ND
27	Chryisine	253	143,119,107	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND : non déterminé; CR : Piment cru; CE : piment cuit dans l'eau; CV : piment cuit à la vapeur; CM : piment cuit par microonde; ECE : eau de cuisson par ébullition; ECV : eau de cuisson par vapeur

Deux acides organiques (acide malique et acide quinique) et dix composés phénoliques ont été identifiés dans les extraits de piment. Les composés phénoliques sont: l'acide ferrulique, l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide protocatechique, l'acide tannique, l'acide caféique, le kaempferol, la quercétine, la luteoline et l'apigénine. Les composés majeurs, pour le piment cru, sont la quercétine, le kaempferol, la luteoline et l'apigénine. Ces résultats sont relativement en accord avec ceux obtenus par Mokhtar (2014) qui a rapporté que la quercétine rhamnoside s'est révélée être le composé le plus abondant (82,6µg/g de piment frais). Elle représente 36% du contenu polyphénolique total. Ce même auteur a signalé que, parmi les flavonoïdes, les dérivés de la quercétine ont la concentration la plus élevée (65%) suivies des dérivés de la lutéoléine (24%) et du kaempferol (9%).

Par rapport à la variété et au stade de maturation, Marin *et al.* (2004) ont identifié des dérivés hydroxynnamiques, des O-glycosides de la quercétine, de la lutéoléine, du chrysoeriol, et un grand nombre de C-glycosylflavones dans les piments verts immatures et les piments rouges immatures et mûrs. Le piment vert immature a présenté la teneur la plus élevée en polyphénols, suivi par le piment vert mûr, le piment rouge immature et le piment rouge mûr.

D'une manière générale, la cuisson a provoqué une réduction de la teneur en polyphénols totaux, détectés pour les trois modes de cuisson. Le mode de cuisson à la vapeur s'est avéré le plus efficace quant à la rétention des composés phénoliques par rapport aux autres modes. Les résultats de LC-MS /MS confirment ceux du dosage spectrophotométrique.

Les eaux de cuisson ont révélé de faibles teneurs en polyphénols solubilisés. L'eau provenant de la cuisson par ébullition a présenté deux acides organiques (acide malique et acide quinique) et sept composés phénoliques (l'acide ferrulique, l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide protocatechique, l'acide caféique, le kaempferol, la quercétine); tandis que l'eau issue de la cuisson à la vapeur a présenté cinq composés phénoliques (l'acide ferrulique, l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide protocatechique, et l'acide caféique) et les mêmes acides organiques.

Par rapport à l'effet variétal, Wahyuni *et al.* (2011) ont étudié le contenu phénolique de 32 variétés de piments. Ils ont montré que la quercétine n'existe que sous la forme d'O-glycosides et que des glycosides de quercétine, d'apigénine et de lutéonine ont été détectés et quantifiés dans toutes les variétés. En parallèle, deux nouveaux composés de quercétine glycoside (quercétine 3-O-glucoside-7-O-rhamnoside et quercétine glycosylée avec du sulfate de rhamnoside fixée soit à la position C-3 ou C-7) ont été identifiés. Deux composés O-glycosides de lutéoléine (la lutéoléine (apiosyl-acétyl)-glucoside et la lutéoléine 7-O-(2-apiosyl)-glucoside) et cinq

autres glycosides de lutéoline (6-C-hexoside de lutéoline, 8-C-hexoside de luteoline, 6-C-pentoside-8-C-hexoside de luteoline, 6-C-hexoside-8-C-pentoside de luteolin, 6,8-di-C-hexoside de luteoline) ont été mis en évidence dans les piments. Deux C-glycosides d'apigénine (l'apigénine 6-C-pentoside-8-C-hexoside et 6,8-di-C-hexoside d'apigénine) ont été détectés dans le péricarpe des fruits des piments.

Selon Shetty (2004), les acides phénoliques et les flavonoïdes sont des composés phénoliques majeurs trouvés dans les piments. Ils sont synthétisés par les plantes en raison de l'adaptation au stress biotique et abiotique. De même, Asnin et Park, (2015) ont signalé la présence des produits de glycosylation aux positions C6, C8 et O7 des flavons et les positions O3 et O7 des flavonols dans les piments. Les acides phénoliques peuvent également subir une glycosylation et donnent leurs dérivés dans les extraits de piment (Materska et Perucka, 2005). Par rapport aux proanthocyanidines, les essais effectués par Bahorun *et al.* (2004) et Hervert-Hernández *et al.* (2010) n'ont pas révélé de quantités considérables dans les piments. Concernant les tanins, Gorinstein *et al.* (2009) ont constaté à la fois des tanins hydrolysés et non hydrolysés dans le piment.

Les données sur la distribution des composés phénoliques libres et liés dans les piments sont controversées. Gorinstein *et al.* (2009) et Hervert-Hernández *et al.* (2010) ont rapporté que la fraction liée comprend moins de 10% des polyphénols totaux dans le piment rouge. Au contraire, Oboh et Rocha (2007) ont constaté que les composés phénoliques libres prévalent sur la fraction liée de 10 à 50% dans les piments, quelque soit leur degré de maturation. Cette large gamme d'opinions peut résulter de différents protocoles d'extraction appliqués, des génotypes, de la croissance et de la récolte, ect.

Selon Marín *et al.* (2004), Materska et Perucka (2005), le contenu total des composés phénoliques varie entre 0,05 et 0,3% du poids frais selon la variété, l'étape de maturité et les conditions de croissance. Concernant le niveau total de flavonoïdes, il diminue en général pendant la maturation.

6.7. Activité antioxydante des extraits du piment

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante par les méthodes de DPPH, ABTS et CUPRAC sont illustrés dans la figure 134.

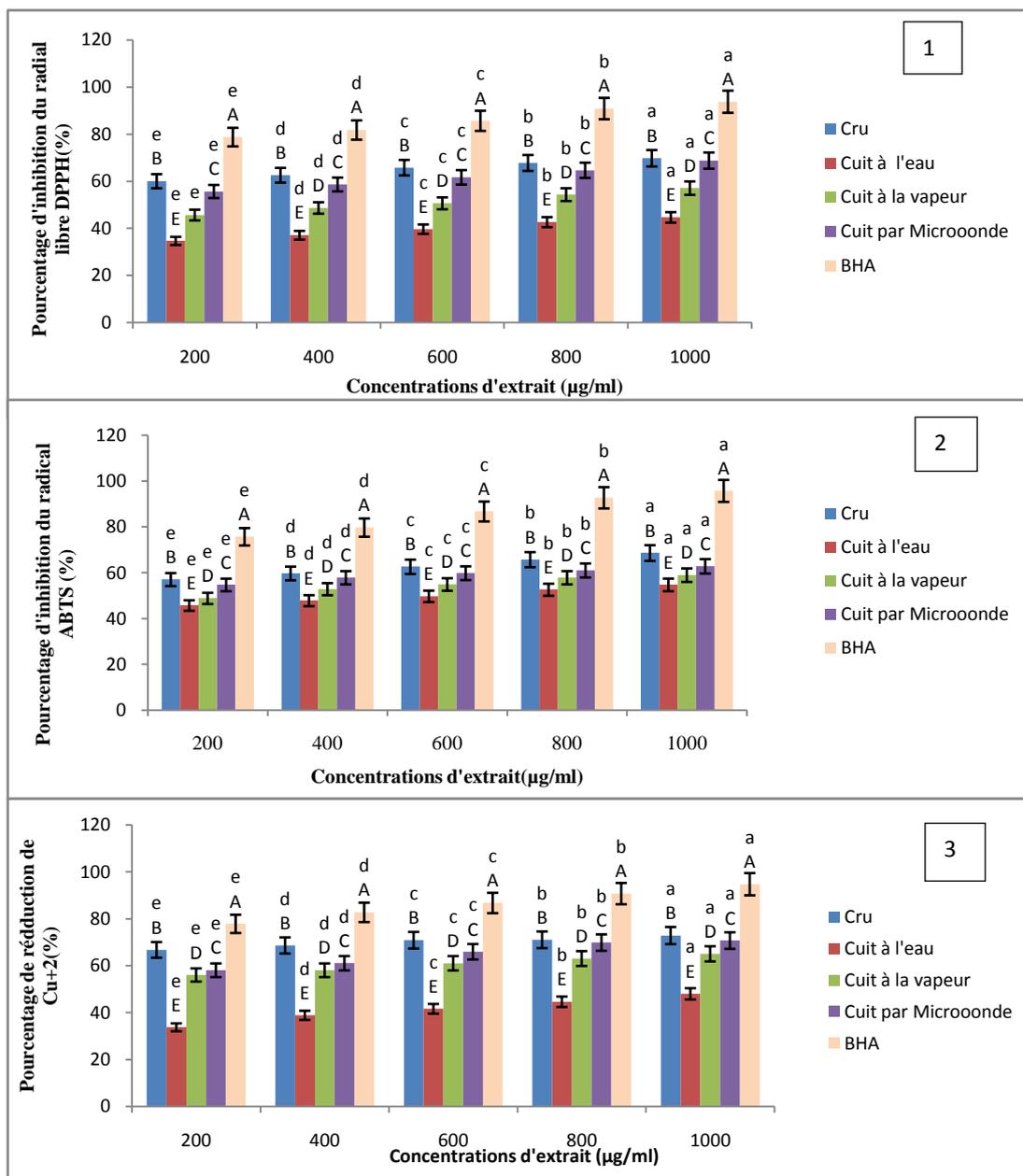


Tableau 103. Valeurs d'IC50 des extraits du piment

	DPPH	ABTS	CUPRAC
Cru	90,76±0,09 ^d	156,88±0,04 ^d	67,87±0,35 ^d
Cuit dans l'eau	1120,98±0,76 ^a	678,98± 0,87 ^a	1378,45±0,08 ^a
Cuit à la vapeur	567,89±0,45 ^b	397,76±0,34 ^b	160,06± 0,13 ^b
Cuit par microonde	173,89±0,32 ^c	178,76±0,76 ^c	140,78± 0,86 ^c
Témoin (BHA)	40,87±0,12 ^e	56,87±0,54 ^e	45,87±0,40 ^e

Pour chaque test, le même exposant signifie l'absence de différence significative

L'analyse de la variance indique l'existence d'une différence significative ($P < 0,05$) entre les IC50 des piments crus et cuits (à l'eau, à la vapeur et par microonde) pour tous les tests réalisés (DPPH, ABTS et CUPRAC).

Les IC50 obtenus pour les piments cuits sont supérieurs aux valeurs des IC50 des piments crus. Le mode de cuisson "par microonde" a montré la plus faible valeur IC50 par rapport aux autres méthodes de cuisson, ce qui indique que ce mode de cuisson a conservé la plus haute activité antioxydante, suivi par la cuisson à la vapeur et enfin la cuisson directement à l'eau. Par ailleurs, les valeurs d'IC50 calculées des piments sont inférieures aux IC50 du témoin, ce qui signifie que les piments crus et cuits possèdent une activité antioxydante mais qui reste inférieure à celle de l'antioxydant de référence.

Hwang (2012) a montré que l'activité réductrice du DPPH du piment a été considérablement réduite après cuisson. Elle a été réduite de 42,0% à 60% après l'ébullition, de 23,5 à 30,3% après la cuisson à la vapeur, de 11,6 à 15,4% après la torréfaction et de 4,6 à 15,8% après la friture.

Selon la littérature consultée, des constats controversés ont été signalés. Turkmen *et al.* (2005) ont montré que l'activité antioxydante du piment augmente après cuisson. Par contre, Chuah *et al.* (2008) ont observé que l'activité antioxydante des différentes variétés de piment coloré diminue après cuisson. De même, Loizzo *et al.* (2013) ont déclaré que le processus de friture réduit considérablement la capacité du piment à inhiber l'oxydation de l'acide linoléique surtout après 60 minutes d'incubation. Selon ces auteurs, l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique pourrait être attribuée en particulier aux capsaïcinoïdes.

Différents facteurs de cuisson, y compris la méthode, le mode, la température, la cuisson, le temps et la taille des portions, affectent fortement l'activité antioxydante du piment.

Plusieurs composés du piment peuvent contribuer à cette activité antioxydante, y compris le taux des polyphénols totaux. Pour vérifier cette hypothèse, un test de corrélation a été effectué entre les tests réalisés et les taux des polyphénols calculés (Tableau 104).

Tableau 104. Corrélations entre les taux des polyphénols totaux et les tests de l'activité antioxydante réalisés des extraits du piment

	DPPH		ABTS		CUPRAC	
	r	p	r	p	r	p
Cuit dans l'eau	0,998	0,002	0,997	0,002	0,994	0,001
Cuit à la vapeur	0,992	0,001	0,979	0,005	0,979	0,004
Cuit par microonde	0,997	0,000	0,979	0,005	0,998	0,000

R : Coefficient de Pearson, P : probabilité

Quelque soit le mode de cuisson, il existe de fortes corrélations entre les taux des polyphénols totaux et l'activité antioxydante pour les trois tests. Ces corrélations sont positives ce qui indique que l'augmentation des valeurs de l'activité antioxydante est proportionnelle à l'augmentation des taux des polyphénols.

Ce résultat concorde avec les travaux de Materska (2014), qui a trouvé une bonne corrélation entre la teneur totale en polyphénols et l'activité antiradicalaire des fractions du placenta et du péricarpe de différents piments. De même, Alvarez-Parrill *et al.* (2011) ont montré que les composés phénoliques ont été les principaux contributeurs à l'activité antioxydante des piments frais et transformés.

6.8. Activité anticholinestérase des extraits du piment

L'effet du mode de cuisson (ébullition, microonde et à la vapeur) sur l'activité antiacetylcholinestérase et anti butyrylcholinestérase des piments est illustré dans la figure 134.

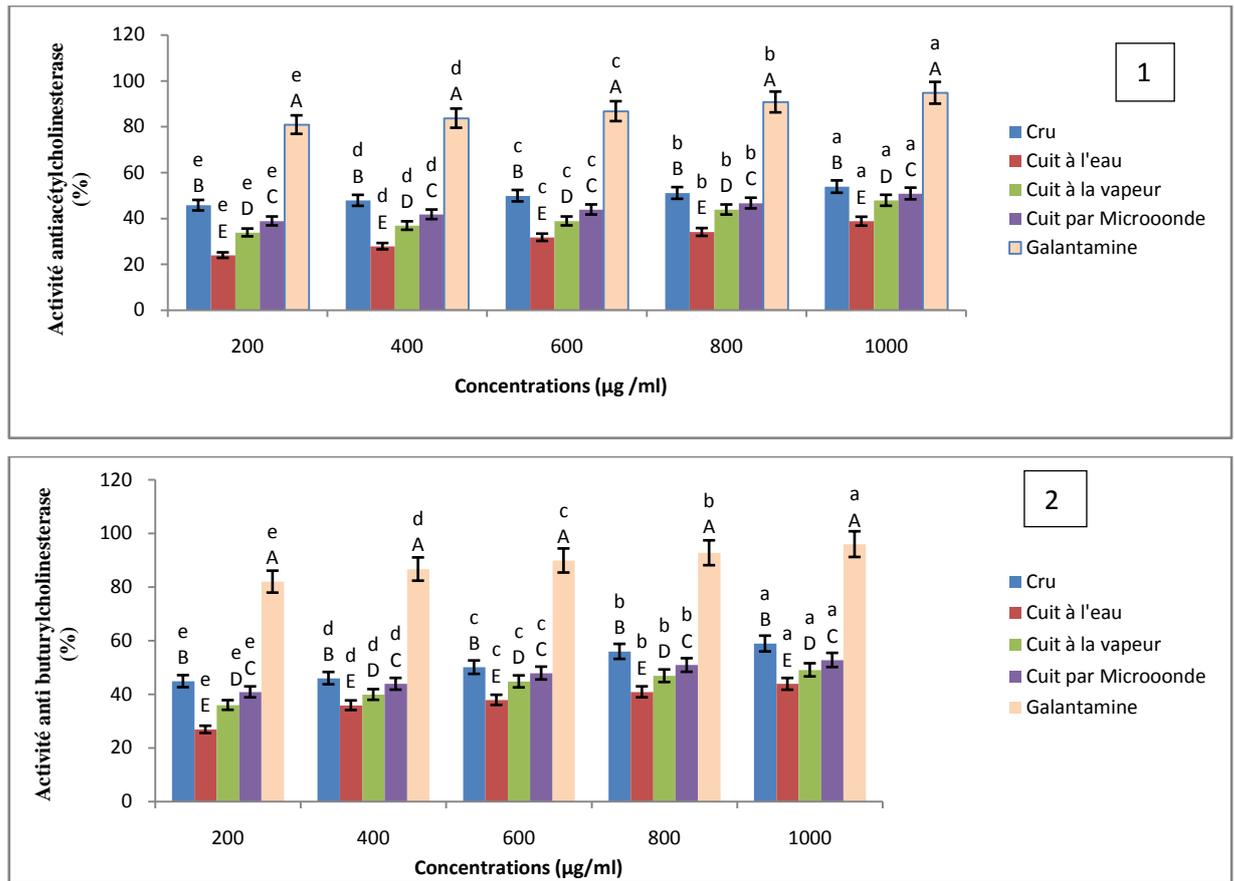


Figure 134. Activité anticholinestérase des extraits du piment
 (1 : Activité acétylcholinestérase, 2 : activité butyrylcholinestérase)

Les IC50 des extraits du piment et de la galantamine ont été évalués. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 105.

Tableau 105. Valeurs d'IC50 pour l'activité anticholinestérase des extraits du piment

	Activité antiacétylcholinestérase	Activité antibutyrylcholinestérase
Cru	765,96±0,34 ^d	589,98±0,06 ^d
Cuit dans l'eau	1789,78±0,45 ^a	1100,09±0,78 ^a
Cuit à la vapeur	1067,98±0,23 ^b	1018,03±0,45 ^b
Cuit par microonde	987,99±0,09 ^c	796,87±0,67 ^c
Témoin (Galantamine)	32,78±0,23 ^e	31,98±0,60 ^e

A l'issu du tableau 105, une différence significative ($p < 0,05$) entre les activités antiacétylcholinestérase et antibutyrylcholinestérase des extraits de piment crus et cuits (dans l'eau, à la vapeur, et par microonde) a été constatée. L'extrait de piment cru présente la plus faible valeur d'IC50, ce qui signifie qu'il possède la plus haute activité anticholinestérase. Selon les valeurs d'IC50 obtenues, la classification des échantillons cuits selon leur capacité à inhiber les deux enzymes (acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase) est : la cuisson par microonde en

première position, la cuisson à la vapeur en deuxième position et la cuisson dans l'eau en dernière position. Cette observation peut être attribuée à la diminution des composés phénoliques par cuisson.

Des études antérieures ont montré que les extraits de piment présentent des pouvoirs inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChEI) (Oboh *et al.*, 2007 ; Ogunraku *et al.*, 2014), et des pouvoirs inhibiteurs de la butyrylcholinestérase (BuChE). En effet, cette enzyme est considérée comme une stratégie thérapeutique, car elle a été impliquée dans l'agrégation des peptides bêta amyloïdes associés à des processus neurodégénératifs dans le cerveau (Ogunraku *et al.*, 2014).

Dans le même contexte, Nantakornsuttanan *et al.*(2016) ont testé les activités anticholinestérases de six variétés des piment du Chili, ils ont montré que les piments présentent des activités inhibitrices de l'AChE de 5 à 26% d'inhibition, de même des activités inhibitrices de la BChE fluctuant entre 2 à 24%, tout en dépendant de la dose.

Les piments peuvent être la source potentielle d'alimentation pour la prévention de la maladie d'Alzheimer. L'effet préventif peut être attribué à sa richesse en composés phénoliques. La corrélation entre les taux des polyphénols totaux des piments cuits et l'activité anticholinestérase des polyphénols a été testée (tableau 106)

Tableau 106. Corrélations entre les taux des polyphénols totaux des piments cuits et l'activité anticholinestérase

	Activité anti acétylcholinestérase		Activité anti butyrylcholinestérase	
	r	P	r	p
Cuisson dans l'eau	1	< 0,0001	1	< 0,0001
Cuisson à la vapeur	1	< 0,0001	0,999	< 0,0001
Cuisson par microonde	1	< 0,0001	0,978	0,0003

r : Coefficient de Pearson ; *p* : Probabilité

D'après le tableau 106, l'activité anticholinestérase des extraits du piment est fortement et positivement corrélée à la variation des taux des polyphénols totaux après cuisson. Il semble que certains composés phénoliques détectés dans cette variété de piment (lutéoline et quercétine) ont des fortes propriétés anti cholinestérases. Selon les expériences de Helmja *et al.* (2007) et Nantakornsuttanan *et al.* (2016), ces mêmes composés pourraient être responsables de l'activité anti-ACHE. D'après Orhana *et al.* (2007) et Katalinic *et al.* (2010), la myricétine, la quercétine et la luteoline peuvent aussi inhiber le BChE dans le plasma humain.

7. Synthèse globale des résultats obtenus

Les principaux résultats obtenus sont récapitulés dans les tableaux 107 et 108. Le tableau 107 synthétise les résultats des essais d'optimisation obtenus et le tableau 108 les principaux résultats d'analyses qualitatives et quantitatives obtenus pour les six légumes traités.

Tableau 107 . Récapitulation des résultats des essais d'optimisation obtenus

Pomme de terre		
Facteurs sélectionnés pour la matrice Plackett-Burman	Cru	Temps de macération et d'ultrasonication
	Cuite par ébullition	Temps et température de cuisson
	Cuite à la vapeur	Temps et température de cuisson
	Cuite par microonde	Temps de cuisson et puissance de la microonde
Modèle mathématique du plan Plackett-Burman	Cru	$PT = 14685 + 242 A + 242 B - 1259 C + 4257 D$
	Cuite par ébullition	$PT = 1408 - 567 A + 615 B + 163 C + 107 D + 101 E - 99 F + 156 G$
	Cuite à la vapeur	$PT = 6049 + 531 A - 5530 B + 291 C - 92 D - 274 E + 169 F - 27 G$
	Cuite par microonde	$PT = 10224 + 5058 A + 2593 B - 425 C + 749 D + 1181 E - 1497 F - 1348 G$
Modèle mathématique optimisé	Cru	$PT = 14626 + 36,85 A - 745 B + 0,00591 A*A + 22,03 B*B - 1,331 A*B$
	Cuite par ébullition	$PT = 917,4 - 483,9 A + 153,9 B + 275,6 A*A + 472,0 B*B + 546,4 A*B$
	Cuite à la vapeur	$PT = 524 + 1961 A + 2162 B + 5527 A*A + 3629 B*B - 391 A*B$
	Cuite par microonde	$PT = 14570 + 4418 A + 1803 B - 3050 A*A - 373 B*B - 2344 A*B$
Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/g}$ d'extrait)	Cru	$4,6190 \times 10^4$
	Cuite par ébullition	$0,3357 \times 10^4$
	Cuite à la vapeur	$1,4060 \times 10^4$
	Cuite par microonde	$1,6208 \times 10^4$
Oignon		
Facteurs sélectionnés pour la matrice Plackett-Burman	Cru	concentration du solvant et temps de macération
	Cuit par ébullition	Temps de cuisson et d'ultrasonication
	Cuit à la vapeur	Temps de cuisson et d'ultrasonication
	Cuit par microonde	Temps de cuisson et de macération
Modèle mathématique du plan Plackett-Burman	Cru	$PT = 18061 + 3728 A - 730 B + 3285 C - 767 D$
	Cuit par ébullition	$PT = 3804 + 1311A - 339B + 387C - 313D - 394E - 489F + 371G$
	Cuit à la vapeur	$PT = 17386 - 5736 A - 878 B - 26 C - 626 D + 461 E - 2581 F + 442 G$
	Cuit par microonde	$PT = 9109 + 1312 A - 9 B - 106 C - 735 D - 1101 E + 717 F + 132 G$
Modèle mathématique	Cru	$PT = 75 - 1111,2 A - 31,94 B + 5,627 A*A + 0,005728 B*B + 0,2236 A*B$

	Cuit par ébullition	$PT = 152568 - 14590 A - 936,4 B + 378,1 A^*A + 5,419 B^*B + 26,45 A^*B$
	Cuit à la vapeur	$PT = 16323,8 + 3106,3 A - 662,2 B - 1713,5 A^*A + 2889,9 B^*B + 230,1 A^*B$
	Cuit par microonde	$PT = 8820 + 138 A + 5,31 B + 17,9 A^*A + 0,002283 B^*B - 1,088 A^*B$
Taux des polyphénols	Cru	$2,9069 \times 10^4$
	Cuit par ébullition	$0,7425 \times 10^4$
	Cuit à la vapeur	$2,8919 \times 10^4$
	Cuit par microonde	$1,2602 \times 10^4$
Épinard		
Facteurs sélectionnés pour la matrice Plackett-Burman	Cru	Concentration du solvant et temps de macération
	Cuit par ébullition	Temps de cuisson et température de cuisson
	Cuit à la vapeur	Temps de macération et d'ultrasonication
	Cuit par microonde	Temps de cuisson et puissance de la microonde
Modèle mathématique du plan Plackett-Burman	Cru	$PT = 9147 + 3353 A + 1225 B - 234 C + 399 D$
	Cuit par ébullition	$PT = 8333 + 7210 A + 424 B + 186 C - 250 D - 201 E + 91 F + 172 G$
	Cuit à la vapeur	$PT = 5685 + 14 A + 337 B - 274 C + 1073 D - 1900 E + 2023 F - 504 G$
	Cuit par microonde	$PT = 11426 + 3002 A + 1571 B - 172 C + 190 D + 81 E - 288 F - 291 G$
Modèle mathématique optimisé	Cru	$PT = 107371 - 2165A - 37,50 B + 11,93 A^*A + 0,00225 B^*B + 0,410 A^*B$
	Cuit par ébullition	$PT = 8820 + 138 A + 5,31 B + 17,9 A^*A + 0,002283 B^*B - 1,088 A^*B$
	Cuit à la vapeur	$PT = -23952 + 16,24 A + 1334 B - 0,011032 A^*A - 14,37 B^*B - 0,0866 A^*B$
	Cuit par microonde	$PT = 68614 - 3907 A - 163,3 B + 169,8 A^*A + 0,1260 B^*B + 2,762 A^*B$
Taux des polyphénols(μg EAG/g d'extrait)	Cru	$1,9790 \times 10^4$
	Cuit par ébullition	$1,2540 \times 10^4$
	Cuit à la vapeur	$1,0440 \times 10^4$
	Cuit par microonde	$1,8620 \times 10^4$
Aubergine		
Facteurs sélectionnés pour la matrice Plackett-Burman	Crue	Concentration de solvant et temps de macération
	Cuite par ébullition	Temps de cuisson et température de la cuisson
	Cuite à la vapeur	Température de cuisson et d'ultrasonication.
	Cuite par microonde	Temps de cuisson et volume d'eau
Modèle mathématique du plan Plackett-Burman	Crue	$PT = 8651,8 - 1476,6 A - 1279,4 B + 209,3 C - 38,7 D$
	Cuite par ébullition	$PT = 12799 - 2323 A - 1818 B - 646 C + 124 D + 1159 E - 388 F + 477 G$
	Cuite à la vapeur	$PT = 13035 + 627 A - 1451 B - 3 C - 431 D - 780 E + 1214 F + 763 G$
	Cuite par microonde	$PT = 16782 - 2155 A + 932 B + 2801 C - 1348 D - 1163 E + 1472 F + 272 G$
Modèle mathématique	Crue	$PT = 79632 - 1378,4 A - 20,42 B + 7,648 A^*A + 0,001763 B^*B + 0,2074 A^*B$

	Cuite par ébullition	$PT = 174945 + 4527A - 4548B - 41,70 A*A + 28,36 B*B - 31,69 A*B$
	Cuite à la vapeur	$PT = 109755 - 2461 A + 323 B + 10,14 A*A - 20,52 B*B + 17,85 A*B$
	Cuite par microonde	$PT = 366120 - 37920 A - 1389 B + 1003 A*A + 4,399 B*B + 80,7 A*B$
Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/g d'extract}$)	Cru	$2,400 \times 10^4$
	Cuite par ébullition	$1,639 \times 10^4$
	Cuite à la vapeur	$1,880 \times 10^4$
	Cuite par microonde	$2,498 \times 10^4$

Carotte		
Facteurs sélectionnés pour la matrice Plackett-Burman	Cru	Temps de macération et d'ultrasonication
	Cuite par ébullition	Temps d'ultrasonication et température de cuisson
	Cuite à la vapeur	Temps de cuisson et température de cuisson
	Cuite par microonde	Temps de cuisson et la concentration du solvant
Modèle mathématique du plan Plackett-Burman	Cru	$Taux\ des\ polyphénols\ totaux = 9413 + 571 A - 1952 B - 714 C - 579 D$
	Cuite par ébullition	$PT = 7561 - 254A + 1481B + 590 C - 354 D + 341 E - 1529 F + 347 G$
	Cuite à la vapeur	$PT = 8597 + 1519 A - 756 B - 284 C + 299 D + 332 E - 233 F - 213 G$
	Cuite par microonde	$PT = 8733 - 967 A + 323 B - 558 C - 1172 D + 661 E - 583 F + 672 G$
Modèle mathématique optimisé	Cru	$PT = 1445 + 10,69A + 61,3B + 0,002925A*A + 3,448 B*B - 0,3649A*B$
	Cuite par ébullition	$PT = -138563 + 3144 A + 540 B - 16,74 A*A - 0,492 B*B - 5,84 A*B$
	Cuite à la vapeur	$PT = -19204 + 2422,8 A - 692,5 B - 30,180 A*A + 1,158 B*B + 7,868 A*B$
	Cuite par microonde	$PT = 37915 - 1572 A - 308,5 B + 26,9 A*A + 1,425 B*B + 0,81 A*B$
Taux des polyphénols ($\mu\text{g EAG/g d'extract sec}$)	Cru	$1,6880 \times 10^4$
	Cuite par ébullition	$0,8744 \times 10^4$
	Cuite à la vapeur	$0,9977 \times 10^4$
	Cuite par microonde	$1,2000 \times 10^4$

Piment		
Facteurs sélectionnés pour la matrice Plackett-Burman	Cru	Concentration du solvant et temps d'ultrasonication
	Cuit par ébullition	Temps et température de cuisson
	Cuit à la vapeur	Temps de cuisson et concentration de solvant
	Cuit par microonde	Temps de cuisson et puissance
Modèle mathématique du plan Plackett-Burman	Cru	$PT = 12398 - 2064 A - 283 B - 1441 C - 71 D$
	Cuit par ébullition	$PT = 8575,0 + 368,0 A + 593,4 B - 73,5 C + 53,2 D + 68,2 E - 57,5F - 110,1 G$
	Cuit à la vapeur	$PT = 23128 + 12254A + 8999B - 12033C + 11439D - 8408E - 11171F - 9232 G$
	Cuit par microonde	$PT = 8301 - 2256 A + 382 B - 4 C + 4 D - 178 E - 2 F - 4 G$
Modèle	Cru	$PT = -185509 + 3088 A + 3451 B - 19,78 A*A - 38,32 B*B + 2,26 A*B$

	Cuit par ébullition	$PT = 90979 - 8270 A - 364 B + 369,3 A * A + 6,069 B * B - 42,70 A * B$
	Cuit à la vapeur	$PT = -847264 + 96197 A - 503 B - 2534 A * A + 11,20 B * B - 58,6 A * B$
	Cuit par microonde	$PT = -5632 + 8798 A - 116,1 B - 620 A * A + 0,0449 B * B + 6,94 A * B$
Taux des polyphénols(μg EAG/g d'extrait)	Cru	$2,0990 \times 10^4$
	Cuit par ébullition	$1,0290 \times 10^4$
	Cuit à la vapeur	$1,9710 \times 10^4$
	Cuit par microonde	$1,3000 \times 10^4$

Tableau 108 . Récapitulation des résultats des analyses qualitatives et quantitatives obtenus

