

Evaluation des Facteurs Antinutritionnels de Quelques Génotypes de Haricot Commun (*Phaseolus vulgaris* L.) Biofortifié

NGOMBO-NZOKWANI Augustin*¹, NSUMBU NLANDU Pierre¹, LUBOBO KANYENGA Antoine^{4,5},
MUENGULA-MANYI Marcel², KALONJI-MBUYI Adrien^{2,3}.

Paper History

Received : June 26, 2021
Revised : August 19, 2021
Accepted : September 19, 2021
Published : November 27, 2021

Keywords

Biofortification, Anti-nutritional factors, Common bean, Malnutrition, polyphenols.

ABSTRACT

Evaluation of Anti-Nutritional Factors of Some Genotypes of Biofortified of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

Micronutrient malnutrition, inadequate intake of vitamins and minerals such as iron and zinc, has a negative impact on human health. To reduce this malnutrition, biofortified crops are recommended to raise the content of micronutrients in food. However, anti-nutritional factors limit the bioavailability of micronutrients. The objective of this work is to evaluate the anti-nutritional factors of a few biofortified genotypes of common beans. To do this, we have carried out a chemical screening to determine the presence or absence of anti-nutritional compounds. The results indicate the presence of a great variability of anti-nutritional factors, primarily polyphenols followed by others compounds in moderate quantities such as alkaloids, saponins, steroid phytates and oxalates. All these compounds are destroyed by appropriate cooking with the exception of oxalates in two genotypes, G 59/1-2 and CODMLB 086. The determination of total polyphenols, condensed tannins and flavonoids gave maximum values of 13 grams per kilogram dry matter of gallic acids, 0.42 grams per kilogram dry matter of quercetin and 10.05 grams per kilogram dry matter respectively. These values are significantly higher than those found in other pulses. The high levels of iron, zinc, selenium, and vitamin C (6.5; 5.5; 1.2; and 8.0 mg/100g M.S., respectively) in all biofortified genotypes show that they have antioxidant properties, essential for combating free radicals.

¹Université de Kinshasa, Faculté des Sciences Agronomiques, Laboratoire de Génétique et Amélioration des Plantes, BP 117 Kinshasa XI.

²Université de Kinshasa, Faculté des Sciences Agronomiques, Laboratoire de Phytopathologie, BP 117 Kinshasa XI.

³Centre Régional d'Etudes Nucléaires de Kinshasa (CREN-K). Département de Génétique et Amélioration des Plantes, BP 868 Kinshasa XI.

⁴Université de Lubumbashi, Faculté des Sciences Agronomiques, Laboratoire de Génétique et Amélioration des plantes, BP 1825, Lubumbashi.

⁵CIAT-HarvestPlus, Représentation et Coordination Nationale, BP 1860, Bukavu.

*Corresponding author, E-mail: ngomboaugustin@gmail.com

INTRODUCTION

La République Démocratique du Congo est le deuxième pays avec une grande crise de la faim dans le monde après le Yémen. Treize millions de personnes se trouvent en insécurité alimentaire dont 5 millions sont des enfants souffrant de

malnutrition aiguë. Selon la Deuxième Enquête Démographique et de Santé, près de la moitié des enfants de 6-59 mois (47 %) et près de deux femmes sur cinq (38 %) sont atteints d'anémie ferriprive et cela entraîne le retard de croissance et l'insuffisance pondérale [EDS-RDC II, 2014].

Cette malnutrition est la résultante de plusieurs facteurs dont une alimentation inadéquate due à des pratiques alimentaires inappropriées et déficientes en micronutriments essentiels comme le fer, le zinc et la vitamine A et ensuite la faible biodisponibilité en fer des régimes végétariens due principalement aux facteurs antinutritionnels qui empêchent l'absorption du fer, entraînant ainsi la malnutrition. L'une des solutions pour améliorer la situation nutritionnelle de la population vulnérable passe par le recours aux cultures biofortifiées riches en micronutriments. Ces cultures ont la possibilité de disséminer efficacement les micronutriments essentiels aux populations sans moyens de se procurer une diversité des aliments [MAYER et al., 2008].

En effet malgré la présence des micronutriments dans les cultures biofortifiées, ces dernières contiennent des composés antinutritionnels comme les phytates, les polyphénols, les terpénoides, les stéroïdes et les alcaloïdes. Ces derniers jouent un rôle capital dans les mécanismes de défense de la plante vis-à-vis des bioagresseurs. Chez les humains, les composés phénoliques sont une source des antioxydants naturels et luttent contre le vieillissement des cellules et ont des propriétés anti-cancéreuses [HAGERMAN et al., 1998 ; KUMAR et al., 2006].

Cependant ces composés ont comme inconvénients de réduire la biodisponibilité des macro- et micronutriments et inhiber les enzymes nécessaires à la digestion. Certains, comme les tanins, ont le désavantage de se combiner aux protéines, aux glucides et aux minéraux, réduisant considérablement leur valeur nutritionnelle [NGUZ, 1997].

