

# Les polyphénols dans votre assiette

Rosalie Gauthier et Laurie Caron

## Abstract

The goal of this experiment was to rank different vegetables from the highest to lowest concentration of phenolic compounds. The vegetables to classify were broccoli, Brussels sprout and potato. After that, another goal was to prove that organic broccoli has a higher polyphenol content than the non-organic. The phenolic compounds were extracted from fresh potatoes and freeze-dried broccolis and Brussels sprouts with the microwave-assisted extraction (MAE). The microwave power was set to 500 W and 5 g of each vegetables mixed to 100 mL of ethanol 70 % were placed in the microwave for 1 minute 30 seconds. This step was done with 20 sample of each food. A sample of every heated solution was centrifuged at 4000 rpm for 10 minutes. The dosage method was the Folin-Ciocalteu. After this process, each solution was heated in a water bath at 50 °C for 15 minutes. As the last step, UV absorbance was measured at 760 nm and compared with the standard curve. The final classification was, in ascending order: potato (108 mg GAE/100 g), broccoli (114 mg GAE/100 g), organic broccoli (137 mg GAE/100 g) and Brussels sprout (228 mg GAE/100 g). To conclude, goals were achieved using raw vegetables. However, some consumption method can influence the polyphenol content. Indeed, the way of cooking the vegetables is very important. Steam cooking is better than cooking with boiling water. Also, reducing food in juices causes a major loss of phenolic compounds. It is better to keep the most polyphenols in the food because their health benefits are numerous.

## Mots clés

Polyphénols, antioxydants, Folin-Ciocalteu, légumes, extraction

## Introduction

Il est important de consommer assez de fruits et légumes quotidiennement pour maintenir une alimentation saine. La nouvelle édition du Guide alimentaire canadien suggère d'en manger au moins 5 portions par jour. Plusieurs nutriments importants sont apportés au corps grâce à ceux-ci comme les fibres, les minéraux et les vitamines. Ils sont également une source riche en antioxydants.

L'activité antioxydante des aliments est principalement liée à leur teneur en polyphénols (*Internet 1 et 2*). Leur consommation est également facile puisque ceux-ci se trouvent dans plusieurs aliments de notre quotidien, entre autres dans les fruits et légumes. C'est pourquoi il peut être pertinent de mesurer quels légumes sont les plus riches en polyphénols.

Les polyphénols naturels regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique (cycle à 6 atomes carbone dans lequel trois liaisons doubles alternent avec trois liaisons simples), portant un ou plusieurs groupes hydroxyle (OH), en plus d'autres constituants (groupes méthyle, carboxylique, méthoxyle, etc.). Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques (acide gallique), à des composés hautement polymérisés, comme les tanins (*Internet 3*). Les figures 1 et 2 illustrent un exemple de ces molécules. Les polyphénols peuvent être classés en plusieurs familles: phénols simples, acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques, coumarines, naphtoquinones, stilbènoïdes, flavonoïdes, auxquels s'ajoutent les formes polymérisées : lignanes, lignines ou tanins condensés. (*Internet 4*). Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques fabriquées par les plantes qui assurent leur protection contre les rayons UV, les insectes nuisibles, les parasites et autres agressions environnementales. (*Internet 5*)

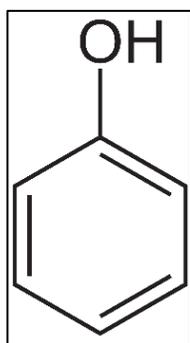


Figure 1. Phénol simple.

Chaque aliment possède une teneur en polyphénols différente. C'est pourquoi il peut être pertinent de comparer celles-ci pour des aliments consommés fréquemment. Le tableau 1 présente donc la teneur en polyphénols de plusieurs aliments.

Tableau 1. Concentration en polyphénols de certains fruits et légumes. (Tiré de *Internet 6*).

Aliment	Concentration en polyphénols <sup>1</sup> (mg EAG/100 g)
Fraise	263,8
Chou de Bruxelles	257,1
Pomme	179,1
Brocoli	98,9
Banane	51,5
Salade	35,6
Orange	31,0
Pomme de terre	23,1

Ces concentrations sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique (EAG) par 100 g de légume.

L'acide gallique (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>) est un composé organique aromatique naturellement présent dans les plantes et les arbres. Considéré comme un acide phénolique, cet élément entre également dans la catégorie des acides hydroxybenzoïques. En médecine, il est particulièrement employé pour ses propriétés antioxydantes. (*Internet 7*).

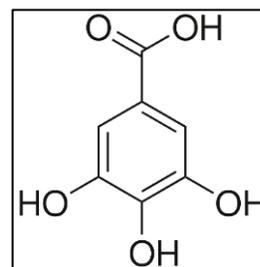


Figure 2. Acide gallique (Nom de l'UICPA : Acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque).