Pomme de terre			
		Réduction ou augmentation	En %
Effet de la cuisson sur les teneurs en polyphénols totaux	Cru	$4,619 \times 10^4 \mu\text{g}$ EAG/g d'extrait sec	
	Cuite par ébullition	Réduction	92,73%
	Cuite à la vapeur	Réduction	69,56%
	Cuite par microonde	Réduction	64,90%
	Eau de cuisson à l'eau	$0,1000 \times 10^4 \mu\text{g}$ EAG /g d'extrait sec	
	Eau de cuisson à la vapeur	$0,0500 \times 10^4 \mu\text{g}$ EAG/g d'extrait sec	
Effet de la cuisson sur les teneurs en flavonoïdes totaux	Cru	$2,4100 \times 10^4 \mu\text{g}$ EQ/g d'extrait sec	
	Cuite par ébullition	Réduction	95,84%
	Cuite à la vapeur	Réduction	59,04%
	Cuite par microonde	Réduction	56,26%
	Eau de cuisson à la vapeur	567,00 μg EQ/g d'extrait sec	
	Eau de cuisson à la vapeur	297,98 μg EQ/g d'extrait sec	
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test DPPH)		Pourcentage d'inhibition : 67,76%	
	Cuite par ébullition	Réduction	18,36%
	Cuite à la vapeur	Réduction	10,19%
	Cuite par microonde	Réduction	5,70%
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test ABTS)	Cru	Pourcentage d'inhibition : 69,56%	
	Cuite par ébullition	Réduction	19,87%
	Cuite à la vapeur	Réduction	11,19%
	Cuite par microonde	Réduction	6,09%
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test CUPRAC)	Cru	Pourcentage d'inhibition : 70,67%	
	Cuite par ébullition	Réduction	22,04%
	Cuite à la vapeur	Réduction	5,66%
	Cuite par microonde	Réduction	2,85%
Effet de la cuisson sur l'activité antacétylcholinestérase	Cru	Pourcentage d'inhibition : 40,55%	
	Cuite par ébullition	Augmentation	43,60%
	Cuite à la vapeur	Réduction	26,28%
	Cuite par microonde	Réduction	11,76%
Effet de la cuisson	Cru	Pourcentage d'inhibition : 45,55%	

sur l'activité antibutyrylcholinestéras e	Cuite par ébullition	Réduction	43,20%
	Cuite à la vapeur	Réduction	29,98%
	Cuite par microonde	Réduction	12,66%
Oignon			
		Réduction ou augmentation	En %
Effet de la cuisson sur les teneurs en polyphénols totaux	Cru	Taux : $2,9069 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract sec}$	
	Cuit par ébullition	Diminution	74,45%
	Cuit à la vapeur	Rétention	/
	Cuit par microonde	Diminution	56,64%
	Eau de cuisson à l'eau	$0,2356 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract sec}$	
	Eau de cuisson à la	$0,0235 \times 10^4 \mu\text{g EAG/g d'extract sec}$	
Effet de la cuisson sur les teneurs en flavonoïdes totaux	Cru	$1,9234 \times 10^4 \mu\text{g EQ/g d'extract sec}$	
	Cuit par ébullition	Diminution	71,57%
	Cuit à la vapeur	Rétention	/
	Cuit par microonde	Diminution	44,01%
	Eau de cuisson à la	$0,1345 \times 10^4 \mu\text{g EQ/g d'extract sec}$	
	Eau de cuisson à la	$0,0102 \times 10^4 \mu\text{g EQ/g d'extract sec}$	
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test DPPH)	Cru	Pourcentage d'inhibition : 91,91%	
	Cuit par ébullition	Réduction	28,31%
	Cuite à la vapeur	Réduction	19,72%
	Cuit par microonde	Réduction	25,04%
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test ABTS)	Cru	Pourcentage d'inhibition : 89,32%	
	Cuit par ébullition	Réduction	19,92%
	Cuit à la vapeur	Réduction	3,62%
	Cuit par microonde	Réduction	12,11%
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test CUPRAC)	Cru	Pourcentage d'inhibition : 92,76%	
	Cuit par ébullition	Réduction	36,46%
	Cuit à la vapeur	Réduction	9,24%
	Cuit par microonde	Réduction	16,30%
Effet de la cuisson sur l'activité antiacétylcholinestérase	Cru	Pourcentage d'inhibition : 55,21%	
	Cuit par ébullition	Réduction	3,20%
	Cuit à la vapeur	Réduction	7,69%
	Cuit par microonde	Réduction	19,99%
Effet de la cuisson sur l'activité antibutyrylcholinestérase	Cru	Pourcentage d'inhibition : 50,21%	
	Cuit par ébullition	Réduction	8,70%
	Cuit à la vapeur	Réduction	10,41%
	Cuit par microonde	Réduction	29,55%
Épinard			
		Réduction ou	En %
Effet de la cuisson sur les teneurs en polyphénols	Cru	Taux : $19790 \mu\text{g EAG/g d'extract sec}$	
	Cuit par ébullition	Réduction	36,63%

totaux	Cuit à la vapeur	Réduction	47,24%
	Cuit par microonde	Réduction	5,91%
	Eau de cuisson à la vapeur	Taux : 1087 µg EAG/g d'extrait sec	
	Eau de cuisson à la vapeur	Taux : 579 µg EAG/g d'extrait sec	
Effet de la cuisson sur les teneurs en flavonoïdes totaux	Cru	Taux : 10876 µg EQ/g d'extrait sec	
	Cuit par ébullition	Réduction	9,27%
	Cuit à la vapeur	Réduction	29,62%
	Cuit par microonde	Réduction	3,86%
	Eau de cuisson à la vapeur	Taux : 456,87 µg EQ/g d'extrait sec	
	Eau de cuisson à la vapeur	Taux : 234,75 µg EQ/g d'extrait sec	
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test DPPH)	Cru	Pourcentage d'inhibition : 67,89	
	Cuit par ébullition	Augmentation	4,38%
	Cuite à la vapeur	Réduction	11,28%
	Cuit par microonde	Augmentation	6,43%
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test ABTS)	Cru	Pourcentage d'inhibition : 68,29%	
	Cuit par ébullition	Augmentation	5,24%
	Cuit à la vapeur	Réduction	11,80%
	Cuit par microonde	Augmentation	9,63%
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test CUPRAC)	Cru	Pourcentage d'inhibition : 68,67%	
	Cuit par ébullition	Augmentation	4,89%
	Cuit à la vapeur	Réduction	13,76%
	Cuit par microonde	Augmentation	10,87%
Effet de la cuisson sur l'activité antiacétylcholinestérase	Cru	Pourcentage d'inhibition : 80,34%	
	Cuit par ébullition	Réduction	10,55%
	Cuit à la vapeur	Réduction	15,63%
	Cuit par microonde	Réduction	2,07%
Effet de la cuisson sur l'activité antibutyrylcholinestérase	Cru	Pourcentage d'inhibition : 79,34%	
	Cuit par ébullition	Réduction	6,90%
	Cuit à la vapeur	Réduction	17,11%
	Cuit par microonde	Réduction	4,62%
Aubergine			
		Réduction ou augmentation	En %
Effet de la cuisson sur les teneurs en polyphénols totaux	Cru	Taux : 2,400x 10 ⁴ µg EAG/g d'extrait sec	
	Cuite par ébullition	Réduction	32,68%
	Cuite à la vapeur	Réduction	21,82%
	Cuite par microonde	Augmentation	3,70%
	Eau de cuisson par ébullition	3006 µg EAG/g d'extrait sec	
	Eau de cuisson à la vapeur	2400 µg EAG/g d'extrait sec	
Effet de la cuisson sur les teneurs en flavonoïdes	Cru	Taux : 14789 µg EQ/g d'extrait sec	
	Cuite par ébullition	Réduction	33,22%

Résultats et discussion

totaux	Cuite à la vapeur	Réduction	32,32%
	Cuite par microonde	Augmentation	13,52%
	Eau de cuisson par ébullition	1098,78 µg EQ/g d'extrait sec	
	Eau de cuisson à la vapeur	689,23 µg EQ/g d'extrait sec	
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test DPPH)	Crue	Pourcentage d'inhibition : 79,09%	
	Cuite par ébullition	Augmentation	2,68%
	Cuite à la vapeur	Augmentation	8,71%
	Cuite par microonde	augmentation	10,29%
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test ABTS)	Crue	Pourcentage d'inhibition : 87,96%	
	Cuite par ébullition	Augmentation	1,28%
	Cuite à la vapeur	Augmentation	3,08%
	Cuite par microonde	Augmentation	4,57%
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test CUPRAC)	Crue	Pourcentage d'inhibition : 73,09%	
	Cuite par ébullition	Augmentation	3,98%
	Cuite à la vapeur	Augmentation	12,01%
	Cuite par microonde	Augmentation	13,55%
Effet de la cuisson sur l'activité antiacétylcholinestérase	Crue	Pourcentage d'inhibition : 29,87%	
	Cuite par ébullition	Augmentation	87,78%
	Cuite à la vapeur	Augmentation	97,18%
	Cuite par microonde	Augmentation	99,02%
Effet de la cuisson sur l'activité antibutyrylcholinestérase	Crue	Pourcentage d'inhibition : 29,09%	
	Cuite par ébullition	Augmentation	88,78%
	Cuite à la vapeur	Augmentation	98,99%
	Cuite par microonde	Augmentation	99,08%
Carotte			
		Réduction ou augmentation	En %
Effet de la cuisson sur les teneurs en polyphénols totaux	Crue	Taux : 16880 µg EAG/g d'extrait sec	
	Cuite par ébullition	Réduction	48,19%
	Cuite à la vapeur	Réduction	40,89%
	Cuite par microonde	Réduction	28,90%
	Eau de cuisson par ébullition	2345 µg EAG/g d'extrait sec	
	Eau de cuisson à la vapeur	1200 µg EAG/g d'extrait sec	
Effet de la cuisson sur les teneurs en flavonoïdes totaux	Crue	Taux : 9878 µg EQ/g d'extrait sec	
	Cuite par ébullition	Réduction	45,87%
	Cuite à la vapeur	Réduction	31,16%
	Cuite par microonde	Réduction	25,61%
	Eau de cuisson à la vapeur	867,98 µg EQ/g d'extrait sec	
	Eau de cuisson à la vapeur	567,87 µg EQ/g d'extrait sec	
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante	Crue	Pourcentage d'inhibition : 15,14%	
	Cuite par ébullition	Réduction	39,63%

(Test DPPH)	Cuite à la vapeur	Réduction	20,14%
	Cuite par microonde	Réduction	13,54%
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test ABTS)	Cru	Pourcentage d'inhibition :19,45%	
	Cuite par ébullition	Réduction	37,84%
	Cuite à la vapeur	Réduction	25,14%
	Cuite par microonde	Réduction	13,72%
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test CUPRAC)	Cru	Pourcentage d'inhibition :19,83%	
	Cuite par ébullition	Réduction	39,03%
	Cuite à la vapeur	Réduction	14,77%
	Cuite par microonde	Réduction	13,81%
Effet de la cuisson sur l'activité antiacétylcholinestérase	Cru	Pourcentage d'inhibition :10,89%	
	Cuite par ébullition	Augmentation	55,09%
	Cuite à la vapeur	Augmentation	71,44%
	Cuite par microonde	Augmentation	81,78%
Effet de la cuisson sur l'activité antibutyrylcholinestérase	Cru	Pourcentage d'inhibition :10,67%	
	Cuite par ébullition	Augmentation	20,11%
	Cuite à la vapeur	Augmentation	43,89%
	Cuite par microonde	Augmentation	73,27%
Piment			
		Réduction ou augmentation	En %
Effet de la cuisson sur les teneurs en polyphénols totaux	Cru	Taux : 20990 µg EAG/g d'extrait sec	
	Cuit par ébullition	Réduction	50,97%
	Cuit à la vapeur	Réduction	6,09%
	Cuit par microonde	Réduction	38,06%
	Eau de cuisson par ébullition	1200 µg EAG/g d'extrait sec	
	Eau de cuisson à la vapeur	876 µg EAG/g d'extrait sec	
Effet de la cuisson sur les teneurs en flavonoïdes totaux	Cru	Taux : 10100 µg EQ/g d'extrait sec	
	Cuit par ébullition	Réduction	55,87%
	Cuit à la vapeur	Réduction	2,76%
	Cuit par microonde	Réduction	34,87%
	Eau de cuisson par ébullition	678,99 µg EQ/g d'extrait sec	
	Eau de cuisson à la vapeur	245,89 µg EQ/g d'extrait sec	
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test DPPH)	Cru	Pourcentage d'inhibition : 69,78%	
	Cuit par ébullition	Réduction	35,98%
	Cuite à la vapeur	Réduction	18,18%
	Cuit par microonde	Réduction	1,43%
Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test ABTS)	Cru	Pourcentage d'inhibition :68,67%	
	Cuit par ébullition	Réduction	20,22%
	Cuit à la vapeur	Réduction	14,05%
	Cuit par microonde	Réduction	8,41%

Résultats et discussion

Effet de la cuisson sur l'activité antioxydante (Test CUPRAC)	Cru	Pourcentage d'inhibition :72,89%	
	Cuit par ébullition	Réduction	34,05%
	Cuit à la vapeur	Réduction	10,70%
	Cuit par microonde	Réduction	2,92%
Effet de la cuisson sur l'activité antiacétylcholinestérase	Cru	Pourcentage d'inhibition :53,87%	
	Cuit par ébullition	Réduction	28,01%
	Cuit à la vapeur	Réduction	11,08%
	Cuit par microonde	Réduction	5,09%
Effet de la cuisson sur l'activité antibutyrylcholinestérase	Cru	Pourcentage d'inhibition :58,9%	
	Cuit par ébullition	Réduction	25,51%
	Cuit à la vapeur	Réduction	16,65%
	Cuit par microonde	Réduction	10,39%

Conclusion générale et perspectives

Les polyphénols font partie des phytomicronutriments les plus ubiquitaires dans les légumes, et pour lesquels il existe des effets biologiques importants. De plus en plus, la plupart des légumes sont consommés après cuisson, ce qui conduit à s'interroger sur le devenir de ces phytomicronutriments au cours de ce procédé. Dans ce contexte, cette thèse s'articule autour de l'optimisation des conditions de cuisson des légumes et d'extraction de leurs composés phénoliques, l'étude de l'effet de trois modes de cuisson (par ébullition, à la vapeur et par microonde) sur la teneur en polyphénols totaux en flavonoïdes, et l'évaluation des activités antioxydante et anticholinestérase de six légumes (pomme de terre, oignon, épinard, aubergine, carotte et piment). La sélection des facteurs, qui ont un effet sur le taux des polyphénols totaux, a été effectuée par le plan *Plackett–Burmann*. Les conditions optimales ont été déterminées par un plan composite centré. Les essais, réalisés sur des extraits résultant des procédés de cuisson et d'extraction optimisés, sont la détermination des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des légumes crus, cuits et des eaux de cuisson par des dosages spectrophotométriques. L'identification et la quantification des polyphénols ont été réalisées par LC-MS/MS. L'activité antioxydante a été évaluée par trois méthodes DPPH, ABTS et CUPRAC et l'activité anticholinestérase a été déterminée par la méthode d'Elmann.

Les résultats obtenus montrent que les deux modes de cuisson (par ébullition et à la vapeur) ont provoqué une réduction des taux des polyphénols totaux et des flavonoïdes de tous les légumes étudiés. Par contre, la cuisson par microonde a montré des effets différents sur les taux des polyphénols totaux et des flavonoïdes des légumes en question: un effet négatif pour la pomme de terre, l'épinard, la carotte et le piment et un effet positif pour l'aubergine et l'oignon. Cette différence peut être attribuée aux nombreux facteurs possibles (nature du composé phénolique, type de légumes, mode de cuisson, paramètres de cuisson plus l'interférence de la présence ou non de l'eau).

La diminution des composés phénoliques des légumes, après cuisson, est due probablement aux phénomènes qui peuvent intervenir ensemble lors de la cuisson, notamment la diffusion de ces composés dans l'eau de cuisson et/ou la dégradation thermique proprement dite.

L'augmentation ou la rétention des taux des polyphénols peuvent s'expliquer probablement, par la libération facile de composés phénoliques auparavant liés aux constituants cellulaires des légumes lors de la cuisson ou la néoformation de composés phénoliques suite aux différences qui peuvent avoir lieu. Cette libération compenserait une éventuelle perte par dégradation thermique. L'effet des traitements thermiques peut varier selon le composé considéré, la structure et la nature du squelette des composés phénoliques peuvent jouer un rôle majeur dans ce cas. Les différents composés phénoliques présentent des comportements différents au traitement thermique.

Le mode de cuisson peut également avoir une importance sur les dégradations observées. L'impact de la cuisson sur l'activité antioxydante varie d'un légume à un autre. Une diminution après cuisson a été constatée pour la pomme de terre, l'oignon, la carotte, l'épinard et le piment cuits à la vapeur et, et cela est peut être attribuée au changement de la teneur des polyphénols totaux de ces légumes par les différents procédés de cuisson. Les composés phénoliques subissent une décomposition due à leur exposition prolongée à la température, ce qui conduit ensuite à la diminution de la capacité antioxydante .

Cependant, un effet positif de la cuisson a été enregistré sur les pouvoirs antioxydants d'épinard et d'aubergine (cuits par ébullition et par microonde). Dans ce cas, une augmentation de l'activité antioxydante a été remarquée malgré la diminution de la teneur en polyphénols totaux , cela est peut être attribué à la décomposition des polyphénols de ces légumes et la formation des composés phénoliques plus actifs ; à la formation de composés de Maillard ou aux produits issus de l'oxydation des polyphénols qui peuvent également modifier la capacité antioxydante. Ces composés peuvent présenter, dans un état d'oxydation intermédiaire, un potentiel à piéger les radicaux libres supérieurs aux composés natifs non oxydés.

Les trois méthodes de cuisson ont montré des effets négatifs sur les activités anticholinestérasiques de la pomme de terre, l'épinard et le piment. Par contre, des effets positifs ont été constatés pour l'oignon, l'aubergine et la carotte.

En plus de la nature du légume, la diminution de l'activité anticholinestérase peut être attribuée à l'effet de la cuisson sur les polyphénols tributaires de cette activité, leur décomposition et dégradation par la cuisson.

Cependant, l'augmentation de cette activité est susceptible de provenir : des interactions formées entre les polyphénols ; de leurs produits de décomposition après cuisson ou des autres composés tels que les alcaloïdes qui sont connus par leurs activités anti Alzheimer puissantes.

D'après ces résultats, on peut conclure que la cuisson par microonde peut être suggérée comme la meilleure méthode pour préserver le taux des polyphénols, l'activité antioxydante et l'activité anticholinestérase des légumes étudiés, dans ce cas, le tissu végétal n'est pas placé en contact direct avec l'eau chaude et la solubilisation de composés actifs dans l'eau bouillante est minimisée. La cuisson à l'eau s'est avérée la mauvaise méthode pour la rétention des polyphénols des légumes cuits. De même, une réduction de leurs activités (activité antioxydante et anticholinestérase) à cause de la solubilité accrue des composés phénoliques dans l'eau.

A l'essor de la présente étude, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur la détermination des types des liaisons des composés phénoliques avec les autres composants de la matrice végétale et d'étudier l'effet des procédés de cuisson sur ces interactions . L'extraction et

l'isolement des composés phénoliques néoformés et l'étude de leurs effets sur des modèles animales et des sujets humains et cela pour évaluer leurs avantages potentiels.

En outre, il est nécessaire d'étudier la biodisponibilité de ces composés phénoliques et de confirmer l'absence de leur toxicité.

Le suivi de ces travaux de thèse pourrait se faire en tentant de mettre en évidence d'autres potentielles activités biologiques de ces extraits, de déterminer avec certitude les molécules présentes et responsables de ces activités, et, enfin, d'essayer de comprendre les mécanismes fonctionnels mis en jeu.

Références bibliographiques

- Abu-Amsha, R., Croft, K.D., Puddey, I.B., Proudfoot, J.M., Beilin, L.J. (1996). Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low-density lipoprotein oxidation in vitro: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine. *Clin Sci (Lond)*, 91(4):44–958.
- Acosta-Estrada, B.A., Gutiérrez-Urbe, J.A., Serna-Saldivar, S.O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chem.*, 152:46–55.
- Aderogba, M.A., Ndhlala, A.R., Van Staden, J. (2013). Acetylcholinesterase inhibitory activity and mutagenic effects of *Croton penduliflorus* leaf extract constituents. *S. Afr. J. Bot.*, 87:48–51
- Akanitapichat, P., Phraibung, K., Nuchklang, K., Prompitakkul, S. (2010). Antioxidant and hepatoprotective activities of five eggplant varieties. *Food Chem. Toxicol.* 48 : 3017–3021.
- Alasalvar, C., Grigor, J.M., Zhang, D., Quantick, P.C., Shahidi, F. (2001). Comparaison of volatiles phenolics, sugars, antioxidant vitamins and sensory quality of different colored carrot varieties. *J. Agric. Food Chem.* 49 : 1410– 1416.
- Albishi, T., John, J., Al-Khalifa, A., Shahidi, F. (2013). Phenolic content and antioxidant activities of selected potato varieties and their processing by-products. *J. Funct. Foods*, 5: 590–600.
- Almansooraya, A.F., Abu Hasanb, H., Idrisa, M., Sheikh Abdullah, S. R., Anuarb N., Musa Tibind E. M. (2017). Biosurfactant production by the hydrocarbon-degrading bacteria (*HDB*) *Serratia marcescens*: Optimization using central composite design (CCD). *J. Indus. and Engin. Chem.*, 47(25): 272-280.
- Alshikh, N., de Camargo, A.C., Shahidi, F. (2015). Phenolics of selected lentil cultivars: Antioxidant activities and inhibition of low-density lipoprotein and DNA damage. *J. Funct. Foods*, 18: 1022–1038.
- Altemimi, A., Choudhary, R., Watson, D.G. Lightfoot, D.A. (2015). Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts. *Ultrason Sonochem.*, 24 : 247– 55.
- Alvarez-Parrilla, E., De La Rosa, L.A., Amarowicz, R., Shahidi, F. (2011). Antioxidant activity of fresh and processed jalapeño and Serrano peppers. *J Agric. Food Chem.*, 59: 163–173.
- Alvino, A., Barbieri, G. (2016). Vegetables of Temperate Climates: Leafy Vegetables. In 'Encyclopedia of Food and Health'. Ed Academic Press, Oxford : 393–400
- Alzheimer's Association (2012). Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*; 8: 131–168.
- Amrun Hidayat, M., Fitri, A., Kuswandi, B. (2017). Scanometry as microplate reader for high throughput method based on DPPH dry reagent for antioxidant assay. *Acta Pharm. Sin. B*, 7(3) :395–400
- Andersen, F., Viitanen, M., Halvorsen, D.S., Straume, B., Wilsgaard, T., Engstad, T.A. (2012). The effect of stimulation therapy and donepezil on cognitive function in Alzheimer's disease. A community based RCT with a two-by-two factorial design. *BMC Neurol.* 12,59.
- Andlauer, W., Stumpf, C., Hubert, M., Rings, A., Fürst, P. (2003). Influence of cooking process on phenolic marker compounds of vegetables. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 73: 152–159.
- Andre, C., Oufir, M., Guignard, C., Hoffmann, L.; Hausman, J.; Evers, D.; Larondelle, Y. (2007). Antioxidant profiling of native andean potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) reveals cultivars with high levels of β -carotene, α -tocopherol, chlorogenic acid, and petanin. *J. Agric. Food Chem.*, 55:10839–10849.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E., Erça, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *Int J Food Sci Nutr*, 57(5):292–304.
- Arai, Y., Watanabe, S., Kimira, M., Shimoi, K., Mochizuki, R., Kinae, N. (2000). Dietary intakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. *J Nutr*, 130(9): 2243–2250.
- Arêas, J.A.G., Rocha-Olivieri, C.M., Marques, M.R. (2016). Extrusion Cooking: Chemical and Nutritional Changes Reference Module in Food Science Encyclopedia of Food and Health, Academic press Elsevier:569–575
- Asami, D.K., Hong, Y.J., Barrett, D.M., Mitchell, A.E. (2003). Comparison of the total phenolic and ascorbic content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional organic, and sustainable agricultural practices. *J Agric. Food Chem.*, 51 :1237–1241
- Asnin, L., Park, S.W. (2015). Isolation and analysis of bioactive compounds in *Capsicum* peppers. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 55: 254–289.

- Aune, D., Chan, D.S., Vieira, A.R., Navarro Rosenblatt, D.A., Vieira, R., Greenwood, D.C., Norat, T. (2012) Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am. J. Clin. Nutr.* ,96(2):356–373
- Ayaz, M., Junaid, M., Ahmed, J., Ullah, F., Sadiq, A., Ahmad, S., Imran, M. (2014). Phenolic contents, antioxidant and anticholinesterase potentials of crude extract, subsequent fractions and crude saponins from *Polygonum hydropiper* L. *BMC Complement Altern. Med.* ,14 :145
- Bahorun, T., Luximon-Ramma, A., Crozier, A., Aruoma, O.I. (2004). Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *J. Sci. Food Agr.*, 84:1553–1561.
- Bakhtiari, M., Panahi, Y., Ameli, J., Darvishi, B. (2017). Protective effects of flavonoids against Alzheimer's disease-related neural dysfunctions. *Biomed. Pharmacother.* 93 : 218 – 229.
- Baldrick, F. R., Woodside, J.V., Elborn, J. S., Young, I. S. and McKinley, M. C. (2011). Biomarkers of fruit and vegetable intake in human intervention studies: A systematic review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 51(9):795–815.
- Baldwin, D.E. (2012) Sous vide cooking: a review. *Int. J. Gastron. Food Sci.* 1(1) :15–30.
- Bartz, J.A., Brecht, J.K. (2002). Postharvest physiology and pathology of vegetables. Series: Food Science and Technology (second ed.), CRC Press : 744.
- Beckman, C. H. (2000). Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 57, 101–110.
- Bembem, K., Sadana, B. (2014) Effect of different cooking methods on the antioxidant components of carrot. *Biosci. Discov.*, 5: 112-116.
- Bengoechea, M.L., Sancho, A.I., Bartolomé, B., Estrella, I., Gomez-Cordovés, C., Hernández, M.T. (1997). Phenolic composition of industrially manufactured purees and concentrates from peach and apple fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 45 :4071–4075.
- Bergman, M., Varshavsky, L., Gottlieb, H., Grossman, S. (2001). The antioxidant activity of aqueous spinach extract, chemical identification of active fractions. *Phytochem.*, 58 : 143– 152.
- Bernaert, N., Wouters, D., De Vuyst, L., De Paepe, D., De Clercq, H., Van Bockstaele, E., De Loose, M., Van Droogenbroeck, B. (2013). Antioxidant changes of leek (*Allium ampeloprasum* var. porrum) during spontaneous fermentation of the white shaft and green leaves. *J. Sci. Food Agric.*, 93 : 2146–2153
- Bhullar KS, Rupasinghe H. (2013) Polyphenols: multipotent therapeutic agents in neurodegenerative diseases. *Oxid Med Cell Longev.*:1–8.
- Bimbenet, J.J., Bonazzi, C., Dumoulin, E. (2002). Drying of foodstuffs. In : Proceeding of the 13th international drying symposium: 64-80
- Blois, M.S., (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nat.* , 181:1199–1200.
- Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., Müller, M.J., Oberritter, H., Schulze, M., Stehle, P., Watzl, B. (2012). Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *Eur. J. Nutr.* ,51(6):637–663.
- Boga, M., Hacibekiroglu I, Kolak U. (2011). Antioxidant and anticholinesterase activities of eleven edible plants. *Pharm Biol*, 49:290–5
- Bongoni, R., Verkerk, R., Steenbekkers, B., Dekker, M., Stieger, M. (2014). Evaluation of different cooking conditions on broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) to improve the nutritional value and consumer acceptance. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 69(3) :228–234.
- Bor, J.Y., Chen, H.Y., Yen, G.H. (2006). Evaluation of antioxidant activity and inhibitory effect on nitric oxide production of some common vegetables. *J. Agric. Food Chem.* ,54 : 1680–1686
- Bouayed, J., Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants- Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 3(4), 228–237.
- Bouba, A.A., Njintang, N.Y., Kouam, G.B.N., Mang, Y.D., El-Sayed Mehanni, A.H., Scher, J., Montet, D., Mbofung, C.M. (2014). Desorption isotherms, net isosteric heat and the effect of temperature and water activity on the antioxidant activity of two varieties of onion (*Allium cepa* L). *Int. J Food Sci Technol.*, 49, 444–452.

- Bozkurt ,B., Coban, G., Kaya, G.I., Onur, M.A., Unver-Somer, N. (2017).Alkaloid profiling, anticholinesterase activity and molecular modeling study of *Galanthus elwesii*. *S Afr J Bot*, 113:119–27.
- Braga, P. C., Wang, Y. Y., Sasso, M. D., Culici, M., Verducci, P., Fibiani, M., & Scalzo, R. (2011). Inhibitory effects on human neutrophil bursts of raw, grilled and boiled eggplant (*Solanum melongena* L.).*Spatula DD*, 1(3):129-135.
- Buchner, N., Krumbein, A., Rohn ,S. , Kroh, L.W.(2006) .Effect of thermal processing on the flavonols rutin and quercetin. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 20: 3229–3235.
- Buchner, N., Krumbein, A., Rohn, S. , Kroh, L.W. (2006) Effect of thermal processing on the flavonols rutin and quercetin. *Rapid CommunMass Spectrom*, 20:3229–3235
- Bunea, A., Andjelkovic, M.,Socaciu, C.,Bobis, O.,Neacsu, M., Verhé, R.,Van Camp, J.(2008).Toal and individual carotenoids and phénolic acids content in frech, refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Food chem.*,108 : 649–656.
- Burda, S., Oleszek, W., Lee, C.Y. (1990). Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. *J. Agric. Food Chem.*, 38:945-948
- Burgos, G., Amoros, W., Munoa, L., Sosa, P., Cayhualla, E., Sanchez, C., Díaz, C.,Bonierbale, M. (2013). Total phenolic, total anthocyanin and phenolic acid concentrations and antioxidant activity of purple-fleshed potatoes as affected by boiling . *J. Food Compos.* , 30(1): 6–12
- Carcea, M., Narducci, V., Turfani,V., Giannini,V.(2017). Polyphenols in raw and cooked cereals/ Pseudocereals/legume pasta and couscous. *Foods*, 6(9),80, 1–11
- Cernela, J. , Heyd, B., Broyart, B. (2014). Evaluation of heating performances and associated variability of domestic cooking appliances(oven-baking and pan-frying). *Appl. Therm. Eng.*, 62 :758 -765.
- Chah, A.M., Lee, Y.C., Yamaguchi, T., Takamura, H., Yin, L.J., Matoba,T.(2008). Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured pepers. *Food chem.*,11 :20– 28.
- Chandrasekara, A., Shahidi, F. (2010). Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* , 58 :6706–6714.
- Chandrasekaran, S., Ramanathan, S. , Basak, T. (2013).Microwave food processing-A review. *Food Res. Intern.*, 52: 243–261
- Chatatikun, M., Chiabchalard, A. (2013). Phytochemical screening and free radical scavenging activities of orange baby carrot and carrot (*Daucus carota* Linn.) root crude extracts . *J. Chem. Pharm. Res.* 5 (4):97-102
- Chinnici, F., Bendini, A., Gaiani, A., Riponi, C. (2004). Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 4684–4689.
- Chiva-Blanch, G., Visioli, F. (2012). Polyphenols and health: Moving beyond antioxidants. *J. Berry Res.* 2(2):63–71
- Choi, S.R., Schneider, J.A., Bennett, D.A., Beach, T.G., Bedell, B.J. Zehntner. S.P., Krautkramer, M.J., Kung, H.F., Skovronsky, D.M., Hefti, F., Clark. C.M. (2012). Correlation of amyloid PET ligand florbetapir F18 binding with Abeta aggregation and neutritic plaque deposition in postmortem brain tissue. *Alzheimer Dis. Assoc.Disord.*, 26: 8 – 16
- Chumyam, A., Whangchai, K., Jungklang, J., Faiyue, B. ,Saengnil, K.(2013). Effects of heat treatments onantioxidant capacity and total phenolic content of fourcultivars of purple skin eggplants. *Sci. Asia*,39: 246–251
- Cilla, A., Bosch, L., Barberá, R., Alegría, A. (2017). Effect of processing on the bioaccessibility of bioactive compounds–A review focusing on carotenoids, minerals, ascorbic acid, tocopherols and polyphenols. *J. Food Comp. Anal.* ,In Press, Corrected Proof
- Clifford, M.N. (2000). Chlorogenic acids and other cinnamates nature, occurrence,dietary burden, absorption and metabolism. *J Sci Food Agr*, 80:1033–1042.
- Clifford, M.N.(1999). Chlorogenic acids and other cinnamates- nature, occurrenceand dietary burden. *J Sci Food Agr*, 79:362–372.
- Clifford, M.N., Scalbert, A.(2000). Ellagitannins-nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric.* ,80:1118–25

- Crozier, A., Lean, M.E.J., McDonald, M.S., Black, C. (1997). Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 590–595
- Cvejić, J.H., Krstonošić, M.A., Bursać, M., Miljić, U. (2017). Nutraceutical and Functional Food Components. Effects of Innovative Processing Techniques, Academic Press Elsevier, 203–258
- Dabool, A.S., Fouad, M.A., Mihdhir, A.A. (2014) The effect of method of cooking and holding conditions on enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* in two types of Saudirice. *Eur. Academ. Res.* 2(2):9042-9055.
- Dal-Pan, A., Bourassa, S.D., Morgane, P.B., Cyntia, T., Yves, D., Calon, F. (2017). Cognitive-Enhancing Effects of a Polyphenols-Rich Extract from Fruits without Changes in Neuropathology in an Animal Model of Alzheimer's Disease. *J. Alzheimer's dis.*, 55(1):115–135
- Dao, L., Friedman, M. (1994). Chlorophyll, chlorogenic acid, glycoalkaloid and protease inhibitor content of fresh and green potatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 42:633-639
- Darvesh, S., Hopkins, D.A., Geula, C. (2003). Neurobiology of butyrylcholinesterase. *Nat Rev Neurosci*, 4: 131–138.
- de Lima, A.C.S., da Rocha Viana, J.D., de Sousa Sabino, L. B., da Silva, L.M.R., da Silva, N.K.V., de Sousa, P. H. M. (2017). Processing of three different cooking methods of cassava: Effects on in vitro bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Tech.*, 76 (2017) 253-258.
- De Santiago, E., Domínguez-Fernández, M., Cid, C., De Pena, M.P. (2018). Impact of cooking process on nutritional composition and antioxidants of cactus cladodes (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chem.* 240, 1055–1062.
- Decareau, R. V. (1985). *Microwaves in the Food Processing Industry*. Orlando, Academic Press Inc.
- Del Castillo, M.D., Ames, J.M., Gordon, M.H. (2002). Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *J. Agric. Food Chem.*, 50:3698-3703.
- Deußer, H., Guignard, C., Hoffmann, L., Evers, D. (2012). polyphenol and glycoalkaloid contents in potato cultivars grown in Luxembourg. *Food Chem.*, 135, 4(15): 2814-2824
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., Liu, R.H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 50(10):3010–3014
- Dey, G., Mitra, A., Banerjee, R., Mitra, R., Maiti, B.R. (2001). Enhanced production of amylase by optimization of nutritional constituents using response surface methodology. *Biochem Eng J*, 1: 227–231.
- Do Thi, D., Hwang, E.S. (2015). Effects of different cooking methods on bioactive compound content and antioxidant activity of water spinach (*Ipomoea aquatica*). *Food Sci Biotechnol.* 24:799–806.
- Dobrinás, S., Gabriela, S., Simona, L. (2017). Total phenolic content and hplc characterization of some culinary herbs. *J.Sci. Art.*, 2(39):321-330.
- Dolinsky, M., Agostinho, C., Ribeiro, D., Rocha, G.D.S., Barroso, S.G., Ferreira, D., Polinati, R., Ciarelli, G., Fialho, E. (2016). Effect of different cooking methods on the polyphenol concentration and antioxidant capacity of selected vegetables. *J. Cult. Sci. Technol.* 14 : 1–12.
- Duchene, A. (2015). Valorisation fonctionnelle et antioxydante des épidermes de pommes Golden Delicious. Thèse de doctorat université Bordeaux.
- Edeas, M. (2007). Les polyphenols et les polyphenols de thé. *Phytothér.*, 5: 264–270.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7(2):88-95.
- Ertas, A., Yilmaz, M.A., Boga, M., Hasimi, N., Yesil, Y., Goren, A.C., Temel, H., Topcu, G. (2016). Chemical Profile and Biological Activities of Two Edible Plants: Chemical Investigation and Quantitative Analysis Using Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry and Gas Chromatography Mass Spectrometry. *Int. J. Food Prop.*, 19, 124–138.
- Ertas, A., Boga, M., Yilmaz, M.A., Yesil, Y., Hasimi, N., Kaya, M.S., Temel, H., Kolak, U. (2014). Chemical compositions by using LC-MS/MS and GC-MS and biological activities of *Sedum sediforme*. *J. Agric. Food Chem.*, 62(20):4601–4609
- Esteban, R., Molla, E., Robredo, L., Lopez-Andreu, F. (1992). Changes in the chemical composition of eggplant fruits during development and ripening. *J. Agric. Food Chem.* 40(6):998–1000.