D'autres comme les oxalates et les phytates limitent la biodisponibilité protéique et de certains minéraux comme le fer et le zinc [CHAMP, 2002]. Les résultats de certains travaux de recherche ont démontré que la cuisson occasionne une perte plus ou moins marquée de certains facteurs antinutritionnels par la diffusion des constituants hydrosolubles dans l'eau de cuisson ou par la destruction des substances thermolabiles [ROCCA-POLIMENI, 2007].

L'objectif de la présente étude est d'évaluer les facteurs antinutritionnels de quelques génotypes biofortifiés de haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.). Dans ce contexte, un screening chimique sera réalisé en vue de déterminer la présence ou l'absence des composés antinutritionnels de chaque génotype. Bien que beaucoup d'études soient réalisées sur les génotypes biofortifiés, aucune étude sérieuse sur l'analyse chimique de ces facteurs n'a été effectuée en République Démocratique du Congo.

MATERIEL ET METHODES

Matériel

Le matériel végétal pour cette étude est constitué de cinq variétés de haricot commun dont quatre biofortifiées (K 131, NABE 4, G 59/1-2, CODMLB 086) et une variété locale (BILBIL). Les variétés biofortifiées sont des génotypes riches en fer et en zinc, présélectionnés par le Centre International d'Agriculture Tropicale (CIAT) et en études d'adaptation locale dans la province du Kongo Central en République Démocratique du Congo. Ces génotypes sont reconnus comme génotypes stables et performants. La variété locale (BILBIL) est une variété la plus consommée dans plusieurs ménages de la ville de Kinshasa.

Méthodes

Screening chimique de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux a été préparé par décoction de 100 grammes de poudre de haricot commun biofortifié dans 200 ml d'eau distillée. Après ébullition et refroidissement, le décocté a été filtré sur un tampon d'ouate placé dans un entonnoir puis recueilli dans un bécher de 250 ml. Cet extrait aqueux a servi au screening chimique.

Recherche des polyphénols

Mode opératoire : Prendre 5 ml de l'extrait aqueux et ajouter 2 ml d'un mélange de chlorure ferrique à 2 % et du ferricyanure de potassium à 1 % dans les proportions 1 : 1 (Réaction de Burton). En présence des polyphénols, la solution se colore en bleu intense parfois avec un précipité. Ensuite vient la recherche de différents composés polyphénoliques (tanins, flavonoïdes, quinones liées, anthocyanes, leucoanthocyanes) [BRUNETON, 1999].

- Tanins catéchiques et galliques : on utilise le Réactif de Stiany (formol 20 % et acide chlorhydrique concentré) et le chlorure ferrique à 2 %. Ajouter à 5 ml de l'extrait aqueux, 3 ml de Réactif de Stiany. Chauffer au bain marie pendant 30 minutes à 90°C. L'apparition d'un précipité brun indique la présence des tanins catéchiques. Eliminer le précipité par filtration et ajouter au filtrat quelques cristaux d'acétate sodique et quelques gouttes de chlorure ferrique 2%. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre indique la présence de tanins galliques [BRUNETON, 1999].
- Flavonoïdes: on recourt au Réactif de Shinoda (solution hydroalcoolique + acide chlorhydrique concentré + copeaux de zinc). A 10 ml de l'extrait aqueux, ajouter 1 ml de l'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de zinc. Puis ajouter quelques gouttes d'alcool isoamylique et laisser agir pendant quelques minutes. La réaction positive s'observe par l'apparition d'une coloration, soit rouge-violacé, soit orange, soit cerise qui caractérise respectivement les flavonones, les flavones et les flavanols [MICHEL, 2011].

- Quinones liées: on utilise le Réactif de Borntrager (NaOH 10 %). A 5 ml de l'extrait aqueux, ajouter 3 ml de ce réactif. Une coloration rouge ou rouge violacé indique la présence des quinones sous la forme liée [PENNINGTON, 2002].
- Anthocyanes : A 5 ml de l'extrait aqueux, ajouter 3 ml de l'acide chlorhydrique 20 %. Chauffer au bain marie pendant 30 minutes. L'apparition d'une coloration rouge-violacé indique un test positif.
- Leucoanthocyanes : on recourt au Réactif de Shinoda (solution hydroalcoolique + acide chlorhydrique concentré). A 5 ml de l'extrait aqueux, ajouter quelques gouttes de réactif de Shinoda, puis quelques gouttes d'alcool isoamylique et chauffer au bain marie. Une coloration rouge-violacé dans la couche surnageante est un test positif [CHAMP, 2002].

Recherche des alcaloïdes

On utilise le Réactif de Dragendorff (Tetraiodobismuthate de Potassium) Cette méthode se déroule en deux phases :

- la phase A a été constituée d'un mélange de 0,85 g de nitrate de bismuth, de 40 ml d'eau et de 10 ml d'acide acétique. On a dissout le nitrate de bismuth dans 40 ml d'eau, et on a ajouté 10 ml d'acide acétique glacial ;
- la phase B était constituée de 8 g d'iodure de potassium et 40 ml eau. On a dissout l'iodure de potassium dans 40 ml d'eau. A 3 ml de l'extrait aqueux, on a acidifié par 1 ml d'acide chlorhydrique 0.1 N, ensuite on a ajouté quelques gouttes de réactif de Dragendorff. En présence des alcaloïdes, il se forme un précipité rouge-orangé [BRUNETON, 1999].

