

REPUBLIQUE TUNISIENNE

Ministère de l'Agriculture, des
Ressources Hydrauliques et de la Pêche



Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique



INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE DE TUNISIE
Ecole Doctorale Sciences et Techniques de L'Agronomie et de l'Environnement

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES AGRONOMIQUES

Spécialité Agroalimentaire

Nutriments d'intérêts en santé publique en Tunisie : prédiction et optimisation de leur composition et leur biodisponibilité au cours des procédés de transformation d'aliments traditionnels

Soutenue publiquement par :

Sondos NJOUMI

14 décembre 2018 à INAT

Devant le jury composé de :

Mme Marie-Josèphe AMIOT, Professeur, INRA

Mme Sihem BELLAGHA, Professeur, INAT

Mme Claire MOUQUET-RIVIER, Maître de conférences, IRD

Mme Hanen BEN ISMAIL, Maître de conférences, INAT

M. Nizar NASRI, Professeur, FST

Mme Jalila EL-ATI, Professeur, INNTA

Mme Hajer DEBBABI, Maître de conférences, INAT

Présidente

Directrice de thèse

Co-directrice de thèse

Rapportrice

Rapporteur

Examinatrice

Membre invité



Remerciements

Il m'est agréable de remercier toutes les personnes qui, de par leurs divers soutiens, ont facilité l'élaboration du projet de thèse et son exécution d'une part en France dans les laboratoires de l'IRD à Montpellier au sein de l'UMR 204 Nutripass et d'autre part, en Tunisie à l'INAT au sein de l'unité de recherche PATIO (UR17AGR01).

Mes vifs et sincères remerciements à **Claire Mouquet-Rivier**, co-encadrante de ma thèse qui a dirigé ce travail de mains de maître, en faisant preuve de rigueur dans la convivialité, de grandes capacités techniques et scientifiques et d'une constante disponibilité. Chère Claire, ce travail est aussi le tien. Ton soutien moral constant pendant mes moments difficiles, le chaleureux accueil que tu m'as toujours réservé dans ton bureau, la confiance que tu m'as témoigné et tes multiples conseils m'ont tout le temps rassuré et ont permis de réaliser ce travail dans de très bonnes conditions. J'ai beaucoup appris à tes côtés. J'espère pouvoir être un jour aussi précise et rigoureuse qu'elle.

J'adresse mes vifs remerciements et toute ma gratitude à ma directrice de thèse **Sihem Bellagha** pour son encadrement de qualité. Merci pour le temps qu'elle m'a consacré, pour l'organisation de la thèse, pour son implication et la patience dont elle a fait preuve. Merci pour avoir toujours été disponible et pour avoir été à mon écoute, pour m'avoir guidée tout en me laissant libre dans mes choix. Merci pour les précieux conseils, pour tout ce qu'elle m'a enseigné.

J'exprime ma profonde reconnaissance à ma co-directrice de thèse **Marie-Josèphe Amiot** pour son encadrement et pour m'avoir donné l'opportunité de participer aux congrès internationaux et pour le financement de mes séjours à l'IRD. Elle a toujours su trouver le temps pour ma thèse et faire preuve d'une patience et d'une attention particulières pour mes travaux afin de me conduire aujourd'hui à bon port. Je reste impressionnée par son charisme et sa manière de transmettre des messages, tant sur le plan social qu'académique. Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour son encadrement de qualité et pour m'avoir accordé sa confiance.

J'adresse mes vifs remerciements à **Christèle Vernière** et **Isabelle Rochette** pour leurs assistances, conseils et leurs nombreuses et appréciables contributions scientifiques tout au long de ce travail. Merci pour l'encouragement dans les moments difficiles et surtout de l'amitié qu'elles m'ont témoigné.

J'adresse mes sincères remerciements à **Christian Picq** pour le soutien qu'il m'a apporté tant au niveau des expériences au laboratoire, que pour la bonne ambiance ; son humeur et son sourire contagieux.

Mes remerciements vont aussi à **Youna Hemery**, **Caroline Laurent**, **Nicolas Lecomte** pour leur sympathie et les échanges fructueux que nous avons pu avoir.

Ma grande reconnaissance à **Jean-Pierre Guyot**, pour m'avoir accepté au sein de l'équipe Nutrition & Aliments et pour sa sympathie.

Je remercie particulièrement, toute l'administration de l'IRD. Je tiens en particulier à remercier **Catherine Philibert**, secrétaire de l'UMR Nutripass pour son aide inestimable, dont l'efficacité va de pair avec la gentillesse. Elle a été présente pour moi sur les plans administratifs de ma thèse et en particulier pour ceux qu'il a fallu gérer dans l'urgence.

Je tiens à exprimer mes très vifs remerciements à Mme **Hajer Dabbebi** pour sa précieuse collaboration.

Un grand merci à tous les stagiaires de l'IRD: **Morgane Chapron** (la mignonne), **Manon LeMerrer** (la râleuse), les doctorants : **Fabien Saubade** (l'organisateur de soirées étudiantes), **Maria del Carmen Ponce De Leon Rodriguez** (la reine des épices), **Wichien Sriwichai**, **Fabrice Bationo** et **Astieldo Randriamanana**. Les doctorantes de l'INAT: **Sarra Jribi**, **Nahla Fitouhi**, **Wafa Hajji**, **Cyrine Ferchichi** et **Améni Askri**.

Tous mes ami(e)s **Mehdi Ferjani** dont le soutien incommensurable ne m'a jamais fait défaut quelle que soit la distance, je dis infiniment merci. Les mots me manquent. A mon amie **Salma Bessadok** qui était toujours là pour moi, **Zayneb Bessaidi**, **Nessrine Dhouib**, **Salwa Fatnassi**, **Bilel Chebbi**, **Sabrina Chemissi**, **Habiba Bhourri**, **Tissem Elhadrati**, **Farouk Derouich**, **Feriel Chebbah**.

Que vous dire, **mes chers parents (Hédi et Dalloula Njoumi)**, vous étiez toujours là pour me soutenir, me reconforter et m'encourager. Sans vous, rien n'aurait été possible, merci de m'avoir soutenue pendant toutes ces années et d'avoir toujours cru en moi. Merci à mes proches notamment mes deux sœurs (**Hinda et Basma Njoumi**) et leurs maris (**Mondher Hamdi et Lotfi Zoghlami**) et mes deux frères (**Bassem et Med Ali Njoumi**) pour leur soutien et leur présence à mes cotés.

Je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté d'examiner ce travail, notamment :

La présidente du jury: Mme **Marie-Josèphe Amiot**, Directrice de recherche à l'INRA pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider cette thèse.

Aux juges :

Madame le Maître de conférences **Hanen Ben Ismail**, rapportrice.

Monsieur le Professeur **Nizar Nasri**, rapporteur.

Madame le Professeur **Jalila El-Ati**, examinatrice

Qui ont bien voulu porter un intérêt et consacrer une partie de leur temps pour apporter leur compétence dans le jugement de ce travail.

Merci à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

Table des matières

Introduction générale.....	1
Chapitre I : Etude bibliographique	7
1 De l'aliment traditionnel en Méditerranée au régime alimentaire durable	8
1.1 Définition de l'aliment traditionnel	8
1.2 Définition de « Régimes Alimentaires Durables »	9
1.3 Comportement alimentaire en Méditerranée	9
2 Les nutriments d'intérêts dans l'alimentation tunisienne	13
2.1 Pratiques alimentaires et état nutritionnel des tunisiens	13
2.2 Besoins nutritionnels et apports recommandés	14
2.3 Nutriments d'intérêts.....	16
2.3.1 Fer	17
2.3.2 Zinc	19
2.3.3 Calcium.....	21
2.3.4 Magnésium.....	21
2.3.5 Potassium	22
2.3.6 Vitamine B9 (Folates)	23
3 Biodisponibilité des nutriments.....	27
3.1 Définition	27
3.2 Activateurs et inhibiteurs de la biodisponibilité des minéraux.....	28
3.2.1 Facteurs diminuant la biodisponibilité des minéraux	28
3.2.1.1 Les phytates	28
3.2.1.2 Les composés phénoliques	30
3.2.1.3 Les fibres.....	33
3.2.1.4 Autres facteurs inhibiteurs	35
3.2.2 Facteurs améliorant la biodisponibilité des minéraux.....	36

3.2.2.1	L'acide ascorbique	36
3.2.2.2	Les protéines animales.....	36
3.2.2.3	Les sucres	37
3.3	Effets des procédés technologiques sur la biodisponibilité des minéraux.....	37
3.3.1	Les procédés mécaniques.....	37
3.3.2	Les procédés biologiques : le trempage.....	38
3.3.3	Les procédés thermiques : la cuisson.....	38
4	Méthodes d'évaluation de la biodisponibilité des minéraux.....	38
4.1	Méthodes <i>in vitro</i> : Bioaccessibilité.....	39
4.2	Estimations indirectes	39
4.2.1	Les rapports molaires phytates / minéraux	39
4.2.2	Les modèles prédictifs.....	41
5	Légumes-feuilles	43
5.1	Importance et consommation des légumes-feuilles	43
5.2	Intérêt nutritionnel des LF.....	43
5.3	Corète (<i>Corchorus olerius</i>)	44
5.3.1	Acides aminés	47
5.3.2	Micronutriments essentiels d'intérêt : minéraux et vitamines.....	47
5.3.3	Sucres et fibres	48
5.3.4	Polyphénols et activité antioxydante	48
5.4	Effets des procédés technologiques sur la valeur nutritionnelle.....	49
5.4.1	Effet de la cuisson	49
5.4.2	Effet du séchage	49
6	Légumineuses	49
6.1	Présentation générale	49
6.2	Intérêts des légumineuses	50

6.2.1	Effet santé	50
6.2.2	Intérêt nutritionnel	51
6.3	Les facteurs antinutritionnels (FAN)	51
6.3.1	Alpha-galactooligosides	52
6.3.2	Acide phytique	52
6.3.3	Polyphénols	53
6.3.4	Lectines et inhibiteurs de protéase (facteurs antitrypsiques)	53
6.4	Procédés et traitements	53
6.4.1	Décorticage.....	54
6.4.2	Trempage	54
6.4.3	Cuisson	54
6.5	Les légumineuses étudiées	54
6.5.1	Pois chiche	55
6.5.2	Lentille.....	55
6.5.3	Fève et féverole.....	56
6.5.4	Fenugrec	56
Chapitre II : Matériels et Méthodes		58
1	Suivis de recettes dans la région de Sidi Bouzid et Tunis en Tunisie : Caractérisation des plats à fort potentiel nutritionnel et leur contribution à la couverture des besoins nutritionnels ...	60
1.1	Description de la zone d'étude.....	60
1.2	Préparation de l'étude et validation du questionnaire	60
1.3	Choix des plats	61
1.4	Observations, déroulement du suivi de recette et collecte des échantillons	62
1.5	Protocoles d'études des suivis d'observation des modes de préparation des plats fréquemment consommés par les habitants de Sidi Bouzid	62
1.6	Caractérisation de la valeur nutritionnelle des plats : détermination du profil nutritionnel SAIN et LIM des plats.....	63

2	Caractérisation de la valeur nutritionnelle des plats	66
2.1	Matériels	66
2.1.1	Corète en poudre (<i>Corchorus olitorius</i>)	66
2.1.2	Graines brutes de légumineuses	66
2.1.3	Modes de préparation des graines de légumineuses	66
2.2	Protocoles d'études	67
2.2.1	Etude des procédés culinaires pour la préparation des plats	67
2.2.1.1	Procédés de trempage	67
2.2.1.2	Procédés de cuisson des plats complexes	67
2.2.1.3	Préparation des échantillons	67
2.3	Méthodes analytiques	67
2.3.1	Dosages des nutriments	68
2.3.1.1	Minéraux	68
2.3.1.2	Fer héminique	68
2.3.1.3	Vitamine B9 (folates)	69
2.3.1.4	Sucres : mono-, di et α -galactooligosides	69
2.3.2	Dosages des facteurs antinutritionnels	70
2.3.2.1	Fibres	70
2.3.2.2	Polyphénols totaux	72
2.3.2.3	Flavonoïdes totales	72
2.3.2.4	Galloyls et catéchols	72
2.3.2.5	Phytates	73
2.4	Evaluation de la bioaccessibilité <i>in vitro</i> du fer, zinc, calcium, magnésium et potassium	
	73	
2.4.1	Digestion buccale	73
2.4.2	Digestion gastrique	73

2.4.3	Digestion intestinale.....	74
2.4.4	Dosage des minéraux	74
2.5	Prédiction de la biodisponibilité des minéraux.....	74
2.5.1	Prédiction de l'absorption de fer non héminique par l'équation de Hallberg & Hulthén	74
2.5.2	Prédiction de l'absorption du zinc et du calcium par les rapports molaires [phytate] / [minéraux]	75
3	Analyses statistiques	75
Chapitre III. Résultats.....		76
1	Identification et caractérisation des plats sources en micronutriments consommés en Tunisie: détermination du profil nutritionnel en utilisant le système SAIN LIM	77
1.1	Introduction	77
1.2	Publication (project): Identifying sustainable Mediteranean foods in Tunisia: determination of nutritional profile using SAIN-LIM system and their environmental impact	82
1.3	Résultats complémentaires : Etude de l'effet des procédés de transformation alimentaire sur la valeur nutritionnelle et les scores des plats traditionnels tunisiens	100
2	Effet de la cuisson sur le profil nutritionnel et la biodisponibilité des minéraux du plat traditionnel Mloukhiya	103
2.1	Introduction	103
2.2	Publication : Effects of cooking and food matrix on estimated mineral bioavailability in Mloukhiya, a Mediterranean dish based on jute leaves and meat	108
2.3	Résultats complémentaires	131
2.3.1	Les propriétés physicochimiques des mucilages de la Mloukhiya	131
2.3.1.1	Effet de la cuisson sur la teneur en fibres solubles et insolubles	131
2.3.1.2	Effet de la cuisson sur les teneurs en sucres simples, oligosides et acides uroniques	132
3	Effets des procédés de transformation traditionnels des légumineuses sur la teneur en nutriments d'intérêts, les facteurs antinutritionnels et la biodisponibilité des minéraux	135
3.1	Introduction	135

3.2	Publication : Soaking and cooking modify the alpha-galacto-oligosaccharide and dietary fiber content in five Mediterranean legumes.....	140
3.3	Publication: Behaviours of mineral and phytate during soaking and cooking processes in five Mediterranean legumes: Implications for mineral bioavailability.....	167
3.4	Résultats complémentaires.....	190
3.4.1	Effet des procédés culinaires (trempage et cuisson) sur la teneur en folates dans les légumineuses étudiées.....	190
3.4.1.1	Effet du trempage sur la teneur en vitamine B9 dans les légumineuses.....	190
3.4.1.2	Effet de la cuisson sur la teneur en vitamine B9 de la Bahthoula.....	192
	Chapitre VI. Discussion générale et conclusion.....	194
	Références bibliographiques.....	209
	Annexes.....	231

Liste des tableaux

Tableau 1. Facteurs d'absorption du fer non-héminique.....	19
Tableau 2. Récapitulatif des références nutritionnelles en vitamines et minéraux pour les hommes adultes.....	25
Tableau 3. Récapitulatif des références nutritionnelles en vitamines et minéraux pour les femmes adultes.....	26
Tableau 4. Classification et structure des polyphénols (Pandey and Rizvi, 2009).....	30
Tableau 5. Les valeurs critiques pour les rapport molaires phytates/minéraux.....	40
Tableau 6. Teneurs en micronutriments de la poudre de corète (<i>Corchorus olitorius</i>).....	47
Tableau 7. Composition nutritionnelle des légumineuses étudiées (El-Ati et al., 2007).	57
Tableau 8. Définitions des indicateurs SAIN LIM et les méthodes de calcul (AFSSA, 2008).....	63
Tableau 9. Nutriments de SAIN 5, SAIN 6, SAIN 16 et SAIN 23 et les ANC correspondants (Darmon and Darmon, 2008).	65
Tableau 10. Les nutriments du LIM et les apports journaliers maximum recommandés (Darmon and Darmon, 2008).	65
Table 11. Summary of major ingredients and cooking time of average recipes.....	91
Table 12. DM content, average portion and energy value of Tunisian dishes.	92
Table 13. Environmental impact indicators of the traditional Tunisian composite dishes and their main ingredients.	97
Tableau 14. Scores SAIN LIM de la mloukhiya avant et après transformation pour 100 g de plat....	101
Tableau 15. Score SAIN LIM de la bahthoula avant et après transformation alimentaire pour 100 g de plat.....	101
Tableau 16. Score SAIN LIM du ragoût aux petits pois avant et après transformation alimentaire pour 100 g de plat.....	101
Tableau 17. Score SAIN LIM du couscous au fenouil sauvage avant et après transformation alimentaire pour 100 g de plat.....	102
Table 18. Nutritional composition of the final Mloukhiya dish and sauce and its main ingredients i.e. the powder of jute leaves and the beef meat (results are expressed per 100 g DM).....	116

Table 19. Changes in mineral bioaccessibility in Mloukhiya sauce during the cooking process.	123
Table 20. Changes in fractional absorption of iron from Mloukhiya during cooking time as predicted by the equation of Hallberg and Hulthén (2000).....	125
Tableau 21. Profils de mono-,di- et oligo-sides de la poudre de corète et de la Mloukhiya au cours de la cuisson (mg/100g MS).	133
Tableau 22. Profil d'acide uronique de la poudre de corète et de la Mloukhiya au cours de la cuisson (mg/100g MS).	134
Table 23. Mono-, di-, oligosaccharide and dietary fiber contents in five raw legumes.	149
Table 24. Changes in soluble and insoluble fiber contents during seed soaking.	161
Table 25 (Supplementary Table 1). Effect of cooking on mono- and di- saccharide, α -GOS and dietary fiber contents in the Bahthoula dish.	162
Table 26. Total mineral (Fe, Ca, Zn, Mg, Cu, K) and phytate contents of raw legumes.	177
Table 27. Mineral content of studied legumes during soaking process.	181
Table 28. Total mineral and phytate contents in Bahthoula dish.	184
Tableau 29. Comparaison des résultats expérimentaux et les données de la table de composition des aliments tunisiens pour le plat traditionnel la mloukhiya.	203
Tableau 30. Comparaison des résultats expérimentaux et les données de la table de composition des aliments tunisiens pour le plat de la bahthoula.	204

Liste des figures

Figure 1. La pyramide du régime méditerranéen (CIHEAM, 2012).	12
Figure 2. La nouvelle pyramide de la diète méditerranéenne (Bach-Faig et al., 2011).	12
Figure 3. Transport apical du fer : incorporation dans les entérocytes (Omar et al., 2006).....	18
Figure 4. Structure de l'acide phytique d'après le modèle de Anderson (1914).	28
Figure 5. Structure d'un sel d'acide phytique représentant les six phosphates avec les différentes possibilités d'interagir tant avec des cations métalliques.	28
Figure 6. Structure de base des flavonoïdes.	31
Figure 7. Structure de sous-classes des flavonoïdes (Pandey and Rizvi, 2009).	31
Figure 8. Classification des tanins (Khanbabaee and van-Ree, 2001).	32
Figure 9. Classification des fibres alimentaires (Viuda-Martos et al., 2010).....	34
Figure 10. Représentation graphique du système SAIN et LIM et les quadrants de classification (AFSSA, 2008).....	64
Figure 11. Classification of follow-up recipes with the SAIN-LIM system and their position within the 4 nutrient profile classes.....	93
Figure 12. Classification of follow-up recipes with the SAIN-LIM system and their position within the 4 nutrient profiles classes.	94
Figure 13. Comparative SAIN-LIM profile of Tunisian composite dishes and 4 frequently eaten composite dishes in France (paella, French taboulé, garnished couscous and cassoulet).	95
Figure 14. Temperature recording (a), changes in dry matter content and apparent viscosity in the Mloukhiya sauce (b), and dry matter content and weight loss of meat pieces (c) during the cooking process.	118
Figure 15. Changes in mineral content in sauce (a) and in meat (b) during cooking (error bars are for SD).	120
Figure 16. Changes in the content of iron-binding phenolic compounds in Mloukhiya during cooking (galloyls and catechols).	121
Figure 17. Effet de la cuisson sur la teneur en fibres (IDF insoluble, SDF soluble, TDF totale) dans la Mloukhiya.	132

Figure 18. Effects of soaking on (a) water absorption of legume seeds, (b) pH of the soaking water and (c) leached DM.	151
Figure 19. Changes in total α -GOS content in legumes during soaking.	152
Figure 20. Effect of soaking at 25°C on the α -GOS content of legume seeds.	154
Figure 21. Effect of soaking at 25°C on the content of some mono- and di- saccharides in the five legume seeds.	155
Figure 22 (Supplementary Figure 1). Amounts of α -GOS, di- and mono-saccharides in legume seeds (grey) and soaking water (black) during soaking (in mg per 100g DM of initial seeds). Error bars are for average deviation of two independent repetitions on seeds and soaking waters.	159
Figure 23. Effects of soaking on (a) Water absorption of legume seeds, (b) leached DM and (c) pH of the soaking water.	179
Figure 24. Effet du trempage sur la teneur en folate des 5 légumineuses étudiées.	192

Liste des abréviations

α -GOS	α -Galacto-OligoSaccharides
AA	Acide Ascorbique
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation
AS	Apport Satisfaisant
AI	Adequate Intake
AJR	Apport Journalier Recommandé
ANC	Apport Nutritionnel Conseillé
ARN	Acide RiboNucléique
BNM	Besoin Nutritionnel Moyen
CIHEAM	Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes
Ca	Calcium
Cu	Cuivre
DMT1	Dimetal Transporter 1
Dcytb	Duodenal Cytochrome b
DE	Densité Energétique
DMF	DiMéthylFormamide
EC	Equivalent de Catéchine
EAT	Equivalents d'Acide Tannique
EFSA	European Food Safety Agency
ET	Ecart-Type
FAN	Facteur Anti-Nutritionnel
FAO	Food and Agriculture Organization
Fe	Fer
FAS	Ammonium Sulfate Ferrique
GHG	Greenhouse Gas Emissions
HCP1	Heme Carrier Protein 1
HPAEC	High-performance Anion Exchange Chromatography
HPAE-PAD	High-performance Anion Exchange Chromatography coupled with Pulsed Amperometric Detection
INAT	Institut National Agronomique de Tunisie

IR	Intervalles de Référence
IRD	Institut de Recherche pour le Développement
IDF	Fibres Insolubles
ICP-OES	Spectrométrie d'Emission Optique avec Plasma à Couplage Inductif
IDF	Fibres Insolubles
IP6	<i>Myo</i> -Inositol 6-Phosphates
K	Potassium
LF	Légume-Feuille
LIM	Nutriments à Limiter
MB	Matière Brute
MS	Matière Sèche
Mg	Magnésium
Nut	Nutriment
OMS	Organisation Mondiale de Santé
P	Phosphore
Phy	Phytate
PIPES	PiperazineN, N'-bis-[acide 2-ethanesulfonique]
RNP	Référence Nutritionnelle pour la Population
Rpm	Rotations par minute
SAIN	Score d'Adéquation Individuel aux Recommandations Nutritionnelles
SDF	Fibres Solubles
TDF	Fibres Totales
USDA	United States Department of Agriculture
UNICEF	United Nations of International Children's Emergency Fund
UMR	Unité Mixte de Recherche
WHO, OMS	World Health Organisation, Organisation mondiale de la santé
Zn	Zinc

Introduction générale

Introduction générale

La malnutrition continue de sévir dans le monde en général et dans les pays en développement en particulier (FAO et al., 2015; OMS and FAO, 2003). Le double fardeau de la sous-alimentation et de la surnutrition s'alourdit rapidement dans de nombreux pays en développement (FAO and WHO, 2004). L'alimentation méditerranéenne a fait l'objet de nombreux articles convergeant vers ses effets bénéfiques sur la santé (CIHEAM, 2012). Bien que la diète méditerranéenne soit reconnue comme l'un des modèles nutritionnels de référence par l'Organisation Mondiale de Santé (OMS) depuis 1994 et inscrite au patrimoine culturel immatériel de l'humanité par l'UNESCO (2010) en 2010, (CIHEAM, 2012), son adhésion s'est progressivement érodée dans tous les pays des rives Sud et Nord de la Méditerranée. Au delà des questions pour une bonne nutrition et une bonne santé, l'alimentation méditerranéenne est un modèle pour la préservation de la biodiversité et des ressources naturelles (CIHEAM, 2012). L'amélioration de la durabilité des modes de consommation alimentaire en Méditerranée est une priorité essentielle pour la préservation de l'environnement et aussi pour la transmission d'habitudes culinaires traditionnelles en privilégiant les productions locales (CIHEAM and FAO, 2015). Les aliments et les plats traditionnels reflètent toujours l'identité régionale des personnes, des groupes ethniques et des communautés, et l'utilisation des légumes feuilles, des céréales et des légumineuses est un exemple qui illustre les connaissances locales ou les connaissances écologiques traditionnelles.

Les recherches sur la diète méditerranéenne en Tunisie en tant que régime alimentaire durable dans lequel la nutrition, la biodiversité, la production locale de denrées, la culture locale et la durabilité sont étroitement liées, doivent être encouragés et soutenus. En Tunisie, les légumes-feuilles et les légumineuses entrent dans la composition de nombreux plats familiaux traditionnels consommés par la majorité des ménages urbains et ruraux. La consommation des légumineuses a très peu changé en Tunisie pendant les dernières années. Les légumineuses après une baisse de 19 % en 1995, affiche, en 2010, une élévation de 6 % par rapport aux quantités consommées en 1985 (INC, 2013). Les quantités consommées en légumineuses sont en augmentation continue passant de 2,6 kg/personne/an en 1995 à 3,4 kg/personne/an en 2010 (INC, 2013). Ainsi la consommation des légumineuses est restée stable en 2015 (Statistiques Tunisie, 2016). La consommation des légumes feuilles a évolué de 1,5 % en 2010

comparée à celle de 1985 (INC, 2013). En 2015, les quantités consommées en légumes feuilles sont de 85,3 kg/personne/an.

L'apport en nutriments des légumes-feuilles et légumineuses nécessite un examen plus détaillé. En effet, les différents mécanismes mis en jeu dans la préparation de ces plats, peuvent affecter leur valeur nutritionnelle ainsi que la biodisponibilité des nutriments comme celle des minéraux. Ainsi, de précédentes études ont montré que les procédés technologiques tels que le trempage et la cuisson ont un impact sur la valeur nutritionnelle des aliments. Les différents paramètres et conditions de cuisson et de trempage ont des effets variables sur la composition des aliments (Lewu et al., 2010; Xu and Chang, 2008). Une étude pour évaluer les effets des procédés culinaires sur la valeur nutritionnelle est nécessaire afin d'apprécier l'apport réel en nutriments d'intérêt des plats à base de légumes feuilles et de légumineuses.

En effet, ces produits sont riches en facteurs antinutritionnels (phytates, tanins, certaines fibres) formant des complexes insolubles avec les minéraux qui sont généralement stables au cours de la digestion et donc non absorbables. La biodisponibilité des minéraux, fait l'objet de nombreuses études depuis plusieurs années. Elle est très variable d'un minéral à l'autre et d'un repas à l'autre. Elle est en effet affectée par de nombreux facteurs : composition de la matrice dans laquelle les minéraux sont incorporés, composition en autres nutriments du repas dans lequel cette matrice est absorbée (Armah et al., 2013; Hallberg and Hulthén, 2000; Hurrell and Egli, 2010). Pour améliorer leur biodisponibilité, il faut donc connaître précisément les multiples facteurs qui sont capables d'interférer avec leur absorption.

Cependant, les recherches dans ce domaine, bien qu'apportant de nombreuses connaissances, ne prennent pas en compte la complexité de la matrice alimentaire, ou bien ne sont pas adaptées au contexte des aliments traditionnels complexes. Néanmoins les connaissances disponibles suggèrent qu'il existe certains facteurs clefs sur lesquels nous pouvons jouer pour améliorer la biodisponibilité.

Il serait donc intéressant d'étudier la contribution des aliments traditionnels aux apports recommandés en nutriments d'intérêts en santé publique.

« Medina », projet financé par l'Agence Nationale de la Recherche (France) dans le cadre de l'appel ANR-TRANSMED, vise à promouvoir des systèmes d'alimentations durables

Introduction générale

conciliant sécurité alimentaire et nutritionnelle et bonne santé des populations méditerranéennes. Les objectifs spécifiques du projet consistent à :

- évaluer le potentiel nutritionnel des systèmes alimentaires observés dans trois zones de la région méditerranéenne : le sud-est de la France (régions Languedoc-Roussillon et Provence-Alpes-Côte d'Azur), la métropole du Grand Tunis et la région rurale de Sidi Bouzid en Tunisie ;
- identifier et promouvoir la diversité alimentaire bio-culturelle (agrobiodiversité locale et savoir-faire traditionnels) comme source de diversification et de qualité nutritionnelle ;
- identifier les changements nécessaires et les leviers économiques, afin d'orienter la consommation alimentaire vers une plus grande durabilité, du point de vue de la santé et de l'environnement ;
- évaluer les conséquences de ces changements sur les filières de la production à la consommation ;
- construire des scénarios permettant d'optimiser la contribution des systèmes alimentaires à des objectifs de santé publique.

Cette thèse s'inscrit dans le cadre de ce projet et a pour objectif de répondre aux questions qui sont à la base de notre réflexion : (i) Quels sont les apports nutritionnels de l'alimentation des habitants de Sidi Bouzid en milieux urbain et rural et Grand Tunis en Tunisie ? (ii) Quels sont les aliments locaux riches en nutriments d'intérêts les plus fréquemment consommés par ces habitants ? (iii) Quels sont les facteurs antinutritionnels dans ces aliments qui affectent la biodisponibilité des nutriments d'intérêts ? (iv) Quelle est la participation des plats à base de légumes-feuilles et de légumineuses, lorsqu'elles sont consommées, à la couverture des besoins en minéraux et en vitamines ? (v) Quelles sont les opérations unitaires critiques pour ces nutriments lors du procédé traditionnel de préparation de ces plats traditionnels ?

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet des procédés culinaires traditionnels sur les nutriments d'intérêts et les facteurs antinutritionnels dans les plats composés et d'évaluer les possibilités d'amélioration de la biodisponibilité des minéraux dans les aliments traditionnels préparés à base de légumes feuilles et de légumineuses en Tunisie.

Introduction générale

A la suite de cette introduction, ce mémoire de thèse s'articule en 4 chapitres :

Le chapitre 1 propose une synthèse des données bibliographiques qui sous-tendent ce travail. Il aborde successivement (a) La situation alimentaire et nutritionnelle et les pratiques d'alimentation méditerranéenne ; (b) Les facteurs améliorant et diminuant la biodisponibilité des minéraux ; (c) le légume feuille étudié (la corète) et les légumineuses ; (d) L'effet des procédés de préparation sur la valeur nutritionnelle.

Le chapitre 2 présente les protocoles d'étude, ainsi que les matériels et les méthodes utilisés au cours des différentes études menées.

Le chapitre 3 aborde les résultats obtenus sous forme de quatre articles ou projet d'article. Chaque article comportera une présentation résumée en français avec des résultats complémentaires. Le 1^{er} article (projet d'article) est axé sur l'identification des plats les plus prometteurs notamment des plats à base de légumes-feuilles ou de légumineuses et le suivi au niveau de 10 ménages des procédés traditionnels de préparation de ces plats. Ces suivis ont permis d'élaborer des recettes et procédés standards 'moyens' de préparation de ces plats, utilisables par la suite au laboratoire, de collecter les données de formulations afin de déterminer le potentiel nutritionnel de ces plats traditionnels, d'estimer les tailles de portion habituelles des adultes dans ces familles alimentaires tunisiennes, ainsi que l'évaluation de leur contribution à la couverture des besoins en énergie et en nutriments.

Le 2^{ème} article (publié) consiste en une étude des effets de la matrice alimentaire et de la cuisson sur les teneurs en minéraux et leur biodisponibilité dans le plat traditionnel à base de feuilles de corète « Mloukhiya ».

Le 3^{ème} article (accepté) est axé sur l'effet des opérations unitaires de trempage et de cuisson des légumineuses mises en œuvre dans la préparation du plat traditionnel « Bahthoula » sur les teneurs en mono-, diosides, alpha-galactooligosides et fibres solubles et insolubles.

Le 4^{ème} article (projet d'article) est basé sur l'effet des opérations unitaires de trempage et de cuisson des légumineuses sur la teneur en minéraux et les phytates et leurs biodisponibilités.

Enfin, le chapitre 4 comporte une discussion générale des résultats ainsi que la conclusion de l'ensemble des travaux, de leurs limites ainsi que des recommandations qui en découlent.

Mais que reste-t-il aujourd'hui de la diète méditerranéenne tunisienne ? La population tunisienne suit-elle toujours ce régime emblématique ?

Chapitre I : Etude bibliographique

1 De l'aliment traditionnel en Méditerranée au régime alimentaire durable

L'aliment n'est plus considéré seulement comme la somme quantitative des constituants nutritionnels mais comme une structure physique complexe "matrice alimentaire" qui influence le devenir digestif des nutriments, leurs effets métaboliques et leurs effets sur la santé (Fardet et al., 2013). Les aliments constituent des matrices complexes qui sont le résultat d'interactions entre les ingrédients et les procédés de transformation. Ces matrices modifient l'effet fonctionnel et nutritionnel des aliments ; un aliment forme donc une entité, avec des propriétés fonctionnelles et nutritives particulières. Il constitue une matrice où différentes molécules peuvent interagir. Les nutriments ont la faculté d'entrer en compétition avec d'autres, d'inhiber ou de potentialiser les effets d'autres constituants présents dans l'aliment. Ces interactions peuvent causer des modifications au niveau des propriétés physico-chimiques des nutriments et par la suite déterminer leur teneur au sein de l'aliment et leur biodisponibilité. De plus, les constituants alimentaires continuent à interagir au niveau du tractus gastro-intestinal (Zúñiga and Troncoso, 2012). Pour cette raison, dans le but de répondre aux problèmes de santé publique, les interactions nutriments-nutriments, nutriments-organisme, et l'impact des différents procédés de préparation alimentaire et technologique sur la fonctionnalité des aliments doivent être plus largement étudiés.

1.1 Définition de l'aliment traditionnel

Un aliment traditionnel est tout aliment d'un pays, endémique ou introduit, connu et utilisé depuis plusieurs années par les populations locales et dont la production s'appuie sur les savoirs et les savoir-faire traditionnels acquis de génération en génération. Un aliment traditionnel est un héritage bien transmis par voie de successions ainsi qu'un patrimoine bien commun d'un groupe humain considéré comme un héritage transmis par les ancêtres. C'est aussi un produit patrimonial, historique, typique entouré de savoir-faire (Padilla, 2008a).

Les plats traditionnels ont une fonction sociale, réunissant la famille et les amis autour du repas, à l'occasion de fêtes ou de cérémonie, marquant l'appartenance à un groupe, une ethnie, une identité culturelle. La richesse culturelle et patrimoniale des populations peut être révélée par leurs traditions de culture et de préparation culinaire. La non prise en compte de ces connaissances et savoir-faire traditionnels risque de faire disparaître les patrimoines. Des efforts sont entrepris pour à la fois découvrir l'intérêt ou les propriétés de certaines traditions alimentaires, et les domestiquer sans en perdre la diversité (Kahane et al., 2005). Les connaissances et savoir-faire traditionnels se transmettent de génération en génération sans

trace écrite, et tendent à se perdre. La recherche pour le développement des plats traditionnels vise à la conservation de la tradition alimentaire et culturelle.

1.2 Définition de « Régimes Alimentaires Durables »

Les régimes alimentaires durables sont des régimes alimentaires ayant de faibles conséquences sur l'environnement, qui contribuent à la sécurité alimentaire et nutritionnelle ainsi qu'à une vie saine pour les générations présentes et futures. Les régimes alimentaires durables contribuent à protéger et à respecter la biodiversité et les écosystèmes, sont culturellement acceptables, économiquement équitables et accessibles, abordables, nutritionnellement sûrs et sains, et permettent d'optimiser les ressources naturelles et humaines (FAO, 2010). En se basant sur cette définition, l'alimentation durable repose sur 4 piliers : l'environnement (émission de gaz à effet de serre, l'empreinte hydrique,...), le socio-culturel (consommations alimentaires observées), l'économie (prix des aliments) et la nutrition en lien avec la santé (scores de qualité nutritionnelle).

1.3 Comportement alimentaire en Méditerranée

La Méditerranée a forgé son identité alimentaire par une grande diversité, liée aux mosaïques humaines et culturelles de la région mais également en raison des différents modes d'acquisition concernant les produits. Au fil du temps, ce métissage, plutôt que de conduire à une uniformisation des pratiques alimentaires, a contribué au contraire à élargir les répertoires alimentaires et culinaires (Padilla, 2008b). Le terme «régime méditerranéen» a été inventé dans un livre écrit par les nutritionnistes Ancel et Margaret Keys (Keys and Keys, 1959). Depuis les années 1990 les bénéfices de la diète méditerranéenne ont été officiellement reconnus par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et s'est vue classée en 2010 sur la liste représentative du patrimoine culturel immatériel de l'humanité de l'UNESCO (Lacirignola et al., 2012). « La diète méditerranéenne » (du grec 'diaita', ou style de vie) est bien plus qu'un modèle nutritionnel. Le régime méditerranéen, devenu une référence mondiale en termes de bénéfices pour la santé et de longévité et est considéré comme le moteur des systèmes alimentaires durables (CIHEAM and FAO, 2015). Elle favorise l'interaction sociale puisque le repas partagé en commun est à la base des coutumes sociales et des festivités partagées par une communauté donnée, et elle a donné lieu à un remarquable corpus de savoirs, chants, maximes, récits et légendes. La diète se fonde sur le respect du territoire et de

la biodiversité, et garantit la conservation et le développement des activités traditionnelles et des métiers associés à la pêche et à l'agriculture dans les communautés de la Méditerranée.

La diète méditerranéenne est un ensemble de savoir-faire, connaissances, pratiques et traditions qui vont du paysage à la table, y compris les cultures, la récolte ou la moisson, la pêche, la conservation, la transformation, la préparation et, en particulier, la consommation d'aliments (UNESCO, 2010). Les femmes jouent un rôle particulièrement vital dans la transmission du savoir-faire, dans la connaissance des rituels, de la gestuelle et des célébrations traditionnelles, et enfin dans la sauvegarde des techniques.

La région méditerranéenne traverse une «transition nutritionnelle» dans laquelle les problèmes de malnutrition (la dénutrition et les carences en micronutriments) coexistent avec des problèmes de surnutrition (surpoids, obésité) et les maladies chroniques non transmissibles liées à l'alimentation. Cette transition nutritionnelle est alarmante car elle a des effets négatifs non seulement sur la santé mais aussi des implications économiques, sociales et environnementales spectaculaires. Ce qui affecte la durabilité des modes de consommation alimentaire méditerranéenne, en particulier la diminution de l'adhésion au régime méditerranéen traditionnel (WHO, 2010b). Ce modèle d'alimentation perd son équilibre nutritionnel en se dégradant vers un modèle d'excès avec l'accroissement des quantités consommées et la consommation immodérée de produits d'origine animale.

La diète méditerranéenne se caractérise par un modèle nutritionnel dont les principaux ingrédients sont l'huile d'olive, les céréales, les légumineuses, les fruits et légumes, une proportion limitée de poisson, produits laitiers et viande, et de nombreux condiments et épices, le tout accompagné de vin ou d'infusions (Figure 1), dans le respect des croyances de chaque communauté (Padilla and Palma, 2015). Du point de vue nutritionnel, le régime méditerranéen se caractérise donc par : un apport calorique adapté aux besoins, un apport élevé en glucides complexes, la présence importante de fibres, un faible apport en matières grasses, où les lipides mono- et polyinsaturés prédominent, un apport en protéines suffisant et bien équilibré entre les sources végétales et animales, et une grande concentration en micronutriments antioxydants (INC, 2010).

La pyramide méditerranéenne promeut également des conseils diététiques. Elle part du constat de la longévité exceptionnelle et du bon état de santé des habitants du pourtour méditerranéen (étude de Keys et Ancel dans les années 60) et vise à l'adoption de

l'alimentation traditionnelle de cette population particulière pour préserver la santé. Un groupe d'experts du bassin méditerranéen a actualisé ce modèle alimentaire basé sur les traditions et la culture régionale en y intégrant les connaissances scientifiques les plus récentes et les défis actuels à relever (Bach-Faig et al 2011). Dans le modèle alimentaire méditerranéen, les produits végétaux doivent constituer la base de l'alimentation et les produits animaux doivent être consommés avec mesure. On peut noter en particulier la limitation de la consommation de viande rouge et de charcuteries.

La nouvelle pyramide méditerranéenne a d'autres spécificités (Figure 2):

- le repas y tient une place centrale : il est pris à table et dans la convivialité et comporte une large part de produits végétaux en privilégiant la diversité avec des fruits et des légumes de couleur et texture variées, des céréales de préférence complètes. L'huile d'olive y occupe une place de choix dans l'apport en lipides.
- les légumes secs sont regroupés avec les œufs, les viandes maigres et les poissons et produits de la mer et sont recommandés à une fréquence supérieure à deux portions par semaine. Cette catégorisation se justifie pleinement par la richesse des légumes secs en protéines de bonne valeur biologique. Deux portions de viandes maigres et au moins deux portions de poissons ou produits de la mer sont recommandés par semaine.
- une dernière spécificité importante de la pyramide méditerranéenne est la recommandation particulière de consommer tous les jours des fruits oléagineux (cela comprend les fruits à coque tels que les noix et amandes, mais aussi les olives), des fruits séchés (abricot, figue, datte, etc.), des graines (ex : lin, tournesol, etc.), ainsi que des herbes aromatiques et autres condiments végétaux non salés (ail, oignon, épices, etc.).

D'une façon générale, une place de choix est donnée à tous les aliments riches en nutriments essentiels. C'est donc la densité nutritionnelle qui est tous les jours au menu avec la pyramide méditerranéenne, laquelle est inscrite dans un concept de durabilité.

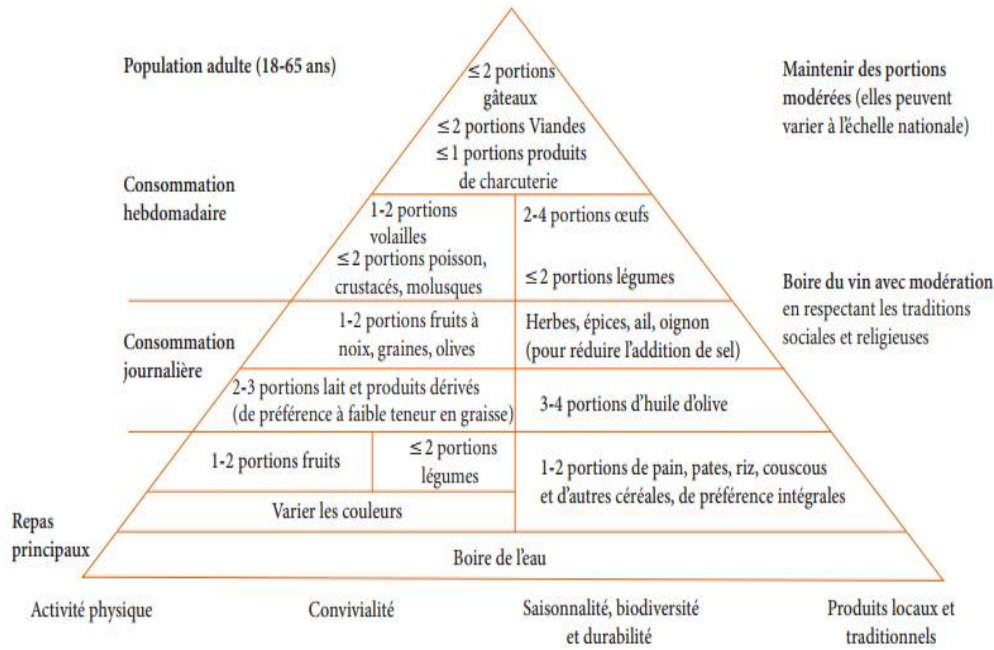


Figure 1. La pyramide du régime méditerranéen (CIHEAM, 2012).



Figure 2. La nouvelle pyramide de la diète méditerranéenne (Bach-Faig et al., 2011).

Les différentes cultures, religions, croyances, milieux environnement (dans le sens écologique) et le développement historique autour de la Méditerranée ont abouti à de nombreux régimes alimentaires avec des traditions locales ou régionales distinctes tout en partageant un socle d'éléments communs (Hadjichambis et al., 2008).

Dans le cadre des stratégies de promotion des systèmes alimentaires durables et la valorisation du patrimoine local, assurer la préservation du régime méditerranéen dans les régions méditerranéennes est indispensable, mais aussi promouvoir l'extension de ce modèle à d'autres régions du monde dans une optique de santé publique. L'objectif essentiel est de lutter contre les déséquilibres alimentaires liés à une augmentation de la consommation de produits riches en lipides et en sucre, et à une insuffisance de consommation en produits végétaux.

2 Les nutriments d'intérêts dans l'alimentation tunisienne

2.1 Pratiques alimentaires et état nutritionnel des tunisiens

La Tunisie, comme beaucoup de pays émergents, est en train de subir des modifications fondamentales du comportement alimentaire dues aux changements dans le mode de vie (urbanisation, industrialisation, migration, travail des femmes, journée de travail continue, alimentation collective, etc.). Ces mutations influent sur l'état nutritionnel et la santé de la population. L'impact de l'industrialisation de l'alimentation sur les modes alimentaires est plus fort chez les populations urbaines (Padilla, 2008a). En effet, si dans les villes, l'évolution du modèle de consommation alimentaire tend ces trente dernières années vers un changement de régime alimentaire plus riche en produits industriels -tels que les céréales de type pâtes alimentaires et pain blanc, produits laitiers, produits conditionnés de type conserves-, en milieu rural, on observe en revanche le maintien de produits plus traditionnels dits de terroir.

L'alimentation tunisienne préserve, mais dans une faible mesure ses caractéristiques méditerranéennes ; la consommation alimentaire se déplace vers les produits d'origine animale, les corps gras et le sucre au détriment des aliments de base. Elle se caractérise par un régime alimentaire toujours basé sur les céréales mais les quantités consommées en ces produits sont en baisse continue (INC, 2010). A l'inverse, la ration a enregistré un apport plus important en viande, poisson, lait et œufs mais aussi légumes et fruits qui sont quasiment présents au cours de l'année. En effet, une plus grande diversification du régime alimentaire tunisien est constatée avec une consommation plus forte en légumes, en œufs, en produits laitiers et en viande. La consommation de lait et dérivés a considérablement augmenté, en notant une forte diminution de la part du lait proportionnellement à celle des produits laitiers (yaourt, fromage, et autres) (EL-Ati et al., 2002; INC, 2010). Ainsi l'évolution de la consommation alimentaire moyenne du tunisien au cours des deux dernières décennies est

caractérisé par i) un niveau énergétique moyen presque stable et dans la fourchette tolérée ; ii) une modification de la structure de la ration journalière : la part des glucides a sensiblement diminué au profit des lipides et iii) une baisse de l'apport protéique absolu avec augmentation de la part d'origine animale aux dépens de la part végétale (INC, 2010).

En effet, une alimentation riche en graisse, sel et sucre, et d'une manière générale de produits ultratransformés (Fardet, 2017) est associée à une incidence plus élevée de pathologies. Il est important d'encourager le retour au patrimoine culinaire traditionnel.

2.2 Besoins nutritionnels et apports recommandés

Les travaux entrepris par l'Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire de Tunisie ont largement contribué à l'identification des problèmes nutritionnels et de leur ampleur, au recensement des régions prioritaires et des groupes vulnérables de la population, ainsi qu'à l'analyse de l'évolution de la situation nutritionnelle globale sur les dernières décennies.

Les maladies liées aux carences nutritionnelles (retard de croissance, insuffisance pondérale, carence en iode, en vitamine A, etc.) ont considérablement reculé (WHO, 2010b), mais de nouvelles pathologies chroniques comme l'obésité, le diabète, l'hypertension artérielle, les dyslipoprotéïnémies et l'hyperuricémie ont simultanément émergé.

L'anémie demeure cependant un problème de santé publique important, affectant surtout les femmes en âge de procréer, enceintes et allaitantes, et les jeunes enfants de l'ensemble du pays avec une prédominance dans les régions du Sud et du Grand Tunis (INNTA and UNICEF, 2002). En Tunisie, le déficit en fer est la première cause de l'anémie chez les femmes en âge de procréer, enceintes et allaitantes et les enfants et se trouve être depuis les années 80 un problème reconnu de santé publique du fait de sa prévalence importante au sein de la population (INNTA and UNICEF, 2002). L'apport en fer biodisponible, pour les femmes qu'elles soient carencées ou non, est insuffisant par rapport aux recommandations. Les taux de couverture, c'est-à-dire les valeurs moyennes sur les valeurs conseillées, sont dans la fourchette tolérée et s'échelonnent entre 89 et 98 % (INNTA and UNICEF, 2002).

Les anémies par carence en folates ou en vitamine B12 sont très peu répandues que ce soit chez les femmes ou chez les enfants (INNTA and UNICEF, 2002).

Les définitions des termes utilisés en nutrition ont varié selon les auteurs et au cours du temps. Concernant le « besoin nutritionnel », la définition est, par principe, très large : le besoin nutritionnel est la quantité minimale d'un nutriment devant être consommée par un individu pour sa bonne santé. Cette définition est dans l'esprit de celle de la FAO (FAO and WHO, 2004) ou de l'Afssa (Afssa, 2001), mais sa formulation simple et la référence au terme large de « santé » permet d'intégrer l'ensemble des rôles dans une perspective de nutrition optimale : cela recouvre les rôles classiques dévolus aux nutriments, relatifs à leur essentialité, leur utilisation métabolique, mais aussi leurs répercussions physiologiques, ou encore leurs implications éventuelles dans des phénomènes physiopathologiques à long terme. Cette définition est conforme aux autres définitions larges qui ont pu être proposées, notamment par l'OMS (FAO and WHO, 2003), qui a défini le besoin nutritionnel (d'un micronutriment) comme « le niveau d'apport qui satisfait un critère d'adéquation, diminuant ainsi le risque d'insuffisance ou d'excès d'apport ». Un état des lieux des termes utilisés (ANSES, 2017a) met en évidence la nécessité d'harmoniser les termes employés pour un même concept. Cette harmonisation doit se fonder sur une meilleure caractérisation du socle scientifique (type et qualité des données) sur lequel repose la valeur retenue et, en conséquence, son utilisation. Ainsi, les termes relatifs aux références nutritionnelles, c'est-à-dire le Besoin Nutritionnel Moyen (BNM), la Référence Nutritionnelle pour la Population (RNP), l'Apport Satisfaisant (AS), les Intervalles de Référence (IR) ainsi que les Limites Supérieures de Sécurité (LSS) ont été essentiellement définis par les approches mises en œuvre pour les établir et sont les suivantes :

- Besoin Nutritionnel Moyen (BNM) : besoin quotidien moyen au sein de la population, tel qu'estimé à partir de données individuelles d'apport en relation avec un critère d'adéquation nutritionnelle lors d'études expérimentales.
- Référence Nutritionnelle pour la Population (RNP) : apport quotidien qui couvre le besoin de presque toute la population considérée, tel qu'estimé à partir des données expérimentales. La RNP est calculée à partir de l'estimation des paramètres de la distribution du besoin. Le plus souvent la RNP est estimée à partir du BNM auquel deux écart-types sont ajoutés, pour déterminer ainsi l'apport qui couvre le besoin de 97,5 % de la population. L'écart-type étant le plus souvent estimé à 15 % du BNM, la RNP vaut alors 1,3 fois le BNM. Cette définition est consensuelle dans le monde. Elle correspond à celle de l'ancien terme « apport nutritionnel conseillé », ANC, en France (Afssa, 2001) et Recommended Nutrient Intake (RNI) selon l'OMS (WHO and FAO,

2003) qui était également utilisé par extension pour différents types de références nutritionnelles. Dans un souci de clarté, le terme d'ANC a été abandonné au profit de RNP et de deux nouveaux types de références nutritionnelles : l'apport satisfaisant et l'intervalle de référence.

- Apport satisfaisant (AS) : apport quotidien moyen d'une population ou d'un sous-groupe pour lequel le statut nutritionnel est jugé satisfaisant. L'AS est la référence nutritionnelle retenue :
 - quand le BNM et donc la RNP ne peuvent pas être estimés faute de données suffisantes, ce qui correspond à la définition de l'« adequate intake (AI) » ;
 - ou quand la valeur de RNP peut être estimée mais n'est pas jugée satisfaisante au regard d'observations de population à long terme établissant que cette RNP ne permet pas de satisfaire des critères de santé qui seraient plus pertinents que les critères utilisés pour estimer le BNM. Ainsi, contrairement à l'AI, l'AS n'est pas seulement envisagé comme substitut de la RNP dans le cas où elle ne peut pas être calculée. Cette définition tient compte aussi du fait qu'on dispose de plus en plus de données concernant les relations entre l'apport et la modulation du risque de pathologie à long terme.
- Intervalle de Référence (IR) : intervalle d'apports considérés comme satisfaisants pour le maintien de la population en bonne santé. Il s'agit d'une référence nutritionnelle spécifique aux macronutriments énergétiques, exprimée en pourcentage de l'apport énergétique total.
- Limite Supérieure de Sécurité (LSS) : apport journalier chronique maximal d'une vitamine ou d'un minéral considéré comme peu susceptible de présenter un risque d'effets indésirables sur la santé de toute la population. La limite supérieure de sécurité correspond au terme Upper tolerable nutrient intake level (UL) selon l'OMS (WHO and FAO, 2003)).

2.3 Nutriments d'intérêts

Dans cette étude, un intérêt particulier est porté sur le fer, calcium, zinc, magnésium et potassium, des minéraux avec un grand intérêt en santé publique, et la vitamine B9 étant donné que les ingrédients des plats traditionnels étudiés étaient particulièrement riches en ces micronutriments.

2.3.1 Fer

Le fer assure un rôle important dans plusieurs fonctions vitales dans le corps. Il sert de (i) transporteur d'oxygène des poumons aux tissus périphériques par le biais de l'hémoglobine des globules rouges et (ii) de moyen de transport pour les électrons dans les cellules et entre dans la composition des systèmes enzymatiques dans divers tissus (FAO and WHO, 2001d). Il est présent en très faible quantité dans l'organisme humain (0,005 % du poids corporel ce qui équivaut environ à 4,0 et 2,5 g respectivement chez l'homme et la femme adultes) (Abbaspour et al., 2014).