- Ewald, C., Fjelkner-Modig ,S., Johansson, K., Sjöholm, I. , Akesson, B. (1999).Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans, and peas. *Food Chem.*, 64:231–235
- Eymar, E., Garcia-Delgado, C., Esteban ,R.M.(2016). Food Poisoning: Classification. Reference Module in Food Science Encyclopedia of Food and Health, Academic press Elsevier :56–66
- Fabbri, A.D., Crosby, G.A. (2016) .A review of the impact of preparation and cooking on the nutritional quality of vegetables and legumes. *Internat. J. Gastron. Food Sci.*, 3:2–11
- Faller, A.L.K, Fialho,E.(2009). The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Res Int* ,42(1):210-215.
- Fellows P.J.(2017). Food Processing Technology Principles and Practice., Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Fourth Edition: 525–538.
- Ferracane,R., Pellegrini, N., Visconi, A., Graziani,G. ,Chiavaro,E., Miglio,C., Fogliano, V.(2008).Effects of different cooking methods on antioxidant profile, antioxidant capacity, and physical characteristics of artichoke. *J.Agric.Food*, 56 : 8601–8608.
- Ferreira, A., Proenc, A.C., Serralheiro, M.L.M., Araújo, M.E.M. (2006). The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J. Ethnopharmacol.*, 108(1):31–37.
- Ferris, S., Karantzoulis, S., Somogyi, M., Meng, X. (2013). Rivastigmine in moderately severe-to-severe Alzheimer's disease: Severe Impairment Battery factor analysis. *Alzheimers Res Ther.*,5(6):63
- Fersht, A.R. (2013). Denaturation (proteins). Reference Module in Life Sciences Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition), Academic press Elsevier:302–303.
- Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J. Koo, S.I., Chun, O.K.(2011).Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J. Food Compos. Anal.* , 24:1043–1048.
- Florani, B. (2014). Influence des modes de cuisson sur les qualités nutritionnelles des légumes. *Flor alternative* : 1-5
- Friedman, M., Kozukue, N., Harden, L.A. (1997) Structure of the tomato glycoalkaloid tomatidenol-3-beta-lycotetraose (dehydrotomatine). *J Agric Food Chem.*, 45: 1541–1547
- Friedman, M., Levin,C.E. (2009). Chapter :Analysis and biological activities of potato glycoalkaloids, calystegine alkaloids, phenolic compounds and anthocyanins. In advances in potato chemistry and technology, ed.J. Singh and L.kaur, 127-162.Burlington/ Academic.
- Fujita N. (2017). Starch. Reference Module in Life Sciences. Encyclopedia of Applied Plant Sciences. Academic press Elsevier, Second Edition, Volume 2 , : 106–111
- Fukami, T., Yokoi, T. (2012). The emerging role of human esterases. *Drug. Metab. Pharmacokinet*, 27: 466–477.
- Galan,A.M., Calinescu,I., Trifan,A., Winkworth-Smith,C., Carrascal,M ;, Dodds,C. , Binner, E.(2017). New insights into the role of selective and volumetric heating during microwave extraction: Investigation of the extraction of polyphenolic compounds from sea buckthorn leaves using Microwave-Assisted Extraction and Conventional Solvent Extraction, *Chem. Eng. Process.*,116 : 29-39.
- Galanakis, C.M., Goulas, V., Tsakona, S., Manganaris, G.A., Gekas, V. (2013). A knowledge base for the recovery of natural phenols with different solvents. *Int. J. Food Prop.*, 16:382-396
- García-Salas, P., Gómez-Caravaca, A.M., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2014). Identification and quantification of phenolic compounds in diverse cultivars of eggplant grown in different seasons by high-performance liquid chromatography coupled to diode array detector and electro-spray-quadrupole-time of flight-mass spectrometry. *Food Res. Int.*, 57 : 114–122.
- Gayatri, N. A., Jaspan, T., Whitehouse, W. P. (2007). ‘Gayatri et al. reply’. *Dev Med Child NeuroL.*, 46(3): 214–215.
- Ghasemnezhad, G., Sherafati, M., Payvast, G.A.(2011). Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *J Funct Foods*, 3:44– 49
- Ghasemzadeh,A., Azarifar, M., Soroodi, O., Jaafar, H.Z.E. (2012). Flavonoid compounds and their antioxidant activity in extract of some tropical plants. *J. Med. Plants Res.*, 6 : 2639 – 2643.

- Giampieri, F., Tulipani S., Alvarez-Suarez, J.M., Quiles, J.L., Mezzetti, B., Battino, M. (2012). The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutr.*, 28(1):9–19.
- Gliszczynska-Swiglo, A., Ciska, E., Pawlak-Lemanska, K., Chmielewski, J., Borkowski, T., Tyrakowska, B. (2006). Changes in the content of health promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. *Food Addit. Contam.*, 23: 1088–98.
- Göçer, H., Gülçin, I. (2011). Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): Correlation of structure and antioxidant properties. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 62: 821–825
- Gómez-Mascaraque, L.G., Casagrande Sipoli, C., de La Torre, L.G., López-Rubio, A. (2017). Microencapsulation structures based on protein-coated liposomes obtained through electrospraying for the stabilization and improved bioaccessibility of curcumin. *Food Chem.*, 233 : 343-350.
- Gorinstein, S., Park, Y.S., Heo, B.G., Namiesnik, J., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Ham, K.S., Cho, J.Y., Kang, S.G. A (2009). Comparative study of phenolic compounds and antioxidant and antiproliferative activities in frequently consumed raw vegetables. *Eur. Food Res. Technol.*, 228 :903–911.
- Goupy, J., Creighton, L. (2006). Introduction aux plans d'expériences. Edition , Donud, France, 336 .
- Guerrero-Beltran, J.A., Barbosa-Canovas, G.V., Swanson, B.G. (2005). High hydrostatic pressure processing in fruit and vegetable products. *Food Rev. Int.*, 21(4) : 411–425.
- Gui, Y., Ryu, G.H. (2014). Effects of extrusion cooking on physicochemical properties of white and red ginseng (powder). *J. Ginseng Res.*, 38: 146–153
- Gülçin I. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid) *Toxicol.*, 217(2-3) : 213- 220
- Habiba, R. (2002). Changes in anti-nutrients, protein solubility, digestibility, and HCl-extractability of ash and phosphorus in vegetable peas as affected by cooking methods. *Food Chem.* 77(2) :187–192.
- Hagen, S.F., Borge, G.I.A., Solhaug, K.A., Bengtsson, G.B. (2009). Effect of cold storage and harvest date on bioactive compounds in curly kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). *Postharvest Biol. Technol.* 51(1) : 36–42.
- Halliwell, B. (2012). The antioxidant paradox: less paradoxical now? *Brit J Clin Pharmacol.*, 75:637–644
- Hamouz, K., Lachman, J., Pazderu, K., Tomášek, J., Hejtmánková, K., Pivec, V. (2011). Differences in anthocyanin content and antioxidant activity of potato tubers with different flesh color. *Plant Soil Environ.*, 57 : 478–485
- Harris, S., Brunton, N., Tiwari, U., Cummins, E. (2015). Human exposure modelling of quercetin in onions (*Allium cepa* L.) following thermal processing. *Food Chem.*, 187:135–139.
- Hayes, J.E., Stepanyan, V., Allen, P., O'Grady, M.N., Kerry, J.P. (2011). Evaluation of the effects of selected plant-derived nutraceuticals on the quality and shelf-life stability of raw and cooked pork sausages. *LWT Food Sci Technol.*, 44:164–172
- Hebi, M., Eddouks, M. (2016). Evaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytother.*, 14(1) :17–22
- Heinrich, M., Teoh, H.L., (2004). Galanthamine from snowdrop – the development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge. *J. Ethnopharmacol.*, 92(2-3):147–162.
- Helmja, K., Vaher, M., Gorbatsova, J., Kaljurand, M. (2007). Characterization of bioactive compounds contained in vegetables of the Solanaceae family by capillary electrophoresis. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences Chemistry*, 56(4): 172–186
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothér.*, 1:3-6.
- Henning, S.M., Yang, J., Hsu, M., Lee, R.P., Grojean, E.M., Ly, A., Tseng, C.H., Heber, D., Li, Z. (2017). Decaffeinated green and black tea polyphenols decrease weight gain and alter microbiome populations and function in diet-induced obese mice, *Eur. J. Nutr.* 1– 11
- Heo, H.J., Kim, M.J., Lee, J.M., Choi, S.J., Cho, H.Y., Hong, B., Kim, H.K., Kim, E., Shin, D. H. (2004). Naringenin from *Citrus junos* has an inhibitory effect on acetylcholinesterase and a mitigating effect on amnesia. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 17: 151–157

- Hertog ,M.G., Hollman, P.C.H., Katan, M. (1992). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables of 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.*, 40 :2379–2383.
- Hervert-Hernandez, D., Garcia, OP, Rosado, J.L., Goni, I.(2011). The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet : importance of fruit and vegetable variety . *Food Res. Int.*, 44 : 1182–1189.
- Hesam, F., Balali, G.R., Tehrani, R.T. (2012). Evaluation of antioxidant activity of three common potato (*Solanum tuberosum*) cultivars in Iran. *Avicenna J Phytomed.*,2:79–85.
- Holzwarth,M., Korhummel,S., Carle, R., Kammerrer, D.R. (2012). Impact of enzymatic mash maceration and storage on anthocyanin and color retention of pasteurized strawberry purées. *Eur.Food Res Technol.*,234 : 207– 222
- Houghton, P.J., Ren, Y., Howes, M.J. (2006). Acetylcholinesterase inhibitors of plant and fungi. *Nat. Prod. Rep.*, 23:181-199
- Howard, L.R. ,Talcott, S.T. ,Brenes, C.H. ,Villalon B (2000). Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *J. Agric. Food Chem.*, 48 : 1713–1720
- Hwang, I.G., Shin, Y.J., Lee, J., Yoo, S.M.(2012). Effect of different cooking methods on the activity properties of red pepper(*Capsicum annuum* L.). *Prev. Nutr. Food Sci.*, 17 : 286– 292.
- Ignat I., Volf I., Popa V.I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.* 126: 1821–1835
- Im, H.,Suh, B., Lee, S., Kozukue, N., Ohnisi-Kameyama, M., Levin, C., Friedman, M. (2008). Analysis of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography/mass spectrometry in potato plant flowers, leaves, stems, and tubers and in home-processed potatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 56 : 3341–3349.
- Inoue, T., Tsubaki, S., Ogawa, K., Onishi, K., Azuma, J.I.(2010). Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. *Food chem.*, 123 : 542–547.
- Irakli, M.N., Samanidou, V.F., Biliaderis, C.G., Papadoyannis, I.N. (2012). Development and validation of an HPLC-method for determination of free and bound phenolic acids in cereals after solid-phase extraction. *Food Chem.*, 134: 1624–1632.
- Ismail, A., Marjan, Z.M., Foong, C.W. (2004).Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chem.*,87: 581–586.
- Jagerstad, M., Skog, K. (2005). Genotoxicity of heat-processed foods. *Mutat Res*, 574 :156–172.
- Jastrzebski, Z. , Leontowicz, H., Leontowicz ,M., Namiesnik ,J., Zachwleja, Z., Barton, H, *et al.*, (2007).The bioactivity of processed garlic (*Allium sativum* L.) as shown *in vitro* and *in vivo* studies on rats. *Food Chem.Toxicol.*, 45:1626–1633.
- Jawad, A., Langrish ,T.A.G. (2012). Optimisation of total phenolicacids extraction from mandarin peels using microwave energy: the importance of the Maillard reaction. *J. Food Eng.*,109(1) :162–174.
- Jiang, G.H., Kim, Y.M., Nam, S.H., Yim, S.H., Eun, J.B. (2016) Enzymatic browning inhibition and antioxidant activity of pear juice from a new cultivar of Asian pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Sinhwa) with different concentrations of ascorbic acid. *Food Sci. Biotechnol.*, 25(1): 153–158.
- Jiang, Y.M., Duan, X.W., Joyce, D., Zhang, Z.Q., Li, J.R.(2004). Advances in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruit. *Food Chem.*, 88: 443– 446.
- Jiménez-Monreal, A.M., Garcia-Diaz, L., Martinez-Tomé, M., Mariscal, M., Murcia, M.A. (2009). Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *J. Food Sci.* 74 :H97–H103
- Jin, C.H., Shin, E.J., Park, J.B., Jang, C.G., Li, Z., Kim, M.S., Koo, K.H., Yoon, H.J., Park, S.J., Choi, W.C., Yamada, K., Nabeshima, T., Kim, H.C. (2009). Fustin flavonoid attenuates b-amyloid (1-42)-induced learning impairment. *J Neurosci Res*, 87: 3658–3670.
- Jovanovic, A., Dordevic, V.B., Zdunic, G.M., Branko, B. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat-and ultrasound-assisted techniques. *Sep Purif Technol*, 179: 369-380.
- Jung, H., Lee, S., Kim, J., Lee, K.J., Chung, Y.C.(2007). Quantitative electroencephalography and low resolution electromagnetic tomography imaging of Alzheimer’s disease. *Psychiatry Investig.*, 4:31–37.

- Jung, J.K., Lee, S.U., Kozukue, N., Levin, C., Friedman, M. (2011). Distribution of phenolic compounds and antioxidative activities in parts of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) plants and in home processed roots. *J. Food, Compos. Anal.*, 24(1):29-37
- Kalita, D., Jayanty, S.S. (2014). Comparison of Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Colored Potato Tubers, Pomegranate and Blueberries. *J Food Process Technol.*, 5(8): 1–7.
- Kalt, W. (2005). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *J. Food Sci.*, 70: R11–R19
- Kammerer, D., Carle, R., Schieber, A. (2004). Quantification of anthocyanins in black carrot extracts (*Daucus carota* ssp. *Sativus* var. *atrorubens* Alef.) and evaluation of their color properties. *Eur. Food Res. Tech.*, 219 : 479–486 .
- Kammoun, R., Farhat, A., Chouayekh, H., Bouchaala, K., Bejar, S. (2011). Phytase production by *Bacillus subtilis* US417 in submerged and solid state fermentations. *Ann Microbiol.* 62(1):155-164
- Karmas, E., Harris, R.S. (1988). Nutritional Evaluation of Food Processing, third ed Van Nostrand Reinhold, New York.
- Katalinic, M., Rusak, G., Barovic, J.D., Sinko, G., Jelic, D., Antolovic, R., Kovarik, Z. (2010). Structural aspects of flavonoids as inhibitors of human butyrylcholinesterase. *Eur. J. Medicinal Chem.* 45(1): 186-192.
- Kaulman, A., Bohn, T. (2014). Carotenoids inflammation and oxidative stress-implications of cellular signalling pathways and relation disease prevention. *Nutr. Res.* 34(11): 907-929.
- Kaur, C., Nagal, S., Nishad, J., Kumar, R., Sarika, I. (2014). Evaluating eggplant (*Solanum melongena* L) genotypes for bioactive properties: a chemometric approach. *Food Res. Int.*, 60 : 205–211.
- Keller, I., Tukuitonga, C. (2007). The WHO/FAO Fruit and Vegetable Promotion Initiative. *Acta Hort.* 744:27-37.
- Kevin, L., Ellen, P., Emanuel, G., Leslie, T. Andy, H. (2005). Quercetin in onion after heat-treatment simulating home preparation. *J. Food Comp. Anal.* 18:571–581.
- Kevin, L., Ellen, P., Emanuel, G., Leslie, T. Andy, H. (2005). Quercetin in onion after heat-treatment simulating home preparation. *J. Food Comp. Anal.* , 18:571–581.
- Khan, M.T.H., Orhan, I., Senol, F.S., Kartal, M., Sener, B., Dvorska, M., Smejkal, K., Slapetova, T. (2009). Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies. *Chem. Biol. Interact.* 181 : 383 – 389.
- Kim, A. N., Kim, H. J., Kerr, W. L., Choi, S. G. (2017). The effect of grinding at various vacuum levels on the color, phenolics, and antioxidant properties of apple. *Food Chem.*, 216 :234–242
- Kitamura, S. (2006). Transport of flavonoids: From cytosolic synthesis to vacuolar accumulation. In Grotewold, E., Science of Flavonoids, Ed. Springer, Berlin, Germany: 123–146
- Kondo, S., Tsuda, K., Muto, N., Ueda, J. (2002). Antioxidative activity of apple skin or fresh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. *Sci. Hort.*, 96: 177–185.
- Kratchanova, M., Pavlova, K.W., Panchev, I. (2004). The effect of microwave heating of fresh orange peels on fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydr Polym.*, 56(2) : 181–185.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Griel, A. E., Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med.*, 113:71-88.
- Lachman, J., Hamouz, K., Sulc, M., Pivec, V., Hejmankova, A., Dvorak, P. and Cepl, J. (2009). Cultivar differences of total anthocyanins and anthocyanidins in red and purple coloured potatoes and their relation to antioxidant activity. *Food Chem.*, 114:836–843.
- Lako, J., Trenerry, V.C., Wahlqvist, M., Wattanapenpaiboon, N., Sotheeswaran, S., Premier, R. (2007) Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chem.*, 101: 1727–1741.
- Le Bourvellec, C., Gouble, B., Bureau S., Reling, P., Bott, R., Ribas-Agusti, A., Audergon, J.M., Renard, C.M.G.C. (2018). Impact of canning and storage on apricot carotenoids and polyphenols. *Food Chem.*, 240,615-625.

- Lee, A.H, Tan L, Hiramatsu N, Ishisaka A, Alfonso H, Tanaka A, Uemura N, Fujiwara Y, Takechi R (2016). Plasma concentrations of coffee polyphenols and plasma biomarkers of diabetes risk in healthy Japanese women. *Nutr. Diabetes* 6: e212.
- Lee, K.A., Kim, K.T., Kim, H.J., Chung, M.S., Chang, P.S., Park, H., Pai, H.D.(2014).Antioxidant activities of onion (*Allium cepa* L.) peel extracts produced by ethanol, hot water, and subcritical water extraction . *Food Sci. Biotechnol.*, 23(2), 615.
- Lee, S.U., Lee, J.H., Choi, S.H., Lee, J.S., Ohnisi-Kameyama, M., Kozukue, N., Levin. C.E., Friedman, M. (2008). Flavonoid content in fresh, home-processed, and light-exposed onions and in dehydrated commercial onion products. *J. Agric. Food Chem.*, 56:8541–8548
- Lee, S.H., Kim, K.R., Ryu,S.Y., Son, S., Hong, H.S., MookJung, I., Lee, S.H., Ho, W.K. (2012). Impaired short-term plasticity in mossy fiber synapses caused by mitochondrial dysfunction of dentate granule cells is the earliest synaptic deficit in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.*, 32:5953–5963
- Lemos, M. A., Aliyu, M. M., Hungerford, G. (2015). Influence of cooking on the levels of bioactive compounds 472 in Purple Majesty potato observed via chemical and spectroscopic means. *Food Chem.*, 173:462-467.
- Lia, X., Chena, F., Lia, S., Jiab, J., Guc, H., Yanga, L. (2016). An efficient homogenate-microwave-assisted extraction of flavonols and anthocyanins from blackcurrant marc: Optimization using combination of plackett Burmann design and Box-Behnken design. *Ind Crop Prod.* 94(30): 834–847.
- Ligor, M., Buszewski, B. (2012). Study of xanthophylls concentration in spinach leaves by means of HPLC coupled with UV-VIS and Corona CAD detectors. *Food Anal. Method.*, 5 : 388– 395.
- Lima, G.P.P., Da Rocha, S.A., Takaki, M., Ramos, P.R.R., Ono, E.O.(2008). Comparaison of polyamine, phenol and flavonoid contents in plants grown under conventional and organic methods. *Int.J. Food Sci. Technol.*, 43(10) : 1838– 1843.
- Lin, C. H.,Chang, C. Y. (2005).Textural change and antioxidant properties of broccoli under different cooking treatments. *Food Chem.*, 90(1–2) : 9–15.
- Liu, R., Wu, C.X., Zhou, D., Yang, F., Tian, S., Zhang, L., Zhang, T.T., Du, G.H.(2012). Pinocembrin protects against β -amyloid-induced toxicity in neurons through inhibiting receptor for advanced glycation end products (RAGE)-independent signaling pathways and regulating mitochondrion-mediated apoptosis. *BMC Med.*, 10, 105.
- Liu,R., Li,J.Z., Song,J.K., Zhou,D., Huang, C., Bai, X.Y., Xie,T., Zhang,X., Li,Y.J., Wu,C.X.(2014). Pinocembrin improves cognition and protects the neurovascular unit in Alzheimer related deficits. *Neurobiol Aging*, 35 :1275– 1285
- Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F. (2005). Antioxidant activity of commercial soft and hard wheat (*Triticum aestivum* L.) as affected by gastric pH conditions. *J.Agric.Food Chem.*, 53 :2433–2440.
- Lo Scalzo, R. Fibiani, M., Mennella ,G., Rotino, G.L., Dal Sasso, M., Culici, M., Spallino, A., Brag ,P.C. (2010). Thermal treatment of eggplant (*Solanum melongena* L.) increases the antioxidant content and the inhibitory effect on human neutrophil burst. *J.Agric. Food Chem.*, 58:3371–3379.
- Lo Scalzo, R., Fibiani, M., Francese, G., D'Alessandro, A., Rotino, G. L., Conte, P., Mennella, G. (2016). Cooking influence on physico-chemical fruit characteristics of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Food Chem.* 194 : 835–842.
- Loizzo, M.R., Puglisse, A., Bonesi, M., De Luca, D., O'Brien, N., Menichini ; F., Tundis, R. (2013). Influence of drying and cooking process on the phytochemical content , antioxidant and hypoglycaemic properties of two bell *Capsicum annum* L.cultivars. *Food chem. Toxicol.*, 53 :392–401.
- Lopez, S., Bastida, J., Viladomat, F., Codina, C. (2002). Acetylcholinesterase• inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and *Narcissus* extracts. *Life Sci.*, 71(21):2521–2529
- López-Cobo ,A., Gómez-Caravaca, A., Cerretani, L., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2014). Distribution of phenolic compounds and other polar compounds in the tuber of *Solanum tuberosum* L. by HPLC-DAD-Q-TOF and study of their antioxidant activity. *J. Food Comp. Anal.*, 36:1–11.

- Lu, X., Wang, J., Al-Qadri, H.M., Ross, C.R., Powers, J.R., Tang, J., Rasco, B.A. (2011). Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. *Food Chem.*, 129, 637–644.
- Macheix, J. Fleuriet, A. (1998). Phenolics acids in Fruits. In C; A. Rice-Evans et L.Packer, (ed). *Flavonoids in Health and Disease*. N.Y.Marce Dekker, Inc., New –York,USA : 35-60.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., Billot, J. (1990). Fruit phenolics. Boca Raton, FL: CRC Press, USA, : 101–126.
- Mahn, A., Reyes,A. (2012).An overview of health-promoting compounds of broccoli (Brassica oleracea var.italica)and the effect of processing. *Food Sci. Technol.Int.* ,18(6) :503–514.
- Majid, I., Dhatt, A.S., Sharma, S., Nayik, G. A., Nanda, V. (2016). Effect of sprouting on physicochemical, antioxidant and flavonoid profile of onion v arieties. *Int J Food Sci Technol*, 51 :317–324.
- Makris, D.P. , Rossiter, J.T. (2000). Heat-induced, metal-catalyzed oxidativedegradation of quercetin and rutin (quercetin 3-Orhamnosylglucoside)in aqueous model systems. *J Agric Food Chem.*, 48:3830–3838
- Makris, D.P., Rossiter, J.T. (2001) Domestic processing of onion bulbs (*Allium cepa*) and Asparagus spears (*Asparagus officinalis*): effect on flavonol content and antioxidant status. *J Agric Food Chem.* ,49(7): 3216–3222
- Malenčić, D., Cvejić, J., Miladinović, J.(2012). Polyphenol content and antioxidant properties of colored soybean seeds from central Europe. *J Med Food.* , 15(1):89– 95.
- Manach, C., Scalbert,A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L.(2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J.Clin. Nutr.*,79:727–747.
- Manohara, C.M ., Xue, J., Murayyan ,A., Neethirajan, S. (2017) Antioxidant activity of polyphenols from Ontario grown onion varieties using pressurized low polarity water technology. *Shi J.*,31 :52–62.
- Marin ,A., Ferreres, F., Tomás Barberán, F.A., Gil, M.(2004). Characterization and quantization of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.).*J Agric. Food Chem.* 52(12):3861–3869.
- Marquès, L., Fleuriet, A. , Macheix, J.J.(2003). Brunissement enzymatique. Importance des polyphénols, des polyphénoloxydases et des peroxydases. *In: Les polyphénols en agroalimentaire*. Sarni-Manchado, P. ,Cheynier V. (eds). Paris, Lavoisier, 135–172.
- Marqués, L., Fleuriet, A. , Macheix, J.J. (1995). Fruit polyphenol oxidases. New data on an old problem. In *Enzymatic browning and its prevention*. Edited by: Lee, C. Y. and Whitaker, J. R Washington: ACS Symposium Series 600:90–102.
- Martinez, K.B., Mackert, J.D., McIntosh, M.K. (2017). Chapter 18— polyphenols and intestinal health. In: Watson RR ,*Nutrition and functional foods for healthy aging*, 1st Ed. Academic Press, London : 191–210.
- Massaretto, I.L., Alves , M.F.M., de Mira, N.V.M., Carmona, A.K. ,Marquez, U.M.(2011). Phenolic compounds in raw and cooked rice (*Oryza sativa* L.) and their inhibitory effect on the activity of angiotensin I-converting enzyme. *J. Cereal Sci.*,54 : 236–240.
- Materska, M.(2014). Bioactive phenolics of fresh and freeze-dried sweet and semi-spicy pepper fruits (*Capsicum annuum* L.).*J. Funct. Food*, 7 : 269 – 277.
- Materska, M., Perucka ,I .(2005) Antioxidant Activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *J. Agric. Food Chem.* ,53:1750-1756
- Mattson, M.P. (2004).Pathways towards and away from Alzheimer’s disease. *Nature* ,430: 631–639.
- Mazzeo, T., N’Dri, D., Chiavaro, E., Visconti, A., Fogliano, V., Pellegrini, N. (2011).Effect of two cooking procedures on phytochemical compounds,total antioxidant capacity, and colour of selected frozen vegetables.*Food Chem.* ,128: 627-633.
- McGee, H. (1991). *ON FOOD AND COOKING - The Science and Lore of the Kitchen*. SCRIBNER, First edition, USA.
- McKillop,D.J, Pentieva, K. , Daly, D. , McPartlin, J.M. , Hughes, J. , Strain, J.J. , Scott, J.M. , McNulty H. (2002).The effect of different cooking methods on folate retention in various foods that are amongst the major contributors to folate intake in the UK diet. *Br. J. Nutr.*, 88 (6) : 681–688.

- Mehinagic, E., Bourles, E., 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.
- Mehta, M., Adem, A., Sabbagh, M. (2012). New acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Int J Alzheimers Dis.*:728983
- Menichini, F., Tundis, R., Bonesi, M., Loizzo, M.R., Conforti, F., Statti, G., de Cindio, B., Houghton, P.J., Menichini, F. (2009). The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity *Capsicum chinense* Jacq. Cv Habanero. *Food chem.*, 114: 553– 560.
- Mennella, G., Lo Scalzo, R., Fibiani, M., D'Alessandro, A., Francese, G., Toppino, L., Acciarri, N. de Almeida, A.E., Rotino, G.L. (2010) Characterization of Health-Related Compounds in Eggplant (*Solanum melongena* L.) Lines Derived from Introgression of Allied Species. *J. Agric. Food Chem.*, 58: 7597–7603.
- Meyer, A.S., Dam, B.R., Laerke, H.N. (2009). Enzymatic solubilization of pectinaceous dietary fiber fraction from potato pulp: optimization of the fiber extraction process. *Biochem. Eng. J.*, 43 (1):106–112.
- Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev.*, 52:673–751
- Miean, K.H., Mohamed, S. (2001). Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *J Agric Food Chem.*, 49:3106–12
- Miglio, C., Chiavaro, E., Visconti, A., Fogliano, V., Pellegrini, N. (2008). Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. *Agric Food Chem.*, 56: 139-147
- Mokhtar, M., Soukup, J., Donato, P., Cacciola, F., Dugo, P., Riazi, A., Jandera, P., Mondello, L. (2014). Determination of the polyphenolic content of a *Capsicum annum* L extract by liquid chromatography coupled to photodiode array and mass spectrometry detection and evaluation of its biological activity. *J. Sep. Sci.*, 37:1–25.
- Monero, D.A., Perez-Balibrea, S., Ferreres, F., Gil-Izquierdo, A., García-Viguera, C. (2010). Acylated anthocyanins in broccolis prouts. *Food Chem.* 123 (2) :358–363.
- Montoro, P., Tuberoso, C.I.G., Piacente, S., Perrone, A., De Feo, V., Cabras, P.C. (2006). Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur. *J Pharm Biomed*, 41(5) : 1614-1619
- Mukherjee, P.K., Ahamed, K.F., Kumar, V., Mukherjee, K., Houghton, P.J. (2007). Protective effect of biflavones from *Araucaria bidwillii* Hook in rat cerebral ischemia/reperfusion induced oxidative stress. *Behav Brain Res.*, 178 :221–228.
- Mulinacci, N., Ieri, F., Giaccherini, C., Innocenti, M., Andrenelli, L., Canova, G., Saracchi, M., Casiraghi, M. C. (2008). Effect of cooking on the anthocyanins, phenolic acids, glycoalkaloids, and resistant starch content in two pigmented cultivars of *Solanum tuberosum* L. *J. Agric. Food Chem.*, 56(24):11830–11837.
- Myer, R.H., Montgomery, D.C. (2002). *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments*, Wiley, New York.
- Nantakornsutthan, N., Thuphairo, K., Kukreja, R.K., Charoenkiatkul, S. and Suttisansanee, U (2016) Anti-cholinesterase inhibitory activities of different varieties of chili peppers extracts. *Inter. Food Res. J.*, 23(5): 1953-1959
- Navarre, D. A., Shakya, R., Holden, M., Kumar, S. (2010). The effect of different cooking methods on phenolics and vitamin C in developmentally young potato tubers. *Am. J. Potato Res.*, 87(4):350-359
- Ndiaye, C., Xu, S.Y., Wang, Z. (2009). Steam blanching effect on polyphenol oxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. *Food Chem.*, 113(1) : 92– 95.
- Nencini, C., Cavallo, F., Capasso, A., Franchi, G.G., Giorgio, G., Micheli, L. (2007). Evaluation of antioxidative properties of *Allium* species growing wild in Italy. *Phytother. Res.* 21 : 874– 878
- Ng, A., Lecain, S., Parker, M.L., Smith, A.C., Waldron, K.W. (1999). Modification of cell-wall polymers of onion waste III. Effect of extrusion-cooking on cell-wall material of outer fleshy tissues. *Carbohydr. Polym.*, 39: 341–349

- NICE Technology Appraisal Guidance(2011). Donepezil, Galantamine, Rivastigmine and Memantine for the Treatment of Alzheimer's Disease Vol. 217. UK
- Nicoli, M.C., Anese, M., Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Sci Technol.*, 10 :94–100.
- Ninfalli ,P., Mea, G., Giorgini,S., Rocchi, M., Bacchiocca , M.(2005). Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *Br. J. Nutr.*, 93 :257–266
- Niño-Medina, G., Urías-Orona,V., Muy-Rangel, M.D. ,Heredia, J.B. (2017). Structure and content of phenolics in eggplant (*Solanum melongena*) - a review. *S. Afr. J. Bot.*, 111 : 161-169
- NunesTavares, N., Santos, L.E., Stutz, B., BritoMoreira, J., Klein, W.L., Ferreira, S.T., de Mello,F.G. (2012). Inhibition of choline acetyltransferase as a mechanism for cholinergic dysfunction induced by amyloid-peptide oligomers. *J Biol Chem.* ,287:19377–19385.
- Oboh, G., Puntel, R.L., Rocha, J.B.T. (2007) “Hot pepper (*Capsicum annuum*, Tepin and *Capsicum chinese*, Habanero) prevents Fe²⁺-induced lipid peroxidation in brain—in vitro” *Food Chem.*,102:178–185
- Oboh, G., Rocha, J.B.T. (2007). Distribution and antioxidant activity of polyphenols in ripe and unripe tree pepper (*Capsicum pubescens*). *J. Food Biochem.*, 31: 456–473.
- Ogunraku, O.O., Oboh, G., Ademosun, A.O.(2014). Water extractable phytochemicals from peppers (*Capsicum spp.*) inhibit acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities and prooxidants induced lipid peroxidation in rat brain in vitro. *Int.J. Food Sci*, 605–618.
- Orhana, I., Nazb, Q., Kartalc, M., Tosuna, F., Senera, B. , Choudharyb, M. I. (2007). *In vitro* anti-cholinesterase activity of various alkaloids. *Zeitschrift für Naturforschung*, C62(9-10): 684–688
- Ornelas-Paz, J.J., Martinez-Burrola,J.M., Ruiz-Cruz, S., Santana-Rodriguez, V., Ibarra-Junquera,V., Olivas, G.I., Pérez-Martinez, J.D. (2010). Effect of cooking on the capsaicinoids and phenolics contents of Mexican peppers. *Food chem.*, 119 (4): 1619– 1625.
- Orsák, M., Lachman, J., Vejdová, M., Pivec, V., Hamouz, K. (2001). Changes of selected secondary metabolites in potatoes and buckwheat caused by UV, γ - and microwave Irradiation. *Rostl. Výr.*, 47(11):493–500.
- Ouchemoukh, A.N., Madani, K., Falé, P.L.V, Serralheiro, M.L., Araújo, M.E.M., (2014). Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. *Ind. Crop. Prod.*, 53: 6–15.
- Oviasogie, O.P., Okoro, D. (2009). Ndiokwere CL. Determination of total phenolic amount of some edible fruits and vegetables. *Afr J Biotechnol.*,8: 2819–2820.
- Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R.(2011). The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *Trac-Trend. Anal. Chem.*, 30(4):652-664
- Palazas, M., Andújar , I., Vilanova, S., Hurtado, M., Gramazio, P., Herraiz, F.J. Prohens, J.(2013). Breeding for chlorogenic acid content in eggplant: interest and prospects. *Bot Horti Agrobo*, 41:26–35.
- Palermo, M., Pellegrini, N., Foglianoc, V. (2014). Effect of cooking on vegetable phytochemicals ,*J Sci Food Agric*, 94:1057–107.
- Parr, A.J., Bolwell, G.P. (2000). Phenols in plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J. Sci. Food Agric.* , 80: 985–1012.
- Pedraza-Chaverrí, J., Reyes-Fermín, L .M., Nolasco-Amaya, E.G., Orozco-Ibarra, M., Medina-Campos, O.N., González-Cuahutencos, O., Rivero-Cruz, I., Mata, R.(2009). ROS scavenging capacity and neuroprotective effect of α -mangostin against 3-nitropropionic acid in cerebellar granule neurons. *Exp Toxicol Pathol.*,61 :491–501.
- Perla, V., Holm, D.G. , Jayanty,S. (2012). Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. *LWT* ,45(2):161–171.
- Perron, N.R., Brumaghim,J.L. (2009). A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell. Biochem. Biophys.*, 53 : 75– 100
- Pincemail, J., Degruene, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, C., Defraigne, J. (2007). Effet d’une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutr. Clin. Métabol.* ,21:66–75.