Un antioxydant est un agent qui empêche ou qui ralentit l'oxydation des cellules en neutralisant des radicaux libres. Ceux-ci sont produits par les mitochondries lors de la respiration cellulaire. Les radicaux libres en excès peuvent causer des dommages aux cellules et peuvent favoriser le développement de certaines maladies, notamment certains cancers et le diabète de type 2 (*Internet 8*).

En effet, la consommation d'antioxydants peut diminuer les effets du stress oxydatif sur l'organisme et ainsi permettre au corps de concentrer son énergie à autre chose. Au niveau cellulaire, ce type de stress peut causer une dégradation de la membrane cellulaire et neuronale, le mauvais fonctionnement des cellules, et peut affaiblir la paroi des vaisseaux sanguins. Ce type de stress peut être lié à l'athérosclérose, à certains cancers, aux maladies neurodégénératives ainsi qu'aux maladies rhumatismales (comme l'arthrite) et au diabète de type 2 (*Internet 9*). Pour ce dernier cas, les antioxydants agissent sur ce type de diabète (lié à l'obésité et à la sédentarité) en diminuant le stress oxydatif qui a pour effet d'augmenter la résistance à l'insuline et/ou d'altérer la sécrétion d'insuline (*Internet 10*). Ceci est possible puisque les antioxydants contribuent à la diminution de la masse adipeuse. En effet, le corps aura moins besoin de conserver le gras en tant que réserve pour réparer ses cellules, car celles-ci seront moins affectées par le stress oxydatif.

Ces maladies ont un grand impact sur la société. En effet, selon Diabète Québec, plus de 880 000 québécois vivent avec le diabète, soit plus de 10 % de la population. Le diabète de type 2 est la forme la plus fréquente de diabète (90 % des cas). Il se manifeste généralement à l'âge adulte, chez des individus de 40 ans et plus. Depuis quelques

années, il apparaît chez des personnes de plus en plus jeunes (*Internet 9*).

Aussi, selon une étude de la Fondation québécoise du cancer, en 2017, 21 800 personnes au Québec sont décédées à la suite d'un cancer, ce qui représente 146 nouveaux cas et 60 morts par jour (*Internet 11*).

De plus, les aliments biologiques sont très intéressants à observer puisqu'ils sont de plus en plus valorisés par les consommateurs. Ceux-ci contiennent d'ailleurs 20 % plus de polyphénols que les non biologiques (*Internet 12*). C'est pourquoi ils sont inclus dans ce projet.

Ainsi, il est important d'encourager la consommation du plus d'antioxydants possible, c'est pourquoi l'objectif du projet est de mesurer la différence de teneur en polyphénols de différents légumes.

Les hypothèses à vérifier sont donc :

1. En ordre décroissant de quantité de polyphénols, on retrouve le chou de Bruxelles, le brocoli et la pomme de terre (*Internet 6*).
2. Le brocoli biologique a une teneur plus élevée en polyphénols que le brocoli non biologique (*Internet 12*).

## **Matériel et méthodes**

La liste complète du matériel et des solutions est fournie à l'annexe 1.

Afin de pouvoir déterminer la teneur en polyphénols et comparer les résultats avec ceux de la littérature scientifique, il est nécessaire de faire une courbe étalon en utilisant différentes concentrations d'acide gallique (le polyphénol témoin utilisé pour le dosage).

La courbe étalon est ensuite établie avec l'absorbance mesurée en fonction de chaque

concentration d'acide gallique. La droite obtenue permet alors de trouver une équation linéaire qui sera la référence lors des calculs pour lier l'absorbance à la teneur en polyphénols. Le protocole à suivre pour la courbe étalon est présenté en annexe 2.

Il existe plusieurs méthodes pour procéder à l'extraction des polyphénols dans les végétaux comme l'infusion, la décoction (préparation végétale par dissolution dans l'eau bouillante (*Internet 13*)), la macération ou le chauffage au micro-ondes (*Internet 14*). Cette dernière est celle qui a été choisie pour l'expérimentation, car elle est beaucoup moins longue que les autres et très efficace : « L'extraction assistée par micro-ondes est une méthode d'extraction rapide qui génère une pression élevée à la matière végétale et conduit à une rupture des cellules, en améliorant la pénétration des solvants d'extraction » (*Chupina et al., 2015*). Le micro-ondes utilisé est de marque SUNBEAM modèle 3740-141 de 1000 W.

La méthode de dosage est la méthode Folin-Ciocalteu décrite en 1965 par Singleton et Rossi. Ce réactif est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Lors de l'oxydation des phénols, il est réduit en un mélange de couleur bleu de tungstène et de molybdène. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (*Kadri, 2015*).