Recherche des saponines

On place 5 ml de filtrat aqueux dans un tube à essai et on agite énergiquement en bouchant le tube pendant une minute. L'apparition d'une mousse, d'au moins un centimètre de hauteur et qui persiste pendant 15 minutes, indique la présence de saponines.

Screening chimique de l'extrait organique

On mélange 5g de la poudre de haricot commun biofortifié avec 25 ml de dichlorométhane pendant 24 heures en agitant de temps en temps. Le macéré obtenu a été filtré sur ouate et recueilli dans un erlenmeyer. C'est ce filtrat qui a été utilisé pour le screening chimique de l'extrait apolaire.

Recherche des quinones libres

On utilise le Réactif de Borntrager (hydroxyde de sodium). A 5 ml de filtrat, ajouter 1 ml de solution d'hydroxyde de sodium 10 %. L'apparition d'une coloration rouge ou rouge violacée dans la phase aqueuse indique une réaction positive pour les quinones libres.

Recherche des caroténoïdes

A 5 ml de l'extrait organique, ajouter le Réactif de Care-Price. L'apparition d'une coloration bleu-jaune ou bleu-violacé qui vire au bleu est un test positif [PENNINGTON, 2002].

Recherche des terpénoïdes et stéroïdes

On recourt au réactif de Liebermann (anhydride acétique + acide sulfurique concentré dans la proportion 2 :1). Evaporer à sec au bain marie 3 ml de l'extrait, y ajouter 0.1 ml de réactif de Liebermann. La présence d'un anneau coloré en rouge indique la présence des terpénoïdes. L'apparition d'une coloration verte indique la présence des stéroïdes [TCHATCHAMBE et al., 2017].

Recherche des phytates et oxalates

Le test qualitative des oxalates et phytates a été fait selon le protocole défini par FEIGL [1966] et BRUNETON [1999].

Extraction et dosage des composés phénoliques

Extraction des polyphénols totaux

Deux mélanges de solvants ont été utilisés : Méthanol/eau et Acétone / eau.

*Extraction brute avec mélange Méthanol/eau

- Peser 10g de poudre des génotypes de haricot commun biofortifié à mettre dans 100 ml de solvant (80 ml méthanol + 20 ml d'eau distillée).
- Macérer pendant 24 heures avec agitation à température ambiante à l'abri de la lumière.
- Filtrer la solution après la macération puis reprendre le filtrat et rajouter 100 ml du solvant (80 ml méthanol + 20 ml d'eau distillée) et remettre à macérer pendant 24 heures.
- Filtrer et mélanger les deux solutions (solution après la première et la seconde macération) jusqu'à l'épuisement et récupérer le résidu avec 3 ml de méthanol.

*Extraction brute avec l'acétone

- Peser 10g de poudre des génotypes de haricot commun biofortifié à mettre dans 100 ml de solvant (70 ml Acétone + 30 ml d'eau distillée);
- Macérer pendant 24 heures avec agitation à température ambiante à l'abri de la lumière;
- Filtrer la solution après la macération puis reprendre le filtrat et rajouter 100 ml du solvant;
- Filtrer la solution après la macération puis reprendre le filtrat et rajouter 100 ml du solvant (80 ml méthanol + 20 ml d'eau distillée) et remettre à macérer pendant 24 heures) et remettre à macérer pendant 24 heures;
- Filtrer et mélanger les deux solutions ensuite jusqu'à l'épuisement et récupérer le résidu avec 3 ml de méthanol [VITTI, 2005].

Extraction sélective des polyphénols

*Extraction des tanins

Broyer 5g de graines de géotypes de haricot commun biofortifié avec 55 ml d'acétone + 90 ml d'eau distillée ; l'ensemble est porté à une macération à froid à 4° C pendant 4 jours ;

Filtrer et extraire la solution 2 fois avec 50 ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides ;

Décanté et extraire la phase aqueuse deux fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle, ensuite faire évaporer le solvant à sec ;

Récupérer le résidu sec obtenu avec 3 ml de méthanol [MICHEL, 2011].

*Extraction des flavonoïdes

- Bouillir 5g de poudre des graines de géotypes de haricot biofortifié dans 100 ml de méthanol en présence de 2,5g de CaCO₃. L'ébullition est maintenue sans réfrigérant à reflux pendant 1 heure après filtration. Le dépôt est traité de nouveau pendant une heure à l'ébullition avec la même quantité d'alcool ;
- Mettre ensemble les deux solutions alcooliques ensuite les éliminées par distillation sous pression réduite et le résidu sirupeux est repris par 100 ml d'eau distillée bouillante. La solution aqueuse est filtrée à chaud et le filtrat épuisé successivement par l'éther diéthylique et l'acétate d'éthyle accompagné de n-butanol. Tous les composés flavonoïques se retrouvent dans l'extrait d'éthyle [MICHEL, 2011].