Il est présent dans l'organisme sous deux formes, héminique et non héminique, et il est réparti dans de nombreux tissus en fonction des réactions biologiques auxquelles il participe. Le fer héminique représente 68 à 70 % du fer total de l'organisme et il est principalement présent dans l'hémoglobine des érythrocytes (Gupta, 2014). L'hémoglobine et la myoglobine sont des hétéroprotéines, elles sont constituées d'une fraction protéique, la globine, et d'une fraction non protéique, l'hème. L'hémoglobine est une molécule composée de quatre unités, contenant chacune un groupe hème et une chaîne de protéines. La structure de l'hémoglobine permet d'être complètement chargée d'oxygène dans les poumons et partiellement déchargée dans les tissus. La protéine de stockage d'oxygène contenant du fer dans les muscles, la myoglobine, a une structure similaire à celle de l'hémoglobine, mais elle n'a qu'une seule unité hème et une chaîne de globine (FAO and WHO, 2001d) (Omar et al., 2006). Le fer non héminique, qui représente environ 30 % du fer total de l'organisme, entre dans la composition de la ferritine, de l'hémosidérine ou d'enzymes non héminiques. La ferritine et l'hémosidérine stockent le fer, de manière réversible, principalement dans le foie. Enfin, environ 0,1 % du fer est lié à la transferrine qui assure son transport dans le sang entre les différents organes (Gupta, 2014). Le fer dans l'organisme est réparti dans trois compartiments : le fer fonctionnel (contenu dans l'hémoglobine et dans la myoglobine), le fer de transport (lié à la transferrine) et le fer de réserve (contenu dans la ferritine).

Le fer non-héminique est présent dans les aliments végétaux et les tissus animaux et se trouve sous forme ferrique (Fe^{3+}) ou ferreuse (Fe^{2+}), et le fer héminique provient de l'hémoglobine et de la myoglobine des produits animaux. Le fer héminique contribue à 10 à 15 % de l'apport en fer total, mais, en raison d'une absorption plus uniforme (estimée à environ 25 %), elle pourrait contribuer à plus de 40 % du fer total absorbé. Le fer non-héminique est généralement beaucoup moins bien absorbé que le fer héminique.

Etude bibliographique

Le fer est solubilisé dans l'estomac en chlorure ferrique sous l'action de l'acide chlorhydrique. Le fer ferrique Fe^{3+} subit une solubilisation suivie d'une réduction en fer ferreux Fe^{2+} avant d'être absorbé par les cellules des entérocytes. Pour le fer héminique, l'hème traverse le pôle apical de l'entérocyte grâce à un transporteur membranaire spécifique, appelé hème carrier protein 1 (HCP1), régulé par la charge en fer et l'hypoxie. Dans le cytosol de l'entérocyte, l'hème subit l'action d'un hème oxygénase libérant le Fe^{2+} , qui rejoint le pool cytoplasmique labile (Omar et al., 2006). En ce qui concerne le fer ferrique (Fe^{3+}) intraluminal, est réduit en fer ferreux (Fe^{2+}) par Dcytb (ferriréductase de la bordure en brosse entérocytaire) (duodenal cytochrome b) et en présence d'acide ascorbique (Vitamine C) puis transporté à travers la membrane luminale grâce au transporteur de cation divalent DMT1 (Dimetal transporter 1) (Figure 3) (Omar et al., 2006).

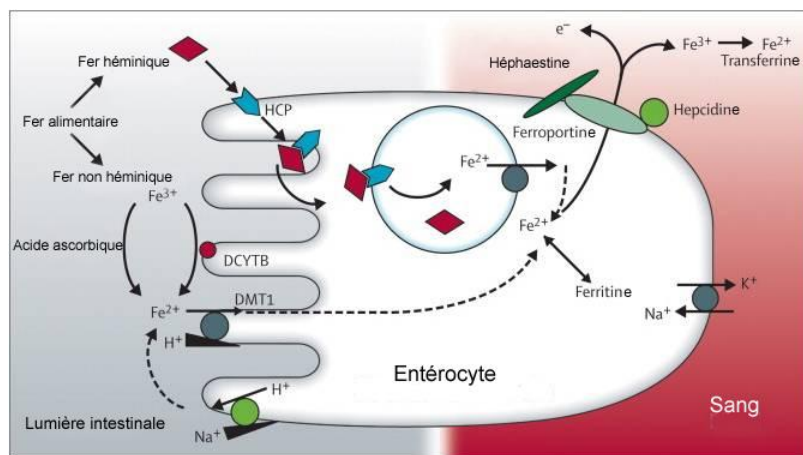


Figure 3. Transport apical du fer : incorporation dans les entérocytes (Omar et al., 2006).

La mucine, constituant organique principal du mucus tapissant la muqueuse intestinale, joue aussi son rôle en liant le fer et en le maintenant en solution sous l'effet du pH acide. Le fer reste disponible car cette liaison mucine-fer ferrique est faible et peut se dissocier dans le duodénum sous l'effet du pH alcalin. La réduction du fer ferrique en fer ferreux est faite en majorité par les groupements thiols des peptides issus de la protéolyse digestive mais aussi par la vitamine C. Le fer ferrique qui n'est pas réduit, forme des complexes insolubles peu ou pas absorbés (Omar et al., 2006). L'absorption du fer non-héminique est fortement influencée par différents effecteurs présents dans les composants du repas et peut ainsi varier de moins de 5% à 12%. Certains, les activateurs, augmentent l'absorption, d'autres en revanche, les inhibiteurs, la diminuent. L'activateur le plus puissant est l'acide ascorbique qui réduit le fer ferrique en fer ferreux, potentialisant son absorption, et dont l'effet dose-dépendant est

fonction d'activateurs ou inhibiteurs du régime (Tableau 1) (Hallberg and Hulthén, 2000; Hurrell and Egli, 2010; Reddy et al., 2000).

Tableau 1. Effecteurs d'absorption du fer non-héminique

Activateurs	Inhibiteurs
Acide ascorbique	Phytate
Tissu musculaire	Polyphénols (galloyls et catéchols)
	Calcium
	Protéines

Les produits carnés constituent de bonnes sources de fer biodisponible et en particulier le boudin noir, le foie et les rognons. On trouve également des quantités notables de fer dans les produits de la mer (coquillages et poissons), le chocolat, le germe de blé, les charcuteries, les œufs et certains aliments enrichis comme les céréales de petit-déjeuner. Plus que la quantité de fer contenue dans un aliment, c'est sa qualité qui compte car l'organisme absorbe différemment le fer d'origine végétale et celui d'origine animale. Ainsi, le fer contenu dans les produits carnés est 2,5 fois plus assimilable que le fer des produits végétaux et des produits laitiers. Par ailleurs, la consommation simultanée de viande et de végétaux riches en vitamine C (agrumes, kiwi, fruits rouges, chou...) permet d'améliorer l'assimilation du fer d'origine végétale.

Le BNM en fer est estimé à 6 mg/j pour l'homme et femme adulte (Tableaux 2 et 3). La RNP en fer est estimée à 11 mg pour l'homme adulte et à 11 ou 16 mg pour la femme adulte selon l'utilisation d'une contraception hormonale (ANSES, 2017a).

2.3.2 Zinc

L'organisme humain contient environ 2 g de zinc, principalement lié à des protéines. Le foie qui est l'organe clé dans la régulation du métabolisme du zinc, contient environ 5 % du zinc

total de l'organisme. Le zinc est un élément essentiel d'un grand nombre (> 300) d'enzymes participant à la synthèse et la dégradation des glucides, des lipides, des protéines et des acides nucléiques ainsi que dans le métabolisme d'autres micronutriments. Le zinc stabilise la structure moléculaire des composants cellulaires et des membranes et contribue ainsi à la maintenance de l'intégrité des cellules et des organes. En outre, le zinc a un rôle essentiel dans la transcription des polynucléotides et donc dans le processus d'expression génétique. Son implication dans de telles activités fondamentales explique probablement l'essentialité du zinc pour toutes les formes de vie (FAO and WHO, 2001f). Le zinc joue un rôle central dans le système immunitaire, affectant un certain nombre d'aspects de l'immunité cellulaire et humorale (Shankar and Prasad, 1998). Les caractéristiques cliniques de la déficience sévère en zinc chez l'homme sont le retard de croissance, la maturation sexuelle et osseuse retardée, les lésions cutanées, la diarrhée, l'alopecie, l'appétit altéré, une susceptibilité accrue aux infections médiées par des défauts du système immunitaire et l'apparition de changements de comportement. D'autres effets, tels que le goût dégradé et la cicatrisation des plaies, qui sont censés résulter d'une faible consommation de zinc, sont moins fréquemment observés (FAO and WHO, 2001f).

L'absorption du zinc dépend de la composition du repas et peut ainsi être estimée de 30% (FAO and WHO, 2004). Parmi les facteurs qui augmentent l'absorption du zinc, les substances organiques solubles, telles que les acides aminés et hydroxylés. En revanche, les composés organiques formant des complexes stables et peu solubles avec le zinc peuvent réduire l'absorption. Les phytates, les principaux composés de stockage de phosphore (P) dans de nombreux tissus végétaux, ont un fort potentiel de liaison avec les cations divalents et un effet négatif sur l'absorption du zinc. De plus, des interactions compétitives entre le zinc et d'autres ions ayant des propriétés physicochimiques similaires peuvent affecter l'absorption intestinale du zinc.

La viande rouge maigre, les céréales à grains entiers, les légumineuses et les légumes secs fournissent les plus fortes concentrations de zinc: les concentrations dans ces aliments se situent généralement entre 25 et 50 mg / kg. Les produits transformés à base de céréales, le riz et le poulet, le porc ou la viande à haute teneur en matières grasses ont une teneur en zinc modérée, généralement comprise entre 10 et 25 mg / kg. Le poisson, les racines et tubercules, les légumes à feuilles vertes et les fruits ne sont que des sources modestes de zinc, avec des

concentrations inférieures à 10 mg / kg. Les graisses et huiles saturées, le sucre et l'alcool ont une teneur en zinc très faible (FAO and WHO, 2004).

Des valeurs différentes de BNM ont été proposées en fonction de la quantité de phytates apportées quotidiennement par l'ensemble du régime alimentaire (Tableaux 2 et 3). Ainsi, il est estimé à 7,5/6,2 mg si 300 mg/j de phytates, 9,3/7,6 mg si 600 mg/j de phytates, 11/8,9 mg si 900 mg/j de phytates pour l'homme et la femme adulte respectivement. La RNP est estimée à 9,4/7,5 mg si 300 mg/j de phytates, 11,7/9,3 mg si 600 mg/j de phytates, 14/11 mg si 900 mg/j de phytates pour l'homme et la femme adulte respectivement (ANSES, 2017a).

2.3.3 Calcium

Le calcium est le minéral le plus abondant du corps humain (d'environ 24 g à la naissance et 1300 g à la maturité). Dans la composition élémentaire, il occupe le cinquième rang après l'oxygène, le carbone, l'hydrogène et l'azote, et représente 1,9 pour cent du poids corporel. Les sels de calcium jouent un rôle dans la rigidité du squelette et les ions calcium jouent un rôle dans de nombreux processus métaboliques (FAO and WHO, 2001a). Le calcium, souvent lié à des protéines, se retrouve au niveau intestinal sous forme prête à être absorbée. Cette absorption (estimée de 30% (FAO and WHO, 2004)) se fait sous l'action de la vitamine D qui favorise ce mécanisme, mais sous le contrôle de la calcitonine qui le limite. Une fois passé la barrière intestinale, le calcium se retrouve dans le sang et va être stocké dans l'os grâce à la calcitonine. Les produits laitiers constituent de bonnes sources de calcium. Toutefois, les fromages présentent une grande diversité de teneurs en calcium. Hormis les produits laitiers, certains légumes-feuilles et choux, les fruits secs et quelques eaux minérales sont également des sources non négligeables de calcium (ANSES, 2017b).

Le BNM en calcium est de 750 mg chez l'homme et femme adulte (Tableaux 2 et 3). La RNP est de 950 mg /j pour l'homme et femme adulte (ANSES, 2017a).

2.3.4 Magnésium

Le corps humain contient environ 25 g de magnésium chez l'adulte dont 30 à 40 pour cent se trouve dans les muscles et les tissus mous, 1 pour cent se trouve dans le liquide extracellulaire, et le reste dans le squelette. Le squelette est le principal réservoir de magnésium de l'organisme. Il est un cofacteur des ADN et ARN polymérase. Il a ainsi un rôle dans la synthèse des acides nucléiques et la transmission des messages génétiques aux

outils cellulaires de synthèse. Avec le calcium, par rapport auquel il remplit une fonction physiologique antagoniste, le magnésium joue un rôle prépondérant dans la constitution et le maintien des os et des dents. Le magnésium contrôle les fonctions musculaires et nerveuses, ainsi sa concentration gère notamment les contractions musculaires. Il joue également un rôle comme cofacteur de nombreuses enzymes (FAO and WHO, 2001e). Le magnésium est largement distribué dans les aliments d'origine végétale et animale. La plupart des légumes verts, des graines de légumineuses, des haricots et des noix sont riches en magnésium, de même que certains coques, épices et farines de soja, qui contiennent généralement plus de 500 mg / kg de poids frais. Bien que la plupart des céréales non raffinées soient des sources raisonnables, de nombreuses farines, tubercules, fruits, champignons et la plupart des huiles et graisses hautement raffinés apportent peu de magnésium alimentaire (environ 100 mg / kg de poids frais). La farine de maïs et le riz poli ont des teneurs en magnésium extrêmement faibles.

L'absorption de magnésium a été estimée de 50% (FAO and WHO, 2004). Des apports élevés en fibres alimentaires (40-50 g / jour) diminuent l'absorption du magnésium, ceci est probablement dû à l'action de phytate associé aux fibres. Aussi, des apports élevés en zinc (142 mg / jour) diminuent l'absorption du magnésium.

La RNP est estimée 420 mg chez l'homme adulte (Tableaux 2 et 3). Le BNM est non défini. L'AS chez la femme adulte est de 360 mg (ANSES, 2017a).

2.3.5 Potassium

Les ions potassium (K^+) sont présents en abondance dans toutes les cellules de l'organisme, et sont impliqués dans de nombreux processus biologiques. Grâce au maintien du pouvoir osmotique, il permet la préservation du métabolisme cellulaire et du volume cytoplasmique. Le potassium agit étroitement avec le sodium pour maintenir l'équilibre acido-basique du corps. Il entraîne la libération de protons au niveau rénal et stimule la sécrétion d'acide chlorhydrique au niveau stomacal (favorisant la digestion). Il permet la transmission de l'influx nerveux et la contraction musculaire et il active les enzymes impliquées dans la synthèse du glycogène et du processus d'oxydoréduction. Il entre en jeu dans la synthèse protéique et celle de l'hémoglobine (Pohl et al., 2013). L'absorption de potassium est estimée de 90% (FAO and WHO, 2004).

Le potassium est présent dans les produits non raffinés, notamment les légumineuses, les noix, les légumes (épinards, choux et persil) et les fruits (bananes, papayes et dates). Il est proposé de retenir un ratio équimolaire de sodium et de potassium. Le choix d'une référence nutritionnelle pour le potassium est donc conditionné par l'apport en sodium. Au cours des procédés culinaires, le sodium est fréquemment ajouté et le potassium est réduit, inversant le rapport sodium :potassium. Compte tenu des bienfaits pour la santé d'un apport adéquat en potassium, la consommation de fruits et de légumes non transformés et riches en potassium est la voie la plus sûre pour augmenter l'apport en potassium afin de contrebalancer les apports en sodium très importantes (McLean et al., 2015). L'EFSA (2006) a considéré que les données étaient insuffisantes pour proposer une limite de sécurité pour le potassium apporté naturellement par l'alimentation.

2.3.6 Vitamine B9 (Folates)

Le terme folate(s) désigne un ensemble de molécules qui ont pour structure de base l'acide folique (ou acide ptéroylglutamique). Cette vitamine, sensible à l'oxygène, est synthétisée par les végétaux et apportée par l'alimentation sous forme de polyglutamates.

La vitamine B9 possède plusieurs rôles physiologiques. Elle joue un rôle essentiel dans la formation des acides nucléiques (ADN, ARN). La vitamine B9 participe ainsi à la division cellulaire en favorisant la duplication de l'ADN et permet le renouvellement cellulaire. Elle intervient dans le métabolisme des acides aminés et dans la synthèse des protéines. La vitamine B9 participe à la formation des globules rouges permettant ainsi le transport de l'oxygène dans l'organisme. Elle est nécessaire à la production de nouvelles cellules, ce qui la rend particulièrement importante durant les périodes de croissance rapide comme l'enfance, l'adolescence, la grossesse ; elle intervient dans la formation du tube neural et des neurotransmetteurs du fœtus lors des premières semaines de vie fœtale. La vitamine B9 est absorbée en grande partie dans la zone proximale de l'intestin grêle, elle est ensuite transportée vers les cellules de la moëlle osseuse, le foie, le liquide céphalorachidien et les tubules rénaux. Le foie est l'organe principal de stockage, il permet de couvrir les besoins en acide folique pendant quatre mois (FAO and WHO, 2001b).

Les folates sont les formes de la vitamine B9 présentes naturellement dans les aliments. L'acide folique est la forme synthétisée servant de supplément. Les aliments les plus riches en vitamine B9 sont les foies, les légumes à feuilles vertes, le brocoli et les légumineuses (FAO and WHO, 2001b). La biodisponibilité des folates naturels est estimée de 25–50% et est

Etude bibliographique

affectée par l'élimination des chaînes de polyglutamate par la conjugase intestinale. En revanche, l'acide folique synthétique semble être hautement biodisponible (d'environ 85% ou plus) (FAO and WHO, 2004).

Le BNM en folates chez l'homme et la femme adulte est de 250 µg (Tableaux 2 et 3). La RNP est de 330 µg/j EFA (équivalent folate alimentaire) chez l'homme et la femme adulte (ANSES, 2017a).

Tableau 2. Récapitulatif des références nutritionnelles en vitamines et minéraux pour les hommes adultes.

	BNM	RNP	AS	Observations	Sources	LSS
Minéraux (mg)						
Fer	6	11			EFSA, 2015	ND
Calcium	860	1000		Avant 25 ans	EFSA, 2015	2500
	750	950		Après 25 ans		
Zinc	7,5	9,4		si 300 mg/j de phytates	EFSA, 2014	25
	9,3	11,7		si 600 mg/j de phytates		
	11	14		si 900 mg/j de phytates		
Magnésium	ND	420		Apport satisfaisant	Afssa, 2001	ND
				Issu de données d'apports associées à des données épidémiologiques	adapté sur la base d'études récentes	
Potassium				A déterminer sur la base d'un rapport équimolaire Na/K	OMS, 2012	ND
Vitamine B9 (EFA)	250 (µg)	330			EFSA, 2014	1000 (a.Folique)

EFA : équivalent folate alimentaire

ND : non défini

Les LSS sont issues de l'avis de l'Efsa de 2006 et 2012 (pour la vitamine D et le calcium) et actualisées dans les avis de l'agence européenne sur chaque vitamine et minéral depuis 2013.

Tableau 3. Récapitulatif des références nutritionnelles en vitamines et minéraux pour les femmes adultes.

	BNM	RNP	AS	Observations	Sources	LSS
Minéraux (mg)						
Fer	6	11 ou 16		selon utilisation d'une contraception hormonale	EFSA, 2015	ND
Calcium	860	1000		Avant 25 ans	EFSA, 2015	2500
	750	950		Après 25 ans		
Zinc	6,2	7,5		si 300 mg/j de phytates	EFSA, 2014	25
	7,6	9,3		si 600 mg/j de phytates		
	8,9	11		si 900 mg/j de phytates		
Magnésium			360	Apport satisfaisant Issu de données d'apports associées à des données épidémiologiques	Afssa, 2001 adapté sur la base d'études récentes	ND
Potassium				A déterminer sur la base d'un rapport équimolaire Na/K	OMS, 2012	ND
Vitamine B9 (µg EFA)	250	330			EFSA, 2014	1000 (a. folique)

EFA : équivalent folate alimentaire

ND : non défini

Les LSS sont issues de l'avis de l'Efsa de 2006 et 2012 (pour la vitamine D et le calcium) et actualisées dans les avis de l'agence européenne sur chaque vitamine et minéral depuis 2013.

Il existe aujourd'hui un consensus scientifique sur les recommandations nutritionnelles en matière de santé, et l'alimentation méditerranéenne apparaît comme le modèle le plus adapté, conciliant intérêt nutritionnel, qualités organoleptiques, plaisir et convivialité. La biodisponibilité des micronutriments apparaît comme une des clefs de la carence dans les pays en développement. L'amélioration des pratiques alimentaires et des styles de vie a pour but d'augmenter la consommation et la biodisponibilité.

3 Biodisponibilité des nutriments

3.1 Définition

La biodisponibilité d'un nutriment dans un aliment est la proportion de ce nutriment absorbable et assimilable par l'organisme pour en assurer les fonctions métaboliques. La biodisponibilité comprend, comme décrit par Fairweather-Tait et al. (2005), les étapes suivantes: (i) la digestion et la libération de la matrice alimentaire dans la lumière du tractus gastro-intestinal ou «bioaccessibilité»; (ii) le transport dans les entérocytes intestinaux (uptake); (iii) l'absorption (transport des entérocytes vers la circulation sanguine); (iv) le transport vers les tissus pour l'utilisation et (v) le transport vers les sites de stockage.

Dans la présente étude, nous nous avons focalisé sur la biodisponibilité des minéraux. Ainsi, la biodisponibilité d'un minéral varie en fonction de sa forme dans l'aliment ingéré, la présence d'effecteurs (activateurs ou inhibiteurs) d'absorption et aussi des conditions physiologiques de l'organisme (statut en ce minéral, état de santé, sécrétions et pH gastriques, durée du transit) (Armah et al., 2013; Hallberg and Hulthén, 2000).

Dans les pays en développement, la biodisponibilité est un facteur majeur dans l'apparition des carences en minéraux dont les prévalences sont dues principalement aux faibles biodisponibilités de ces minéraux et en second lieu à des apports alimentaires insuffisants (FAO and WHO, 2011; INSERM, 1999). Hallberg et Hulthén (2000) ont étudié les déterminants de la biodisponibilité du fer dans des régimes complets. Les constituants du régime qui vont améliorer l'absorption des minéraux, et donc leur biodisponibilité, forment généralement des composés solubles avec les minéraux. Les constituants du régime qui inhibent l'absorption des minéraux, cependant, forment des complexes insolubles et parfois solubles, mais qui ne peuvent pas être absorbés sous cette forme ou bien hydrolysés. Ces facteurs alimentaires influencent l'absorption des minéraux, mais il est difficile d'évaluer leur contribution relative à cause des interactions possibles entre les différents composés de la matrice alimentaire.

3.2 Activateurs et inhibiteurs de la biodisponibilité des minéraux

3.2.1 Facteurs diminuant la biodisponibilité des minéraux

3.2.1.1 Les phytates

Définition et classification

L'acide phytique (ou myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate) est le principal composé de stockage de phosphore (P) dans de nombreux tissus végétaux (Kumar et al., 2010a).

Le mécanisme de l'interaction entre l'acide phytique, les minéraux et / ou les protéines s'explique par la structure de l'acide phytique. La structure proposée par Anderson (1914) est maintenant acceptée (Figure 4). Comme le montre la figure est probablement le bon, bien qu'il y ait eu une certaine controverse pendant un certain temps (Cheryan and Rackis, 1980).

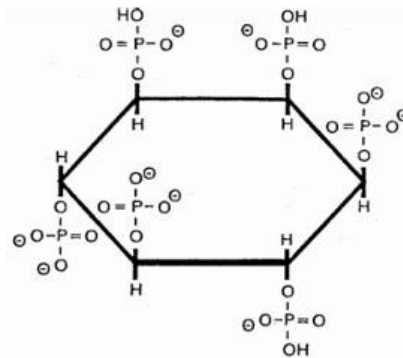


Figure 4. Structure de l'acide phytique d'après le modèle de Anderson (1914).

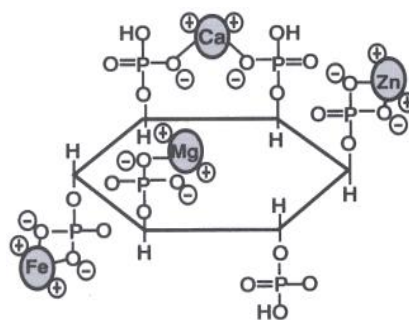


Figure 5. Structure d'un sel d'acide phytique représentant les six phosphates avec les différentes possibilités d'interagir tant avec des cations métalliques.

Activités anti-nutritionnelles

Les phytates sont des agents chélateurs des minéraux, ils réagissent directement avec les cations divalents. Les minéraux concernés sont le zinc, le fer, le calcium, le magnésium, le manganèse et le cuivre (Figure 5). Le mécanisme par lequel les phytates inhibent l'absorption

des minéraux est basé sur la formation des complexes phytate-minéral ou peptide-phytate-minéral insolubles dans le tractus gastro-intestinal (Gibson et al., 2010; Kumar et al., 2010a; Lönnerdal, 2010; Lopez et al., 2002). Les phytates avec leurs groupes phosphates de haute densité chargés négativement, se lient au zinc dans le tractus gastro-intestinal et forment des complexes peu solubles qui réduisent l'absorption du zinc (Lönnerdal, 2000). La fraction de zinc absorbée est négativement associée à la teneur en phytates. L'effet inhibiteur des phytates sur l'absorption du zinc semble suivre une réponse dose-dépendante (Kumar et al., 2010a; Lönnerdal, 2000). Des études montrent également que les phytates ont un très fort effet inhibiteur sur l'absorption du fer non-héminique (Hallberg et al., 1991; Kumar et al., 2010a). Il a également été démontré que les phytates réduisent l'absorption de Ca^{2+} , mais ceci est moins prononcé que la réduction de l'absorption du Zn^{2+} et du $\text{Fe}^{2+}/3^{+}$ chez les humains (Lopez et al., 2002). Les effets inhibiteurs de phytates sur Mg^{2+} ou Cu^{2+} sont plus controversés (Lopez et al., 2002).

La stabilité et la solubilité des complexes dépendent de plusieurs facteurs comprenant la valeur de pH, la valence du minéral, le rapport molaire phytate-minéral, la matrice alimentaire et la présence d'autres composés inhibiteurs et activateurs. L'acide phytique forme des complexes très stables avec le zinc, suivi par le cuivre, le nickel, le cobalt, le manganèse, le calcium et les complexes les moins stables sont ceux formés avec le fer (Bohn et al., 2008; Kumar et al., 2010a). Les teneurs importantes de calcium peuvent exacerber l'effet inhibiteur des phytates sur l'absorption de zinc en formant un complexe calcium-zinc-phytate dans l'intestin qui est encore moins soluble que le complexe de phytate formé avec l'un ou l'autre seul (Lönnerdal, 2000). Les phytates résistent à la chaleur, en revanche leurs teneurs sont réduites au cours des procédés technologiques de fractionnement tels que le décorticage lorsque les phytates sont concentrés dans les enveloppes (comme c'est le cas dans les graines de céréales), ou des procédés biologiques tels que le trempage ou la fermentation (Lestienne et al., 2005). En effet, le trempage peut éliminer jusqu'à deux tiers de l'acide phytique par activation de phytase endogène, mais la perte de minéraux, de protéines extractibles à l'eau et de vitamines par lixiviation est un risque également (Hurrell, 2004). En effet, dans une matrice alimentaire, il est très difficile de dissocier la diffusion des phytates dans un milieu, et donc leur solubilité, de leur dégradation enzymatique. Quoiqu'il en soit, il semble que la principale cause d'une réduction significative des teneurs en phytates au cours des procédés soit l'action des phytases endogènes ou exogènes. Les phytates interagissent également avec les protéines en formant avec celles-ci des liaisons stables ; à ce titre, les phytates peuvent être

considérés comme de potentiels inhibiteurs d'enzymes (amylase, protéases). L'influence du pH et de la nature du minéral chélaté sur la solubilité des phytates a été étudiée par Cheryan and Rackis (1980).

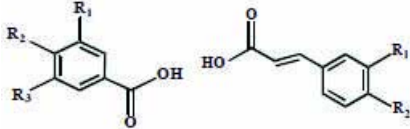
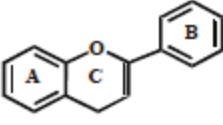
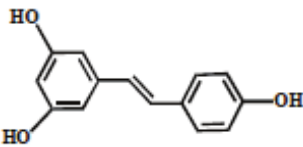
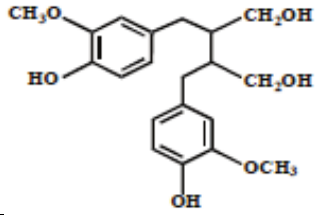
Les phytases sont très répandues dans la nature, tant chez les micro-organismes que chez les plantes et dans certains tissus animaux. Les phytases hydrolysent le *myo*-inositol hexaphosphate (IP6) pour donner du phosphore inorganique (Pi) et des formes moins substituées de *myo*-inositol phosphates (IP5 à IP1). Elles appartiennent au groupe des phosphatases (Bohn et al., 2008).

3.2.1.2 Les composés phénoliques

Structure et classification

Les composés phénoliques constituent une famille de molécules largement distribuées dans le règne végétal, présentant une grande diversité de structure, allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (Tableau 4). Comme l'indiquent leurs noms, ce sont des composés possédant un ou plusieurs noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle. Les composés phénoliques comprennent les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et des composés moins courants tels que les stilbènes et les lignanes (Dai and Mumper, 2010).

Tableau 4. Classification et structure des polyphénols (Pandey and Rizvi, 2009).

Polyphénols	Exemples	Structure chimique commune	Aliments
1. Acides phénoliques - Acide hydroxybenzoïque - Acide hydroxycinnamique	Acide gallique Acide cafféique Acide férulique		Pomme de terre, pomme, citrus
2. Flavonoïdes	Quercétine myricétine Catéchine Cyanidine		Fruits, légumes, fleurs, soja, pois
3. Stilbènes	Resvératrol Picéide		Vigne
4. Lignanes	Sécoisolaricirésinol Matairésinol		Pin

- Les acides phénoliques peuvent être subdivisés en deux classes: les dérivés de l'acide benzoïque tels que l'acide gallique et les dérivés de l'acide cinnamique tels que les acides coumarique, caféique, férulique et sinapique. Les acides phénoliques ont des propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques urinaires, antiradicalaires, cholagogues, hépato-protectrices, cholérétiques et immunostimulantes.
- Les flavonoïdes sont les polyphénols les plus abondants dans l'alimentation humaine, se sont des pigments hydrosolubles présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, grains, fruits,...). Les flavonoïdes sont connus principalement pour leur activité antioxydante. La structure de base des flavonoïdes est le noyau flavane, contenant 15 atomes de carbone disposés en trois noyaux (C6-C3-C6), qui sont étiquetés comme A, B, et C.

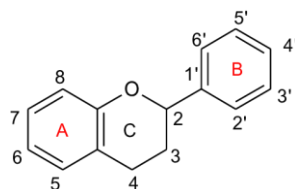


Figure 6. Structure de base des flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont eux-mêmes répartis en six sous-groupes (Figure 7) : les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les isoflavones, et les anthocyanes, selon l'état d'oxydation du noyau central C. Les flavanols (e.g., catéchine, épicatechine, gallocatéchine), bien que très répandus sous leur forme monomérique (catéchine du thé), sont aussi constitutifs des tanins condensés.

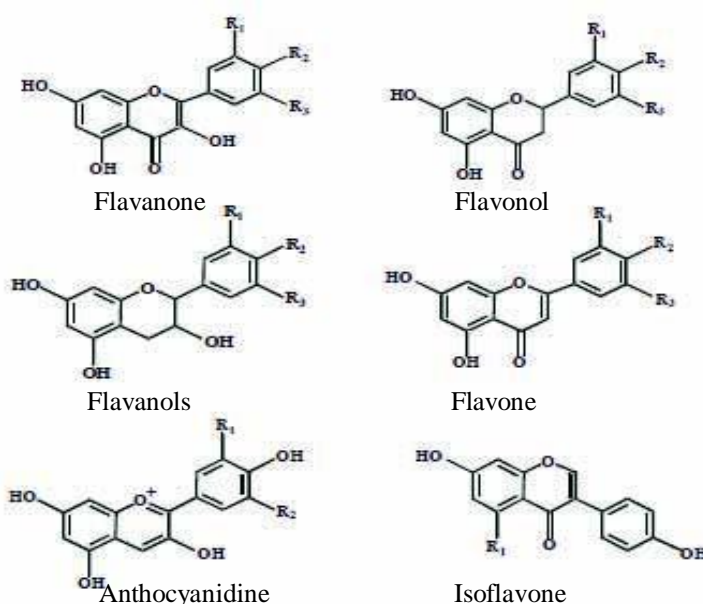


Figure 7. Structure de sous-classes des flavonoïdes (Pandey and Rizvi, 2009).

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent donc former des complexes insolubles avec les minéraux, les protéines et les glucides. La formation de complexes entre les tanins et les protéines salivaires va provoquer leur précipitation qui est responsable du caractère astringent des aliments riches en tanins. Traditionnellement, les tanins ont été classés en tanins condensés et hydrolysables, basés sur leur propriétés hydrolytiques dans l'eau chaude, ou sur leur réponse à la tannase. Cependant, cette classification n'a pas toujours pris en compte la diversité structurale et les propriétés hydrolytiques associées des tanins, dans ce sens une classification actuelle classifie les tanins en quatre groupes (Figure 8), à savoir: les gallotanins, les ellagitanins, des tanins condensés et des tanins complexes (Khanbabaee and van-Ree, 2001).

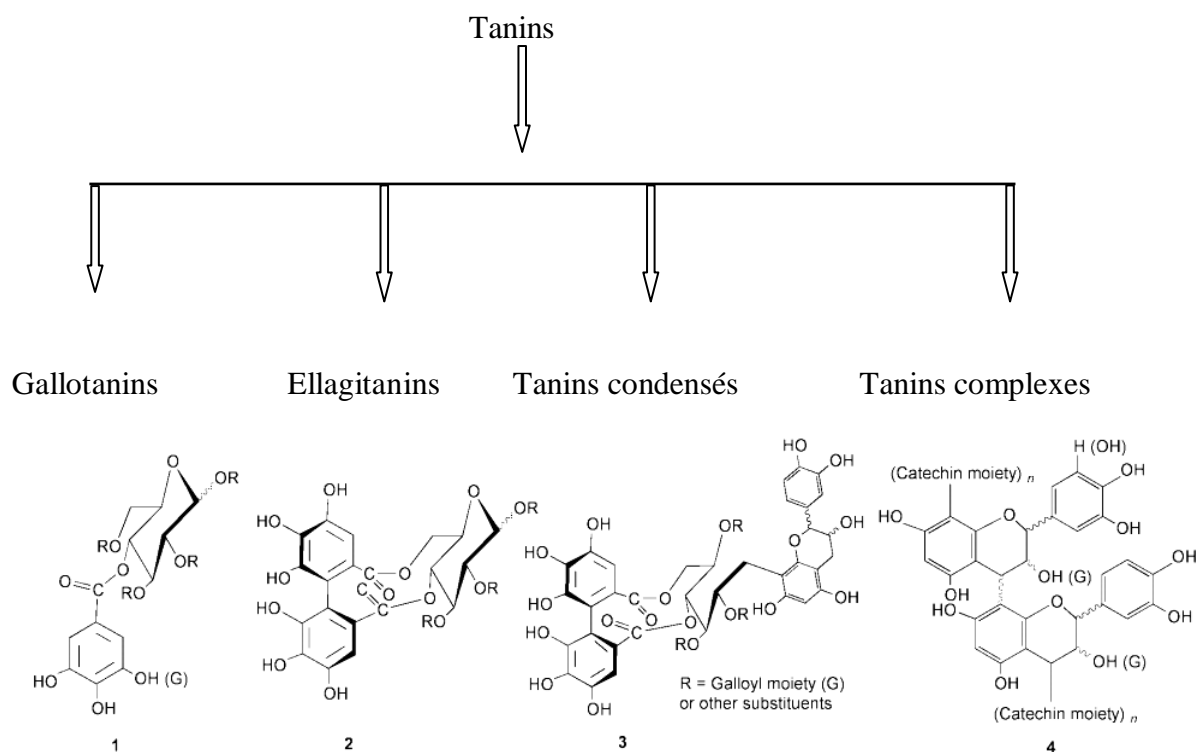


Figure 8. Classification des tanins (Khanbabaee and van-Ree, 2001).

Activités anti-nutritionnelles

La formation des complexes avec les ions métalliques confère aux polyphénols un effet antioxydant parce que la complexation diminue la concentration des ions métalliques dans le milieu (Dai and Mumper, 2010). Ces complexations se font par des ponts hydrogènes ou

des interactions hydrophobes. Mais les propriétés de chélation des flavonoïdes et particulièrement des tanins contribuent également à leur effet inhibiteur sur la biodisponibilité des minéraux. Grâce à leurs groupements carboxyliques et hydroxyliques, les composés phénoliques forment des complexes stables avec les cations métalliques et de cette manière, inhibent l'absorption intestinale du fer non héminique (Hallberg and Hulthén, 2000; Hurrell and Egli, 2010; Pandey and Rizvi, 2009). Cet effet dépend à la fois de la quantité et du type de polyphénol. Des études faites sur différentes boissons (thé noir, thé à l'herbe, cacao, vin rouge et blanc) avec des teneurs variées en polyphénols ont montré que l'effet inhibiteur était dose-dépendant (Hurrell et al., 1999). De même, une inhibition dose-dépendante de l'absorption du fer a également été mise en évidence pour les aliments « solides ». La capacité des polyphénols à former des complexes avec le fer a été accordée aux groupements galloyls des tanins (Hallberg et al., 1991).

3.2.1.3 Les fibres

Définition et classification

Le terme fibre alimentaire a d'abord été utilisé par Hipsley (1953) pour décrire les composants non digestibles des plantes qui forment la paroi cellulaire (c'est-à-dire la cellulose, l'hémicellulose et la lignine). À cette époque, il s'agissait d'une description purement physiologique-botanique, et ce n'est que dans les années 1970 que les chercheurs ont commencé à utiliser la description avec des hypothèses liées à la santé (Burkitt et al., 1972; Trowell, 1972). À la fin des années 1970, la définition de la fibre alimentaire avait été élargie pour inclure d'autres polysides non digestibles, tels que les gommes (Trowell et al., 1976). Au fil du temps, d'autres améliorations de la définition ont été publiées, élargissant graduellement la nature des substances et éventuellement incluant les effets sur la santé (DeVries, 2004).

Cummings et al. (2009) ont proposé une définition qui a été retenue par le Codex Alimentarius en 2010, et qui est celle qui prévaut actuellement: les fibres alimentaires désignent les polymères glucidiques contenant au moins dix unités monomériques, qui ne sont pas hydrolysées par les enzymes endogènes dans l'intestin grêle. Les fibres alimentaires consistent en un ou plusieurs des éléments suivants (i) Les polymères de glucides comestibles se produisant naturellement dans les aliments consommés, (ii) Les polymères de glucides, obtenus à partir de matières premières alimentaires par des moyens physiques, enzymatiques ou chimiques, qui ont démontré des effets physiologiques bénéfiques pour la santé, (iii) des

polymères d'oses synthétiques, dont l'effet bénéfique sur la santé a été démontré par des preuves scientifiquement reconnues par les autorités. Les fibres alimentaires ont généralement des propriétés bénéfiques pour la santé: elles diminuent le temps de transit intestinal et augmentent le volume des selles, elles peuvent être fermentées par la microflore colique, elles réduisent le taux de cholestérol sanguin total et/ou LDL, ainsi que les taux de glycémie et/ou d'insuline postprandiale.

Les fibres alimentaires peuvent être classées de différentes façons, selon la structure et la solubilité. En termes de structure, les polysides sont classés en molécules linéaires ou non linéaires. Sur la base de leur solubilité, ils peuvent être divisés en fibres solubles ou insolubles (Figure 9). Les fibres insolubles se composent principalement de composants de paroi cellulaire (cellulose, lignine, hémicellulose), tandis que les fibres solubles se composent de polysides non cellulosiques (pectine, gomme, mucilage, fructooligosaccharides (FOS), galacto-oligosides) (Perry and Ying, 2016a; Viuda-Martos et al., 2010).

Le Codex Alimentarius laisse à l'appréciation des instances nationales l'inclusion ou non dans les fibres alimentaires totales des molécules de degré de polymérisation allant de 3 à 5 non hydrolysable au niveau intestinal tels que les fructo- et galacto- oligosides de petite taille. Parmi ces derniers se trouvent le raffinose, le stachyose et la verbascose.

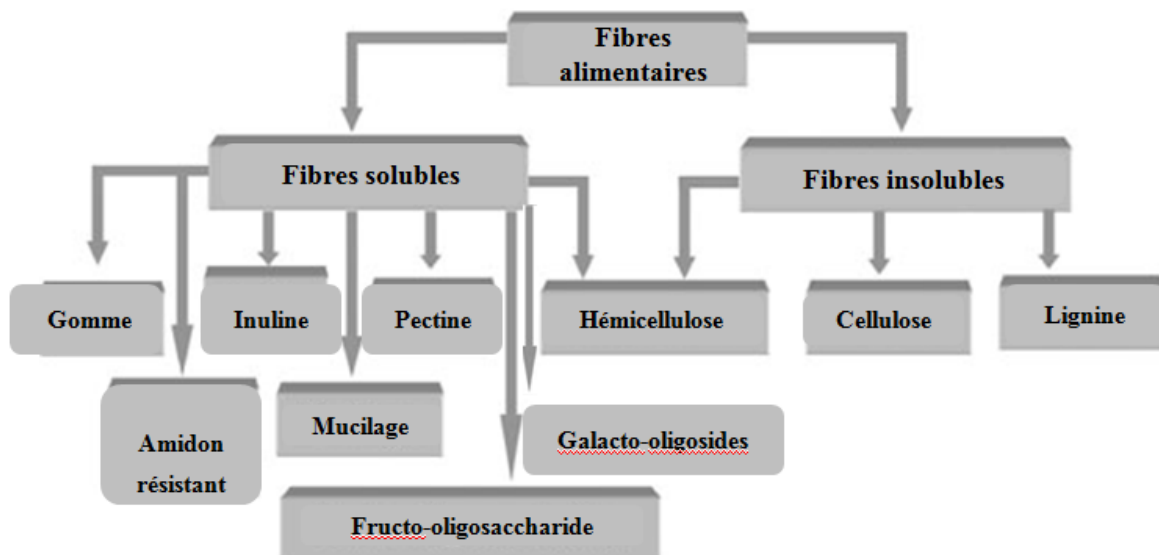


Figure 9. Classification des fibres alimentaires (Viuda-Martos et al., 2010).

Activités anti-nutritionnelles

La fixation de cations est une propriété physique reconnue également pour les fibres alimentaires. En effet, du fait de leurs nombreux groupements carboxyles et hydroxyles, les fibres ont la capacité de créer des liaisons avec les minéraux, diminuant ainsi l'absorption des minéraux au niveau de l'intestin grêle (Matin et al., 2013; Persson et al., 1991).

Plusieurs études *in vitro* ont montré que les fibres insolubles (cellulose, hémicelluloses et lignine) ainsi que les fibres solubles (pectine) ont des propriétés de chélation minérale (Baye et al., 2015; Bosscher et al., 2003; Fernandez and Phillips, 1982; Matin et al., 2013; Miyada et al., 2011). Les substances pectiques, contenant des quantités importantes d'acides uroniques, se lient fortement aux ions métalliques. La capacité de complexation au métal des acides uroniques dépend de la proportion de groupes carboxyle libres (Miyada et al., 2011). Le minéral, lié à la pectine, pourrait être libéré et absorbé du côlon après avoir été fermenté dans le gros intestin. Les fibres solubles sont, en revanche, rarement complètement fermentées et la fraction de fibre alimentaire restante peut, même si elle est petite, former des complexes avec les minéraux, les rendant indisponibles pour l'absorption (Persson et al., 1991). Ceci est également le cas avec des composants de fibres alimentaires insolubles, qui sont considérablement plus résistants à la fermentation. À pH acide, les propriétés de liaison de gomme sont minimales, alors que le fer lié à la pectine est libéré dans une solution à des degrés variables en fonction de la force ionique de la solution (Miyada et al., 2011). Parmi les fibres insolubles, des études ont montré que la lignine avait plus de capacité de chélation des minéraux que la cellulose et l'hémicellulose, probablement en raison de sa nature polyphénolique (Fernandez and Phillips, 1982).

3.2.1.4 Autres facteurs inhibiteurs

Les protéines végétales

La présence de protéines de soja (Hallberg and Hulthén, 2000) inhibe l'absorption du fer non hémique (Abbaspour et al., 2014; Beck et al., 2014; Lim et al., 2013).

Plusieurs études ont montré que ceci est dû principalement aux phytates liés à ces protéines (Bohn et al., 2008; Zhang et al., 2014).

L'interférence entre les minéraux

Les interactions sont plus fréquentes entre les nutriments qui présentent des propriétés physico-chimiques similaires et partagent des mécanismes d'absorption et de métabolismes

communs. Les minéraux peuvent très bien interagir entre eux. En effet, deux éléments peuvent partager la même voie d'absorption, ce qui fait qu'une forte concentration en un des deux éléments peut interférer avec l'absorption de l'autre. Ou bien, la carence en l'un des deux affecte le métabolisme de l'autre (Cohen et al., 1985; Sandström, 2001).

Les carence en micronutriments chez l'homme pourraient avoir des effets physiologiques sur la muqueuses intestinale et affecter sa capacité d'absorption générale (Sandström, 2001). Le calcium peut interférer dans l'absorption intestinale du zinc car une compétition entre le zinc et le calcium pour les mêmes supports de transport transcellulaire sur la surface de la membrane survient (Sandström et al., 1985). Des études ont montré que des concentrations élevées de fer peuvent avoir un effet négatif sur l'absorption du zinc (Sandström et al., 1985; Whittaker, 1998). Le calcium peut également interférer avec l'absorption du fer au niveau du transport entérocytaire à travers la membrane basale des entérocytes. En effet, un excès de calcium peut inhiber l'absorption du fer héminique comme celle du fer non héminique . Cet effet inhibiteur du calcium sur l'absorption du fer est indépendante de la teneur en phytates et n'interfère pas avec l'effet activateur de la viande ou de l'acide ascorbique (Hallberg et al., 1992a, b).

3.2.2 Facteurs améliorant la biodisponibilité des minéraux

3.2.2.1 L'acide ascorbique

Parmi les différents acides organiques, l'acide ascorbique est l'activateur d'absorption le plus efficace du zinc et du fer non-héminique (Teucher et al., 2004). Pour être transporté dans les entérocytes par le transporteur DMT1, le fer Fe^{3+} doit être réduit en fer ferreux Fe^{2+} . Cette réduction est faite en majorité par les groupements thiols des peptides issus de la protéolyse digestive mais aussi par la vitamine C. Les autres acides organiques ont également un rôle activateur mais dans une moindre mesure. Le fer ferrique qui n'est ni réduit ni chélaté, forme des complexes insolubles peu ou pas absorbés (Teucher et al., 2004).

3.2.2.2 Les protéines animales

Les protéines animales (viande, volaille et poisson) ont un effet activateur de l'absorption du fer non héminique (Etcheverry et al., 2006; Hurrell and Egli, 2010). Cet effet activateur a été lié aux protéines musculaires, mais le mécanisme exact par lequel l'absorption est améliorée est encore inconnu (Hallberg and Hulthén, 2000; Hurrell and Egli, 2010).

Selon certaines hypothèses, cet effet serait dû à la liaison du fer par des peptides de myosine (générés par la dégradation de la pepsine dans l'intestin) (Seth and Mahoney, 2000; Storcksdieck et al., 2007) ; ou la réduction du fer ferrique en fer ferreux par des composés sulfhydryles dans la viande (Wien and Van-Campen, 1991) ; ou encore l'induction de la production de jus gastrique par les protéines de viande (Untersmayr and Jensen-Jarolim, 2008).

3.2.2.3 Les sucres

De nombreuses études ont montré que les oligosides non digestibles, tels que les oligofructose et l'inuline ou le lactose, stimulent efficacement l'absorption des minéraux (Scholz-Ahrens et al., 2001). Certains oligosides peuvent améliorer l'absorption du calcium (Cummings and Stephen, 2007).

3.3 Effets des procédés technologiques sur la biodisponibilité des minéraux

Cette partie de l'étude illustre les effets des principales opérations unitaires les plus fréquemment utilisées pour la transformation des légumineuses qui sont le décorticage, le trempage et le procédé commun avec les légumes-feuilles qui est la cuisson.

3.3.1 Les procédés mécaniques

Les procédés mécaniques tels que le décorticage des graines de légumineuses sont parfois utilisés pour réduire ou éliminer considérablement les concentrations en phytates et en polyphénols afin d'améliorer leur qualité nutritionnelle. Le décorticage diminue les teneurs en tannins condensés qui sont situés principalement dans les tissus périphériques de graines, ce qui pourrait expliquer leur réduction après décorticage. Le décorticage des graines de légumineuses pourrait réduire la teneur en phytate dont une partie est localisée dans l'enveloppe ou le son des légumineuses (Pal et al., 2016). Le décorticage des légumineuses est pratiqué pour améliorer le confort digestif et permettre une cuisson plus rapide. Il contribue également à éliminer certains composés antinutritionnels tels que les polyphénols situés dans la testa (le tégument) (Sreerama et al., 2009).

Pour maximiser l'extraction des facteurs antinutritionnels, certaines méthodes recourent préalablement au broyage des graines (Lestienne et al., 2003; Sharma and Kapoor, 1996). Les graines augmentant ainsi l'exposition des nutriments aux enzymes digestives qui sont censés avoir un impact positif (Lestienne et al., 2003).

3.3.2 Les procédés biologiques : le trempage

Le trempage est souvent utilisé en tant que pré-traitement des graines afin de réduire le temps de cuisson (Duhan et al., 2002; Karkle and Beleia, 2010; Kaushik et al., 2010; Pandey and Awasthi, 2015; Sharma et al., 2013). Au cours du trempage, des transferts de matière ont lieu entre le compartiment alimentaire et l'eau de trempage (Sharanagat et al., 2016) ce qui entraîne le lessivage d'une partie des minéraux ainsi que les activateurs et/ou les inhibiteurs de la biodisponibilité des minéraux dans le milieu de trempage (Lestienne et al., 2005; Pandey and Awasthi, 2015; Vasishtha and Srivastava, 2013; Xu and Chang, 2008). Cette lixiviation dépend de la localisation et de la solubilité des différents constituants, ainsi que de la durée du trempage (Duhan et al., 2002). La température de trempage a un effet sur cette lixiviation, et joue un rôle important dans les activités enzymatiques endogènes (phytases). Les taux de réduction des teneurs en phytate obtenus au cours du trempage dépendent des caractéristiques physico-chimiques de la matrice (pH, teneur et nature des protéines, teneurs en cations divalents) et aussi à la vitesse de pénétration de l'eau dans le grain. Les taux de réduction des teneurs en composés phénoliques dus au trempage sont comparables à ceux observés pour les phytates avec une variabilité due à la nature du matériel trempé. Les teneurs en tanins diminuent en proportions nettement plus importantes que celles en polyphénols totaux (de 24 à 48 % pour les tanins contre 5 à 21 % pour les polyphénols), certainement en raison de leur plus grande solubilité. Très peu de données concernant la variation des teneurs en fibres au cours du trempage sont disponibles, mais la majorité des fibres des graines de légumineuses étant insolubles, les teneurs devraient être augmentées par variation passive compte tenu de la perte en matières solubles qui affecte d'autres composés (Lestienne et al., 2005).

3.3.3 Les procédés thermiques : la cuisson

Les teneurs en tanins condensés et en polyphénols sont considérablement réduites par la cuisson. Ces réductions sont dues soit à une diffusion des composés solubles dans l'eau de cuisson, soit à une hydrolyse enzymatique due à l'activation d'enzymes au début de la cuisson. La dégradation thermique de ces molécules, ainsi que les changements dans leur réactivité chimique ou la formation de complexes insolubles, pourraient également expliquer leur réduction significative par traitement thermique (Pal et al., 2016).

4 Méthodes d'évaluation de la biodisponibilité des minéraux

Afin d'estimer la biodisponibilité des minéraux dans les aliments, il existe plusieurs méthodes qui peuvent être divisées en deux groupes : les méthodes *in vivo* (chez l'homme) et les

méthodes *in vitro* qui simulent les conditions physiologiques de la digestion de façon plus ou moins sophistiquée. Une autre méthode consiste à utiliser des équations prédictives.

4.1 Méthodes *in vitro* : Bioaccessibilité

Il s'agit de simuler les différentes étapes physiologiques de la digestion qui influent majoritairement sur l'absorption des minéraux. Les principales méthodes *in vitro* utilisées pour évaluer l'absorption sont la détermination : (i) de l'extractabilité HCl, (ii) de la fraction de nutriment dialysable ou soluble après digestion *in vitro* et (iii) de la quantité d'élément absorbée ou transportée par le modèle de cellules Caco-2 après digestion *in vitro*. En comparaison avec les modèles *in vivo* qui sont plus fiables, les modèles de digestion *in vitro* qui sont surtout des méthodes de screening, présentent certains avantages : ils sont moins coûteux et moins contraignants sur le plan éthique, permettent de gagner du temps, meilleure répétabilité et reproductibilité. Dans le cadre de cette thèse nous nous limiterons à étudier la bioaccessibilité *in vitro*.

Plusieurs modèles mimant le tractus digestif ont été développés pour répondre à des questions de recherche scientifiques dans différents domaines. Les méthodes de digestion *in vitro* comprennent trois étapes principales: (i) l'imitation de l'étape buccale avec une incubation avec de l'amylase, (ii) la digestion gastrique généralement à pH 2 avec ajout de pepsine et (iii) la digestion intestinale par ajustement du pH à 7 en présence de pancréatine et d'extrait de bile. Le pourcentage du minéral assimilable est déterminé soit après dialyse, soit après centrifugation. En effet, la méthode initialement décrite par Miller et al. (1981a) a été modifiée dans les travaux ultérieurs. Wolfgor et al. (2002b) ont préconisé l'utilisation d'un tampon pour obtenir un pH plus stable et par la suite des résultats plus répétables après avoir réalisé plusieurs expériences prouvant l'importance des solutions utilisées pour atteindre les pH gastriques et intestinaux.

4.2 Estimations indirectes

La biodisponibilité des minéraux peut également être estimée indirectement, en utilisant des modèles issus de la littérature établis en fonction de la présence d'effecteurs.