- Pinhoa, B. R., Ferrere, F., Valentão, P., Andrade, P.B.(2013) Nature as a source of metabolites with cholinesterase-inhibitory activity: an approach to Alzheimer's disease treatment Royal Pharmaceutical Society, *J. Pharm. and Pharmacol.*, 65: 1681–1700.
- Plackett, R.L., Burman, J.P. (1946). The Design of Optimum Multifactorial Experiments. *Biometrika*, 33(4):305-325
- Preti, R., Rapa, M., Vinci, G.(2017). Effect of Steaming and Boiling on the Antioxidant Properties and Biogenic Amines Content in Green Bean (*Phaseolus vulgaris*) Varieties of Different Colours. *J. Food Qual.* :1-8
- Prins, N.D., van der Flier, W.A., Knol, D.L., Fox, N.C., Brashear HR, Nye JS, Barkhof F, ScheltensP (2014). The effect of galantamine on brain atrophy rate in subjects with mild cognitive impairment is modified by apolipoprotein E genotype: Post-hoc analysis of data from a randomized controlled trial. *Alzheimers Res Ther.* ,6, 47.
- Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K.,(2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agr. Food Chem.*, 53: 4290–4302.
- Raigón ,M.D., Rodríguez-Burruezo, A., Prohens ,J. (2010). Effects of organic and conventional cultivation methods on composition of eggplant fruits. *J.Agr.Food Chem.*, 58(11), 6833–6840.
- Raigón, M.D., Prohens, J., Muñoz-Falcón, J.E., Nuez, F.(2008). Comparison of eggplant landraces and commercial varieties for fruit content of phenolics, minerals, dry matter and protein. *J. Food Compos Anal.*, 21: 370–376.
- Rakcejeva, T., Augspole, I., Dukalska, L., Dimins, F. (2012). Chemical composition of variety 'Nante' hybrid carrots cultivated in Latvia. *J. World Acad. Sci. Eng. Technol.* :1120–1126.
- Ramírez-Anaya, J., Samaniego-Sánchez, C., Castañeda-Saucedo, M.C., Villalón-Mir, M., de la Serrana, H.L. (2015). Phenols and the antioxidant capacity of Mediterranean vegetables prepared with extra virgin olive oil using different domestic cooking techniques. *Food Chem.* 188:430-438
- Ravichandran, K., Saw, N.M.M.T., Mohdaly, A.A.A., Gabr, A.M.M., Kastell, A., Riedel, H., Cai, Z., Knorr, D., Smetanska, I.(2012). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Res. Int.*, 50 : 670–675.
- Raza, A., Li, F., Xu, X., Tang, J. (2017). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant polysaccharides from the stem of *Trapa quadrispinosa* using response surface methodology. *Int. J. Biol. Macromol.* , 94 : 335–344.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A. Yang, M., Rice- Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med* , 26 (9-10) :1231
- Reddy, L.V.A. , Wee, Y.J., Yun, J. S., Ryu, H.W.(2008). Optimization of alkaline protease production by batch culture of *Bacillus* sp. RKY3 through Plackett-Burmann and response surface methodological approaches. *Bioresour. Technol.*, 99(7): 2242–2249
- Ren, F., Reilly, K., Gaffney, M., Kerry, J. P., Hossain, M. and Rai, D. K. (2017) 'Evaluation of polyphenolic content and antioxidant activity in two onion varieties grown under organic and conventional production systems'. *J.Sci. Food Agric.*, 65 (25):5122–5132
- Rhild, B.R., Chabot, S., Piché, Y., Chenevert, R. (1992). Isolation and identification of flavonoids from Ri-T-DNA transformed roots (*Daucus carota*) and significance in vesicular-arbuscular mycorrhiza, *Phytochem.* 33 :1369– 1371.
- Rhodes, M. J. C., Price, K. R. (1997). Identification and analysis of plant phenolic antioxidants. *Eur. J. Cancer Prev*, 6(6): 518–521.
- Rocca-Polimeni, R.(2009). Contribution à la compréhension de la cuisson domestique sous pression de vapeur. Etude expérimentale et modélisation des transferts, de l'évolution de la texture des légumes et du fonctionnement d'un autocuiseur. Thèse de Doctorat de l'AgroParisTech. Option Génie des Procédés. Département des Sciences et Procédés des Aliments et Bioproduits (SPAB). UFR de Génie Industriel Alimentaire (GIA), 286.
- Rocchetti,G., Lucini, L., Chiodelli, G., Guiberti, G., Montesano, D., Masoero, F., Trevisan, M. (2017).Impact of boiling on free and bound phenolic profile and antioxidant activity of commercial gluten-free pasta .*Food Res. Int.*,100(2) :69-77

- Rodríguez Galdón ,B., Rodríguez Rodríguez, E.M., Díaz Romero, C.(2008). Flavonoids in onion cultivars (*Allium cepa* L.) . *J Food Sci.* ,73(8),C599-605.
- Rodríguez Galdón, B., Rodríguez Rodríguez, E. M., Díaz Romero, C. (2008).Flavonoids in onion cultivars (*Allium cepa* L.). *J. Food Sci.*, 73,C599–C605.
- Rosenthal A.J. (2016). Cooking: Domestic Techniques In Caballero, B. Finglas, P. ,Toldra, F. Encyclopedia of Food and Health, Academic press Elsevier: 316-320
- Rothwell, J.A., Medina-Remon, A.,Pérez-Jiménez, J., Neveu, V., Knaze, V., Slimani, N. Scalbert, A. (2015).Effects of food processing on polyphenol contents: A systematic analysis using Phenol-Explorer data. *Mol. Nutr. Food Res.*, 59 : 160–170
- Roy, M. K., Takenaka, M., Isobe, S., Tsushida, T. (2007). Antioxidant potential, antiproliferative activities, and phenolic content in water-soluble fractions of some commonly consumed vegetables: Effects of thermal treatment. *Food Chem.*,103 :106–114.
- Rufián-Henares,, J.A., Pastoriza S. (2016). Maillard Reaction. Reference Module in Food Science. Encyclopedia of Food and Health, Academic press Elsevier : 593–600
- Rumbaoa, R.G.O., Cornago, D.F., Geronimo, I.M. (2009). Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (*Solanum tuberosum*) tubers. *J Food Compos Anal.* ,22:546–550.
- Rytel, E., Tajner-Czopek, A., Kita, A., Kucharska, A. Z., Sokół-Łętowska, A., Hamouz, K. (2017). Content of anthocyanins and glycoalkaloids in blue-fleshed potatoes and changes in the content of α -solanine and α -chaconine during manufacture of fried and dried products. *Int J Food Sci Technol*:1365-2621
- Rytel, E., Tajner-Czopek,A., Kita, A., Aniolowska, M.,Kucharska,A.Z.,Sokol-Letowska,A., Hamouz,A.(2014).Content of polyphenols in coloured and yellow fleshed potatoes during dices processing. *Food Chem.*, 161:224-229.
- Ryu, H.W., Curtis-Long, M.J., Jung, S., Jeong, I.Y., Kim, D.S., Kang, K.Y., Park, K.H. (2012). Anticholinesterase potential of flavonols from paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*) and their kinetic studies. *Food Chem.*, 132(3): 1244–1250.
- Sadhukhan ,B., Mondal, N.K., Chatteraj, S.(2016). Optimisation using central composite design CCD and the desirability function for sorption of methylene blue from aqueous solution onto Lemna major. *Karbala Int. J. Mod. Sci.*, 2(3): 145–155.
- San José, R., Sánchez, M.C., Cámara, M.M., Prohens, J.(2013). Composition of eggplant cultivars of the occidental type and implications for their improvement of nutritional and functional quality. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 48 :2490–2499
- Sanguansri, P. (2016) . Traditional Thermal Processing. Academic press Elsevier.
- Santas, J., Carbó ,R., Gordon, M.H., Almajano, M.P. (2008): Comparison of the antioxidant activity of two Spanish onion varieties. *Food Chem.*, 107: 1210–1216.
- Santé-Lhoutellier,V., Astruc, T., Marinova, P., Grève, E., Gatellier, P. (2008). Effect of meat cooking on physicochemical state and in vitro digestibility of myofibrillar proteins. *J Agric Food Chem*, 56: 1488–1494
- Sawikr, Y., Yarla, N. S., Peluso, I., Kamal, M. A., Aliev, G., Bishayee, A. (2017). Neuroinflammation in Alzheimer’s disease: the preventive and therapeutic potential of polyphenolicnutraceuticals. *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.* ,108 : 33–57
- Schmitt-Schillig, S., Schaffer, S., Weber, C . C., Eckert, G.P., Muller, W.E. (2005). Flavonoids and aging brain
- Schmitt-Schillig, S., Schaffer, S., Weber, C.C., Eckert, G.P., Müller, W.E. (2005). Flavonoids and the aging brain. *J Physiol Pharmacol.*, 56:23–36
- Şengul, M., Yildiz, H. , Kavaz, A. (2014). The Effect of Cooking on Total Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of Selected Vegetables. *Int.J. Food Prop.*, 17(3): 481– 490.
- Shahidi, F. , Naczk, M. (1995). Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications Technomic Publishing Co. Inc Lancaster* :75–107.
- Shahidi, F., Yeo, J. (2016). Review Insoluble-Bound Phenolics in Food. *Molecules*, 21, 1216.

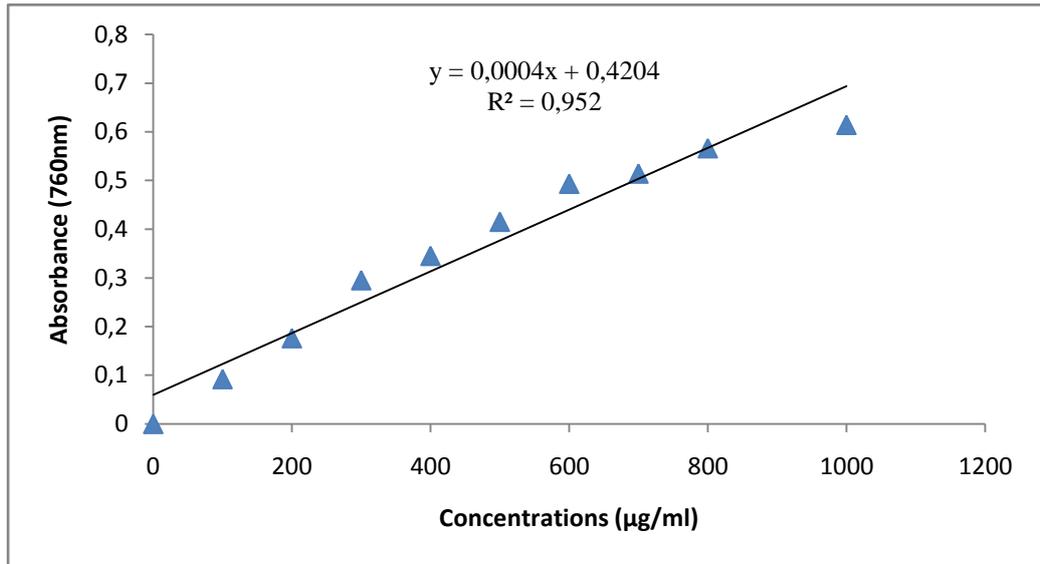
- Shaimaa, G.A., Mahmoud M.S., Mohamed ,M.R., Emam, A.A. (2016). Effect of heat treatment on phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activities of some Egyptian sweet and chilli pepper. *Nat. Prod. Chem. Res.* ,4 :218-223.
- Shakya, R., Navarre, D. (2006). Rapid screening of ascorbic acid, glycoalkaloids, and phenolics in potato using high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 54 :5253–5260
- Sharififar, F. , Moshafi ,M.H. , Mansouri ,S.H., Khodashenas, M. ,Khoshnoodi,M.(2007). In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss”. *Food Cont.*, 18(7): 800–805
- Sharma, K., Assefa, A.D., Kim, S., Ko, E.Y., Lee, E.T., Park, S.W. (2014). Evaluation of total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of 18 Korean onion cultivars: a comparative study. *J Sci Food Agric.* 94(8) :1521–9
- Sherman, S.J., Atri, A., Hasselmo, M.E., Stern, C.E., Howard, M.W. (2003) Scopolamine impairs human recognition memory: data and modeling. *Behav Neurosci*, 117: 526–539.
- Shetty, K. (2004). Role of proline linked pentose phosphate pathway in biosynthesis of plant phenolics for functional food and environmental applications : a review. *Process biochem.*, 39(7): 789–803.
- Shih, I., Van, Y., Chang, Y. (2002). Application of statistical experimental methods to optimize production of poly (γ -glutamic acid) by *Bacillus licheniformis* CCRC 12826. *Enzyme Microb. Technol.* 31 :213–220.
- Siddiq ,M., Roidoung ,S., Sogi, D.S., Dolan ,K.D. (2013). Total phenolic antioxidant properties and quality of fresh-cut onions (*Allium cepa* L.) treated with mild-heat. *Food Chem.*, 136: 803–806
- Sikora, E. , Borczak, B. (2014) Chapter 13 - Hydrothermal Processing on Phenols and Polyphenols in Vegetables A2 - Watson, Ronald Ross. In 'Polyphenols in Plants. Academic Press, San Diego : 241-257
- Singh ,S., Gupta, G. P., Kumar, B., U. C. (2014). Comparative study of indoor air pollution using traditional and improved cooking stoves in rural households of Northern India. *Energy Sust. Dev.* 19: 1–6
- Singh, M., Singh, P. and Shukla, Y. (2012). New strategies in cancer chemoprevention by phytochemicals. *Front. Biosci. (Elite Ed)*, 4:426–452.
- Slavin, J.L., Lloyd, B. (2012). Health benefits of fruits and vegetables. *Adv. Nutr.* 3(4) :506–516.
- Smith, D.S., Cash, J.N. , Wai-Kit N., Hui Y.H. (1997). Processing Vegetables: Science and Technology (first ed.), CRC Press :434
- Somsab ,W., Kongkachuichai, R., Sungpua, P., Charoensiri, R. (2008). Effects of three conventional cooking methods on vitamin C, tannin, myo-inositol phosphates contents in selected Thai vegetables. *J Food Comp Anal*, 21:187–197.
- Spigno, G., Tramelli, L., De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *J. Food Eng*, 81, 200-208
- Sramek, J.J., Frackiewicz, E.J., Cutler, N.R., (2000). Review of the acetylcholinesterase inhibitor galanthamine. *Expert Opin. Inv. Drug.*, 9(10):2393–2402
- Statsoft. Inc (2004) STATISTICA (data analysis software system) Version 7.0. www.statsoft.com
- Stea, T.H., Johansson, M., Jägerstad, M., Frølich, W. (2007). Retention of folates in cooked, stored and reheated peas, broccoli and potatoes for use in modern large-scale service systems. *Food Chem.* 101(3) :1095–1107
- Storey, M., Anderson, P., 2014. Income and race/ethnicity influence dietary fiber intake and vegetable consumption. *Nutr. Res.* 34(10) : 844–850.
- Sugimura, T. (2002) . Food and cancer. *Toxicol.* (181–182): 17–21
- Sultana, B., Anwar, F., Iqbal, S. (2008). Effect of different cooking methods on the antioxidant activity of some vegetables from Pakistan. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 43 : 560– 567.
- Sultana, M., Islam ,A.K.M.A., Rasul, M.G., Mian, M.A.K., Hossain, T. (2007). Estimation of correlation and path coefficients of seed yield contributing traits in onion (*Allium cepa* L.). *Indian J. Hort.*, 57 :329-333 .
- Szwajgier, D. (2013). Anticholinesterase activity of phenolic acids and their derivatives. *Z. Naturforsch C*, 68c:125–132.

- Szwajgier, D.(2015) Anticholinesterase activity of selected phenolic acids and flavonoids – interaction testing in model solutions . *Ann. Agric. Environ. Med.*, 22(4): 690–694.
- Szwajgier, D., Borowiec, K. (2012). Phenolic acids from malt are efficient acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. *J. Inst. Brew.* ,118: 40–48
- Tasca, A.P.W. (2007). Effect of industrial processing to obtaining the guava jam on the levels of antioxidant compounds and color . master's thesis, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, Brazil.
- Thoo, Y.Y., Ho, S.K., Liang, J.Y.,Ho, C.W.,Tan, C.P. (2010).Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food Chem.* , 120: 290–295.
- Tian, J., Chen, J., Ye, X., Chen, S.(2016). Health benefits of the potato affected by domestic cooking: A review. *Food Chem.*, 22:165–175.
- Tiwari, U., Cummins, E. (2013). Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and vegetables during pre-and post-harvest food processing operations. *Food Res.Int.*, 50(2):497–506.
- Tsanova-Savova, S., Ribarova, F. (2013) Flavonols and flavones in some Bulgarian plant foods. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 63(3):173–177
- Tsao , R., Yang, R., Xie, S., Sockovie, E., Khanizadeh, S. (2005). Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? *J. Agric. Food Chem.*, 53:4989–4995.
- Tsao, R., Li, H. (2013). Handbook of Plant Food Phytochemicals: Sources, Stability and Extraction. In Tiwari, B. K., Brunton N. P., Brennan C. S. Handbook of plant food phytochemicals, Eds. Hoboken, John Wiley & Sons Ltd : 434–451.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 2 : 1231-1246.
- Tudela, J.A. , Cantos, E., Espin, J.C., Tomás-Barberán, F.A, Gil ,M.I. (2002). Induction of Antioxinat Flavonol Biosynthesis in Fresh-Cut Potatoes. Effect of Domestic Cooking. *J. Agric. Food Chem.*, 50(21):5925–5931
- Turkmen, N., Sari, F.,Velioglu, Y.S. (2005).The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chem.*,93 : 713-718.
- Uchida, K., Tomita, H., Takemori, T., Takamura, H. (2017). Effects of Grilling on Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Eggplant (*Solanum melongena* L.). *J Food Sci.* 82(1) :202-206.
- United States Department of Agricultural (2003).
https://www.nass.usda.gov/Publications/Ag_Statistics/2003/index.php consulté le 16/06/2017
- United States Department of Agriculture–USDA (2011). USDA: Food Patterns. URL: [http://www.cnpp.usda.gov/sites/default/files/usda_food_patterns/USDA Food Patterns Summary Table.pdf](http://www.cnpp.usda.gov/sites/default/files/usda_food_patterns/USDA_Food_Patterns_Summary_Table.pdf) (accessed 18.01.15).
- Uriarte-Pueyo, I., Calvo, M.I.(2011). Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors. *Curr Med Chem*, 18: 5289– 5302.
- Uslu, N., Özcan, M. M.(2017). Effect of microwave heating on phenolic compounds and fatty acid composition of cashew (*Anacardium occidentale*) nut and oil. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, in press
- Vallejo, F., Tomas-Barberan, F.A., Garcia-Viguera, C.(2003). Phenolic compound contents in edible parts of broccoli inflorescences after domestic cooking. *J. Sci. Food Agric.*, 83(14):1511–1516.
- van Duynhoven, J., Vaughan, E.E. Jacobs, D.M., Kemperman, R.A., van Velzen, E.J., Gross, G., Roger, L.C., Possemiers,S. , Smilde, A.K., Dore, J., Westerhuis, J.A. , Van de Wiele, T. (2011) . Metabolic fate of polyphenols in the human superorganism. *Proc Natl Acad Sci USA* ,108(Suppl1):4531–4538.
- Vasudevan, M., Milind, P., Kalavathy, R.,Abu, B., Abdul,M. (2010).Anti-dementia potential of *Daucus carota* seed extract in rats. *Pharmacologie online* , 1:552–565
- Vauzour,D. (2014). Effect of flavonoids on learning, memory and neurocognitive performance : relevance and potential implications for Alzheimer's disease pathophysiology. *J.Sci. Food Agric.*, 94 :1042– 1056

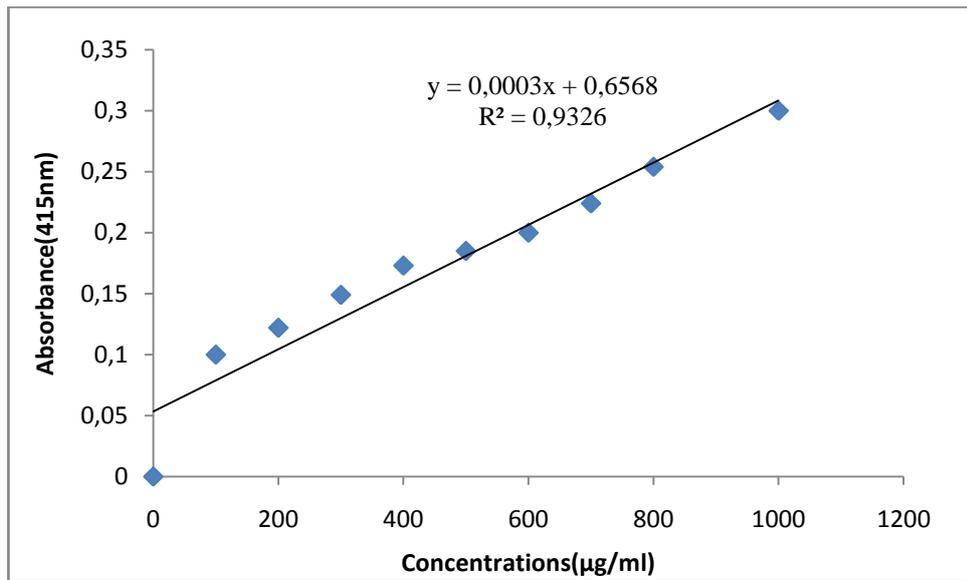
- Verkerk, R., Schreiner, M., Krumbein, A., Ciska, E., Holst, B., Rowland, I., De Schrijver, R., Hansen, M., Gerhäuser, C., Mithen, R., Dekker, M. (2009). Glucosinolates in Brassica vegetables: the influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Mol. Nutr. Food Res.* 53 : S219–S265
- Verma, U., Naik, J.B., Patil, J.S., Yadava, S. K. (2017). Screening of process variables to enhance the solubility of famotidine with 2-HydroxyPropyl- β -Cyclodextrin & PVP K-30 by using Plackett-Burman design approach. *Mater. Sci. Eng. C*, 77:282-292
- Vinson, A. J, Hontz, B.A. (1995). Phenol antioxidant index: comparative antioxidant effectiveness of red and white wines. *J. Agric. Food Chem.* 4 : 401-403.
- Vinson, J.A., Mandarano, M., Hirst, M., Trevithick, J.R., Bose, P. (2003). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: beers and the effect of two types of beer on an animal model of atherosclerosis. *J. Agric. Food Chem.*, 51 :5528–5533.
- Volf, I., Ignat, I., Neamtu, M., Popa, V.I. (2014). Thermal Stability, Antioxidant Activity, and Photo-Oxidation of Natural Polyphenols. *Chem. Pap.*, 68 (1) :121–129.
- Wachtel-Galor, S., Wong, K.W., Benziel, F.F. (2008). The effect of cooking on Brassica vegetables. *Food chem.*, 110 ,3 :706–710.
- Wahyuni, Y., Ballester, A.R., Sudarmonowati, E., Bino, R.J., Bovy, A.G. (2011). Metabolite biodiversity in pepper (*Capsicum*) fruits of 32 diverse accessions : variation in health-related compounds and implications for breeding. *Phytochem.*, 72 : 1358– 1370
- Wang, C.Y., Zheng, W., Wang, T., Xie, J. W., Wang, S. L., Zhao, B. L., Teng, W.P., Wang, Z.Y. (2011). Huperzine A activates Wnt/ β -catenin signaling and enhances the nonamyloidogenic pathway in an Alzheimer transgenic mouse model. *Neuropsychopharmacol.* 36 :1073–1089
- Wang, Y., Chang, C.F., Chou, J., Chen, H.L., Deng, X., Harvey, B.K., J.L., Bickford, P.C. (2005) Dietary supplementation with blueberries, spinach, or spirulina reduces ischemic brain damage. *Exp Neurol.*, 193:75–84
- Wang, Y., Zhao, L., Wang, D., Huo, Y., Ji, B. (2016). Anthocyanin-rich extracts from blackberry, wild blueberry, strawberry, and chokeberry: Antioxidant activity and inhibitory effect on oleic acid-induced hepatic steatosis in vitro. *J. Sci. Food Agric.*, 96 : 2494–2503
- Waterhouse, A., (1999). Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine. *Food Anal. Chem.*, 299:152-78.
- Xian, X., Jianguo, C., Yunxia, Z., Quanxi, W., Jianbo, X., (2014). Flavonoid concentrations and bioactivity of flavonoid extracts from 19 species of ferns from China. *Ind. Crop. Prod.*, 58 : 91–98.
- Xiao, J.B. (2016). Dietary flavonoid aglycones and their glycosides: What show better biological benefits? *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 9:1874–1905.
- Xie, Y., Yang, W., Chen, X., Xiao, J. (2014). Inhibition of flavonoids on acetylcholine esterase: binding and structure–activity relationship. *Food Funct.*, 5 (10) :2582–2589.
- Xu, B., Chang, S.K.C. (2008). Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. *Food Chem.* 110: 1–13.
- Xu, G., Ye, X., Chen, J., Liu, D. (2007). Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. *J. Agric. Food Chem.*, 55:330–5
- Xu, X., Li, W., Lu, Z., Beta, T., Hydamaka, A. (2009). Phenolic content, composition, antioxidant activity, and their changes during domestic cooking of potatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 57:10231–10238.
- Yamaguchi, T., Mizobuchi, T., Kajikawa, R., Kawashima, H., Miyabe, F., Terao, J., Takamura, H., Matoba, T. (2001). Radical scavenging activity of vegetables and the effect of cooking on their activity. *Fd. Sci. Tech. Res.* 7: 250 – 257
- Yeoh, S., Shi, J., Langrish, T.A.G. (2008). Comparisons between different techniques for water-based extraction of pectin from orange peels. *Desalination*, 218 : 229 – 237.
- Yoruk, R., Marshall, M.R. (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. *J. Food Biochem.*, 27:361–422

- Zambrano-Moreno, E.L., Chávez-Jáuregui, R.N., Plaza, M., Wessel-Beaver, L. (2015). Phenolic content and antioxidant capacity in organically and conventionally grown eggplant (*Solanum melongena*) fruits following thermal processing. *Food Sci. Tech., Campinas* , 35(3):414–420.
- Zaro, M. J., Ortiz, L. C., Keunchkarian, S., Chaves, A. R., Vicente, A.R., Concellon, A. (2015) Chlorogenic acid retention in white and purple eggplant after processing and cooking. *LWT*, 64 :802–808.
- Zarzecka, K., Gugala, M, Sikorska, A. , Mystkowska, I., Baranowska, A., Niewe, głowski, M., Dołega H. (2017). The effect of herbicides and biostimulants on polyphenol content of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers and leaves. *J. Saudi Socie. Agric. Sci.*, In press, corrected proof.
- Zarzecka, K., Gugala, M., Zarzecka, M., (2013) .Potato as a good source of nutrients. *Postepy Fitoterapii* 3 : 191–194.
- Zhang ,D., Hamauzu, Y. (2004). Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave heating. *Food Chem*, 88:503–9
- Zhang, D., Hamauzee Y. (2004). Phenolic compounds and their antioxidant properties in different tissues of carrots (*Daucus carota* L.) . *Food Agric Environ.* ,2:95–101
- Zhang, H., Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Curr. Opin. Food Sci.*, 8 :33–42.
- Zhang, L., Chang, R.C.C., Chu, L.W., Ma, H.K.F. (2012). Current neuroimaging techniques in Alzheimer’s disease and applications in animal models. *Am J Nucl Med Mol Imaging*, 2:386–404.
- Zhang, Z. H., Xi, G. M., Li, W. C., Ling, H. Y., Qu, P., Fang, X. B. (2009). Cyclic-AMP response element binding protein and tau are involved in the neuroprotective mechanisms of nerve growth factor during focal cerebral ischemia/reperfusion in rats. *J. Clin. Neurosci.*, 17(3):353–356
- Zhao, H., Dong, J., Lu, J., Chen, J., Li, Y., Shan, L., Lin, Y., Fan, W., Gu, G. (2006). Effects of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.). . *J. Agric. Food Chem.*, 54(19) :7277-7286
- Zhao, J., Dixon, R.A. (2009). The ‘ins’ and ‘outs’ of flavonoid transport. *Trends Plant Sci.*, 15 : 72–80.
- Zhao, Y., Wu, X., Yu, L. Chen, P. (2017) . Retention of polyphenols in blueberries (*Vaccinium corymbosum*) after different cooking methods, using UHPLC–DAD–MS based metabolomics. *J. Food Comp. Anal.* :56, 55–66.
- Zhao, L., Lee, J. Y. and Hwang, D. H. (2011). Inhibition of pattern recognition receptor-mediated inflammation by bioactive phytochemicals. *Nutr. Rev.* 69(6):310–320.