*Extraction des alcaloïdes

- Mélanger 5g de poudre des graines de géotypes de haricot commun biofortifié avec 125 ml d'acide chlorhydrique à 2 % et 55 ml d'acétate d'éthyle. L'ensemble est porté à une macération à froid pendant 10 heures ;
- Filtrer le mélange et basifier la phase aqueuse ;
- Le solvant organique contenant des alcaloïdes est décanté, débarrassé des traces d'eau qu'il peut renfermer, par déshydratation avec MgSO₄. Faire évaporer le solvant et il reste alors un résidu : ce sont des alcaloïdes totaux [BRUNETON, 1999].

Dosage des polyphénols

* Dosage des tanins (tanins condensés)

Principe : Le test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la valine en milieu acide. Le mode opératoire se présente de la manière suivante :

Mélanger 500 µl de la solution A (extrait de l'échantillon) et 1 ml de la solution B (Valine à 1% avec l'acide sulfurique) pendant 15' à 20' puis lire l'absorbance à 500 nm. Les résultats sont exprimés comme suit [MICHEL, 2011]:

$$T (\%) = 5,2.10.2 \times DO \times V/P$$

5,2.10.2 : Constante exprimée en équivalent, D.O. : densité optique, V : volume, P : poids de l'échantillon et T (%) : taux des tanins condensés.

* Dosage des phénols totaux

Principe : ce dosage repose sur la méthode utilisant le réactif de Folin Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphomolybdique et d'acide phosphotungstique. L'oxydation des phénols réduit le réactif en mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques. Le mode opératoire pour la détermination des phénols se présente comme suit :

- Préparer une solution mère de 3 µl de l'extrait et compléter avec 2000 µl de méthanol ;
- De la solution mère, préparer deux dilutions 1/10 et 1/100 ;
- Ajouter 2 ml de Na₂CO₃ (carbonate de sodium) et 100 µl de réactif de Folin aux solutions ;
- Incuber les solutions à l'obscurité pendant 30' et mesurer les absorbances à 760 nm.

Expression des résultats : la concentration des polyphénols totaux est déterminée à partir d'une équation de la droite de régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100g de matière sèche en appliquant la formule [VITTI, 2005]:

$$T = C \times V \times D / P_s$$

T : Teneur en polyphénols totaux, C : Concentration des polyphénols en équivalent de l'acide gallique déduite de la courbe, V : Volume de l'extrait total, D : Facteur de dilution, P_s : Poids de la matière sèche.

*Dosage des flavonoïdes

Le mode opératoire pour la détermination des flavonoïdes se présente comme suit :

- Mélanger 0,5 ml de l'échantillon avec 0,5 ml AlCl₃ à 2 % après incubation de 15 minutes à une température ambiante, mesurer la densité optique de l'échantillon à 430 nm.

Expression des résultats : la concentration des flavonoïdes est déterminée à partir d'une équation de la droite de régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent quercétine par 100g de matière sèche en appliquant la formule : Y= 5,1403.X avec Y l'absorbance à 510 nm et la X la concentration en catéchine en mg/ml [MICHEL, 2011].

Détermination de la teneur en minéraux

Le dosage des minéraux s'est fait par une minéralisation dans un four à micro-ondes suivie d'une lecture au spectrophotomètre d'absorption atomique. Pour chaque échantillon, une prise d'essai de 0,4 g a été pesée puis introduite dans des récipients en téflon. Dans chaque récipient, 7 ml d'acide nitrique HNO₃ à 20 % et 2 ml de H₂O₂ ont été ajoutés. Le tout a été homogénéisé puis mis dans le four à micro-ondes. L'opération de minéralisation durait 1 heure.

Le contenu de chaque récipient a ensuite été récupéré dans des tubes flacons de 50 ml. Les récipients (TFM) ont été rincés 3 fois avec de l'eau MilliQ. Le volume total dans les tubes 50 ml a été ajusté à 25 ml pour chaque échantillon avec de l'eau MilliQ puis ont été injectés dans le spectrophotomètre d'absorption de masse. La teneur en minéraux est calculée avec la formule suivante [FARAH BEN SOUILAH, 2015] :

$$T(\text{minéraux}) = (C \times V / p.e \times TMS) \times 100 \text{ en mg} / 100\text{g de MS}$$

Avec : C : la concentration en minéraux obtenue en mg/ml

- V : le volume total de l'extrait minéralisé (25 ml)
- p.e : la masse de l'échantillon initial
- TMS : la teneur en matières sèches de l'échantillon
- 100 : coefficient de conversion en base de 100 g MS.

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats

Analyse qualitative des composés antinutritionnels des génotypes biofortifiés

L'analyse qualitative de la poudre des graines de haricot commun biofortifié qui a pour but la mise en évidence de la présence de certains types de métabolites secondaires, a été faite par des réactions de colorations en tubes à essai. Les résultats de ces analyses sont repris dans le Tableau 1.

De l'analyse des résultats du Tableau 1, les génotypes biofortifiés contiennent avant cuisson une grande quantité des composés polyphénoliques et spécialement les flavonoïdes. D'autres facteurs antinutritionnels tels que les tanins catéchiques et galliques, les saponines et les phytates sont présents en quantité moyenne et selon les variétés. D'autres métabolites secondaires tels que les quinones, les alcaloïdes, les anthocyanes, les caroténoïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les oxalates sont faiblement présents dans le matériel biofortifié.