4.2.1 Les rapports molaires phytates / minéraux

L'utilisation du rapport molaire phytate: Zn pour prédire la biodisponibilité du zinc à partir d'aliments riches en phytates a été suggérée par Oberleas and Prasad (1976). Ce ratio a depuis

été largement utilisé pour évaluer l'effet inhibiteur des phytates dans l'alimentation (Fitzgerald et al., 1993; Gibson et al., 1991; Oberleas and Harland, 1981). Le calcium accentue l'effet inhibiteur du phytate sur le zinc. Ainsi, les teneurs élevées de calcium alimentaire sont un cofacteur dans l'absorption réduite du zinc (Gibson et al., 1991; Oberleas et al., 1966). En raison de cet effet potentialisateur du calcium sur la complexation du zinc par les phytates, le rapport molaire phytate \times Ca/Zn a été suggéré comme une évaluation plus fine de la biodisponibilité du zinc que le rapport molaire phytate/ Zn seul (Bindra et al., 1986; Larsen and Sandstrom, 1992). Les valeurs critiques suggérées pour les rapport molaires phytate/zinc, phytate/calcium et phytate \times Ca/Zn sont données dans le tableau 5.

Tableau 5. Les valeurs critiques pour les rapport molaires phytates/minéraux.

Phytate/minéral	Valeur seuil	Références
phytate/zinc	10	Kwun and Kwon (2000)
	15	(Al-Hasan et al., 2016; Morris and Ellis, 1989)
	18	(Gibson et al., 2010)
phytate/calcium	0,24	(Gemedede et al., 2016; Morris and Ellis, 1985; Scholz-Ahrens et al., 2007)
	0.17	(Gibson et al., 2010)
phytate \times Ca/Zn	200	Gemedede et al. (2016); Kwun and Kwon (2000)
Phytate/fer	1,0	(Hurrell et al., 2003) en présence d'activateurs tels que l'acide ascorbique
	0,2	(Hurrell et al., 2003) en absence d'activateurs
	0,15	(Gemedede et al., 2016)

Des études menées par Gibson et al. (2010); Lönnerdal (2010) ont également proposé l'utilisation des rapports molaires phytate/fer (Phy/Fe) pour évaluer l'absorption du fer non héminique. Les phytates commencent à perdre leur effet inhibiteur sur l'absorption du fer lorsque les rapports molaires phytate/fer sont inférieurs à 1,0, pour des plats mixtes, ou même des ratios aussi bas que 0,2 pour des plats à base de céréales ou de légumineuses (Hurrell et al., 2003). Selon (Gemedede et al., 2016) les rapports molaires phytate/fer supérieurs à 0,15 considérés comme indicatifs d'une faible biodisponibilité du fer (Tableau 5).

4.2.2 Les modèles prédictifs

L'usage des rapports molaires présentés précédemment postule que la teneur en phytate explique la majeure partie de la variance de la biodisponibilité des minéraux considérés et ne prennent donc pas en considération l'ensemble de la matrice alimentaire. De nombreuses études ont montré que les phytates ne sont pas les seuls inhibiteurs de l'absorption des minéraux et que d'autres composés de la matrice alimentaire peuvent influencer positivement leur absorption (Hallberg and Hulthén, 2000). Les équations modèles, utilisées pour estimer la biodisponibilité des minéraux, prennent en compte la complexité des matrices alimentaires et permettent une estimation de l'absorption sans mesure directe (Hunt, 1996).

Les travaux visant à explorer la relation entre l'apport en fer et la biodisponibilité ont conduit au développement de plusieurs équations modèles (appelées algorithms dans les articles en anglais) pour prédire l'absorption du fer. L'équation modèle proposée par Hallberg et Hulthén (2000), que nous avons utilisée dans cette étude, a été obtenue en modélisant les données d'absorption mesurées chez l'homme après ingestion de repas contenant des quantités connues d'effecteurs. Les résultats ont prouvé un bon accord entre les mesures de l'absorption du fer à partir de 24 repas complets et l'absorption estimée par l'équation modèle.

Monsen et al. (1978) ont proposé un modèle permettant d'estimer la teneur en fer biodisponible d'un aliment en ne prenant en compte que les activateurs de l'absorption du fer. Ce modèle présente de nombreuses limites étant donné qu'il a été déterminé à partir de régime occidentaux et qu'il ne prend pas en considération les inhibiteurs de l'absorption du fer. Reddy et al. (2000) ont évalué l'absorption du fer chez des sujets recevant 25 repas de types occidentaux et ont montré que la présence de tissus animaux et les teneurs en acide ascorbique et en phytates devaient être prises en compte pour obtenir une évaluation correcte, tandis que les teneurs en calcium et en polyphénols n'avait pas d'effet significatif. Hallberg and Hulthén (2000), ont développé un modèle pour prédire les effets de facteurs connus pour influencer l'absorption du fer héminique et non-héminique des repas et des régimes alimentaires. La base de l'algorithme était l'absorption de fer à partir de pain de blé ($22,1 \pm 0,18$ %) ne contenant aucun inhibiteur ou activateur connu et ajusté à une absorption de dose de référence de 40 %. Cette absorption de base est multipliée par l'effet attendu de différentes quantités de facteurs alimentaires connus pour influencer l'absorption du fer: phytate, polyphénols, acide ascorbique, viande, poisson et fruits de mer, calcium, oeufs, protéines de soja et alcool. Pour chaque facteur, une équation décrivant la relation dose-effet a été développée. Des considérations particulières ont été prises pour les interactions entre les facteurs individuels.

Etude bibliographique

Une limite importante de ces modèles publiés est qu'ils ont été développés sur la base de données d'absorption mesurées sur un seul repas (Reddy et al., 2000; Rickard et al., 2009). La prédiction de l'absorption du fer à partir d'un régime complet ou entier nécessite un modèle développé à partir d'un régime alimentaire complet. Le régime alimentaire complet se réfère à la consommation quotidienne totale d'une personne estimée à partir d'un ou plusieurs jours. Des études ont été menées par Cook and Reddy (2001); Reddy et al. (2006) pour examiner l'effet de différents facteurs alimentaires sur l'absorption du fer à partir d'un régime alimentaire complet consommé pendant une période de 5 jours. Dans chacune de ces études, les participants ont consommé 3 régimes différents, chacun pendant une période de 5 jours. Les régimes inclus dans les études étaient un régime alimentaire typique et 2 régimes modifiés avec des quantités faibles et élevées du facteur testé. Les 4 facteurs alimentaires qui ont été inclus dans 3 quantités différentes dans les 4 études ont été la consommation de thé, de viande, de sources de vitamine C et de calcium. En combinant les données de ces études, l'hétérogénéité des régimes typiques consommés par diverses populations a été recréée. Armah et al. (2013) ont développé un nouvel algorithme basé sur des données alimentaires complètes issues de ces études, qui serviront à évaluer l'absorption de fer dans les populations. L'algorithme proposé par Armah et al. (2013) a été développé à partir d'ensembles de données de régime complets qui incluent un large éventail d'apport des facteurs alimentaires connus pour affecter l'absorption de fer non-héminique et devraient donc refléter le mode de consommation de nombreuses populations.

Cependant, lorsqu'il s'agit de caractériser la biodisponibilité du fer dans un plat bien défini comme c'est le cas dans notre étude, les équations proposées par Hallberg and Hulthén (2000) semblent plus appropriées.

La prise en compte de la biodisponibilité des nutriments d'intérêts, de la complexité des aliments traditionnels et de leur potentiel nutritionnel est certainement une des meilleures clés de la prévention des troubles nutritionnels, en donnant la place à des aliments-ressources tels que les légumes feuilles et les légumineuses.

5 Légumes-feuilles

5.1 Importance et consommation des légumes-feuilles

Les plats traditionnels reflètent l'identité régionale des personnes, des groupes ethniques et des communautés, et l'utilisation de légumes feuilles est un exemple qui illustre les connaissances locales traditionnelles. Les légumes-feuilles sont des plantes dont les feuilles sont utilisées dans l'alimentation humaine. Les légumes feuilles ont toujours été indispensables dans toutes les cultures de la région méditerranéenne, utilisés non seulement pour la nourriture, mais aussi à des fins médicales et de nombreuses autres utilisations (Zeghichi et al., 2003). En Afrique subsaharienne, ils sont très largement consommés et représentent pour le segment pauvre de la population particulièrement touché par la malnutrition, une des principales sources de diversification alimentaire de qualité nutritionnelle intéressante (Sahoré et al., 2014). Les légumes feuilles ont toujours été importants dans les traditions populaires. Dans de nombreuses régions méditerranéennes en transition, il est nécessaire d'étudier ce système de connaissances et de collecter des données sur les utilisations des légumes feuilles avant que ces connaissances ne disparaissent (Hadjichambis et al., 2008). Le régime alimentaire Méditerranéen a évolué au cours des siècles se traduisant par une diminution de la diversité des légumes feuilles consommés. Quelques légumes feuilles restent et dominant, tandis que les autres rejoignent le clan des curiosités de terroir et des recettes régionales. Cette évolution entraîne des risques à la fois d'appauvrissement des régimes alimentaires mais aussi de perte d'identité sociale. En outre, il est important de trouver des moyens innovants de transmettre ces connaissances aux futures générations méditerranéennes afin de conserver la biodiversité (Kahane et al., 2005).

5.2 Intérêt nutritionnel des LF

Les légumes-feuilles traditionnels (ou indigènes, par opposition aux légumes exotiques des pays tempérés) sont généralement riches en éléments minéraux, vitamines, fibres et facteurs nutritionnels, sans présenter de facteurs antinutritionnels réducteurs (Neugart et al., 2017).

Les richesses en minéraux et vitamines correspondent à des enjeux de santé particulièrement significatifs dans les pays où l'on compte de nombreux cas d'anémie, et de déficience immunitaire. La carence en vitamine A, fréquente chez les enfants, pourrait être réduite par une augmentation de la consommation des feuilles vertes. Les légumes feuilles contiennent une concentration élevée en caroténoïdes, qui ont des propriétés anti-oxydantes favorables à la santé humaine. Parmi ces caroténoïdes, les précurseurs de la vitamine A (ex. β -carotène) et la lutéine, préviennent de maladies graves comme la dégénérescence maculaire et la cataracte, divers cancers et maladies cardio-vasculaires. La consommation des légumes-feuilles contribuerait aussi à diminuer la prévalence de l'anémie ferriprive touchant tous les segments de la population, mais en particulier les femmes en âge de procréer. Une consommation accrue de légumes feuilles apporterait un supplément de calcium et de vitamine C qui favorise l'assimilation du fer. Les légumes feuilles apportent également des fibres dans l'alimentation, fournissant ainsi un liant accompagnant les plats glucidiques de base. Les légumes-feuilles, qu'ils soient sauvages ou cultivés, issus de lianes, de tubercules ou d'arbres, apportent aussi aux populations qui n'ont à leur disposition que peu de viande ou de poisson, des protéines indispensables surtout aux femmes enceintes ou allaitantes et aux enfants en bas âge ou en période de croissance (Uusiku et al., 2010).

Les légumes-feuilles sont présents dans les régimes alimentaires de nombreuses populations dans le monde, particulièrement dans le bassin méditerranéen dont la Tunisie, où ils ont un rôle essentiel d'un point de vue nutritionnel et médical. La consommation de sauces à base de légumes-feuilles est une habitude alimentaire fréquente en Tunisie. Les plats traditionnels utilisent les légumes feuilles de façon courante et spécifique, chaque légume apportant une caractéristique à une sauce ou un plat (Hadjichambis et al., 2008).

De nombreuses espèces de légumes feuilles traditionnellement consommées sont encore sous exploitées, comme les corètes (*Corchorus* spp.). C'est pourquoi le maintien de la cuisine traditionnelle représente un enjeu socio-économique, mais aussi stratégique et écologique.

5.3 Corète (*Corchorus olitorius*)

La corète (*Corchorus olitorius* L.) est une plante herbacée annuelle de la famille de Tiliaceae. C'est une plante érigée pouvant atteindre 2 à 4 m de haut, habituellement fortement ramifiée (Kiebre et al., 2016). Sa tige ramifiée au sommet est rigide et ses petites fleurs jaunes, font place à des fruits capsulaires, cylindriques et surmontés d'un bec net (Choudhary et al., 2017). La corète est une plante dont les feuilles triangulaires, se singularisent par deux longues dents

subbasales (Choudhary et al., 2017). Plusieurs études à travers le monde ont montré que *C. oleritorius* a une grande diversité morphologique (Adebo et al., 2015; Shitanda and Wanjala, 2006).

La corète est une plante cultivée en saison pluvieuse, mais pour qu'elle soit disponible toute l'année sur les marchés, elle est, en saison sèche, développée en culture irriguée. Les feuilles constituent la partie comestible (Annexe 1) (Choudhary et al., 2017; Kahane et al., 2005). A noter que les feuilles d'espèces voisines, telles que *C. tridens* sont également comestibles et largement consommées en Afrique de l'Ouest. Les feuilles fraîches de *Corchorus* ne peuvent pas être conservées longtemps. Le produit est souvent vendu le jour de la récolte et est constamment humide. Si elle est refroidie à 20°C, elle peut être conservée environ une semaine et dans un entrepôt frigorifique pendant plusieurs semaines. Si les feuilles sont séchées et réduites en poudre, le produit peut être conservé pendant au moins 6 mois (Sahoré et al., 2014).

C'est une plante originaire d'Égypte et qui est très populaire dans la région méditerranéenne (CIHEAM, 2012; Kahane et al., 2005). *C. oleritorius* se trouve dans de nombreuses régions, dont l'Égypte, la Tunisie, le Soudan, l'Inde, le Bangladesh, en Asie tropicale dans des pays comme les Philippines et la Malaisie, ainsi qu'en Afrique tropicale, au Japon, en Amérique du Sud, aux Caraïbes et à Chypre (İlhan et al., 2007; Loumerem and Alercia, 2016).

La corète est communément connue sous le nom de tossa jute, mauve des Juifs (İlhan et al., 2007; Radwan et al., 2017), la mallow de jute (Radwan et al., 2017) et oseille d'Afrique de l'Ouest (İlhan et al., 2007). Elle est aussi appelé Moroheiya au Japon, Molehiya à Chypre et Saluyot aux Philippines, Mloukhiya en Tunisie et Molokhia en Égypte (İlhan et al., 2007).

- **Effet santé**

En plus de leur valeur alimentaire, les feuilles de *Corchorus oleritorius* sont utilisées comme plantes médicinales. Elles sont connues comme «nourriture des rois», puisque les pharaons égyptiens l'ont consommé depuis l'Antiquité pour se remettre des maladies (Radwan et al., 2017). *C. oleritorius* montre une activité antibactérienne et antifongique, qui pourrait être due à la présence de composés de coumarine dans les feuilles (İlhan et al., 2007). Les feuilles sont utilisées comme remède contre les maladies cardiaques, les énémas, la parturition et les fébrifuges (Choudhary et al., 2013). Les feuilles de *Corchorus oleritorius* sont bien connues sous le nom d'émollient, diurétique, tonique et purificateur (Taiwo et al., 2016; Zeghichi et al., 2003). Traditionnellement, *C. oleritorius* a été utilisé pour traiter la gonorrhée, la cystite

chronique, la douleur et la fièvre. Les glycosides cardiaques, les ionones, les flavonoïdes et l'acide chlorogénique ont été trouvés dans diverses parties végétatives de la plante (Taiwo et al., 2016). Furumoto et al. (2002) ont démontré que le phytol et le mono-galactosyldiacyl glycérol extraits à partir de feuilles de *C. olerius* peuvent avoir des propriétés antitumorales. Par ailleurs, Salawu et al. (2011) ont démontré l'activité cytotoxique *in vitro* de la feuille et ont indiqué que l'isoquercétrine, l'hyperoside et l'acide 1,5-dicofoyl-quinique étaient présents dans l'extrait de feuilles.

En outre, c'est un ingrédient des crèmes faciales, des lotions, des toniques capillaires et des crèmes pour les mains. Pour les Egyptiens, Molokhia est depuis longtemps le symbole de leur patrie (Loumerem and Alercia, 2016; Zeghichi et al., 2003). *C. olerius* avec ses teneurs élevés en fer et en folate est utilisée pour prévenir l'anémie (Adebo et al., 2015; Choudhary et al., 2013; Shitanda and Wanjala, 2006).

- **Utilisation alimentaire : la Mloukhiya**

Les feuilles vertes de *C. olerius* ou *C. tridens* sont utilisées comme ingrédient pour une célèbre sauce visqueuse dans de nombreux pays et surtout dans les pays du Moyen-Orient et d'Afrique subsaharienne. Dans les pays d'Afrique, où les régimes alimentaires sont à base de produits féculents, les légumes feuilles sont utilisés en complément (İlhan et al., 2007). *Corchorus Olerius* est utilisé sous forme de poudre de feuilles séchées pour la préparation d'une sauce collante mucilagineuse appelée Mloukhiya. Les feuilles de cette plante sont riches en polyosides mucilagineux et hydrocolloïdes qui sont à l'origine de la consistance visqueuse de cette sauce. La viscosité des hydrocolloïdes de *C. olerius* dépasse celle de la gomme de guar et la gomme de caroube (Radwan et al., 2017).

Une étude réalisée par Radwan et al. (2017) a trouvé que les rhéogrammes de sauces de *C. olerius*, préparées à différentes concentrations, montrent un comportement pseudo-plastique, c'est-à-dire que la viscosité diminue avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement. La viscosité de la sauce de *C. olerius* augmente avec la concentration en poudre de feuilles et diminue avec la diminution du pH de la sauce.

Cependant, la consommation de *C. olerius* ou feuilles de jute diminue et la connaissance de ses différentes utilisations disparaissent à un rythme alarmant. Par conséquent, dans la perspective plus large de la sécurité alimentaire, l'utilité et les valeurs nutritionnelles de ce légume-feuille indigène doivent être redécouvertes (Choudhary et al., 2013).

5.3.1 Acides aminés

Le jute est très riche en acides aminés essentiels sauf la méthionine qui est à des concentrations faibles (Adebo et al., 2015; İlhan et al., 2007).

5.3.2 Micronutriments essentiels d'intérêt : minéraux et vitamines

Le jute est très riche en minéraux essentiels comme le calcium et le fer (Tableau 6) (Adebo et al., 2015; Choudhary et al., 2013; Radwan et al., 2017; Schonfeldt and Pretorius, 2011), en potassium et phosphore (Azuma et al., 1999a; Azuma et al., 1999b; İlhan et al., 2007). Les feuilles de *C. olitorius* sont de très bonnes sources de vitamines A, C et E (Adebo et al., 2015; Musa and Ogbadoyi, 2012; Radwan et al., 2017), de vitamine B9 (Choudhary et al., 2013) et de carotène (Azuma et al., 1999a; Azuma et al., 1999b; Radwan et al., 2017). Choudhary et al. (2013) ont trouvé que les feuilles de *C. olitorius* sont plus riches en fer, zinc et magnésium que les épinards et les choux.

Tableau 6. Teneurs en micronutriments de la poudre de corète (*Corchorus olitorius*).

Minéraux/vitamines	Teneurs[*] /100 g MB	AJR^{**} FAO/WHO
Minéraux		
Fer (mg)	31,7	21,5
Zinc (mg)	5,3	4,2
Calcium (mg)	1386,7	1000
Magnésium (mg)	426,7	240
Potassium (mg)	3726,7	3510
Vitamines		
Vitamine B9 (µg)	820	400
Vitamine C (mg)	246,7	45
Vitamine A (µg)	3706,7	550

^{*}Table de composition des aliments tunisiens par El-Ati et al. (2007).

^{**}AJR : les apports journaliers recommandés par FAO/WHO (2004).

5.3.3 Sucres et fibres

Corchorus olitorius est très riche en fibres (El-Arab, 2009; Zeghichi et al., 2003). Les fibres de jute (comprenant seulement 38 % des fibres solubles) sont principalement représentées par des parois cellulaires primaires faiblement lignées, riches en hémicellulose soluble, en pectine et en fibres hautement fermentables (Guptaa et al., 2005). Les fibres insolubles de jute se composent principalement de cellulose (Takahashi et al., 2009).

Des études menées au Japon par Ohtani et al. (1995); Yamazaki et al. (2009); Yokoyama et al. (2014) et en Corée par Jung et al. (2002), ont montré que les fibres des feuilles de *C. olitorius* contiennent une quantité significative de polysides mucilagineux, riches en acides uroniques, et se compose de rhamnose, de glucose, d'acide galacturonique et d'acide glucuronique (avec un rapport molaire acide glucuronique / acide galacturonique de 1,6). Les gommes hydrosolubles ou hydrocolloïdes, appelées aussi colloïdes hydrophiles ou mucilages, sont des macromolécules solubles dans l'eau qui donnent des solutions de très haute viscosité. Lorsque l'hydrocolloïde visqueux des feuilles de *C. olitorius* est chauffé à plus de 60°C (~100°C), une augmentation irréversible de la viscosité est observée, ce qui suggère un changement de conformation irréversible (Yamazaki et al., 2009).

5.3.4 Polyphénols et activité antioxydante

Les feuilles de *C. olitorius* ont une activité antioxydante élevée (Azuma et al., 1999a; Azuma et al., 1999b). Des composés phénoliques sont identifiés dans les feuilles tels que l'acide 5-caféoylquinique et des dérivés de quercétine. Ces composés sont connus pour contribuer à prévenir le surpoids et l'obésité induits par certains régimes alimentaires (CIHEAM, 2012). Le contenu des glycosides de quercétine dans les feuilles de *C. olitorius* est important, approximativement deux fois celui du bulbe d'oignon, l'une des principales sources (Azuma et al., 1999b). Les composés phénoliques pourraient contribuer grandement à l'activité antioxydante des feuilles de *C. olitorius* et l'acide 5-caféoylquinique pourrait être la substance antioxydante prédominante (Azuma et al., 1999b). La fonction antioxydante de la quercétine est renforcée par la vitamine C. Ce renforcement est attribué à la capacité de la vitamine C à réduire la quercétine oxydée et à celle de la quercétine d'inhiber la photooxydation de la vitamine C. Des effets bénéfiques encore plus puissants de la quercétine comme destructeur de radicaux libres et/ou comme inhibiteur de la peroxydation lipidique sont observés en association avec la vitamine E et la vitamine C.

5.4 Effets des procédés technologiques sur la valeur nutritionnelle

5.4.1 Effet de la cuisson

Les pertes de vitamines après cuisson dépendent de la nature thermosensible, labile et hydrophile de chaque vitamine. La quantité de vitamine perdue augmente avec le temps de cuisson (Musa and Ogbadoyi, 2012). Le traitement thermique des légumes-feuilles (blanchiment, cuisson) entraîne une diminution significative des concentrations d'éléments minéraux par diffusion dans le milieu de cuisson. Les teneurs en Fe, Cu, Mg, Na et K dans les feuilles cuites sont réduites par rapport à celles des feuilles fraîches et la quantité perdue augmente avec le temps de cuisson (Musa and Ogbadoyi, 2012; Schonfeldt and Pretorius, 2011).

5.4.2 Effet du séchage

Une étude menée par Shitanda and Wanjala (2006), a montré que les feuilles de *Corchorus olitorius* séchées à l'ombre, au soleil et sous vide ont perdu leur tendreté et sont devenues dures en raison de la gélatinisation de l'amidon et de la cristallisation de la cellulose. Les pertes importantes de vitamines dans les feuilles séchées pourraient être attribuées à des processus d'oxydation provoqués par les enzymes endogènes (vitamine C oxydase et peroxydase) (Shitanda and Wanjala, 2006). Les pertes d'acide ascorbique (vitamine C) dans les feuilles de jute séchées dépendent de l'exposition à la lumière, de la température de séchage et du temps d'exposition (Shitanda and Wanjala, 2006). La flétrissure est l'un des facteurs qui pourraient être responsables des pertes de vitamines pendant le séchage au soleil (Musa and Ogbadoyi, 2012). Le séchage au soleil a un effet négligeable sur les concentrations de Fe, Cu, Mg, Na et K dans *Corchorus olitorius*. Le séchage au soleil est un processus d'évaporation progressive qui n'implique pas la lixiviation.

6 Légumineuses

6.1 Présentation générale

L'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO, 2016) définit les légumineuses comme étant des plantes annuelles dont les cosses (gousses) produisent entre 1 et 12 graines qui sont utilisées dans l'alimentation humaine et animale. Les légumineuses appartiennent à la famille des Fabacées, le troisième plus grand groupe de plantes au monde (FAO, 2016). Les légumineuses représentent une composante importante de l'alimentation humaine dans plusieurs pays et jouent un rôle important dans les régimes traditionnels de

nombreuses régions à travers le monde. En particulier, le régime méditerranéen repose sur une consommation importante de légumineuses (Padilla and Palma, 2015). La fève (*Vicia faba*), la lentille (*Lens culinaris*) et le pois chiche (*Cicer arietinum*) sont les espèces les plus consommées parmi les légumes secs dans les pays méditerranéens.

Parfois appelées «viande du pauvre », les légumineuses alimentaires présentent une source importante de protéines dans le régime alimentaire des pays en développement (Bouchenak and Lamri-Senhadji, 2013). Les graines de légumineuses sont riches en glucides et en fibres. Les bénéfices pour la santé de la consommation de légumineuses ont suscité un intérêt croissant. La relance de leur consommation revêt une importance majeure. Les légumineuses renferme également des facteurs antinutritionnels. En outre, diverses méthodes de traitement telles que la torréfaction, le trempage, la germination, la fermentation ou la cuisson diminuent les niveaux de certains facteurs antinutritionnels thermolabiles (Turco et al., 2016).

Dès 1990, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a recommandé de consommer au moins 30 g de légumineuses par jour pour aider à prévenir les maladies chroniques. En 2005, l'USDA a recommandé d'en inclure environ 130 g dans l'alimentation, plusieurs fois par semaine pour une bonne santé. Les légumineuses combinées avec des céréales constituent des plats traditionnels dans le monde entier; leur composition en acides aminés essentiels est complémentaire.. Au regard de cette complémentarité, nous allons étudier un plat traditionnel tunisien « La Bahthoula », un plat à base de 5 légumineuses (lentille, pois chiche, fève, féverole et fenugrec), préparé avec les petits plombs (des grains préparés à partir de semoule de blé), des anchois séchés, de l'huile d'olive et des épices et consommé principalement dans la région du centre ouest et sud ouest tunisien.

6.2 Intérêts des légumineuses

6.2.1 Effet santé

La consommation de légumineuses est réputée bénéfique pour la santé en raison de leurs propriétés nutritionnelles (Turco et al., 2016). Le rôle des légumineuses dans la promotion de la santé a été mis en évidence par l'étroite association entre leur consommation et l'incidence des maladies chroniques (Duenas et al., 2016). En effet, la consommation des légumineuses est inversement associée aux risques de maladies coronariennes, de diabète de type II, de troubles gastro-intestinaux, de maladie des glandes surrénales et de cancer (Duenas et al., 2016; Hefnawy, 2011). Ainsi des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que les composés phénoliques des légumineuses peuvent présenter des propriétés anti-athérosclérotiques et anti-

inflammatoires, et ils sont capables d'inhiber la croissance des lignées cellulaires cancéreuses humaines (Duenas et al., 2016; FAO, 2016; Hefnawy, 2011). La consommation régulière de légumineuses (quatre fois par semaine ou davantage) contribuerait à faire baisser le risque de maladies cardiovasculaire de 22 pour cent par rapport à une consommation fixée à une fois par semaine ou moins (Bouchenak and Lamri-Senhadj, 2013; Duenas et al., 2016; Hefnawy, 2011). Cela est dû à certaines caractéristiques des légumineuses, notamment leur forte teneur en potassium et en fibres ; le potassium contribue à faire baisser la pression sanguine, tandis que les fibres font baisser le taux de cholestérol à lipoprotéines de basse densité LDL (FAO, 2016). Il a également été suggéré que les polyphénols présents dans une matrice riche en fibres alimentaires entraînent une augmentation significative de la capacité antioxydante du plasma et des réductions du cholestérol total, du cholestérol LDL et la pression sanguine (Duenas et al., 2016). Les légumineuses contribuent également à la santé du système nerveux car elles contiennent du folate, qui contribue au métabolisme énergétique.

6.2.2 Intérêt nutritionnel

Les graines de légumineuses constituent une source importante de protéines pour une large catégorie de population dans le monde. Les graines de légumineuses sont riches en protéines, leur teneur s'étend de 19,3 à 36,5 %, selon l'espèce (Zhou et al., 2013). Elles sont également une excellente source de fibres, par rapport aux grains de céréales. Les fibres alimentaires comprennent l'amidon résistant, les polysides (cellulose, hémicellulose, pectine, gommés et β -glucanes), les oligosides non digestibles et la lignine (Bouchenak and Lamri-Senhadj, 2013). Généralement, les légumineuses ont des teneurs en glucides (60 à 65 %), légèrement inférieures aux céréales (70-80 %) (Oomah et al., 2011b). Les légumineuses sont aussi une bonne source de vitamines, surtout du groupe B, notamment la thiamine (B1), riboflavine (B2), niacine (B3), l'acide pantothénique (B5), la pyridoxine (B6) et l'acide folique (B9) et de minéraux (en particulier le potassium, le phosphore, le calcium, le magnésium, le cuivre, le fer et le zinc) (Duenas et al., 2016; Quinteros et al., 2001). Les légumineuses contiennent de nombreux composés bioactifs tels que les flavonoïdes, isoflavonoïdes, anthocyanines, phytoestrogènes, terpénoïdes, caroténoïdes, limonoïdes et glucosinolates (Bouchenak and Lamri-Senhadj, 2013).

6.3 Les facteurs antinutritionnels (FAN)

Les légumineuses contiennent des composés « antinutritionnels » qui limitent parfois leur utilisation. Certains FAN peuvent avoir des effets positifs à faible dose et révéler leur toxicité

à haute dose. Les FAN des légumineuses sont divisés en deux groupes : Les FAN de nature protéique tels que les inhibiteurs de protéases (trypsine, chymotrypsine et α -amylase) et les lectines, et les FAN de nature non protéique tels que l'acide phytique, les tannins, les saponines et les alpha-galactosides.

6.3.1 Alpha-galactooligosides

Les α -galactooligosides (α -GOS), également connus sous le nom d'oligosaccharides de la famille du raffinose et α -galactosides, sont des sucres non réducteurs de faible masse molaire (degré de polymérisation allant de 3 à 5) qui sont solubles dans l'eau. Les principaux oligosides présents dans les légumineuses, appartiennent à la famille α -GOS dont le raffinose, le stachyose et le verbascose. Ces composés sont des α (1 \rightarrow 6) galactosides liés au C-6 une molécule de saccharose (Martínez-Villaluenga et al., 2008b). Le raffinose, le stachyose et le verbascose sont constitués respectivement d'une, deux et trois unités de galactose attachées à une molécule de saccharose par son glucose (Oomah et al., 2011b). Ces oligosides ne sont pas hydrolysés dans le tractus intestinal humain, due à l'absence d' α -galactosidases et par conséquent ne sont pas absorbables par la muqueuse intestinale. Par conséquent, les α -GOS arrivent intacts au niveau du colon, où ils subissent une fermentation microbienne par les bactéries coliques, stimulant ainsi la croissance de bactéries probiotiques, mais induisant également la production de gaz (hydrogène, méthane et dioxyde de carbone) responsables de flatulence. Les effets sont par conséquent positifs à faible dose, mais deviennent négatifs entraînant des troubles digestifs à dose plus élevée.

6.3.2 Acide phytique

L'acide phytique ou acide myo-inositol hexaphosphorique est une molécule de formule brute $C_6H_{18}O_{24}P_6$ et naturellement présente dans les graines. L'acide phytique et ses sels, les phytates, sont considérés comme la principale forme de stockage du phosphore dans les légumineuses où ils représentent la majorité du phosphore de la graine (FAO, 2017). Le site d'accumulation de l'acide phytique dans les graines dicotylédones est dans les corps protéiques sous forme d'inclusions appelées globoïdes (Urbano et al., 2000). La propriété antinutritionnelle de l'acide phytique est liée à son pouvoir chélateur vis-à-vis des minéraux, spécifiquement les cations divalents (Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+}) en formant des sels (phytates). Il peut également se complexer avec les protéines et l'amidon. Les minéraux ou les composés ainsi complexés voient leur biodisponibilité au niveau intestinal diminuer (Bouchenak and Lamri-Senhadji, 2013; FAO, 2017; Urbano et al., 2000). Du fait même de

leurs propriétés chélatrices de minéraux pro-oxydants tels que le fer, les phytates sont parfois considérés comme ayant un effet antioxydant bénéfique, notamment pour les populations qui ne sont pas à risque de carence en fer.

6.3.3 Polyphénols

Les polyphénols sont majoritairement localisés dans l'enveloppe externe de la graine de légumineuses (Uebersax and Occena, 2003). Les composés phénoliques dominants chez les légumineuses sont les acides phénoliques, les tanins et les flavonoïdes (Bouchenak and Lamri-Senhadji, 2013). Les tanins sont connus pour former des complexes insolubles avec des protéines, diminuant ainsi la digestibilité des protéines et de leurs acides aminés. Les tannins des légumineuses sont essentiellement des tannins condensés ou catéchiques. Ce sont des composés polyphénoliques, relativement thermostables.

6.3.4 Lectines et inhibiteurs de protéase (facteurs antitrypsiques)

Les inhibiteurs de protéases ou facteurs antitrypsiques sont des protéines qui se fixent d'une façon quasi irréversible sur certains enzymes digestives (trypsine et chymotrypsine), empêchant leur action hydrolytique sur les protéines et par conséquent l'absorption des acides aminés constitutifs de ces protéines (Bouchenak and Lamri-Senhadji, 2013).

Les lectines (phytohémagglutinines) sont des glycoprotéines qui se lient spécifiquement et de façon réversible à certains glucides (Alonso et al., 2000; Bouchenak and Lamri-Senhadji, 2013; Lajolo and Genovese, 2002). En conséquence, en plus de l'agglutination des érythrocytes, ils ont de nombreux effets physiologiques, tels que la liaison aux glycoprotéines sur la surface épithéliale de l'intestin grêle, entravant l'absorption des éléments nutritifs (Lajolo and Genovese, 2002). Comme les inhibiteurs de protéases, les lectines sont résistantes à l'hydrolyse mais relativement thermolabiles. Les traitements thermiques utilisés conventionnellement (cuisson, autoclavage, extrusion) sont, en général, suffisants pour les inactiver.

6.4 Procédés et traitements

Les légumineuses sont rarement consommées crues, elles sont soumises à des traitements divers, selon les pratiques traditionnelles et les préférences gustatives. Plusieurs auteurs ont rapporté l'intérêt des traitements (physiques, biochimiques et thermiques) dans la réduction

et/ou l'élimination des facteurs antinutritionnels et dans l'amélioration de la digestibilité de ces graines.

6.4.1 Décorticage

Le tégument des légumineuses est principalement composé de cellulose, de lignine, de polyphénols et de minéraux (Chibbar et al., 2010). Le décorticage de la graine réduit les teneurs en tannins, l'acide phytique et l'activité inhibitrice de la trypsine (Embaby, 2010; Sreerama et al., 2009).

Étant donné que les graines décortiquées contiennent moins de fibres, leur valeur nutritive est supérieure à celle des graines entières. Néanmoins, ce procédé n'élimine pas les facteurs antinutritionnels thermolabiles (inhibiteurs de protéases, α -GOS et lectines) (Embaby, 2010).

6.4.2 Trempage

Le trempage est souvent réalisé avant ou conjugué à d'autres traitements comme la germination, la fermentation ou la cuisson. Il permet aux graines de s'imbiber d'eau (Xu and Chang, 2008). Ce phénomène induit un lessivage des molécules solubles telles que les minéraux, les oses, les diosides, les oligosides, les polyphénols solubles et l'acide phytique, qui diffusent dans le milieu de trempage (Kaushik et al., 2010; Lestienne et al., 2005; Xu and Chang, 2008). Le milieu hydraté entraîne également une activation des enzymes endogènes, qui peuvent hydrolyser certains composés in situ dans la graine, ou bien diffuser et hydrolyser ces mêmes composés dans le milieu de trempage après qu'ils ont diffusé.

6.4.3 Cuisson

Les graines de légumineuses peuvent être cuites dans l'eau bouillante, à la vapeur, sous haute pression et au micro-onde. La cuisson dans l'eau des graines de légumineuses s'accompagne d'une réduction de la teneur en minéraux, en sucres solubles, en acide phytique et en tannins à cause du lessivage. Le traitement thermique améliore significativement la qualité des protéines par destruction ou inactivation des facteurs antinutritionnels thermolabiles (Hefnawy, 2011; Wang et al., 2009).

6.5 Les légumineuses étudiées

En Tunisie, les légumineuses alimentaires constituent une composante de base dans les systèmes agronomiques traditionnels. Elles interviennent directement dans la ration alimentaire humaine. Les légumineuses alimentaires, notamment, la fève, la féverole, le

fenugrec, la lentille et le pois chiche constituent une source importante de protéines et de micronutriments. C'est pourquoi les légumineuses sont à la base de nombreux plats alimentaires. Cette étude vise non seulement la sauvegarde de ces recettes traditionnelles, mais aussi la promotion de nombreux ingrédients et des plats moins connus en dehors de leurs lieux d'origine.

6.5.1 Pois chiche

Le pois chiche (*Cicer arietinum*), est une plante herbacée annuelle, à petites gousses velues contenant habituellement deux graines. En dehors des arachides et du soja, cette espèce est classée deuxième légumineuse la plus consommée et la troisième la plus cultivée dans le monde. Le pois chiche est également l'une des plus importantes légumineuses à graines cultivées en Tunisie, occupant la seconde position après la fève (DGPA, 2011). La FAOSTAT a déclaré une production de 9696 tonnes en 2014 en Tunisie.

Les graines de pois chiche contiennent des quantités importantes de cicéritol, une molécule de la famille des polyalcools (Wang et al., 2010). Comparé aux autres légumineuses, le pois chiche est nettement plus riche en acide folique et en vitamine E. Le pois chiche est riche en minéraux (calcium, phosphore, fer et magnésium) (Tableau 7) et il est caractérisé par sa faible teneur en polyphénols et en anthocyanes qui se reflète par sa faible capacité à piéger les radicaux libres, ainsi par une faible capacité antioxydante (Oomah et al., 2011a). Les bienfaits nutritionnels du pois chiche ont conduit à son utilisation dans diverses applications culinaires. En outre, le pois chiche est utilisé dans les soupes, les salades, les ragoûts et peut être transformé en farine.

6.5.2 Lentille

Les lentilles sont l'une des cultures de légumineuses les plus importantes et les plus consommées au monde, en particulier dans les pays en développement (Moldovan et al., 2015). La production des lentilles en Tunisie est importante et est estimée de 750 tonnes (FAOSTAT), 2014).

Les lentilles sont parmi les graines de légumineuses les plus riches en tanins, jusqu'à 915 mg / 100 g. La teneur en polyphénols totaux des lentilles est significativement corrélée avec son activité antioxydante totale, ce qui suggère que leurs composés phénoliques contribuent principalement à l'activité antioxydante (Fратиanni et al., 2014; Wang et al., 2010). Le cotylédon des lentilles contient principalement des composés phénoliques non flavonoïdes,

tels que les acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique; En revanche, les flavonoïdes, tels que les glycosides des flavonols et des flavones, sont principalement présents dans la couche externe de graine des lentilles (Fратиanni et al., 2014). La lentille est la graine la plus riche en fer et en zinc, cependant est la moins riche en calcium et en folates, en la comparant aux autres graines de légumineuses étudiées (Tableau 7).

6.5.3 Fève et féverole

La fève (*Vicia faba* L.) a une place importante dans les régimes traditionnels de la Méditerranée (FAO, 2016; Turco et al., 2016). La fève est le légume sec le plus cultivé (DGPA, 2011; Kharrat et al., 1991; Oujii et al., 2017) et consommé en Tunisie (Kharrat and Ouchar, 2011), elle entre dans la préparation d'un grand nombre de plats traditionnels (INC, 2010; Kharrat et al., 1991). En Tunisie, la fève (*Vicia faba* var. major) et la féverole (*Vicia faba* var. minor) sont cultivées. La fève est produite pour la consommation humaine (graines fraîches ou sèches), alors que la féverole est principalement consacrée à l'alimentation animale; Une petite quantité de type mineur est utilisée comme graines décortiquées pour préparer des soupes (Kharrat and Ouchar, 2011). Il est intéressant de noter que, contrairement aux céréales, le faba bean contient des teneurs élevées en lysine et en arginine, ce qui peut compléter les faibles teneurs de céréales. La fève et la féverole sont les graines de légumineuses les plus riches en magnésium et en potassium (Tableau 7).

6.5.4 Fenugrec

En Tunisie, le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.) est spécialement cultivé dans les régions du Nord et il est couramment utilisé comme condiment dans les préparations alimentaires pour ses propriétés nutritives et réparatrices et a également été utilisé dans la médecine folklorique pendant des siècles pour un large éventail de maladies dont le diabète (Wannes and Marzouk, 2016). Les graines de fenugrec constituent une bonne source de minéraux et surtout en fer et en calcium et de vitamines spécifiquement la vitamine C. Par rapport aux autres légumineuses, le fenugrec est la graine la plus riche en fibres (Tableau 7).

Tableau 7. Composition nutritionnelle des légumineuses étudiées (El-Ati et al., 2007).

	Lentille*	Pois chiche*	Fève*	Féverole*	Fenugrec*	AJR** FAO/WHO
Minéraux						
Fer (mg)	9,0	6,2	6,2	6,2	9,3	21,6
Zinc (mg)	3,6	3,4	3,1	3,1	n.d.	3,6
Calcium (mg)	51	105	103	103	150	1000
Magnésium (mg)	107	115	192	192	n.d.	240
Potassium (mg)	905	875	1062	1062	n.d.	3510
Vitamines						
Folates (µg)	433	557	423	423	n.d.	400
Vitamine C (mg)	6,2	4	1,4	1,4	12	45
Fibres (g)	30,5	17,4	25	25	45	25***
Protéines (g)	28,1	19,3	26,1	26,1	26,8	
Lipides (g)	0,96	6,04	1,53	n.d.	5,3	

*Table de composition des aliments tunisiens par El-Ati et al. (2007).

**AJR : les apports journaliers recommandés par FAO/WHO (2004) pour l'adulte homme et femme.

*** Recommandation selon (WHO and FAO, 2003).

A la suite de cette partie bibliographique, ce mémoire de thèse présente dans le chapitre II les protocoles d'étude, ainsi que les matériels et les méthodes utilisés au cours des différentes études menées. Le chapitre 3 abordera les résultats obtenus sous forme de quatres articles ou projets d'articles. Chaque article comportera une présentation résumée en français avec des résultats complémentaires.

Chapitre II : Matériels et Méthodes

Problématique et démarche de l'étude

L'amélioration de la durabilité des modes de consommation alimentaire en Méditerranée est une priorité essentielle pour la transmission d'habitudes culinaires traditionnelles et pour la préservation de la biodiversité et des ressources naturelles. L'alimentation tunisienne préserve, mais dans une faible mesure ses caractéristiques méditerranéennes ; Il est donc intéressant d'étudier la contribution des aliments traditionnels aux apports recommandés en nutriments d'intérêts en santé publique. Les différents mécanismes mis en jeu dans la préparation de ces plats, peuvent affecter leur valeur nutritionnelle ainsi que la biodisponibilité des nutriments. Une étude pour évaluer les effets des procédés culinaires sur la valeur nutritionnelle est nécessaire afin d'apprécier l'apport réel en nutriments d'intérêt des plats traditionnels les plus fréquemment consommés en Tunisie.

Le projet MEDINA, dans lequel s'inscrit cette thèse, a eu pour objectif la promotion des systèmes d'alimentations durables conciliant sécurité alimentaire et nutritionnelle et bonne santé des populations méditerranéennes. L'objectif spécifique du projet consiste à évaluer le potentiel nutritionnel des systèmes alimentaires observés dans la métropole du Grand Tunis et la région rurale de Sidi Bouzid en Tunisie. Cette région rurale traditionnelle a été choisie comme site d'étude pour sa biodiversité agricole (espèces cultivables et sauvages) qui est alliée à un fort taux de retard de croissance et une déficience en fer et en zinc.

Dans ce travail de thèse, nous avons cherché à identifier les plats locaux traditionnels qui sont susceptibles de contribuer d'une manière intéressante à la couverture des apports recommandés en micronutriments en menant des suivis de recettes sur terrain à Sidi Bouzid et sur le Grand Tunis en Tunisie. Quatre plats ont été sélectionnés (la mloukhiya, la bahthoula, le couscous au fenouil sauvage et le ragoût aux petits pois) et ont fait l'objet d'une caractérisation de la valeur nutritionnelle.

Dans le chapitre II de ce mémoire, nous détaillons les protocoles d'étude suivis lors de l'identification des plats locaux traditionnels et les suivis de recettes élaborés sur le terrain. Ensuite, un système de profilage a été utilisé pour la détermination du profil nutritionnel des quatre plats. Parmi ces plats, deux ont fait l'objet d'une caractérisation plus précise visant à déterminer l'effet des procédés culinaires (trempage, cuisson...) sur leurs teneurs réelles en minéraux, vitamine B9, sucres et a-galactosides, fibres solubles et insolubles, composés phénoliques, phytates et sur la biodisponibilité des minéraux.

1 Suivis de recettes dans la région de Sidi Bouzid et Tunis en Tunisie : Caractérisation des plats à fort potentiel nutritionnel et leur contribution à la couverture des besoins nutritionnels

Les suivis de recettes ont été réalisés par une étudiante en Master de l'université de Montpellier France (Bthissam Elhadradi) et moi-même pendant un mois et demi sur le site d'étude à Sidi Bouzid.

Dans chaque ménage, le suivi a consisté en l'administration d'un questionnaire portant sur les caractéristiques principales du ménage et les pratiques alimentaires antérieures de la famille, et en un suivi de recette. Une description précise des modalités de préparation de ces plats au niveau des ménages (composition en ingrédients, les traitements culinaires utilisés) mais aussi une caractérisation de leur valeur nutritionnelle ont permis d'évaluer plus efficacement les intérêts nutritionnels de ces aliments.

1.1 Description de la zone d'étude

Les suivis sur le terrain ont été élaborés en avril-mai 2014 sur le Grand Tunis et dans 5 des 12 délégations du gouvernorat de Sidi Bouzid qui sont situées dans la zone Nord et Est : Jelma, Sidi Bouzid Est, Ouled Haffouz, Regueb et Mknassy (Annexe 2).

1.2 Préparation de l'étude et validation du questionnaire

Des focus groups ont été menés afin de tester la faisabilité de l'étude et identifier des recettes potentiellement intéressantes à suivre. Des femmes de différentes classes sociales ont été choisies et ont été invitées à désigner un habitant du quartier pour aider à la prise de rendez-vous avec les familles. Au total, 18 suivis de recettes ont été effectués chez 10 personnes

ressources différentes. Un court questionnaire a permis d'identifier les recettes à étudier (Annexe 3).

1.3 Choix des plats

L'identification des plats s'est basé sur les fréquences de consommation, les préférences et la spécificité de ces plats dans la région. Il nous est apparu important de sélectionner parmi ces plats ceux qui étaient susceptibles de contribuer d'une manière la plus intéressante à la couverture des apports recommandés en micronutriments.

- Le premier plat, incorporant une plante spontanée de la région (couscous au fenouil sauvage), a été identifié comme étant un plat traditionnel préféré et consommé fréquemment par les habitants de Sidi Bouzid. Le fenouil sauvage est un légume traditionnellement utilisé qui pousse à l'état sauvage et est facilement disponible car il n'exige aucune culture formelle. Du fait que la plupart des légumes feuilles traditionnels sont saisonniers, il n'est pas disponible toute l'année et sa consommation est étroitement liée à la saison des pluies en zone rurale.
- Le second plat retenu est la Bahthoula. Les raisons de ce choix sont des raisons de santé et d'équilibre alimentaire puisqu'il est à base de légumineuses (pois chiche, féverole, fèves sèches, fenugrec, lentilles), céréale (petits plombs) avec un apport en protéine animale (anchois séché ou sardine séché, ou bien poulpe séché).
- Le troisième plat choisi est la Mloukhya, une sauce à base de feuilles de corète séchées et moulues finement, elle est complétée de viande de jeune dromadaire ou de bœuf voire de tripes. Ce plat est apprécié mais consommé occasionnellement et n'est pas spécifique à cette région.
- Le quatrième plat est le ragoût de petits pois, il a été choisi en raison de sa fréquence de consommation.

Afin d'estimer la variabilité et la diversité des modes de préparation des plats, chaque plat a été suivi plusieurs fois chez des personnes différentes. Quatre suivis de recettes ont été réalisés pour le couscous au fenouil sauvage, ainsi que pour le ragoût au petits pois et pour la Bahthoula. Il y a eu six suivis de recettes pour la Mloukhya, trois à Sidi Bouzid et trois à Tunis en évidence d'éventuelles différences de la préparation culinaire entre milieux urbain et rural.

1.4 Observations, déroulement du suivi de recette et collecte des échantillons

Le suivi de recette a été réalisé auprès de la mère de famille dans les ménages sélectionnés. Tous les suivis de recette ont été réalisés en se basant sur le même protocole ayant pour but de mesurer et recueillir les informations suivantes : soumettre la personne ressource à un questionnaire sur les modalités de consommation du plat cuisiné (Annexe 4); noter tous les ingrédients utilisés, leur provenance, les peser et noter leur masse avant et après parage ; relever tous les ustensiles utilisés ; noter l'heure du début et de la fin de la préparation du plat ; noter l'heure et l'ordre d'ajouts des ingrédients lors de la réalisation du plat ; relever les ajouts d'eau et leurs quantités ; enregistrer la température de cuisson durant toute la durée du traitement thermique ; noter la masse du plat après cuisson ; peser la masse d'une portion de plat, telle que servie par la cuisinière et finalement prélever des échantillons des matières premières et des plats avant et après cuisson.

Une description précise des modalités de préparation de ces plats au niveau des ménages mais aussi une caractérisation de leur valeur nutritionnelle ont permis d'évaluer plus efficacement l'intérêt nutritionnel de ces aliments.

1.5 Protocoles d'études des suivis d'observation des modes de préparation des plats fréquemment consommés par les habitants de Sidi Bouzid

Pour chaque suivi, une fiche de suivi de recette a été réalisée, détaillant tous les éléments répondant au protocole (Annexe 4 : exemple de fiche de suivi de recette). Les comptes rendus incluent la composition du ménage, les ingrédients et matériels (ingrédients majoritaires, trempage des ingrédients, épices et condiments, eau ajoutée dans la préparation de la recette, ustensiles, durée de préparation de la recette, masses des plats et des portions consommées), les principales étapes de préparation et le diagramme de préparation de chaque recette (Annexe 5) sont des exemples des diagrammes de fabrication élaborés).

Les différents composants de plat recensés ont été regroupés en tenant compte, d'une part, de la forme sous laquelle ils ont été consommés et, d'autre part, de la nature de leur ingrédient principal déterminé sur la base de sa contribution à la matière sèche du plat.

Le traitement de toutes les données recueillies a permis de caractériser les plats, de mettre en évidence la diversité de leur mode de préparation et la variabilité de leur composition. Une recette moyenne a été établie (Annexe 6) pour chaque plat ainsi que son diagramme de préparation pour pouvoir reproduire la recette (Annexe 5).

1.6 Caractérisation de la valeur nutritionnelle des plats : détermination du profil nutritionnel SAIN et LIM des plats

Le système SAIN et LIM a été développé par Darmon & Darmon (Darmon and Darmon, 2008) et adapté dans le groupe de travail de l'ANSES (agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) ex-AFSSA dans le cadre de l'application du règlement européen sur les allégations. Ce système appartient à la catégorie des systèmes de profilage nutritionnels transversaux. Il est constitué de deux scores :

le SAIN ou score d'adéquation individuel aux recommandations nutritionnelles et le LIM ou score des nutriments à limiter (Tableau 8). Dans le système SAIN et LIM une base de calcul mixte a été choisie (par 100 kcal pour le SAIN et par 100 g pour le LIM) ce qui permet de valoriser les aliments de faible densité énergétique et de densité nutritionnelle élevée.

Tableau 8. Définitions des indicateurs SAIN LIM et les méthodes de calcul (AFSSA, 2008).

	SAIN	LIM
Définition	Le SAIN est le pourcentage moyen de couverture, pour un aliment, des recommandations nutritionnelles en plusieurs nutriments qualifiants.	Le LIM est le pourcentage moyen de dépassement, pour un aliment, de plusieurs nutriments disqualifiants.
Base de référence	Les apports nutritionnels conseillés (ANC) ou les besoins nutritionnels moyens (BNM).	Les recommandations nutritionnelles.
Base de calcul	100 kcal	100 g
Formule	$\text{SAIN} = \frac{\left(\frac{\text{Nut}_1}{\text{ANC}_1} + \frac{\text{Nut}_2}{\text{ANC}_2} + \dots + \frac{\text{Nut}_i}{\text{ANC}_i} \right) * 100}{n} * 100$	$\text{LIM} = \frac{\left(\frac{\text{Dis}_1}{\text{Max}_1} + \frac{\text{Dis}_2}{\text{Max}_2} + \dots + \frac{\text{Dis}_i}{\text{MAX}_i} \right)}{n} * 100$

n=nombre de nutriments.

DE=densité énergétique de l'aliment en Kcal/100 g.

Nuti=quantité du nutriment i dans 100 g d'aliment.

ANC_i= apport journalier recommandé pour le nutriment i exprimé dans la même unité que Nuti.

Disi= quantité du nutriment disqualifiant i dans 100 g d'aliment.

Maxi= apport journalier maximum recommandé pour le nutriment i, exprimé dans la même unité que Maxi.

Ce système, lancé par l'Agence Française de l'Alimentation Standard (AFSSA), permet de classer les aliments dans 4 classes de profil nutritionnel.

Les quatre zones (Figure 10) ainsi délimitées sont : le quadrant de SAIN élevé et faible LIM ou « Quadrant 1 : aliments à privilégier » ; le quadrant de faible SAIN et faible LIM ou le « Quadrant 2 : aliments neutres » ; le quadrant de SAIN élevé et de LIM élevé ou le « Quadrant 3 : aliments à consommer occasionnellement » et le quadrant de faible SAIN et de LIM élevé ou le « Quadrant 4 : aliments à limiter ».