Annexes



Courbe d'étalonnage d'acide gallique



Courbe d'étalonnage de la quercétine

Analyse de variance du plan Plackett et Burmann

Source	Pomme de terre crue			Pomme de terre cuite à la vapeur			Pomme de terre cuite à l'eau			Pomme de terre cuite par microonde		
	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff
Modèle	0,000	–	–	0,0001	–	–	0,043	–	–	0,011	–	–
Linéaires	0,000	–	–	0,0001	–	–	0,043	–	–	0,011	–	–
Temps de cuisson	–	–	–	0,020	1061	531	0,012	-1134	-567	0,001	10116	5058
Température de cuisson	–	–	–	0,000	-11060	-5530	0,009	1229	615	–	–	–
Puissance du micronnde	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,014	5186	2593
Volume d'eau de cuisson	–	–	–	0,109	581	291	0,278	326	163	0,530	-850	-425
Concentration solvant	0,337	483	242	0,551	-184	-92	0,457	214	107	0,293	1498	749
Broyage	0,337	483	242	0,124	-547	-274	0,481	202	101	0,129	2362	1181
Temps de macération	0,001	-2519	-1259	0,298	337	169	0,486	-199	-99	0,073	-2993	-1497
Temps d'ultrasonication	0,000	8514	4257	0,857	-54	-27	0,295	312	156	0,095	-2696	-1348
R carré	98,09%			99,74%			92,07%			96,18%		
R ajusté	97,01%			99,30%			90,19%			90,48%		

Analyse de la variance du plan composite centré

Source	Valeur de p			
	Pomme de terre crue	Pomme de terre cuite à la vapeur	Pomme de terre cuite à l'eau	Pomme de terre cuite par microonde
Modèle	0,000	0,0007	0,000	0,000
Linéaires	0,000	0,005	0,000	0,000
A	0,000	0,012	0,000	0,000
B	0,001	0,007	0,000	0,000
Carré	0,002	0,0001	0,000	0,000
A*A	0,019	0,0003	0,000	0,000
B*B	0,001	0,001	0,000	0,235
Interaction à 2 facteurs	0,000	0,648	0,000	0,000
A*B	0,000	0,648	0,000	0,000
R carré	98,46%	94,79%	99,64%	99,12%
R ajusté	97,36%	91,08%	99,38%	98,49%

Annexe 3

Analyse de variance du plan Plackett et Burmann

Source	Oignon cru			Oignon cuit à la vapeur			Oignon cuit à l'eau			Oignon cuit par microonde		
	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff
Modèle	0,000	–	–	0,027	–	–	0,007	–	–	0,018	–	–
Linéaires	0,000	–	–	0,027	–	–	0,007	–	–	0,058	–	–
Temps de cuisson	–	–	–	0,002	-11471	-5736	0,001	2623	1311	0,015	2635	1312
Température de cuisson	–	–	–	0,345	-1755	-878	0,079	-678	-339	–	–	–
Puissance du micronde	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,978	-19	-9
Volume d'eau de cuisson	–	–	–	0,976	-52	-26	0,055	775	387	0,758	-313	-106
Concentration solvant	0,000	7456	3728	0,488	-1253	-626	0,096	-626	-313	0,084	-1468	-735
Temps de macération	0,000	-1461	-730	0,604	922	461	0,052	-789	-394	0,026	-2300	-1101
Temps d'ultrasonication	0,076	6570	3285	0,035	-5162	-2581	0,028	-977	-489	0,089	1467	717
Broyage	0,065	-1534	-767	0,619	884	442	0,062	741	371	0,702	225	132
R carré	96,77%			93,85%			96,91%			90,71%		
R ajusté	94,93%			90,30%			91,50%			74,45%		

Analyse de la variance du plan composite centré

Source	Valeur de p			
	Oignon cru	Oignon cuit à la vapeur	Oignon cuit à l'eau	Oignon cuit par microonde
Modèle	0,000	0,000	0,000	0,000
Linéaires	0,000	0,000	0,003	0,000
A	0,000	0,000	0,002	0,001
B	0,000	0,000	0,038	0,000
Carré	0,000	0,000	0,000	0,001
A*A	0,000	0,000	0,000	0,692
B*B	0,000	0,000	0,000	0,000
Interaction à 2 facteurs	0,000	0,001	0,001	0,000
A*B	0,000	0,001	0,001	0,000
R carré	99,49%	99,97%	98,52%	97,58%
R ajusté	99,12%	99,95%	97,47%	95,86%

Annexe 4

Analyse de variance du plan Plackett et Burmann

Source	Epinard cru			Epinard cuit à l'eau			Epinard cuit à la vapeur			Epinard cuit par microonde		
	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff
Modèle	0,000	—	—	0,000	—	—	0,007	—	—	0,006	—	—
Linéaires	0,000	—	—	0,000	—	—	0,007	—	—	0,006	—	—
Temps de cuisson	—	—	—	0,000	14421	7210	0,982	29	14	0,000	6003	3002
Température de cuisson	—	—	—	0,039	847	424	0,599	674	337	—	—	—
Puissance du microonde	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,005	3142	1571
Volume d'eau de cuisson	—	—	—	0,257	371	186	0,667	-547	-274	0,579	-345	-172
Concentration solvant	0,000	6706	3353	0,149	-501	-250	0,143	2146	1073	0,543	379	190
Temps de macération	0,001	2451	1225	0,227	-401	-201	0,032	-3801	-1900	0,790	162	81
Temps d'ultrasonication	0,339	-468	-234	0,554	181	91	0,027	4045	2023	0,371	-575	-288
Broyage	0,124	798	399	0,288	344	172	0,442	-1007	-504	0,367	-581	-291
R carré	97,27%			99,85%			86,96%			97,29%		
R ajusté	95,70%			99,95%			64,15%			92,54%		

Analyse de la variance du plan composite centré

Source	Valeur de p			
	Epinard cru	Epinard cuit à l'eau	Epinard cuit à la vapeur	Epinard cuit par microonde
Modèle	0,008	0,000	0,000	0,000
Linéaires	0,217	0,000	0,000	0,012
A	0,190	0,000	0,000	0,022
B	0,230	0,001	0,126	0,018
Carré	0,008	0,009	0,000	0,000
A*A	0,003	0,075	0,000	0,000
B*B	0,342	0,004	0,000	0,000
Interaction à 2 facteurs	0,005	0,035	0,069	0,007
A*B	0,005	0,035	0,069	0,007
R carré	85,45%	98,07%	98,73%	96,37%
R ajusté	75,06%	96,69%	97,82%	93,77%

Annexe 5

Analyse de variance du plan Plackett et Burmann

Source	Aubergine crue			Aubergine cuite à l'eau			Aubergine cuite à la vapeur			Aubergine cuite par microonde		
	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff
Modèle	0,000	–	–	0,030	–	–	0,048	–	–	0,034	–	–
Linéaires	0,000	–	–	0,030	–	–	0,048	–	–	0,034	–	–
Temps de cuisson	–	–	–	0,006	-4646	-2323	0,182	1254	627	0,022	-4309	-2155
Température de cuisson	–	–	–	0,014	-3637	-1818	0,020	-2903	-1451	–	–	–
Puissance du micronde	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,190	1863	932
Volume d'eau de cuisson	–	–	–	0,212	-1292	-646	0,994	-6	-3	0,009	5602	2801
Concentration solvant	0,000	-2953,2	-1476,6	0,790	248	124	0,330	-862	-431	0,085	-2696	-1348
Temps de macération	0,000	-2558,9	-1279,4	0,056	2318	1159	0,115	-1560	-780	0,121	-2325	-1163
Temps d'ultrasonication	0,071	418,6	209,3	0,423	-775	-388	0,035	2428	1214	0,068	2944	1472
Broyage	0,705	-77,5	-38,7	0,335	954	477	0,121	1527	763	0,670	543	272
R carré	98,28%	–	–	93,48%	–	–	89,85%	–	–	93,05%	–	–
R ajusté	97,29%	–	–	82,06%	–	–	72,08%	–	–	80,90%	–	–

Analyse de la variance du plan composite centré

Source	Valeur de p			
	Aubergine crue	Aubergine cuite à l'eau	Aubergine cuite à la vapeur	Aubergine cuite par microonde
Modèle	0,000	0,000	0,001	0,000
Linéaires	0,000	0,021	0,009	0,000
A	0,866	0,743	0,009	0,000
B	0,000	0,007	0,031	0,000
Carré	0,000	0,000	0,001	0,000
A*A	0,000	0,000	0,193	0,000
B*B	0,000	0,000	0,000	0,001
Interaction à 2 facteurs	0,000	0,000	0,023	0,001
A*B	0,000	0,000	0,023	0,001
R carré	99,20%	98,11%	91,66%	98,98%
R ajusté	96,87%	96,76%	85,70%	98,25%

Annexe 6

Analyse de variance du plan Plackett et Burmann

Source	Carotte crue			Carotte cuite à l'eau			Carotte cuite à la vapeur			Carotte cuite par microonde		
	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff
Modèle	0,002	–	–	0,012	–	–	0,037	–	–	0,045	–	–
Linéaires	0,002	–	–	0,012	–	–	0,037	–	–	0,045	–	–
Temps de cuisson	–	–	–	0,647	-508	-254	0,004	3038	1519	0,048	-1935	-967
Température de cuisson	–	–	–	0,045	2962	1481	0,040	-1512	-756	–	–	–
Puissance du micronde	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,402	645	323
Volume d'eau de cuisson	–	–	–	0,314	1181	590	0,324	-568	-284	0,181	-1116	-558
Concentration solvant	0,090	1142	571	0,529	-708	-354	0,302	598	299	0,027	-2344	-1172
Temps de macération	0,000	-3903	-1952	0,543	681	341	0,259	664	332	0,128	1321	661
Temps d'ultrasonication	0,044	-1427	-714	0,041	-3058	-1529	0,408	-466	-233	0,166	-1167	-583
Broyage	0,087	-1158	-579	0,536	694	347	0,446	-426	-213	0,123	1344	672
R carré	89,38%			84,85%			92,74%			89,27%		
R ajusté	83,31%			81,23%			80,05%			70,50%		

Analyse de la variance du plan composite centré

Source	Valeur de p			
	Carotte crue	Carotte cuite à l'eau	Carotte cuite à la vapeur	Carotte cuite par microonde
Modèle	0,000	0,037	0,000	0,000
Linéaires	0,000	0,037	0,000	0,000
A	0,000	0,004	0,000	0,000
B	0,000	0,040	0,000	0,000
Carré	0,000	0,324	0,000	0,000
A*A	0,000	0,302	0,000	0,613
B*B	0,005	0,259	0,001	0,006
Interaction à 2 facteurs	0,000	0,408	0,000	0,10
A*B	0,000	0,446	0,000	0,10
R carré	98,54%	96,36%	99, 93%	99,74 %
R ajusté	97,50%	93,76%	99, 87%	99,26%

Annexe 7

Analyse de variance du plan Plackett et Burmann

Source	Piment cru			Piment cuit à l'eau			Piment cuit à la vapeur			Piment cuit par microonde		
	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff	Valeur de p	Effet	Coeff
Modèle	0,000	–	–	0,017	–	–	0,001	–	–	0,001	–	–
Linéaires	0,000	–	–	0,017	–	–	0,001	–	–	0,001	–	–
Temps de cuisson	–	–	–	0,010	798	368	0,000	24508	12254	0,000	-4511	-2256
Température de cuisson	–	–	–	0,002	1108,9	593,4	–	17998	8999	0,040	–	–
Puissance du micronde	–	–	–	–	–	–	0,070	–	–	–	765	382
Volume d'eau de cuisson	–	–	–	0,415	-114,16	-73,5	0,090	-24066	-12033	0,977	-8	-4
Concentration solvant	0,000	-4128	-2064	0,547	116,7	53,2	0,005	22878	11439	0,975	9	4
Temps de macération	0,247	-566	-283	0,447	137	68,2	0,234	-16817	-8408	0,234	-356	-178
Temps d'ultrasonication	0,000	-2882	-1441	0,517	-114,1	-57,5	0,991	-22343	-11171	0,991	-3	-2
Broyage	0,760	-142	-71	0,245	-220,3	-110,1	0,975	-18464	-9232	0,975	-8	-4
R carré	94,82%			95,17%			92,01%			98,79%		
R ajusté	91,87%			86,71%			90,27%			96,67%		

Analyse de la variance du plan composite centré

Source	Valeur de p			
	Piment cru	Piment cuit à l'eau	Piment cuit à la vapeur	Piment cuit par microonde
Modèle	0,000	0,000	0,015	0,011
Linéaires	0,000	0,000	0,014	0,011
A	0,135	0,014	0,036	0,006
B	0,000	0,000	0,016	0,144
Carré	0,000	0,000	0,017	0,026
A*A	0,000	0,000	0,023	0,079
B*B	0,000	0,000	0,058	0,033
Interaction à 2 facteurs	0,275	0,000	0,522	0,053
A*B	0,275	0,000	0,522	0,053
R carré	99,06%	98,64%	82,29%	83,88%
R ajusté	98,39%	97,67%	69,63%	72,37%

Publications scientifiques

Article

Optimization of Conditions for Extraction of Polyphenols and the Determination of the Impact of Cooking on Total Polyphenolic, Antioxidant, and Anticholinesterase Activities of Potato

Imen Laib * and Malika Barkat

Laboratoire BIOQUAL, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (I.N.A.T.A.A.), Université Frères Mentouri-Constantine 1, Route de Ain El-Bey, 25000 Constantine, Algeria; barkat.inataa@yahoo.fr

* Correspondence: mina.laib@gmail.com or mina.laib@umc.edu.dz; Tel.: +213-66-9317946

Received: 21 January 2018; Accepted: 6 March 2018; Published: 9 March 2018

Abstract: In this work we optimized the cooking and extraction conditions for obtaining high yields of total polyphenols from potato and studied the effect of three domestic methods of cooking on total phenols, antioxidant activity, and anticholinesterase activities. The optimization of the experiment was carried out by the experimental designs. The extraction of the polyphenols was carried out by maceration and ultrasonication. Determination of the polyphenols was performed by using the Folin-Ciocalteu reagent method. The antioxidant activity was evaluated by three methods: 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), and CUPRAC (Cupric reducing antioxidant capacity), the anticholinesterase activity was evaluated by the method of Ellmann. The optimum of total phenolic obtained was: 4.668×10^4 , 1.406×10^4 , 3357.009, 16,208.99 μg Gallic Acid Equivalent (GAE)/g of dry extract for crude potato, steamed potatoes, in boiling water, and by microwave, respectively. The three modes of cooking cause a decrease in the total polyphenol contents, antioxidant and anticholinesterase activities.

Keywords: potato; polyphenols; experimental design; LC-MS/MS; antioxidant activity; anticholinesterase activity

1. Introduction

The appearance and progression of some diseases are clearly due to many lifestyle factors. Nutrition is one of the most important determinants of health, and increasing evidence suggests that diets rich in vegetables and fruits can prevent many diseases [1]. Although the mechanisms of these effects have not been fully elucidated, the presence of secondary metabolites, commonly referred to as phytochemicals, in fruits and vegetables may play a major role [2,3].

Many studies show that the majority of phytochemicals have antioxidant [4,5] and anti-inflammatory [6,7] properties. These activities give them pharmacological properties that may prevent, and possibly even treat, different diseases [8]. Among these abundant compounds in vegetables, phenolic compounds are the most important group of natural antioxidants [9].

Vegetable phenolic compounds have been of great interest because of growing evidence of their beneficial effect on human health. These compounds may have complementary mechanisms of action, including stimulation of the immune system, reduction of platelet aggregation, modulation of lipid and hormone metabolism, and antioxidant, antibacterial, antimutagenic, and antiangiogenic effects, reduction of the initiation of tumors, and the induction of apoptosis [10].

Recent studies have shown the effect of polyphenols against Alzheimer's disease [11]. These compounds are classified as cholinesterase inhibitors, which are valuable approaches for

the treatment of neurodegenerative diseases, because of their role in the maintenance of the neurotransmitter acetylcholine [12]. Neurodegenerative disorders are characterized by reduced cholinergic activity in the brain [13]. The acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes cause the hydrolysis of acetylcholine; therefore, inhibition of these enzymes by polyphenols plays a key role in improving cholinergic activity and preventing Alzheimer's disease [14]. The potato (*Solanum tuberosum* L.) is a tuber that contains different bioactive compounds, such as starch, dietary fiber, amino acids, minerals, vitamins, and phenolic compounds. Phenolic compounds are synthesized by the potato plant as a protection response from bacteria, fungi, viruses, and insects. Potato is considered as a food rich in polyphenols, and these antioxidant compounds protect the body's cells from damage caused by free radicals. The phenolic content of the potato differs considerably depending on the variety, the growing and climatic conditions, and the methods of analysis used [15]. However, potato must be cooked for consumption. According to the recipes and culinary traditions of the various countries, household cooking encompasses a variety of processes, such as boiling, frying, steaming, roasting, and microwaving [16]. Although the cooking of potato has beneficial effects, including the destruction of microorganisms, the inactivation of anti-nutritional factors, the improvement of the digestibility of food, the bioavailability of nutrients, and the formation of desired compounds such as flavoring compounds and antioxidants, it also has negative effects, such as changing the structure of vegetables, leading to nutritional effects. On the other hand, the treatment can damage the quality of food, resulting in undesirable consequences, such as the loss of certain nutrients due to chemical reactions and the formation of undesirable compounds (for example, acrylamide) [10].

Polyphenols of potato include many compounds that behave differently during heat treatment. In recent years, many studies have focused on the various cooking effects on the total polyphenol content of vegetables and their biological activities. Some authors confirm the hypothesis of the reduction of polyphenol content after cooking, while others have shown a positive effect on these compounds. Changes in the content of phenolic compounds by heat treatment of potatoes have been the subject of numerous studies [17–22], but optimization of cooking and extraction conditions from potato have not yet been studied.

Optimization of conditions of the cooking process can help the consumer and agri-food industry to improve the nutritional quality of cooked vegetables and avoid or minimize losses of polyphenols.

There is no single, standardized method for extracting polyphenols, particularly because of their diversity. According to several studies the extraction efficiency is, therefore, dependent on numerous factors, like the process conditions, the solvent concentration, the particle size, the nature of the solvent, and the extraction time [23]. Then to extract all the polyphenols from the plant matrix, it is necessary to optimize the extraction conditions.

The objective of this work is to select the factors that have a proven influence on the polyphenol content of raw and cooked potato, using screening experimental design which quantify and classify the effects of each of the factors, After looking for the effect of each parameter, we want to optimize the extraction conditions of the polyphenols of the extraction conditions by the central composite design and determine the impact of cooking on total phenolic, antioxidant, and anticholinesterase activities of potato.

2. Materials and Methods

2.1. Plant Material

White potato, Spunta variety (1 kg), was harvested from Benibecheir, Skikda, Algeria.

2.2. Cooking Vegetables

Potatoes are washed and all non-edible parts removed, peeled, and then they are cut into small pieces of homogeneous shapes and cooked by: boiling, steaming, and microwaving. The cooking waters were recovered.

2.3. Extraction

The polyphenols of raw and cooked potatoes are extracted by maceration and ultrasonication. The raw and cooked raw potatoes were mashed and then extracted with methanol in a beaker and then placed in an ultrasonicator. Then, the extracts were filtered, the mashed potato were re-extracted three times, and the combined extracts were used for the experiments. The solvent was evaporated by a rotary evaporator. The cooking water is analyzed directly, and it requires no treatment other than filtration and evaporation under vacuum.

2.4. Optimization of Cooking and Extraction Conditions

In this work, we attempt to optimize the conditions of cooking and extraction of phenolic compounds to obtain a maximum of polyphenols in the extracts of raw and cooked potatoes. For this, an experimental design has been developed. The methodology used is divided into two stages: a factor screening by the Plackett–Burman design and an optimization by exploiting surfaces plots.

2.4.1. Screening Factors

Plackett–Burman experimental design was chosen to perform the screening of factors (Table 1). Plackett–Burman’s experimental design is used to select the most influential factors on the Y response (total phenolic) where interactions are negligible or thought to be negligible [24].

Factors of cooking (volume of water, time, and cooking temperature (in the case of boiling and steam cooking); volume of water used, time, and power (in the case of microwave cooking)), factors of extraction (the concentration of the extraction solvent, the maceration time, the ultrasonication time), and their levels (minimum (−1) and maximum (+1)) were chosen by reference to preliminary analyses and bibliography. Grinding is also a factor that has a significant effect on the polyphenol content of raw and cooked vegetables according to several studies [25].

The mathematical model is a model without interaction:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_5X_5 + b_6X_6 + \epsilon \quad (1)$$

where Y is the yield of total phenolics; b_0 is the theoretical mean value of the response; $b_1, b_2, b_3, b_4, b_5, b_6$ are the main effects of the factors $X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6$, respectively; and ϵ is the error term [26].

The model is statistically significant when the coefficient of determination is close to 100% and its probability of nullity α is less than 0.05%.

A factor has a significant effect on total phenolic when its probability of nullity α is less than 0.05%.

Table 1. Experiment factor levels for each cooking mode.

Factors	Raw Potato		Boiling		Steaming		Microwave	
	Level −1	Level +1	level −1	level +1	level −1	Level +1	level −1	Level +1
Cooking time	–	–	10 min	30 min	30 min	120 min	10 min	15 min
Power (watt)	–	–	–	–	–	–	400	800
Temperature of cooking	–	–	80 °C	100 °C	80 °C	100 °C	–	–
Volume of water of cooking	–	–	100 mL	500 mL	500 mL	1000 mL	10 mL	50 mL
Solvent concentration	60%	100%	60%	100%	60%	100%	60%	100%
Maceration time	1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h
Ultrasonication time	30 min	1 h	30 min	1 h	30 min	1 h	30 min	1 h
Grinding	No	Yes	No	Yes	No	Yes	No	Yes

Levels: minimum (−1) and maximum (+1).

2.4.2. Optimization of Responses

A central composite experiment design was used to optimize the effects of factors selected by the screening plan on the response of the noted polyphenol content. This experiment design is based on the surface plot method. It consists in modeling the results in the form of polynomial functions of the second degree, which is a quadratic model [27]. We have assigned for each coded variable (X_i) three levels: −1,

0 and +1. $\pm\alpha$ represents the extreme values (max, min). For the design to be orthogonal and rotatable, the value of α was fixed by the software STATISTICA 7.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) at 1.414.

The mathematical model of the second degree of composite centered design is:

$$Y = a_0 + \sum a_i X_i + \sum a_{ii} X_i^2 + \sum a_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

a_i : regression coefficients of linear effects; a_{ii} : regression coefficients of quadratic effects; X_i and X_j : coded experimental variables [27].

2.5. Determination of Total Polyphenols (TP)

The polyphenols are determined using the Folin–Ciocalteu reagent method [28].

2.6. LC-MS/MS Analysis

Analysis of the LC-MS/MS phenolic compounds was performed using a Shimadzu Nexera model CLUHP coupled to a tandem MS instrument (Shimadzu, Kyoto, Japan). The liquid chromatography is equipped with LC-30AD binary pumps, a DGU-20A3R degasser, a UDC CTO-10A column, and a SIL-30AC sampler. The chromatographic automatic separation was performed on an ODS-4 reverse phase C18 analytical column (150 mm \times 4, 6 mm, 3 μ m). The temperature of the column was set at 40 °C. The elution gradient was composed of a mobile phase A (water, 5 mM ammonium formate, and 0.1% formic acid) and a phase mobile B (methanol, 5 mM ammonium formate, and 0.1% formic acid). The gradient program with the following proportions of solvent B was applied (t (min), %B) (0.40) (20.90), (23.99, 90), (24.40). The solvent flow rate was maintained at 0.5 mL/min and the injection volume was adjusted to 4 μ L. The MS detection was performed using a Shimadzu LCMS 8040 quadrupole model LCMS mass spectrometer equipped with an ESI source operating in both positive and negative ionization modes. LC-MS/MS data was collected and processed by Lab Solutions software (Shimadzu, Kyoto, Japan). Multiple reactions (MRM) mode was used to quantify the analytes: the compounds tested were assayed in two or three transitions for each component, the first for quantitative purposes and the second and/or third for the confirmation.

In this study, twenty-four phenolic compounds (flavonoids, flavonoid glycosides, phenolic acids, phenol aldehyde, coumarin) and three non-phenolic organic acids that are widely distributed in food materials were qualified and quantified in potato

2.7. Antioxidant Activity

Evaluation of the antioxidant activity is carried out using 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), and cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) methods.

2.7.1. DPPH Method

The evaluation of the antioxidant activity was carried out by the method of Blois [29].

2.7.2. ABTS Method

The evaluation of the antioxidant activity was carried out by the ABTS free radical scavenging method described by Re et al. [30].

2.7.3. CUPRAC Method

The evaluation of the antioxidant activity was carried out by the method of Özyürek et al. [31].

2.8. Anticholinesterase Activity

Anticholinesterase activity is carried out according to the method of Ellman [32].

2.9. Statistical Analysis

The means plus or minus the standard deviation of the three replicates of determination of total polyphenol content, evaluation of antioxidant activity, and anticholinesterase activity, as well as graphic representations, were performed with Excel 2013 (Microsoft Excel Version 3. 2013, Microsoft Corp., Redmond, WA, USA). Means were compared by single factor analysis of variance (ANOVA) analysis followed by a post-hoc Tukey test using STATISTICA 7.0 software (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). The superscript letters a, b, c, d, and e indicate a significant difference at the 0.05 significance level. The generation of the test matrices, the analysis of the results of the two experimental designs (Plackett–Burman and the central composite design) are generated with Minitab 17 software (Minitab Inc., State College, PA, USA). The generation of surface plots and the optimization of the factors were made by STATISTICA 07.0 software (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

3. Results and Discussion

3.1. Experiment Design

3.1.1. Screening Design

Raw potato: Design analysis shows that the coefficient of determination values and the adjusted coefficient of determination are close to 100%. The probability is less than 0.05, which indicates that the mathematical model of this plan is significant. The *p* values obtained for each factor showed that the maceration time and the ultrasonication time had significant effects on the response total phenolic (Figure 1). The polynomial equation for the response is:

$$TP = 14685 + 242A + 242B - 1259C + 4257D \quad (3)$$

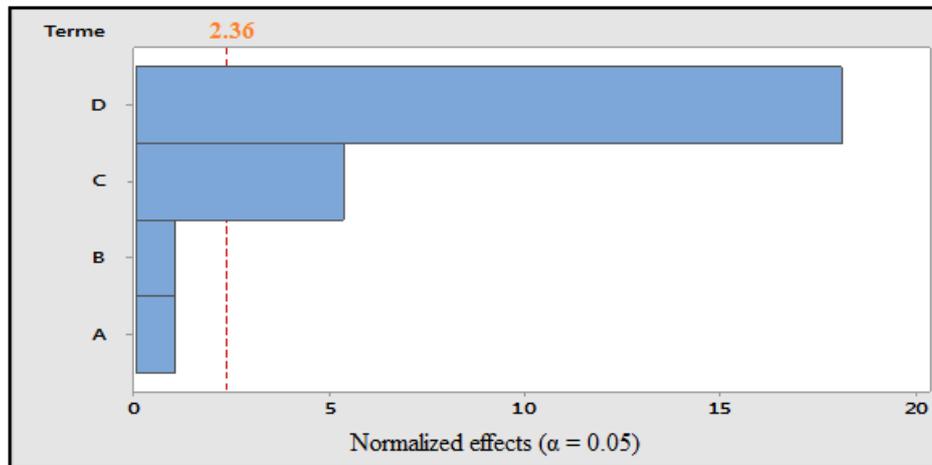


Figure 1. Pareto diagram of normalized effects ($\alpha = 0.05$). A: concentration of solvent; B: grinding; C: maceration time; and D: ultrasonication time.

Steaming: Analysis of the *p* values shows that cooking time and the cooking temperature had a significant effect on the response (Figure 2). The coefficient of determination indicates that 99.3% of the response variability could be explained by the model. The polynomial model equation is:

$$TP = 6049 + 531A - 5530B + 291C - 92D - 274E + 169F - 27G \quad (4)$$

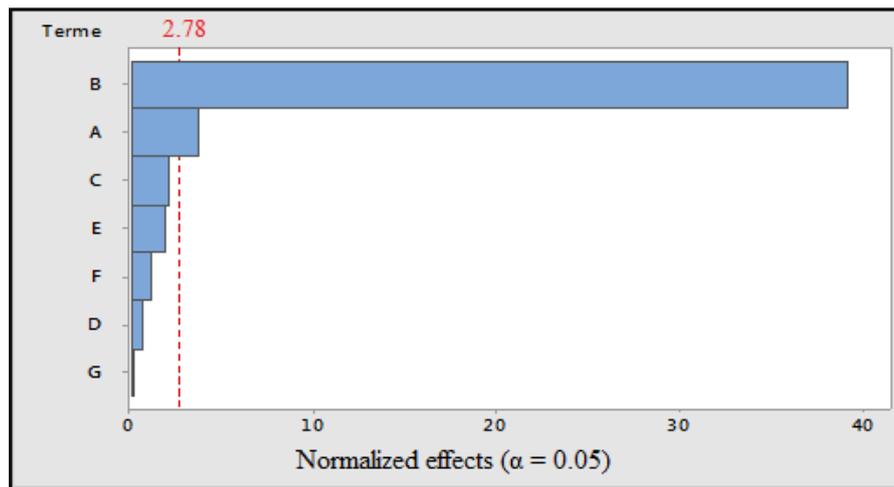


Figure 2. Pareto diagram of normalized effects ($\alpha = 0.05$). A: cooking time; B: cooking temperature; C: volume of cooking water; D: concentration of solvent; E: maceration time; F: ultrasonic time; and G: grinding.

Boiling: The coefficient of determination is close to 100% and p is less than 0.05, indicating that the model is significant. Among the variables tested, the cooking time and the cooking temperature had a significant effect on the response (Figure 3). The polynomial equation for the response is:

$$TP = 1408 - 567A + 615B + 163C + 107D + 101E - 99F + 156G \tag{5}$$

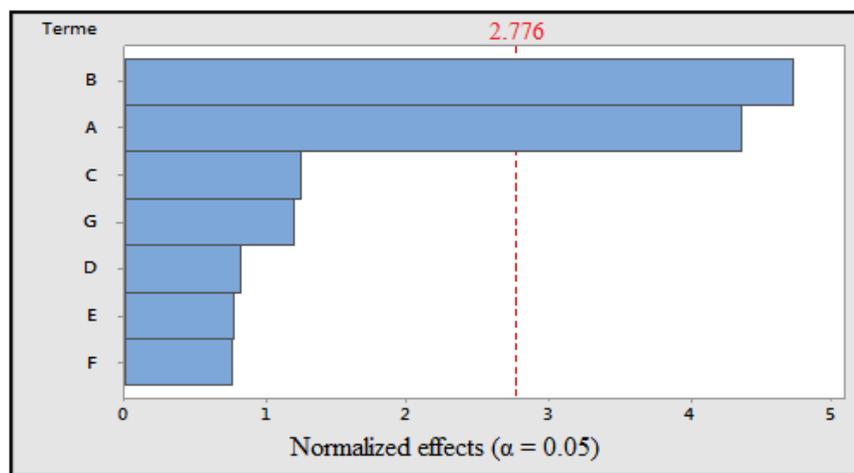


Figure 3. Pareto diagram of normalized effects ($\alpha = 0.05$); A: cooking time; B: cooking temperature; C: volume of cooking water; D: concentration of solvent; E: maceration time; F: ultrasonic time; and G: grinding.

Microwaving: The coefficient of determination values and the adjusted coefficient of determination are close to 100% and the value of p obtained for this model is less than 0.05, which indicates that the model is significant. The variables having a significant effect on the response are cooking time and power (Figure 4). The polynomial equation for the response is:

$$TP = 10224 + 5058A + 2593B - 425C + 749D + 1181E - 1497F - 1348G \tag{6}$$

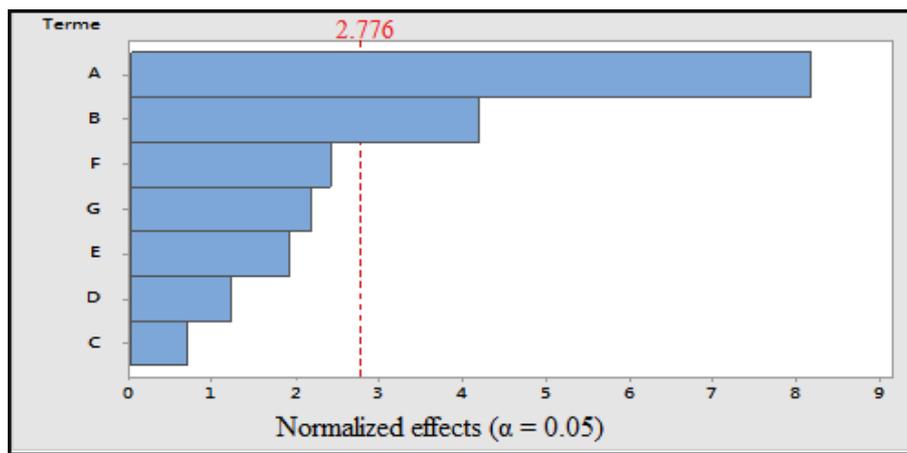


Figure 4. Pareto diagram of normalized effects ($\alpha = 0.05$); A: cooking time; B: power; C: volume of cooking water; D: concentration of solvent; E: maceration time; F: ultrasonic time; and G: grinding.

3.1.2. Central Composite Design

Raw Potato

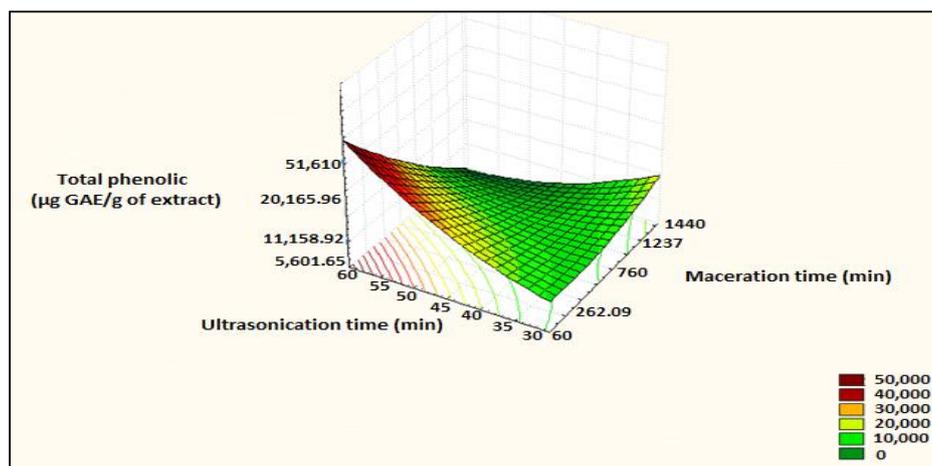
After looking for the effect of each parameter, we want to optimize the extraction conditions of the polyphenols. The level of polyphenols depends on two factors of $m = 2$ factors (maceration time and ultrasonication time).

Both the coefficient of determination and the adjusted coefficient are close to 100% and the p value for the model was 0.000, indicating that the model was extremely significant. The quadratic polynomial equation is:

$$TP = 14626 + 36.85A - 745B + 0.00591AA + 22.03BB - 1.331AB \quad (7)$$

The linear terms (maceration time (A), ultrasonication (B)), the quadratic terms (square of maceration time (AA) and ultrasonication time (BB) and the interaction between the two-factor (AB) were extremely significant.

Surface plot illustrating the evolution of the response according to the levels of maceration time and ultrasonication was plotted (Figure 5).



(a)

Figure 5. Cont.

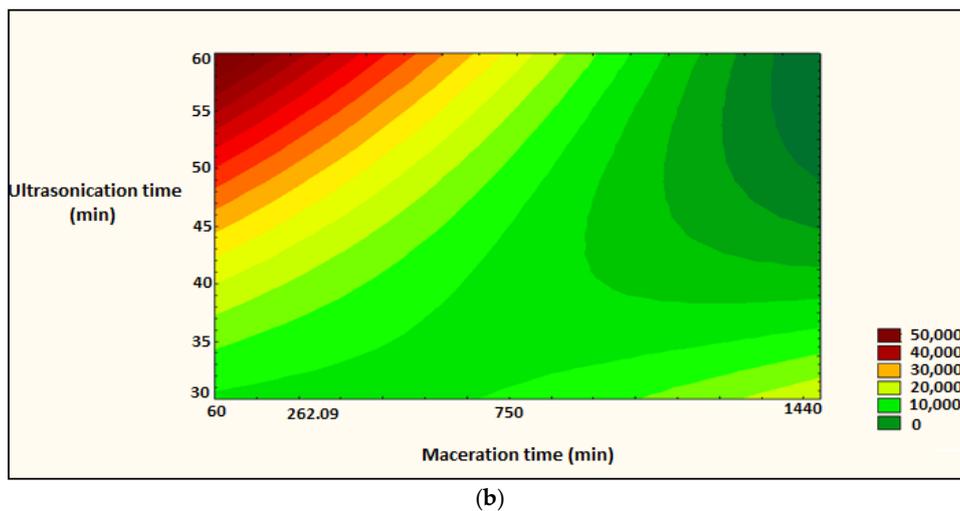


Figure 5. Surface plot and iso-response curve of polyphenols as a function of the two factors maceration time and ultrasonication time, (a): surface plot; (b): iso-response curve.

The maximum accuracy is obtained for a desirability close to 1. Prediction of optimal conditions was: maceration time: 60 min, and ultrasonication time, 60 min, and predicted polyphenol content is $4.667 \times 10^4 \mu\text{g Gallic Acid Equivalent (GAE)}/\text{g}$ of extract (Figure 6):

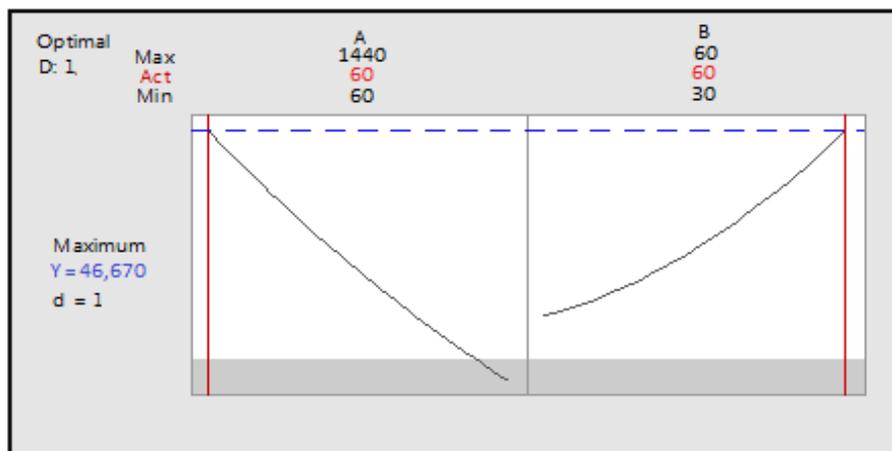


Figure 6. Optimization of the two factors maceration time and ultrasonication time as a function of desirability; A: maceration time; B: ultrasonication time.

The results of the optimization are confirmed by the determination of the total polyphenols with the factors selected at the optimum point (Table 2). There is not a significant difference between measured and predicted values which confirms the validation of the model.

Table 2. Confirmation results of the model with the measured values and the predicted values of the studied responses.

Points	Predicted Polyphenol Content ($\mu\text{g Gallic Acid Equivalent}/\text{g}$ of Extract)	Measured Polyphenol Content ($\mu\text{g Gallic Acid Equivalent}/\text{g}$ of Extract)
(60 min, 60 min)	4.667×10^4 ^a	4.668×10^4 ^a

The superscript letter a indicates a significant difference at the 0.05 significance level.