Cependant, lorsque le matériel biofortifié est soumis à une cuisson, la quasi-totalité des facteurs antinutritionnels sont détruits chez tous les génotypes testés. Il faut noter quand même la persistance des oxalates sous forme de traces auprès de certaines variétés comme G 59/1-2 et CODMLB 086.

Tableau 1 : Screening chimique de la poudre des graines des génotypes de haricot commun biofortifié

Génotypes FAN	Bilbil		G 59/1-2		K 131		NABE 4		CODMLB 086	
	AC	APC	AC	APC	AC	APC	AC	APC	AC	APC
Polyphénols	+++	-	+++	--	+++	-	+++	-	+++	-
-Tanins catéchiques et galliques	++	-	++	-	++	-	++	-	++	-
-Flavonoïdes	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-	+++	-
-Quinones liées et libres	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
-Anthocyanes	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
-Leucoanthocyanes	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Alcaloïdes	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Saponines	++	-	++	-	+	-	++	-	++	-
Caroténoïdes	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Terpénoïdes et Stéroïdes	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Oxalates	+	-	+	±	+	-	+	-	+	±
Phytates	+	-	++	-	++	-	++	-	++	-

Légende : FAN : Facteurs antinutritionnels, AC : Avant cuisson, APC : Après cuisson,

+++ : Réaction très positive.

++ : Réaction moyennement positive.

+

- : Réaction négative.

Dosage des polyphénols totaux

Le Tableau 2 reprend les teneurs en polyphénols totaux de cinq géotypes

Tableau 2 : Teneur en polyphénols totaux des différents géotypes biofortifiés

Géotypes biofortifiés	Teneur (g EAG/kg MS)
Bilbil (témoin)	13 ± 0,3 ^a
G59/1-2	12,5 ± 0,2 ^a
K 131	10,4 ± 0,2 ^b
NABE 4	11,5 ± 0,3 ^{ab}
CODMLB 086	11,2 ± 0,2 ^{ab}
CV (%)	11,6

CV : Coefficient de variation ; Les moyennes suivies des lettres identiques ne sont pas statistiquement différentes au seuil de probabilité de 5%.

La teneur en polyphénols totaux des différents géotypes a varié de 10,4 ± 0,2 à 13 ± 0,3g/kg. Le géotype témoin non biofortifié (Bilbil) a obtenu les concentrations en polyphénols totaux les plus élevées (13 ± 0,3). G59/1-2 est le géotype biofortifié ayant enregistré une teneur en polyphénols totaux la plus élevée. Il est à noter une faible variation des teneurs entre géotypes biofortifiés (CV = 11,6).

Extraction sélective et dosage des composés phénoliques

Les teneurs en tanins condensés et flavonoïdes totaux sont reprises dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Teneur en tanins condensés (en g/kg) et flavonoïdes totaux (quercétine/kg Matière sèche) des géotypes biofortifiés

Géotypes biofortifiés	Teneur en tanins condensés en g/kg	Teneur en flavonoïdes totaux en g/kg
Bilbil (témoin)	0,26 ± 0,01 ^b	10,05 ± 0,1 ^a
G59/1-2	0,12 ± 0,1 ^c	8,7 ± 0,2 ^b
K 131	0,14 ± 0,3 ^c	8,4 ± 0,2 ^b
NABE 4	0,42 ± 0,05 ^a	7,8 ± 0,1 ^c
CODMLB 086	0,24 ± 0,2 ^b	8,02 ± 0,2 ^c
CV (%)	47,2	9,7

CV : Coefficient de variation : Les moyennes suivies des lettres identiques (a, b, c) ne sont pas statistiquement différentes au seuil de probabilité de 5%.

La quantité des tanins condensés dans les différentes variétés de haricot commun biofortifié varie de 0,12 ± 0,1 g/kg MS (variété G59/1-2) à 0,42 ± 0,05 g/kg MS (variété NABE 4) entre les différentes variétés. Pour les flavonoïdes totaux, la quantité

varie de 7,8 ± 0,1g eq quercétine/kg MS (variété NABE 4) à 10,05 ± 0,1g eq quercétine/kg de matière sèche MS (variété Bilbil) avec une variation maximale de 33 % entre les différentes variétés. Le géotype NABE 4 et Bilbil (témoin) ont enregistré respectivement les teneurs en tanins condensés et flavonoïdes les plus élevées.

Teneur en minéraux des géotypes biofortifiés

Les teneurs en fer, zinc, sélénium et la teneur en vitamine C des cinq géotypes sont consignées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Teneur en minéraux des différents géotypes

Géotypes biofortifiés	Teneur en minéraux (mg/100g M.S)			
	Fer	Zinc	Sélénium	Vit. C
Bilbil (témoin)	5,3 ^c	4,2 ^c	1,2 ^a	6,0 ^b
G59/1-2	6,5 ^a	5,3 ^a	0,5 ^c	8,0 ^a
K 131	5,2 ^c	3,8 ^d	0,6 ^c	6,0 ^b
NABE 4	6,4 ^a	5,5 ^a	0,9 ^b	7,0 ^{ab}
CODMLB 086	5,6 ^b	4,6 ^b	0,4 ^c	5,5 ^b
CV (%)	10,0	14,8	44,6	18,4

CV : Coefficient de variation : Les moyennes suivies des lettres identiques ne sont pas statistiquement différentes au seuil de probabilité de 5%.