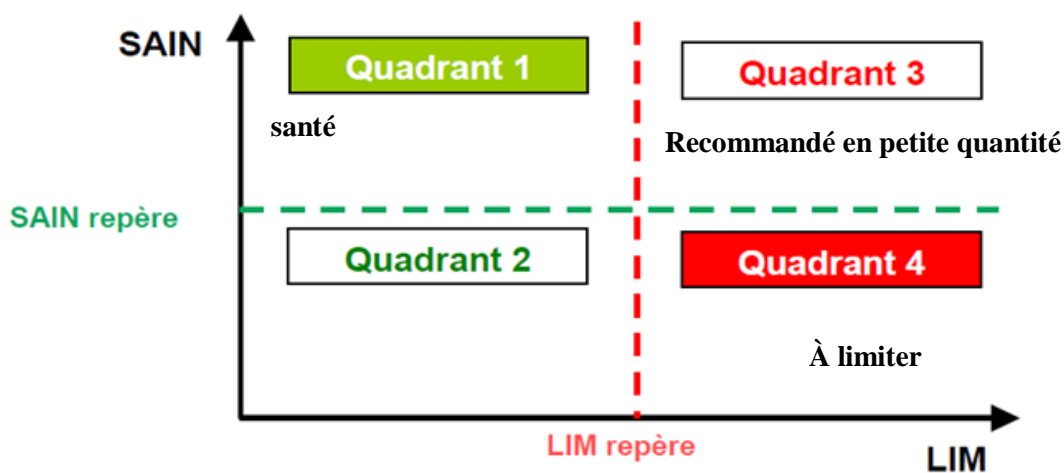


Figure 10. Représentation graphique du système SAIN et LIM et les quadrants de classification (AFSSA, 2008).

Choix des nutriments qualifiants et disqualifiants

Quatre formules de calcul de SAIN ont été testées dans la littérature (SAIN 5, SAIN 6, SAIN 16 et SAIN 23) (Darmon and Darmon, 2008). Elles se distinguent par le nombre total des nutriments choisis dans le calcul (Tableau 9). Les résultats de classification obtenus avec le SAIN 23 et le SAIN 16 sont identiques pour la majorité des aliments. Par contre l'utilisation du SAIN 16 par rapport au SAIN 6, permet de corriger certaines anomalies de classement du SAIN 6 concernant les fruits riches en glucide simple et les huiles riches en acides gras polyinsaturés. Le SAIN 6 permet également une meilleure prise en compte de la qualité nutritionnelle des poissons gras grâce à l'utilisation de la vitamine D. Le LIM est calculé à partir des teneurs des produits en acide gras saturés, en sucre ajouté et en sodium (Tableau 10).

Tableau 9. Nutriments de SAIN 5, SAIN 6, SAIN 16 et SAIN 23 et les ANC correspondants (Darmon and Darmon, 2008).

				Nutriments	Unité	ANC
SAIN 5	SAIN 6	SAIN 16	SAIN 23	Protéines	g	65
				Fibres	g	25
				Vitamine C	mg	110
				Calcium	mg	900
				Fer	mg	12,5
				Vitamine D	µg	5
				Acide α-linoléique	g	1,8
				Magnésium	g	390
				Potassium	mg	3100
				Zinc	mg	11
				Vitamine E	mg	12
				Thiamine (B1)	mg	1,2
				Riboflavine (B2)	mg	1,6
				Vitamine B6	mg	1,7
				Folates (B9)	µg	315
				DHA	g	0,11
				Vitamine A	µg	700
				Vitamine B3	mg	13
				Acide linoléique	g	9
				Vitamine B12	µg	2,4
				Cuivre	mg	1,8
				Iode	µg	150
				Sélénium	µg	55

Tableau 10. Les nutriments du LIM et les apports journaliers maximum recommandés (Darmon and Darmon, 2008).

Nutriments	Unité	Max
Acide gras saturé	g	22
Sucre ajouté	g	50
Sodium	mg	2365

Dans le but d'établir le profil nutritionnel des différents plats, la valeur nutritionnelle de chaque plat a été établie sur la base des 23 nutriments qui sont nécessaires pour calculer le SAIN et le LIM. Une table de composition qui indique les teneurs de ces 23 nutriments pour

les ingrédients utilisés pour la préparation du plat, a été élaborée au préalable. La teneur en nutriments est exprimée sur la base de 100 g de matière brute (MB). Ces données ont été recueillies et compilées à partir de plusieurs tables de composition des aliments qui sont : la table de composition des aliments tunisiens (2007), la table française du Ciqual (2013), la table allemande du Souci (2008), la table américaine USDA (2011) et enfin la table de compilation des données LaNutrition.fr (2014). Les données ont été recueillies en respectant cet ordre de préférence.

2 Caractérisation de la valeur nutritionnelle des plats

Cette étude porte sur l'évaluation de la qualité nutritionnelle, l'étude de l'effet des procédés culinaires (trempage, cuisson...) sur les nutriments d'intérêts, l'estimation de la biodisponibilité des minéraux seulement pour deux plats traditionnels sélectionnés parmi les quatre identifiés sur terrain. Les deux plats étudiés sont la Mloukhiya et la Bahthoula.

2.1 Matériels

2.1.1 Corète en poudre (*Corchorus olitorius*)

La poudre de corète a été achetée en septembre 2015 dans les marchés locaux en Tunisie (photo en annexe 7), localement appelée « Mloukhiya », ses caractéristiques ont été détaillées précédemment dans la partie bibliographique au paragraphe II.3.

2.1.2 Graines brutes de légumineuses

Les graines de légumineuses (lentilles (*Lens culinaris*), fèves (*Vicia faba* L. major), féverole (*Vicia faba* L. minor), fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*), pois chiche (*Cicer arietinum* L.)) étudiés dans le chapitre III.3 ont été achetés sur des marchés locaux en mai 2014 en Tunisie (photos en annexe 7).

2.1.3 Modes de préparation des graines de légumineuses

Les graines de légumineuses ont été triées manuellement pour enlever les impuretés, puis réparties en deux lots : les graines du premier lot ont été directement broyées en farines et celles du deuxième lot, mises à tremper dans l'eau.

2.2 Protocoles d'études

2.2.1 Etude des procédés culinaires pour la préparation des plats

2.2.1.1 Procédés de trempage

Une quantité de 100 g de chaque légumineuse (lentilles (*Lens culinaris*), fèves (*Vicia faba* L. major), féverole (*Vicia faba* L. minor), , pois chiche (*Cicer arietinum* L.)) a été trempée dans 400 mL d'eau en bouteille (un rapport de 1:4 (w/v)) sauf pour le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) dans 500 mL d'eau (un rapport de 1:5 (w/v)) à une température contrôlée de 25°C (à l'étuve) pendant 24 h. L'absorption de l'eau (l'augmentation de l'humidité) a été suivie à 1 h, 3 h, 6 h, 16 h et à la fin du trempage à 24 h, en notant le pH et la masse avant et après trempage. Les graines trempées ont été congelées, lyophilisées, puis broyées dans un broyeur de laboratoire (IKA M20, Labortechnik, Staufen, Germany broyeur).

Les eaux de trempage ont été récupérées pour la détermination de la teneur en matière sèche et le dosage des minéraux en question, les teneurs en phytates, en folates et en sucres (mono-di- et oligosides). Le trempage n'a pas été contrôlé ; la fermentation et la germination n'ont pas été bloquées. La méthode traditionnelle observée dans les ménages lors des suivis de recettes a été appliquée.

2.2.1.2 Procédés de cuisson des plats complexes

Les diagrammes de préparation des plats observés sur terrain ont été établis et donnés en figure (Annexe 5).

2.2.1.3 Préparation des échantillons

Après la détermination de la teneur en matière sèche des plats en cours de cuisson et à la fin de celle ci, les échantillons prélevés ont été congelés, lyophilisés et broyés afin d'avoir un échantillon homogène.

2.3 Méthodes analytiques

Tous les dosages ont été réalisés au sein de l'Unité mixte de recherche « Nutrition et Alimentation des Populations Aux Suds » (UMR Nutripass 204) de l'Institut de Recherche pour le Développement IRD Montpellier France, à l'exception de dosages des polyphénols et des flavonoïdes totaux qui ont été effectués au sein du laboratoire de Valorisation du Patrimoine Naturel et Agroalimentaire Tunisien par l'Innovation à l'Institut National Agronomique de Tunisie (INAT).

2.3.1 Dosages des nutriments

2.3.1.1 Minéraux

L'échantillon lyophilisé (0.5 g) a été placé dans un tube en téflon et a été minéralisé avec 1 mL de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et 7 mL d'acide nitrique concentré (HNO₃). Après une incubation de 30 minutes, les tubes ont été installés dans les réacteurs du microondes Ethos 1 microwave digester (Milestone, Sorisole, Italy) et ont été soumis à une digestion à 1200 W pendant une heure comme décrit par Hama et al. (2011b). Les extraits ont été récupérés ensuite dans des tubes coniques à jupe de 50 mL, les tubes ont été bien rincés avec de l'eau MilliQ afin de récupérer tout l'extrait et le volume a été complété ensuite jusqu'à 25 mL avec de l'eau MilliQ. Les extraits ont été stockés à température ambiante avant le dosage au spectrométrie d'émission optique avec plasma à couplage inductif en utilisant un ICP-OES 5100 (Agilent Technologies, Les Ulis, France). La justesse et la précision des analyses minérales ont été vérifiées en examinant les matériaux de référence certifiés (BCR 191: brown bread).

2.3.1.2 Fer héminique

Le dosage du fer héminique a été réalisé à l'aide d'une adaptation de la méthode décrite par (Lombardi-Boccia et al., 2002); Pourkhalili et al. (2013). Le fer héminique a été déterminé sur des échantillons de viande lyophilisés broyés. Les échantillons (0,5 g) ont été additionnés de 10 mL d'acétone acidifié (acétone/HCl 1,2 N, 80/20 : v/v), puis ont été agités avec le vortex ($v=7$) pendant 60 s (en mixant les tubes manuellement tous les 20 s). L'opération précédente a été renouvelée. L'extrait a été ensuite gardé à l'abri de la lumière pendant une heure. Après avoir centrifugé les extraits à 2200 g pendant 10 min, le surnageant a été filtré avec un filtre microfibre de verre (whatman GF/A) (Dim : 125 mm). La lecture de l'absorbance a été faite par spectrophotomètre (Shimadzu UV-1800) à 640 nm contre un blanc (le solvant). L'hématine porcine (Sigma H3281) a été utilisé comme référence (10 mg/100 mL acétone acidifié). La concentration en hématine dans les échantillons a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et convertie en fer héminique par l'équation suivante :

$$\text{Fer héminique (mg/ml)} = \text{Teneur en hématine (mg/ml)} * \text{MA/MM}$$

Où MA est la masse atomique du fer 56 (55,8 g/mol) et MM est la masse molaire d'hématine (633,5 g/mol). Les résultats ont été exprimés en mg/100 g MS.

2.3.1.3 Vitamine B9 (folates)

Les dosages de folates totaux ont été réalisés à l'aide d'une adaptation de la méthode microbiologique décrite par Kariluoto and Piironen (2009), avec les modifications suivantes. Après décongélation de l'échantillon, 0,5 à 1 g a été pesé dans un tube de centrifugation de 50 mL et 15 mL de tampon d'extraction ont été ajoutés (50 mM de tampon CHES/50 mM de tampon HEPES, 10 mM de 2-mercaptoéthanol, 2 % (p/v) d'ascorbate de sodium, pH 7,85). L'air présent dans les tubes a été chassé par de l'azote, puis les tubes ont été soigneusement vortexés. Les tubes ont été chauffés à 100°C pendant 10 min (et vortexés deux fois pendant les 10 min), puis refroidis dans de la glace. Le pH de chaque tube a été ajusté à 4,7 avant d'ajouter 1 mL d'une solution d' α -amylase (Sigma-Aldrich A9857, 20 mg/mL dans de l'ascorbate de sodium à 1 %) et 2 mL d'une solution de conjugase (préparée à partir de rein de porc lyophilisé, 5 mg/mL dans de l'eau Milli-Q). L'air des tubes a de nouveau été chassé par de l'azote et les tubes ont été incubés à 37°C pendant 3 h dans un bain-marie avec agitation, dans l'obscurité. A la fin de l'incubation, 2 mL d'une solution de protéase (Sigma-Aldrich P5147, 3 mg/mL dans de l'ascorbate de sodium à 1 %) ont été ajoutés à chaque tube. L'air des tubes a encore été chassé par de l'azote et les tubes ont été incubés pendant 1 h dans les mêmes conditions que l'incubation précédente. A la fin de l'incubation, les tubes ont été chauffés à 100 °C pendant 5 min pour inactiver les enzymes, puis refroidis dans de la glace. Après avoir vortexé les tubes, leur pH a été ajusté à 6,1 avec du KOH 1 M. Le volume de chaque tube a ensuite été complété à exactement 50 mL avec de l'ascorbate de sodium à 0,5 % (pH 6,1). La concentration en folates des extraits a été déterminée dans des microplaques de 96 puits à l'aide de la méthode décrite par Kariluoto and Piironen (2009). La souche *L. rhamnosus* ATCC7469 a été utilisée comme organisme indicateur de croissance, l'acide folique (Sigma-Aldrich, St Louis, MI, USA) comme calibrant pour les gammes étalons, et le milieu « Folic Acid Casei Medium » (Difco, Sparks, MD, USA) comme milieu de culture pour les dosages. La reproductibilité de la méthode a été évaluée en analysant un échantillon de référence certifié dans chacune des séries (BCR 121 farine complète, IRMM, Geel, Belgium). Un blanc réactif a été analysé pour chaque lot d'échantillon extrait. Les teneurs en folates obtenues sont la moyenne de trois réplicats d'extraction.

2.3.1.4 Sucres : mono-, di et α -galactooligosides

Les sucres sont extraits en pesant 80 mg d'échantillon dans des tubes d'extraction à vis de 10 mL. L'éthanol (3 mL) à 78 % (v/v) a été ajouté, puis après l'agitation au vortex les tubes ont été placés dans un bain-marie à 80°C pendant 20 minutes en agitant au bout de 10 minutes.

L'extrait a été centrifugé à 4500 rpm à 4°C pendant 15 min. Le surnageant a été transvasé dans un tube 13x100 mm spécial speed-vac. L'opération précédente a été renouvelée et le culot a été rincé ensuite avec 2 mL d'éthanol (sans chauffer), puis a été centrifugé et transvasé. Les 3 surnageants cumulés (8 mL) ont été mis à évaporer sous vide (Speedvac RC 10). L'extrait sec a été stocké à 4°C. Le dosage a été effectué par chromatographie ionique par échange d'anions avec détection par ampérométrie pulsée (HPAE-PAD) avec un système Thermo Scientific. Il est muni d'une pré-colonne CarboPac PA1 Guard Column (4 × 50 mm) et d'une colonne CarboPac PA1 Analytical Column (4 × 250 mm). La phase mobile est de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à 60mM. Le débit est de 1ml/min et le volume d'injection est de 30 µl. Les résultats sont exprimés en mg/100 g MS. Pour l'analyse avec l'HPAEC, il a été repris dans 1 à 2 mL d'H₂O avant injection (Baye et al., 2013a).

NB : Pour le dosage des alpha-galactosides dans les eaux de trempage, une prise d'essai de 2mL a été utilisée.

2.3.2 Dosages des facteurs antinutritionnels

2.3.2.1 Fibres

Les fibres alimentaires insolubles et solubles (IDF et SDF) ont été mesurées à l'aide du kit K-TDFR (Megazyme).

Un échantillon d'un g a été pesé dans un bécher de 400 mL, additionné de 40 mL de tampon MES 2(*N*-morpholino)ethanesulfonic acid/TRIS tris(hydroxyméthyl)aminométhane (0.05 M, pH 8,2) et agité jusqu'à dissolution complète afin de prévenir la formation de grumeaux qui pourraient rendre l'échantillon inaccessible aux enzymes. Ensuite, 50 µl d' α -amylase thermostable ont été ajoutés, afin d'obtenir la gélatinisation, l'hydrolyse et la dépolymérisation de l'amidon, tout en maintenant une agitation douce et incubé dans un bain-marie pendant 30 minutes à 96°C. Les béchers ont été refroidis à 60°C avant d'ajouter 100 µl de protéase (pour solubiliser et dépolymériser les protéines) et incubés à 60°C, sous agitation, pendant 30 minutes. Une vérification du pH est nécessaire après l'ajout de 5 mL de HCl 0,561 N entre 4,1 et 4,8. Après, 200 µl d'amyloglucosidase ont été ajoutés (pour hydrolyser les fragments d'amidon en glucose) et les béchers ont été incubés à nouveau à 60°C pendant 30 minutes.

○ **Fibres insolubles**

La solution enzymatique obtenue a été filtrée à travers le creuset contenant la célite. Le résidu a été lavé deux fois avec 10 mL d'eau distillée préchauffée à 70°C. Le filtrat et les eaux de

rinçage ont été utilisés par la suite pour la détermination des fibres solubles (SDF). Le résidu a été lavé deux fois avec 10 mL d'éthanol à 95 %, d'éthanol à 78 % et d'acétone. Les creusets contenant le résidu ont été séchés à l'étuve à 103°C pendant une nuit puis pesés. La masse de résidu est obtenue en soustrayant la valeur obtenue à la valeur initiale de la masse de creuset plus la célite.

○ **Fibres solubles**

Le bécher contenant le filtrat et les eaux de lavages des résidus IDF a été pesé puis 4 volumes d'éthanol à 95 % préchauffés à 60°C ont été ajoutés et laissé précipité une heure à température ambiante. Le digesta précipité a été filtré à travers le creuset. Le résidu a été lavé successivement avec 15 mL d'éthanol à 78 %, d'éthanol 95 % et d'acétone. Les creusets contenant le résidu ont été séchés pendant une nuit à 103°C et pesés. La masse de résidu a été obtenue en soustrayant la valeur obtenue à la valeur initiale de la masse de creuset plus la célite.

Les teneurs en protéines sur un des résidus a été déterminé par la méthode de Kjeldahl et la teneur en cendres sur l'autre résidu, par incinération pendant 5 heures à 525°C. La teneur en fibre IDF et SDF est la masse du résidu filtré et séché moins la masse de protéines et de cendres.

$$\text{Fibres (\%)} = \frac{[(R1+R2)/2]-p-A-B}{[(m1+m2)/2]} * 100$$

Avec :

m1 : masse 1 de l'échantillon et m2 : masse 2 de l'échantillon

R1 : masse du résidu 1 de m1 et R2 : masse du résidu 2 de m2

A : masse des cendres de R1

p : masse des protéines de R2

B : blanc, avec : $B = \frac{(BR1+BR2)}{2} - BP - BA$

BR= blancs sur les résidus

BA= blanc des cendres à partir de BR1

BP= blanc des protéines à partir de BR2

2.3.2.2 Polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été testée en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu selon la méthode basée sur la réduction d'un complexe de phosphowolframate-phosphomolybdate par des composés phénoliques aux produits de réaction bleu (Dewanto et al., 2002). L'extrait d'échantillon (0,125 mL) dilué a été ajouté à 0,5 mL d'eau distillée et à 0,125 mL du réactif Folin-Ciocalteu. Le mélange a été agité et laissé reposer pendant 6 minutes, avant l'addition de 1,25 mL de solution de NaCO₃ (7 %). Le volume final a ensuite été ajusté avec de l'eau distillée à un volume final de 3 mL et mélangé soigneusement. Après incubation dans l'obscurité pendant 90 min, l'absorbance a été lue à 760 nm contre un blanc. La teneur en polyphénols totaux a été exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique (EAG) par 100 gramme sur une base fraîche (mg GAE/100 g b.f.) à partir de la courbe d'étalonnage avec l'acide gallique (0-300 µg/mL). Tous les échantillons ont été analysés en trois exemplaires.

2.3.2.3 Flavonoïdes totales

La teneur en flavonoïde totale a été mesurée à l'aide d'une méthode colorimétrique basée sur la formation du complexe aluminium-flavonoïde (Dewanto et al., 2002). L'extrait d'échantillon dilué (0,25 mL) a été ajouté à 0,075 mL de solution de NaNO₂ (7 %) et agité pendant 6 minutes avant d'ajouter 0,15 mL de la solution de AlCl₃ fraîchement préparée (6HaO, 10 %). Après 5 minutes, 0,5 mL d'une solution de NaOH 1 mol/l a été ajoutée. Le volume final a été ajusté à 2,5 mL avec de l'eau distillée, bien mélangé et l'absorbance du mélange a été déterminée à 510 nm. La teneur en flavonoïde totale a été exprimée en mg d'équivalents de quercétine (EQ) par 100 gramme sur une base fraîche (mg EQ / 100 g b.f.), à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine (0-500 µg / ml). Tous les échantillons ont été analysés en trois exemplaires.

2.3.2.4 Galloyls et catéchols

Les composés phénoliques chélateurs du fer ont été analysés selon la méthode de Hallberg et al. (1991). Cette méthode est basée sur la capacité de l'ammonium sulfate ferrique (FAS) à former un complexe coloré avec les groupes galloyl et catéchol.

Les échantillons (50 mg) ont été mis en agitation pendant une nuit dans 5 mL de la solution diméthylformamide DMF (50 %) (70 mL de DMF avec 70 mL de tampon acétate de Na 0,1M pH 4,4). Après filtration sur filtre en microfibre de verre Whatman GF/A, 0,5 mL de filtrat a été mélangé à 2 mL de réactif A (267 mL de solution d'urée 50 %, 30 mL de solution de gomme arabique 1 %, 3 mL de solution de FAS 5 %) puis incubé à 30°C pendant 15 min. Les

composés phénoliques ont été analysés en ajoutant un réactif FAS et en mesurant l'absorbance des complexes Fe-galloyl à 680 nm et des complexes Fe-Catechol à 578 nm par spectrophotométrie (Shimadzu UV-1800) des échantillons, des 2 gammes étalons et des blancs échantillons contre un blanc-réactifs (0,5 mL de solution de DMF 50 % + 2 mL de réactif A sans fer). Les courbes étalons mesurées à 680 nm sont soustraites pour calculer les teneurs en groupements catéchol exprimés en équivalents catéchine et les courbes étalons mesurées à 578 nm sont soustraites pour calculer les teneurs en groupements galloyl exprimés en équivalents acide tannique. Les résultats pour les groupes galloyl et catéchol ont été exprimés en mg d'équivalents d'acide tannique (EAT) et équivalent de catéchine (EC) pour 100 g de matière sèche, respectivement.

2.3.2.5 Phytates

La teneur en acide phytique (IP6) a été déterminée par chromatographie d'échange ionique à haute performance (Dionex, Sunnyvale, CA, USA), après extraction par prélèvement dans HCl 0,5 M à 100 °C pendant 6 minutes, selon la méthode décrite par Baye et al. (2013a).

2.4 Evaluation de la bioaccessibilité *in vitro* du fer, zinc, calcium, magnésium et potassium

Les bioaccessibilités du fer, zinc, calcium, magnésium et potassium ont été estimées par leur digestibilité en conditions physiologiques simulées *in vitro* à l'aide d'une méthode dérivée de Miller et al. (1981b) avec des modifications proposées par différents auteurs dans des travaux plus récents de Wolfgor et al. (2002a). La procédure consistant en trois étapes de digestion (buccale, gastrique et intestinale) a déjà été décrite par Icard-Vernière et al. (2015).

2.4.1 Digestion buccale

Des échantillons de 50 g ont été homogénéisés avec de l'eau ultrapure jusqu'à 16 g / 100 g de matière sèche dans des flacons en verre. Une amylase bactérienne (10 µl) a été ajoutée et les échantillons ont été incubés pendant 10 minutes.

2.4.2 Digestion gastrique

Pour imiter l'étape de digestion gastrique, le pH a été ajusté à 2,0 avec une solution de HCl 6M, avant d'ajouter 1 mL de solution de pepsine. Cette valeur de pH n'est pas représentative du pH physiologique, qui est probablement très hétérogène au niveau de l'estomac, mais correspond à celle habituellement appliquée pour les simulations de digestion *in vitro*. Le

mélange a été incubé à 37°C dans un bain marie à agitation pendant 30 min (Icard-Vernière et al., 2015).

2.4.3 Digestion intestinale

Le pH des digesta gastriques est augmenté à environ 4,5 avec du tampon PIPES (piperazineN, N'-bis-[acide 2-ethanesulfonique]) 0,15 mM, avant l'ajout de 5 mL de solution de pancréatine extrait de bile (Wolfgor et al., 2002a). Le pH est ensuite ajusté à 7 avec le même tampon PIPES qui permet de limiter les variations de pH au cours de la digestion intestinale.

Après 2 heures de digestion intestinale, le contenu des sacs de dialyse, appelés dialysats, a été recueilli. Les mélanges digérés restant dans les tubes ont été centrifugés à 26 000 g pendant 15 min à 4°C pour séparer les fractions minérales insolubles et solubles de dialysat et du surnageant, respectivement (Icard-Vernière et al., 2015).

2.4.4 Dosage des minéraux

Les teneurs en minéraux (Fe, Zn, Ca, K et Mg) de chaque dialysat et surnageant ont été analysées en triple, afin de déterminer la fraction minérale dialysable, soluble mais non dialysable (SND) et insoluble, respectivement. Ainsi, la somme de ces trois fractions devrait être égale au minéral total dans l'échantillon avant la digestion. Chaque fraction a été calculée sur la base du minéral total récupéré à la fin de la digestion Icard-Vernière et al. (2015). La fraction dialysable est considérée comme bioaccessible. Les expériences ont été effectuées en quadruple et les résultats ont été calculés en moyenne et exprimés en pourcentage du minéral total dans les aliments et en concentration minérale en $\mu\text{g} / 100 \text{ g}$ (Icard-Vernière et al., 2015).

2.5 Prédiction de la biodisponibilité des minéraux

2.5.1 Prédiction de l'absorption de fer non hémérique par l'équation de Hallberg & Hulthén

La méthode utilisée pour prédire l'absorption de fer non hémérique était basée sur l'équation proposée par Hallberg and Hulthén (2000). Cette équation est basée sur la valeur de l'absorption de fer (par rapport à 40 % de l'absorption de la dose de référence de fer) à partir d'un seul repas constitué de farine de blé à faible extraction qui ne contient aucun inhibiteur ni activateur de l'absorption du fer. La valeur de base (22.1) est ensuite multipliée par des facteurs exprimant l'effet de différents composants alimentaires présents dans le repas qui

influent l'absorption du fer: phytate, polyphénols, calcium, acide ascorbique, viande animale (viande rouge, volaille, poisson et fruits de mer) et Alcool comme suit:

$$\% \text{ absorption fer} = 22.1 * f_1 * f_2 * f_3 * f_4 * f_5$$

Pour chaque facteur, Hallberg and Hulthén (2000) ont proposé des équations pour les effets et les interactions de f1, f2, f3, f4, f5 impliquant le phytate (Phytate-P exprimé en phosphore phytate), l'acide ascorbique (AA), les polyphénols (acide tannique équivalent en AT en mg), calcium (Ca) et facteur de viande (y compris la viande rouge, la volaille, le poisson et les fruits de mer, M), respectivement. Tous les composants alimentaires sauf la viande ont été exprimés en mg et la viande en g par repas, pour une portion de 100 g de plat.

Les équations des facteurs sont:

- $f_1 : 10^{-0.30 \log(1 + \text{phytate-P})}$ (1)

- $f_2 : [1 + 0.01 \text{ AA} + \log(\text{phytate-P} + 1)] * 0.01 * 10^{0.8875 * \log(\text{AA} + 1)}$ (2)

- $f_3 : (1 + 0.01M) * 10^{0.4515 - [0.715 - 0.1825 * \log(1 + \text{AA})] * \log(1 + \text{TA})}$ (3)

- $f_4 : 0.4081 + [0.6059 / 1 + 10^{-(2.022 - \log(\text{Ca} + 1) * 2.919)}]$ (4)

- $f_5 : 1 + 0.00628 * M * [1 + 0.006 \text{ phytate-P}]$ (5)

2.5.2 Prédiction de l'absorption du zinc et du calcium par les rapports molaires [phytate] / [minéraux]

La biodisponibilité du calcium et du zinc a été prédite en calculant les rapports molaires phytate / calcium, phytate / zinc et phytate x Ca / Zn, en utilisant les valeurs suils déclarées de 0,17, 18 (Gibson et al., 2010) et 200 (Kwun and Kwon, 2000) respectivement.

3 Analyses statistiques

Sauf indication contraire, les dosages ont été réalisés en triple et les données présentées sont les moyennes de ces trois déterminations + écart-types (ET). Les moyennes obtenues après différents traitements ont été comparées par analyse de variance à un facteur (ANOVA) en utilisant le test de Tuckey pour une comparaison par paire à un niveau de signification de 0,05. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS.

Chapitre III. Résultats

1 Identification et caractérisation des plats sources en micronutriments consommés en Tunisie: détermination du profil nutritionnel en utilisant le système SAIN LIM

1.1 Introduction

L'augmentation de la prévalence des maladies liées à l'alimentation est un problème de santé publique dans toutes les régions du monde. L'état nutritionnel dénote une situation préoccupante en Tunisie. Ainsi, l'anémie essentiellement carencielle touche surtout les femmes en âge de procréer et les jeunes enfants et reste encore un problème de santé publique en Tunisie. Au niveau régional et pour ces deux groupes cibles, toutes les régions sont affectées par ce trouble nutritionnel avec une légère prédominance dans les régions du Sud (INNTA and UNICEF, 2002). La conduite de travaux visant à encourager la consommation d'aliments constituant de bonnes sources en micronutriments semble donc plus qu'opportune.

À ce jour, le besoin de plus de données nutritionnelles sur les aliments cuits et les plats composés en Tunisie a émergé, à côté d'une lacune marquée dans les informations sur la composition. Il y a peu de données dans la littérature qui prennent en compte les formulations alimentaires complexes (ingrédients, préparations, mode de cuisson...) sur les propriétés nutritionnelles des plats composés.

Cette partie de l'étude vise à présenter les résultats des suivis de recette réalisés en Tunisie dans la région de Sidi Bouzid et Grand Tunis auprès de 10 ménages. A partir des résultats, l'objectif était d'identifier les plats locaux riches en micronutriments d'intérêts les plus fréquemment consommés et à évaluer leur contribution à la couverture des apports journaliers recommandés en nutriments d'intérêts. Les plats à base de légumes-feuilles et de légumineuses sont parmi les aliments riches en micronutriments les plus consommés, mais leurs teneurs sont variables en fonction des modes de préparation (cuisson et formulation).

Le suivi au niveau des ménages des procédés traditionnels de préparation des plats, a permis de décrire les procédés et d'identifier les traitements thermiques appliqués aux différents ingrédients (légume-feuille, légumineuse, céréale,...) comme des étapes critiques.

Pour améliorer la valeur nutritionnelle de ces plats, il est utile de caractériser l'influence des étapes critiques de la préparation des plats sur les teneurs en ces micronutriments. Les suivis de préparation des plats traditionnels à base de légumes-feuilles et de légumineuses ont donné lieu à la rédaction de fiches recettes (Annexe 4).

Une recette moyenne a été établie (Annexe 6) pour chaque plat ainsi que son diagramme de préparation pour pouvoir reproduire la recette. Les diagrammes de préparation des plats observés sur terrain ont été établis et donnés en figure (Annexe 5). Les échantillons de plats collectés et des matières premières correspondantes ont fait l'objet d'analyses de composition nutritionnelle.

Il est fréquent que la caractérisation des nutriments et la valeur nutritionnelle des aliments cuits et en particulier des matrices alimentaires complexes soient obtenues indirectement par des procédures de calcul spécifiques. Les valeurs nutritives des matrices complexes et des plats composés ont souvent été calculées en fonction de la teneur en éléments nutritifs de chaque ingrédient, en tenant compte des différents traitements thermiques et en utilisant certains facteurs de correction et de rétention afin de mettre en évidence la variabilité des préparations de la même recette dans le régime alimentaire tunisien. Des facteurs de rétention des éléments nutritifs, fournissant ainsi des «estimations plus ou moins représentatives» des caractéristiques nutritionnelles de la recette considérée sont disponibles pour chaque type de produit alimentaire et selon le mode de cuisson.

Dans ce contexte, le profilage nutritionnel défini par l'OMS (2010a) comme « la science permettant de classer les aliments en fonction de leur composition nutritionnelle et en vue de promouvoir la santé et prévenir les maladies » est un outil de choix dans la mise en œuvre de politiques de santé publique visant à influencer positivement les choix alimentaires (Tharreja et al., 2017). L'originalité du système SAIN et LIM repose sur le développement d'une représentation visuelle des indicateurs sur le même plan. Cette représentation graphique permet de positionner les aliments en fonction de leur composition en nutriments qualifiants et disqualifiants. Elle répartit les aliments dans 4 quadrants (Figure 10 matériels et méthodes), délimités par les valeurs repères de SAIN et de LIM. Pour le SAIN la valeur optimale correspond à la couverture totale des besoins énergétiques soit 100 % dans 2000 kcal. Rapportée à 100 kcal cette valeur optimale calculée est de 5. Pour le LIM (seuil maximal à ne pas dépasser, correspondant à l'atteinte des apports maximaux recommandés pour les nutriments pris en compte), un bol alimentaire journalier de 1340 g a été considéré. Cette valeur correspond à la moyenne des ingesta journaliers (hors boissons non énergétiques et boissons alcoolisées). Rapportée à 100 g dans le calcul du LIM 3, cette valeur maximale est de 7,5 % (100/1340). Conformément à l'hypothèse sous-jacente aux lignes directrices alimentaires, les régimes alimentaires sains étaient actuellement définis comme des régimes répondant à un ensemble de recommandations nutritionnelles et la possibilité de les concevoir

à partir d'aliments provenant d'une seule classe de profil nutritif donnée a été testée. La possibilité de concevoir des régimes malsains (définis comme des régimes remplissant un ensemble de contraintes nutritives en contradiction avec les recommandations) a également été testée (Darmon et al., 2009a).

L'objectif de cette étude était d'étudier le profil nutritionnel des aliments traditionnels consommés par les habitants de Sidi Bouzid et Grand Tunis en Tunisie, en utilisant le système SAIN et LIM et en examinant la cohérence entre le profil des éléments nutritifs et les recommandations. Ces résultats sont présentés de manière plus complète et détaillée dans l'article ci-après (§.1.2) intitulé : «Identifying Sustainable Mediterranean foods in Tunisia: determination of nutritional profile, using SAIN-LIM system and their environmental impact». Cet article est en préparation pour soumission au journal «Frontiers in Nutrition». En complément, les résultats de l'étude de l'effet des procédés de transformation alimentaire sur la valeur nutritionnelle et les scores des plats traditionnels tunisiens seront présentés et discutés au paragraphe 1.3.

Résumé des principaux résultats

Dans le but de promouvoir la consommation des aliments durables, cette étude a été menée pour identifier les plats traditionnels tunisiens et étudier leurs profils nutritionnels.

Des suivis de recettes ont été réalisés sur terrain pour collecter des informations sur la préparation des plats traditionnels (formulation, procédés culinaires...). Le profil nutritionnel a été élaboré par le système SAIN-LIM. Les indicateurs de l'impact environnemental (gaz à effet de serre, l'empreinte hydrique, surface) ont été étudiés.

Les plats les plus fréquemment consommés identifiés étaient le couscous au fenouil sauvage, le ragoût aux petits pois, la mloukhiya (préparée avec la poudre des feuilles de corète et la viande) et la bahthoula à base de légumineuses (pois chiche, lentille, fève, féverole et fenugrec). Les quatre plats étudiés présentaient un bon profil nutritionnel ; ils étaient placés dans le quadrant SAIN-LIM avec un SAIN supérieur à 5 et un LIM inférieur à 7,5. Parmi ces quatre plats, la bahthoula avait le meilleur profil nutritionnel, en raison de la combinaison de cinq légumineuses méditerranéennes (fenugrec, lentille, pois chiche, fève et féverole), du blé dur (la mhamsa) et des anchois séchés. La mloukhiya, était comparable en terme de SAIN 23, cependant, le LIM était le plus élevé à cause d'une teneur importante d'acides gras saturés (provenant de la viande et d'huile) et de sel. Le ragoût aux petits pois, occupait une place importante étant donné l'utilisation d'un mélange de légumes (petit pois, cardon, cœur d'artichaut), légume (fèves fraîches) et légume-feuille (épinard). Le couscous au fenouil sauvage possédait le SAIN 23 le moins élevé par rapport aux autres plats. La comparaison des suivis de la même recette a révélé que le score SAIN 23 variait d'une observation à une autre, en raison de la variabilité de formulation (la nature et la quantité des ingrédients utilisés) ainsi que les différents modes de cuisson utilisés (cuisson à l'eau, cuisson à la vapeur, cuisson à feu vif (rissoler), blanchiment...).

L'étude des indicateurs de l'impact environnemental (gaz à effet de serre, l'empreinte hydrique, surface) a montré que les plats incorporant des produits animaux (la viande bovine, viande d'agneau) comme la mloukhiya et le ragoût aux petit pois présentaient un impact plus important sur l'environnement que le couscous au fenouil sauvage et la bahthoula (qui se caractérisait par l'impact le moins important).

Résultats

Les quatre plats étudiés présentaient un bon profil nutritionnel selon les résultats des scores SAIN et LIM. Globalement, la bahthoula à base de cinq légumineuses méditerranéennes, était le plat le plus intéressant, présentant une compatibilité entre les deux dimensions des aliments durables ; l'adéquation nutritionnelle et un moindre impact environnemental.

1.2 Publication (project): Identifying sustainable Mediterranean foods in Tunisia: determination of nutritional profile using SAIN-LIM system and their environmental impact

**Identifying sustainable food in Tunisia: determination of their
nutritional profile using SAIN-LIM system and their environmental
impact**

Sondos Njoumi^{a,b}, Marie-Josèphe Amiot^c, Carole Sinfort^d, Nicole Darmon^c, Bthissam El-Hadrati^b, Sihem Bellagha^a, Claire Mouquet-Rivier^b

Draft

^a PATIO, UR17AGR01 INAT, Univ. Carthage, Tunis, Tunisia.

^b NUTRIPASS, IRD, Univ. Montpellier, SupAgro, Montpellier, France.

^c MOISA, Univ. Montpellier, CIRAD, CIHEAM-IAAM, INRA, SupAgro, Montpellier, France.

^d ELSA Group, ITAP, SupAgro, Irstea, Univ Montpellier, Montpellier, France

Abstract

Foods consumption patterns are undergoing substantial changes. Promoting the consumption of traditional dishes is befitted to enhance nutrition quality among urban and rural households. The present study was performed to identify sustainable foods and to determine the nutritional profile of traditional Mediterranean Tunisian dishes.

To get a better knowledge on the consumption of traditional dishes, focus group discussions were conducted. Information was gathered on recipes and the culinary practices of dishes in order to determine their nutrient composition. Each recipe was followed-up in regard to its nutritional composition. The whole nutritional profiles of recipes were determined by using the SAIN and LIM scores. The environmental impacts were evaluated by using indicators (ie, greenhouse gas emissions, [GHG], land occupation and the blue water footprint of animal and plant products).

A traditional dish, based on different legumes and vegetables, named bahthoula, had the best nutrient profile and the lowest environmental impact than the other collected recipes. Dishes incorporating red meat displayed the strongest influence on environment.

Nutrient profiles and environmental may help to guide dietary choices towards more sustainable traditional dishes and recipes in promoting healthy eating in Mediterranean area.

Keywords: Tunisian dishes, recipes, nutritional profile, SAIN-LIM, environmental impact

1. Introduction

In recent years, the Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO (2010) has developed a series of activities on sustainable diets, focusing on biodiversity, with the aim of promoting a broader appreciation of the links among local food products, nutrition, food security and sustainable production. Sustainable diets, as defined by the FAO, need to combine environment, nutrition, and affordability dimensions. During the last decade, the debate about strengthening the links between food, health, and environment, is gaining increasing intensity (Freibauer et al., 2011) to build more sustainable food systems at regional level and face the globalization. In the Mediterranean pyramid as redesigned by Bach-Faig et al. (2011), the consumption of local seasonal produce and traditional dishes was encouraged. The new pyramid has enhanced respect for biodiversity, which is known to be particularly rich in the Mediterranean basin by providing a multitude of native species as ingredients of nutritional interest in the preparation of traditional dishes. Traditional foods are considered to be consumed locally or regionally for many generations. Preparation methods of local specialties have been passed down from generation to generation (Padilla, 2008a). There is a lack of knowledge on their whole nutritional profile and their environmental impact.

Nutrient profiling is a scientific method for assessing the nutritional quality of food and beverage items (AFSSA, 2008; WHO and IASO, 2010). The concept of nutrient profile implies that it is possible to discriminate between foods based on their contribution to a healthy diet according to their nutrient contents only (Darmon et al., 2009b). The profiling system currently used is SAIN-LIM. The SAIN and the LIM respectively synthesize the healthy and unhealthy aspects of each food and the system allows the allocation of each food into one of four different classes: 1. Recommended for health; 2. neutral; 3. recommended in small quantities or occasionally; 4. consumption should be limited (AFSSA, 2008; Darmon et al., 2009b).

Within the framework of the “Medina” project (<https://www6.inra.fr/medina>), the present study aims to promote sustainable food systems in the Mediterranean (Verger et al., 2018). This study was therefore carried out with the main objectives of (i) characterizing the recipes of dishes and the methods of preparing in urban and rural areas of Tunisia, (ii) investigating the nutritional profile of selected traditional dishes by the SAIN-LIM nutritional profile, (iii) identifying dishes which could provide sources of the micronutrients for which deficiencies

have been frequently observed in Tunisia and (iv) evaluating the environmental impact of selected dishes.

2. Materials and methods

2.1. Food consumption survey methodology

2.1.1. Study area, focus group and data collection

The survey was carried out in April-May 2014 in 10 families residing in the “Grand Tunis” Metropolis and the rural region of Sidi Bouzid in Tunisia. Field surveys were carried out in 5 of the 12 delegations of Sidi Bouzid governorate located in the North and East zones: Jelma, Sidi Bouzid East, Ouled Haffouz, Regueb and Meknassy. Focus group discussions were conducted in the selected communities and it comprised small groups of about 6–8 adult women selected. Each session lasted for 30–60 minutes. Discussions allowed to determine commonly consumed traditional dishes and to document the variations in recipes of each traditional dish and their preparation modes. The recipients were monitored with the cook in 10 selected households.

2.1.2. Follow-up of the preparation of traditional dishes and sampling

All recipes were followed up using the same protocol to measure and collect the information: submit to the resource person the consumption questionnaire for the cooked dish; note all the ingredients used, their origin, weigh them and record their mass before and after trimming; identify all utensils used; record the start and end time of the dish preparation; note the order of the ingredients added and the time; record all water additions and quantities; record the cooking temperature throughout the heat treatment; note the mass of the dish after cooking; weigh the mass of a portion of the dish consumed, as prepared by the cook, and finally take samples of the raw materials and dishes before and after cooking.

In order to estimate the variability and diversity of the preparation methods of the dishes, each dish was followed several times in different households. Four recipes were followed for couscous with wild fennel, as well as for peas stew and bahthoula. There were six follow-ups of recipes of mloukhiya, three in Sidi Bouzid and three in Tunis to discriminate differences between a rural and an urban region.

For each follow-up, a recipe tracking sheet was produced, detailing all the elements that responded to the recipe tracking protocol. Reports included ingredients and materials, the method of preparation, the quantity served per person and the preparation diagram of each recipe.

2.2. Nutrient profiling of foods

The nutrient profile of each food was calculated by using SAIN-LIM system developed by Darmon and Darmon (2008). This system evaluates the capacity of a food product to meet the nutritional needs and not to exceed the recommended maximum intake in disqualifying nutrients. It is based on 2 indicators: the SAIN score is linked to nutrient density, based on qualifying nutrients, and the LIM score is based on disqualifying nutrients. SAIN is calculated by the unweighted arithmetic mean of the percentage adequacy for the food positive nutrients (proteins, vitamins...). The selection of the number of nutrients, from 5 to 23, is a trade-off between the desire to have a complete model including nutrients of public health importance and the need for a manageable number of nutrients. The SAIN score includes n (5 or 23) positive nutrients and is calculated as follows (equation 1).

$$\text{SAIN} = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{\text{Nut}_i}{\text{RV}_i} * 100}{n} * 100 \quad (1)$$

Where Nut_i, is the quantity (g, mg or µg) of the positive nutrient i in 100 g of food, RV_i, is the daily recommended value for nutrient i and E is the energy (kcal) in 100 g of food. The nutrients included in the SAIN 5 were proteins, fiber, ascorbic acid, calcium and iron. In addition to these 5 basic nutrients, optional nutrients were also used.

Nutrient values were taken from the Tunisian food composition table (El-Ati et al., 2007) in priority, USDA table, Ciqual table, Souci table, LaNutrition.fr or experimental data.

The score LIM calculates the mean content in disqualifying nutrients (sodium, saturated fatty acids and added sugars) (equation 2).

$$\text{LIM} = \frac{\sum_{j=1}^3 \frac{\text{Nut}_j}{\text{MRV}_j}}{3} * 100 \quad (2)$$

Where Nut_j is the quantity of disqualifying nutrient j in 100g of food and MRV_j , the daily maximal recommended value for nutrient j . A SAIN value superior to 5 indicates a good nutrient density, taking into consideration an optimum value of 100% in 2000 kcal of food (reference daily energy intake). This optimum was therefore equivalent to 5% for 100 kcal of food. The LIM score is calculated for 100 g of food and the maximal recommended values are based on food intake rather than energy intake. An upper-limit value for LIM of 100% in 1330 g (mean daily food intake) is also defined. This threshold corresponds to 7.5% for 100 g of food. These two limits enable the representation of the SAIN-LIM coordinates of a food into 4 classes: recommended, neutral, to limit and to avoid (Darmon et al., 2009).

2.3. Environment impact indicators

- **Greenhouse gas emissions**

The emission of greenhouse gases (GHG) is an indicator for global warming potential. In order to estimate the GHG emissions associated with different foods, life cycle assessments (LCAs) were performed using Agri-footprint. GHG emissions are produced at all stages of products' life cycle, including agriculture, food production, processing, packaging, storage, transport, retailing, preparation, consumption and waste – but there is limited detailed and accurate data on each of these stages for individual food commodities (Macdiarmid et al., 2011; van-de-Kamp et al., 2018).

Besides GHG emissions (often referred to as the carbon footprint) there are other environmental impacts including water use, biodiversity and land use. Attempts to meet GHG emission targets from the food chain must not be made in isolation because any dietary recommendations to reduce GHG emissions must also meet dietary requirements for the health of the population (Macdiarmid et al., 2011).

- **The water footprint of animals and crops**

The water footprint definition and methodology was followed as set out in (Mekonnen and Hoekstra, 2012). The blue water footprint refers to the loss of water from the available ground-surface water body in a catchment area. Losses occur when water evaporates, returns to another catchment area or the sea or is incorporated into a product. The blue water footprint of crop production and animals in Tunisia were estimated following respectively the calculation framework of Mekonnen and Hoekstra (2011) and Mekonnen and Hoekstra (2012).

- **Surface**

With regards livestock production, land occupation assessment requires specific accountings of the agricultural surfaces occupied for producing animal feed and/or surfaces used for grazing (FAOSTAT, 2011).

2.4. Statistical analysis

Data were analyzed using the SPSS software, version 24.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL).

3. Results and discussion

3.1. Data Collection: selection of traditional Tunisian composite dishes

Information on the consumption of four traditional dishes of interest is reported in Table 11. The frequently eaten dishes were selected: couscous with wild fennel, incorporating a wild leafy vegetable of the region, the peas stew; bahthoula based on legumes (chickpea, faba bean, Egyptian faba bean, fenugreek and lentil) with animal protein (dried anchovy or dried sardine or dried octopus), and mloukhiya, which is prepared by mixing the powder of dried leaves of *Corchorus olitorius* with meat (most often of beef). Mloukhiya is widely consumed in Tunisia and can be considered as a national dish commonly dedicated for religious events.

The ingredients used in the preparation of the dishes in Sidi Bouzid are generally derived from the own production of the households whereas in Tunis they are mainly bought on the market. Recipes varied greatly in the nature and quantity of the ingredients used and the methods of preparation (Table 11), including mechanical treatments (grinding, cutting, etc.) and thermal (cooking, bleaching, and frying). The survey allowed gathering information on the portion sizes (Table 12).

3.2. Classification of Tunisian dishes with the SAIN-LIM system

The nutrient profiles of the four traditional Tunisian dishes were calculated using food ingredient composition from food composition tables, proportions of ingredients, and processing yield, providing a significant contribution to the knowledge of food composition in this country. The four composite dishes were represented on a log-log plot based on the SAIN-LIM (Figure 11). All selected dishes displayed a good nutritional profile because they were mainly scored in class 1 with a SAIN above 5 and a LIM below 7.5. Among the four dishes, bahthoula had the best nutritional profile due to the combination of five Mediterranean legumes (fenugreek, faba bean, lentil, chickpea and Egyptian faba bean) and durum wheat (Mhamsa). The mloukhiya dish, based on jute, was comparable in terms of SAIN score but its

LIM score was the highest due to the higher contents of saturated fatty acids (provided both by meat and oil) and the high salt content with bread consumption. Peas stew, also class 1, occupied an important place considering the use of a mixture of vegetables (peas, cardoon, artichoke heart), legume (faba bean) and leaf vegetable (spinach). The couscous with wild fennel (*Foeniculum vulgare*) had a favourable profile (class1) but with a lower SAIN than others dishes. The wild fennel used had a great contribution to potassium, sodium, phosphorus and calcium recommendations (Badgajar et al., 2014).

Table 11. Summary of major ingredients and cooking time of average recipes

		Couscous with wild fennel			Peas stew			Bahthoula			Mloukhiya						
Amount of ingredients per 100 g of final dish (g)	Ingredients	Moy	Min	Max	Ingredients	Moy	Min	Max	Ingredients	Moy	Min	Max	Ingredients	Moy	Min	Max	
		Wheat semolina	28.4 ± 6.9	20	34	Peas	24 ± 4.7	19	28	Legumes	12.9 ± 3.9	8.2	16.5	Jute powder	8.6 ± 1.7	6.8	11.4
		Fennel	24.5 ± 3.4	21	29	Artichokes or cardoons	7.5 ± 5.2	0	11	Durum wheat semolina	8.3 ± 6.5	2.3	16.5	/	/	/	/
		/	/	/	/	Meat	27.7 ± 14.7	22	34	Dry fish	1.5 ± 1.3	1.2	3.2	Meat	28.8 ± 14	15.1	49.1
		Green onions	6.4 ± 4.6	5	12.7	Green onions	4.3 ± 3	2	7	Green onions	1.5 ± 1.2	1.3	3.0	Green onions	0.8 ± 0.9	1.2	1.9
		Olive oil	8.4 ± 1.7	6.8	10.3	Olive oil	6.8 ± 2.2	4	9	Olive or corn oil	1.4 ± 1.1	0.3	2.8	Olive or corn oil	19.7 ± 4.5	13.4	20.2
		Salt	0.7 ± 0.3	0.4	1	Salt	0.3 ± 0.2	0.2	0.5	Salt	0.5 ± 0.2	0.4	0.4	Salt	0.3 ± 0.2	0.03	0.6
		Water	40.7 ± 11.7	27.4	53.8	Water	70.5 ± 34.8	30	100	Water	105 ± 40	75.3	75.3	Water	193 ± 71	137	312
Cooking time (min)	Couscous	24.8 ± 2.1	23	27													
	Funnel	46.5 ± 21.3	18	69	Dish	98 ± 30.2	59	130	Dish	71.3 ± 47	46	121	Dish	203 ± 67.9	142	324	
	Sauce	29.5 ± 18.6	14	54													

Table 12. DM content, average portion and energy value of Tunisian dishes.

	DM%			Average portion (g)			Energy kcal /	Energy
	Mean value	Min value	Max value	Mean value	Min value	Max value	100 g dish	kcal / portion
Couscous with wild fennel	36.4 ± 4.4	30.4	40.4	284 ± 66.7	221	350	146 ± 21	414 ± 59
Peas stew	25.9 ± 4.7	19.6	30.8	295 ± 59.5	226	332	145 ± 39	428 ± 116
Bahthoula	24.3 ± 7.1	17.3	33.8	296 ± 30.4	261	318	108 ± 38	320 ± 112
Mloukhiya	34.0 ± 5.6	27.5	38.9	254 ± 29.7	226	285	218 ± 33	553 ± 84
Mloukhiya (M) + Bread (B)	44.6 ± 3.0	40.3	47.8	127 (M) + 127 (B) ± 29.7	113 (M) + 113 (B)	142 (M) + 142 (B)	237 ± 22	601 ± 56

Tunisian dishes with the most favourable profile were those with a high content of ingredients typical of the traditional Mediterranean diet. In particular, leafy vegetables and legumes were predominant in Tunisian composite dishes.

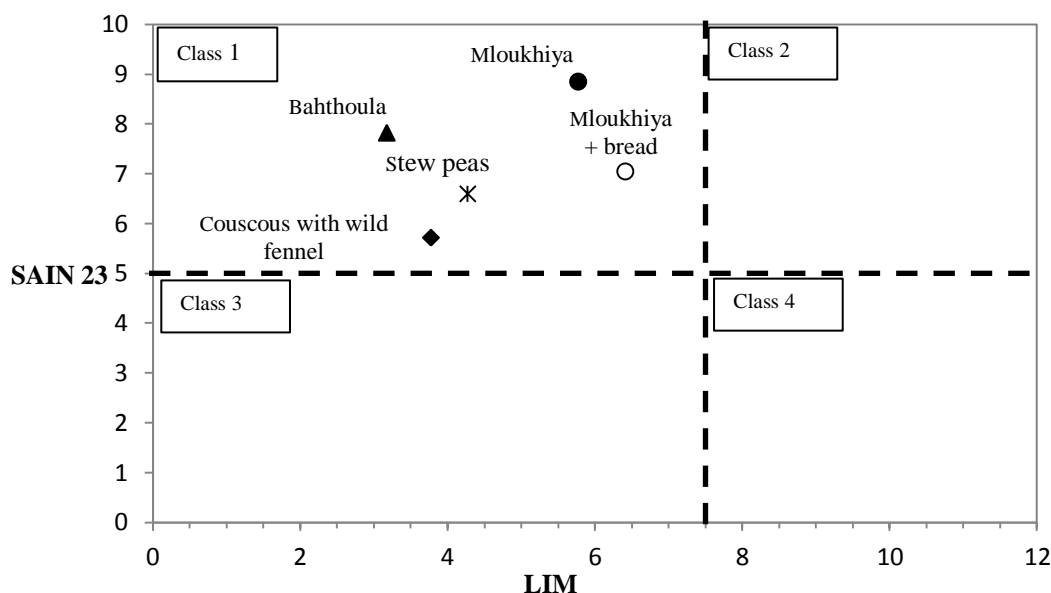


Figure 11. Classification of follow-up recipes with the SAIN-LIM system and their position within the 4 nutrient profile classes.