Steaming

Factors selected by the screening design (cooking time and cooking temperature) are optimized. The p -value for the model was 0.0007, indicating that the model was highly significant. Linear terms (cooking time (A), and cooking temperature (B) and the quadratic terms (square of cooking time (AA) and square of cooking temperature (BB) were extremely significant. Interaction between the two factors (AB) is not significant. The coefficient of determination value is 94.79%.

The polynomial equation is:

$$TP = 524 + 1961A + 2162B + 5527AA + 3629BB - 391AB \quad (8)$$

The surface plot and isoresponse curve were plotted according to the two factors (Figure 7).

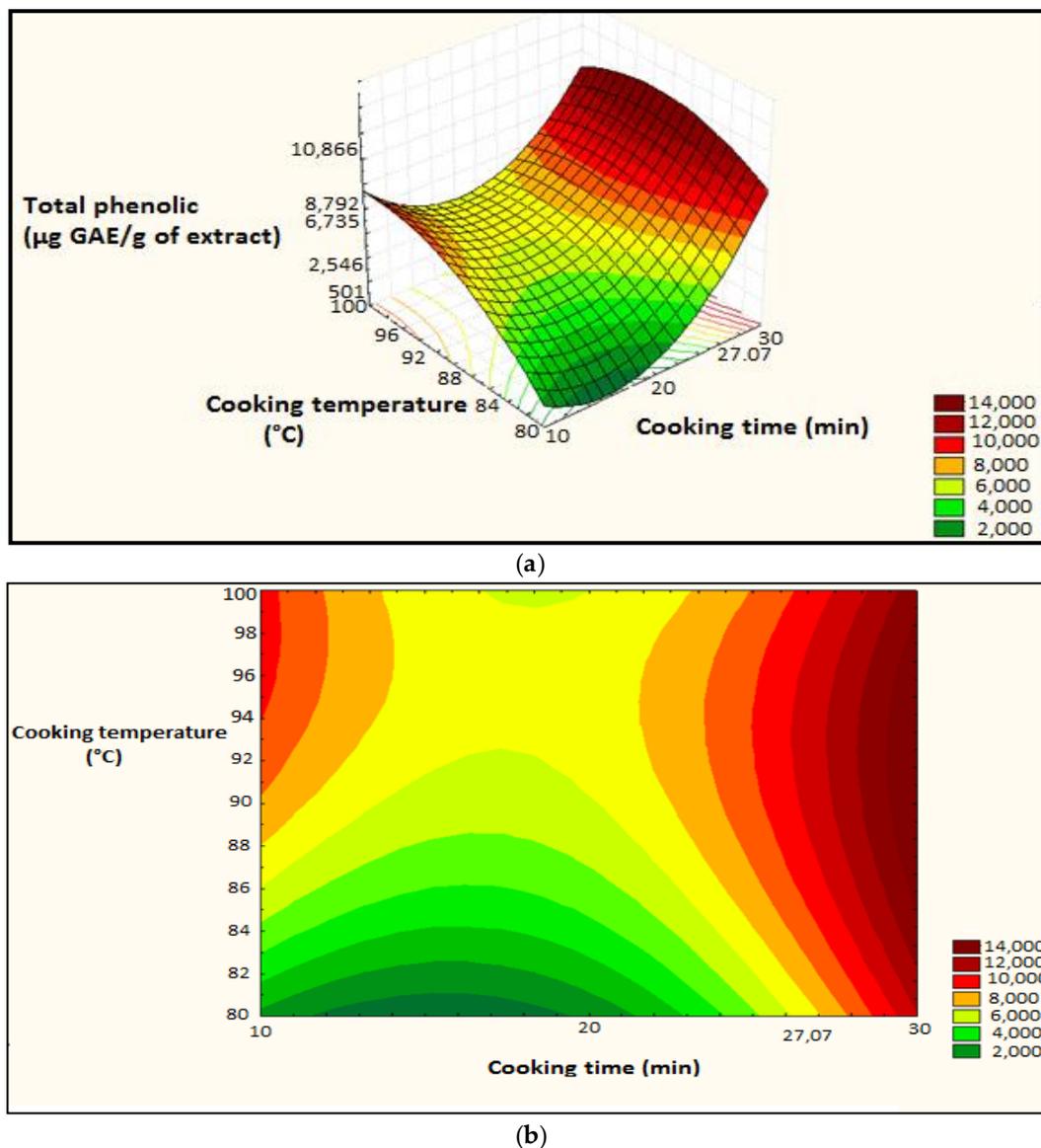


Figure 7. Surface plot and iso-response curve of polyphenols as a function of the two factors cooking time and temperature, (a): surface plot; (b): iso-response curve.

The optimum conditions were set as follows: cooking temperature: 91.9192 °C and the cooking time: 30 min. The predicted polyphenol content is 1.416×10^4 µg GAE/g of extract (Figure 8).

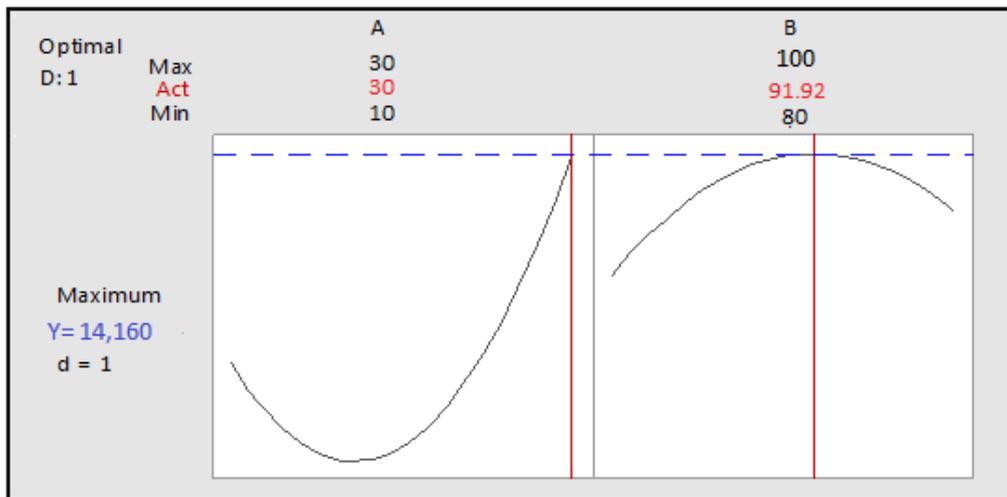


Figure 8. Optimization of the two cooking time and temperature factors as a function of desirability; A: Cooking time; B: Cooking temperature.

The results of the optimization are confirmed by the determination of the total polyphenols with the factors selected at the optimum point (Table 3). There is not a significant difference between measured and predicted values, which confirms the validation of the model.

Table 3. Confirmation results of the model with the measured values and the predicted values of the studied responses.

Points	Predicted Polyphenol Content ($\mu\text{g GAE/g Extract}$)	Mesured Polyphenol Content ($\mu\text{g GAE/g of Extract}$)
(30 min, 91,9192 °C)	$1416 \times 10^4^a$	$1.415 \times 10^4^a$

The superscript letter a indicates a significant difference at the 0.05 significance level. GAE: Gallic Acid Equivalent.

Cooking in Water

The two factors of cooking time and cooking temperature are optimized. The coefficients of determination obtained are high, indicating that the model is significant. Therefore, time (A) and temperature (B) significantly affected the total polyphenol content. The second-order effect of cooking time (AA) and the second-order effect of cooking temperature (BB) significantly affected the responses. Analysis of the interactions between the two factors showed that AB had a significant effect on the response. The quadratic polynomial equation is:

$$TP = 917.4 - 483.9A + 153.9B + 275.6AA + 472.0BB + 546.4AB \tag{9}$$

The surfaceplot illustrating the evolution of the response as a function of the levels of the two selected factors was plotted (Figure 9).

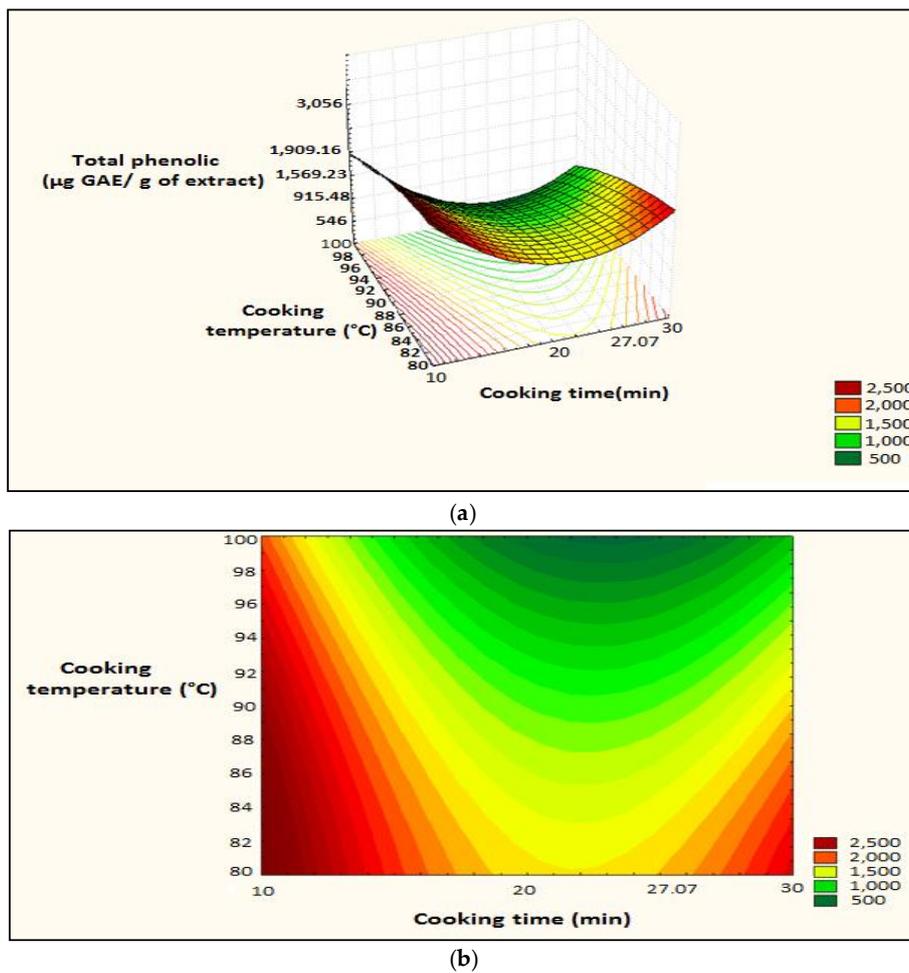


Figure 9. Surface plot and iso-response curve of polyphenols as a function of both time and temperature cooking factors, (a): surface plot; (b): iso-response curve.

The optimum conditions for achieving the best polyphenol content are: time: 10 min and temperature: 80 °C, and predicted polyphenol content is 3356.08 GAE/g of extract (Figure 10).

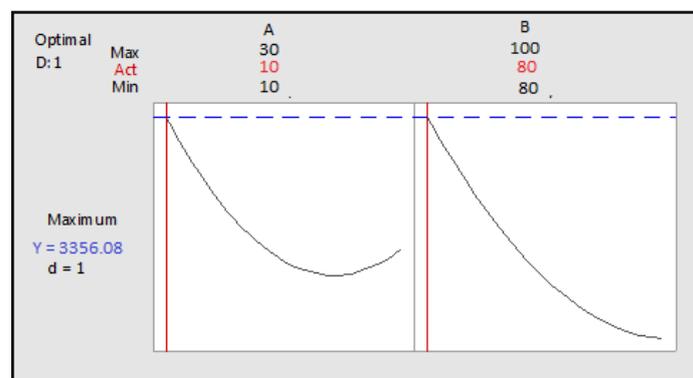


Figure 10. Optimization of two cooking time and temperature factors according to desirability; A: cooking time; B: cooking temperature.

The optimum conditions obtained were applied to the laboratory to confirm the validity of the model (Table 4). There is no significant difference between the measured and predicted values, which confirms the validation of the model.

Table 4. Confirmation results of the model with the measured values and the predicted values of the studied responses.

Points	Predicted Polyphenol Content (µg GAE/g of Extract)	Mesured Polyphenol Content (µg GAE/g of Extract)
(10 min, 80 °C)	3356.08 ^a	3356.009 ^a

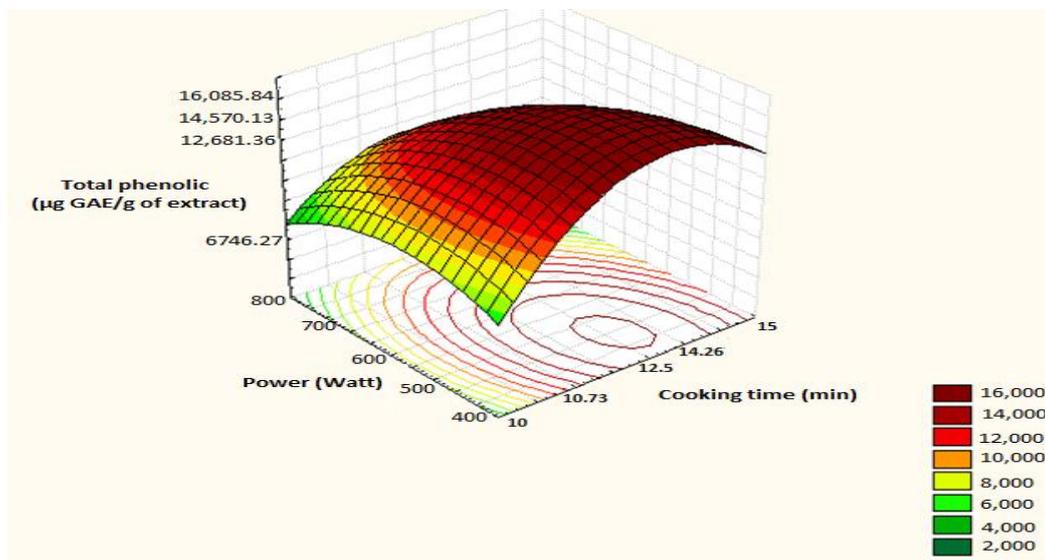
The superscript letter a indicates a significant difference at the 0.05 significance level.

Microwave Cooking

The two factors cooking time and power factors were used for optimizing the total polyphenol response. The probability obtained for this model is <0.0001 which indicates that the mathematical model corresponds to the response. The coefficients of determination obtained are high, indicating that the model is significant. Therefore, time (A) and power (B) significantly affected the total polyphenol content. The second-order effect of cooking time (AA) significantly affected the response, while the second-order effect of power (BB) did not show any significant difference. Analysis of the interactions between the two factors showed that AB had a significant. The polynomial equation obtained for the response is:

$$TP = 14570 + 4418A + 1803B - 3050AA - 373BB - 2344AB \tag{10}$$

The surface plot and iso-response curve are shown in Figure 11.



(a)

Figure 11. Cont.

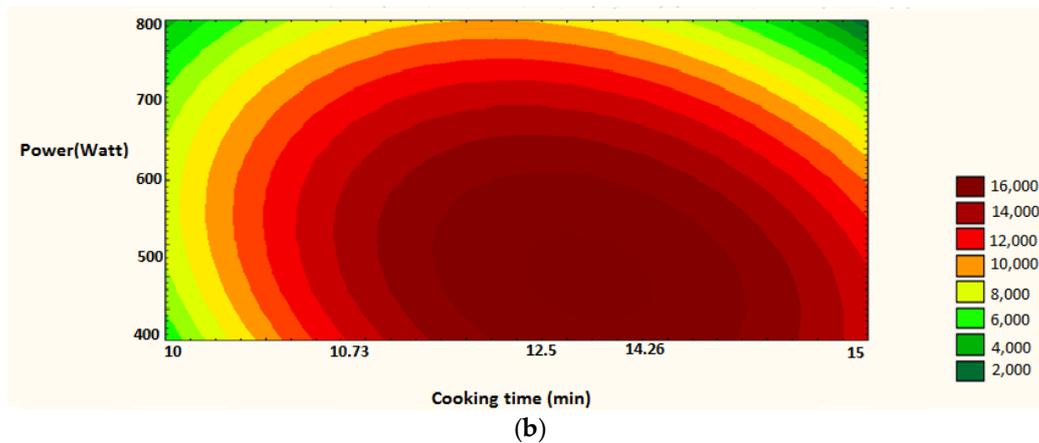


Figure 11. Surface plot and iso-response curve of polyphenols as a function of both factors time of cooking and microwave power. (a): surface plot; (b): iso-response curve.

The optimum conditions obtained are as follows: cooking time: 13.23 min, power: 448.48 Watts (Figure 12), and the predicted polyphenol content is 16,210 µg GAE.

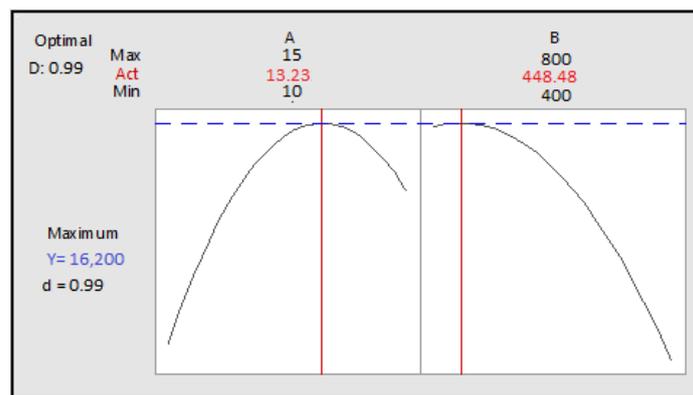


Figure 12. Optimization of two cooking time and power according to desirability; A: cooking time; B: power.

The optimum values obtained were verified experimentally (Table 5). There is no significant difference between the measured and predicted values, which confirms the validation of the model.

Table 5. Confirmation results of the model with the measured values and the predicted values of the studied responses.

Points	Predicted Polyphenol Content (µg GAE/g of Extract)	Measured Polyphenol Content (µg GAE/g of Extract)
(13.23 min, 448.48 Watts)	16,210 ^a	16,208.99 ^a

The superscript letter a indicates a significant difference at the 0.05 significance level.

3.2. Effect of Cooking on Total Polyphenol Content

There is a significant difference ($p < 0.05$) between the total polyphenol contents of raw potato, steam cooked, cooked in water, and microwaved (Figure 13).

These results indicate the richness of the potato in polyphenols, which has been proved by several studies [20,33–35]. The results obtained show that the three modes of cooking cause a decrease in the total polyphenol contents. The polyphenols are lost to different degrees according to the method of cooking, the classification of the polyphenol contents places the microwave in the first position,

then comes the steam cooking and lastly the cooking in the water. The analysis of the cooking waters showed the presence of the phenolic compounds but at very low levels. The boiling water contains a high total polyphenol content relative to that obtained from steam cooking, and this is confirmed by the analysis of the variance where a significant difference was obtained between the two grades.

Several studies have shown that the cooking method reduces total phenolic content [20,21,36,37]. This decrease may be due to the thermal destruction of these compounds [17,38,39] and the solubilization of certain phenolic compounds in cooking water [40,41].

The chemical structure strongly influences the loss of total polyphenols, which may explain the differences between the three modes of cooking, as polyphenols are grouped into subclasses with common chemical skeletons, components of the same sub-class are affected differently by cooking. These variations can be explained by the hydroxylation scheme, sugar bonding, molecular size, polarity, and solubility of these compounds [21].

The decrease in polyphenol content during microwaving may be caused by the breakdown of weak hydrogen bonds by dipolar rotation of molecules [42]. This treatment accelerates the breakdown of the cells by causing a rapid increase in temperature and internal pressure in the walls of plant cells, which can lead to thermal destruction of polyphenols [43,44].

Referring to the bibliography, the results obtained on the effect of cooking on some phenolic compounds are contradictory. Several studies have confirmed that different cooking methods reduce phenolic compounds in potatoes, regardless of the cooking conditions: high cooking temperature levels, long duration, or a combination of factors [20], which is used to describe the temperature of the baking process [36,45].

Perla et al. [20] studied the impact of boiling and microwave cooking methods on potato phenolic compounds of five varieties with different skin and flesh colors after six months of storage. The level of phenolic compounds was reduced by both cooking methods, but boiling minimized these losses.

Mulinacci et al. [46] studied the effect of two cooking methods (boiling and microwave) on the phenolic and anthocyanin content of three varieties of potato.

Burgos et al. [47] showed that cooking of unpeeled potatoes did not cause any loss of phenolic compounds.

However, some authors have reported that cooking increases the content of these compounds, and this increase is attributed to the facilitated release of phenolic compounds previously bound to the cellular constituents during cooking. This release would compensate for any thermal degradation loss [48]. Navarre et al. [49] demonstrated that cooking in water lasting 18 min results in an increase in total polyphenol contents.

According to Faller and Fialho [22], cooking of the potato for 6.5 min increases the content of hydrolysable polyphenols. On the other hand it reduces the rate of soluble fractions. This result may explain the decrease in the phenolic acid and tannin content of the potato.

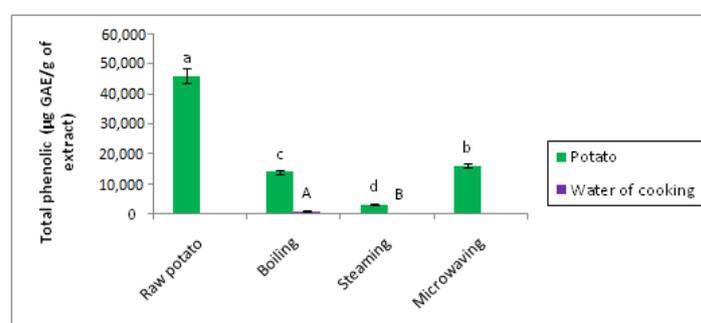


Figure 13. Effect of cooking on the total polyphenol content of potatoes. The superscript letters a, b, c, d, and e indicate a significant difference between raw and cooked potato at the 0.05 significance level. The superscript letters A, B indicate a significant difference between water of boiling and water of steaming at the 0.05 significance level.

3.3. LC-MS/MS Analysis

Changes in the contents of 27 components were measured after boiling, steaming and microwaving of potato (Table 6). LC-MS/MS analysis showed that the potato contains considerable amounts of tr-caffeic acid, apigenin, rhamnetin and chrysin. The cooking waters have small amounts of phenolic compounds. Analysis of the steaming water showed the presence of quinic acid, malic acid, chlorogenic acid, protocatechuic acid, tannic acid, and tr-caffeic acid with the appearance of two phenolic compounds which have not been detected in the plant matrix and are: 4-OH benzoic acid and quercetin. The identification and quantification of the phenolic compounds before and after cooking confirmed the spectrophotometric assay results. The three modes of cooking cause a decrease in the phenolic compounds; the microwave mode was the most effective in retaining the phenolic content. The cooking waters have small amounts of polyphenols. During the culinary treatment of potatoes, its intracellular structures undergo degradation, resulting in the release of phenolic acids from their non-soluble complexes [17].

The most poorly retained compounds were p-coumaric acid and rosmarinic acid, which were found in trace amounts in the case of cooking in water, and totally lost in the case of steam cooking. Although retention varied widely between polyphenols, many were affected in the same way by the three modes of cooking studied. The content of certain phenolic acids, chlorogenic acid, protocatechuic acid, tannic acid, and tr-caffeic acid remained almost stable during treatment despite their presence and solubilization in the cooking waters, this is probably due to their production by the breakdown of more complex polyphenols [21].

A slight increase in coumarin after cooking and the appearance of two phenolic compounds in the steam cooking water that were not detected in the vegetable matrix (4-OH benzoic acid and quercetin) may be due to the release of the aglycones following the breakdown of more complex glycosides or esters during the treatment. In addition, certain phenolics may also be linked to non-digestible components of the food matrix, and breakage of the cellular structure by treatment can cause their release and solubilization [50].

These results are different from those obtained by Tudela et al. [17], which resulted in about 50% chlorogenic acid loss and Dao and Friedman [51], who showed that boiling decreased the amount of this acid–phenol ratio of 60%. The lowest changes in chlorogenic acid content were observed after microwave cooking, of –45% [36].

Table 6. Liquid chromatography tandem-mass spectrometry (LC-MS/MS) analysis.

No.	Compound	Ion Parent (<i>m/z</i>)	MS2 (Collision Energy)	Quantification ($\mu\text{g Analyte/g of Extract}$)					
				RP	BP	SP	MP	WB	WS
1	Acid quinic	190.95	85 (22), 93 (22)	250.87	100.54	234.98	243.76	ND	42.67
2	Mallic acid	133.05	115 (14), 71 (17)	340.67	90.65	338.76	339.76	ND	34.76
3	Ferrulic Acid	172.85	85 (12), 129 (9)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	Gallic acid	169.05	125 (14), 79 (25)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	Chlorogenicacid	353	191 (17)	14,500.87	4490.76	4497.87	4498.78	67.67	56.78
6	protocatéchic acid	152.95	109 (16), 108 (26)	5500.66	5499.56	5500.21	5500.65	2500.78	49.78
7	Tannicacid	182.95	124 (22), 78 (34)	7032.373	7029.65	7030.76	7031.87	3500.78	49.98
8	Caféic acid	178.95	135 (15), 134 (24), 89 (31)	20,011.193	8907.87	9345.78	10,000.76	4500.78	52.78
9	Vanillin	151.05	136 (17), 92 (21)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	<i>P</i> -coumarique Acid	162.95	119 (15), 93 (31)	7058.25	345.76	ND	540.76	ND	ND
11	rosmarinic Acid	358.9	161 (17), 133 (42)	8054.233	209.76	ND	7098.76	ND	ND
12	Hesperidin	611.1	303,465	ND	ND	ND	ND	ND	ND
13	Rutin	609.1	300 (37), 271 (51), 301 (38)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	Hyperoside	463.1	300, 301	ND	ND	ND	ND	ND	ND
15	4-OH benzoïc acid	136.95	93, 65	ND	ND	ND	ND	ND	60.43
16	Salicylic acid	136.95	93, 65, 75	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	Myricetin	317	179, 151, 137	4657.87	367.76	4569.76	456.78	ND	ND
18	Coumarin	146.95	103, 91, 77	5098.76	567.78	5089.54	5088.76	ND	ND
19	Kaempferol	264.95	217, 133, 151	119.76	89.76	99.76	99.45	ND	ND
20	Quercetin	300.9	179, 151, 121	ND	ND	ND	ND	ND	56.87
21	Hesperetin	300.95	164, 136, 108	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	Naringinin	270.95	151, 119, 107	218 .123	217.99	218.06	218.16	ND	ND
23	Luteoléin	284.95	175, 151, 133	225.980	224.76	225	112.78	ND	ND
24	Fisetin	284.95	135, 121	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	Apigenin	268.95	151, 117	9452.76	450.76	9065.78	5687.78	ND	ND
26	Rhamnetin	314.95	165, 121, 300	8564.78	345.99	567.98	789.87	ND	ND
27	Chrysin	253	143, 119, 107	5456.65	234.78	709.78	4987.76	ND	ND

RP: raw potato; BP: boiling potato; SP: steaming potato; MP: microwaving potato; WB: water of boiling; WS: water of steaming; ND: no determined.

3.4. Antioxidant Activity

For the evaluation of the antioxidant activity, three methods were used. For each method two approaches are applied: on the one hand, determination of the relative reduction of DPPH, ABTS, and the reduction of copper, and determination, on the other hand, of the amount of antioxidant necessary to reduce 50% DPPH, ABTS, and Cu²⁺.

The antioxidant activities of raw and cooked (in water, steam, and microwave) potato extracts were tested and then compared to those of a reference antioxidant, Butylated hydroxyanisole (BHA). The results obtained for the three methods are presented in the Figure 14.

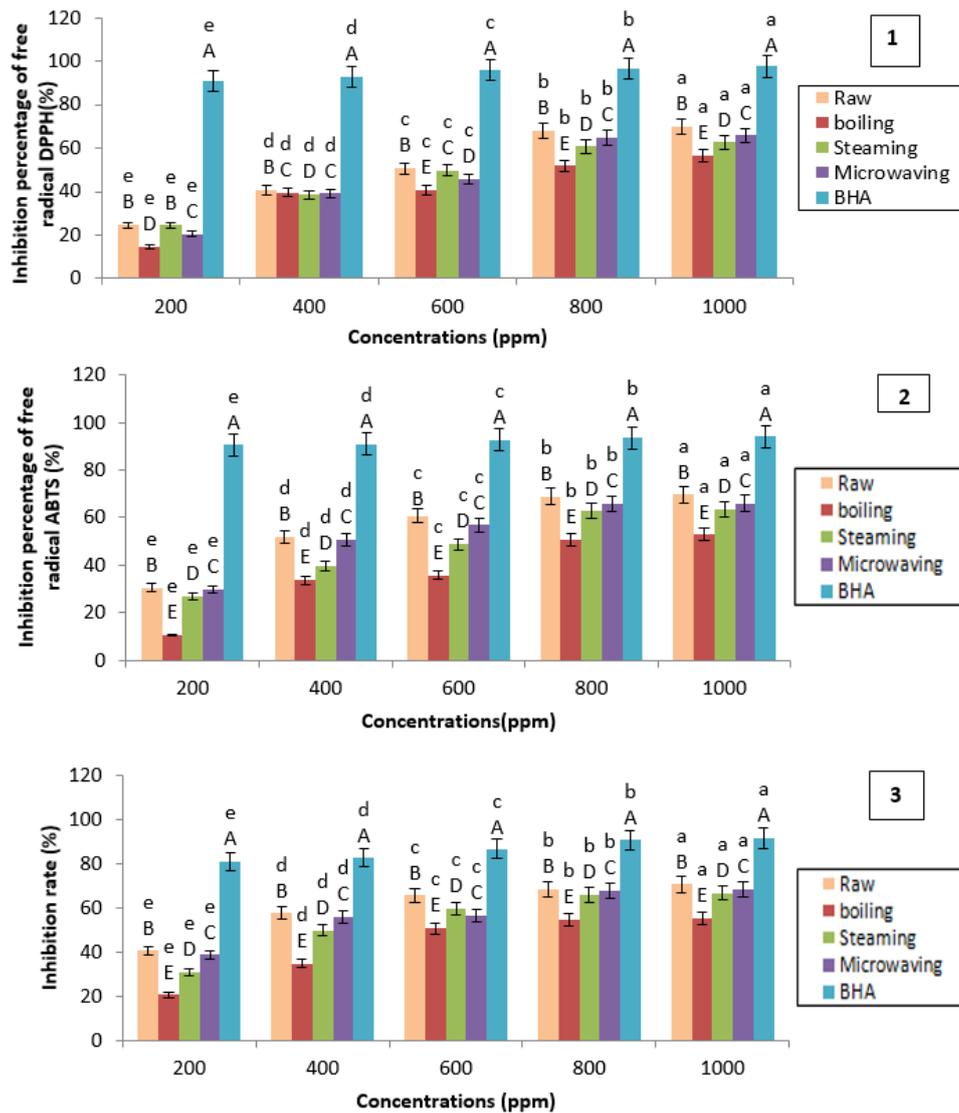


Figure 14. Evaluation of antioxidant activity: 1: 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) method; 2: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) method; 3: Cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method. BHA: Butylated hydroxyanisole. The superscript letters A, B, C, D, and E indicate a significant difference between antioxidant activities of raw and cooked potatoes at the same concentration of extract (ppm) (at the 0.05 significance level). The superscript letters a, b, c, d, and e indicate a significant difference between antioxidant activities of raw and cooked potatoes at different concentrations of extract (ppm) at the 0.05 significance level.

The results of the three methods of evaluating reductive activity expressed in I% clearly show that the potato extract has a moderate antioxidant power. The antioxidant activity increases with increasing concentration of the extract. This antioxidant activity was reduced by cooking to different degrees according to the cooking method. The classification of the cooking modes according to the degree of reduction of the antioxidant activity places the cooking in the microwave in the first position, then comes the steaming and, lastly, the cooking in water. The decrease in antioxidant activity may be related to the reduction of polyphenols by the various methods of cooking. Generally, the literature reports that there is a relationship between the content of phenolic compounds and antioxidant properties [52]. According to Hayes et al. [53] the antioxidant activity generally depends on the number and the position of the hydroxyl groups relative to the functional carboxyl groups. Montoro et al. [54] have shown that flavonoids are compounds exhibit high antioxidant activity. Caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid), one of the main hydroxycinnamic acids present in the potato extract, has been identified as one of the active antioxidants. Gulcin [55] evaluated the antioxidant activity of caffeic acid using different in vitro antioxidant tests, such as 2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), antiradical activity of 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH). The caffeic acid showed a potent antioxidant activity compared to the reference antioxidants (BHA, BHT, and α -Tocopherol).

These results are confirmed by the calculation of the parameter IC_{50} (Table 7). The results of ANOVA analysis showed a significant difference ($p < 0.05$) between the IC_{50} s of raw and cooked potatoes (in water, steam, and microwave), and this has been observed for all the methods applied for the evaluation of the antioxidant activity.

From these results, it is noted that the IC_{50} of the cooked potatoes are higher than the IC_{50} of the raw potato. This indicates a decrease in antioxidant activity by the cooking process. The mode of cooking potatoes “in water” showed the highest IC_{50} , i.e., the lowest antioxidant activity, followed by steaming and cooking in water. Potato IC_{50} s are lower than IC_{50} BHA, meaning that raw and cooked potatoes have lower antioxidant activity than the reference antioxidant.

Similar results have also been obtained in previous studies.

According to Tian et al. [56], a moderate reduction in activity was observed after boiling and cooking in the microwave, while steaming reduced antioxidant activity by 21.57%.

Perla et al. [20] recorded significant decreases of 42.22% and 50.47% in the radical–antiradical activity due to boiling and microwaving.

Lemos et al. [57] also reported that cooking decreased the antioxidant activity of potatoes.

According to Faller and Fialho [22] cooking led to reductions in antioxidant capacity for most vegetables, with small differences between boiling, microwaving, and steaming. The polyphenols showed a positive correlation with antioxidant capacity in raw and cooked potatoes.

Table 7. Half-maximal inhibitory concentration IC_{50} values.