Il ressort du Tableau 4 le géotype G59/1-2 a enregistré les teneurs les plus élevées en fer et en vitamines C, tandis que NABE 4 et G59/1-2 sont les géotypes ayant une teneur élevée en zinc. Le géotype Bilbil a enregistré une teneur élevée en sélénium.

Discussion

L'évaluation des composés antinutritionnels du matériel biofortifié a permis de mettre en évidence plusieurs facteurs antinutritionnels, notamment les polyphénols en grande quantité, il s'agit spécialement des flavonoïdes, des tanins catéchiques et galliques. D'autres facteurs antinutritionnels ont été également signalés en quantité modérée comme les saponines, les phytates, les alcaloïdes, les oxalates, les anthocyanes et les stéroïdes. Ces composés sont importants pour leur rôle dans les mécanismes de défense de la plante contre les champignons, les bactéries, et les ravageurs ; ils sont également des antioxydants [KUMAR *et al.*, 2006].

Lorsque les géotypes biofortifiés sont soumis à la cuisson, tous ces composés sont neutralisés et détruits à plus de 90 %. C'est le même constat fait par TCHATCHAMBE *et al.* [2017] qui ont travaillé sur l'évaluation de la valeur nutritive et des facteurs antinutritionnels de quatre légumes alimentaires sauvages. Il faut signaler cependant la persistance des oxalates après cuisson chez certains géotypes biofortifiés. Ces composés réduisent la biodisponibilité des protéines et de certains minéraux comme le fer et le zinc [CHAMP, 2002]. Ces géotypes dont la teneur en

oxalate persiste après cuisson devraient faire l'objet d'un suivi attentif lors du processus de sélection des variétés biofortifiées à vulgariser ou à diffuser auprès des paysans, ou carrément les éliminer du schéma de sélection.

Les teneurs en polyphénols totaux (10,4 à 13 g/kg MS) des différents génotypes sont comparables à celles obtenues par plusieurs auteurs qui ont travaillé sur les légumineuses. KOUTOUAN *et al.* [2019] ont obtenu une moyenne de 3 à 24,7 g/kg MS pour le soja, FLUCK *et al.* [2013] ont obtenu 11 g/kg MS, tandis que VITTI *et al.* [2005] ont trouvé 8,2 g/kg MS. Toutes ces teneurs demeurent tout de même inférieures à la valeur trouvée par HARRIS *et al.* [2014] qui est de 116,1 g/kg MS. HARRIS et ses collaborateurs ont travaillé non seulement sur les graines de Soja comme c'est le cas pour notre expérimentation mais aussi sur les feuilles et la tige.

Les teneurs en tanins condensés se rapprochent des 0,5 g/kg MS trouvés par VITTI *et al.* [2005]. Elles demeurent néanmoins très faibles comparées à celles de VITTI *et al.* [2005] et HARRIS *et al.* [2014] qui sont respectivement de 5 g/kg MS et 4,9 g/kg MS et de 109,6g/kg MS rapportés par FONDEVILA *et al.* [2002]. Bien qu'étant faibles, les teneurs en tanins condensés sont supérieures à celles trouvées par NJIDDA [2010] pour certains fourrages ligneux dans les régions semi-arides du Nigéria qui étaient de 0,08 à 0,38 g/kg de MS.

Les travaux de VITTI *et al.* [2005] et de FLUCK *et al.* [2013] ont montré que les tanins condensés, même à de faibles concentrations, ont un impact positif sur la fermentation des légumineuses fourragères. Ces effets bénéfiques ont pour conséquence un gain de poids vif [CHALA *et al.*, 2013].

L'étude a également démontré que les génotypes biofortifiés renferment des quantités considérables des minéraux tels que le fer, le zinc, le sélénium ainsi que la vitamine C. Ces micronutriments protègent les cellules contre l'agression des radicaux libres. Ces derniers sont des produits de déchets du métabolisme, qui ont l'inconvénient d'altérer les cellules en les oxydant [GIBault, 2006]. L'organisme se défend contre les radicaux libres grâce aux substances antioxydantes. Les enzymes sont aidées dans leur action anti-radicalaire par la provitamine A, les vitamines E et C, le zinc et le sélénium [BOSS, 2002].

Au regard des différents résultats, il existe une différence variétale pour tous les paramètres mesurés. Le génotype local a affiché les valeurs les plus élevées en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux, et en sélénium, comparées aux génotypes biofortifiés. Ces génotypes sont réputés très résistants aux maladies et ravageurs [NGOMBO *et al.*, 2017]; ce qui pourrait expliquer leurs teneurs élevées en ces métabolites secondaires. En effet, la production de polyphénols et de tanins est une tactique de résistance contre les insectes [SHARMA *et al.*, 2009]. Ces génotypes peuvent jouer un rôle indispensable dans un

schéma de sélection pour conférer de la résistance aux génotypes sensibles. cette étude a également démontré que les génotypes biofortifiés renferment des quantités considérables des minéraux tels que le fer, le zinc, le sélénium ainsi que la vitamine C.