Comparison of the follow-ups of the same recipe revealed that the SAIN score varied from one observation to another, due to the variability of the same recipe preparation, implying the nature and quantities of the ingredients used (Figure 12). The variation in the ingredient composition of the different recipe follow-up resulted in noticeable differences in the SAIN and LIM scores. Indeed, for mloukhiya dish, the follow-up 5 revealed the highest SAIN 23 scores compared to other follow-ups. Since it contained an important quantity of jute (35 g/100 g DM dish), providing a high amount of fibers, proteins, calcium, vitamin C and iron. Concerning follow-up 1, LIM 3 was the highest due to the high amount of added salt.

The follow-up 3 of bahthoula dish (Figure 12) was the least interesting in terms of SAIN 23 scores; the preparation did not contain dried fish like the other follow-ups, it contained lamb meat which has more saturated fat and lower contents in vitamins (Vitamins A, B2, B3, B6 and E) and minerals (K, Mg, Fe, Ca), omega 6 fatty acid and proteins (El-Ati et al., 2007). Follow-up 1 and 4 had the highest SAIN 23 score probably because of the use of dry faba bean as an ingredient (high content of calcium, fibers and proteins).

Follow-up 1 of peas stew had the highest score 23 (Figure 12), probably because of the addition of wild cardoon (*Cynara cardunculus*) as an ingredient, which is rich in minerals (Mg, K) and vitamin B9 and also spinach which is rich in vitamins (vit C, A and B9) and minerals (calcium, iron, Mg and K) (El-Ati et al., 2007).

Couscous prepared with wild fennel had a low LIM varying between the 4 follow-ups and a high SAIN which also varied. The amount of salt used in the F2 was important which led to a high LIM 3. The quantity of wild fennel used in F3 was a key ingredient providing more vitamin C, fiber, calcium and iron (El-Ati et al., 2007).

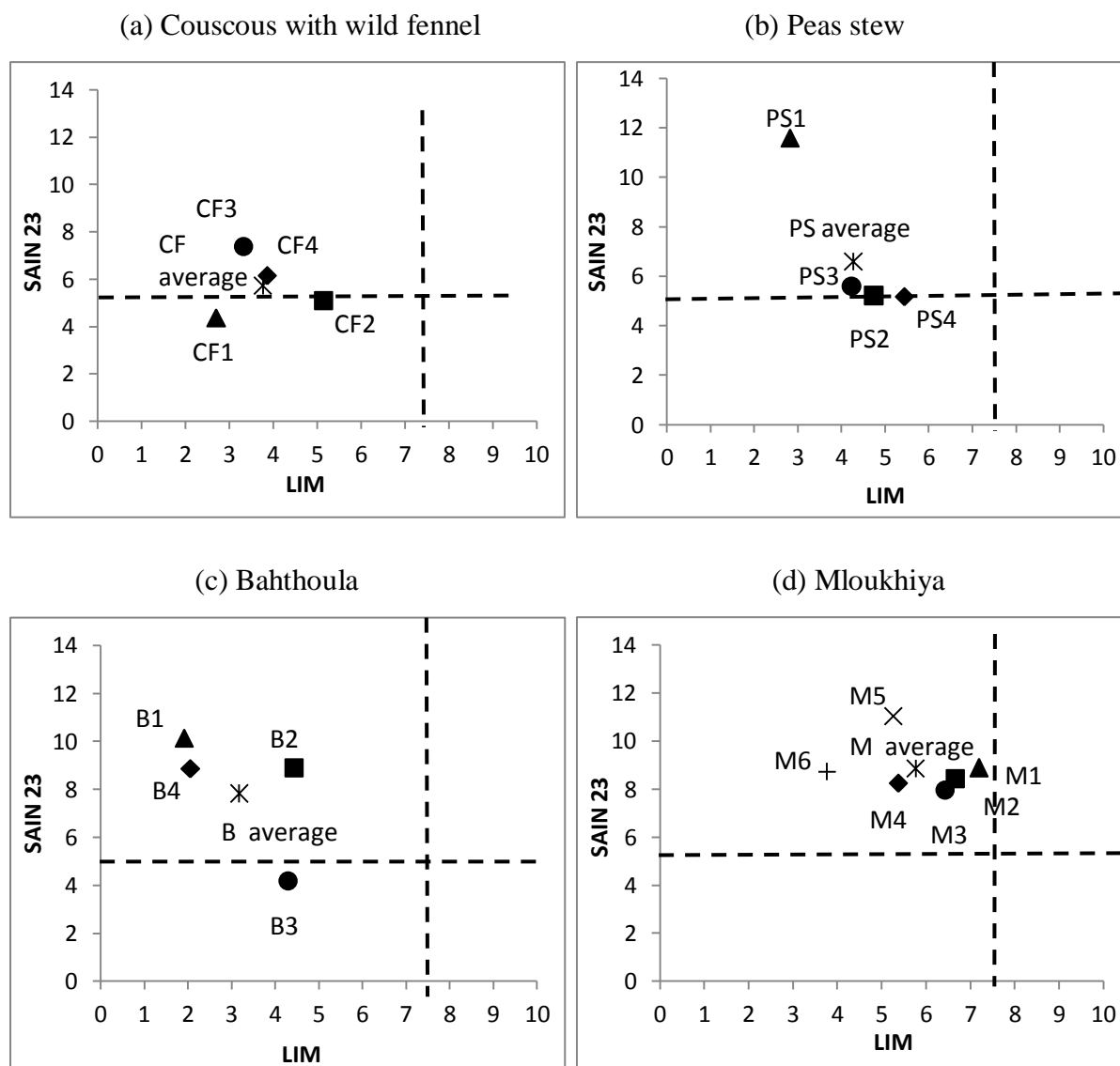


Figure 12. Classification of follow-up recipes with the SAIN-LIM system and their position within the 4 nutrient profiles classes.

As previously shown for Lebanese dishes (Issa et al., 2009), traditional Tunisian dishes displayed a good nutritional profile (Figure 13). Our study enhanced the good nutritional profiles of the selected traditional Tunisian dishes compared with French dishes, because Tunisian dishes contain more plant ingredients, vegetables and legumes, than French ones.

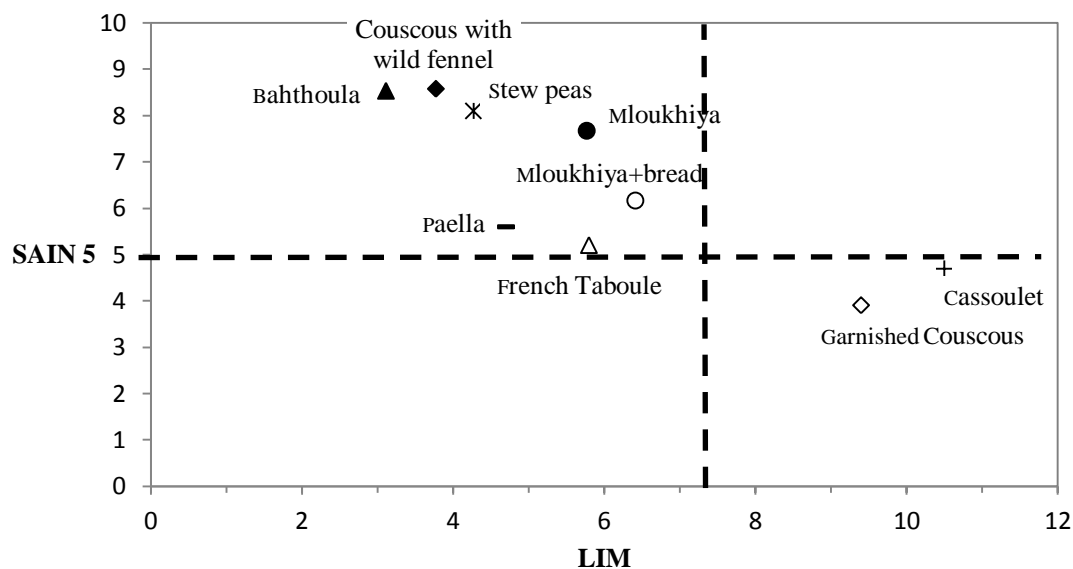


Figure 13. Comparative SAIN-LIM profile of Tunisian composite dishes and 4 frequently eaten composite dishes in France (paella, French taboulé, garnished couscous and cassoulet).

3.3. Environment impact indicators

The environmental impact indicators were highest for animal products (eg, beef and lamb meats) and to a lesser extent for crops products (legumes, jute, and durum wheat semolina) (Table 13).

Bahthoula, incorporating five legumes, was the dish that had the least environmental impact compared to other dishes, after it came the couscous, the peas stew and the mloukhiya. The latter dish, because of the use of a significant amount of meat and olive oil, had a very high environmental impact.

The study shows that the vegetarian meal (couscous with wild fennel) and bahthoula dish are associated with less environmental impact than meals with animal protein, wherein greenhouse gas emissions, was much lower; furthermore, concerning blue water footprint and land occupation, those dishes require less amount compared to the meals with animal protein (mloukhiya and peas stew). Land use is considerably lower for the vegetarian meals, simply

due to the fact that a large amount of vegetable is needed to produce animal. It is more efficient to directly eat grain legumes rather than first feed them to an animal that is later consumed. Hence, in this study, it proved much more environmentally beneficial to produce a fully vegetarian dish than to dish with meat.

Grain legumes' ability to fixate nitrogen from air means that only small, if any, nitrogen fertilizer is applied in the cultivation, which of course benefits the climate profile of these products. In general, the production of vegetables is associated with low emissions of climate gases. As for grains, the most significant aspects of GHG's sources are use of nitrogen fertilizers, as well as yield level (Sonesson et al., 2009).

The results from life cycle assessment studies generally indicate that vegetable products have lower impacts and resource use per kg compared to meat. Von-Witzke et al. (2011) have calculated the land footprint of the following dishes: (1) Hamburger with French fries and salad, (2) roast pork with red cabbage and potato dumplings, (3) chicken curry with rice and vegetables, (4) grilled sausage served with a bread roll, and (5) pasta with tomato sauce. They were able to show that meat dishes have a significantly larger land footprint than meatless dishes. In all meat dishes, the meat component accounted for considerably more than 50 % of the land footprint (Noleppa, 2012). Another study, by Davis et al. (2010), which compared meals with varying protein sources (similar content of protein, fat and energy), showed that a meal with a pea burger is associated with significantly less GHG's compared to a pork chop meal.

Improvement potentials for the different dishes looking at the results of the three impact categories, blue water use, land occupation, and GHG emissions can identify the importance of the investigations and potential actions to reduce the environmental impact. Further work is needed to explore the feasibility of exchanging meat with vegetable in processed meat foods.

Table 13. Environmental impact indicators of the traditional Tunisian composite dishes and their main ingredients.

Dishes	Main ingredients	BW (L/portion)	Surface (m²/portion)	GHG emissions (Kg CO²/portion)
Couscous with wild fennel		<i>44.9</i>	<i>1.65</i>	<i>188.9</i>
	Semolina	4.9	0.4	53.2
	Wild fennel	0.0	0.0	0.0
	Olive oil	37.0	0.8	52.4
Mloukhiya		<i>432.5</i>	<i>110.8</i>	<i>3423.0</i>
	Jute	0.4	0.02	48.5
	Beef meat	370.5	109.2	3130.9
	Olive oil	60.0	1.2	84.9
Bahthoula		<i>42.5</i>	<i>1.6</i>	<i>323.2</i>
	Legumes (faba bean, fenugreek, chickpea, lentil)	1.5	0.2	69.5
	Semolina	2.2	0.2	23.7
	Dried anchovies	0.1	0.0	39.5
	Olive oil	17.1	0.4	24.2
Peas stew		<i>158.6</i>	<i>153.9</i>	<i>1995.2</i>
	Peas	0.7	0.2	28.3
	Meat (average of lamb and beef meat)	114.0	152.8	1776.4
	Olive oil	31.2	0.6	44.1

BW, Blue Water

GHG, Greenhouse Gas

Conclusion

The present study provides the macronutrient and micronutrient contents of the 4 commonly consumed traditional composite dishes in Tunisia. All selected dishes displayed good nutritional profiles. The results of the three environmental impact indicators (blue water use, land occupation and GHG emissions) showed that the couscous with wild fennel and

bahthoula dish were associated with less environmental impact than meals with animal protein (mloukhiya and peas stew). Overall, bahthoula, based on five Mediterranean legumes, had a low environmental impact and a high nutritional quality, suggesting that the both dimensions of food sustainability could be compatible. In a context of nutritional transition in Mediterranean countries, SAIN-LIM is an interesting food profiling tool to valorise traditional Mediterranean dishes and improve them by modifying their recipes, to preserve culinary heritage and promote good nutrition and health.

Aknowledgements

The authors thank the “Agence Nationale de la Recherche” for its financial support (grant number ANR-12-TMED-0004).

References

- AFSSA (2008). Setting of nutrient profiles for accessing nutrition and health claims: proposals and arguments. pp. 83, France.
- Bach-Faig, A., Berry, E. M., Lairon, D., Reguant, J., Trichopoulou, A., Dernini, S., Medina, F. X., Battino, M., Belahsen, R., Miranda, G., and Serra-Majem, L. (2011). Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutrition* **14**, 2274–2284.
- Darmon, N., Vieux, F., Maillot, M., Volatier, J. L., and Martin, A. (2009). Nutrient profiles discriminate between foods according to their contribution to nutritionally adequate diets: a validation study using linear programming and the SAIN,LIM system. *American Journal of Clinical Nutrition* **89**, 1227–1236.
- Davis, J., Sonesson, U., Baumgartner, D. U., and Nemecek, T. (2010). Environmental impact of four meals with different protein sources: Case studies in Spain and Sweden. *Food Research International* **43**, 1874–1884.
- El-Ati, J., Béji, C., Farhat, A., Haddad, S., Cherif, S., Trabelsi, T., Danguir, J., Gaigi, S., Bihan, G. L., Landais, E., Duvernay, S. E., Maire, B., Delpeuch, F., and Rhidha, K. M. (2007). "Table de composition des aliments tunisiens," INNTA ; IRD, Tunis; Montpellier.
- FAO (2010). "International scientific symposium biodiversity and sustainable diets," Rome.
- FAOSTAT (2011). Statistical database. FAO.
- Freibauer, A., Mathijs, E., Brunori, G., Damianova, Z., Faroult, E., Gomis, J. G., O'Brien, L., and Treyer, S. (2011). "Sustainable food consumption and production in a resource-constrained world." European Comission/Research and Innovation/Food, Agriculture & Fisheries & Biotechnology, Brussels.

- Issa, C., Salameh, P., Batal, M., Vieux, F., Lairon, D., and Darmon, N. (2009). The nutrient profile of traditional Lebanese composite dishes: comparison with composite dishes consumed in France. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **60**, 285-295.
- Macdiarmid, J., Kyle, J., Horgan, G., Loe, J., Fyfe, C., Johnstone, A., and McNeill, G. (2011). "Livewell: a balance of healthy and sustainable food choices." Rowett institute of nutrition and health, United Kingdom.
- Mekonnen, M. M., and Hoekstra, A. Y. (2011). The green, blue and grey water footprint of crops and derived crop products. *Hydrology and Earth System Sciences* **15**, 1577–1600.
- Mekonnen, M. M., and Hoekstra, A. Y. (2012). A global assessment of the water footprint of farm animal products. *Ecosystems* **15**, 401–415.
- Noleppa, S. (2012). "Climate change on your plate." World Wildlife Fund.
- Padilla, M. (2008). Evolution des modèles de consommation méditerranéens In "Les futurs agricoles et alimentaires en Méditerranée " (P. d. S. Po, ed.), pp. 149-167. CIHEAM, Montpellier.
- Sonesson, U., Davis, J., and Ziegler, F. (2009). "Food production and emissions of greenhouse gases." SIK – the Swedish Institute for Food and Biotechnology, Sweden.
- van-de-Kamp, M. E., Seves, S. M., and Temme, E. H. M. (2018). Reducing GHG emissions while improving diet quality: exploring the potential of reduced meat, cheese and alcoholic and soft drinks consumption at specific moments during the day. *BMC Public Health* **18**, 264
- Verger, E. O., Perignon, M., J.El-Ati, Darmon, N., Dop, M. C., Drogué, S., Dury, S., Gaillard, C., Sinfort, C., Amiot, M. J., and Medina-Study-Group (2018). A "fork-to-farm" multi-scale approach to promote sustainable food systems for nutrition and health: A perspective for the Mediterranean region. *Frontiers in Nutrition* **5**, 30.
- Von-Witzke, H., Noleppa, S., and Zhirkova, I. (2011). "Fleisch frisst Land." Ernährung – Fleischkonsum – Flächenverbrauch, Berlin: WWF Deutschland.
- WHO, and IASO (2010). "Nutrient profiling ", London, United Kingdom.

1.3 Résultats complémentaires : Etude de l'effet des procédés de transformation alimentaire sur la valeur nutritionnelle et les scores des plats traditionnels tunisiens

La comparaison des scores SAIN 5 et SAIN 23 avant et après préparation (trempage, cuisson, blanchiment,...) (tableaux 14, 15, 16 et 17) a montré une diminution pour les 4 plats étudiés, tandis que les scores LIM restent inchangés après les procédés culinaires.

Au cours des procédés de transformation alimentaire, une perte de nutriments peut se produire en raison de phénomènes de diffusion (nutriments hydrosolubles tels que les minéraux ou les vitamines hydrosolubles) et d'hydrolyse enzymatique affectant la qualité nutritionnelle des aliments ou de dégradation thermique. Les résultats ont montré que les scores nutritionnels sont différents en fonction des transferts de masse et la dégradation thermique impliqués au cours des procédés. Les résultats donnent un aperçu de la capacité d'un traitement technologique à modifier la qualité nutritionnelle d'un aliment. Cette réduction variait entre les suivis de la même recette dénotant le rôle des facteurs de rétention appliqués selon le mode de cuisson utilisé (Bognár, 2002).

Sur un plan quantitatif, l'utilisation des scores SAIN et LIM suppose la prise en compte des transferts de masse mais aussi des évolutions des nutriments lors du traitement. La concentration de nutriment est prise en compte dans le score LIM exprimée sur une base massique. Par conséquent, un aliment transformé sera placé moins favorablement que le produit brut initial dans le système SAIN, LIM, ce qui semble justifié. Par conséquent, les deux bases de calcul des scores SAIN, LIM sont complémentaires.

La comparaison des suivis de la même recette a révélé que le score SAIN varie d'une observation à l'autre en fonction de la variabilité de préparation de la même recette, de la nature et de la quantité des ingrédients utilisés ainsi que des modes de cuisson appliqués (cuit à l'eau, cuit à la vapeur, rissolé, mijoté...).

Les diminutions de scores SAIN entre les plats crus et les plats cuits restent très faibles, dénotant des procédés de transformation relativement doux, et peu impactants sur la valeur nutritionnelle des plats.

Tableau 14. Scores SAIN LIM de la mloukhiya avant et après transformation pour 100 g de plat.

Suivis de recette	Plat cru			Plat cuit		
	LIM 3	SAIN 23	SAIN 5	LIM 3	SAIN 23	SAIN 5
Suivi 1	7,25	9,55	7,87	7,19	8,88	7,22
Suivi 2	6,69	9,05	7,83	6,66	8,43	7,15
Suivi 3	6,44	8,55	6,85	6,43	7,95	6,30
Suivi 4	5,40	8,84	7,78	5,38	8,24	7,04
Suivi 5	5,30	11,96	11,79	5,26	11,04	10,66
Suivi 6	3,77	9,39	8,71	3,77	8,72	7,88
Recette moyenne	5,79	9,52	8,43	5,77	8,85	7,67

Tableau 15. Score SAIN LIM de la bahthoula avant et après transformation alimentaire pour 100 g de plat.

Suivis de recette	Plat cru			Plat cuit		
	LIM 3	SAIN 23	SAIN 5	LIM 3	SAIN 23	SAIN 5
Suivi 1	1,95	10,69	11,96	1,92	10,13	11,62
Suivi 2	4,48	9,40	7,54	4,43	8,89	7,36
Suivi 3	4,34	4,46	5,07	4,29	4,18	4,80
Suivi 4	2,09	9,47	12,04	2,06	8,86	11,42
Recette moyenne	3,15	8,31	8,88	3,11	7,83	8,54

Tableau 16. Score SAIN LIM du ragoût aux petits pois avant et après transformation alimentaire pour 100 g de plat.

Suivis de recette	Plat cru			Plat cuit		
	LIM 3	SAIN 23	SAIN 5	LIM 3	SAIN 23	SAIN 5
Suivi 1	2,86	12,8	16,66	2,82	11,6	14,69
Suivi 2	4,78	5,6	6,74	4,74	5,2	6,13
Suivi 3	4,25	6,2	8,46	4,23	5,6	7,21
Suivi 4	5,48	5,7	6,87	5,44	5,2	5,92
Recette moyenne	4,31	7,2	9,23	4,27	6,7	8,10

Tableau 17. Score SAIN LIM du couscous au fenouil sauvage avant et après transformation alimentaire pour 100 g de plat.

Suivis de recette	Plat cru			Plat cuit		
	LIM 3	SAIN 23	SAIN 5	LIM 3	SAIN 23	SAIN 5
Suivi 1	2,75	4,83	8,10	2,71	4,37	7,04
Suivi 2	5,23	5,60	8,56	5,15	5,09	7,32
Suivi 3	3,38	8,22	13,26	3,33	7,38	11,09
Suivi 4	3,93	6,77	10,52	3,87	6,15	9,00
Recette moyenne	3,82	6,33	10,07	3,77	5,72	8,58

A l'issue des résultats de ce premier chapitre et la caractérisation nutritionnelle par le système de profilage nutritionnel SAIN-LIM, nous avons sélectionné, parmi les quatre plats étudiés, les deux qui ont eu les profils nutritionnels les plus intéressants et qui sont la bathoula et la mloukhiya (caractérisés avec le SAIN le plus fort). Ces deux plats ont fait ensuite l'objet d'une caractérisation nutritionnelle à partir d'analyses chimiques visant à déterminer l'effet des procédés culinaires (trempage, cuisson...) sur leurs teneurs en minéraux, vitamine B9, sucres et a-galactosides, fibres solubles et insolubles, composés phénoliques, phytates et sur la biodisponibilité des minéraux.

2 Effet de la cuisson sur le profil nutritionnel et la biodisponibilité des minéraux du plat traditionnel Mloukhiya

2.1 Introduction

Les plats à base de légumes-feuilles pourraient contribuer à améliorer l'apport en micronutriments des habitants de la région de Sidi Bouzid et du Grand Tunis en Tunisie. La caractérisation des aliments requiert une description fine de leur composition, insuffisante seule pour comprendre les liens entre composition et propriétés nutritionnelles. Ainsi est apparue la notion de matrice alimentaire, qui intègre à la fois la composition et les interactions entre les constituants. La connaissance des interactions de ces constituants permet une description de la matrice. Les nutriments ont la faculté d'entrer en compétition avec d'autres, d'inhiber ou de potentialiser les effets d'autres constituants présents dans l'aliment ; la matrice alimentaire influence le devenir digestif des nutriments (Fardet et al., 2013). Dans ce contexte, l'objectif de ce chapitre est de donner un aperçu de la diversité des matrices alimentaires et mieux comprendre l'effet de la composition de l'aliment sur la biodisponibilité des micronutriments.

La teneur en minéraux subit une réduction lors de la cuisson dans l'eau due à la lixiviation dans l'eau de cuisson (Hefnawy, 2011; Huma et al., 2008; Wang et al., 2009). En outre, la cuisson réduit de façon significative la teneur des facteurs antinutritionnels, tels que l'acide phytique et les polyphénols chélateurs, tout au moins leur fraction soluble (Duenas et al., 2016; Lestienne et al., 2005). La faible biodisponibilité des nutriments, résultant de la présence d'antinutriments tels que les phytates et les polyphénols, est un facteur qui pourrait limiter la qualité des plats à base de légumes feuilles (Hotz and Gibson, 2007).

La présente étude s'est focalisée sur l'effet de cuisson d'un plat traditionnel à base de corète sur les teneurs en minéraux (fer, zinc, calcium, magnésium et potassium), reconnus d'une grande importance pour la santé publique (FAO and WHO, 2004) et les différents composants agissant comme effecteurs de leur biodisponibilité. La bioaccessibilité des minéraux (Fe, Zn, Ca, Mg et K) de la sauce de la Mloukhiya a été évaluée avec un modèle gastro-intestinal *in vitro*. Les changements de bioaccessibilité des minéraux ont été expliqués par l'origine (plante vs animal) et la forme (hémunique vs non-hémunique) des minéraux, le contenu des composés améliorant l'absorption des minéraux et les inhibiteurs et leurs modifications au cours de la cuisson. Ces facteurs ont été utilisés dans les équations modèles disponibles dans la littérature

(Hallberg and Hulthén, 2000) pour prédire l'absorption des minéraux et pour estimer la contribution potentielle du plat à la couverture des apports recommandés en minéraux.

Ces résultats sont présentés de manière détaillée dans l'article ci-après (parag. 2.2.), actuellement publié dans le journal *Food Research International*. Des données complémentaires sur l'effet de la cuisson sur les sucres, les fibres solubles et insolubles les propriétés physicochimiques des mucilages de la Mloukhiya sont données dans le paragraphe 2.3.

Article accepté et publié

Njoumi S., Bellagha S., Icard-Vernière C., Picq C., Amiot M.J., Mouquet-Rivier C. (2018). Effects of cooking and food matrix on estimated bioavailability in Mloukhiya, a Mediterranean dish based on jute leaves and meat. *Food Research International*, 105, 233-240.

Communication orale

Njoumi S., Said, L., Amiot, M., Bellagha, S. (2015). Effect of two cooking methods on kinetics of polyphenol content, flavonoid content and color of a tunisian meal: Molokheiya (*Corchorus olitorius*). ICFPT: 17th International Conference on Food Processing and Technology. World Academy of Science, Engineering and Technology, International Science Index, Nutrition and Food Sciences, 2(8), 473.

Poster (Annexe 8)

Njoumi S., Said, L., Amiot, M., Bellagha, S. (2015). Kinetics of total polyphenol and total flavonoid variation in Tunisian *Corchorus olitorius* and in Molokheiya during two common domestic cooking methods. International Scientific Days of National Institute of Agronomy of Tunisia 2015 : From Traditional to Future trends in Food Technology, Tunis, 28-29 May 2016.

Poster (Annexe 9)

Njoumi S., Bellagha S., Icard-Vernière C., Amiot M.J., Mouquet-Rivier C. (2016). Evaluation de la teneur en fer et de sa biodisponibilité d'un plat traditionnel méditerranéen à base de corète. Journées Francophones de Nutrition, Montpellier, France, 30 novembre-2 décembre 2016.

Ce travail a été retenu comme communication sélectionnée dans la session orale « Les meilleurs posters en 90 secondes ».

Poster (Annexe 10)

Njoumi S., Bellagha S., Amiot M.J., Rochette I., Mouquet-Rivier C. (2016). Physicochemical properties of mucilages from Mloukhiya, a traditional Tunisian dish based on jute (*Corchorus olitorius*) powder. Fifth International Symposium Medicinal and Aromatic Plants SIPAM, Djerba, Tunisia, 16-18 décembre 2016.

Résumé des principaux résultats

Nous avons cherché à étudier l'impact du processus de cuisson sur la biodisponibilité des minéraux (fer, zinc, calcium, magnésium et potassium) dans la Mloukhiya, un plat traditionnel tunisien à base de jute.

Une recette de poudre de feuilles séchées de *Corchorus olitorius*, d'huile d'olive, de viande bovine, de concentré de tomates et d'épices, cuite jusqu'à 300 min. La teneur en minéraux (fer, zinc, calcium, magnésium et potassium) et la teneur de leurs chélateurs (polyphénols, phytate) dans la sauce ont été contrôlés ainsi que dans les morceaux de viande ont été suivis en tenant compte des échanges entre les deux compartiments. Une méthode *in vitro* incluant la digestion gastro-intestinale a été utilisée pour estimer la bioaccessibilité minérale. La fraction soluble (bioaccessible), insoluble et soluble non dialysable du calcium, fer, zinc, magnésium et potassium de la Mloukhiya ont été déterminées après digestion gastro-intestinale. L'équation modèle de Hallberg et Hulthén (2000) pour la prédiction de l'absorption du fer a également été utilisée en prenant en compte divers facteurs alimentaires (stimulateurs et inhibiteurs) influençant l'absorption du fer. Alors que la biodisponibilité du zinc et du calcium a été prédite en calculant les rapports molaires [phytate] / [zinc] et [phytate] / [Calcium].

Les résultats ont montré que les teneurs en Fe, Zn et K tendaient à augmenter dans la sauce de Mloukhiya pendant la cuisson contrairement aux teneurs de la viande, tandis que le Ca avait un comportement inverse et que le Mg ne changeait pas. La comparaison des échantillons de Mloukhiya collectés à différents moments de cuisson a montré que la teneur totale en minéraux du plat n'a pas changé malgré les échanges entre la sauce et la viande pendant la cuisson. Cependant, une partie du fer héminique s'est graduellement dégradée pendant la cuisson, représentant 42% du fer héminique initial à $t = 5h$. Ces pertes en fer héminique ont eu un impact négatif important sur la teneur en fer biodisponible de la Mloukhiya. Les polyphénols chélatants ont joué un rôle prépondérant sur la faible biodisponibilité du fer non héminique (1,2 %) dans la sauce, malgré leur dégradation importante lors de la cuisson. La bioaccessibilité des autres minéraux (zinc, calcium, magnésium et potassium) était élevée, indiquant un effet nul ou faible de la matrice alimentaire. De manière notable, les mesures de bioaccessibilité et l'absorption prédite ont montré des résultats similaires. Une portion de 100 g de Mloukhiya (68,8 g de sauce et 31,2 g de viande) fournirait successivement 0,11, 0,7, 52, 24 et 366 mg de fer, zinc, calcium, magnésium et potassium biodisponibles et couvrirait ainsi 5, 65, 17, 20 et 12 % des apports recommandés. En conclusion, la Mloukhiya semble être

riche en zinc et une bonne source de calcium et de magnésium présentant une bioaccessibilité élevée, à l'exception du fer qui présente une très faible biodisponibilité.

2.2 Publication : Effects of cooking and food matrix on estimated mineral bioavailability in Mloukhiya, a Mediterranean dish based on jute leaves and meat



Contents lists available at ScienceDirect

Food Research International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodres

Effects of cooking and food matrix on estimated mineral bioavailability in Mloukhiya, a Mediterranean dish based on jute leaves and meat



Sondos Njoumi^{a,b}, Sihem Bellagha^a, Christèle Icard-Vernière^b,
Christian Picq^b, Marie Josèphe Amiot^c, Claire Mouquet-Rivier^b

^a Valorisation du Patrimoine Naturel et Agroalimentaire Tunisien par l'Innovation, UR17AGR01 INAT, University of Carthage, Tunis, Tunisia

^b Nutripass, IRD, Univ. Montpellier, SupAgro, Montpellier, France

^c MOISA, CIRAD, CIHEAM-IAAM, INRA, SupAgro, Montpellier, France

Abstract:

Traditional Mediterranean plant-based dishes could allow tackling malnutrition while preserving the cultural heritage. To determine the effect of the cooking method on mineral bioavailability, the content in minerals and chelators of Mloukhiya, a Mediterranean dish based on jute leaves (*Corchorus olitorius*) that contains also meat, was monitored during the whole cooking process. Mineral bioaccessibility was assessed by measuring *in vitro* dialyzability. Model equation was also used to estimate mineral bioavailability. Comparison of Mloukhiya samples collected at different cooking time points showed that the dish total mineral content did not change despite the exchanges between sauce and meat during cooking. However, iron bioavailability decreased, because 58% of heme iron was degraded after 5h of cooking and non-heme iron showed poor bioaccessibility (1.2%), mainly due to its high content of phenolic compounds. The bioaccessibility of other minerals (zinc, calcium, magnesium and potassium) was high, indicating that the food matrix had no or little effect. The mineral bioavailability values predicted by using mathematical models were of the same order of magnitude as the bioaccessibility values.

Keywords: *Corchorus olitorius*, mineral bioaccessibility, mineral chelators, Mediterranean food.

1. Introduction

The Mediterranean diet is considered by UNESCO as an intangible cultural heritage and was selected by CIHEAM and FAO (2015) for the assessment of diet sustainability models. The traditional Mediterranean diet, mainly based on plants, has been recognized as a healthy dietary pattern (Sofi et al., 2013). Moreover, in the Mediterranean region, indigenous plants play a vital role in ensuring food security and nutrition, because they are dietary sources of calcium, iron, zinc, magnesium and potassium (CIHEAM and FAO, 2015; FAO and WHO, 2004). However, indigenous plants also contain phytates, oxalates and phenolic compounds that negatively affect the bioavailability of some nutrients, particularly minerals, by chelating them (Ndlovu and Afolayan, 2008; Tuntawiroon et al., 1991).

Jute or jew's mallow (*Corchorus olitorius*) is a leafy vegetable that is widely consumed in Mediterranean and Middle-Eastern countries, but also in South and South-East Asia, sub-Saharan Africa and South America (İlhan et al., 2007; Loumerem and Alercia, 2016). It is also used as a remedy against some chronic diseases (cancer, cardiovascular disease, obesity and other age-related diseases) and for dermatological applications (Yokoyama et al., 2014). In some West African cooking traditions, fresh or dried jute leaves are used to prepare a slimy sauce that is eaten with a cereal-based paste (Icard-Vernière et al., 2016). In Mediterranean countries, such as Egypt, Libya, Israel, etc., jute leaves are cooked with meat and spices in a typical dark dish called Mloukhiya or Mulukhiyah, according to the plant name in the local language. In Tunisia, this dish is widely consumed, particularly during religious events because of the long preparation time. Indeed, jute leaves are sun-dried and powdered before use (Mahbubul, 2013). Then, to prepare the dish, jute leaf powder is mixed with olive oil, tomato paste and spices into a sauce where big meat chunks are added and cooked for 3 to 5 hours. The dark green sauce simmers under low heating and thickens, reaching the final consistency of a tomato sauce.

Jute leaves are rich in iron, calcium, potassium and magnesium (Mahbubul, 2013; Ndlovu and Afolayan, 2008). They also contain large amounts of mucilaginous polysaccharides (i.e., polymers of rhamnose, glucose, galacturonic acid and glucuronic acid) (Yamazaki et al., 2009) that confer to jute-based dishes a typical slimy texture. Moreover, beef, the meat most often used in Mloukhiya, is one of the richest natural sources of bioavailable zinc (Goran et al., 2016). It is also considered to be one of the best sources of bioavailable iron thanks to its large proportion of heme iron. Thus, Mloukhiya is rich in minerals provided by the jute leaf powder and also the meat.

However, lack of knowledge on the preparation of traditional dishes and their nutritional value, particularly their micronutrient content, has resulted in their neglect. Within the framework of the “Medina” project (<http://www6.inra.fr/medina>), the aim of this work was to ensure qualitative food security in the Mediterranean countries, while preserving locally produced traditional Mediterranean foods (Bach-Faig et al., 2011) in the context of strong urbanization, food globalization and erosion of the traditional Mediterranean diet (CIHEAM, 2012). To this aim, it is important to provide data on nutrient content and bioaccessibility of such traditional dishes, as recently done for carotenoids in Mloukhiya (Dhuique-Mayer et al., 2016). The present study was performed i) to characterize the effect of the long cooking time on the content of iron, zinc, calcium, potassium and magnesium, which are minerals of great public health importance (FAO and WHO, 2004), and of various compounds that can increase or reduce the bioavailability of these minerals; ii) to determine the mineral bioaccessibility in the Mloukhiya dish, using an *in vitro* system to mimic gastrointestinal digestion; and iii) to use model equations to further predict the mineral intestinal absorption and finally iv) to estimate the dish potential contribution to the recommended daily mineral intakes.

2. Materials and Methods

2.1. Experimental preparation of Mloukhiya based on the traditional Tunisian recipe

An average recipe and a standard preparation procedure were derived from six Mloukhiya preparations observed in Tunisian households. First, 50g jute leaf powder was mixed with 100g olive oil in a large saucepan to form a homogeneous mixture. Then, 300 mL of boiling demineralized water was added while stirring vigorously, followed by the other ingredients: 180g beef meat cut into regular chunks, 2.6g tomato paste and spices (2.5g caraway-coriander, 0.7g black pepper powder, 1.5g red pepper powder and 1.8g salt), leading to a thick and highly mucilaginous sauce.

The preparation was simmered on a hot plate for 5 hours at boiling temperature. To characterize the texture changes due to mucilage swelling, the dry matter (DM) content was maintained at 33% during cooking by adding water to compensate for water evaporation. Mloukhiya samples were collected every 30 minutes during the 5 hours of cooking. Samples (raw and at different cooking stages) were freeze-dried and kept at -18°C until analysis.

2.2. *Physical-chemical analyses*

A PicoVACQ Temperature platinum sensor (TMI Orion) was used to measure the dish temperature during cooking. The apparent viscosity was measured with a Haake Viscotester VT550 rotational viscometer (Thermo Scientific, Karlsruhe) equipped with a SV-DIN measuring device thermostated at 25°C. The DM content was measured gravimetrically in triplicate, by drying in an oven at 105°C until constant weight (AOAC, 1995).

2.3. *Mineral determination*

The total iron, zinc, calcium, magnesium and potassium content was analyzed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) using an ICP-OES 5100 instrument (Agilent Technologies, Les Ulis, France) after wet mineralization of the freeze-dried samples with acid hydrogen peroxide (H₂O₂) and concentrated nitric acid (HNO₃), using an Ethos 1 microwave digestion system (Milestone, Sorisole, Italy). The closed vessels were placed in the microwave oven and digested at 1200 W for one hour as described by Hama et al. (2011b). A BCR® certified reference material (BCR 191, brown bread) was used as control for ICP-OES measurements.

2.4. *Heme iron*

Heme iron content was determined in freeze-dried and crushed meat samples according to the method described by Lombardi-Boccia et al. (2002) and Pourkhalili et al. (2013). Briefly, 0.5g of each sample was placed in 20 mL acidified acetone (acetone/1.2N HCl, 80/20:v/v), then stirred with a vortex to homogenize and improve the extraction. The mixture was then kept in the dark for one hour. After centrifugation of the extracts at 2 200 g at 4°C for 10min, supernatants were filtered using microfiber glass filters. The supernatant absorbance was read at 640 nm against a blank solution (Shimadzu UV-1800). Porcine hematin (Sigma H3281) was used as standard (10 mg in 100 mL acidified acetone) *to establish the calibration curve*. The samples' hematin concentration was calculated from the standard curve and converted into heme iron content using the following equation:

$$\text{Heme iron (mg/ml)} = \text{Hematin content (mg/ml)} * \text{AW/MW}$$

where AW is iron atomic weight (55.8g/mol) and MW is hematin molecular weight (633.5g/mol). Results were expressed in mg/100g DM.

2.5. Iron-binding phenolic compounds

Iron-binding phenolic compounds were analyzed using the method described by (Brune et al., 1991). This method is based on the ability of ferric ammonium sulfate (FAS) to form a colored complex with iron-binding galloyl and catechol groups. After extraction with dimethylformamide in acetate buffer, phenolic compounds were analyzed by adding FAS and measuring the absorbance of iron–galloyl complexes at 680 nm and iron–catechol complexes at 578 nm by spectrophotometry (Shimadzu UV-1800). Calibration curves were obtained using catechin (Sigma C1251) and tannic acid (Merck 1.00773.0250) as standards. Results for galloyl and catechol groups were expressed as mg tannic acid equivalent (TAE) and catechin equivalent (CE) per 100g DM, respectively.

2.6. Phytate content

The phytic acid (IP6) content was determined by high-performance anion-exchange chromatography (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) after sample extraction in 0.5M HCl at 100 °C for 6min, according to the method described by Baye et al. (2013a).

2.7. *In vitro* assessment of mineral bioaccessibility

Mineral bioaccessibility, defined as the fraction of mineral that is released from the food matrix into the gastrointestinal tract and thus becomes available for intestinal absorption (Fairweather-Tait et al., 2005), was determined by adapting an *in vitro* procedure described by Miller et al. (1981b) and modified by Wolfgor et al. (2002a). The procedure includes three digestion steps (oral, gastric and intestinal) and was previously detailed by Icard-Vernière et al. (2015). Mloukhiya sauce samples (50g) were homogenized with ultrapure water up to 16g/100g DM in glass flasks. Then, 10 µl bacterial amylase (oral digestion) was added and samples were incubated at 37°C in a shaking water bath for 10min. To mimic the gastric digestion step, pH was adjusted to 2.0 with 6M HCl and then 1 mL porcine pepsin was added. The resulting homogenates were incubated at 37°C in a shaking water bath for 30min. Intestinal digestion was performed in tubes containing dialysis bags. Dialyzable minerals diffused into the bags that contained piperazine-N,N'-bis-[2-ethanesulfonic acid] sodium salt (PIPES) buffer at a concentration that enabled to stabilize pH at 6.7. After 2 hours of intestinal digestion, the dialysis bag content, referred to as dialysate, was collected. The

mineral percentage in the dialysate represented the fraction that can be released from the food matrix into the intestinal lumen and potentially available for absorption (i.e., bioaccessible). The digested mixtures that remained in the tubes were centrifuged at 26000 g at 4 °C for 15min to separate the insoluble and soluble mineral fractions in pellet and supernatant, respectively. The mineral contents (Fe, Zn, Ca, K and Mg) of each dialysate, supernatant and pellet were analyzed in triplicate, as described in section 2, to determine the dialyzable, soluble but non-dialyzable and insoluble mineral fractions, respectively. The sum of these three fractions should be equal to the total mineral content in the sample before digestion. Each fraction was calculated on the basis of the total mineral content recovered at the end of the digestion (Icard-Vernière et al., 2015). The dialyzable fraction was considered as bioaccessible. *In vitro* dialyzability was measured at three cooking time points (0, 120 and 300 min). Experiments were done in quadruplicate and results were averaged and expressed as the percentage of the total mineral content in the dish or as the mineral concentration in µg/100g sauce.

2.8. Prediction of iron bioavailability using the Hallberg & Hulthén's equation

Iron bioavailability was predicted using the equation proposed by Hallberg and Hulthén (2000). This equation is based on the value for iron absorption (relative to the 40% reference dose absorption) from a single meal made of low-extraction wheat flour that does not contain inhibitors or enhancers of iron absorption. This basal value (22.1) is then multiplied by factors that define the effect of the different dietary components present in the meal and known to influence iron absorption: phytates, polyphenols, calcium, ascorbic acid, animal tissue (red meat, poultry, fish and seafood) and alcohol as follows:

$$\% \text{ iron absorption} = 22.1 * f_1 * f_2 * f_3 * f_4 * f_5$$

For each factor, Hallberg and Hulthén (2000) proposed equations to include the effects and interactions of f_1 , f_2 , f_3 , f_4 , and f_5 : phytate-phosphorus (phytate-P), ascorbic acid (AA), polyphenols (tannic acid, TA, equivalent, in mg), calcium (Ca) and meat (M), respectively. All food components, but meat, were expressed in mg and meat in g per meal, for a portion size of 100g of Mloukhiya dish.

The factors' equations were:

- $f_1 : 10^{-0.30 \log(1 + \text{phytate-P})}$ (1)

- $f_2: [1+0.01 \text{ AA} + \log(\text{phytate-P}+1)]*0.01*10^{[0.8875*\log(\text{AA}+1)]}$ (2)

- $f_3: (1 + 0.01M) * 10^{0.4515 - [0.715 - 0.1825 * \log(1 + \text{AA})] * \log(1 + \text{TA})}$ (3)

- $f_4: 0.4081+[0.6059/1+10^{-(2.022-\log(\text{Ca}+1)*2.919)}]$ (4)

- $f_5: 1 + 0.00628 * M * [1 + 0.006 \text{ phytate-P}]$ (5)

2.9. Prediction of zinc and calcium absorption using the [phytate]/[mineral]molar ratios

Calcium and zinc bioavailability were predicted by calculating the phytate/calcium, phytate/zinc and phytate x Ca/Zn molar ratios, using the reported critical maximum values of 0.17, 18 (Gibson et al., 2010) and 200 (Kwun and Kwon, 2000), respectively.

2.10. Statistical Analysis

Data of mineral bioaccessibility measured after different cooking times were analyzed using one-way ANOVA with the SPSS version 24.0 software (SPSS, Inc., Chicago, IL). The Tukey's multiple comparison test was used for pair-wise comparisons. A p-value <0.05 was the chosen level of significance.

3. Results and Discussion

3.1. Contents in mineral and mineral-binding compounds of the Mloukhiya dish and its main ingredients

After 5 hours of cooking, the Mloukhiya dish included 23.4% DM of jute leaf powder, 52.5% DM of olive oil and 20.5% DM of beef meat. The composition in minerals, fibers, phenolic compounds and phytates of the jute leaf powder, raw and cooked beef meat, and Mloukhiya sauce and dish (after 5 hours of cooking) are reported in Table 18. The jute leaf powder was rich in minerals, except for zinc, in agreement with the values reported in the Tunisian food composition table (El-Ati et al., 2007). Leafy vegetables can contain mineral absorption inhibitors, such as iron-binding phenolic compounds or fibers, that may affect mineral bioavailability (Gibson et al., 2010). Indeed, jute leaf powder, and consequently the Mloukhiya dish contained high amounts of soluble and insoluble fibers and iron-binding phenolic compounds (Table 18). Conversely, phytate concentration in the powder was low.

Table 18. Nutritional composition of the final Mloukhiya dish and sauce and its main ingredients i.e. the powder of jute leaves and the beef meat (results are expressed per 100 g DM).

	DM content g/100g	Total iron (mg)	Calcium (mg)	Zinc (mg)	Magnesium (mg)	Potassium (mg)	Fiber		Phenolic compounds		Phytate
							IDF*	SDF**	Galloyl	Catechol	(mg IP6)
							(g)	(g)	(mg TAE)	(mg CE)	
Jute powder	89.2 ± 0.1	33.5 ± 1.4	2041 ± 6	2.6 ± 0.1	395 ± 4	3359 ± 36	52.5 ± 5	10.3 ± 0.9	4250 ± 16	11071 ± 68	52.2 ± 27.4
Raw beef meat	25.9 ± 0.6	17.8 ± 1.6	23 ± 2	29.1 ± 1.9	105 ± 4	1660 ± 7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cooked beef meat	45.8 ± 1.9	11.4 ± 1.5	116 ± 12	21.3 ± 1.2	106 ± 6	780 ± 34	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Final Mloukhiya sauce	29.7 ± 2.2	10.5 ± 0.2	634 ± 24	2.9 ± 0.0	152 ± 4	1348 ± 64	23.8 ± 1.5	11.1 ± 0.8	795 ± 124	2204 ± 480	12.4 ± 8.6
Final Mloukhiya dish¹	33.0	10.7	528	6.7	143	1231	18.9	8.8	632	1752	9.9

Results are means ± standard deviation of three independent determinations.

n.d.: not determined, considered as negligible.

¹calculated using meat/sauce proportions of 20.5 %/ 79.5 % on DM basis.

*IDF: Insoluble dietary fiber.

**SDF: Soluble dietary fiber.

The beef meat included in the recipe was particularly rich in zinc, and also contained high amounts of iron, magnesium and potassium. Thus, jute leaf powder and beef meat were the main contributors to the mineral contents in Mloukhiya dish.

3.2. Changes in the physical-chemical parameters of the Mloukhiya dish during cooking

Temperature, DM content and apparent viscosity were monitored for 5 hours as soon as the temperature reached 100°C during the first minutes of the cooking process. The temperature remained relatively constant, except during sampling when a slight decrease was observed (Figure 14a). Therefore, the cooking process could be considered isothermal at 100°C. The mixture started to thicken as soon as water was added to the jute leaf powder. At the beginning of cooking, the dish was characterized by high viscosity, due to the presence of viscous mucilage in the powder. The high water-binding capacity of hydroxyl groups within the polysaccharide core allowed the mucilage hydration and swelling, conferring to the dish its typical texture that changed from very slimy, thick and mucilaginous at the beginning to rather smooth at the end of the cooking time. In these experiments, viscosity increased with the temperature, reaching 1.20 ± 0.19 Pa.s when the mixture started boiling ($t=0$) (Figure 14b). After 60min of cooking, viscosity reached the maximum value of 1.33 ± 0.16 Pa.s, and then the emulsion started to be destabilized, leading to a marked viscosity decrease. At the end of cooking (300min), the final apparent viscosity was 0.41 ± 0.1 Pa.s for a DM content of 29.7 g/100g. The decrease in viscosity was probably caused by the partial thermal degradation of the mucilaginous polysaccharides due to breakage of intra- and inter-molecular bonds. Indeed, the uncooked mixture viscosity did not change when left at ambient temperature for 5 hours. Changes in viscosity during cooking were previously reported by Dhuique-Mayer et al. (2016). During cooking, meat lost a large quantity of mass as meat juices (Figure 14c). The high temperatures induced protein structural changes that decreased the water holding capacity of the meat (Gerber et al., 2009). It was previously reported that heat treatment triggers collagen contraction and leads to water debinding from myofibrillar proteins and migration from the matrix (Gandemer et al., 2013; Kondjoyan et al., 2013; Oillic et al., 2011). As the expelled liquid contained soluble compounds, this phenomenon resulted in a meat DM loss of 7% after one hour and of 17% after five hours of cooking.

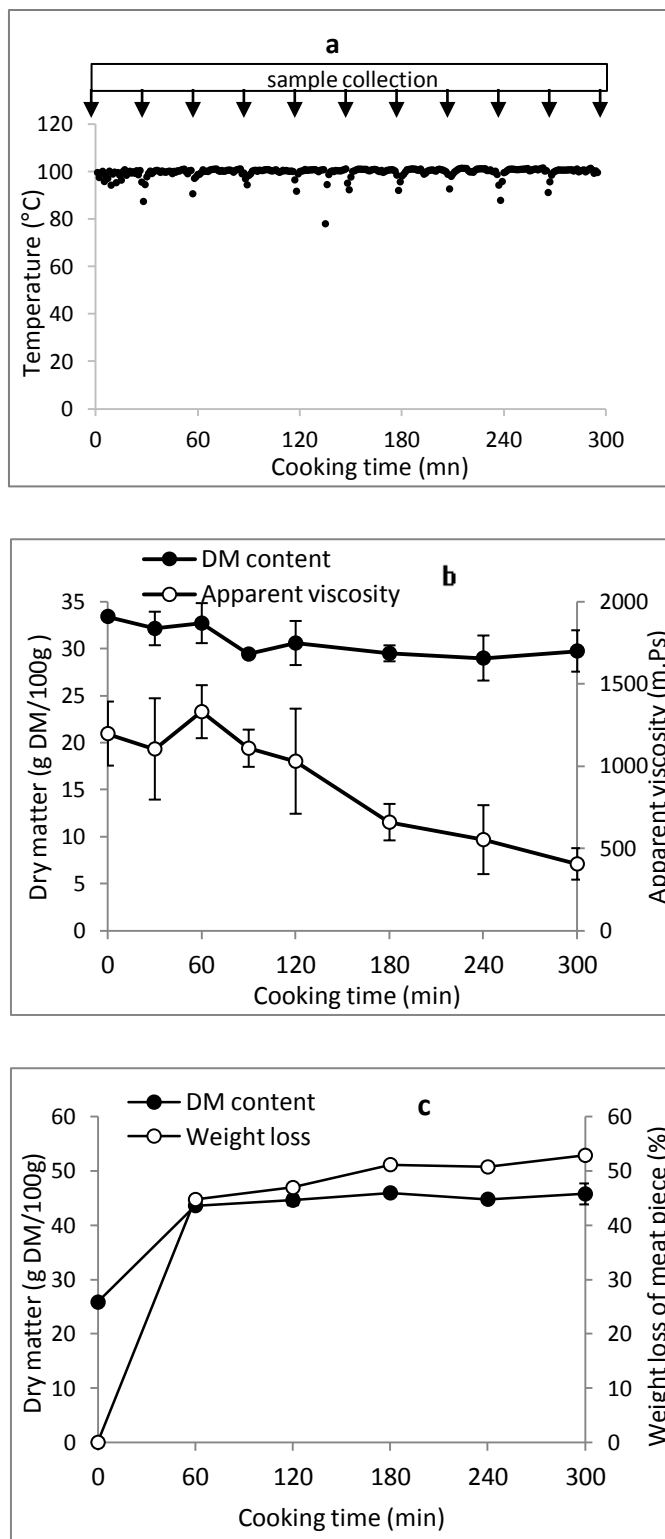


Figure 14. Temperature recording (a), changes in dry matter content and apparent viscosity in the Mloukhiya sauce (b), and dry matter content and weight loss of meat pieces (c) during the cooking process.

3.3. Changes in mineral contents of the Mloukhiya sauce and meat pieces during cooking

The mineral (iron, zinc, calcium, magnesium and potassium) content of the Mloukhiya sauce and beef pieces was assessed at different time points during cooking (Figure 15). Mineral loss from the meat pieces was observed during the first hour of cooking, but then the mineral content remained stable. The total iron and zinc content in the meat decreased very significantly ($p < 0.01$), in agreement with the results by Pourkhalili et al. (2013). Similarly, potassium amount in the meat pieces decreased by nearly 50% after one hour of cooking. Conversely, the total concentration of iron, zinc and potassium, but not of calcium, in the Mloukhiya sauce tended to increase during cooking. Indeed, calcium content significantly decreased in the Mloukhiya sauce ($p < 0.05$), while it concomitantly increased in the meat pieces ($p < 0.01$). The magnesium content fluctuated slightly in both meat and sauce. Water-soluble micronutrients are expelled with the meat juice during cooking (Kondjoyan et al., 2013) and can also be absorbed by the meat from the sauce, but this apportionment between sauce and meat did not influence the total mineral content that ultimately remained unchanged in the whole dish. However, the concentration of heme iron in the meat pieces decreased during cooking, from 61% of total iron in meat at $t = 0$ to only 42% at $t = 300\text{min}$. These results are in agreement with those reported by Gandemer et al. (2013) on braised and boiled beef meat. The heme iron decrease could be explained by its partial conversion into non-heme iron due to myoglobin oxidation, as a result of the oxidative cleavage of the heme porphyrin ring during intense heat treatment (Pourkhalili et al., 2013). By cumulating myoglobin oxidation and DM loss in meat, the total loss of heme iron in these experiments represented 42% of the initial amount after one hour of cooking and 63% after 5 hours. Heme iron loss had a negative impact on the bioavailable iron content. Indeed, the lower bioavailability of non-heme iron (from below 5% to 12%), depending on the effector content of the whole dish) compared with heme iron (15-35 %) is widely known (Hurrell and Egli, 2010).