Extracts of Potato	DPPH	ABTS	CUPRAC
Raw	586.65 \pm 0.76 ^d	380.67 \pm 0.23 ^d	300.87 \pm 0.26 ^d
Boiling	703.54 \pm 0.56 ^a	686.76 \pm 0.49 ^a	592.78 \pm 0.74 ^a
Steaming	620.76 \pm 0.89 ^b	610.76 \pm 0.67 ^b	410 \pm 0.25 ^b
Microwaving	609.8 \pm 0.23 ^c	395.65 \pm 0.98 ^c	330.65 \pm 0.14 ^c
BHA	85.13 \pm 0.45 ^e	86.56 \pm 0.34 ^e	96.5 \pm 0.09 ^e

The superscript letters a, b, c, d, and e indicate a significant difference at the 0.05 significance level. DPPH: 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl; ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid); CUPRAC: cupric reducing antioxidant capacity; BHA: Butylated hydroxyanisole.

3.5. Anticholinesterase Activity

The antiacetylcholinesterase and antibutyrylcholinesterase activities of raw and cooked potato extracts (in water, steam, and microwave) were tested and then compared to that of a reference inhibitor, galantamine. The results obtained are presented in the Figure 15.

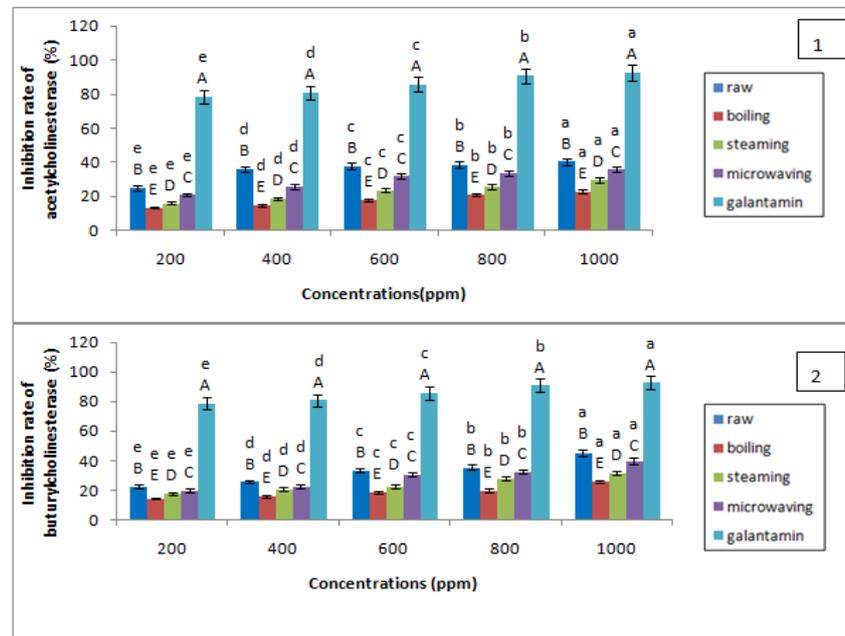


Figure 15. Evaluation of anticholinesterase activity of raw and cooked potato extracts: 1: antiacetylcholinesterase activity; and 2: antibutyrylcholinesterase activity. The superscript letters A, B, C, D, and E indicate a significant difference between anticholinesterase activities of raw and cooked potatoes at the same concentration of extract (ppm) (at the 0.05 significance level). The superscript letters a, b, c, d, and e indicate a significant difference between anticholinesterase activities of raw and cooked potatoes at different concentrations of extract (ppm) at the 0.05 significance level.

Potato extracts showed low inhibitory activity of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE). A decrease in anticholinesterase activity was obtained after cooking, a significant difference ($p < 0.05$) exists between the raw potato and the cooked samples and the different concentrations of the extract.

This activity was decreased by cooking to different degrees according to the cooking method. The classification of the cooking modes according to the degree of reduction of the anticholinesterase activity places the microwave in the first position, then steam cooking and, lastly, cooking in water. From the values obtained, there is a significant difference ($p < 0.05$) between the raw potato, cooked potato, and the galantamine.

The raw and cooked potato extracts exhibit high IC_{50} s for anti-acetylcholinesterase activity and antibutyrylcholinesterase activity, indicating low anticholinesterase activity (Table 8). The IC_{50} obtained for the galantamine used as a reference molecule is much lower than those of the extract, so galantamine has a better inhibitory activity of AChE and BChE. Galantamine is widely used as a reference substance in *in vitro* assays because of its strong inhibitory effect on AChE [58]. Today, it is authorized in several European countries as a treatment for AD in advanced stages [59].

Table 8. Half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) values for anticholinesterase activity.

Extracts of Potato	Anti-acetylcholinesterase Activity	Antibutrylcholinesterase Activity
Raw	1105.29 ± 0.24 ^d	1087.84 ± 0.54 ^d
Boiling	2471.27 ± 0.67 ^a	2129.42 ± 0.21 ^a
Steaming	1967.72 ± 0.98 ^b	1611.22 ± 0.18 ^b
Microwaving	1363.6 ± 0.56 ^c	1234.68 ± 0.54 ^c
Galantamin	84.23 ± 0.21 ^e	86.56 ± 0.08 ^e

The superscript letters a, b, c, d, and e indicate a significant difference at the 0.05 significance level.

The mode of cooking potatoes “in water” showed the highest IC₅₀, i.e., the lowest anticholinesterase activity, followed by steaming and cooking in water.

Although most of the known potato inhibitors of the AChE enzyme are alkaloids [60] several studies have recently been carried out to identify other natural molecules that may have significant anti-AChE activity

Thus, according to Houghton et al. [61], several compounds, other than alkaloids, have a high ability to inhibit the AChE enzyme, such as terpenoids, phenolic compounds, flavonoids and isocoumarins. Several studies have shown strong anticholinesterase activity of phenolic compounds [62–64].

Several studies have shown the correlation between phenolic compounds and anticholinesterase activity. Several natural polyphenols have shown anticholinesterase effects [65]. In most in vivo studies, the anticholinergic activity of polyphenol was accompanied by an improvement in cognitive functions, such as learning and memory [66].

However, the exact mechanism of interaction with polyphenols in the cholinergic system is not yet clear [65].

Despite the richness of the potato raw and cooked in polyphenols, low anticholinesterase activity was obtained. This may be due to the nature and chemical structure, as well as the synergy and interactions between the polyphenols before and after cooking.

The number and position of the other hydroxyl groups in the molecules tested played a minor role in this context. Aglycones were the most effective cholinesterase inhibitors of their corresponding glycosylated forms. Overall, the results show that phenolic acids can play a role in neuroprotection [60].

Szwajgier [67] measured anticholinesterase activities of nine phenolic acids and six flavonoids, alone or in combination. The synergy/antagonism/lack of interaction between the compounds was evaluated taking into account the statistical significance. The modified spectrophotometric method of Ellman was used for the measurement of anticholinesterase activity. Anti-acetylcholinesterase activities were classified in this order: homogentisic acid > 4-hydroxyphenylpyruvic acid > nordihydroguaiaretic acid > rosmarinic acid > caffeic acid > acid gallic > homovanillic acid > sinapic acid. In most cases, a paired interaction of these phenolic compounds: *p*-hydroxyphenylpyruvic, caffeic, chlorogenic, gentisic, and homogentisic acids and nordihydroguaiaretic, rosmarinic acids have a lower inhibitory activity ($p < 0.05$) to the compound activity alone. In addition, interactions between phenolic acids in pairs with flavonoids (cyanidin, delphinidin, kaempferol, myricetin, phloridzine, pelargonidin, or quercetin), in most cases, have a lower inhibitory activity than that calculated separately for the two compounds ($p > 0.05$).

4. Conclusions

The results obtained in this study indicate that cooking has a negative impact on total phenolic content, antioxidant, and anticholinesterase activities of the Spunta variety of potato. Results obtained for the three cooking modes are different, which is due to the difference in the type of polyphenol bonds with the various components of potato matrix, extraction parameters, and analysis procedures. However, cooking in a microwave oven can be suggested as the best method of cooking to preserve

phenolic compounds in these cases, as potato tissue is not placed in direct contact with hot water and the leaching of compounds in water is minimized.

Acknowledgments: The authors are thankful to I.N.A.T.A.A. (Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires, Université des Frères Mentouri-Constantine 1) for its support in this study.

Author Contributions: I.L. performed the experiments, data analysis and interpretation, wrote the paper; M.B. supervised the study and contributed in data analysis and interpretation.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Kaulman, A.; Bohn, T. Carotenoids inflammation and oxidative stress-implications of cellular signalling pathways and relation disease prevention. *Nutr. Res.* **2014**, *34*, 907–929. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Aune, D.; Chan, D.S.; Vieira, A.R.; Navarro Rosenblatt, D.A.; Vieira, R.; Greenwood, D.C.; Norat, T. Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am. J. Clin. Nutr.* **2012**, *96*, 356–373. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Boeing, H.; Bechthold, A.; Bub, A.; Ellinger, S.; Haller, D.; Kroke, A.; LeschikBonnet, E.; Müller, M.J.; Oberritter, H.; Schulze, M.; et al. Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *Eur. J. Nutr.* **2012**, *51*, 637–663. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Chiva-Blanch, G.; Visioli, F. Polyphenols and health: Moving beyond antioxidants. *J. Berry Res.* **2012**, *2*, 63–71.
5. Giampieri, F.; Tulipani, S.; Alvarez-Suarez, J.M.; Quiles, J.L.; Mezzetti, B.; Battino, M. The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition* **2012**, *28*, 9–19. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Zhao, L.; Lee, J.Y.; Hwang, D.H. Inhibition of pattern recognition receptor-mediated inflammation by bioactive phytochemicals. *Nutr. Rev.* **2011**, *69*, 310–320. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Singh, M.; Singh, P.; Shukla, Y. New strategies in cancer chemoprevention by phytochemicals. *Front. Biosci. (Elite Ed.)* **2012**, *4*, 426–452. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Baldrick, F.R.; Woodside, J.V.; Elborn, J.S.; Young, I.S.; McKinley, M.C. Biomarkers of fruit and vegetable intake in human intervention studies: A systematic review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2011**, *51*, 795–815. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Henning, S.M.; Yang, J.; Hsu, M.; Lee, R.P.; Grojean, E.M.; Ly, A.; Tseng, C.H.; Heber, D.; Li, Z. Decaffeinated green and black tea polyphenols decrease weight gain and alter microbiome populations and function in diet-induced obese mice. *Eur. J. Nutr.* **2017**, 1–11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Palermo, M.; Pellegrini, N.; Foglianoc, V. Effect of cooking on vegetable phytochemicals. *J. Sci. Food Agric.* **2014**, *94*, 1057–1107. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Dal-Pan, A.; Bourassa, S.D.; Morgane, P.B.; Cynthia, T.; Yves, D.; Calon, F. Cognitive-Enhancing Effects of a Polyphenols-Rich Extract from Fruits without Changes in Neuropathology in an Animal Model of Alzheimer's Disease. *J. Alzheimers Dis.* **2017**, *55*, 115–135. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Ayaz, M.; Junaid, M.; Ahmed, J.; Ullah, F.; Sadiq, A.; Ahmad, S.; Imran, M. Phenolic contents, antioxidant and anticholinesterase potentials of crude extract, subsequent fractions and crude saponins from *Polygonum hydropiper* L. *BMC Complement. Altern. Med.* **2014**, *14*, 145. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. NunesTavares, N.; Santos, L.E.; Stutz, B.; BritoMoreira, J.; Klein, W.L.; Ferreira, S.T.; de Mello, F.G. Inhibition of choline acetyltransferase as a mechanism for cholinergic dysfunction induced by amyloid-peptide oligomers. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 19377–19385. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Lee, S.H.; Kim, K.R.; Ryu, S.Y.; Son, S.; Hong, H.S.; MookJung, I.; Lee, S.H.; Ho, W.K. Impaired short-term plasticity in mossy fiber synapses caused by mitochondrial dysfunction of dentate granule cells is the earliest synaptic deficit in a mouse model of Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* **2012**, *32*, 5953–5963. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Akyol, H.; Riciputi, Y.; Capanoglu, E.; Caboni, M.F.; Verardo, V. Phenolic compounds in the potato and its byproducts: An overview. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*, 835. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Tiwari, U.; Cummins, E. Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and vegetables during pre-and post-harvest food processing operations. *Food Res. Int.* **2013**, *50*, 497–506. [[CrossRef](#)]

17. Tudela, J.A.; Cantos, E.; Espin, J.C.; Tomás-Barberán, F.A.; Gil, M.I. Induction of Antioxidant Flavonol Biosynthesis in Fresh-Cut Potatoes. Effect of Domestic Cooking. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5925–5931. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Im, H.W.; Suh, B.S.; Lee, S.U.; Kozukue, N.; Ohnisi-Kameyama, M.; Levin, C.E.; Friedman, M. Analysis of Phenolic Compounds by High-Performance Liquid Chromatography and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry in Potato Plant Flowers, Leaves, Stems, and Tubers and in Home-Processed Potatoes. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 3341–3349. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Xu, B.; Chang, S.K.C. Phytochemical Profiles and Health-Promoting Effects of Cool-Season Food Legumes As Influenced by Thermal Processing. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 10718–107131. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Perla, V.; Holm, D.G.; Jayanty, S. Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. *LWT* **2012**, *45*, 161–171. [[CrossRef](#)]
21. Rothwell, J.A.; Medina-Remon, A.; Pérez-Jiménez, J.; Neveu, V.; Knaze, V.; Slimani, N.; Scalbert, A. Effects of food processing on polyphenol contents: A systematic analysis using Phenol-Explorer data. *Mol. Nutr. Food Res.* **2015**, *59*, 160–170. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Faller, A.L.K.; Fialho, E. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Res. Int.* **2009**, *42*, 210–215. [[CrossRef](#)]
23. Ignat, I.; Volf, I.; Popa, V.I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.* **2011**, *126*, 1821–1835. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Plackett, R.L.; Burman, J.P. The Design of Optimum Multifactorial Experiments. *Biometrika* **1946**, *33*, 305–325. [[CrossRef](#)]
25. Kim, A.N.; Kim, H.J.; Kerr, W.L.; Choi, S.G. The effect of grinding at various vacuum levels on the color, phenolics, and antioxidant properties of apple. *Food Chem.* **2017**, *216*, 234–242. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Verma, U.; Naik, J.B.; Patil, J.S.; Yadava, S.K. Screening of process variables to enhance the solubility of famotidine with 2-HydroxyPropyl- β -Cyclodextrin & PVP K-30 by using Plackett-Burman design approach. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* **2017**, *77*, 282–292. [[PubMed](#)]
27. Almansooria, A.F.; Abu Hasanb, H.; Idrisa, M.; Sheikh Abdullah, S.R.; Anuarb, N.; Musa Tibind, E.M. Biosurfactant production by the hydrocarbon-degrading bacteria (*HDB Serratia marcescens*): Optimization using central composite design (CCD). *J. Ind. Eng. Chem.* **2017**, *47*, 272–280. [[CrossRef](#)]
28. Waterhouse, A. Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine. *Food Anal. Chem.* **1999**, *299*, 152–178.
29. Blois, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **1958**, *181*, 1199–1200. [[CrossRef](#)]
30. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **1999**, *26*, 1231. [[CrossRef](#)]
31. Özyürek, M.; Güçlü, K.; Apak, R. The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *TrAC-Trends Anal. Chem.* **2011**, *30*, 652–664. [[CrossRef](#)]
32. Ellman, G.L.; Courtney, K.D.; Andres, V.; Featherstone, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, *7*, 88–95. [[CrossRef](#)]
33. Deußler, H.; Guignard, C.; Hoffmann, L.; Evers, D. Polyphenol and glycoalkaloid contents in potato cultivars grown in Luxembourg. *Food Chem.* **2012**, *135*, 2814–2824. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Zarzecka, K.; Gugala, M.; Zarzecka, M. Potato as a good source of nutrients. *Postępy Fitoterapii* **2013**, *3*, 191–194. (In Polish)
35. Rytel, E.; Tajner-Czopek, A.; Kita, A.; Aniolowska, M.; Kucharska, A.Z.; Sokol-Letowska, A.; Hamouz, A. Content of polyphenols in coloured and yellow fleshed potatoes during dices processing. *Food Chem.* **2014**, *161*, 224–229. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Friedman, M.; Levin, C.E. Analysis and biological activities of potato glycoalkaloids, calystegine alkaloids, phenolic compounds and anthocyanins. In *Advances in Potato Chemistry and Technology*; Singh, J., Kaur, L., Eds.; Burlington: Burlington, NJ, USA; Academic: Cambridge, MA, USA, 2009; pp. 127–162.
37. Jung, J.K.; Lee, S.U.; Kozukue, N.; Levin, C.; Friedman, M. Distribution of phenolic compounds and antioxidative activities in parts of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) plants and in home processed roots. *J. Food Compos. Anal.* **2011**, *24*, 29–37. [[CrossRef](#)]
38. Vallejo, F.; Tomas-Barberan, F.A.; Garcia-Viguera, C. Phenolic compound contents in edible parts of broccoli inflorescences after domestic cooking. *J. Sci. Food Agric.* **2003**, *83*, 1511–1516. [[CrossRef](#)]

39. Zhao, Y.; Wu, X.; Yu, L.; Chen, P. Retention of polyphenols in blueberries (*Vaccinium corymbosum*) after different cooking methods, using UHPLC–DAD–MS based metabolomics. *J. Food Compos. Anal.* **2017**, *56*, 55–66. [[CrossRef](#)]
40. Makris, D.P.; Rossiter, J.T. Domestic processing of onion bulbs (*Allium cepa*) and Asparagus spears (*Asparagus officinalis*): Effect on flavonol content and antioxidant status. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 3216–3222. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Laib, I.; Barkat, M. Impact of cooking and conservation for twelve days on total polyphenols content, antioxidant and anticholinesterase activities of red onion. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* **2016**, *10*, 270–277. [[CrossRef](#)]
42. Yeoh, S.; Shi, J.; Langrish, T.A.G. Comparisons between different techniques for water-based extraction of pectin from orange peels. *Desalination* **2008**, *218*, 229–237. [[CrossRef](#)]
43. Inoue, T.; Tsubaki, S.; Ogawa, B.; Onishi, K.; Azuma, J.I. Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. *Food Chem.* **2010**, *123*, 542–547. [[CrossRef](#)]
44. Jawad, A.; Langrish, T.A.G. Optimisation of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: The importance of the Maillard reaction. *J. Food Eng.* **2012**, *109*, 162–174.
45. Orsák, M.; Lachman, J.; Vejdová, M.; Pivec, V.; Hamouz, K. Changes of selected secondary metabolites in potatoes and buckwheat caused by UV, γ - and microwave Irradiation. *Rostl. Výroba* **2001**, *47*, 493–500.
46. Mulinacci, N.; Ieri, F.; Giaccherini, C.; Innocenti, M.; Andrenelli, L.; Canova, G.; Saracchi, M.; Casiraghi, M.C. Effect of cooking on the anthocyanins, phenolic acids, glycoalkaloids, and resistant starch content in two pigmented cultivars of *Solanum tuberosum* L. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 11830–11837. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Burgos, G.; Amoros, W.; Munoa, L.; Sosa, P.; Cayhualla, E.; Sanchez, C.; Diaz, C.; Bonierbale, M. Total phenolic, total anthocyanin and phenolic acid concentrations and antioxidant activity of purple-fleshed potatoes as affected by boiling. *J. Food Compos. Anal.* **2013**, *30*, 6–12. [[CrossRef](#)]
48. Dewanto, V.; Wu, X.; Adom, K.K.; Liu, R.H. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 3010–3014. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Navarre, D.A.; Shakya, R.; Holden, M.; Kumar, S. The effect of different cooking methods on phenolics and vitamin C. *Am. J. Potato Res.* **2010**, *87*, 350–359. [[CrossRef](#)]
50. Acosta-Estrada, B.A.; Gutiérrez-Urbe, J.A.; Serna-Saldivar, S.O. Bound phenolics in foods, a review. *Food Chem.* **2012**, *152*, 46–55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Dao, L.; Friedman, M. Chlorophyll, chlorogenic acid, glycoalkaloid and protease inhibitor content of fresh and green potatoes. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 633–639. [[CrossRef](#)]
52. Zhao, H.; Dong, J.; Lu, J.; Chen, J.; Lin, Y.; Shan, L. Effects of extraction solvents mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 7277–7286. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Hayes, J.E.; Allen, P.; Brunton, N.; O’Grady, M.N.; Kerry, J.P. Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chem.* **2011**, *126*, 948–955. [[CrossRef](#)]
54. Montoro, P.; Braca, A.; Pizza, C.; De Tommasi, N. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chem.* **2004**, *92*, 349–355. [[CrossRef](#)]
55. Gülçin, I. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology* **2006**, *217*, 213–220. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Tian, J.; Chen, J.; Ye, X.; Chen, S. Health benefits of the potato affected by domestic cooking: A review. *Food Chem.* **2016**, *22*, 165–175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Lemos, M.A.; Aliyu, M.M.; Hungerford, G. Influence of cooking on the levels of bioactive compounds 472 in Purple Majesty potato observed via chemical and spectroscopic means. *Food Chem.* **2015**, *173*, 462–467. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Lopez, S.; Bastida, J.; Viladomat, F.; Codina, C. Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and Narcissus extracts. *Life Sci.* **2002**, *71*, 2521–2529. [[CrossRef](#)]
59. Sramek, J.J.; Frackiewics, E.J.; Cutler, N.R. Review of the acetylcholinesterase inhibitor galanthamine. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2000**, *9*, 2393–2402. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Szwajgier, D. Anticholinesterase activity of phenolic acids and their derivatives. *Z. Naturforschung C* **2013**, *68*, 125–132. [[CrossRef](#)]
61. Houghton, P.J.; Ren, Y.; Howes, M.J. Acetylcholinesterase inhibitors of plant and fungi. *Nat. Prod. Rep.* **2006**, *23*, 181–199. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

62. Ryu, H.W.; Curtis-Long, M.J.; Jung, S.; Jeong, I.Y.; Kim, D.S.; Kang, K.Y.; Park, K.H. Anticholinesterase potential of flavonols from paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*) and their kinetic studies. *Food Chem.* **2012**, *132*, 1244–1250. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Aderogba, M.A.; Ndhlala, A.R.; Van Staden, J. Acetylcholinesterase inhibitory activity and mutagenic effects of *Croton penduliflorus* leaf extract constituents. *S. Afr. J. Bot.* **2013**, *87*, 48–51. [[CrossRef](#)]
64. Xian, X.; Jianguo, C.; Yunxia, Z.; Quanxi, W.; Jianbo, X. Flavonoid concentrations and bioactivity of flavonoid extracts from 19 species of ferns from China. *Ind. Crops Prod.* **2014**, *58*, 91–98.
65. Zhang, Z.H.; Xi, G.M.; Li, W.C.; Ling, H.Y.; Qu, P.; Fang, X.B. Cyclic-AMP response element binding protein and tau are involved in the neuroprotective mechanisms of nerve growth factor during focal cerebral ischemia/reperfusion in rats. *J. Clin. Neurosci.* **2010**, *17*, 353–356. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Huang, X.T.; Qian, Z.M.; He, X.; Gong, Q.; Wu, K.C.; Jiang, L.R.; Lu, L.N.; Zhu, Z.J.; Zhang, H.Y.; Yung, W.H.; et al. Reducing iron in the brain: A novel pharmacologic mechanism of huperzine A in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **2014**, *35*, 1045–1054. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Szwajgier, D. Anticholinesterase activity of selected phenolic acids and flavonoids—Interaction testing in model solutions. *Ann. Environ. Med.* **2015**, *22*, 690–694. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Full Length Research Paper

Impact of cooking and conservation for twelve days on total polyphenols content, antioxidant and anticholinesterase activities of red onion

Laib I.* and Barkat M.

Laboratory of Biotechnology and Control of Food Quality Bioqual, Inataa, Constantine 1 University, 25000, Algeria.

Received 29 December, 2015; Accepted 25 February, 2016

The objective of this work was to determine the impact of three cooking modes (boiling, steaming and microwaving) and the conservation of onion at 4°C for 12 days on total polyphenol, flavonoid, tannins, phenolic acids contents antioxidant and anticholinesterase activity of red onion: *Allium cepa*. The results showed that the three cooking modes caused an increase of the levels of total polyphenols, flavonoids and tannins, but decreased the levels of phenolic acids. Storage at 4°C for 12 days caused a decrease in levels of total polyphenols, flavonoids, tannins and phenolic acids. A decrease in anti-radical activity during storage was found. Three cooking modes resulted in a decrease in antioxidant activity. However, the use of microwave was more effective as' to higher polyphenol contents. The level of anticholinesterase activity steadily decreased during refrigerated storage and after 12 days it was 1/4 of the value found in the raw material. The raw onion showed a moderate activity which increased after most cooking treatments. The highest level of capacity was observed after microwaving.

Key words: Total polyphenol, flavonoids, tannins, phenolic acid, cooking, conservation, antioxidant activity, anticholinesterase activity, red onion.

INTRODUCTION

Onion (*Allium cepa*) is a versatile vegetable that is consumed fresh as well as in the form of processed products. More recently, there has been renewed attention given to the antioxidant content of onions, because many epidemiological studies suggested that regular consumption of onions in food is associated with a reduced risk of neurodegenerative disorders, many forms of cancer, cataract formation, ulcer development, reduction in symptoms associated with osteoporosis

(NOA), prevention of vascular and heart diseases by inhibition of lipid peroxidation (LPO) and lowering of low density lipoprotein (LDL) cholesterol levels (Kaneko and Baba, 1999; Kawaii et al., 1999; Sanderson et al., 1999; Shutenko et al., 1999; Singh et al., 2009). It is an important food because it supplies various activated phytochemicals such as phenolic acid, flavonoids, organosulfur compounds (OSCs), and anthocyanin (Slimestad et al., 2007).

*Corresponding author. E-mail: mina.laib@gmail.com.

Similarly, protection against neuronal degeneration in Alzheimer's disease can be achieved using natural antioxidants. Acetylcholinesterase inhibitors (AChEI) are used for the treatment of Alzheimer's disease because they enhance neuromediator acetylcholine level (Grossberg, 2003). In contrast, polyphenols and flavonoids have shown certain stability when exposed to high temperatures, a quality that is reflected in the preservation of their antioxidant capacity (Vallejo et al., 2003). Studies performed on different vegetables after cooking or conservation showed that the total polyphenol content and antioxidant capacity could be either higher or lower in comparison to the fresh food (Lombard et al., 2005; Turkmen et al., 2005). The purpose of this study is to analyze differences in the antioxidant, anticholinesterase capacity, and polyphenol retention after preservation and simulated domestic processing (boiling, steaming and microwave).

METHODOLOGY

Samples

Onion samples (*A. cepa* L.) were collected in the region of Djenan el Anab, Beni bechir, 10 km from Skikda, Algeria and they were placed in plastic bags and taken to the laboratory for analysis.

Effect of preserving vegetables on the content of total polyphenols

The effect of preserving vegetables on the content of total polyphenols was studied. Conservation is stopped when a beginning of softening fabrics onion was seen.

Raw vegetables are stored (4°C) in the refrigerator in the laboratory for 12 days. Every two days, an aliquot of these vegetables was washed and cut into small pieces, cooked (in water, steam and microwave), ground and homogenized for analysis.

Sample preparation and cooking

Cooking and pretreatment procedures are reported by Turkmen (2005). Cooking conditions are optimized by preliminary experiments (Miglio et al., 2008). Vegetables (raw or stored) are washed and all inedible parts are removed manually or by using a steel knife. Then, they are cut into small pieces of uniform shapes. 900 g onions are reserved for cooking procedures, using 300 g per method applied. All culinary experiments were performed in triplicate, using 100 g of vegetable each time.

Boiling

Onion (100 g) is placed in a stainless steel pan with 150 ml of distilled water bouillante à 100°C. Cooking time varies between 16 and 18 min. After this procedure, the vegetables are drained to remove excess water and then cooled in a water bath.

Steaming

Onion (100 g) is placed in a stainless steel steam cooker which was covered with a lid and steamed, over boiling water. The baking time

varies between 15 and 20 min. After this step, the vegetables are cooled in a water bath in a steel container.

Microwave

Onion (100 g) is placed in a glass dish in a microwave oven Giant CE137NM (consumption: 220 to 240, operation 245 MHZ frequency, power 1200 W, External Dimensions: 262 mm (H) × 452 mm (W) × 330 mm (D), size of the cavity of the oven: 198 mm (H) × 315 mm (W) × 297 mm (D), oven capacity: 20L Net Weight Env. 10.5 kg). The vegetables are cooked in a microwave oven at full power and then cooled in a water bath, the cooking time is 4 min.

Polyphenol extraction

The samples of raw and cooked vegetables were homogenized using a commercial juice extractor obtaining a fluid vegetable extract (VE). Polyphenols extraction method was adapted from Vinson et al. (2001) and Faller and Fialho (2009).

Briefly, 1 ml of each VE was extracted using 500 µl of 50% methanol (methanol:water, 50:50, v/v) for the soluble polyphenols and 50% methanol (methanol:water, 50:50, v/v) acidified with 1.2 M HCl for the hydrolyzable polyphenols, in screw capped eppendorfs. The samples were then placed in a water bath at 90°C for 180 min with constant shaking. After 3 h, the samples were removed from water bath and cooled at room temperature (approximately 2 min). The volume was adjusted to 1 ml with 95% methanol and the eppendorfs were centrifuged at 12,000 g for 5 min. The supernatants, considered to be polyphenol extracts, were immediately used for the determination of polyphenol content.

Determination of total phenolic content

The total phenolic was determined according to the method of Veloglu et al. (1998) and Ismail et al. (2004) which used Folin-Ciocalteu reagent. Extract was prepared at a concentration of 1 mg/ml. 100 µl of extract was transferred into a test tube and 0.75 ml of Folin-Ciocalteu reagent (previously diluted 10-fold with deionised water) were added and mixed. The mixture was allowed to stand at room temperature for 5 min. 0.75 ml of 6% (w/v) sodium carbonate was added to the mixture and then mixed gently. After standing at room temperature for 90 min, the absorbance was read at 725 nm using a UV-Vis spectrophotometer. The standard calibration (0 to 1000 ppm) curve was plotted using gallic acid. The total phenolic content was expressed as gallic equivalents in microgram per 1 g vegetable extract.

Total flavonoid contents

The total flavonoid content was determined according as the aluminum chloride colorimetric method described by Chang et al. (2002) and Lin and Tang (2007). Briefly, aliquots of 1 g of onion sample were, respectively, dissolved in 1 ml deionized water. This solution (0.5 ml) was mixed with 1.5 ml of 95% alcohol, 0.1 ml of 10% aluminum chloride hexahydrate (AlCl₃), 0.1 ml of 1 M potassium acetate (CH₃COOK), and 2.8 ml of deionized water. After incubation at room temperature for 40 min, the reaction mixture absorbance was measured at 415 nm against deionized water blank.

Quercetin was chosen as a standard. Using a seven point standard curve (0 to 1000 ppm), the levels of total flavonoid contents in fruits and vegetables were determined in triplicate, respectively. The data were expressed as microgram quercetin equivalents (QE)/1 g of fresh matter from onion analysed.

Tannin analysis

Quantitative estimation of tannins was carried out using the modified vanillin-HCl in methanol method described by Price et al. (1978). The method is based on the ability of condensed tannins to react with vanillin in the presence of mineral acid to produce a red color. Ground pulse samples (1 g) were extracted with 20 ml of 1% HCl in methanol for 20 min at 30°C in a water-bath. The samples were centrifuged at 2000 rpm for 4 min. The supernatant (1.0 ml) was reacted with 5 ml vanillin solution (0.5% vanillin + 2% HCl in methanol) for 20 min at 30°C. Blanks were run with 4% HCl in methanol in place of vanillin reagent. Absorbance was read at 500 nm on a UV/VIS spectrophotometer. A standard curve was prepared with catechin. Results were expressed in terms of catechin equivalents. Samples were analyzed in triplicate

Total phenolics acids content

Phenolics acids were determined according to the method of Netzel et al. (2006) and Sigh et al. (2012) with modification. Onion (1 g) were suspended in 0.3 M hydrochloric acid in 80% ethanol (2 ml) and placed in a sonicator for 20 min. The mixture was centrifuged at 2000 g for 10 min and the supernatant was transferred to a clean glass tube. The pellet was suspended in a second aliquot of 0.3 M hydrochloric acid in 80% ethanol (2 ml) and the process repeated. The combined supernatants were made up to 5 ml with 0.3 M hydrochloric acid in 80% ethanol and an aliquot (1 ml) was transferred to an Eppendorf tube and centrifuged at 15,700 g for 5 min, the absorbance was measured at 320 nm. The total phenolic acids, expressed as μg equivalents of chlorogenic acid per g of extract of fresh weight.

Total antioxidant capacity (DPPH)

The antioxidant capacity was measured by the DPPH radical method according to Kuskoski et al. (2006) and Faller and Fialho (2009). Briefly, a 100 μM DPPH solution was prepared with 80% methanol. In test tubes, 100 μl of each VE, fresh or after cooking, was placed, after which was added 3.9 ml of the DPPH solution (100 μM). The mixture was allowed to stand, in the absence of light, and the absorbance was measured at 60 min. The DPPH solution alone was measured before the addition of the samples (A0) and 80% methanol was used as blank. The antioxidant capacity was represented as the percentage radical scavenging capacity (%) remaining after 60 min according to the equation, which represents the absorbance of the DPPH solution alone measured, and the absorbance for each sample at 60 min after the addition of the DPPH solution at 517 nm.

$$\text{Antioxidant activity I\%} = (A_0 - A/A_0) \times 100$$

Anticholinesterase activity

A spectrophotometric method developed by Ellman et al. (1961) and Ertas et al. (2015) was established to indicate the acetylcholinesterase inhibitory effects. Aliquots of 150 μl of 100 mM sodium phosphate buffer (pH 8.0), 10 μl of sample solution and 20 μl of acetylcholinesterase (AChE) or butyrylcholinesterase (BChE) or solution were stirred and incubated for 15 min at 25°C, then 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB, 10 μl) is added to mixture. In the next step, by the addition of acetylthiocholine iodide (10 μl) the reaction was started. At the end, final concentration of the tested solutions was 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$. BioTek Power Wave XS at 412 nm was used to monitor the hydrolysis of these substrates. The experiments were carried out in triplicate. Galanthamine was used as a

reference compound. The percentages of inhibition were calculated by using the following equation:

DTNB (Ellman's reagent), AchE or butyrylcholinesterase BChE

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

Statistical analysis

The results of the antioxidant, anticholinesterase activities and total phenolic-flavonoid, tannins and phenolic acids contents were expressed as means \pm SEM.