À la suite d'une revue de la littérature scientifique, un protocole personnalisé pour l'activité synthèse de programme (ASP) a été écrit. Selon celui-ci, des échantillons de légumes (20 échantillons pour chaque légume en conservant toutes les parties incluant la pelure) dans une solution aqueuse

à 70 % d'éthanol ont été broyés puis chauffés au micro-ondes. Ce mélange était ensuite placé à la centrifugeuse pour 15 minutes à 4000 rpm et un extrait du surnageant, où se retrouvent les polyphénols, était utilisé pour faire le dosage avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange était ensuite chauffé au bain-marie pour finalement être analysé au spectrophotomètre UV. Grâce à une courbe étalon élaborée préalablement, il était possible de faire le lien entre l'absorbance et la concentration en polyphénols. Le protocole détaillé se trouve en annexe 3.

De plus, afin de maximiser le temps alloué pour l'expérimentation, les échantillons de brocoli et de chou de Bruxelles ont été préparés à l'avance et congelés pour leur conservation en attendant les manipulations. À l'inverse la pomme de terre et le brocoli biologique ont été préparés le jour même quelques minutes avant l'expérimentation.

## Résultats

Plusieurs solutions d'acide gallique à concentration différente ont été préparées et leur absorbance ont été mesurées à 765 nm pour établir la courbe étalon.

Tableau 2. Courbe étalon.

Concentration d'acide gallique (mg/mL)	Absorbance
0,000	0,000
0,020	0,057
0,039	0,159
0,078	0,402
0,195	0,926
0,390	2,433

L'équation de la droite obtenue est  $y = 6,1956x - 0,0822$  où  $y$  représente l'absorbance et  $x$  la concentration d'acide gallique en mg/mL. Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) de la droite est de 0,9869.

Plus la valeur du coefficient de détermination linéaire est près de 1 ou -1, plus le lien linéaire entre les deux variables est fort (*Internet 15*). Le graphique de cette droite se trouve en annexe 4.

À la suite de la prise de données sur la concentration en polyphénols pour chaque légume, il est possible de comparer les valeurs obtenues avec celles qui étaient attendues.

Tableau 3. Concentration en polyphénols pour chaque légume (Tiré de *Internet 6*).

Légumes	Concentration en polyphénols (mg EAG/100 g)		Écart-type
	Théorique	Expérimentale moyenne	
Pomme de terre	23	108	7,5
Brocoli	99	114	7,5
Brocoli biologique	136	137	16,5
Chou de Bruxelles	257	228	24,0

Étant donné que l'hypothèse de départ était de classer les légumes en ordre décroissant de concentration en polyphénols, il est pertinent d'utiliser les intervalles de confiance pour chaque résultat afin de bien les comparer. Un intervalle de confiance est un barème qui signifie que la moyenne exacte a 95 % de chance de se trouver entre ces valeurs.

Tableau 4. Intervalles de confiance.

Légumes	Intervalle de confiance (mg EAG/100 g)
Pomme de terre	[105 ; 112]
Brocoli	[110 ; 117]
Brocoli biologique	[129 ; 145]
Chou de Bruxelles	[217 ; 239]

Puisque les intervalles de confiance de la pomme de terre et du brocoli se chevauchent, un test d'hypothèse a été effectué afin de confirmer que la teneur en polyphénols du brocoli se classe au-dessus de la pomme de terre. Un tel test indique si une affirmation concernant un échantillon donné doit être acceptée ou rejetée (*Internet 16*). Le test a confirmé que le brocoli est plus concentré en polyphénols que la pomme de terre. Celui-ci est présenté en détail en annexe 5.

## Discussion

La première hypothèse était que les légumes en ordre décroissant de teneur en polyphénols étaient le chou de Bruxelles, le brocoli et la pomme de terre. Les résultats confirment cette hypothèse tel qu'énoncé dans le tableau 3. Pour vérifier la validité de ces résultats, les intervalles de confiance ont été calculés en plus d'un test d'hypothèse pour confirmer que la pomme de terre était plus faible en polyphénols que le brocoli. En général, les valeurs obtenues ne concordent pas avec les données théoriques, mais ce n'était pas l'objectif visé puisque plusieurs facteurs comme la méthode de culture et la période où le légume a été cultivé, la maturité du légume ainsi que la méthode de conservation peuvent influencer la teneur en polyphénols (*Internet 17*).