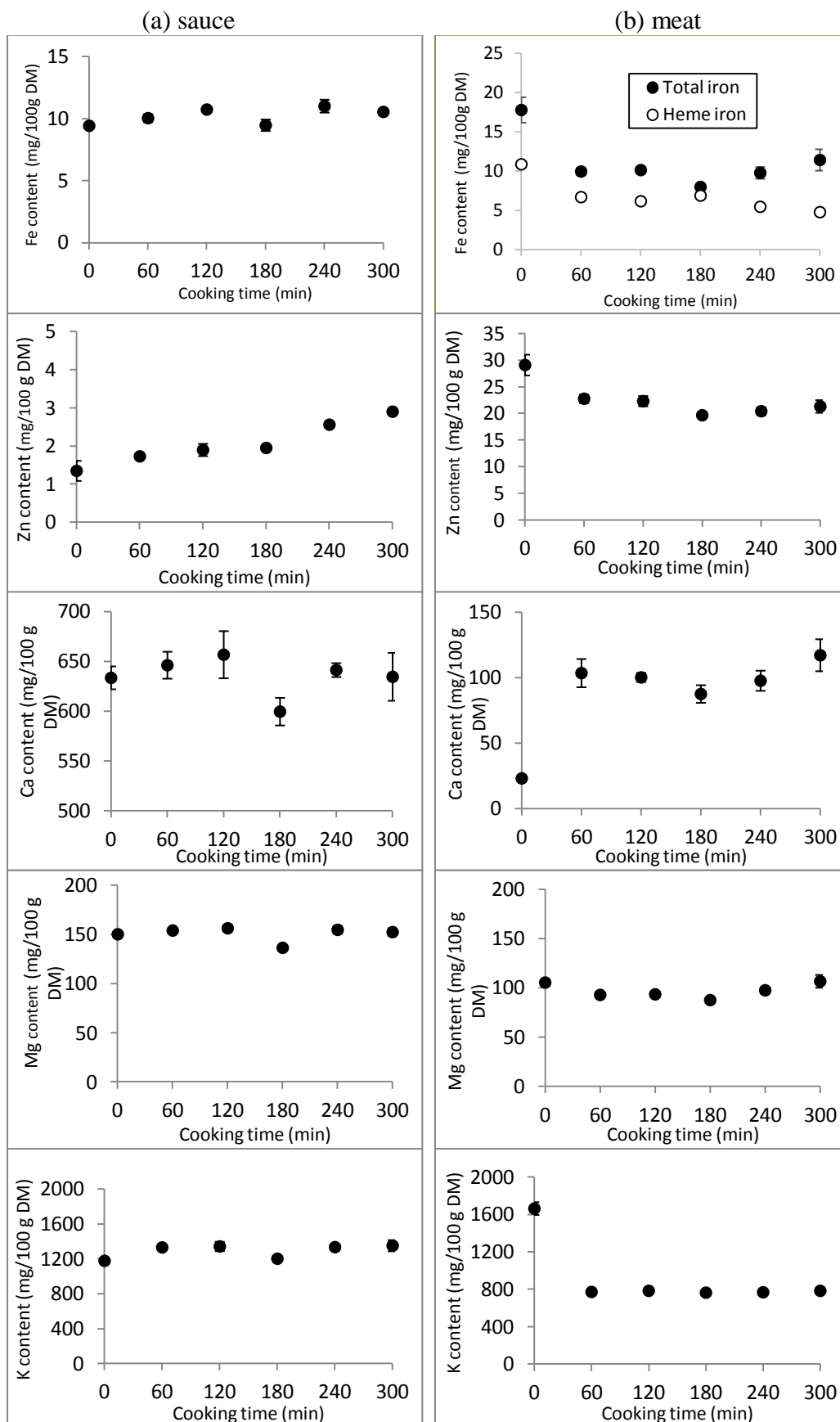


Figure 15. Changes in mineral content in sauce (a) and in meat (b) during cooking (error bars are for SD).

3.4. Changes in iron-binding phenolic compounds during cooking

The content of iron-binding phenolic compounds in the Mloukhiya dish decreased significantly ($p < 0.01$) during cooking (Figure 16). Similarly, Lewu et al. (2010) previously reported a degradation of the anti-nutritional substances contained in *Colocasia esculenta* leaves after cooking. The jute leaf powder contains high amounts of iron-binding phenolic compounds (galloyls and catechols) (Table 18) that adversely affect iron bioavailability (Cercamondi et al., 2014b; Tuntawiroon et al., 1991). Galloyl groups with their three adjacent hydroxyl groups are the main common structure of polyphenols that can chelate ferric iron (Hallberg and Hulthén, 2000). Some phenolic compounds could negatively affect zinc uptake by intestinal cells, thus decreasing also zinc bioavailability (Etcheverry et al., 2012). According to Pandey and Rizvi (2009), the decrease in polyphenol content could be due to their binding to other organic substances and proteins, or to changes in their chemical structure that reduce their mineral-chelating capacities. Consequently, cooking could have positive effects on iron and zinc bioavailability by reducing polyphenol chelating potential.

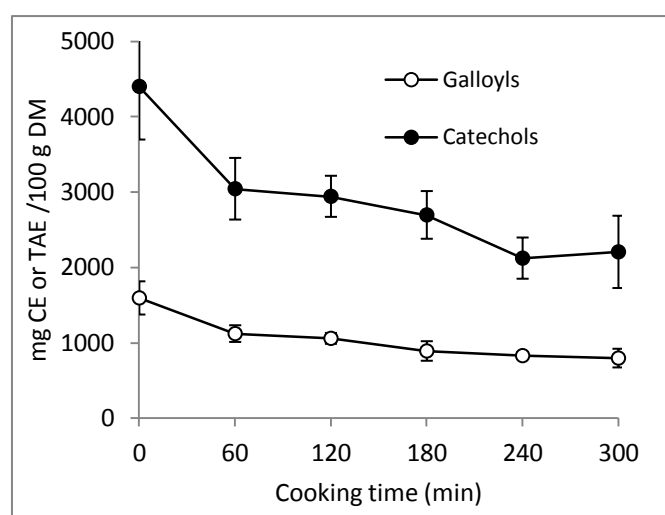


Figure 16. Changes in the content of iron-binding phenolic compounds in Mloukhiya during cooking (galloyls and catechols).

3.5. Mineral bioaccessibility in the Mloukhiya sauce during cooking

Analysis of the mineral content after mimicking the gastrointestinal digestion of the Mloukhiya dish showed that the percentage of dialyzable iron (D) was extremely low at the beginning of the cooking process and remained very low at the end of the 5 h-cooking, although it increased significantly during cooking (Table 19). The soluble not dialyzable iron fraction (SND) in the Mloukhiya dish also was low and decreased significantly during

cooking, suggesting that soluble iron was partly released from chelating agents and became bioaccessible. The low iron dialyzability could be linked to the high contents of chelating compounds (i.e., iron-binding polyphenols and soluble dietary fibers) (Etcheverry et al., 2012). The significant decrease of iron-binding phenolic compounds during cooking could explain the concomitant significant increase of iron bioaccessibility. Nevertheless, most iron (>90%) remained insoluble (INS) during the whole cooking process.

Cooking had no significant effect on the soluble zinc fraction (dialyzable and not dialyzable), whereas the percentage of insoluble zinc increased significantly. This could be due to strong binding of the zinc released from the beef pieces to proteins or other chelating compounds in the sauce (Etcheverry et al., 2012).

Almost all soluble calcium, magnesium and potassium were dialyzable and represented around 20, 70 and 90% of the total mineral content, respectively, at the end of cooking. For calcium, the insoluble fraction was predominant, probably due to the formation of insoluble complexes with phenolic compounds and mucilaginous polysaccharides (Etcheverry et al., 2012; Ramírez-Moreno et al., 2011). The dialyzable calcium fraction increased significantly during the first hours of cooking and then remained unchanged. This is consistent with the partial degradation of the mucilaginous compounds and the reduced polyphenol content.

Table 19. Changes in mineral bioaccessibility in Mloukhiya sauce during the cooking process.

Cooking time (min)	Iron				Zinc			
	(mg/100 g DM)	(%)	(%)	(%)	(mg/100 g DM)	(%)	(%)	(%)
	Total	D ¹	SND ²	INS ³	Total	D ¹	SND ²	INS ³
0	5.91	0.2 ^a ± 0.0	6.4 ^a ± 0.7	93.4 ^a ± 0.7	0.49	28.2 ^a ± 7.8	7.8 ^a ± 8.9	63.8 ^a ± 2.0
120	5.28	1.1 ^{ab} ± 0.7	4.3 ^b ± 0.2	94.6 ^{ab} ± 0.8	0.73	25.5 ^a ± 4.7	11.4 ^a ± 4.4	63.2 ^a ± 8.2
300	5.46	1.6 ^b ± 0.9	3.3 ^c ± 0.3	95.1 ^b ± 1.0	0.83	21.9 ^a ± 2.4	4.2 ^a ± 0.7	73.9 ^b ± 2.6

Cooking Time (min)	Calcium				Magnesium				Potassium			
	(mg/100 g DM)	(%)	(%)	(%)	(mg/100 g DM)	(%)	(%)	(%)	(mg/100 g DM)	(%)	(%)	(%)
	Total	D ¹	SND ²	INS ³	Total	D ¹	SND ²	INS ³	Total	D ¹	SND ²	INS ³
0	433	15.5 ^a ± 1.3	2.4 ^a ± 1.8	82.1 ^a ± 1.9	75	59.6 ^a ± 4.6	5.9 ^a ± 2.3	34.5 ^a ± 2.3	808	88.8 ^a ± 2.6	Neg ⁴	15.8 ^a ± 0.7
120	386	21.0 ^b ± 3.5	0.1 ^b ± 0.3	78.9 ^a ± 3.7	73	73.2 ^a ± 9.9	2.1 ^a ± 5.7	24.7 ^b ± 4.2	834	88.9 ^a ± 2.5	Neg ⁴	11.6 ^b ± 1.8
300	400	20.1 ^b ± 0.7	Neg ⁴	80.1 ^a ± 0.6	75	73.0 ^a ± 8.5	1.9 ^a ± 4.8	25.1 ^b ± 3.8	861	89.3 ^a ± 1.7	Neg ⁴	12.0 ^b ± 1.6

Results are means ± standard deviation of four independent repetitions. Values in a same column with different superscript letters are significantly different (p<0.05, Tukey's test). ¹D = dialyzable; ²SND = soluble not dialyzable; ³INS = Insoluble expressed in %. ⁴Neg = Negligible.

3.6. Predicted iron bioavailability

As stated in Fairweather-Tait et al (2005), bioavailability of iron includes the six following stages: (i) ability to be released from the food matrix into the lumen of the gastrointestinal tract corresponding to bioaccessibility; (ii) uptake by enterocytes, followed by (iii) absorption; (iv) retention, (v) transport to tissue for utilization, and (vi) transport to storage sites. In this paper, the Hallberg and Hulthen's model equation, known as an "algorithm", is recognized as able to predict the composite effect of all the six stages, and was used in this study, to go further in iron bioavailability estimation. Iron absorption during the cooking time was predicted for a portion of 100g of Mloukhiya dish (68.8g of sauce and 31.2g of meat) using the model equation proposed by Hallberg and Hulthén (2000) (Table 20). This equation, derived from the modelling of data obtained from *in vivo* studies, was chosen because it is adapted to the characterization of a single dish, whereas the more recent equation of Armah et al. (2013) is more suitable for the whole diet. Among the iron absorption inhibitors, calcium competes with iron for absorption in the small intestine and reduces its uptake (Lönnerdal, 2010). Calcium has been shown to have negative effects on both heme and non-heme iron absorption, which makes it different from other inhibitors that affect non-heme iron absorption only (Hallberg et al., 1991). The amount of calcium in the Mloukhiya dish remained stable during cooking (around 162mg/100g) and was sufficiently high to affect iron uptake. Iron-binding phenolic compounds strongly decreased from 369 to 151mg TAE/100g during cooking; however, their content at the end of cooking was still high and had to be taken into account. Phytate content was low and constant (around 3mg IP6/100g) leading to a limited inhibitory effect. Vitamin C, as an absorption enhancer factor, was neglected because of its too low content in the final dish (below the detection threshold) explained by its low concentration in the ingredients used for this dish and by degradation during cooking. Another enhancer, the meat factor, which corresponds to the quantity of animal tissue in the fresh state, was set at 31g. These values were included in the model equation that predicted a very low absorption of non-heme iron at the beginning of cooking with an increase to 1.2% at 300min (Table 20). These low values were mainly due to the strong inhibiting effects of both iron-binding phenolic compounds and calcium. The slight increase of iron absorption at the end of cooking could be attributed to the partial degradation of polyphenols by heat. The predicted value of iron absorption at 300min (1.2%) was of the same order of magnitude with that of the bioaccessible fraction obtained with the dialyzability method (1.6%). However, it was slightly lower than those obtained for similar foods (i.e., composite dishes based on leafy

vegetables) in *in vivo* studies that measured the incorporation of iron isotopes into erythrocytes (Cercamondi et al., 2014a; Tuntawiroon et al., 1991). In these studies on typical dishes based on lead tree leaves (Thailand) or jute leaves (Burkina Faso), iron absorption was estimated at 2.8% and 4.9% respectively, with polyphenol contents comparable to that found in the present study (146 and 156mg TAE/serving versus 151mg TAE/100g). Nevertheless, all studies reported low iron absorption values, in the lowest part of the expected range for iron absorption (from 1 to 40%) (Fairweather-Tait et al., 2017). By simulating a 10-fold decrease of polyphenol content, iron absorption would increase to 6.0%, confirming that polyphenols play a major absorption inhibitory role in the Mloukhiya dish. Eating one orange with the Mloukhiya dish, thus providing 53mg of ascorbic acid (Rock and Fardet, 2014), would also increase iron absorption to 2.0% according to the model equation.

Table 20. Changes in fractional absorption of iron from Mloukhiya during cooking time as predicted by the equation of Hallberg and Hulthén (2000).

Cooking time (min)	Predicted absorption (%)
0	0.6
60	0.9
120	1.0
180	1.1
240	1.2
300	1.2

3.7. Prediction of zinc and calcium bioavailability

The phytate-to-mineral ratios are considered to be good predictors of zinc and calcium bioavailability (Gibson et al., 2010). Moreover, calcium can accentuate phytate inhibitory effect on zinc absorption (Kwun and Kwon, 2000). Thus, high calcium content should further reduce zinc absorption. The bioavailability of zinc and calcium in the Mloukhiya dish was estimated by calculating the phytate/Zn and phytate x Ca/Zn molar ratios and the phytate/Ca molar ratio. The obtained values (0.3, 5.3 and 0.001, respectively) were far below the reported critical maximum values of 18 and 0.17 for the phytate/Zn and phytate/Ca molar ratios (Gibson et al., 2010) and 200 for the phytate x Ca/Zn molar ratio (Kwun and Kwon, 2000).

These results and the measured dialyzable fractions indicated an optimal bioavailability of zinc and calcium in the Mloukhiya dish.

3.8. The Mloukhiya dish contribution to the Recommended Nutrient Intake in minerals

By taking into account the percentage of heme and non-heme iron (8% and 92%) in the final Mloukhiya dish and their respective absorption coefficients (25% for heme iron according to FAO and WHO (2004) and 1.2% for non-heme iron, predicted in this study), the consumption of a portion of 100g of Mloukhiya would provide 0.11 mg of bioavailable iron, thus covering only 5% of the average recommended nutrient intake (RNI) for male and female adults (2.16mg bioavailable iron/day) (FAO and WHO, 2004).

For zinc, calcium, magnesium and potassium, the food matrix effect was low. Therefore, by taking into account their respective estimated bioavailability of 30, 30, 50 and 90% (FAO and WHO, 2004), a portion of 100g of Mloukhiya would provide respectively 0.7, 52, 24 and 366mg of bioavailable minerals, thus contributing to 65, 17, 20, and 12% of the average RNI for male and female adults. The Mloukhiya dish can be considered rich in zinc and a source of calcium and magnesium, but is less interesting for its bioavailable iron content.

4. Conclusion

The present study highlighted the complexity of interactions and changes that occur during cooking of a composite dish that contain minerals of plant and animal origins and their consequences on the bioavailability of such minerals. In the specific case of iron, heme iron and non-heme iron that have different absorption pathways, the results obtained show that the degradation of heme iron into non-heme iron during cooking was counterbalanced by the degradation of iron-binding phenolic compounds. However, iron bioaccessibility remained extremely low mainly due to the high content of chelating phenolic compounds even after a long cooking time. Conversely, the bioaccessibility of zinc, calcium, magnesium and potassium was high and was not affected by the food matrix, in agreement with the predicted bioavailability.

Acknowledgments

The authors thank the Agence Nationale de la Recherche for its financial support (grant number ANR-12-TMED-0004).

References

- AOAC. (1995). *Official methods of analysis*. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Armah, S. M., Carriquiry, A., Sullivan, D., Cook, J. D., & Reddy, M. B. (2013). A complete diet-based algorithm for predicting nonheme iron absorption in adults. *The Journal of Nutrition*, *143*, 1136–1140.
- Bach-Faig, A., Berry, E. M., Lairon, D., Reguant, J., Trichopoulou, A., Dernini, S., . . . Serra-Majem, L. (2011). Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutrition*, *14*, 2274–2284.
- Baye, K., Mouquet-Rivier, C., Icard-Vernière, C., Rochette, I., & Guyot, J. P. (2013). Influence of flour blend composition on fermentation kinetics and phytate hydrolysis of sourdough used to make injera. *Food Chemistry*, *138*, 430-436.
- Brune, M., Hallberg, L., & Skanberg, A. B. (1991). Determination of iron-binding phenolic groups in foods. *Journal of Food Science*, *56*, 128-131.
- Cercamondi, C. I., Egli, I. M., Zeder, C., & Hurrell, R. F. (2014). Sodium iron EDTA and ascorbic acid, but not polyphenol oxidase treatment, counteract the strong inhibitory effect of polyphenols from brown sorghum on the absorption of fortification iron in young women. *British Journal of Nutrition*, *111*, 481-489.
- Cercamondi, C. I., Icard-Vernière, C., Egli, I. M., Vernay, M., Hama, F., Brouwer, I. D., . . . Mouquet-Rivier, C. (2014). A higher proportion of iron-rich leafy vegetables in a typical burkinabe maize meal does not increase the amount of iron absorbed in young women. *Journal of Nutrition*, *144*, 1394–1400.
- CIHEAM. (2012). *La diète méditerranéenne pour un développement régional durable*. Paris: Presses de Sciences Po.
- CIHEAM, & FAO. (2015). *Mediterranean food consumption patterns diet, environment, society, economy and health*. Rome: CIHEAM-IAMB, Bari/FAO.
- Dhuique-Mayer, C., Servent, A., Descalzo, A., Mouquet-Rivier, C., Amiot, M. J., & Achir, N. (2016). Culinary practices mimicking a polysaccharide-rich recipe enhance the bioaccessibility of fat-soluble micronutrients. *Food Chemistry*, *210*, 182–188.
- El-Ati, J., Béji, C., Farhat, A., Haddad, S., Cherif, S., Trabelsi, T., . . . Rhidha, K. M. (2007). *Table de composition des aliments tunisiens*. Tunis; Montpellier: INNTA ; IRD.
- Etcheverry, P., Grusak, M. A., & Fleige, L. E. (2012). Application of *in vitro* bioaccessibility and bioavailability methods for calcium, carotenoids, folate, iron, magnesium, polyphenols, zinc, and vitamins B6, B12, D, and E. *Frontiers in Physiology*, *3*, 317.

- Fairweather-Tait, S., Jennings, A., Harvey, L. J., Berry, R., Walton, J., & Dainty, J. R. (2017). Modeling tool for calculating dietary iron bioavailability in iron-sufficient adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, *105*, 1408–1414.
- Fairweather-Tait, S., Lynch, S., Hotz, C., Hurrell, R., Abrahamse, L., Beebe, S., . . . Trinidad, T. P. (2005). The usefulness of in vitro models to predict the bioavailability of iron and zinc: A consensus statement from the harvest plus expert consultation. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, *75*, 371-374.
- FAO, & WHO. (2004). *Vitamin and mineral requirements in human nutrition* (Second edition ed.). Italy: Rome.
- Gandemer, G., Scislawski, V., Duchène, C., & Kondjoyan, A. (2013). Cooking losses of juice, heme iron, B3 and B6 vitamins in beef meat as related to cooking practices-consequences on nutritional value of meat. *International Congress of Meat Science and Technology*, 18-23.
- Gerber, N., Scheeder, M. R., & Wenk, C. (2009). The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat science*, *18*, 148-154.
- Gibson, R. S., Bailey, K. B., Gibbs, M., & Ferguson, E. L. (2010). Phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability. *Food and Nutrition Bulletin*, *31*, 134-146.
- Goran, G. V., Tudoreanu, L., Rotaru, E., & Crivineanu, V. (2016). Comparative study of mineral composition of beef steak and pork chops depending on the thermal preparation method. *Meat Science*, *118*, 117–121.
- Hallberg, L., Brune, M., Erlandsson, M., Sandberg, A. S., & Hulthén, L. R. (1991). Calcium: effect of different amounts on nonheme- and heme-iron absorption in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, *53*, 112-119.
- Hallberg, L., & Hulthén, L. (2000). Prediction of dietary iron absorption: an algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron. *American Journal of Clinical Nutrition*, *71*, 1147-1160.
- Hama, F., Icard-Vernière, C., Guyot, J. P., Picq, C., Diawara, B., & Mouquet-Rivier, C. (2011). Changes in micro- and macronutrient composition of pearl millet and white sorghum during in field versus laboratory decortication. *Journal of Cereal Science*, *54*, 425-433.
- Hurrell, R., & Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *American Journal of Clinical Nutrition*, *91*, 1461-1467.
- Icard-Vernière, C., Olive, F., Picq, C., & Mouquet-Rivier, C. (2015). Contribution of leafy vegetable sauces to dietary iron, zinc, vitamin A and energy requirements in children and their mothers in Burkina Faso. *Plant Foods for Human Nutrition*, *70*, 63-70.
- Icard-Vernière, C., Picq, C., Courbis, L., & Mouquet-Rivier, C. (2016). The type of fortificant and the leaf matrix both influence iron and zinc bioaccessibility in iron-fortified green leafy vegetable sauces from Burkina Faso. *Food and Function*, *7*, 1103–1110
- İlhan, S., Savaroğlu, F., & Çolak, F. (2007). Antibacterial and antifungal activity of *Corchorus olitorius* L. (Molokhia) extracts. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, *1*, 59-61.
- Kondjoyan, A., Kohler, A., & Realini, C. E. (2013). Towards models for the prediction of beef meat quality during cooking. *Meat science*, *97*, 323-331.

- Kwun, I. S., & Kwon, C. S. (2000). Dietary molar ratios of phytate:zinc and millimolar ratios of phytate * calcium:zinc in South Koreans. *Biological Trace Element Research*, 75, 29-41.
- Lewu, M. N., Adebola, P. O., & Afolayan, A. J. (2010). Effect of cooking on the mineral contents and anti-nutritional factors in seven accessions of *Colocasia esculenta* (L.) Schott growing in South Africa. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 389–393.
- Lombardi-Boccia, G., Martinez-Dominguez, B., Aguzzi, A., & Rincon-Leon, F. (2002). Optimization of heme iron analysis in raw and cooked red meat. *Food Chemistry*, 78, 505–510.
- Lønnerdal, B. (2010). Calcium and iron absorption - mechanisms and public health relevance. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 45, 293-299.
- Loumerem, M., & Alercia, A. (2016). Descriptors for jute (*Corchorus olitorius* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63, 1103–1111.
- Mahbubul, M. I. (2013). Biochemistry, medicinal and food values of jute (*Corchorus capsularis* L. and *C. olitorius* L.) leaf. *International Journal of Enhanced Research in Science Technology & Engineering*, 2, 35-44.
- Miller, D. D., Schrickler, B. R., Rasmussen, R. R., & Campen, D. V. (1981). An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 34, 2248-2256.
- Ndlovu, J., & Afolayan, A. J. (2008). Nutritional analysis of the South African wild vegetable *Corchorus olitorius* L. Asian. *Journal of Plant Sciences*, 7, 615-618.
- Oillic, S., Lemoine, E., & Gros, J. B. (2011). Kinetic analysis of cooking losses from beef and other animal muscles heated in a water bath-Effect of sample dimensions and prior freezing and ageing. *Meat science*, 88, 338-346.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2, 270–278.
- Pourkhalili, A., Mirlohi, M., & Rahimi, E. (2013). Heme iron content in lamb meat is differentially altered upon boiling, grilling, or frying as assessed by four distinct analytical methods. *The Scientific World Journal*, 5.
- Ramírez-Moreno, E., Díez-Marqués, C., Sánchez-Mata, M. C., & Goñi, B. (2011). *In vitro* calcium bioaccessibility in raw and cooked cladodes of prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica* L. Miller). *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1611-1615.
- Rock, E., & Fardet, A. (2014). Les antioxydants des agrumes : action en solitaire ou matricielle ? *Phytothérapie*, 12, 66-75.
- Sofi, F., Macchi, C., Abbate, R., Gensini, G. F., & Casini, A. (2013). Mediterranean diet and health status: an updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score. *Public Health Nutrition*, 12, 2769–2782.
- Tuntawiroon, M., Sritongkul, N., Brune, M., Hulten, L. R., Pleehachinda, R., Suwanik, R., & Hallberg, L. (1991). Dose-dependent inhibitory effect of phenolic compounds in foods on nonheme-iron absorption in men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53, 554–557.
- Wolfgor, R., Drago, S., Rodriguez, V., & Valencia, M. E. (2002). *In vitro* measurement of available iron in fortified foods. *Food Research International*, 35, 85-90.

- Yamazaki, E., Kurita, O., & Matsumura, Y. (2009). High viscosity of hydrocolloid from leaves of *Corchorus olitorius* L. *Food Hydrocolloids*, 23, 655–660.
- Yokoyama, S., Hiramoto, K., Fujikawa, T., Kondo, H., Konishi, N., Sudo, S., . . . Ooi, K. (2014). Skin hydrating effects of *Corchorus olitorius* extract in a mouse model of atopic dermatitis. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 4, 1-6.

2.3 Résultats complémentaires

2.3.1 Les propriétés physicochimiques des mucilages de la Mloukhiya

2.3.1.1 Effet de la cuisson sur la teneur en fibres solubles et insolubles

La teneur en fibre de la poudre de *C. olitorius* était élevée (IDF $52,5 \pm 4,6$ et SDF $10,3 \pm 0,9$ g/100g MS). La cuisson a affecté le rapport en fibre insoluble et soluble ainsi que les propriétés d'hydratation. La teneur en fibres solubles SDF a augmenté pendant la cuisson (de $6,49 \pm 3,94$ dans le plat initial à $11,06 \pm 0,79$ g/100g MS) résultant de la diminution concomitante de la teneur en fibres insolubles IDF (de $27,28 \pm 1,9$ à 0 min à $23,83 \pm 1,45$ à 300 min g/100g de MS) (Figure 17). Le traitement thermique augmente les sites de liaison « disponibles » avec les molécules d'eau et entraîne la gélification et le gonflement des fibres (Zayas, 1997). L'absorption d'eau améliorée était probablement liée à un nombre important de groupes hydrophiles.

Le traitement hydrothermique a eu des effets antagonistes: (i) hydratation et gonflement du mucilage en raison de la forte capacité de liaison hydrique des groupements hydroxyles des molécules polyosidiques, (ii) hydrolyse des liaisons de faible énergie et (iii) changement de texture et déstabilisation de l'émulsion initiale mis en évidence par une diminution importante de la viscosité jusqu'à la fin de la cuisson atteignant une viscosité apparente finale de $405,1 \pm 95,8$ mPa.s à 300 min contre $1197,0 \pm 194,7$ mPa.s initialement. Ceci était probablement dû à la rupture d'une partie des liaisons intra- et intermoléculaires par dégradation thermique des polysides mucilagineux. Une diminution irréversible de la viscosité a été observée, suggérant le changement conformationnel irréversible de l'hydrocolloïde visqueux de la sauce de *C. olitorius* (Yamazaki et al., 2009).

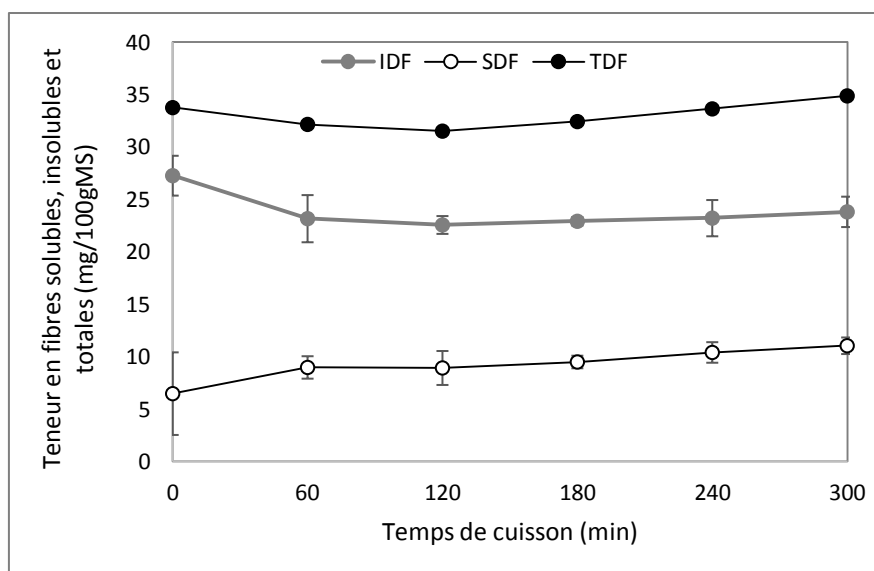


Figure 17. Effet de la cuisson sur la teneur en fibres (IDF insoluble, SDF soluble, TDF totale) dans la Mloukhyia.

2.3.1.2 Effet de la cuisson sur les teneurs en sucres simples, oligosides et acides uroniques

La Mloukhyia contient une quantité importante de polysides mucilagineux, riches en acides uroniques, et comprend du rhamnose, du glucose, de l'acide galacturonique et de l'acide glucuronique. L'analyse de la composition des sucres simples a révélé la présence de galactose, rhamnose, glucose, fructose, saccharose et mannose dans la sauce de *C. olitorius*.

Les profils de sucres simples (Tableau 21) et d'acides uroniques (Tableau 22) ont peu changé durant la cuisson. Les acides uroniques (glucuronique, galacturonique et gluconique) et le rhamnose constitutifs des mucilages sont restés constants tandis que le galactose, le mannose, l'arabinose et le xylose, constitutifs des autres fibres, ont légèrement augmenté, indiquant une hydrolyse partielle de fibres.

Tableau 21. Profils de mono-,di- et oligo-sides de la poudre de corète et de la Mloukhiya au cours de la cuisson (mg/100g MS).

Temps de cuisson	Oses simples						Diosides		Alpha-galactooligosides			
	Rhamnose	Arabinose	Galactose	glucose	Mannose	Xylose	Fructose	Saccharose	Maltose	Raffinose	Stachyose	Verbascose
<i>Poudre de C. olitorius</i>	14,0	1,7	13,9	302,9	7,6	1,2	448,4	615,2	0,1	34,0	5,0	0,1
0 min	5,4	1,1	8,3	306,8	7,4	1,3	393,4	81,0	0,8	8,9	1,5	0,1
60 min	9,7	2,0	9,4	482,9	26,1	3,3	474,4	246,1	0,0	21,4	3,6	0,0
120 min	6,6	1,8	7,0	356,1	23,0	1,4	425,5	193,9	0,0	17,8	1,2	0,0
180 min	8,7	2,7	9,6	496,9	38,6	3,9	451,9	240,4	0,1	28,5	0,3	0,0
240 min	7,7	2,6	9,4	461,6	37,4	3,3	439,9	222,5	0,0	23,3	1,0	0,0
300 min	8,4	3,5	7,4	450,2	37,8	3,4	431,0	243,1	1,6	20,7	2,6	0,1

Tableau 22. Profil d'acide uronique de la poudre de corète et de la Mloukhiya au cours de la cuisson (mg/100g MS).

Echantillon	Acide gluconique	Acide galacturonique	Acide glucuronique
<i>Poudre de C. olitorius</i>	45,7	3,8	0,7
0 min	28,9	4,8	0,8
60 min	32,8	7,0	0,8
120 min	27,6	4,8	0,4
180 min	34,4	5,2	0,6
240 min	33,7	5,0	1,0
300 min	32,2	5,2	0,7

La longue durée de cuisson de la Mloukhiya a conduit à la solubilisation d'une partie des fibres insolubles. Cela peut être considéré comme bénéfique car les fibres solubles sont mieux tolérées dans le tube digestif humain. Les propriétés du mucilage de *C. olitorius* devraient faire l'objet d'études plus poussées en vue d'une utilisation potentielle comme patch intestinal.

3 Effets des procédés de transformation traditionnels des légumineuses sur la teneur en nutriments d'intérêts, les facteurs antinutritionnels et la biodisponibilité des minéraux

3.1 Introduction

Les légumineuses, deuxième composante de la diète méditerranéenne, font partie de la tradition culinaire tunisienne. Les légumineuses jouent un rôle crucial dans une alimentation saine et équilibrée, dans la production alimentaire durable et avant tout dans la sécurité alimentaire. Une attention particulière a été accordée à la Bahthoula. La Bahthoula est un plat à base de 5 légumineuses (lentille, pois chiche, fève, féverole et fenugrec), préparé avec le petit plombs (des grains préparés à partir de semoule de blé), de l'anchois séché, de l'huile d'olive et des épices.

Les légumineuses sont importantes pour la santé humaine, elles fournissent une forte proportion de fibres alimentaires et de minéraux. Cependant, les légumineuses contiennent également des facteurs antinutritionnels, parmi lesquels les alpha-galactooligosides (α -GOS) (facteurs de flatulence) et les phytates (inhibiteurs de la biodisponibilité des minéraux). Chacune des 5 espèces de légumineuses étudiées possède des caractéristiques spécifiques (taille de la graine, présence et épaisseur de l'enveloppe externe et composition biochimique).

Le mode de préparation consiste en des procédés traditionnels indigènes, incluant le trempage et la cuisson. Ces méthodes ont été discutées en détail précédemment (parag. 3.3.2.) et sont résumées brièvement ci-dessous. Le trempage des graines de légumineuses, entières ou décortiquées, est une étape commune à de nombreux modes de préparation et très courante avant la cuisson. Ce procédé sert à humidifier et ramollir la graine afin de raccourcir le temps de cuisson (Maneesh-Kumar et al., 2016). Des études menées précédemment ont montré qu'une réduction des teneurs en facteurs antinutritionnels (les phytates et les α -GOS) pourrait avoir lieu au cours du trempage des graines de légumineuses par lessivage dans l'eau de trempage et/ou par hydrolyse enzymatique (Duhan et al., 2002; Egli et al., 2002; Karkle and Beleia, 2010; Pandey and Awasthi, 2015). Tandis que le trempage pourrait également réduire la teneur en minéraux hydrosolubles ce qui influencerait potentiellement la valeur nutritionnelle des légumineuses.

Il existe peu de données sur les teneurs en α -GOS et en fibres solubles et insolubles réduites par lessivage et/ou hydrolyse enzymatique au cours du trempage. En outre, l'impact du

trempage sur la teneur varie avec l'espèce, la taille des graines et l'épaisseur de l'enveloppe externe.

Ce chapitre a pour objectifs d'évaluer dans un premier temps les potentialités du trempage de 5 légumineuses (lentille, pois chiche, fève féverole et fenugrec) appliqué en combinaison avec la cuisson pour la préparation du plat complexe « la Bahthoula » sur le devenir des mono-, di-, galacto- oligosides et les fibres solubles et insolubles et dans un deuxième temps sur l'évolution de la teneur en minéraux et leur inhibiteur d'absorption (les phytates), et à évaluer les rapports molaires Phy/Fe et Phy/Zn qui peuvent être considérés comme des indicateurs de la biodisponibilité, respectivement, du fer et du zinc (Gibson et al., 2010; Kwun and Kwon, 2000).

La démarche de cette étude et ses résultats ont fait l'objet de la rédaction de deux publications scientifiques, présentés dans ce chapitre. Le premier est actuellement accepté par le journal International Journal of Food Sciences and Nutrition. Le deuxième est un projet d'article à soumettre. Des données complémentaires résultant d'analyses de l'effet du trempage et de la cuisson sur les teneurs en folates (vitamine B9) sont présentées au parag 3.3.

Article accepté

Sondos Njoumi, Marie-Josèphe Amiot, Isabelle Rochette, Sihem Bellagha, Claire Mouquet-Rivier (2018). Soaking and cooking modify the alpha-galacto-oligosaccharide and dietary fiber content in five Mediterranean legumes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*.

Article (projet d'article)

Sondos Njoumi, Sihem Bellagha, Christèle Icard-Vernière, Isabelle Rochette, Marie-Josèphe Amiot, Claire Mouquet-Rivier. Behaviours of mineral and phytate during soaking and cooking processes in five Mediterranean legumes: Implications for mineral bioavailability.

Présentation orale de 3 min du poster

Njoumi S., Amiot M.J., Icard-Verniere C., Rochette I., Bellagha S., Mouquet-Rivier C. 2018. Indigenous food formulation: which nutritional value of legume-based traditional Mediterranean dishes? 2nd Mediterranean Forum for PhD students and Young Researchers, Research and Innovation as Tools for Sustainable Agriculture, Food and Nutrition Security. 18-20 september, CIHEAM Bari-Italy.

Poster (Annexe 11)

Sondos Njoumi, Sihem Bellagha, Isabelle Rochette, Marie Josèphe Amiot, Claire Mouquet-Rivier. Effets de pratiques culinaires traditionnelles sur la teneur en fibres, solubles et insolubles, et en oligosides de cinq légumineuses à la base de plats typiques Méditerranéens. Rencontres Francophones des Légumineuses, 17-18 octobre 2018, Toulouse, France.

Résumé des principaux résultats

Le régime alimentaire contribue à préserver la santé et à lutter contre les maladies. Dans de nombreux pays, les populations sont confrontées à des problèmes nutritionnels: malnutrition, carences en micronutriments, obésité et maladies liées à l'alimentation (telles que le diabète de type II et certains cancers). Les légumineuses font partie de la tradition culinaire de nombreux pays dans le monde, notamment le pourtour méditerranéen. Le trempage des légumineuses dans l'eau est une pratique qui réduit considérablement leur temps de cuisson et leur propension à provoquer des flatulences.

Les effets des procédés de trempage et de la cuisson sur les sucres solubles, les alpha-galactooligosides (α -GOS) et les fibres alimentaires solubles (SDF) et insolubles (ISD) ont été évalués dans cinq légumineuses (lentille, pois chiche, fenugrec, féverole et fève).

Dans les graines crues, les profils qualitatifs de sucres simples et oligosides et de fibres des légumineuses étudiées étaient comparables, mais avec des différences quantitatives illustrant la diversité au sein de ce groupe alimentaire. La teneur totale en α -GOS variait de 2500 mg / 100 g (pois chiche) à plus de 4000 mg / 100 g (fenugrec). Le stachyose était prédominant dans le fenugrec, les lentilles et le pois chiche, tandis que le verbascose était le principal α -GOS dans la fève et la féverole. En ce qui concerne les fibres, l'IDF était la fraction principale et représentait 69 à 87% du TDF pour toutes les légumineuses étudiées. La teneur en SDF était différente selon les espèces de légumineuses. Le fenugrec était la graine la plus riche en IDF et SDF.

Au cours du trempage, les graines de légumineuses ont présenté des comportements typiques d'absorption d'eau, caractérisés par une phase initiale d'imbibition rapide de l'eau, suivie d'une phase d'équilibre. La teneur en α -GOS totale a diminué entre 10% (lentille et féverole) et 40% (pois chiche). Dans le fenugrec, le trempage a réduit la teneur en IDF et a augmenté la teneur en SDF, probablement en raison de la solubilisation partielle d'IDF à partir de la paroi cellulaire. Le trempage de toutes les légumineuses a entraîné une réduction variable de la teneur totale en α -GOS, en fonction du type de graine et du moment de trempage. Cette diminution résulte à la fois du lessivage, c'est-à-dire de la diffusion dans l'eau de trempage, et de la dégradation enzymatique qui se sont produits dans les graines ou dans l'eau de trempage.

La cuisson a provoqué la diminution de la teneur en raffinose (-32%), stachyose (-25%) et verbascose (-35%) dans le plat traditionnel la bahthoula. La cuisson a entraîné l'augmentation de la teneur en IDF dans le plat entier (+23%), tandis que la fraction de SDF était presque constante. Les différents comportements de ces cinq légumineuses au cours des procédés culinaires traditionnels illustrent la biodiversité des espèces de légumineuses.

La consommation d'une portion de 296 g de Bahthoula fournirait 18,7 g de TDF, couvrant ainsi 62% de l'apport moyen recommandé pour les adultes. Le plat de Bahthoula pourrait être considéré comme une source importante de TDF. Une portion de Bahthoula fournirait aussi 0,7 g de α -GOS totale, contribuant ainsi à 22% de la dose quotidienne effective, ayant un effet prébiotique.

Les pratiques culinaires traditionnelles proposent un plat sain à base de légumineuses qui contribuent à apporter les quantités de fibres alimentaires et d' α -GOS nécessaires à une alimentation équilibrée.

3.2 Publication : Soaking and cooking modify the alpha-galacto-oligosaccharide and dietary fiber content in five Mediterranean legumes

**Soaking and cooking modify the alpha-galacto-oligosaccharide and dietary fiber content
in five Mediterranean legumes**

Sondos Njoumi^{a,b}, Marie Josephe Amiot^c, Isabelle Rochette^b, Sihem Bellagha^a, Claire
Mouquet-Rivier^b

^a PATIO, UR17AGR01 INAT, Univ. Carthage, Tunis, Tunisia.

^b NUTRIPASS, IRD, Univ. Montpellier, SupAgro, Montpellier, France.

^c MOISA, Univ. Montpellier, CIRAD, CIHEAM-IAAM, INRA, SupAgro, Montpellier,
France.

Co-Corresponding authors:

Claire Mouquet-Rivier

IRD (Institut de Recherche pour le Développement)

UMR 204 Nutripass

911 avenue Agropolis, 34094 Montpellier cedex5

claire.mouquet@ird.fr

tel: 00 33 4 67 41 62 95

Marie-Josèphe Amiot

INRA (Institut National de la Recherche Agronomique)

UMR MOISA, CIRAD, CIHEAM-IAAM, INRA, SUPAGRO

2 Place Pierre Viala, 34000 Montpellier

marie-josephe.amiot-carlin@inra.fr

tel: 00 33 4 99 61 22 46

Abstract

The effects of soaking and cooking on soluble sugars, alpha-galacto-oligosaccharides (α -GOS) and soluble (SDF) and insoluble dietary fibers (IDF) were assessed in five legumes (lentil, chickpea, fenugreek, faba bean and Egyptian faba bean). In raw seeds, total α -GOS content ranged from 2500 mg/100 g (chickpea) to over 4000 mg/100 g (fenugreek). Stachyose was predominant in fenugreek, lentil and chickpea, whereas verbascose was the main α -GOS in faba bean and Egyptian faba bean. IDF represented 69-87% of the total dietary fibers in all studied legumes, while SDF content varied noticeably. During soaking, total α -GOS content decreased between 10% (lentil and faba bean) and 40% (chickpea). In fenugreek, soaking reduced IDF and increased SDF concentration, possibly due to partial IDF solubilization from the cell wall. Cooking further decreased α -GOS and increased total dietary fiber content. The different behaviors of these five legumes during processing illustrate the high biodiversity within legume species.

Keywords: nutritional quality; galacto-oligosaccharides; monosaccharides; disaccharides; diffusion; high-performance anion-exchange chromatography; total dietary fiber.

1. Introduction

Legumes are key foods in the Mediterranean diet and excellent candidates to help ensuring the sustainability of food systems. Legume cultures improve the soil nitrogen level and the net primary productivity, and may deliver additional ecosystem benefits. Legumes play a central role in food systems as a source of plant proteins, and thanks to their various beneficial health effects (Viguiliouk et al., 2017). Indeed, besides their protein content, legumes are an excellent source of nutrients, including carbohydrates (soluble sugars and dietary fibers) (Berrios et al., 2010), B-group vitamins, and minerals. However, they also contain several compounds that display anti-nutritional activity (for instance, polyphenols and phytic acid) and inhibit mineral absorption, or that are non-digestible, such as alpha-galacto-oligosaccharides (α -GOS) (Aguilera et al., 2009; Vasishtha and Srivastava, 2013; Wang et al., 2009). α -GOS contain 1–3 units of galactose linked to sucrose by α -1,6 linkages that are not hydrolyzed in the upper part of the human gastrointestinal tract, due to the absence of the enzyme α -galactosidase. In the colon, they are fermented together with soluble dietary fibers by the colon microbiota, generating significant amounts of short-chain fatty acids (SCFA). These fermentation substrates stimulate the growth of lactobacilli and bifidobacteria and the decrease of enterobacteria in the intestinal microflora. This prebiotic action (Martínez-Villaluenga et al., 2008a; Slavin, 2013) is beneficial for the host's well-being and health. However, fermentation also produces gases (carbon dioxide, hydrogen, and methane) that generate bloating and flatulence. Flatus production is considered to be the most important deterrent to the consumption of grain legumes (Aguilera et al., 2009; Berrios et al., 2010).

Legumes are recognized as good sources of dietary fibers and their consumption is promoted for their positive effects on the treatment and prevention of constipation, the control of serum cholesterol levels, the reduction of the risk of diabetes and intestinal cancer, and the stimulation of the growth of beneficial microorganisms. Soluble dietary fibers (SDF) have been linked to cholesterol lowering in blood, while insoluble dietary fibers (IDF) have been associated with water absorption and regulatory intestinal effects (Perry and Ying, 2016b). IDF have a mechanical and irritating effect on the mucosa of the large bowel, thus stimulating the secretion of water and mucous as a defense mechanism against abrasion. IDF are poorly fermented, and remain relatively intact throughout the large intestine (McRorie and McKeown, 2017).

As all dietary poorly absorbed short-chain carbohydrates have similar and additive effects in the intestine, they have been collectively designated as fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides and polyols (FODMAPs) (Shepherd et al., 2013). FODMAPs, among which α -GOS, trigger gastrointestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome, while SDF could have a protecting effect. Therefore, FODMAP reduction in the diet, possibly associated with other dietary strategies, could be an efficient approach for managing irritable bowel syndrome.

Legumes are widely used in many traditional Mediterranean dishes. Several traditional household food-processing methods, including soaking and cooking (Hotz and Gibson, 2007), can reduce their anti-nutritional factors, particularly dietary fibers and α -GOS (Lestienne et al., 2005). Bahthoula is a Tunisian dish prepared with various soaked legume species (lentil, faba bean, Egyptian faba bean, fenugreek, and chickpea). Using this dish as a model, we studied the changes in dietary fibers and α -GOS content during soaking and cooking. The present study was undertaken i) to determine the content in soluble sugars, especially α -GOS (raffinose, stachyose and verbascose), and in SDF and IDF in the five Mediterranean legumes used for Bahthoula preparation; ii) to investigate and elaborate hypotheses on the mechanisms of their changes during soaking in traditional conditions; and finally iii) to study the effect of cooking on the whole Bahthoula dish, as eaten. This study was performed in the framework of the “Medina” project (<http://www6.inra.fr/medina>) with the aim of preserving the cultural heritage of the Mediterranean diet, as an outstanding resource for sustainable development because it contributes to promote the consumption of locally produced traditional foods.

2. Materials and methods

2.1. Legumes

Whole lentil (*Lens culinaris*), faba bean (*Vicia faba L. var. major.*), fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*), chickpea (*Cicer arietinum*), and Egyptian faba bean (*Vicia faba L. var. minor*; hereinafter, Egyptian FB) seeds were purchased from a local market in Tunis (Tunisia). As usual, Egyptian FB seeds were decorticated and split. Samples of the five raw seed species were ground using a laboratory mill (IKA M20, Labortechnik, Staufen, Germany) before soaking and cooking.

2.2. Soaking

Seeds (24 g) and mineral water (Volvic™) were mixed at a ratio of 1:4 (w/v), except for fenugreek seeds where the ratio was 1:5 (w/v) due to their high swelling capacity, and left to

soak at 25°C in an oven incubator for different times (1, 3, 6, 16 and 24h). Before soaking, the containers and water were kept at 25°C for few hours to reach the soaking temperature. At each time point during soaking, the water was drained from the container and stored at -18°C for analysis. The soaked seeds were washed and blotted dry (by patting with paper towel), and then water absorption by the seeds was monitored by weighing. The dry matter (DM) content of the soaked seeds, and pH of the soaking waters were also measured. Soaked seeds were then frozen, lyophilized, ground using a laboratory mill (IKA M20) and stored at -18°C for chemical analysis. Soaking waters were also kept at -18°C before analysis.

2.3. Experimental preparation of Bahthoula based on the traditional Tunisian recipe

An average recipe and a standard preparation procedure were derived from preparations of Bahthoula observed in four Tunisian households. The cooks were also asked to indicate a mean portion size at the end of the preparation. Each legume species (100g) used for the preparation of the dish was separately soaked for 16h in mineral water to mimic the overnight soaking performed in the households. Shortly before cooking, dried salted anchovies were bleached for 5min to reduce saltiness. Bahthoula was prepared by mixing the five soaked legumes (lentil, faba bean, Egyptian FB, fenugreek and chickpea) with 70g of anchovies, 150g of Mhamsa (couscous of coarse grain size obtained by rolling wheat semolina), 50g of olive oil, 100g of tomato paste, 90g of onions, 15g of garlic, and spices (14g of a caraway-coriander mixture, 10g of red pepper powder, 2g of black pepper, 3g of cloves, 12g of curcuma and 10g of salt). Then, 3L of boiling demineralized water was added, leading to a hot and heterogeneous mixture.

The preparation was simmered on a hot plate for 1h at boiling temperature. Analyses were carried out on raw and cooked samples to determine the effect of the traditional cooking practice on mono-, di- and oligosaccharide content. Samples were freeze-dried, grinded to obtain a homogeneous sample and kept at -18°C until analysis.

2.4. Physico-chemical analyses

The thousand seed weight (TSW) was measured for the five legume species (three replicates) as described in Ribeiro et al. (2012). The soaking water pH was monitored at the different time points (1h, 3h, 6h, 16h and 24h). The DM content was measured gravimetrically in triplicate, by drying in an oven at 105°C until constant weight (AOAC, 1995).

2.5. Insoluble and soluble dietary fibers

A standardized enzymatic-gravimetric method (Megazyme K-TDFR Kit) was used for determination of SDF and IDF, the sum of the two fractions corresponding to the TDF, also designed as the High Molecular Weight Dietary Fibers. The method is based on the procedure of the methods AOAC 985.29 and the Prosky method (Prosky et al., 1992). Each determination was made on duplicate samples. Shortly, MES-TRIS blend buffer solution (pH 8.2) was added to one g of dried sample and stirred until complete dispersion. Samples were incubated with pancreatic α -amylase at 96°C in a shaking water bath for 30min. Proteins in the sample were denatured and digested with protease at 60°C for 30min. Then, after adjusting the pH to 4.1-4.8, samples were incubated with amyloglucosidase at 60°C for 30 min. IDF were recovered in a crucible after vacuum filtration of the aqueous reaction mixture; the residue R1 was washed twice with distilled water preheated to 70°C. The filtrate and water washings were saved for determination of SDF. The residue was then washed twice again with 10 mL of 95% ethanol and acetone, and dried at 105°C overnight before weighing to determine R1 weight. For the determination of SDF, the mixture of filtrate and water washings was precipitated by adding four volumes of 95% ethanol. The precipitated mixture was vacuum-filtered and washed successively with ethanol 78%, ethanol 95% and acetone. The residue R2 was dried at 105°C overnight and weighed. For both R1 and R2 residues, one duplicate was analyzed for protein using the method of Kjeldahl (ISO 1871:2009) and the other was mineralized at 525°C to determine ash. R1 and R2 weights were corrected for protein and ash contents for the final calculation of the IDF and SDF contents. The whole procedure was done in duplicate for all samples, and results were averaged.

2.6. Analysis of mono-, di-saccharides and α -GOS

Mono- and disaccharides (glucose, fructose, arabinose, galactose, melibiose and sucrose) and α -GOS (raffinose, stachyose and verbascose) were extracted by mixing 80mg of each sample with ethanol (3 mL, 78%). Tubes were placed in a water bath at 80°C for 20min. After centrifugation at 4500 rpm at 4°C for 15min, supernatants were transferred to special Speedvac tubes and centrifuged again. Pellets were then rinsed with 2 mL of ethanol (without heating), centrifuged and transferred to new tubes. The supernatants of each sample from the three centrifugation steps were pooled (8 mL) and evaporated under vacuum (Speedvac RC 10). The dry extract was resuspended in 1 to 2 mL of H₂O before high-performance anion-exchange chromatography (HPAEC) analysis (Dionex), as previously described (Baye et al., 2013b). HPAEC analyses were performed with a CarboPac PA1 Guard pre-column (4 × 50

mm) and a CarboPac PA1 Analytical Column (4 × 250 mm). The mobile phase was 60mM sodium hydroxide (NaOH), the flow rate was set at 1 mL/min, and the injection volume was 30µl.

2.7. Statistical analysis

Data were analyzed using one-way ANOVA and the SPSS software, version 24.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL). The Tukey's multiple comparison test was used for pair-wise comparisons. A p-value <0.05 was the chosen level of significance.

3. Results and Discussion

3.1. Characterization of raw legume seeds

The TSW ranged from 24.6 ± 1.3 to 2098.8 ± 31.6 g depending on the species and variety (Table 23), highlighting the great differences in seed size (fenugreek seeds were the smallest and faba bean seeds the largest in this study). Moreover, seeds had very different morphologies: lens-shaped, spherical, or kidney-shaped (or elongated cardioid). The main sugars detected in the five legume species were monosaccharides (fructose, glucose, arabinose and galactose), disaccharides (sucrose and melibiose) and α -GOS (raffinose, stachyose and verbascose) (Table 23). The qualitative sugar and fiber profiles of the studied legumes were comparable, but with quantitative differences illustrating the diversity within this food group. Monosaccharide content was low in all seeds, mostly below 30 mg/100g DM, except for glucose and fructose in faba bean (80 mg/100g DM). Arabinose was present in minor concentration in fenugreek and lentil, and only in traces in faba bean, Egyptian FB and chickpea. Egyptian FB had the lowest contents in monosaccharides. Sucrose was the main disaccharide in raw seeds. The highest quantities were found in faba bean and chickpea, where it represented more than 2.5% of the seed weight. Melibiose was present in minor concentration in lentil and faba bean, and in trace amounts in fenugreek, chickpea and Egyptian FB. Raw legume seeds contained large amounts of total α -GOS (Table 23), from about 2500 mg/100 g DM in chickpea to more than 4000 mg/100g DM in fenugreek. The main α -GOS were raffinose, stachyose, verbascose. Huge differences in α -GOS content were observed among the five legume seeds. Raffinose was present in moderate to low amounts in most legumes, as reported by Reddy et al. (1984), and the highest quantities were detected in fenugreek and chickpea. Stachyose was clearly the predominant α -GOS in fenugreek, lentil and chickpea, while verbascose was the main α -GOS in faba bean and Egyptian FB. Although Egyptian FB seeds were decorticated, their sugar profile was similar to that of the faba bean (both are of the same species) because these sugars are mainly located inside the seeds, and

not in the external coat. Overall, the sugar profiles of the five legume species were consistent with the literature data (Martin-Cabrejas et al., 2006; Rupérez, 1998; Sanchez-Mata et al., 1998).