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of storage on the levels of total polyphenols and antioxidant activity

Effect of storage on the content of total polyphenols

The concentration values are read directly from the calibration curve established using the reference solution. The following equations were used to calculate total phenolic contents of the extracts: Absorbance = 0.048 gallic acid (μg) + 0.027 ($R^2 = 0.991$). Concentration of the sample is expressed in μg equivalent per gram of extract. The range is plotted for gallic acid concentrations between 0 and 1000 ppm. Onion contains a total polyphenol content of $90.88 \pm 0.4 \mu\text{g}$ EAG/g VE. This quantity decreases with increasing the shelf life of the onion. It appears that storage at 4°C to cause loss of total polyphenols. The levels of total polyphenols obtained after 12 days of storage was $70.22 \pm 1.11 \mu\text{g}$ EAG/g (Figure 1).

The flavonoid content is higher in fresh onion; it corresponds to EQ 70 $\mu\text{g}/\text{g}$ VE. The results showed decreased levels of flavonoids. Storage at 4°C causes a loss of flavonoids after 12 days, the rate of flavonoids was $49.25 \pm 0.6 \mu\text{g}$ EQ/g VE of onion (Figure 2). Conservation has a negative effect on the content of tannins. The results indicate that the decrease in tannin contents depends on the length of storage (Figure 3). Conservation at 4°C of onion causes phenolic acids decrease over time of conservation (Figure 4).

The results obtained show that storage (at 4°C) causes a decrease of the levels of total polyphenols, flavonoids, tannins and phenolic acids. This loss may be due to the effects of enzymatic browning. Polyphenols are converted by the action of the enzyme. They become inaccessible phenolic groups which cause the decrease of the content of total polyphenols, flavonoids, phenolic acids and tannins (Spagna et al., 2005). According Spagna et al. (2005), PPO retains 55% of its activity at 4°C, which is the cause of the decrease in phenolic content during storage in refrigerator. Different authors also observed the negative effect of the storage period on

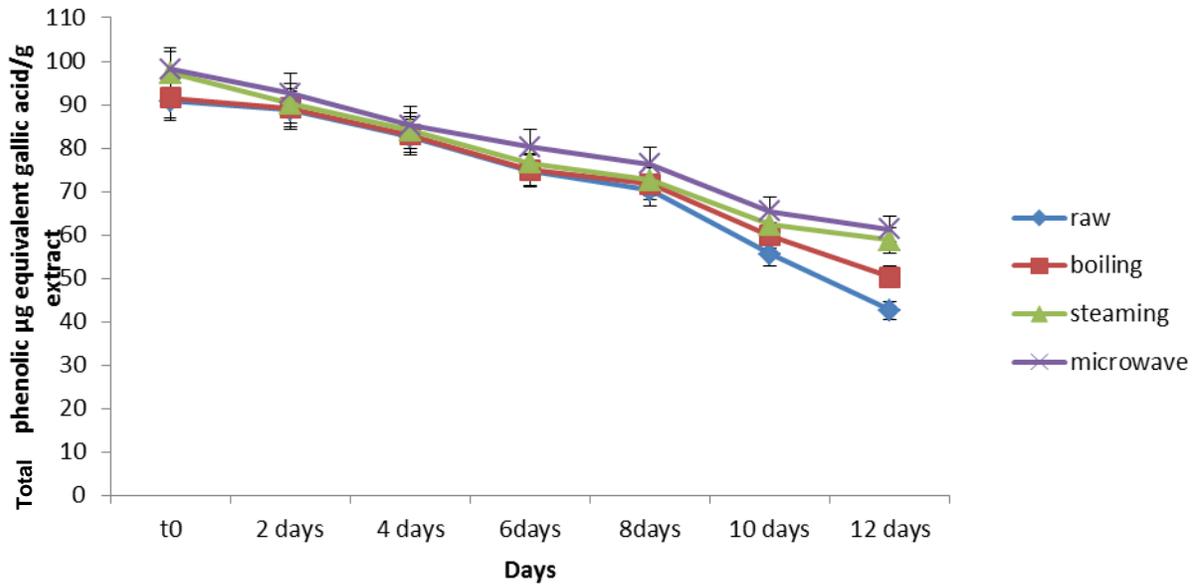


Figure 1. Effect of conservation and cooking on the levels of total polyphenols.

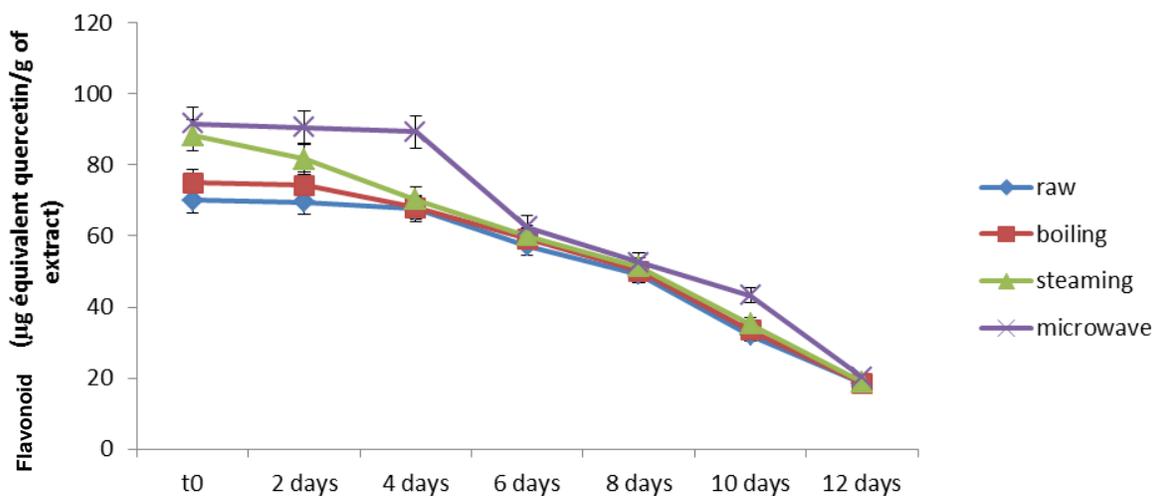


Figure 2. Effect of conservation and cooking on the levels of flavonoids.

the level of the analysed constituents in frozen vegetables.

Cisneros-Zevallos and Heredia (2009) showed that the conservation of onion reduces the levels of total polyphenols. Ferreres et al. (1996) studied the impact of storage content of flavonoids of onion. After 7 days, they found that the content of anthocyanins was significantly decreased. Ewald et al. (1999) showed that loss of the highest flavonoids of onion is obtained when the samples were subjected to a pretreatment before storage. According to Cheyner et al. (1998) and Spigno and De Faveri (2007), the conservation causes a decrease in tannins that could be due to hydrolysis of the polymers of

condensed tannins, or a condensation of tannins with anthocyanes. However, some studies have shown that conservation causes increase in the total polyphenol content in some vegetables. The amount of polyphenols increases spontaneously after 3 days. This is due to the release of tissue senescence (Rodriguez-Arcos et al., 2002).

Antioxidant activity and conservation

It appears that storage contributed to decrease of antioxidant activity (Figure 5). This is due to polyphenols of onion. The main role of these compounds as reducing

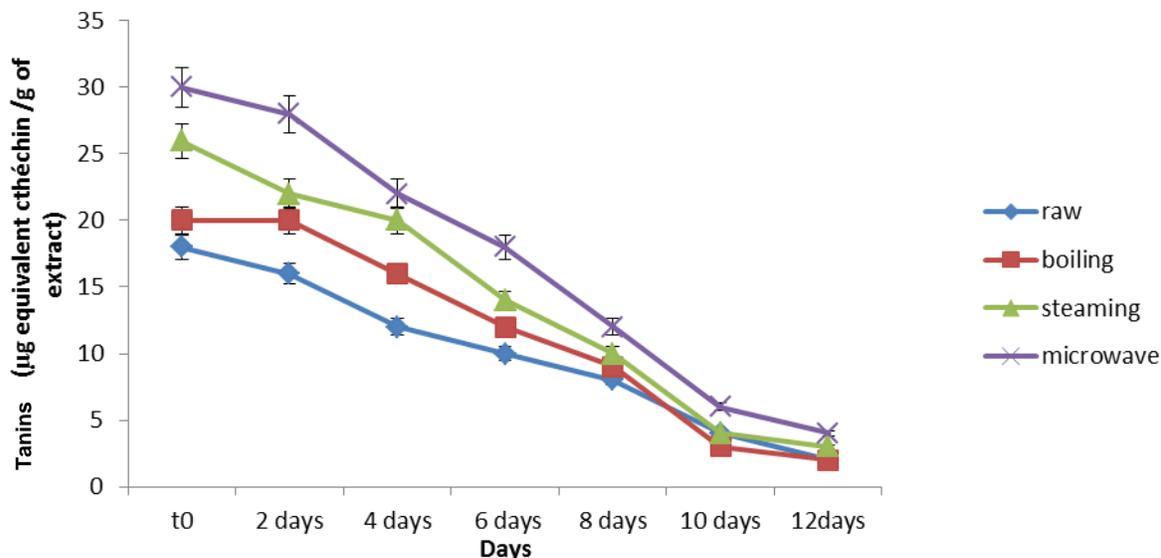


Figure 3. Effect of conservation and cooking on tanins content.

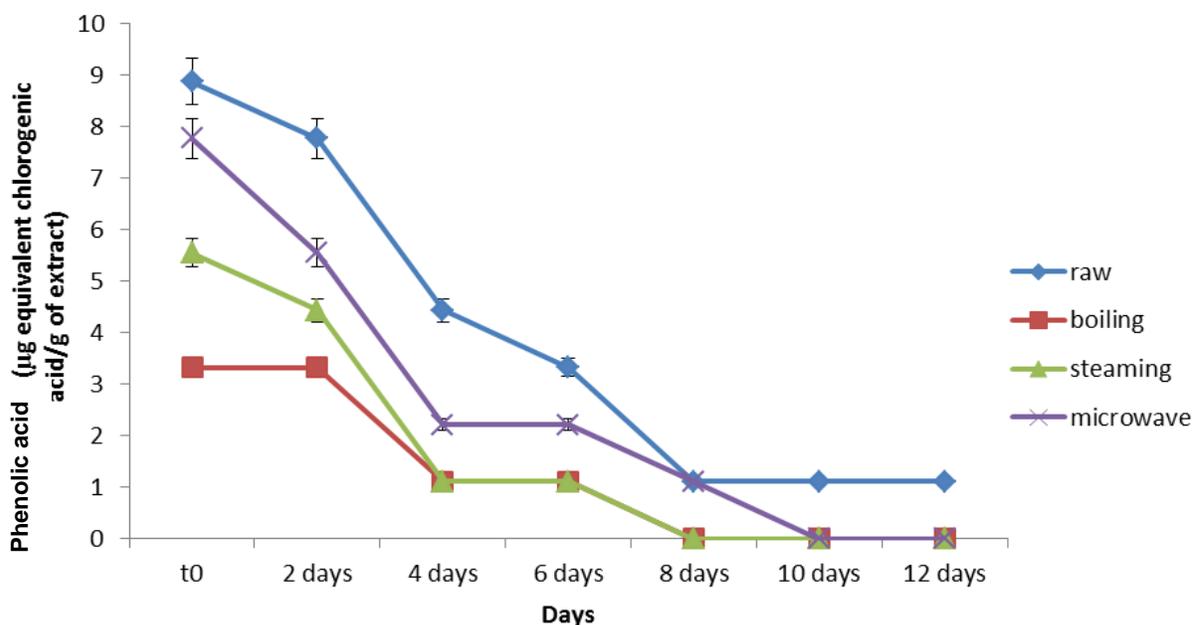


Figure 4. Effect of cooking on the levels of phenolic acids of raw and stored samples.

free radicals is emphasized in several reports. These results are consistent with those obtained by Ewald et al. (1999), Villano et al. (2007), and Cisneros-Zevallos (2009) who found that the conservation of onion causes a decrease in antioxidant capacity.

Effect of cooking on the content of total polyphenols

Figure 1 summarizes the changes in the content of phenolic compounds during the cooking process.

Cooking increases the total polyphenol content for both lots tested (raw and stored onion). However, the use of microwave and steam were more effective as' to higher polyphenol contents.

Dewanto et al. (2002) attributed this increase in phenolics to the embrittlement of tissues with heat cooking which facilitates extraction of these compounds. This release would offset any loss by thermal degradation. The results indicate that the three cooking modes have positive impact on the flavonoid content of

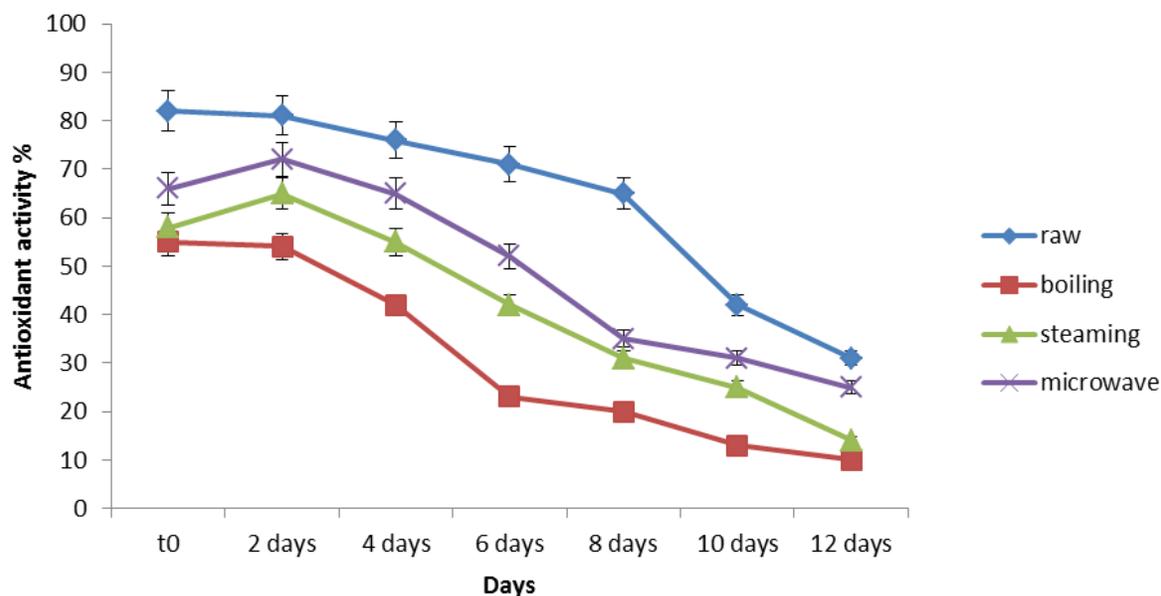


Figure 5. Effect cooking on the antioxidant activity of raw and stored samples.

samples stored at 4°C. However, the use of microwave and steam were more effective. Flavonoids exist as glycoside in food; one or more hydroxyl groups are combined with sugars. The presence of this glycoside fraction makes flavonoids very soluble in water (Figure 2). Increase in the content of tannins is observed for the three cooking modes of raw or stored samples (Figure 3). However, the use of microwave in cooking onion has proved relatively effective in comparison with the other two methods: steaming and boiling water

The results show that the three cooking modes cause an increase in the levels of total polyphenols, flavonoids and tannins, but decrease the levels of phenolic acids (Figure 4). However, the use of microwave and steam were the most effective. Increased levels of total phenolic compounds could be explained by the ease with which they are extracted following certainly a strong weakening of the cell walls of onion by heat (Gahler et al., 2003). Cooking in boiling water is less effective as increase in phenolic compounds; this is due to the solubilization of polyphenols in the cooking water during this type of thermal treatment (Price et al., 1997; Makris and Rossiter, 2001). However, two other cooking methods (by steam and microwave) allow a better retention of soluble polyphenols in plant tissues.

Effect of cooking on the antioxidant activity

Three cooking modes cause a decrease in antioxidant activity of the two samples tested onion (raw and stored) (Figure 5). This result is consistent with that of Fialho and Faller (2009) which showed that cooking in water, steam or microwave decreased antioxidant activity. This activity

is dependent on the mobility of the hydrogen of the hydroxyl group of the phenolic compounds atom. However, there is no relationship between the polyphenol content and antioxidant activity. A small amount of polyphenols can generate strong antioxidant activity (Makris and Rossiter, 2001). Cooking leads to the modification of the amount of polyphenols, but it can also change the structure of polyphenols, which may affect the antioxidant capacity (Makris and Rossiter, 2001). This may explain the decrease in antioxidant activity despite the increase of total polyphenols, flavonoids and tannins.

In addition, each phenolic compound has a degree of affinity (high or low) for free radical DPPH which could affect the antioxidant variations observed (Heim et al., 2002).

Effect of storage and cooking on anticholinesterase activity

The level of anticholinesterase activity steadily decreased during refrigerated storage and after 12 days it was 1/4 of the value found in the raw material (Table 1). The influence of home cooking methods (boiling, microwaving and steaming) on the anticholinesterase activity of raw and stored onion has been evaluated. The raw onion showed a moderate activity which increased after most cooking treatments. The highest level of capacity was observed after microwaving (Table 1). This result indicates that extract of onion contain an acetylcholinesterase inhibitors, which are selective organophosphorus anticholinesterases. The mode of action of these compounds is to block the action of the acetylcholinesterase enzyme, leading to the excessive

Table 1. Anticholinesterase activity of the extracts and standards.

Parameter	Inhibition % against AChE						
	t0	2 Days	4 Days	6 Days	8 Days	10 Days	12 Days
Raw	55.21±0.25	44.5±0.85	41.22±1.1	31.5±0.75	22.5±0.15	22.32±0.65	14.26±0.12
Boiling	56.98±0.95	42.5±1.06	35.25±0.25	32.6±0.26	25.02±0.25	13±0.26	8.08±0.75
Steaming	59.48±1.01	49±0.45	32.02±0.46	22.25±0.13	19±0.89	18.55±0.98	18.12±0.65
Microwave	66.25±0.32	55±0.94	44.13±0.25	29.78±0.09	23.08±0.49	21.77±0.29	20.33±0.35
Galanthamine	88.02±0.22	-	-	-	-	-	-

Values are means ± standard deviation (SD), n = 3.

build-up of the neurotransmitter acetylcholine.

Phenolic compounds are involved in the protective effect of neurodegenerative diseases (Ramassamy, 2006). In addition, previous reports demonstrated the potential of phenolic compounds to inhibit acetylcholinesterase activity (Williams et al., 2011). Because phenolic compounds have different intracellular targets, they can become an efficient approach to reduce the incidence of AD (Ramassamy, 2006).

Literature suggests that vegetables have neuroprotection effects. A prospective cohort study of 3718 human subjects aged 65 years and older based on food frequency questionnaire assessed cognitive functions at baseline and 3- and 6-year follow-ups. The rates of cognitive decline among persons in the fourth and fifth quintiles of vegetable intake were slower by 0.019 (P=0.01) and 0.018 (P=0.02) standardized units per year compared with that among persons in the lowest quintile; the overall mean change per year was a decline of 0.04 standardized units (Morris et al., 2006). Extracts of these fruits and vegetable fed to 19-month-old Fischer 344 rats for 8 weeks reversed age-related deficits in several neuronal and behavioral parameters. Blueberry particularly improves motor function that relies on balance and coordination (Joseph et al., 1999).

Conclusion

The effect of three modes of cooking and conservation at 4°C on total phenolic, flavonoid, tannins, phenolic acid content, antioxidant and anticholinesterase activities of extract of red onion were analyzed. Results indicated that red onion were rich sources of polyphenols and flavonoids and showed the promising antioxidant and free radical scavenging activities. Storage at 4°C reduced the levels of total polyphenols, flavonoids, phenolic acids and tannins. Decreased antioxidant activity was observed during storage temperature 4°C. The three modes of cooking used (water, steam and microwave) increased the levels of total polyphenols, flavonoids and tannins, but decreased the content of phenolic acids.

However, there was a decrease in antioxidant activity after using the three modes of cooking. The microwave

cooking mode has proven most effective as the increase of the polyphenols. The level of anticholinesterase activity decreased during refrigerated storage and after 12 days, it was 1/4 of the value found in the raw material. The raw onion showed a moderate activity which increased after most cooking treatments. The highest level of capacity was observed after microwaving. These results suggest that some common cooking treatments can be used to enhance the nutritional value of vegetables, increasing bioaccessibility of health-promoting constituents.

Conflict of interest

The authors have not declared any conflict of interest

REFERENCES

- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.* 10:178-182.
- Cheyrier W, Souquet JM, Fulcrand H, Sarni P, Moutounet M (1998). Stabilisation Tanins-Anthocyanines: Données Générales. IPV-INRA. Extrait « les composés phénoliques. *J. Tech.* pp. 1-10
- Cisneros-Zevallos L (2009). The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. *Food Chem.* 101:1254-1262.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 50:3010-3014.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharm.* 7:88-95.
- Ertas A, Boga M, Yilmaz MA, Yesil Y, Tel G, Temel H, Hasimi N, Gazioglu I, Ozturk ME, Ugurlu P (2015). Detailed study on the chemical and biological profiles of essential oil and methanol extract of *Thymus nummularius* (Anzer tea): Rosmarinic acid. *Ind. Crops Prod.* 67:336-345.
- Ewald K, Fjellner-Modig S, Johansson K, Sjöholm I, Akesson B (1999). Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans, and peas. *Food Chem.* 64:231-235.
- Faller ALK, Fialho E (2009). The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Res. Int.* 4:210-215.
- Ferreres F, Gil MI, Tomás-Barberán FA (1996). Anthocyanins and flavonoids from shredded red onion and changes during storage in perforated films. *Food Res. Int.* 29:389-395.
- Gahler S, Otto K, Böhm V (2003). Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products. *J. Agric. Food Chem.* 51:7962-7968.

- Grossberg GT (2003). Cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: getting on and staying on. *Curr. Ther. Res.* 64:216-235.
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ (2002) Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 13:572-584.
- Ismail A, Marjan ZM, Foong CW (2004). Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chem.* 87:581-586.
- Joseph JA, Shukitt-Hale B, Denisova NA, Bielinski D, Martin A, McEwen JJ (1999). Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation. *J. Neurosci.* 19:8114-21.
- Kaneko T, Baba N (1999). Protective effect of flavonoids on endothelial cells against linoleic acid hydroperoxide-induced toxicity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63(2):323-328
- Kawai S, Tomono Y, Katase E, Ogawa K, Yano M (1999). Antiproliferative activity of flavonoids on several cancer cell lines. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63(5):896-899.
- Kuskoski EM, Asuero AG, Morales MT, Fett R (2006). Frutos tropicais silvestres polpas de frutas congeladas: Atividade antioxidante, polifenólica e antocianinas. *Cienc Rural* 36:1283-287.
- Lin J, Tang C (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chem.* 101:140-147.
- Lombard K, Peffley E, Geoffriau E, Thompson L, Herring A (2005). Quercetin in onion (*Allium cepa* L.) after heat-treatment. Simulating home preparation. *J. Food Compos. Anal.* 18:571-581.
- Makris DP, Rossiter JT (2001) Domestic processing of onion bulbs (*Allium cepa*) and Asparagus spears (*Asparagus officinalis*): effect on flavonol content and antioxidant status. *J. Agric. Food Chem.* 49:3216-3222.
- Miglio C, Chiavaro E, Visconti A, Fogliano V, Pellegrini N (2008). Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 56(1):139-147.
- Morris MC, Evans DA, Tangney CC, Bienias JL, Wilson RS (2006). Associations of vegetable and fruit consumption with age-related cognitive change. *Neurology* 67:1370-1376.
- Netzel M, Netzel G, Tian QG, Schwartz S, Konczak I (2006). Sources of antioxidant activity in Australian native fruits: Identification and quantification of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 54(26):9820-9826.
- Price KR, Bacon JR, Rhodes MJC (1997). Effect of storage and domestic processing on the content and composition of flavonol glucosides in onion (*Allium cepa*). *J. Agric. Food Chem.* 45:938-942.
- Price KR, Vansoyoc S, Butler LG (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction – An assay for tannins and sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.* 26:1214-1218.
- Ramassamy C (2006). Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets. *Eur. J. Pharmacol.* 545:51-64.
- Rodriguez-Arcos RC, Smith AC, Waldron KW (2002). Effect of storage on wallbound phenolics in green asparagus. *J. Agric. Food Chem.* 50(11):197-203.
- Sanderson J, Mclauchlin W, Williamson G (1999). Quercetin inhibits hydrogen peroxide-induced oxidization of the rat lens. *Free Radic. Biol. Med.* 26(5/6):639-645.
- Shutenko Z, Henry Y, Pinard E, Seylaz J, Potier P, Berthet F, Girard P, Sercombe R (1999). Influence of the antioxidant quercetin in vivo on the level of nitric oxide determined by electron paramagnetic resonance in rat brain during global ischemia and reperfusion. *Biochem. Pharmacol.* 57(2):199-208.
- Singh BN, Singh BR, Singh L, Prakash D, Singh DP, Sarma BK, Upadhyay G, Singh B (2009). Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. *Food Chem. Toxicol.* 47:1161-1167.
- Singh DP, Beloy J, McInerney JK, Li D (2012). Impact of boron, calcium and genetic factors on vitamin C, carotenoids, phenolic acids, anthocyanins and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*). *Food Chem.* 132:1161-1170.
- Slimestad R, Fossen T, Vagen IM (2007). Onions: a source of unique dietary flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 55:10067-10080.
- Spagna G, Barbagallo RN, Chisari M, Branca F (2005). Characterization of a tomato polyphenol oxidase and its role in browning and lycopene content. *J. Agric. Food Chem.* 53(6):2032-2038.
- Spigno G, De Faveri DM (2007). Antioxidants from grape stalks and marc: influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *J. Food Eng.* 78:793-801.
- Turkmen N, Sari F, Velioglu YS (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chem.* 93:713-718.
- Vallejo F, Garcia-Viguera C, Tomas-Barberan FA (2003). Changes in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) health-promoting compounds with inflorescence development. *J. Agric. Food Chem.* 51:3776-3782.
- Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46:4113-4117
- Villano D, Fernandez-Pachon MS, Moya MI, Troncoso AM, Garcia-Parrila MC (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* 71:230-235.
- Vinson JA, Su X, Zubik L, Bose P (2001). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. *J. Agric. Food Chem.* 49:5315-5321.
- Williams P, Sorribas A, Howes MJR (2011). Natural products as a source of Alzheimer's drug leads. *Nat. Prod. Rep.* 28:48-77.

Résumé

Cette étude porte sur l'optimisation des conditions de cuisson et d'extraction des polyphénols de six légumes (pomme de terre, oignon, épinard, aubergine carotte et piment) et l'étude de l'impact du mode de cuisson (par ébullition, à la vapeur et par microonde) sur ces composés et leurs activités biologiques (activité antioxydante et activité anticholinestérase). Pour évaluer la quantité des composés phénoliques extraits à partir des légumes crus et cuits, un plan d'expérience a été réalisé. Les facteurs du plan ont été proposés en relation avec la cuisson (T° , temps, puissance) et la méthode d'extraction des polyphénols (concentration du solvant, temps de macération, d'ultrasonication et broyage). L'étude a été entamée par un criblage des facteurs selon le plan *Plackett-Burmann* pour sélectionner ceux qui ont des effets significatifs sur la réponse "taux et des polyphénols totaux" et une optimisation par un plan composite centré. Un dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux, des flavonoïdes et une analyse LC-MS/MS ont été réalisés pour le suivi de la variation des composés phénoliques après cuisson. De plus, dans ce travail, l'accent a été mis sur les propriétés antioxydantes et anti cholinestérase des composés phénoliques des six légumes crus et cuits. Les résultats obtenus pour les six légumes sont différents, les modes de cuisson par ébullition dans l'eau et à la vapeur ont permis la diminution des taux des polyphénols totaux et des flavonoïdes des six légumes. Tandis que la cuisson par microonde a présenté des effets différents sur les six légumes, elle a montré un effet négatif sur le taux des polyphénols totaux et des flavonoïdes de la pomme de terre, de l'épinard, de la carotte et du piment. Cependant un effet positif a été enregistré sur les polyphénols totaux et les flavonoïdes de l'aubergine. Une rétention de ces composés a été constatée chez l'oignon cuit par microonde. L'impact de la cuisson sur l'activité antioxydante varie d'un légume à un autre. La cuisson a provoqué une diminution de l'activité antioxydante de la pomme de terre, de l'oignon, de la carotte, du piment et de l'épinard cuit à la vapeur. Un effet positif de la cuisson a été enregistré sur le potentiel antioxydant de l'épinard (cuit dans l'eau et par microonde) et de l'aubergine. Les trois méthodes de cuisson ont montré des effets négatifs sur l'activité anticholinestérase de la pomme de terre, de l'épinard et du piment. Par contre, une augmentation de cette activité a été enregistrée pour l'oignon, l'aubergine et la carotte. La cuisson dans l'eau s'est avérée la mauvaise méthode pour la préservation des polyphénols des légumes cuits et leurs activités (activité antioxydante et anticholinestérase). Les pertes des polyphénols sont dues de leur solubilité accrue dans l'eau. Cependant, la cuisson par microonde est suggérée comme la meilleure méthode pour préserver le taux des polyphénols, les activités antioxydante et anticholinestérase des légumes étudiés.

Mots clés : *Optimisation, légume, cuisson, polyphénols totaux, flavonoïdes, activité antioxydante, activité anticholinestérase*

This study focuses on the optimization of the cooking conditions and the extraction of polyphenols from six vegetables (potato, onion, spinach, aubergine carrot and pepper) and the study of the impact of the cooking method (boiling, steaming and microwaving) on these compounds and their biological activities (antioxidant activity and anticholinesterase activity). To evaluate the quantity of phenolic compounds extracted from raw and cooked vegetables, an experiment design was realized. The factors chosen are (Temperature, time, power) for cooking and (solvent concentration, maceration time, ultrasonication and grinding) for polyphenol extraction. The study was initiated by Plackett-Burmann design to perform the screening of factors and to select the most influential on the Y response (total phenolic) and an optimization by exploiting central composite design. Determination of total polyphenols, flavonoids and LC-MS / MS analysis were performed to monitor the variation of phenolic compounds after cooking. In addition, in this work, we analyzed antioxidant and anticholinesterase properties of the phenolic compounds of the six raw and cooked vegetables. The results obtained for the six vegetables are different, boiling in water and steam cooking methods have reduced the levels of total polyphenols and flavonoids of the six vegetables. While microwave cooking had different effects on the six vegetables, it had a negative effect on the total polyphenol and flavonoid levels of the potato, spinach, carrot and pepper. However, a positive effect was recorded on the total polyphenols and flavonoids of eggplant. Retention of these compounds has been observed in onions cooked by microwave. The impact of cooking on antioxidant activity varies from one vegetable to another. Cooking caused a decrease in the antioxidant activity of potatoes, onions, carrots, peppers and steamed spinach. A positive effect of cooking was recorded on the antioxidant potential of spinach (cooked in water and by microwave) and eggplant. All three cooking methods showed negative effects on the anticholinesterase activity of potato, spinach and pepper. However, an increase in this activity was recorded for onion, eggplant and carrot. Cooking in water proved to be the worst method for preserving the polyphenols from cooked vegetables and their activities (antioxidant activity and anticholinesterase). The losses of polyphenols are due to their increased solubility in water. However, microwave cooking is suggested as the best method to preserve the polyphenol levels, the antioxidant and anticholinesterase activities of the studied vegetables.

Key words: Optimization, vegetable, cooking, total polyphenolic, flavonoids, antioxidant activity, anticholinesterase activity

تركز هذه الدراسة على تحسين ظروف الطهي واستخراج البوليفينول من ست خضروات (البطاطا والبصل والسبانخ والجزر والبادنجان) ودراسة تأثير طريقة الطهي (بالغليان ، عن طريق البخار والميكروويف) على هذه المركبات وأنشطتها البيولوجية (نشاط مضاد للأكسدة ونشاط مضادات الكولين). لتقييم كمية المركبات الفينولية المستخرجة من الخضار النيئة والمطبوخة ، تم تحقيق خطة التجربة وقد تم تحديد عوامل الخطة كما يلي فيما يتعلق بالطهي العوامل المدروسة هي (درجة حرارة الطهي، والوقت ، والطاقة) و فيما يخص طريقة استخراج البوليفينول العوامل هي (تركيز المذيبات ، وقت الاستخلاص، وقت التعرض للديديبات الصوتية والطحن). تم البدء في الدراسة من خلال فحص Plactett-Burmam لاختيار العوامل التي لها تأثيرات كبيرة على كمية المركبات الفينولية الكلية " و تحسين المرود البوليفينولي بواسطة الفحص composite centré تم إجراء تقدير كمية البوليفينول الكلي ، الفلافونويد وتحليل LC-MS / MS لرصد الاختلاف في مركبات الفينول بعد الطهي. بالإضافة إلى ذلك ، في هذا العمل ، تم التركيز على خواص مضادات الأكسدة ومضادات الكولينستريز للمركبات الفينولية للخضراوات الستة المطبوخة و النيئة. النتائج التي تم الحصول عليها للخضروات الست مختلفة ، طريقة الطهي بالغليان و عن طريق البخار خفضت مستويات البوليفينول الكلي وفلافونيدات الخضروات الستة. في حين أن طهي الميكروويف كان له تأثيرات مختلفة على الخضار الستة ، إلا أنه كان له تأثير سلبي على مستويات البوليفينول والفلافونويد الكلي للبطاطس والسبانخ والجزر والفلفل. ومع ذلك ، تم تسجيل تأثير إيجابي على البوليفينول الكلي وفلافونيدات البادنجان. وقد لوحظ استبقاء هذه المركبات في البصل المطبوخ. يختلف تأثير الطهي على نشاط مضادات الأكسدة من نبات إلى آخر. تسبب الطبخ في انخفاض نشاط مضادات الأكسدة من البطاطا والبصل والجزر والفلفل والسبانخ المطبوخ على البخار. تم تسجيل تأثير إيجابي للطبخ على القدرة المضادة للأكسدة من السبانخ (المطبوخة في الماء والميكروويف) والبادنجان. أظهرت جميع طرق الطهي الثلاثة آثارًا سلبية على نشاط مضادات الكولين من البطاطس والسبانخ والفلفل الحار. من ناحية أخرى ، تم تسجيل زيادة في هذا النشاط للبصل والبادنجان والجزر. أثبت الطهي في الماء أنها أسوأ طريقة للحفاظ على البوليفينول من الخضار المطبوخة وأنشطتها (نشاط مضاد للأكسدة ومضاد الكولين). تعود خسائر مادة البوليفينول إلى زيادة قابليتها للذوبان في الماء. ومع ذلك ، يمكن اقتراح الطهي بالميكروويف كأفضل طريقة للحفاظ على مستويات البوليفينول ، ومضادات الأكسدة وأنشطة مضادات الكولينستريز للخضار المدروسة

الكلمات المفتاحية: التحسين ، الخضار ، الطبخ ، البوليفينول الكلي ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للأكسدة ، نشاط مضادات الكولينستريز