CONCLUSION

Cette étude avait pour objectif d'évaluer les facteurs antinutritionnels de quelques génotypes biofortifiés de haricot commun. A cet effet, un screening chimique a été réalisé avant et après cuisson. Une extraction et un dosage des métabolites secondaires les plus prépondérants suivis d'une analyse en éléments minéraux antioxydants a complété cette évaluation.

L'étude a démontré la présence des facteurs antinutritionnels tels que les composés phénoliques (tanins et flavonoïdes) en grande quantité et d'autres métabolites secondaires (alcaloïdes, stéroïdes, caroténoïdes, saponines, terpénoïdes, phytates, oxalates, quinones) en quantités modérées. Tous ces facteurs antinutritionnels sont détruits par la cuisson à l'exception des oxalates qui ont persisté auprès de certains génotypes tels que G 59/1-2 et CODMLB 086. De tels génotypes doivent faire l'objet d'une grande attention dans un schéma de sélection.

Le dosage des polyphénols totaux, des tanins condensés et des flavonoïdes a donné des valeurs supérieures à celles trouvées dans d'autres légumineuses alimentaires. Ces analyses ont démontré aussi que la variété locale (BILBIL) a donné des valeurs supérieures en ces composés comparativement à d'autres génotypes. Cet aspect devait être pris en considération dans la sélection des plantes résistantes aux bioagresseurs. Les teneurs élevées de fer, zinc, sélénium, et de vitamines C dans tous les génotypes biofortifiés montrent que ces derniers sont dotés de propriétés antioxydantes, essentielles pour lutter contre les radicaux libres. Il est important de signaler une teneur élevée en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en sélénium auprès du génotype témoin (non biofortifié). Un tel matériel peut être utilisé dans un schéma de sélection pour conférer le caractère de résistance aux maladies aux variétés sensibles.

Des prochaines études pourront s'atteler à étudier l'effet des polyphénols sur la résistance à l'infestation fongique et bactérienne des graines de haricot commun biofortifié, déterminer l'activité antioxydante du matériel biofortifié en recourant aux radicaux DPPH (1,1-diphényle-2-picrylhydrazyle) et ABTS (acide 2,2'-azino-bis, 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

RESUME

La malnutrition en micronutriments, l'apport insuffisant en vitamines et minéraux comme le fer et le zinc, a un impact néfaste sur la santé humaine. Pour réduire cette malnutrition, les cultures biofortifiées sont préconisées pour élever la teneur de

micronutriments dans les aliments. Cependant les facteurs antinutritionnels limitent la biodisponibilité des micronutriments. L'objectif poursuivi par ce travail est d'évaluer les facteurs antinutritionnels de quelques géotypes biofortifiés de haricot commun. Pour ce faire, un screening chimique a été réalisé pour déterminer la présence ou l'absence des composés antinutritionnels. Les résultats indiquent la présence d'une grande variabilité des facteurs antinutritionnels prioritairement les polyphénols suivis d'autres composés en quantité modérée comme les alcaloïdes, saponines, stéroïdes phytates et oxalates. Tous ces composés sont presque détruits par une cuisson appropriée à l'exception des oxalates auprès de deux géotypes G 59/1-2 et CODMLB 086. Le dosage des polyphénols totaux, des tanins condensés et des flavonoïdes a donné respectivement des valeurs maximales de 13 grammes par kilogrammes de matières sèches d'acides galliques, 0,42 grammes par kilogrammes de matières sèches de quercétine et 10,05 grammes par kilogrammes de matières sèches. Ces valeurs sont nettement supérieures à celles trouvées dans d'autres légumineuses alimentaires. Les teneurs élevées en fer, zinc, sélénium, et en vitamines C (respectivement 6,5 ; 5,5 ; 1,2 ; et 8,0 mg/100g M.S) dans tous les géotypes biofortifiés montrent que ces derniers sont dotés de propriétés antioxydantes, essentielles pour lutter contre les radicaux libres.

Mots clés

Biofortification, Facteurs antinutritionnels, haricot commun, Malnutrition, polyphénols.