En effet, selon une étude qui comparait le taux de polyphénols totaux dans des pommes

de terre cultivées à deux endroits différents, on peut constater que celles qui étaient cultivées à plus haute altitude où les conditions étaient plus fraîches et humides avaient un plus haut taux de polyphénols que celles cultivées à plus basse altitude dans un environnement plus chaud et sec (*Internet 18*). Au niveau des méthodes de conservation, la congélation n'a pas d'effet sur la quantité de polyphénols (*Internet 19*). La conservation à température pièce des produits frais conduit généralement à une diminution des teneurs générales en micronutriments qui peut varier de 10 à 90 % selon la fragilité des produits. (*Internet 20*). Aussi, plus un légume est mature au moment de la cueillette, plus celui-ci a une teneur élevée en polyphénols (*Internet 21*).

Le brocoli et le chou de Bruxelles sont des variétés issues de la même famille soit les brassicacées (*Internet 22*). Les aliments utilisés pour cette expérience proviennent de la filière agroalimentaire québécoise « Aliments du Québec ». Cependant, la variété exacte des légumes utilisés n'est pas indiquée sur le produit acheté ni dans la recherche de référence pour les données théoriques. Il est donc impossible de voir si les différentes teneurs en polyphénols proviennent du fait que les variétés étudiées ne sont pas les mêmes.

De plus, pour avoir des résultats significatifs et précis, il aurait fallu faire l'expérience en analysant plusieurs unités de chaque légume et les faire provenir de sources différentes.

Un seul légume présente un écart excessivement grand comparativement à la valeur attendue. En effet, la pomme de terre montre un écart de plus de 4 fois la valeur théorique en polyphénol tel que présenté dans le tableau 3. Les causes d'erreur à l'origine de cette différence peuvent être nombreuses.

La cause identifiée comme la plus probable est la conservation ou non de la pelure. La source de la littérature scientifique utilisée comme référence ne conservait pas la pelure des pommes de terre en se fiant aux habitudes de consommation des Français (*Internet 23*). À l'inverse, pour l'ASP, la pelure n'a pas été retirée. Cela peut donc causer une grande différence entre les résultats de la teneur en polyphénols. En effet, les pelures de pomme de terre présentent des teneurs en composés phénoliques 10 fois plus élevées que celles de la chair (*Kadi et al., 2018*). De plus, la teneur en polyphénols peut varier selon la variété de pomme de terre. Les variétés à chair colorée (les roses, les bleues et les violettes) auraient une action antioxydante plus importante que les pommes de terre à chair blanche (*Internet 24*). Celles utilisées dans le cadre de cette expérience sont des pommes de terre blanches de « Farmer's market ». De plus, le nombre d'échantillons utilisés pour ce projet scolaire est également moins élevé que la référence. Les mesures ont été prises sur 20 échantillons de pommes de terre de même provenance alors que dans l'étude de référence, 30 unités de provenance différentes ont été utilisées. Toutes ces raisons peuvent expliquer l'écart expérimental et théorique.

La seconde hypothèse était que le brocoli biologique avait une plus forte teneur en polyphénols que le brocoli non biologique. Comme mentionné précédemment, les aliments biologiques contiendraient 20 % plus de polyphénols que les autres et ceci a été confirmé par l'expérimentation. Selon la valeur théorique de référence, 20 % de plus équivaut à 136,62 mg EAG/100 g et la valeur obtenue lors de l'expérience est de 137,17 mg EAG/100 g. Comme mentionné dans le tableau 4, la valeur attendue se trouve dans l'intervalle de confiance. Cela est un

résultat concluant qui confirme l'hypothèse. La plus forte teneur en polyphénol dans le brocoli biologique est expliquée par le fait que les antioxydants apportent des qualités protectrices aux légumes. Par conséquent, lorsqu'ils ne sont pas protégés par un traitement phytosanitaire (pesticide), ces légumes biologiques vont faire plus de molécules pour se protéger eux-mêmes contre les rayons UV, les insectes nuisibles, les parasites et autres agressions environnementales tel que mentionné précédemment (*Internet 5*). Cela engendre donc une augmentation de la teneur en polyphénols (*Internet 25*).

Une fois que l'aliment est entre les mains du consommateur, il y a une multitude de façon possibles de le consommer, mais certaines d'entre elles favorisent la dégradation des polyphénols et diminuent donc grandement les bienfaits antioxydant de l'aliment.

Pour commencer, la meilleure façon de préserver le plus de polyphénols est de consommer les aliments crus. Pour la cuisson, certaines méthodes sont meilleures que d'autres. La cuisson à la vapeur est moins nocive que la cuisson par ébullition. Cela est expliqué par le fait que l'éclatement cellulaire facilite la libération des polyphénols totaux dans l'eau de cuisson et contribue à la diminution des teneurs dans les légumes bouillis (*Kadri, 2015*).

L'épluchage est un facteur à ne pas négliger. En effet, les parties externes sont généralement plus riches en caroténoïdes (un antioxydant), en polyphénols, en fibres et plusieurs autres. Leur élimination induit donc des pertes marquées de nombreuses molécules. Par exemple, dans la pomme, 50 % des polyphénols sont concentrés dans l'épiderme (*Internet 19 et 20*).