IDF represented between 69 and 87% of all dietary fibers in all five legumes (Table 23). SDF contents varied noticeably among legume species. They represented about 30% of all dietary fibers in fenugreek and 13% to 27% in the other legume seeds. Fenugreek seeds were the richest in both IDF and SDF (almost two thirds of the total DM). This could be partly explained by the small seed size, as indicated by their low TSW, making the proportion of seed coat larger. In agreement, Zdunczyk et al. (1997) reported that smaller-sized pea seeds have significantly higher fiber content than larger-sized seeds. However, in fenugreek seeds, the seed coat is separated from the embryo by a whitish translucent endosperm that is mainly composed of soluble galactomannan gum (Sakhare et al., 2015).

Table 23. Mono-, di-, oligosaccharide and dietary fiber contents in five raw legumes.

	Fenugreek	Lentil	Chickpea	Faba bean	Egyptian FB
Thousand seed weight (g)	24.6 ± 1.3	44.2 ± 1.1	633.6 ± 14.0	2098.8 ± 31.6	267.1 ± 2.6
Dry matter (DM) (%)	89.4 ± 0.2	89.2 ± 0.0	90.5 ± 0.2	89.4 ± 0.1	88.5 ± 0.1
Monosaccharides (mg/100g DM)					
Galactose	11.1 ^a ± 1.2	24.9 ^b ± 5.7	8.2 ^a ± 1.7	11.1 ^a ± 2.0	10.0 ^a ± 1.8
Glucose	10.5 ^a ± 1.5	23.9 ^b ± 1.1	7.8 ^a ± 1.1	81.1 ^c ± 7.2	3.9 ^d ± 1.1
Fructose	16.0 ^a ± 1.1	20.4 ^a ± 3.3	14.6 ^a ± 4.4	90.4 ^b ± 15.7	2.5 ^c ± 0.4
Arabinose	5.0 ^a ± 0.6	7.9 ^b ± 2.7	1.2 ^c ± 0.4	0.7 ^c ± 0.3	0.3 ^c ± 0.2
Disaccharides (mg/100g DM)					
Sucrose	762 ^a ± 68	1885 ^b ± 233	2561 ^c ± 339	2533 ^c ± 105	2038 ^b ± 40
Melibiose	0.1 ^a ± 0.0	3.1 ^b ± 1.6	1.3 ^c ± 0.2	0.1 ^a ± 0.0	0.1 ^a ± 0.0
α -GOS (mg/100g DM)					
Raffinose	504 ^a ± 47	283 ^b ± 13	516 ^a ± 15	290 ^b ± 80	167 ^c ± 20
Stachyose	3656 ^a ± 307	1829 ^b ± 75	1824 ^b ± 140	960 ^c ± 51	720 ^d ± 98
Verbascose	313 ^a ± 25	850 ^b ± 62	82 ^a ± 8	2354 ^c ± 165	2573 ^c ± 507
<i>Total</i>	4463 ^a ± 379	2962 ^b ± 150	2487 ^b ± 37	3504 ^b ± 296	3460 ^b ± 625
Dietary fiber (g/100g DM)					
Insoluble Dietary Fibers	44.2 ^a ± 0.8	20.2 ^b ± 0.0	21.4 ^b ± 3.4	30.3 ^c ± 0.0	11.5 ^d ± 0.4
Soluble Dietary Fibers	20.2 ^a ± 0.7	3.9 ^b ± 0.0	4.6 ^b ± 0.1	4.6 ^b ± 0.2	4.2 ^b ± 0.2
<i>Total</i>	64.4 ^a ± 1.5	24.0 ^b ± 0.0	25.9 ^b ± 3.5	34.9 ^c ± 0.2	15.7 ^d ± 0.6

Results are the mean ± standard deviation of three independent measurements. Values in the same row with different superscript letters are significantly different (p <0.05, Tukey's test was used for post-hoc comparison).

These authors found that fenugreek seeds contain about 30% of gel-forming soluble fibers, like guar and psyllium seeds. In the other four legume seeds, fiber content was still high, although not as high as in fenugreek. Their SDF fractions were comparable, whereas the IDF fraction was higher in faba bean due to its tough seed coat (Rowland, 1977), and much lower in decorticated Egyptian FB because IDF is mainly located in the seed coat (Rowland, 1977).

3.2. Effect of soaking

3.2.1. Water absorption

The legume seed samples displayed typical water absorption behaviors, characterized by an initial phase of rapid water imbibition (water gain increased sharply), followed by an equilibrium phase, during which the legumes approached their full soaking capacity (the water absorption rate steadily decreased) (Figure 18a). Similar curves were previously reported for other grains and seeds (Sayar et al., 2001). The rapid initial water uptake is attributed to the filling of capillaries on the surface of the seed coat. Then, the water absorption rate decreases sharply when water fills open capillary and inter-micellar spaces. The decrease in water absorption rate could also be explained by the fact that water filling reduces the driving force (i.e., the concentration difference between the soaking medium and the legumes) (Sayar et al., 2001).

Again, fenugreek exhibited a different behavior compared with the other seeds. The other four seeds reached the saturation moisture content (around 100-110% DM) after 6h of soaking. Conversely, fenugreek absorbed higher quantity of water and faster, and continued to absorb water, reaching around 250% DM after 24h and without attaining a clear equilibrium. This huge water absorption capacity is due to the soft and mucilaginous layer of the seed coat, rich in galactomannans, as reported by Meghwal and Goswami (2012).

3.2.2. Dry matter and pH of soaking water

For all seeds, the pH of the soaking water decreased from approximately 7.0 to 6.0-4.7 (lowest value for Egyptian FB) after 24h of soaking (Figure 18b). This acidification suggests leaching of acidic compounds, such as malic or citric acids, during soaking (Sarmiento et al., 2015) and/or spontaneous lactic acid fermentation. Indeed, it was reported that pH decreases during lentil fermentation (Frias et al. (1996); Vidal-Valverde et al. (1994).

After 24h of soaking, the DM leached in soaking water was 1.35%, 1.55%, 3.15%, 2.86% and 2.67% in faba bean, lentil, chickpea, Egyptian FB and fenugreek seeds, respectively (Figure 18c). The amount of DM leached in the soaking water was lower than the DM amount lost by

the seeds during soaking (results not shown), and this could be explained by losses in gaseous form, by respiration or fermentation (Dung et al., 2010).

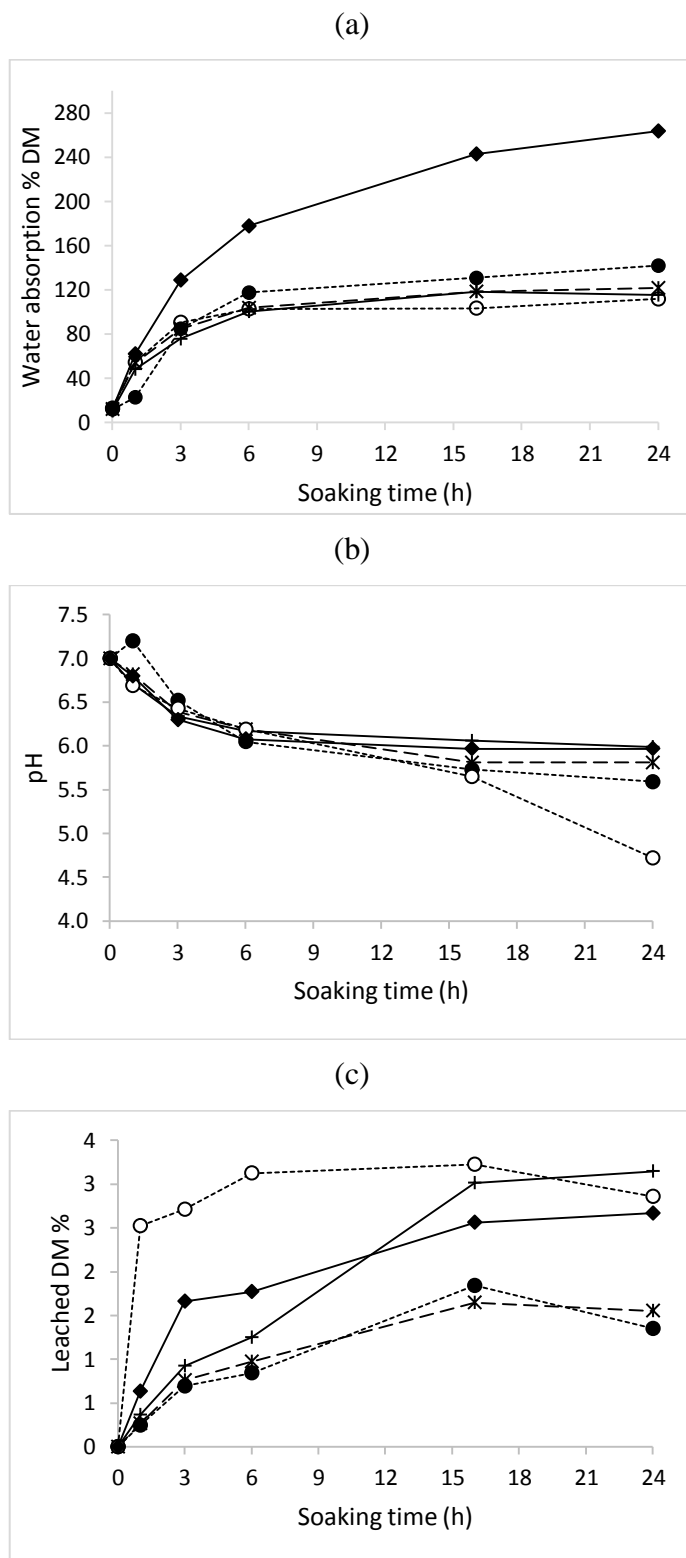


Figure 18. Effects of soaking on (a) water absorption of legume seeds, (b) pH of the soaking water and (c) leached DM.

—◆— Fenugreek -*- Lentil -+ Chickpea -●- Faba bean -○- Egyptian FB

3.2.3. Changes in soluble sugar and α -GOS content during soaking

For all legumes, soaking led to a variable reduction in the total α -GOS content (Figure 19), depending on the seed type and soaking time point. This decrease could result from leaching i.e. diffusion in the soaking water, or from enzymatic degradation that can take place in the seeds or in the soaking water (Coffigniez et al., 2017).

After 16h of soaking (the traditional soaking time in Tunisian households), the total α -GOS loss ranged from 10% (lentil and faba bean) to 40% (chickpea seeds). Longer soaking time further reduced the α -GOS content only in fenugreek that exhibited an almost linear decrease of α -GOS content. In the other seed types, a slight increase in total α -GOS was observed between 16 and 24h. This could be a passive increase caused by the leaching of other soluble compounds from the seeds in the soaking water.

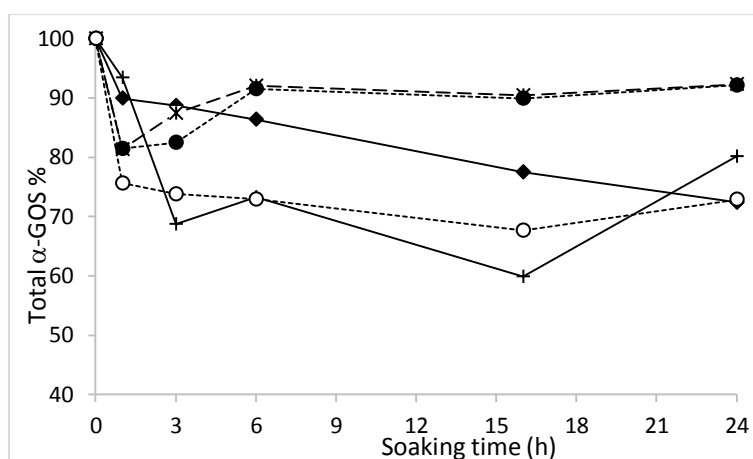


Figure 19. Changes in total α -GOS content in legumes during soaking.

—◆— Fenugreek --*-- Lentil —+— Chickpea —●— Faba bean —○— Egyptian FB

Analysis of the changes in the content of each α -GOS (expressed as percentage of the initial content; Figure 20) showed that verbascose displayed the fastest and largest decrease during the first three hours of soaking, except in fenugreek. Previous works reported that α -GOS spatial distribution in legume seeds can be heterogeneous (Sreerama et al., 2010). In chickpea and horse grain, higher concentrations of α -GOS are present in cotyledons than in seed coat, and verbascose is the major α -GOS in the seed coat (Sreerama et al., 2010). Stachyose is present in higher amounts in both cotyledon and embryonic axe fractions, although substantial amounts of raffinose and verbascose can also be found in these fractions. This could explain

why verbascose content decreased early during soaking. However, verbascose content strongly decreased also in decorticated Egyptian FB seeds. The decreases in stachyose and raffinose, the two lower forms of α -GOS, was slower and moderate, particularly in faba bean and Egyptian FB. Their leaching could be offset by partial verbascose hydrolysis by α -galactosidase, as indicated by the increase (147% after 1h of soaking) of galactose content in both seed varieties (Figure 21). Significant decreases in stachyose and raffinose contents were observed in chickpea (40% for both α -GOS) and fenugreek (26% and 49%, respectively) (Figure 20). As a consequence of this more pronounced α -GOS hydrolysis, galactose production was more important (above 200% after 1h and around 1000% after 24h of soaking).

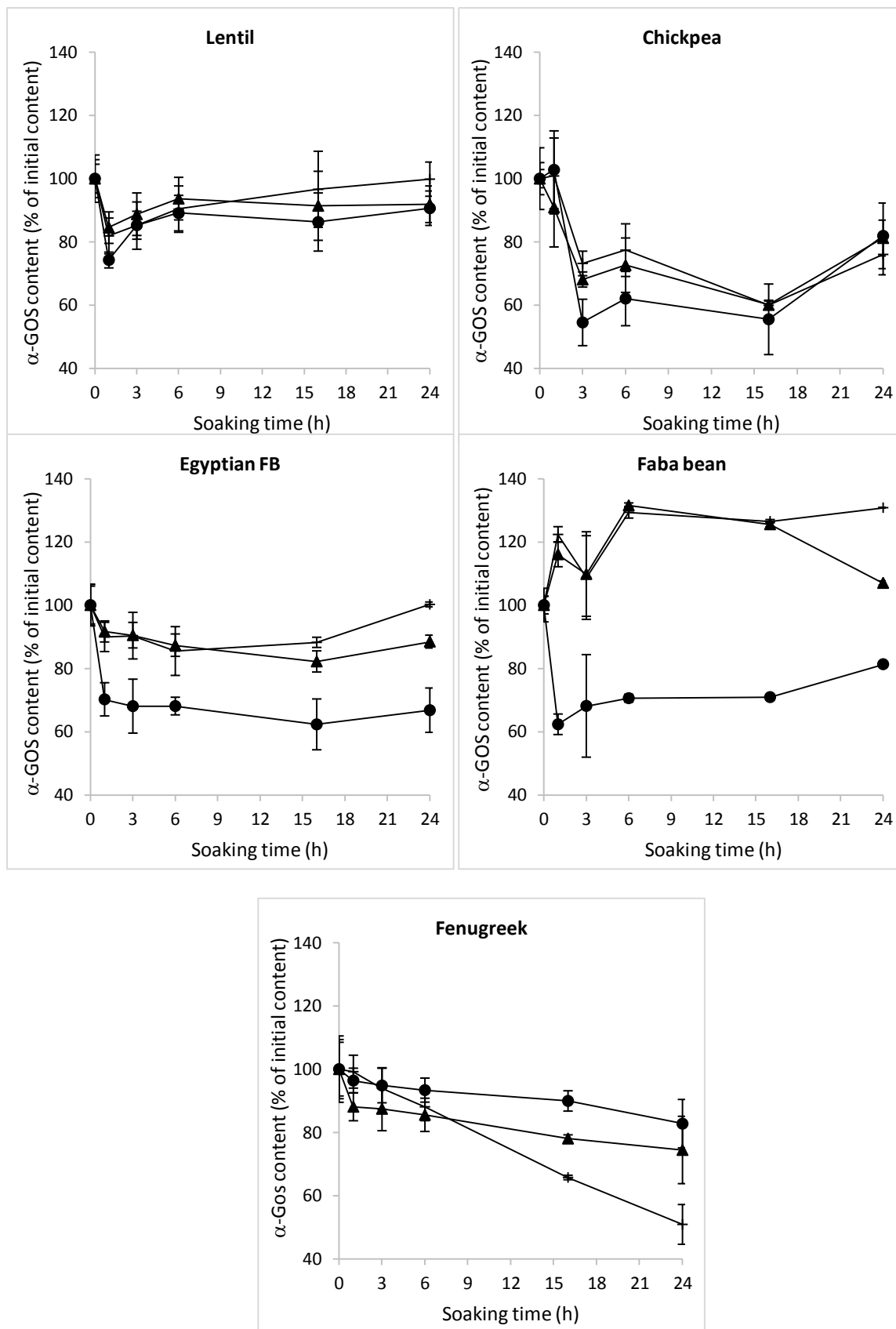


Figure 20. Effect of soaking at 25°C on the α-GOS content of legume seeds.

+ Raffinose ▲ Stachyose ● Verbascose

A significant sucrose hydrolysis occurred in all five legumes during soaking. This resulted in an increase in the glucose and fructose content particularly in fenugreek (Figure 21). Conversely, in the other legumes, glucose and fructose increased, but then mostly diffused in the soaking water. At the end of soaking period, their concentration decreased probably because they were used for respiration (in the seed) and/or fermentation (in the soaking water).

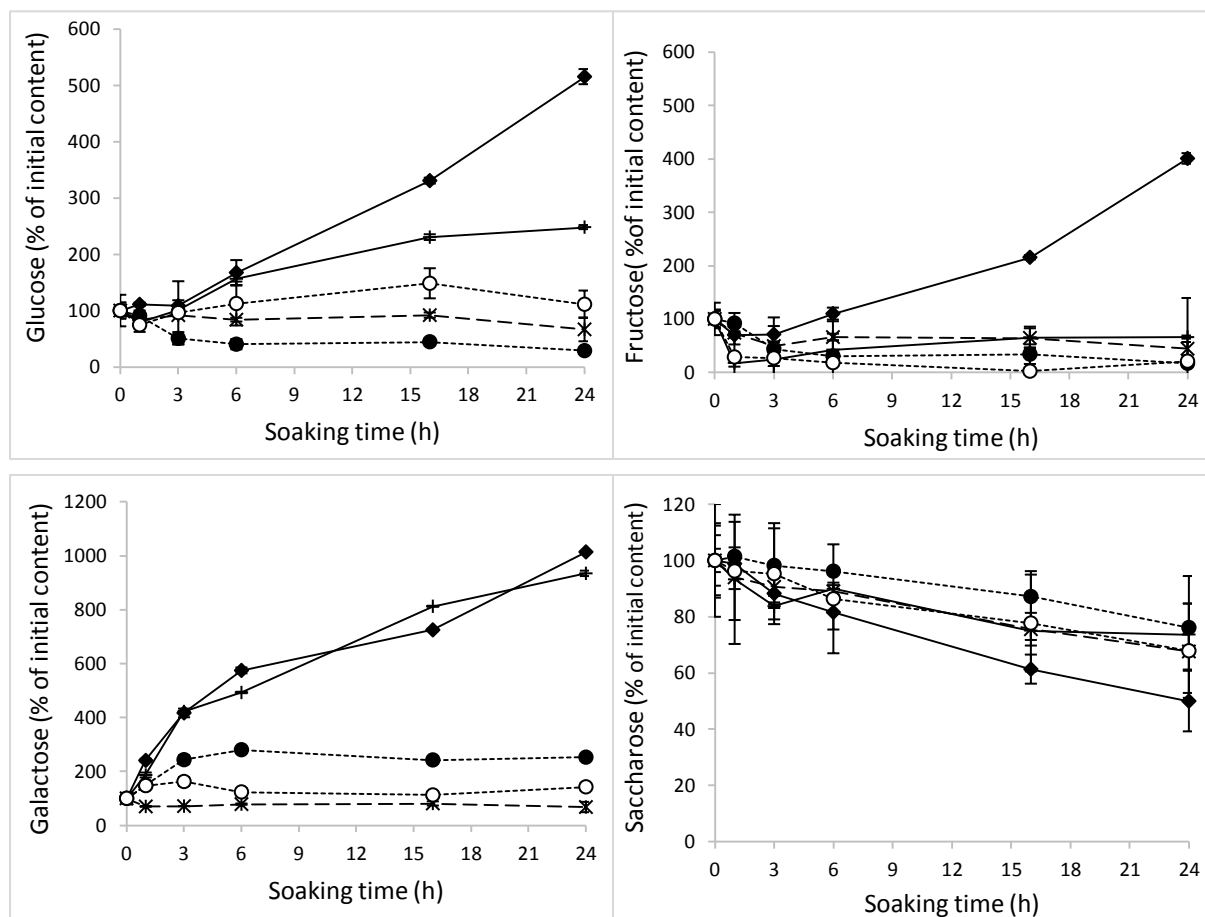
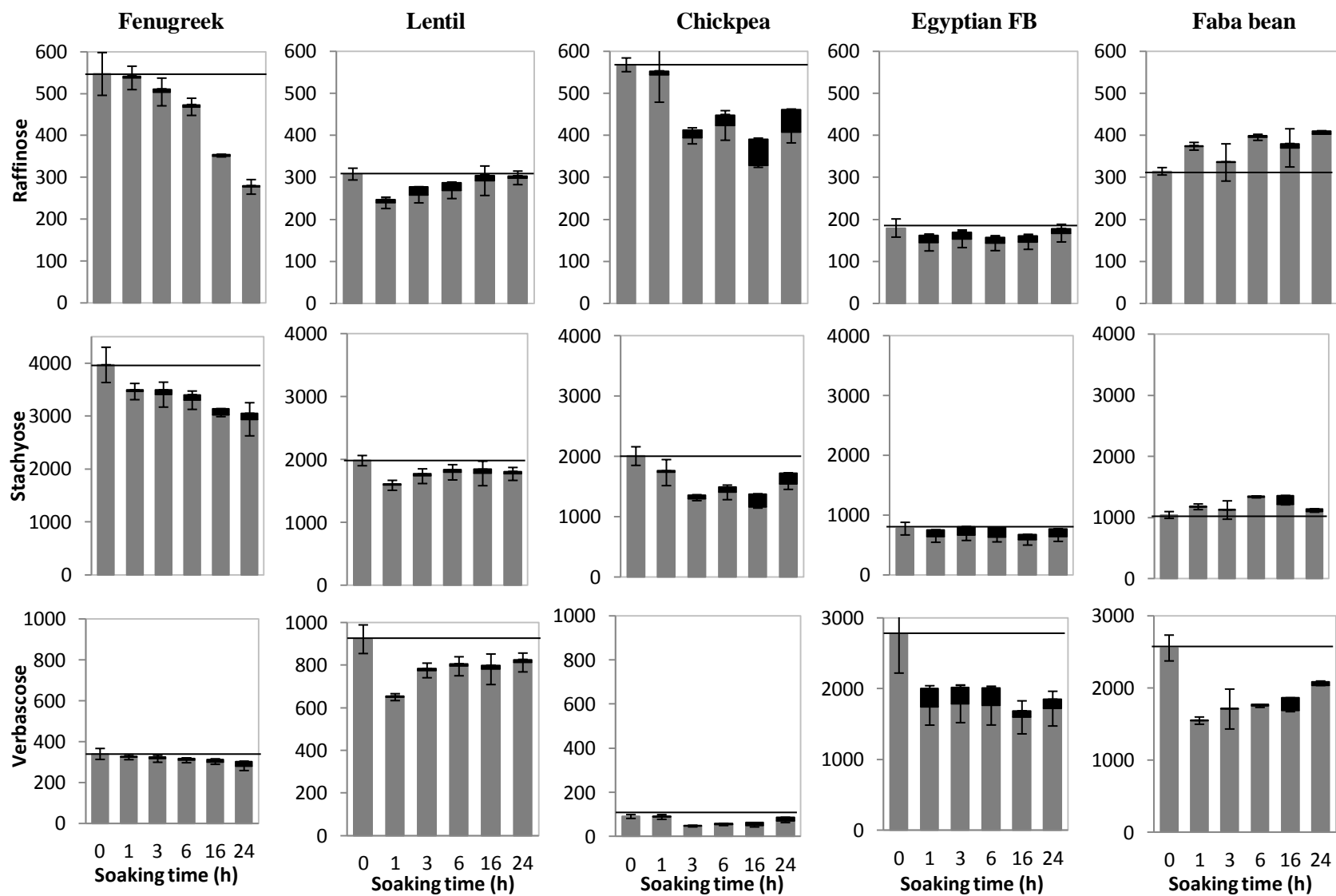


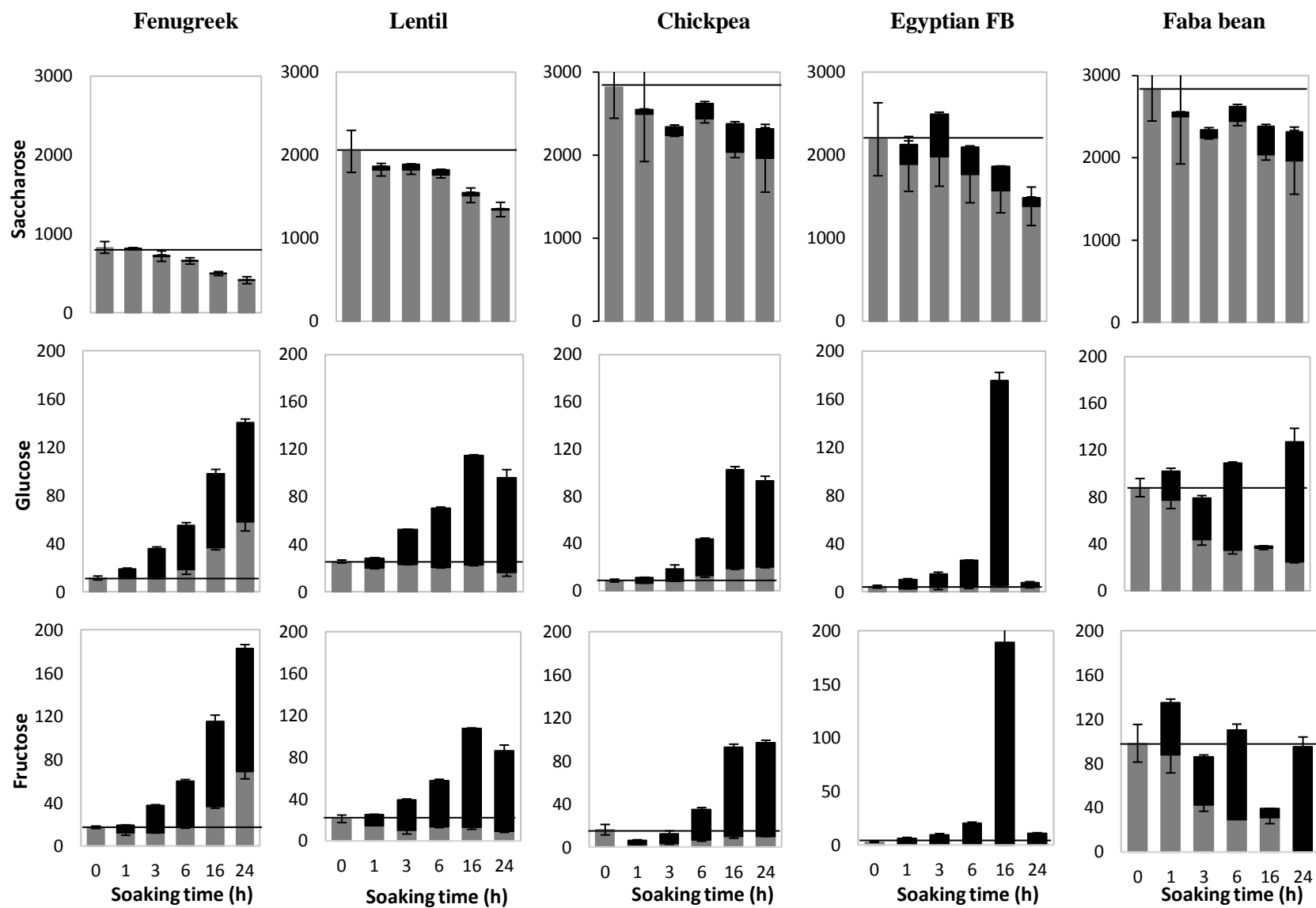
Figure 21. Effect of soaking at 25°C on the content of some mono- and di- saccharides in the five legume seeds.

◆ Fenugreek --*-- Lentil + Chickpea ● Faba bean ⊙ Egyptian FB

Significant α -GOS reduction by soaking has been previously reported in soybean (Mulimani et al., 1997) and various legumes, including lentil and faba bean (Abdel-Gawad, 1993). During soaking, seeds absorb water, while raffinose, stachyose and verbascose, which are all water-soluble, may leach out of the seeds into the soaking water (Coffigniez et al., 2017; Han

and Baik, 2006), or are enzymatically degraded to lower molecular weight sugars (Berrios et al., 2010; Martínez-Villaluenga et al., 2008a; Vidal-Valverde et al., 2002). Indeed, very low amounts of α -GOS were found in soaking water (Figure 22). And large amounts of hydrolysis products, such as galactose, glucose and fructose, were found in the soaked seeds and also in the soaking water (Figure 22). This indicated that enzymatic degradation occurred in the seeds and in the soaking water, after leaching. Endogenous alpha-galactosidase is present in seeds (Coffigniez et al., 2017) and produces raffinose from stachyose, and stachyose from verbascose, at low soaking temperatures. Alpha-galactosidase hydrolyzes α -GOS by cutting the terminal galactose, and this could explain the increase in galactose content observed in fenugreek, faba bean, Egyptian FB and chickpea during soaking. Overall, similar changes were observed for the five legumes. Nevertheless, the more detailed analysis revealed specific behaviors that could be due to several factors, such as the presence and thickness of the seed coat, the shape and size of the seeds and also the metabolic specificity of each legume species, related for example to the presence of mucilage or α -galactosidase activity.





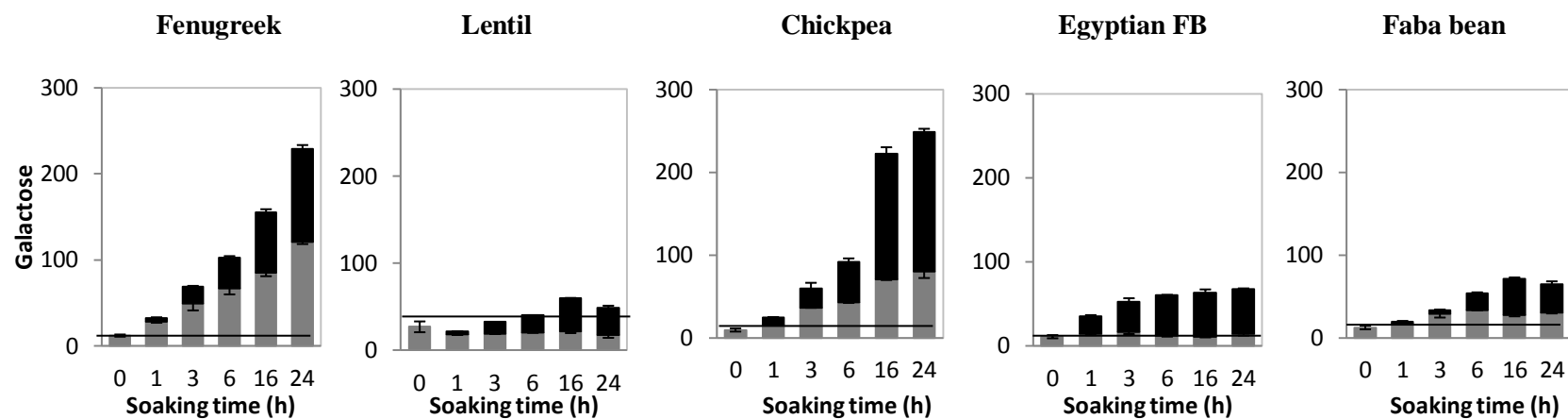


Figure 22 (Supplementary Figure 1). Amounts of α -GOS, di- and mono-saccharides in legume seeds (grey) and soaking water (black) during soaking (in mg per 100g DM of initial seeds). Error bars are for average deviation of two independent repetitions on seeds and soaking waters.

3.2.4. Changes in insoluble and soluble dietary fiber content during soaking

The impact of soaking on the dietary fibers was variable. In some legumes, IDF content decreased significantly during the first hours of soaking (fenugreek showed the highest reduction (-28% at 6h) while in other legumes, the reduction was low (lentil, -17% at 6h) or even not significant (Table 24). This reduction could be due to partial IDF solubilization from cell wall material (Aguilera et al., 2009; Rehman et al., 2004), which is not closely linked to the fiber matrix. In chickpea, faba bean and Egyptian FB, a small IDF reduction could have been masked by its passive increase due to leaching of other soluble compounds after several hours of soaking. On the other hand, the SDF fraction showed a quantitative increase of +41% in fenugreek and of +3% in lentil seeds at 1h. In the other legumes, SDF content tended to increase during the first hour soaking, but this was significant only for Egyptian FB (+27% at 1h). SDF increase can be of health interest because fibers have recognized positive effects on health, and are better tolerated when soluble (Fernandes et al., 2010). Similar results (significant increase in SDF with a concomitant decrease in IDF contents) were previously reported for chickpea, pink mottled cream bean, and white bean (Aguilera et al., 2009). Legumes display different behaviors due to the specific structure and composition of their cell wall network (Martin-Cabrejas et al., 2006). The composition of the dietary fiber fraction depends on its localization in the seed coat (outer fibers) or in the cotyledons (inner fibers). The relative content of cellulosic and non-cellulosic polysaccharides is significantly different between inner and outer dietary fibers. The cotyledon cell walls contain mainly a range of polysaccharides with various degrees of solubility (e.g., hemicellulose and pectin, and cellulose). The seed coat contains mainly water-insoluble, non-digestible carbohydrates (primarily cellulose) and lower amounts of hemicellulose and pectin (Guillon and Champ, 2002).

3.3. Effect of cooking

3.3.1. Changes in mono-, di-, oligo-saccharide and soluble and insoluble fiber content in the Bahthoula dish at the end of cooking

Cooking after soaking led to a further decrease in raffinose (-32%), stachyose (-25%) and verbascose (-35%) and to a significant increase in galactose content (+54%) in the whole dish (Table 25). This should be attributed to further enzymatic degradation, due to better conditions for the expression of α -galactosidase activity. Alpha-galactosidase from lentils are active in the temperature range 20-50°C and up to 65°C, and have optimal pH of 4.7, 5.5 or 6.1, depending on their isoforms (Celem et al., 2009; Dey et al., 1983).

Table 24. Changes in soluble and insoluble fiber contents during seed soaking.

Soaking time (h)	Fenugreek	Faba bean	Chickpea	Lentil	Egyptian FB
IDF (g/100g DM)					
0	44.2 ^a ± 0.8	30.3 ± 0.0	21.4 ± 3.4	20.2 ^{ab} ± 0.0	11.5 ± 0.4
1	34.3 ^b ± 1.3	29.0 ± 0.2	20.6 ± 1.3	21.0 ^a ± 0.0	11.8 ± 1.9
3	33.9 ^b ± 0.2	27.7 ± 0.5	19.2 ± 2.7	18.6 ^{cd} ± 0.2	11.6 ± 0.2
6	31.9 ^b ± 0.5	29.8 ± 1.8	17.7 ± 0.2	17.2 ^d ± 0.3	12.1 ± 0.1
16	34.7 ^b ± 1.5	28.9 ± 0.2	19.0 ± 0.3	19.0 ^{bc} ± 0.3	12.1 ± 0.6
24	34.8 ^b ± 0.5	30.8 ± 1.4	21.8 ± 0.0	17.3 ^d ± 0.8	12.2 ± 0.2
SDF (g/100g DM)					
0	20.2 ^a ± 0.7	4.6 ± 0.2	4.6 ± 0.1	3.9 ± 0.0	4.2 ^a ± 0.2
1	28.7 ^b ± 1.2	5.6 ± 0.6	5.1 ± 0.3	4.2 ± 0.2	6.0 ^b ± 0.6
3	30.5 ^b ± 1.4	5.7 ± 0.7	5.6 ± 0.4	4.1 ± 0.2	5.7 ^{ab} ± 0.1
6	32.6	5.4 ± 0.1	5.6 ± 0.7	4.2 ± 0.6	5.8 ^{ab} ± 1.0
16	30.8 ^b ± 1.2	5.8 ± 0.0	5.6 ± 0.0	4.3 ± 0.6	5.3 ^{ab} ± 0.8
24	31.2 ^b ± 1.2	5.7 ± 0.1	5.1 ± 0.0	4.0 ± 0.0	5.3 ^{ab} ± 0.6

Results are the mean ± average deviation of two independent repetitions. Values in the same column with different superscript letters are significantly different

(p < 0.05, Tukey's test was used for post-hoc comparison). DM, dry matter; IDF, insoluble dietary fibers; SDF, soluble dietary fibers

Indeed the pH of all soaked legumes after 16h-soaking was around 6.0 as shown in figure 18. During heating, the temperature increased progressively and conditions were met for higher α -galactosidase action. Cooking also increased the IDF content of the Bahthoula dish (+23%), while the SDF fraction remained almost constant (Table 25). Similarly, a previous study showed that cooking markedly increases IDF content in chickpea (Perez-Hidalgo et al., 1997; Vasishtha and Srivastava, 2013). This IDF increase can be due to the formation of resistant starch that is partially measured the method used for fiber determination. An increase in IDF during cooking can be attributed to Maillard's reaction. It is possible that thermal processing may have caused production of Maillard reaction products and thus increases its IDF value (Vasishtha and Srivastava, 2013).

Table 25 (Supplementary Table 1). Effect of cooking on mono- and di- saccharide, α -GOS and dietary fiber contents in the Bahthoula dish.

	Bahthoula dish	
	Before cooking	After 1h of cooking
Monosaccharides (mg/100g DM)		
Galactose	26.1 ^a ± 1.4	57.3 ^b ± 0.4
Glucose	996.9 ^a ± 22.7	903.6 ^b ± 5.7
Fructose	1235.5 ± 29.4	1222.5 ± 73.4
Arabinose	5.8 ± 0.2	5.5 ± 0.4
Total	2264.3 ± 53.7	2188.9 ± 79.9
Disaccharides (mg/100g DM)		
Sucrose	1299.1 ± 1.4	1219.7 ± 65.2
Melibiose	0.0 ± 0.0	1.8 ± 2.5
Total	1299.1 ± 1.4	1221.5 ± 67.7
α -GOS (mg/100g DM)		
Raffinose	167.7 ^a ± 3.3	113.8 ^b ± 17.6
Stachyose	766.0 ^a ± 45.7	575.4 ^b ± 32.8
Verbascose	483.3 ^a ± 1.4	315.7 ^b ± 18.6
Total	1417.0 ± 50.4	1004.9 ± 69.0
Dietary fibers (g/100g DM)		
Soluble Dietary Fibers	7.0 ± 0.2	7.5 ± 0.5
Insoluble Dietary Fibers	17.4 ^a ± 1.2	21.4 ^b ± 2.1
Total	24.4 ± 1.3	28.9 ± 2.6

Results are the mean ± average deviation of two independent measurements. Values in the same row with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$, Tukey's test was used for post-hoc comparison). DM, dry matter.

3.3.2. *Contribution of the Bahthoula dish to the fiber and α -GOS intake*

The minimum total dietary fiber intake recommended by WHO and FAO (2003) is at least 25 g/day, with an optimal intake of 30 g/day for adults. The consumption of a portion of 296 g of Bahthoula (the mean usual portion indicated by Tunisian cooks) would provide 18.7 g of total dietary fibers, thus covering 62% of the average recommended intake for adults. The Bahthoula dish could be considered as an outstanding source of total dietary fibers. α -GOS act as beneficial compounds due to their prebiotic action, but could also cause digestive troubles and act as anti-nutritional factors. The balance between the beneficial and adverse effects mainly depends on the dose at which the α -GOS are consumed. It has been suggested that a daily amount of 3 g of α -GOS is enough to obtain the beneficial prebiotic action, while higher doses could cause too much flatulence and digestive troubles (Martínez-Villaluenga et al., 2008a). A portion of 296 g of Bahthoula provides 0.7 g of total α -GOS, thus contributing to 22% of the effective daily dose. However, for people suffering from irritable bowel disease, further decrease in α -GOS content would be desirable. This could be obtained by determining the optimal temperature and pH conditions to allow the maximum alpha-galactosidase activity. Characterizing and modeling alpha-galactosidase activity as a function of the processing conditions has been proposed in order to identify optimized pathways to enhance enzymatic degradation and hence reduce α -GOS content more efficiently (Coffigniez et al., 2017). This would require the development of models specific for each seed species.

The results of this study highlight that traditional dishes, which prominently include legumes, represent an important component of healthy diets and contribute to human nutrition and food security. This may in turn foster strategies of sustainable gastronomy, promoting awareness for the need of healthy and balanced diets (Marinangeli et al., 2017).

4. Conclusion

The consumption of legumes is generally recommended to improve dietary profiles, but is hindered by gastrointestinal discomfort associated with their richness in α -GOS and fiber. The present study shows that traditional soaking in water (i) reduces total α -GOS content due to partial leaching and enzymatic degradation occurring both inside and outside the seeds, (ii) induces partial solubilization of IDF with a concomitant increase of SDF. Cooking further decreased the levels of total α -GOS but increased IDF. Further studies will be carried out to explore the effects of germination/fermentation that are usual in Mediterranean countries, and could enhance α -GOS and fiber degradation. Traditional culinary practices offer healthy

legume-based dishes that contribute to the adequate amounts of dietary fibers and α -GOS required for a well-balanced diet.

Acknowledgments

The authors thank the “Agence Nationale de la Recherche” for its financial support (grant number ANR-12-TMED-0004).

Disclosure statement

All authors have no conflicts of interest.

References

- Abdel-Gawad AS. 1993. Effect of domestic processing on oligosaccharide content of some dry legume seeds. *Food Chemistry*. 46:25-31.
- Aguilera Y, Martín-Cabrejas MA, Benitez V, Molla E, Lopez-Andreu FJ, Esteban RM. 2009. Changes in carbohydrate fraction during dehydration process of common legumes. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22:678–683.
- AOAC. 1995. Official methods of analysis. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Baye K, Mouquet-Rivier C, Icard-Vernière C, Rochette I, Guyot JP. 2013. Influence of flour blend composition on fermentation kinetics and phytate hydrolysis of sourdough used to make injera. *Food Chemistry*. 138:430–436.
- Berrios JJ, Morales P, Cámara M, Sánchez-Mata MC. 2010. Carbohydrate composition of raw and extruded pulse flours. *Food Research International*. 43:531–536.
- Coffigniez F, Briffaz A, Mestres C, Alter P, Durand N, Bohuon P. 2017. Multi-response modeling of reaction-diffusion to explain alpha-galactoside behavior during the soaking-cooking process in cowpea. *Food Chemistry*. 242:279-287.
- Dung DD, Godwin IR, Nolan JV. 2010. Nutrient content and in sacco degradation of hydroponic barley sprouts using nutrient solution or tap water. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 9:2432-2436.
- Fernandes AC, Nishida W, Costa-Proença RP. 2010. Influence of soaking on the nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cooked with or without the soaking water: a review. *International Journal of Food Science and Technology*. 45:2209–2218.
- Frias J, Vidal-Valverde C, Kozłowska H, Tabera J, Honke J, Hedley CL. 1996. Natural fermentation of lentils. Influence of time, concentration and temperature on the kinetics of monosaccharide, disaccharide and α -galactosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44:579-584.
- Guillon F, Champ MMJ. 2002. Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *British Journal of Nutrition*. 88:293–306.
- Han IH, Baik BK. 2006. Oligosaccharide content and composition of legumes and their reduction by soaking, cooking, ultrasound, and high hydrostatic pressure. *Cereal Chemistry*. 83 428–433.

- Hotz C, Gibson RS. 2007. Traditional food-processing and preparation practices to enhance the bioavailability of micronutrients in plant-based diets. *The Journal of Nutrition*. 137:1097–1100.
- Lestienne I, Icard-Vernière C, Mouquet C, Picq C, Trèche S. 2005. Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. *Food Chemistry*. 89:421–425.
- Marinangeli CPF, Curran J, Barr SI, Slavin J, Puri S, Swaminathan S, Tapsell L, Patterson CA. 2017. Enhancing nutrition with pulses: defining a recommended serving size for adults. *Nutrition Reviews*. 75:990–1006.
- Martin-Cabrejas MA, Aguilera Y, Benitez V, Mollà E, Lopez-Andréu FJ, Esteban RM. 2006. Effect of industrial dehydration on the soluble carbohydrates and dietary fiber fractions in legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54:7652–7657.
- Martínez-Villaluenga C, Frias J, Vidal-Valverde C. 2008. Alpha-galactosides: Antinutritional factors or functional ingredients? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 48:301-316.
- McRorie JW, McKeown NM. 2017. Understanding the physics of functional fibers in the gastrointestinal tract: An evidence-based approach to resolving enduring misconceptions about insoluble and soluble fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 117:251-264.
- Meghwal M, Goswami TK. 2012. A review on the functional properties, nutritional content, medicinal utilization and potential application of fenugreek. *Journal of Food Processing & Technology*. 3:1-10.
- Mulimani VH, Thisppeswamy S, Ramalingam G. 1997. Effect of soaking, cooking and crude α -galactosidase treatment on the oligosaccharide content of soybean flour. *Food Chemistry*. 59:279-282.
- Perez-Hidalgo MA, Guerra-Hernández E, García-Villanova B. 1997. Dietary fiber in three raw legumes and processing effect on chickpeas by an enzymatic-gravimetric method. *Journal of Food Composition and Analysis*. 10:66-72.
- Perry JR, Ying W. 2016. A review of physiological effects of soluble and insoluble dietary fibers. *Journal of Nutrition & Food Sciences*. 6:476.
- Reddy NR, Pierson MD, Sathe SK, Salunkhe DK. 1984. Chemical, nutritional and physiological aspects of dry bean carbohydrates-a review *Food Chemistry*. 13:25-68.
- Rehman ZU, Rashid M, Shah WH. 2004. Insoluble dietary fibre components of food legumes as affected by soaking and cooking processes. *Food Chemistry*. 85:245–249.
- Ribeiro ND, Maziero SM, Prigol M, Nogueira CW, Rosa DP, Possobom MTF. 2012. Mineral concentrations in the embryo and seed coat of common bean cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*. 26:89–95.
- Rowland GC. 1977. Seed coat thickness and seed crude fibre in faba beans (*Vicia faba*). *Canadian Journal of Plant Science*. 57:951-953.
- Rupérez P. 1998. Oligosaccharides in raw and processed legumes. *Z Lebensm Unters Forsch*. 206:130-133.
- Sakhare SD, Inamdar AA, Prabhasankar P. 2015. Roller milling process for fractionation of fenugreek seeds (*Trigonella foenumgraecum*) and characterization of milled fractions. *Journal of Food Science and Technology*. 52:2211–2219.

- Sanchez-Mata MC, Penuela-Teruel MJ, Camara-Hurtado M, Diez-Marques C, Torija-Isasa ME. 1998. Determination of mono-, di-, and oligosaccharides in legumes by high-performance liquid chromatography using an amino-bonded silica column. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46:3648–3652.
- Sarmento A, Barros L, Fernandes Â, Carvalho AM, Ferreira IC. 2015. Valorization of traditional foods: nutritional and bioactive properties of *Cicer arietinum* L. and *Lathyrus sativus* L. pulses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 95:179-185.
- Sayar S, Turhan M, Gunasekaran S. 2001. Analysis of chickpea soaking by simultaneous water transfer and water-starch reaction. *Journal of Food Engineering*. 50:91-98.
- Shepherd SJ, Lomer MCE, Gibson PR. 2013. Short-chain carbohydrates and functional gastrointestinal disorders. *The American Journal of Gastroenterology*. 108:707-717.
- Slavin J. 2013. Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients*. 5:1417-1435.
- Sreerama YN, Neelam DA, Sashikala VB, Pratape VM. 2010. Distribution of nutrients and antinutrients in milled fractions of chickpea and horse gram: Seed coat phenolics and their distinct modes of enzyme inhibition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58:4322–4330.
- Vasishtha H, Srivastava RP. 2013. Effect of soaking and cooking on dietary fibre components of different type of chickpea genotypes. *Journal of Food Science and Technology*. 50:579–584.
- Vidal-Valverde C, Frias J, Estrella I, Gorospe MJ, Ruiz R, Bacon J. 1994. Effect of processing on some antinutritional factors of lentils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42:2291–2295.
- Vidal-Valverde C, Sierra I, Frias J, Prodanov M, Sotomayor C, Hedley C, Urbano G. 2002. Nutritional evaluation of lentil flours obtained after short-time soaking process. *European Food Research Technology*. 215:138–144.
- Vigiliouk E, Mejia SB, Kendall CWC, Sievenpiper JL. 2017. Can pulses play a role in improving cardiometabolic health? Evidence from systematic reviews and meta-analyses. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1392:43–57.
- Wang N, Hatcher DW, Toews R, Gawalko EJ. 2009. Influence of cooking and dehulling on nutritional composition of several varieties of lentils (*Lens culinaris*). *LWT - Food Science and Technology*. 42:842–848.
- WHO, FAO. 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva, Switzerland: WHO Technical Report.
- Zdunczyk Z, Godycka I, Amarowicz R. 1997. Chemical composition and content of antinutritional factors in Polish cultivars of peas. *Plant Foods for Human Nutrition*. 50:37-45.

3.3 Publication: Behaviours of mineral and phytate during soaking and cooking processes in five Mediterranean legumes: Implications for mineral bioavailability

Résumé des principaux résultats

Les légumineuses représentent une composante importante de l'alimentation durable dans la région méditerranéenne. Elles ont un grand intérêt nutritionnel, apportant des teneurs importantes en minéraux. Cependant, la présence des phytates, chélateurs des minéraux, diminuent leur biodisponibilité. De ce fait, les procédés culinaires traditionnels (trempage et cuisson) peuvent être utilisés pour améliorer la biodisponibilité.

Les légumineuses étudiées (fève, féverole, lentille, pois chiche et fenugrec) ont été trempées (1, 3, 6, 16 et 24h) et cuites pour la préparation du plat traditionnel la bahthoula. Les teneurs en minéraux et en phytates ont été déterminées dans les légumineuses crues et trempées et dans le plat entier. La biodisponibilité des minéraux a été examinée à l'aide des ratios molaires phytate/minéral.

Les résultats ont montré que la teneur en minéraux dans les légumineuses crues était élevée. La lentille était la graine la plus riche en fer et la moins riche en magnésium et potassium, tandis que la fève était la plus riche en ces deux minéraux. Le fenugrec était la plus riche en calcium et la féverole contenait les teneurs les plus importantes en zinc et en cuivre. Les légumineuses étudiées sont caractérisées par la présence de teneur élevée en acide phytique, et qui variait selon l'espèce. Le procédé de trempage a entraîné une réduction significative de la teneur en minéraux juste après une heure à l'exception pour le zinc et le magnésium. Cette diminution pourrait être due au lessivage dans l'eau de trempage et dépendait de l'espèce de légumineuse, de l'épaisseur de l'enveloppe externe et du pH du milieu de trempage. La teneur en fer a diminué significativement pour toutes les légumineuses sauf pour le fenugrec et la réduction la plus importante s'est produite dans la graine de lentille (70% à 1h). Le trempage a réduit la teneur en calcium de 53% dans la lentille, 27% dans la fève et de 11% dans le fenugrec. Parmi les minéraux étudiés, le zinc était le minéral le plus retenu dans les légumineuses et sa teneur a augmenté au cours du trempage. Une partie des minéraux lessivés à partir des graines a été retrouvée dans l'eau de trempage. En ce qui concerne l'acide phytique, le trempage n'a pas eu un effet significatif.

La cuisson des légumineuses (1h/100°C) après un trempage de 16h à 25°C a diminué la teneur en fer (14%) et en calcium (8%) dans le plat entier de la bahthoula, tandis qu'une augmentation de la teneur en zinc, magnésium, sodium et potassium a été observée. La teneur en acide phytique dans la bahthoula était faible et ne variait pas après le procédé de la cuisson

traditionnelle. Les ratios molaires phytate/minéral indiquaient une biodisponibilité optimale pour le zinc et le calcium dans la bahthoula, tandis que celle de fer était faible.

**Behaviours of mineral and phytate during soaking and cooking processes in five
Mediterranean legumes: Implications for mineral bioavailability**

Sondos Njoumi^{1, 2}, Sihem Bellagha¹, Christèle Icard-Vernière², Isabelle Rochette², Marie-
Josèphe Amiot³, Claire Mouquet-Rivier²

Draft

¹VPNATI, UR17AGR01 INAT, Univ. Carthage, Tunis, Tunisia.

² NUTRIPASS, IRD, Univ. Montpellier, Montpellier, France.

³ MOISA, CIRAD, CIHEAM-IAAM, INRA, SUPAGRO, Montpellier, France.

Abstract

Five Mediterranean legume seeds (lentil, fenugreek, faba bean, Egyptian faba bean and chickpea) were subjected to soaking for 1, 3, 6, 16 and 24h and to 16h soaking followed by cooking as used in a traditional dish preparation. Raw and processed seeds were studied for their contents of mineral and phytate. The bioavailability of Fe, Zn and Ca in the dish was estimated by calculating the phytate/mineral molar ratios. The mineral content of raw legumes was high. Lentil had the highest Fe contents and the lowest Mg and K contents, while faba bean had the highest content of Mg and K. The fenugreek had the highest content of Ca and the Egyptian FB was the richest in Zn and Cu contents. Raw legumes seeds contained high amount of phytic acid, ranging from 0.4 to 1.0 g/100 g DM depending on the botanical origin of the seeds.