REFERENCES

- BOSS I.P. [2002]. Etudes des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* LAM (Rutaceae). Thèse de doctorat, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie, Université de Bamako.
- BRUNETON J. [1999]. Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes Médicinales. 3rd Edition, Revue et Augmentée, Tec & Doc, Paris, 1999.
- CHALA M., TEMESGEN A., TEGEGN G. [2013]. Effect of feeding *Leucaena pallida* with concentrate and antihelminthic treatment on growth performance and nematode parasite infestation of Horro ewe lambs in Ethiopia. *International Journal of Livestock Production*, 4,10, 155-160. DOI: 10.5897/IJLP2013.0176.
- CHAMP M. [2002]. Non-nutrient bioactive substances of pulses. *Br. J. Nutr.*, 88, Suppl 3, S307-319.
- EDS [2014]. Enquête Démographique et de Santé, République Démocratique du Congo (EDS-RDC) 2014. Calverton, Maryland, USA: Ministère du Plan et Macro International.
- FARAH BEN SOUILAH [2015]. Caractérisation du comportement des micronutriments d'intérêt et des composés antinutritionnels des pois chiches et du niébé au cours des procédés de transformation. Mémoire de fin d'études, Université de Montpellier, SupAgro. 39 pp.
- FEIGL F.V. [1966]. Anger, V. Spot tests in organic analysis. 7th ed. New York, Elsevier Publishing Company, New York, 1966.
- FONDEVILA M., NOGUEIRA-FILHO JCM, BARRIOS URDANATA A. [2002]. *In vitro* microbial fermentation and protein utilization of tropical forage legume grown during the dry season. *Anim. Feed and Technology*, 95, 1-14. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00315-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00315-7).
- FLUCK A.C., KOZLOSKI G.V., MARTINS A.A., MEZZOMO M.P., ZANFERARI F., STEFANELLO S. [2013]. Relationship between chemical components, bacterial adherence and *in vitro* fermentation of tropical forage legumes. *Ciênc. agrotec., Lavras*, 37, 5, 457-464. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542013000500010>.
- GIBAULT T. [2006]. Des éléments indispensables au bon équilibre nutritionnel, *Mol Nutr Food Res*. 5,51, 609-617, Equation Nutrition n° 54.
- HAGERMAN A.E., KEN M.R., JONES A., SOVIK K.N, RITCHARD N.T., HARTZFELD P.W., RIECHEL T.L. [1998]. High molecular weight plant phenolics (tanins) as biological antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 46, 1887-1892.
- HARRIS K.K., SAHU M., VERMA D. [2014]. Phytochemical analysis of the leaf, stem and seed extracts of *Cajanus cajan* L. (Dicotyledoneae: Fabaceae). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3,8, 694- 733.
- KOUTOUAN F.P., YAPI Y.M., WANDAN E.N., BODJI N.C., N'DA K.P. [2019]. Composition en polyphénols totaux et en tanins des feuilles de neuf variétés de *Cajanus cajan* (L.) Millsp. au cours du premier cycle de croissance et en fonction du mode d'exploitation. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 13,2, 882-898, 2019. Available online at <http://www.ifgdg.org>.
- KUMAR G.S., NAYAKA H., DHARMESH S.M., SALIMATH P.V. [2006]. Free and bound phenolic antioxidant in amla (*Emblico officinalis*) and turmeric (*Curcuma longa*). *J. Food Compos. Anal.*, 19, 446-452.
- MAYER J.E., PFEIFFER W.H., BEYER P. [2008]. Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition. *Curr Opin Plant Biol* 11, 166-170.
- MICHEL T. [2011]. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Alimentation et Nutrition. Thèse de doctorat, Université d'Orléans.
- NGOMBO A., MUENGULA M., KALONJI A., LUBOBO A. [2017]. Identification des champignons transmis par les semences biofortifiées au Kongo Central en République Démocratique du Congo. *Afrique SCIENCE* 13,6, 1 – 11. ISSN 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>.
- NGUZ K. [1997]. Etude nutritionnelle et biochimique sur les tanins condensés du Sorgho (*Sorghum bicolor* L.) Thèse de doctorat : Université de Gand (Belgique).
- NJIDDA A.A. [2010]. Determining Dry Matter Degradability of Some Semi-Arid Browse Species of North-Eastern Nigeria Using the *In Vitro* Technique. *Nigerian Journal of Basic and Applied Science*, 18, 2, 160-167. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/njbas.v18i2.64.306>.
- PENNINGTON [2002]. Composés alimentaires bioactifs. Revue critique des méthodes d'analyse, *J. Food Compos. Anal.*, 15,4, 419-434.
- ROCCA-POLIMENI R. [2007]. Contribution à la compréhension de la cuisson domestique sous pression de vapeur. Étude expérimentale et modélisation des transferts, de l'évolution de la texture des légumes et du fonctionnement d'un autocuiseur. Thèse de doctorat, Agro Paris Tech, Paris, France. 246p
- SHARMA H.C., SUJANA G., RAO M.D. [2009]. Morphological and chemical components of resistance to pod borer, *Helicoverpa armigera* in wild relatives of pigeonpea. *Arthropod-Plant Interactions*, 3, 151–161. DOI: 10.1007/s11829-009-9068-5.
- TCHATCHAMBE J., SOLOMO B, KIRONGOZI F., LEBISABO C., DHED'A B., NGOMBE N., MPIANA P., MBEMBA T., NGBOLUA J.P. [2017].

Evaluation de la valeur nutritive et des facteurs antinutritionnels de quatre légumes alimentaires sauvages consommées à Kisangani et ses environs (Province de la Tshopo, RD Congo). *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 30, 1, 75-90.

VITTI D.M., ABDALLA A.L., BUENO I.C.S., SILVA FILHO J.C., COSTA C., BUENO M.S., NOZELLA E.F., LONGO C., VIEIRA E.Q., CABRAL FILHO S.L.S., GODOY P.B., MUELLER-HARVEY I. [2005]. Do all tannins have similar nutritional effects. A comparison of three brazilian fodder legumes. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 119, 3-4, 345-361. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2004.06.00



This work is in open access, licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>