D'autres méthodes de consommation fréquemment utilisées influencent beaucoup l'activité antioxydante des aliments. La transformation en jus engendre une perte de la majorité des polyphénols. Dans le cas de la pomme, celle-ci perd 95 % de ses polyphénols lorsqu'elle est réduite en jus (principalement parce que la pelure a été retirée préalablement). Les procédés de clarification peuvent aussi conduire à des pertes supplémentaires, variables selon le procédé exact utilisé. En ce qui concerne le séchage, si celui-ci est fait de façon rapide, les conséquences sur les polyphénols sont faibles. En revanche, une longue durée de séchage aura un effet négatif sur la teneur en composés phénoliques. Enfin, une friture ou une macération dans l'huile (par exemple une vinaigrette dans une salade) engendre des pertes de 40 à 50 % des polyphénols totaux (*Internet 19*).

## Conclusion

En résumé, dû aux heures d'expérimentation limitées, il a fallu utiliser une méthode rapide et efficace adaptée aux ressources disponibles et au cadre de l'ASP. C'est pour cette raison que la méthode d'extraction assistée par micro-ondes était la meilleure option. Cela peut cependant créer des écarts entre les valeurs théoriques et celles obtenues grâce à cette méthode puisque la plupart des études font l'extraction en utilisant la macération ou d'autres méthodes plus conventionnelles. De plus, l'utilisation d'un solvant autre que l'éthanol peut également mener à certaines différences.

La méthode de Folin-Ciocalteu est cependant très fiable et utilisée dans chaque source consultée pour le dosage des polyphénols.

En raison de l'accès difficiles à plusieurs sources de légumes, il était impossible de prendre plusieurs échantillons de différentes

provenances pour rendre les résultats plus représentatifs.

### **Suggestions et perspectives d'avenir**

Pour poursuivre ce projet, il serait pertinent de tester les différences entre les nombreuses méthodes d'extraction pour voir s'il y a un impact sur les résultats. Il serait également intéressant de se concentrer sur les différences entre les légumes biologiques et ceux cultivés de manière conventionnelle pour donner suite à la deuxième hypothèse et la développer davantage.

### **Remerciements**

Nous remercions Steve Gamache pour ses conseils, son aide active et ses encouragements. Jessica Maltais pour son aide en laboratoire et ses compétences pour rendre les manipulations plus fonctionnelles. Jean-Norbert Fournier pour son aide lors des calculs pour évaluer la validité des résultats.

Martin Imbeault pour son aide au niveau des impacts biologiques. Denis Deschênes de l'UQAM pour ses suggestions de protocole. Laurent Bazinet de l'Université Laval pour ses conseils face à la préparation des échantillons et à la proposition du broyage cryogénique. Paul Angers de l'Université Laval, pour nous avoir fourni un article à propos des méthodes de dosage. Ashraf Badr, chercheur postdoctoral de l'Université Laval, pour avoir donné de l'information sur la concentration du réactif de Folin-Ciocalteu.

## Références

Liens internet :

1. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-polyphenol-6212/> consulté le 21/04/2019
2. [https://www6.inra.fr/cahier\\_des\\_techniques/content/download/3129/31288/version/1/file/79\\_chap2\\_boizot.pdf?fbclid=IwAR3d7lbhmV5t5AODCxzIXbV1JKeOdBH0zL0d\\_nX2uwCadH-4dRtotM2CND0](https://www6.inra.fr/cahier_des_techniques/content/download/3129/31288/version/1/file/79_chap2_boizot.pdf?fbclid=IwAR3d7lbhmV5t5AODCxzIXbV1JKeOdBH0zL0d_nX2uwCadH-4dRtotM2CND0) consulté le 21/04/2019
3. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Polyph%C3%A9nol> consulté le 29/04/2019
4. <http://www.societechimiquedefrance.fr/polyphenols.html> consulté le 29/04/2019
5. [https://www.fruitomed.com/d-ou-viennent-les-polyphenols/?fbclid=IwAR3ISXORajXiFCQq\\_3\\_Ocwftp6\\_CISHHAK92HZ07qKM-ym9a0fxQ8MDDsZY](https://www.fruitomed.com/d-ou-viennent-les-polyphenols/?fbclid=IwAR3ISXORajXiFCQq_3_Ocwftp6_CISHHAK92HZ07qKM-ym9a0fxQ8MDDsZY) consulté le 29/04/2019
6. <https://www.lanutrition.fr/forme/les-fruits-et-legumes-les-plus-riches-en-polyphenols> consulté le 30/01/2019
7. <https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/37349-acide-gallique-definition> consulté le 29/04/2019
8. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-antioxydant-2995/> consulté le 17/04/2019
9. <https://www.diabete.qc.ca/fr/comprendre-le-diabete/tout-sur-le-diabete/mythes-et-statistiques> consulté le 30/01/2019
10. [https://infos-diabete.com/antioxydants-contre-diabete-type-2/?fbclid=IwAR38nwYMM8JFj2QDLctwF2Ye2SgEefYF\\_E\\_C-vM\\_-TLBNa0HmsLkG6ry1V8](https://infos-diabete.com/antioxydants-contre-diabete-type-2/?fbclid=IwAR38nwYMM8JFj2QDLctwF2Ye2SgEefYF_E_C-vM_-TLBNa0HmsLkG6ry1V8) consulté le 01/05/2019
11. <https://fqc.qc.ca/fr/information/le-cancer/statistiques> consulté le 30/01/2019
12. <https://www.agriculture-environnement.fr/2015/12/09/antioxydants-dans-le-bio-un-mauvais-argument> consulté le 17/04/2019
13. [https://fr.wikipedia.org/wiki/D%C3%A9coction?fbclid=IwAR0gEV0jgUNwCbx73dSdHzNPGgbYauKIQzd\\_4FMSK7A0doxfY\\_5S9EJvkY](https://fr.wikipedia.org/wiki/D%C3%A9coction?fbclid=IwAR0gEV0jgUNwCbx73dSdHzNPGgbYauKIQzd_4FMSK7A0doxfY_5S9EJvkY) consulté le 29/04/2019
14. [http://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/biblio/mmf/2015/25-2015.pdf?fbclid=IwAR3\\_WUxrkCb2aHQz6mGvPmzFIkfr2xSfYxN8s0SeSVmwjk4TRLQBjzVD6Zw](http://fac.umc.edu.dz/snv/bibliotheque/biblio/mmf/2015/25-2015.pdf?fbclid=IwAR3_WUxrkCb2aHQz6mGvPmzFIkfr2xSfYxN8s0SeSVmwjk4TRLQBjzVD6Zw) consulté le 21/01/2019
15. <http://www.alloprof.qc.ca/BV/pages/m1377.aspx> consulté le 29/04/2019
16. [https://support.minitab.com/fr-fr/minitab/18/help-and-how-to/statistics/basic-statistics/supporting-topics/basics/what-is-a-hypothesis-test/?fbclid=IwAR2O\\_aMMZTNF8maoFqvPnOappPjcXLGFgvK1UuP\\_D23mZ0TKEL8DY\\_FOOioY](https://support.minitab.com/fr-fr/minitab/18/help-and-how-to/statistics/basic-statistics/supporting-topics/basics/what-is-a-hypothesis-test/?fbclid=IwAR2O_aMMZTNF8maoFqvPnOappPjcXLGFgvK1UuP_D23mZ0TKEL8DY_FOOioY) consulté le 21/04/2019
17. [https://www.researchgate.net/publication/279590531\\_Influence\\_of\\_environmental\\_conditions\\_and\\_way\\_of\\_cultivation\\_on\\_the\\_polyphenol\\_and\\_ascorbic\\_acid\\_content\\_in\\_potato\\_tubers](https://www.researchgate.net/publication/279590531_Influence_of_environmental_conditions_and_way_of_cultivation_on_the_polyphenol_and_ascorbic_acid_content_in_potato_tubers) consulté le 24/04/2019
18. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1807-86212015000200249](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-86212015000200249) consulté le 24/04/2019

19. <http://inra.dam.front.pad.brainsonic.com/ressources/afile/234048-d57ac-resource-expertise-fruits-et-legumes-chap-2.html> consulté le 30/04/2019
20. <https://www.jardinsdefrance.org/conservation-des-produits-frais-un-impact-sur-les-phytomiconutriments/> consulté le 30/04/2019
21. [https://pdfs.semanticscholar.org/a9b3/7ca8453ea7ba7bc72a22f8f626eba1271347.pdf?fbclid=IwAR2zWy0Z2fpr6BzfBFe2e\\_pVTb4ayoeINCe0H1CsOHFI\\_k2Fp6uFfj4tkjA](https://pdfs.semanticscholar.org/a9b3/7ca8453ea7ba7bc72a22f8f626eba1271347.pdf?fbclid=IwAR2zWy0Z2fpr6BzfBFe2e_pVTb4ayoeINCe0H1CsOHFI_k2Fp6uFfj4tkjA) consulté le 30/04/2019
22. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Brocoli> consulté le 13/05/2019
23. [https://www.researchgate.net/publication/6867082\\_Daily\\_Polyphenol\\_Intake\\_in\\_France\\_from\\_Fruit\\_and\\_Vegetables](https://www.researchgate.net/publication/6867082_Daily_Polyphenol_Intake_in_France_from_Fruit_and_Vegetables) consulté le 29/04/2019
24. <https://www.vulgaris-medical.com/actualite-sante/la-pomme-de-terre> consulté le 29/04/2019
25. <https://www.agriculture-environnement.fr/2015/12/09/antioxydants-dans-le-bio-un-mauvais-argument> consulté le 24/04/2019

Chupina, L. Maunub, S.L. Reynaud, S. Pizzi, A. Charrier, B. Charrier-EL Bouhtourya, F. (2015). *Microwave assisted extraction of maritime pine (Pinus pinaster)*.

Kadri, F. (2015). *Effet de deux modes de cuisson et de la durée de stockage à température ambiante sur la teneur en polyphénols totaux de quatre espèces de légumes*. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires Algérienne (I.N.A.T.A.A.). 114 pages.

Kadi, M. et Kebbi, Y. (2018). *Enrichissement de l'huile d'olive par les extraits de pelures de quelques légumes*. Université de Béjaïa en Algérie. 87 pages.

## Annexe 1

### Matériel

- Balance analytique
- Mélangeur
- Centrifugeuse
- Plaque chauffante
- Spectrophotomètre UV
- Micro-ondes
- Bain-marie
- Nacelle
- Spatule
- Micropipette de 1 mL
- Tube à centrifugation
- Cuve pour spectrophotomètre UV
- Tige de verre
- Thermomètre
- Éprouvettes
- Papier d'aluminium
- Support universel
- Pince à thermomètre
- Pipette de 5 mL
- Cylindre gradué de 100 mL
- Cylindre gradué de 50 mL
- Cylindre gradué de 10 mL
- Béchers 600 mL

### Solutions

- Acide gallique
- Éthanol (70 %)
- Réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois
- Carbonate de sodium (7,5 %)
- Eau distillée

## Annexe 2

Préparation de la courbe étalon :

Peser 0,78 mg d'acide gallique.

Les dissoudre dans 2 mL d'éthanol, soit une solution (S) avec une concentration de 0,39 mg/mL.

Diluer la solution mère comme suivant :

Dilutions	S	S/2	S/5	S/10	S/20
Concentration (mg/mL)	0,39	0,195	0,079	0,039	0,0195

Détermination de la teneur proprement dite :

Prélever 0,5 mL de chaque dilution d'échantillon dans des tubes à essais.

Ajouter 2,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu.

Après 2 minutes à obscurité, ajouter 2 mL de carbonate de sodium à 7,5 %.

Le blanc est représenté par 0,5 mL d'eau distillée additionné de 2,5 mL de Folin-Ciocalteu et 2 mL de carbonate de sodium à 7,5 %.

Mettre 15 minutes au bain-marie à 50°C.

Refroidir dans un bain de glace.

La lecture des absorbances est faite à 760 nm.

## Annexe 3

### Protocole

1. Couper le légume et le broyer.
2. Peser 5 g de légume.
3. Préparer une solution eau-éthanol à 70% d'éthanol.
4. Mesurer 100 mL de cette solution et mettre dans un bécher de 600 mL.
5. Ajouter le légume broyé dans le bécher.
6. Faire chauffer au micro-ondes pendant 1 minute 30 secondes en ajustant la puissance à 500 W.
7. Bien mélanger pour permettre une meilleure extraction.
8. Mesurer 8 mL de cette solution et mettre dans un tube à centrifugeuse.
9. Répéter les étapes 1 à 8, 20 fois.
10. Mettre les tubes à la centrifugeuse pendant 10 minutes à 4000 rpm.
11. Mesurer 0,5 mL du surnageant et le mettre dans une éprouvette (à faire pour chaque tube).
12. Ajouter 2,5 mL du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans chaque éprouvette.
13. Mettre à obscurité pendant 2 minutes.
14. Ajouter 2 mL de carbonate de sodium à 7,5 % dans chaque éprouvette.
15. Préparer le blanc en mettant 0,5 mL d'eau distillée additionné de 2,5 mL de Folin-Ciocalteu et 2 mL de carbonate de sodium à 7,5 % dans une éprouvette.
16. Mettre toutes les éprouvettes pendant 15 minutes au bain-marie à 50°C.
17. Refroidir dans un bain de glace.
18. Mettre la solution dans les cuves à spectrophotomètre UV afin d'en mesurer leur absorbance à 760 nm.
19. Comparer les résultats à la courbe étalon.

## Annexe 4

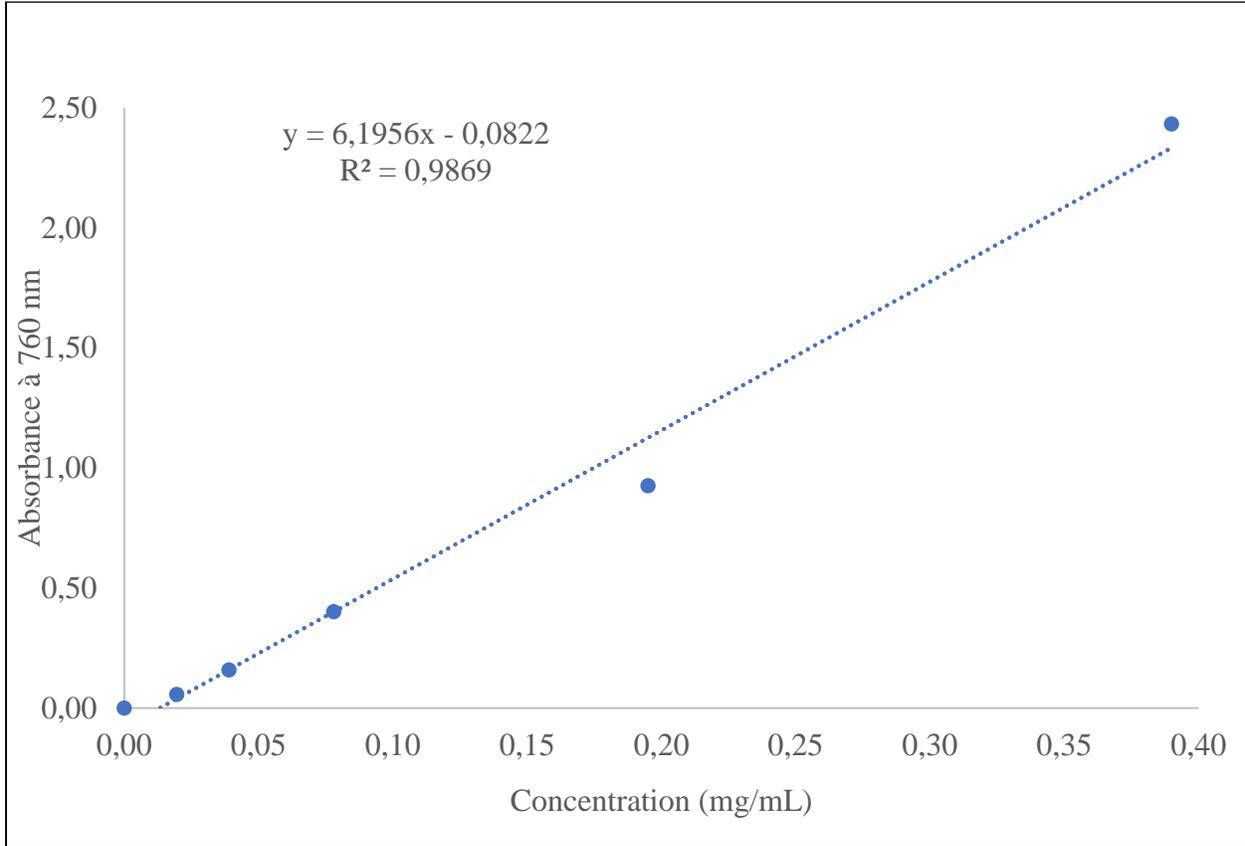


Figure 3. Graphique de la courbe étalon

## Annexe 5

Exemple de calcul d'un intervalle de confiance :

*Exemple avec la pomme de terre :*

$$\mu \in \left[ \bar{x} - 2,09 \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}; \bar{x} + 2,09 \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right]$$
$$\mu \in \left[ 108,28 - 2,09 \cdot \frac{7,49}{\sqrt{20}}; 108,28 + 2,09 \cdot \frac{7,49}{\sqrt{20}} \right]$$
$$\mu \in [105 ; 112]$$

Calcul du test d'hypothèse :

<i>Légume</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Écart-type</i>
<i>Pomme de terre (a)</i>	<i>108,28</i>	<i>7,49</i>
<i>Brocoli (b)</i>	<i>113,85</i>	<i>7,46</i>

$$H_0: a = b$$

$$H_1: a < b$$

*Utilisation de la loi de Student, car échantillon plus petit que 30*

*Pour un seuil de signification de 95 % avec un échantillon de 20,  $\alpha = 1,72$*

*Critère : si z est plus grand que 1,72 : on rejette  $h_0$  et on prend  $H_1$*

$$z = \frac{u_2 - u_1}{\sqrt{\frac{\sigma_2^2}{n_2} + \frac{\sigma_1^2}{n_1}}} = \frac{113,85 - 108,28}{\sqrt{\frac{7,49^2}{20} + \frac{7,46^2}{20}}} = 2,36$$

*Comme  $z > 1,72$  il est possible d'affirmer que  $a < b$*