Soaking led to changes in the contents of Fe, Ca, K and Cu to varying extents. Fe content decreased, with the highest reduction occurring in lentil seeds (70% at 1h). Soaking also led to a significant decline in Ca content, respective losses amounting to 53%, 27%, and 11% at 1h for lentil, faba bean, and fenugreek. Meanwhile, Zn content increased significantly after 1h-soaking and then remained constant in all the studied legumes. Part of the minerals leached from the seeds was found in the soaking water. Cooking reduced Fe (14%) and Ca (8%) contents in the dish, while an increase of Zn, Mg, Na, Al and K was recorded after cooking. However, both processes had very little influence on the phytic acid content.

Results indicated an optimal bioavailability of Zn and Ca in the dish, whereas it showed a poor bioavailability of Fe.

Keywords: Legume; Mediterranean dish; Mineral; Phytate; Molar ratio; Bioavailability

1. Introduction

Legumes represent an important component of sustainable diet model throughout the Mediterranean area especially in the developing countries (FAO, 2016, 2017). Legume plants comprise many species, and legume seeds differ considerably in their chemical composition and nutritive value (Grela et al., 2017) even if they present some common traits. It is often claimed that legumes are important to human health, providing a high proportion of minerals (Aguilera et al., 2009; Wang et al., 2009). However, total mineral content of legumes is generally high, but their bioavailability is poor due to the presence of phytate in high quantities (Cheryan and Rackis, 1980; Hurrell, 2004; Lönnerdal, 2000; Lopez et al., 2002; Wang et al., 2010). Phytic acid, also known as myo-inositol hexakisphosphate or IP6, is the principal storage form of phosphorus in seeds; salt of phytic acid are phytate. Phytic acid carries a strong negative charge and is capable to act as a strong chelator of divalent cations such as Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} and Zn^{2+} (González-Córdova et al., 2016; Khattab and Arntfield, 2009; Lazarte et al., 2015; Shi et al., 2018). The inhibitory effect of phytate on the absorption of minerals is due to the formation of insoluble and thus indigestible phytate–mineral complexes in the gut. This negative effect depends not only on the amount of phytate in the food, but also on the molar ratios of phytate:mineral. Desirable molar ratios of phytate:mineral have been suggested as an indicator of the bioavailability level (low, average or high) of the minerals (Hotz et al., 2003). Ratios above the desirable values indicate that the bioavailability of the mineral is low and highly affected by the phytate content (Lazarte et al., 2015). Removal of phytate is therefore a first step for improving the nutritional quality of legumes and, subsequently, to increase their potential as human food (Egli et al., 2002; ElMaki et al., 2007).

Several traditional household food processing can be used to enhance the bioavailability of micronutrients in plant-based diets. These include soaking and cooking (Hotz and Gibson, 2007; Shehu et al., 2017) which could be efficient for the reduction of anti-nutritional factors such as phytic acid (Adebayo, 2014; Duhan et al., 2002; Lestienne et al., 2005; Pandey and Awasthi, 2015). Given the paucity of reliable data, it appears important to obtain more data concerning the content of essential minerals such as zinc, iron and calcium, as well as of the main inhibitor, phytate, in the most consumed foods. This is desirable in order to improve dietary evaluations and have a more informed approach towards the relative mineral bioavailability. Zinc and iron are the micronutrients that are both most often found to be

deficient; this is expected because they have a similar distribution in the food and they have common inhibitors that affect their bioavailability in similar ways (Lazarte et al., 2015).

In Tunisia, an emerging Mediterranean country, legumes are widely used to prepare domestic dishes like “Bahthoula”. This traditional meal is prepared with soaked legumes (lentil, faba bean, Egyptian FB, fenugreek, and chickpea). To our knowledge, nothing has been reported until now with regards to the nutrient composition of this traditional dish and the impact of domestic processing on mineral and anti-nutritional factors contents. Within the framework of “Medina” project (<http://www6.inra.fr/medina>), our study aims to preserve the cultural heritage of the Mediterranean diet as an outstanding resource for sustainable development as it contributes in promoting local production and consumption, encouraging locally produced traditional foods (CIHEAM and FAO, 2015). The impact of food transformations on final nutritional quality of food products is a major question. Therefore, in continuation of the study on the plant-based dish “Mloukhiya” (Njoumi et al., 2018) and given the fact that the bioavailability of commonly consumed foods in Tunisia has not at all been studied, the present study was undertaken i) to investigate the effect of soaking duration (1h, 3h, 6h, 16h and 24h) on lentil, faba bean, fenugreek, Egyptian faba bean and chickpea and cooking process of the whole dish on the content of iron, zinc, calcium, potassium, magnesium and copper which are minerals of great public health importance (FAO and WHO, 2004) and also to make comparison where possible between these five seeds ; ii) to determine the effect of these two processes on the anti-nutritional factor (phytate) and iii) to predict the mineral intestinal absorption using [phytate]/[mineral] molar ratios and to estimate the dish potential contribution to the recommended daily mineral intakes.

2. Materials and Methods

2.1. Legumes

Whole seeds of lentil (*Lens culinaris*), faba bean (*Vicia faba L. var. major.*), fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) and chickpea (*Cicer arietinum*) were purchased from the local market in Tunis (Tunisia). Egyptian faba bean (*Vicia faba L. var. minor.*), hereinafter referred to as Egyptian FB were also purchased, but as usual, the seeds were in the decorticated and split state. The five species of seeds were ground before analysis using a laboratory mill (IKA M20, Labortechnik, Staufen, Germany).

2.2. Soaking treatment

Legume seeds and mineral water (Volvic™) were mixed at a ratio 1:4 (w/v), except for fenugreek where ratio was 1:5 (w/v) due to high swelling capacity, and left to soak for different times: 1, 3, 6, 16 and 24 h at 25°C in an oven incubator. Before experiments, the containers and water were kept at the desired temperature for a few hours to reach the soaking temperature. At the end of the soaking period, the water was drained and kept for analysis and the soaked seeds were washed and blotted dry (by patting with paper towel). Water absorption in legume seeds was monitored at 1h, 3h, 6h, and 16h and 24h, by weighing the seeds after dewatering. Dry matter (DM) content of soaked seeds and pH of soaking waters were also measured. The soaked seeds were then frozen, lyophilized, ground using a laboratory mill (IKA M20) and finally stored at -18°C until chemical analysis. Soaking waters were also kept at -18°C before analysis.

2.3. Experimental preparation of Bahthoula based on the Traditional Tunisian recipe

An average recipe and a standard preparation procedure were derived from preparations of Bahthoula observed in four Tunisian households. The cookers were also asked to indicate a mean portion size at the end of the preparation. Hundred g of each of the five legume species used for the preparation of the dish were separately soaked for 16 hours in mineral water, in order to mimic the overnight soaking mostly observed in households. Shortly before cooking, the dried salted anchovies were bleached for 5 minutes in order to reduce saltiness. Bahthoula was prepared by mixing the five legumes (lentil, faba bean, Egyptian FB, fenugreek and chickpea) previously soaked, 70 g of anchovies, 150 g spherical pasta from durum wheat, 50 g olive oil, 100 g tomato paste, 90 g onions, 15 g garlic and spices (14 g of a mixture caraway-coriander, 10 g red pepper powder, 2 g black pepper, 3 g cloves, 12 g curcuma and 10 g salt). Then, 3L of boiling demineralized water was added, leading to a hot and heterogeneous mixture.

The preparation was simmered on a hot plate for 1 h at boiling temperature. The analyses were carried out on both raw and cooked samples to make it possible to determine the effect of the traditional cooking practice on mineral and phytate contents. Samples were freeze-dried, grinded in order to have a homogeneous sample and kept at -18°C until analysis.

2.4. Physico-chemical analyses

The pH was monitored during the soaking of seeds (1h, 3h, 6h, 16h and 24h). The DM content was measured gravimetrically in triplicate, by drying in an oven at 105°C until constant weight (AOAC, 1995).

2.5. Mineral determination

The total content of iron, zinc, calcium, magnesium, potassium and copper content was analyzed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) using an ICP-OES 5100 instrument (Agilent Technologies, Les Ulis, France) after wet mineralization of the freeze-dried samples with acid hydrogen peroxide (H₂O₂) and concentrated nitric acid (HNO₃), using an Ethos 1 microwave digestion system (Milestone, Sorisole, Italy). The closed vessels were placed in the microwave oven and digested at 1200 W for one hour as described by Hama et al. (2011a). A BCR® certified reference material (BCR 191, brown bread) was used as control for ICP-OES measurements.

2.6 Anti-nutritional factor: Phytate content

The phytic acid (IP₆) content was determined by high-performance anion-exchange chromatography (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) after sample extraction in 0.5M HCl at 100 °C for 6min, according to the method described by Baye et al. (2013a). The phytate content was determined in the raw seed and after 24 hours of soaking. The phytate content has been carried out at 1, 3, 6, 16 and 24h on the soaking waters and before (0h) and after cooking (1h) for the whole dish.

2.7. Prediction of iron, zinc and calcium absorption using [phytate]/[mineral]molar ratios

Iron, calcium and zinc bioavailability were predicted by calculating the molar ratios phytate/iron, phytate/calcium, phytate/zinc and phytate x Ca/Zn, using the reported critical maximum values of 0.2 (Hurrell et al., 2003), 0.17, 18 (Gibson et al., 2010) and 200 (Kwon and Kwon, 2000) respectively.

2.8. Statistical Analysis

Data were analyzed using one-way ANOVA with the SPSS version 24.0 software (SPSS, Inc., Chicago, IL). The Tukey's multiple comparison test was used for pair-wise comparisons. A p-value <0.05 was the chosen level of significance.

5. Results and discussion

5.1.Characterization of raw legumes

The iron content of raw legumes was high, ranging between 4.3 and 21.4 mg/100 g DM, with the lower value observed in Egyptian FB and the higher in lentil (table 26). Lentil had the highest iron content and the lowest magnesium and potassium content, while faba bean had the highest content of magnesium and potassium. The fenugreek had the highest content of calcium and the Egyptian FB was the richest in zinc and copper contents. Legumes seeds are an excellent source of essential minerals, particularly, iron, calcium, magnesium and potassium.

Raw legumes seeds contain high amount of phytic acid. In legumes seeds, phytate are distributed throughout the cotyledon and located within the subcellular inclusions of aleurone grains or protein bodies (are associated with protein bodies) (Gupta et al., 2015; Reddy et al., 1982). The phytate contents of the different raw materials (table 26) varied from 0.4 to 1.0 g/100 g DM depending on the botanical origin of the seeds. These values are close to those reviewed by Lestienne et al. (2005) in mung bean, cowpea, soybean.

Table 26. Total mineral (Fe, Ca, Zn, Mg, Cu, K) and phytate contents of raw legumes.

	DM (%)	Minerals (mg/100 g DM)						Phytate (g IP6/100 g DM)
		Fe	Ca	Zn	Mg	Cu	K	
Lentil	89.2 ± 0.0	21.4 ± 0.5	167 ± 4.1	3.4 ± 0.2	99 ± 2	1.0 ± 0.0	901 ± 22	0.4 ± 0.0
Chickpea	90.5 ± 0.2	6.0 ± 0.0	139 ± 5.9	2.8 ± 0.4	126 ± 3	0.9 ± 0.0	1132 ± 8	0.7 ± 0.1
Fenugreek	89.4 ± 0.2	6.7 ± 0.1	211 ± 1.4	3.7 ± 0.1	127 ± 2	1.6 ± 0.1	1067 ± 18	0.6 ± 0.1
Faba bean	89.4 ± 0.1	6.0 ± 0.2	143 ± 3.4	3.0 ± 0.1	135 ± 6	1.2 ± 0.0	1352 ± 54	1.0 ± 0.1
Egyptian FB	88.5 ± 0.1	4.3 ± 0.2	61 ± 2.7	3.8 ± 0.0	107 ± 6	1.6 ± 0.0	1185 ± 44	0.8 ± 0.1

5.2. Effect of soaking process

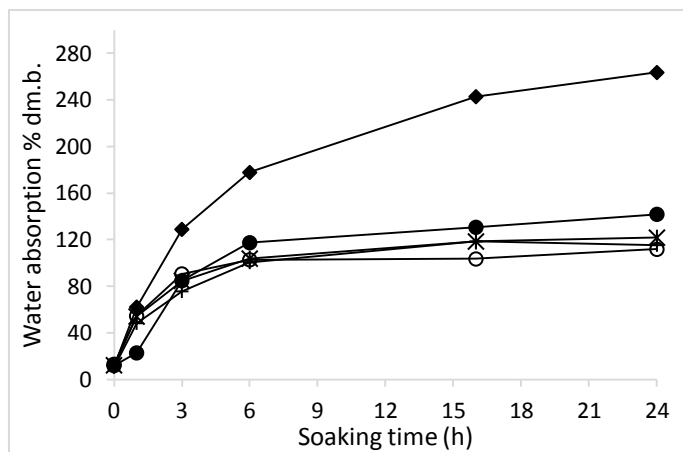
5.2.1. Water absorption

The legume seed samples exhibited typical water absorption behaviors, characterized by an initial phase of rapid water imbibition (water gain increased sharply) followed by an equilibrium phase, during which the legumes approached their full soaking capacity (the water absorption rate steadily decreased) (figure 23). Similar curves have been seen for other grains and seeds in previous studies (Maneesh-Kumar et al., 2016; Sayar et al., 2001; Turhan et al., 2002). The rapid initial water uptake is attributed to the filling of capillaries on the surface of the seed coats (Maneesh-Kumar et al., 2016). Then, the water absorption rate decreased sharply when water filled free capillary and inter micellar spaces. The decrease in water absorption rate may also be due to the fact that water filling reduces the driving force (i.e. concentration difference between the soaking medium and legumes) (Maneesh-Kumar et al., 2016; Sayar et al., 2001). Fenugreek exhibited a different behaviour compared to other types of seeds. The legumes reached saturation moisture content around 100-110% DM after 6 hours of soaking, when fenugreek absorbed higher quantity of water and faster and continued to absorb reaching around 250% DM after 24h and without reaching any clear equilibrium. This huge water absorption capacity is due to the soft and mucilaginous layer of the seed coat, rich in galactomannans as reported by Meghwal and Goswami (2012).

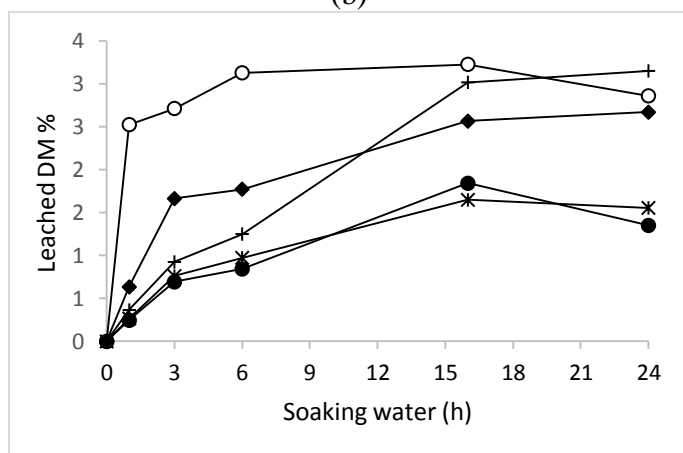
5.2.2. Dry matter and pH of soaking water

pH decreased in the soaking waters of all the legume seeds during soaking ranging from 4.7 to 6.0 after 24h, while the initial pH was approximately 7.0 (figure 23). The pH decrease was higher in Egyptian FB (pH_{24h} of 4.7). This acidification might suggest that acidic compounds such as malic or citric acids leached out during the soaking time (Alexander-Jok et al., 2014; Sarmiento et al., 2015) and/or the starting of spontaneous lactic acid fermentation. Granito et al. (2002) observed a lowering in pH during fermentation of bean, as well as Frias et al. (1996); Vidal-Valverde et al. (1994) for lentil. After 24 h of soaking, the leached DM in soaking water was around 1.35%, 1.55%, 3.15%, 2.86% and 2.67% respectively in faba bean, lentil, chickpea, Egyptian FB and fenugreek, (figure 23). The DM quantity found in the soaking waters was low, lower than that lost in the seed, and this could indicate losses in gaseous form, by respiration or fermentation (Dung et al., 2010).

(a)



(b)



(c)

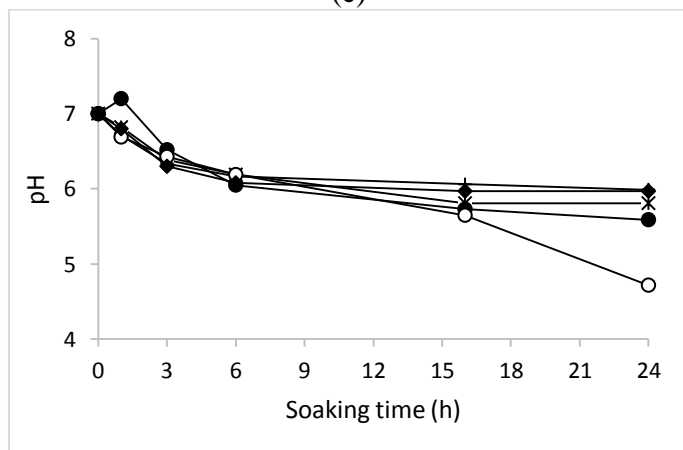


Figure 23. Effects of soaking on (a) Water absorption of legume seeds, (b) leached DM and (c) pH of the soaking water.

◆ Fenugreek * Lentil + Chickpea ● Faba bean ○ Egyptian FB

5.2.3. *Changes in mineral content in legumes seed and soaking waters during soaking time*

A general reduction in mineral contents was observed after one hour of soaking except for zinc and magnesium. An increase in the soaking period led to a change in the content of iron, calcium, potassium and copper to varying extents (table 27). The iron content of soaked legumes was significantly lower than raw seeds for all the studied legumes except for fenugreek. The highest reduction in iron content occurred in lentil seeds (70% at 1h). Soaking led to significant declines in calcium content, respective losses amounting to 53%, 27%, and 11% at 1h for lentil, faba bean, and fenugreek, since most of the calcium in the seed is usually present in a poorly soluble form associated with phytate in the cotyledons (Reddy et al., 1989) or in complexes with oxalate and pectins in the seed coat (Porres et al., 2005). The decrease in mineral contents in the studied legumes during soaking was significant, it may be attributed to leaching into the soaking water (Lestienne et al., 2005).

Meanwhile, zinc content increased significantly after 1h and then remained constant in all the studied legumes. Among the studied minerals, zinc was the most retained within the soaked seed. For all studied legumes, zinc leaching was negligible compared to iron and this could be due to the fact that zinc and iron are not located in the same place in the seeds nor are they linked with the same molecules (Lestienne et al., 2005). This could also be due to the strong association of this mineral to a large number of enzymes (Lestienne et al., 2005) and protein in the cells of the cotyledon of the seed (legume seed coat do not contain any protein), where it plays an important structural role (Karkle and Beleia, 2010; Lestienne et al., 2005).

The trend observed was consistent with the results of Hooda and Jood (2003) and Duhan et al. (2002) who observed that soaking resulted in a decrease in calcium and iron contents in fenugreek and pigeon pea respectively. Also, like what was reported earlier by Lestienne et al. (2005), soaking whole mung bean, cowpea, soybean seeds for 24 h led to leaching of iron and, to a lesser extent, of zinc into the soaking medium. The amount of mineral that leaches into the soaking medium during the course of processing depends on legume species, coat thickness and soaking medium pH (Porres et al., 2005). A part of the minerals lost from the seeds was found in the soaking medium. As compared to the content at 1h, it was observed that after 3h, the leaching of iron decreased significantly in the soaking water of lentil, chickpea, fenugreek and faba bean. In the soaking water, low levels of zinc and copper were observed. While, high levels of calcium, magnesium and potassium were found.

Table 27. Mineral content of studied legumes during soaking process.

Legumes	Soaking time (h)	Fe	Ca	Zn	Mg	Cu	K
(mg/100 g DM)							
Lentil	0	21.4 ^a ± 0.5	167 ^a ± 4.1	3.4 ^a ± 0.2	99 ^a ± 2	1.0 ^a ± 0.0	901 ^a ± 22
	1	6.8 ^b ± 0.2	83 ^b ± 3.5	4.2 ^b ± 0.2	96 ^{ab} ± 4	0.9 ^b ± 0.1	691 ^b ± 28
	3	6.4 ^b ± 0.1	83 ^b ± 1.1	4.1 ^b ± 0.0	94 ^{ab} ± 2	0.9 ^b ± 0.0	663 ^{bc} ± 10
	6	6.1 ^b ± 0.0	84 ^b ± 3.3	4.2 ^b ± 0.1	92 ^{ab} ± 1	0.9 ^{ab} ± 0.0	691 ^{bc} ± 28
	16	6.3 ^b ± 0.1	81 ^b ± 0.3	4.1 ^b ± 0.0	91 ^b ± 1	0.9 ^{ab} ± 0.0	641 ^c ± 3
	24	6.2 ^b ± 0.0	83 ^b ± 2.3	4.1 ^b ± 0.1	90 ^b ± 1	0.9 ^{ab} ± 0.0	616 ^c ± 4
Chickpea	0	6.0 ^a ± 0.0	139 ^a ± 5.9	2.8 ^a ± 0.4	126 ^a ± 3	0.9 ^a ± 0.0	1132 ^a ± 8
	1	5.8 ^{bc} ± 0.1	135 ^{ab} ± 6.1	3.6 ^a ± 0.2	135 ^b ± 4	0.9 ^b ± 0.0	883 ^b ± 22
	3	5.9 ^{ac} ± 0.0	117 ^b ± 0.1	3.7 ^b ± 0.1	131 ^{ab} ± 1	0.9 ^b ± 0.0	834 ^c ± 6
	6	5.8 ^{bc} ± 0.0	135 ^{ab} ± 8.9	3.6 ^a ± 0.0	136 ^b ± 0	1.0 ^a ± 0.0	817 ^c ± 5
	16	5.3 ^d ± 0.0	129 ^{ab} ± 0.8	3.3 ^a ± 0.0	127 ^a ± 1	0.8 ^c ± 0.0	748 ^d ± 3
	24	5.8 ^{ac} ± 0.1	130 ^{ab} ± 1.0	3.4 ^a ± 0.0	131 ^{ab} ± 1	0.9 ^b ± 0.0	735 ^d ± 6
Fenugreek	0	6.7 ± 0.1	211 ± 1.4	3.73 ^a ± 0.1	127 ^{ab} ± 2	1.6 ^a ± 0.1	1067 ^a ± 18
	1	6.2 ± 0.2	189 ± 1.1	4.9 ^b ± 0.2	135 ^a ± 3	1.5 ^{ab} ± 0.1	835 ^b ± 21
	3	6.2 ± 0.0	185 ± 1.0	4.9 ^b ± 0.0	128 ^{ab} ± 3	1.4 ^{bc} ± 0.0	721 ^c ± 7
	6	6.2 ± 0.3	181 ± 0.9	4.8 ^b ± 0.2	124 ^b ± 3	1.4 ^c ± 0.1	694 ^{cd} ± 17
	16	6.2 ± 0.0	186 ± 1.8	4.9 ^b ± 0.0	124 ^b ± 3	1.3 ^c ± 0.0	654 ^d ± 10
	24	6.5 ± 0.1	190 ± 1.4	5.1 ^b ± 0.0	130 ^{ab} ± 1	1.3 ^c ± 0.0	670 ^{cd} ± 6

Table 27 (continued). Mineral contents of studied legumes during soaking process.

Legumes	Soaking time (h)	Fe	Ca	Zn	Mg	Cu	K
		(mg/100 g DM)					
Faba bean	0	6.0 ^{ab} ± 0.2	143 ± 3.4	3.0 ^a ± 0.1	135 ^a ± 6	1.2 ^a ± 0.0	1352 ^a ± 54
	1	5.4 ^a ± 0.1	99 ± 0.4	3.5 ^b ± 0.1	144 ^b ± 3	1.0 ^b ± 0.0	985 ^b ± 19
	3	5.5 ^a ± 0.0	94 ± 2.8	3.5 ^b ± 0.0	137 ^{ab} ± 3	1.1 ^{ab} ± 0.0	951 ^b ± 16
	6	6.0 ^{ab} ± 0.3	112 ± 1.3	3.5 ^b ± 0.1	139 ^{ab} ± 3	1.0 ^{ab} ± 0.1	1032 ^b ± 25
	16	6.0 ^{ab} ± 0.2	111 ± 1.0	3.3 ^a ± 0.1	140 ^{ab} ± 4	0.9 ^b ± 0.0	959 ^b ± 34
	24	6.6 ^b ± 0.2	104 ± 0.0	3.7 ^b ± 0.0	146 ^b ± 1	1.1 ^{ab} ± 0.0	1005 ^b ± 15
Egyptian FB	0	4.3 ^a ± 0.2	61 ± 2.7	3.8 ^a ± 0.0	107 ± 6	1.6 ^a ± 0.0	1185 ^a ± 44
	1	4.7 ^b ± 0.0	56 ± 0.2	4.5 ^b ± 0.1	112 ± 0	1.4 ^b ± 0.0	872 ^b ± 6
	3	4.6 ^b ± 0.1	55 ± 0.3	4.5 ^b ± 0.1	108 ± 2	1.4 ^b ± 0.0	828 ^b ± 20
	6	4.8 ^b ± 0.0	61 ± 2.7	4.6 ^b ± 0.1	105 ± 1	1.4 ^b ± 0.0	815 ^b ± 10
	16	4.8 ^b ± 0.0	58 ± 0.5	4.6 ^b ± 0.2	109 ± 4	1.4 ^b ± 0.1	818 ^b ± 22
	24	4.8 ^b ± 0.2	60 ± 3.9	4.4 ^b ± 0.1	106 ± 4	1.3 ^b ± 0.0	808 ^b ± 17

Results are means ± standard deviation of two independent determinations. Values in a same column with different superscript letters are significantly different (p<0.05. Tukey's test).

5.2.4. Changes in phytate content in legumes seed and soaking water

Soaking of legumes seeds had very little influence on the phytic acid content and since there was no reduction, lixiviation was also very limited. These results were similar to those reported by Luo and Xie (2013) who found that the soaking process did not show any noticeable changes of phytic acid in white, pink-mottled cream bean and Sinaloa chickpea. However, the previous study carried out by Adebayo (2014) and ElMaki et al. (2007) showed that soaking Lima bean and white bean (*Phaseolus vulgaris*) respectively led to decrease in phytic acid. Duhan et al. (2002) reported that the cumulative effect of soaking and dehulling in pigeon pea was more pronounced than soaking alone for lowering the phytic acid content.

5.3. Effect of cooking process

5.3.1. Changes in mineral content in Bahthoula dish during the cooking process

Heating at 100°C (boiling) for up to 60 min did effectively reduce the iron (14%) and calcium (8%) contents in the Bahthoula dish, while an increase of zinc, magnesium, sodium and potassium was recorded after cooking (table 28).

The study of Kaushik et al. (2010) demonstrated that the cooking treatment of soybean led to a significantly decrease in total Fe and Zn. Salem et al. (2014) showed that cooking after soaking led to significant decreases in minerals, except calcium which showed an increase relative to raw materials.

5.3.2. Changes in phytate content in Bahthoula dish during the cooking process

Bahthoula dish contain low amount of phytic acid and there was no significant change after one hour of cooking (table 28). Karkle and Beleia (2010) found that cooking did not promote additional reduction of phytate. Phytate, being a heat stable component, is not easily degraded whilst cooking. Moreover, since the legumes were dropped into boiling water, it can be assumed that phytase is thermolabile and the prolonged exposure to high temperature may lead to the inactivation of this endogenous enzyme. Therefore, to improve phytate

dephosphorylation during cooking of seed with heat-stable phytase an addition of exogenous phytase is recommended (Kumar et al., 2010b).

Table 28. Total mineral and phytate contents in Bahthoula dish.

	Before cooking	After 1h cooking
Mineral contents (mg/100 g DM)		
Fe	7.1 ± 1.4	6.1 ± 0.1
Ca	155.8 ± 7.3	143.5 ± 7.3
Zn	3.1 ± 0.0	3.3 ± 0.0
Mg	103.8 ± 0.2	109.9 ± 1.2
Na	919.7 ± 7.6	1073.3 ± 12.5
K	955.5 ± 4.1	1020.0 ± 8.3
Antinutritional factor content (mg IP6/ 100 g DM)		
Phytate	39.3 ± 18.8	48.7 ± 19.6

5.3.3. Interaction between cations of nutritional importance (Fe, Zn, Ca) and phytate

Phytic acid is negatively charged and has the potential to bind cations or other positively charged functional groups of molecules (Egli et al., 2002).

The bioavailability of iron, zinc and calcium in the Bahthoula dish was estimated by calculating the phytate/Fe, phytate/Zn, phytate x Ca/Zn and the phytate/Ca molar ratios. The obtained values (1.4, 0.02 and 5.2 respectively) were far below the reported critical maximum values of 18 and 0.17 for the phytate/Zn and phytate/Ca molar ratios (Gibson et al., 2010) and 200 for the phytate x Ca/Zn molar ratio (Kwun & Kwon, 2000). However, phytate/Fe molar ratio evaluated at 0.7 was above the critical value of 0.2 (Hurrell and Egli, 2010). These results indicated an optimal bioavailability of zinc and calcium in the Bahthoula dish, whereas it showed a poor bioavailability of iron.

For the optimization of food process for increased mineral bioavailability by phytate degradation, it is crucial to know optimal conditions of phytase activity responsible for

phytate degradation. The dephosphorylation of phytate is a prerequisite for improving nutritional value because removal of phosphate groups from the inositol ring decreases the mineral binding strength of phytate. Naturally, there are dissimilarities in the capacities of various seeds to dephosphorylate phytate, due to differences in their intrinsic phytate-degrading activities (Egli et al., 2002; Hurrell et al., 2003; Kumar et al., 2010b).

It has been shown that phytate hydrolysis, during soaking, is greatly influenced by temperature and pH; the optimal temperatures for the intrinsic seeds phytase during soaking were found out to be 45 and 65°C and pH values between pH 5.0 and 6.0.

The decrease in phytic acid will probably not be enough to influence iron bioavailability, as phytic acid is a potent absorption inhibitor even at low levels (Mugendi et al., 2010).

From this study, it may be concluded that soaking and cooking did not improve the apparent bioavailability of iron, zinc and calcium in the dish. It may be of interest to combine wet processing methods, including phytase treatment, with other approaches, such as the application of uptake enhancers, to improve the bioavailability of mineral.

5.3.4. The potential of the dish to meet the Recommended Nutrient Intake in mineral

A portion of 296 g of Bahthoula (mean usual portion indicated by Tunisian cooks) would provide 0.4 mg of Fe, thus covering 29.0 % and 13.5 % of the average recommended nutrient intake (RNI) for male and female adults respectively (FAO & WHO, 2004).

For Zn, Ca, Mg and K, when taking into account their respective estimated bioavailability of 30, 30, 50 and 90 % (FAO & WHO, 2004), a portion of 296 g of Bahthoula would provide respectively 0.6, 27.9, 35.7 and 595.9 mg of bioavailable minerals, thus contributing to 60.1, 9.3, 29.7 and 18.9% of the average RNI for male and female adults, respectively.

The Bahthoula dish can be considered rich in zinc and, but is less interesting for its bioavailable calcium, magnesium and potassium contents.

6. Conclusion

The present study showed that leaching, occurred during soaking, affecting the phytate and mineral contents. The leached fraction was found in the soaking water. The effect of treatments was greatly different according to the specie of seeds and the mineral concerned. Soaking at ambient temperature for 16h (corresponding to the conditions mostly applied in

households) does not adequately improve the molar ratios of phytate to iron, phytate to zinc and phytate to calcium in the analyzed seeds, and hence probably does not improve the bioavailability of these minerals. This study also shows that cooking does not allow phytate degradation. IP6 content even appeared to increase during cooking. Soaking and cooking were not found to be efficient processes for improving mineral bioavailability but, in combination with other treatments, or in optimized soaking conditions, it could nevertheless be useful. Finally, in order to limit mineral loss, the water used for soaking can also be used for cooking whole seeds and, in this way, the leached minerals may be to a certain extent recovered.

Acknowledgments

The authors thank the Agence Nationale de la Recherche » for its financial support (grant number ANR-12-TMED-0004).

References

- Adebayo, S. F. (2014). Effect of Soaking Time on the Proximate, Mineral Compositions and Anti-nutritional Factors of Lima Bean. *Food Science and Quality Management* **27**.
- Aguilera, Y., Martín-Cabrejas, M. A., Benitez, V., Molla, E., Lopez-Andreu, F. J., and Esteban, R. M. (2009). Changes in carbohydrate fraction during dehydration process of common legumes. *Journal of Food Composition and Analysis* **22**, 678–683.
- Alexander-Jok, V., Che-Radzi, N., and Ku-Hamid, K. H. (2014). Effect of soaking on the temperature and pH profiles in agarwood extraction. *International Journal of Latest Research in Science and Technology* **3**, 111-113.
- AOAC (1995). "Official methods of analysis," Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Baye, K., Mouquet-Rivier, C., Icard-Vernière, C., Rochette, I., and Guyot, J. P. (2013). Influence of flour blend composition on fermentation kinetics and phytate hydrolysis of sourdough used to make injera. *Food Chemistry* **138**, 430-436.
- Cheryan, M., and Rackis, J. J. (1980). Phytic acid interactions in food systems. *Food Science and Nutrition* **13**, 297-335.
- CIHEAM, and FAO (2015). "Mediterranean food consumption patterns diet, environment, society, economy and health," CIHEAM-IAMB, Bari/FAO, Rome.
- Duhan, A., Khetarpaul, N., and Bishnoi, S. (2002). Content of phytic acid and HCl-extractability of calcium, phosphorus and iron as affected by various domestic processing and cooking methods. *Food Chemistry* **78**, 9–14.
- Dung, D. D., Godwin, I. R., and Nolan, J. V. (2010). Nutrient content and in sacco degradation of hydroponic barley sprouts using nutrient solution or tap water. *Journal of Animal and Veterinary Advances* **9**, 2432-2436.
- Egli, I., Davidsson, L., Juillerat, M. A., Barclay, D., and Hurrell, R. F. (2002). The influence of soaking and germination on the phytase activity and phytic acid content of grains

- and seeds potentially useful for complementary feeding. *Journal of Food Science* **67**, 3484-3488.
- ElMaki, H. B., AbdelRahaman, S. M., Idris, W. H., Hassan, A. B., Babiker, E. E., and El-Tinay, A. H. (2007). Content of antinutritional factors and HCl-extractability of minerals from white bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars: Influence of soaking and/or cooking. *Food Chemistry* **100**, 362–368.
- FAO (2016). "Légumineuses: Des graines nutritives pour un avenir durable," FAO.
- FAO (2017). "Global food composition database for pulses," FAO/INFOODS Rome.
- FAO, and WHO (2004). "Vitamin and mineral requirements in human nutrition," Second edition/Ed., Italy: Rome.
- Frias, J., Vidal-Valverde, C., Kozłowska, H., Tabera, J., Honke, J., and Hedley, C. L. (1996). Natural fermentation of lentils. Influence of time, concentration and temperature on the kinetics of monosaccharide, disaccharide and a-galactosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **44**, 579-584.
- Gibson, R. S., Bailey, K. B., Gibbs, M., and Ferguson, E. L. (2010). Phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability. *Food and Nutrition Bulletin* **31**, 134-146.
- González-Córdova, A. F., Beltrán-Barrientos, L. M., Santiago-López, L., Garcia, H. S., Vallejo-Cordoba, B., and Hernandez-Mendoza, A. (2016). Phytate-degrading activity of probiotic bacteria exposed to simulated gastrointestinal fluids. *LWT - Food Science and Technology* **73**, 67-73.
- Granito, M., Frias, J., Doblado, R., Guerra, M., Champ, M., and Vidal-Valverde, C. (2002). Nutritional improvement of beans (*Phaseolus vulgaris*) by natural fermentation. *European Food Research and Technology* **214**, 226–231.
- Grela, E. R., Kiczorowska, B., Samolińska, W., Matras, J., Kiczorowski, P., Rybiński, W., and Hanczakowska, E. (2017). Chemical composition of leguminous seeds: part I—content of basic nutrients, amino acids, phytochemical compounds, and antioxidant activity. *European Food Research and Technology* **243**, 385–1395.
- Gupta, R. K., Gangoliya, S. S., and Singh, N. K. (2015). Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *Journal of Food Science and Technology* **52**, 676–684.
- Hama, F., Icard-Vernière, C., Guyot, J. P., Picq, C., Diawara, B., and Mouquet-Rivier, C. (2011). Changes in micro- and macronutrient composition of pearl millet and white sorghum during in field versus laboratory decortication. *Journal of Cereal Science* **54**, 425-433.
- Hooda, S., and Jood, S. (2003). Effect of soaking and germination on nutrient and antinutrient contents of fenugreek (*Triwnella Foenum Graecum* L.) *Journal of Food Biochemistry* **27**, 165-176.
- Hotz, C., and Gibson, R. S. (2007). Traditional food-processing and preparation practices to enhance the bioavailability of micronutrients in plant-based diets. *The Journal of Nutrition* **137**, 1097–1100.
- Hotz, C., Lowe, N. M., Araya, M., and Brown, K. H. (2003). Assessment of the trace element status of individuals and populations: the example of zinc and copper. *Journal of Nutrition* **133**, 1563–1568.
- Hurrell, R. F., Reddy, M. B., Juillerat, M. A., and Cook, J. D. (2003). Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects. *American Journal of Clinical Nutrition* **77**, 1213–1219.
- Hurrell, R. F. (2004). Phytic acid degradation as a means of improving iron absorption. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* **74**, 445-452.

- Karkle, E. N. L., and Beleia, A. (2010). Effect of soaking and cooking on phytate concentration, minerals, and texture of food-type soybeans. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **30**, 1056-1060.
- Kaushik, G., Satya, S., and Naik, S. N. (2010). Effect of domestic processing techniques on the nutritional quality of the soybean. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* **3**, 39–46
- Khattab, R. Y., and Arntfield, S. D. (2009). Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors. *LWT - Food Science and Technology* **42**, 1113–1118.
- Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P. S., and Becker, K. (2010). Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry* **120**, 945–959.
- Kwon, I. S., and Kwon, C. S. (2000). Dietary molar ratios of phytate:zinc and millimolar ratios of phytate * calcium:zinc in South Koreans. *Biological Trace Element Research* **75**, 29-41.
- Lazarte, C. E., Carlsson, N. G., Almgren, A., Sandberg, A. S., and Granfeldt, Y. (2015). Phytate, zinc, iron and calcium content of common Bolivian food, and implications for mineral bioavailability. *Journal of Food Composition and Analysis* **39**, 111–119.
- Lestienne, I., Icard-Vernière, C., Mouquet, C., Picq, C., and Trèche, S. (2005). Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. *Food Chemistry* **89**, 421–425.
- Lönnerdal, B. (2000). Dietary factors influencing zinc absorption. *Journal of Nutrition* **130**, 1378–1383.
- Lopez, H. W., Leenhardt, F., Coudray, C., and Remesy, C. (2002). Minerals and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition? *International Journal of Food Science and Technology* **37**, 727–739.
- Luo, Y. W., and Xie, W. H. (2013). Effect of different processing methods on certain antinutritional factors and protein digestibility in green and white faba bean (*Vicia faba* L.). *CyTA - Journal of Food* **11**, 43-49.
- Maneesh-Kumar, M., Prasad, K., Chandra, T. S., and Debnath, S. (2016). Evaluation of physical properties and hydration kinetics of red lentil (*Lens culinaris*) at different processed levels and soaking temperatures. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.
- Meghwal, M., and Goswami, T. K. (2012). A review on the functional properties, nutritional content, medicinal utilization and potential application of fenugreek. *Journal of Food Processing & Technology* **3**, 1-10.
- Mugendi, J. B., Njagi, E. N. M., Kuria, E. N., Mwasaru, M. A., Mureithi, J. G., and Apostolides, Z. (2010). Effects of processing technique on the nutritional composition and anti-nutrient content of mucuna bean (*Mucuna pruriens* L.). *African Journal of Food Science* **4**, 156-166.
- Njoumi, S., Bellagha, S., Icard-Vernière, C., Picq, C., Amiot, M. J., and Mouquet-Rivier, C. (2018). Effects of cooking and food matrix on estimated mineral bioavailability in Mloukhiya, a Mediterranean dish based on jute leaves and meat. *Food Research International* **105**, 233-240.
- Pandey, H., and Awasthi, P. (2015). Effect of processing techniques on nutritional composition and antioxidant activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed flour. *Journal of Food Science and Technology* **52**, 1054–1060.
- Porres, J. M., Aranda, P., Pez-Jurado, M. L., and Urbano, G. (2005). Nutritional potential of raw and free r-galactosides lupin (*Lupinus albus* Var. *multolupa*) seed flours. Effect of

- phytase treatment on nitrogen and mineral dialyzability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** 3088-3094.
- Reddy, N. R., Pierson, M. D., Sathe, S. K., and Salunkhe, D. K. (1982). "Phytates in cereals and legumes," CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Reddy, N. R., Sathe, S. K., and Salunkhe, D. K. (1989). Phytates. In "Handbook of world food legumes: Nutritional chemistry, processing technology, and utilization", Vol. 1, pp. 163-187. Press: Boca Raton.
- Salem, A. A., El-Bostany, Nahla, A., Al-Askalany, S. A., and Thabet, H. A. (2014). Effect of domestic processing methods of some legumes on phytochemicals content and in vitro bioavailability of some minerals. *Journal of American Science* **10**, 276-288.
- Sarmiento, A., Barros, L., Fernandes, Â., Carvalho, A. M., and Ferreira, I. C. (2015). Valorization of traditional foods: nutritional and bioactive properties of *Cicer arietinum* L. and *Lathyrus sativus* L. pulses. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **95**, 179-185.
- Sayar, S., Turhan, M., and Gunasekaran, S. (2001). Analysis of chickpea soaking by simultaneous water transfer and water-starch reaction. *Journal of Food Engineering* **50**, 91-98.
- Shehu, D. M., Salihu, A., and Inuwa, H. M. (2017). Effect of boiling on protein, mineral, dietary fibre and antinutrient compositions of *Nymphaea lotus* (Linn) seeds. *Journal of Food Composition and Analysis* **67**, 184-190.
- Shi, L., Arntfield, S. D., and Nickerson, M. (2018). Changes in levels of phytic acid, lectins and oxalates during soaking and cooking of Canadian pulses. *Food Research International*.
- Turhan, M., Sayar, S., and Gunasekaran, S. (2002). Application of Peleg model to study water absorption in chickpea during soaking. *Journal of Food Engineering* **53**, 153–159.
- Vidal-Valverde, C., Frias, J., Estrella, I., Gorospe, M. J., Ruiz, R., and Bacon, J. (1994). Effect of processing on some antinutritional factors of lentils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **42**, 2291–2295.
- Wang, N., Hatcher, D. W., Toews, R., and Gawalko, E. J. (2009). Influence of cooking and dehulling on nutritional composition of several varieties of lentils (*Lens culinaris*). *LWT - Food Science and Technology* **42**, 842–848.
- Wang, N., Hatcher, D. W., Tyler, R. T., Toews, R., and Gawalko, E. J. (2010). Effect of cooking on the composition of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Food Research International* **43**, 589–594.

3.4 Résultats complémentaires

3.4.1 Effet des procédés culinaires (trempage et cuisson) sur la teneur en folates dans les légumineuses étudiées

3.4.1.1 Effet du trempage sur la teneur en vitamine B9 dans les légumineuses

L'acide folique est une vitamine hydrosoluble naturellement présente dans les aliments (Dang et al., 2000; Hefni and Witthöft, 2011; Hefni et al., 2015). Les légumineuses étudiées contiennent des teneurs importantes en vitamine B9 ; les graines de pois chiche (364 µg/100 g MS) et de fenugrec (324 µg/100 g MS) étaient les plus riches en folates tandis que les graines de lentilles étaient les moins riches (151 µg/100 g MS).

Une production limitée de folate a été enregistrée dans les graines de pois chiche (9%), fenugrec (35%) et fève (4%) après 1h de trempage (Figure 24). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Hefni and Witthöft (2011); (Kariluoto et al., 2006). L'augmentation de la teneur en folate au cours du trempage pourrait être due à la synthèse enzymatique, comme indiqué par Hefni and Witthöft (2014); Lu et al. (1984). Une autre explication de la production de folate au cours du trempage pourrait être la présence de levures naturelles. En effet, de nombreuses études ont montré que les levures sont capables d'augmenter fortement la teneur en folates (Korhola et al., 2014).

Après 3 heures de trempage, des pertes faibles de folate ont été observées dans les graines de fève (14%), féverole (18%) et pois chiche (25%) sauf pour les lentilles (une perte importante de 42% après 24 heures). Les folates sont solubles dans l'eau; ainsi les graines hydratées permettent à l'eau de pénétrer profondément dans leur matrice pour libérer (extraire) les folates dans le milieu de trempage par simple diffusion (lixiviation) (Hefni and Witthöft, 2011; Kariluoto et al., 2006; Xue et al., 2011).

Hoppner and Lampi (1993) ont rapporté une rétention de 66% de folates lorsque les pois chiches ont été trempés pendant la nuit. La rétention de folate dans les pois chiches était inférieure à celle dans les fèves, ce qui peut être attribué à l'enveloppe extérieure des fèves qui contient une quantité non négligeable de folate, ce qui réduit les pertes (Hefni et al., 2015).

Un certain nombre d'études ont examiné la rétention de folate dans les fruits et légumes pendant la transformation industrielle (Delchier et al., 2013). En revanche, très peu d'études ont analysé les effets de trempage, de l'ébullition et de la cuisson domestique sur la teneur en folate dans les légumineuses sèches (Dang et al., 2000; Hefni and Witthöft, 2014).

Les folates sont sensibles à la chaleur, à la pression, au pH et à l'oxygène, ce qui peut provoquer l'oxydation et le clivage des molécules de folate. La dégradation oxydative est principalement responsable de la perte de folate au cours du processus de trempage. En présence d'oxygène, la dégradation du folate est principalement causée par l'oxydation. Il y a deux facteurs phénoménaux qui dominent la perte de folates dans les processus de trempage ; Les folates diffusant de la matrice du légumineuse dans les milieux de trempage, un autre est l'oxydation, les folates libérés sont oxydés par l'oxygène, causant une dégradation pendant qu'ils sont dans les milieux de trempage.

Le degré de dégradation de folate était différent, ceci est attribué à l'altération de la structure et de la perméabilité de la matrice tissulaire du légumineuse pendant l'hydratation (Arcot et al., 2002). Dans la présente étude, les pertes en général étaient plus élevées chez les féveroles que les fèves. Cette observation est similaire à celle rapportée par Dang et al. (2000) dans les pois et les pois chiches. La rétention variait considérablement en fonction des espèces de légumineuses et de la variété. Cela pourrait également être attribué au rapport surface / volume des légumineuses (Hoppner and Lampi, 1993). Les féveroles étaient plus petites et présentaient donc un rapport surface / volume plus grand que les fèves, ce qui explique les pertes de lessivage plus élevées dans les féveroles.

Les différences de comportement observées lors du trempage des féveroles peuvent être dues également aux différences variétales (*Vicia faba* L. var. *major* et *Vicia faba* L. var. *minor*) liées à l'épaisseur et à la perméabilité du tégument qui pourraient entraver la diffusion des folates. Des différences dans l'épaisseur de la paroi cellulaire, déterminées par la variété, la maturité ou même la localisation des folates dans la cellule, pourraient grandement influencer le comportement au cours du trempage.

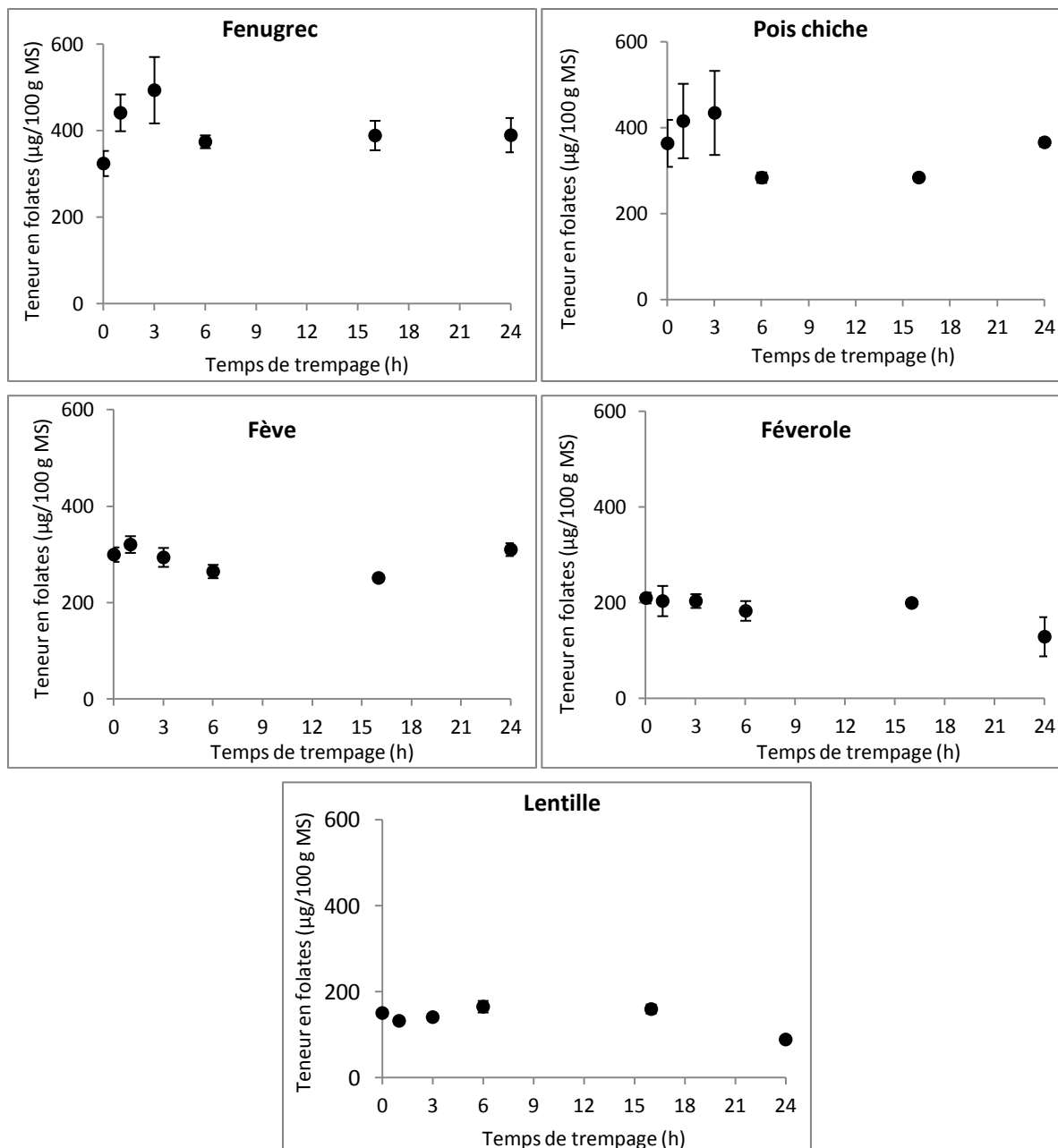


Figure 24. Effet du trempage sur la teneur en folate des 5 légumineuses étudiées.

3.4.1.2 Effet de la cuisson sur la teneur en vitamine B9 de la Bahthoula

L'étape de cuisson (60 minutes à 100°C) réalisée après l'étape de trempage (16 heures à 25°C), n'a eu aucun impact significatif sur la teneur en folate du plat. Certains vitamères du folate sont connus pour être instables à haute température (Ball, 2005). Cependant, dans la présente étude, l'impact de la température sur le contenu en folate n'est pas significatif ; ainsi la teneur initiale a été estimée à $115 \pm 12 \mu\text{g}/100 \text{ g MS}$ et la teneur finale à la fin de cuisson était à $116 \pm 1 \mu\text{g}/100 \text{ g MS}$.

Le procédé de trempage pourrait améliorer le procédé de cuisson avec une perméabilité améliorée de la paroi cellulaire et provoquer une lixiviation croissante du folate dans le milieu de cuisson. Cependant, dans cette étude la détermination de la teneur en folate a été réalisée dans le plat complet, ce qui pourrait expliquer la conservation de la vitamine B9 au cours de la cuisson. Les résultats ont indiqué que le plat final la Bahthoula peut être considéré comme une bonne source de folate, car aucune perte de folate pendant le traitement n'a été observée. Ceci confirme les résultats de Hefni et al. (2015), qui ont rapporté que les processus thermiques n'avaient pas d'effet sur la teneur en folate des fèves et pois chiche. La forte rétention de la teneur en folate lors de la cuisson domestique indique que ces aliments authentiques tunisiens sont de bonnes sources d'acide folique.

Aucune donnée n'est disponible sur la teneur en folate dans les aliments traditionnels tunisiens. Cependant, sur la base des données présentées ici et d'une portion moyenne estimée de 296 g de plat de Bahthoula, l'apport en folate alimentaire par habitant des aliments traditionnels est de 63,5 µg / jour, fournirait 32 µg / j de folate biodisponible ce qui couvrirait 16 % des apports journaliers recommandés pour l'homme et femme adulte (FAO and WHO, 2001b, 2004). En conclusion, la Bahthoula semble être riche en folate.

Chapitre VI. Discussion générale et conclusion

Discussion générale et conclusion

Cette partie de l'étude présente une synthèse des principaux résultats obtenus afin d'en tirer une conclusion générale, des recommandations ainsi que des perspectives de recherche.

L'objectif de cette thèse était d'estimer le potentiel nutritionnel de plats locaux traditionnels consommés par les habitants de Sidi Bouzid et du Grand Tunis (Tunisie), d'étudier l'effet des procédés culinaires traditionnels des aliments sur les nutriments d'intérêts et sur les facteurs antinutritionnels et d'estimer les implications sur la biodisponibilité des minéraux dans le but de concevoir des stratégies alimentaires qui amélioreront éventuellement cette biodisponibilité.

Caractérisation de la valeur nutritionnelle des plats traditionnels tunisiens

Les suivis de recettes sur les sites de la région de Sidi Bouzid et du Grand Tunis réalisée en première partie de ce travail de thèse ont mis en évidence des teneurs importantes en minéraux, vitamines, fibres et sucres. En effet, il ressort des résultats des suivis de recettes que les 4 plats traditionnels identifiés (la mloukiya, la bahthoula, le ragoût aux petit pois et le couscous au fenouil sauvage) et évalués par le système de profilage nutritionnel SAIN LIM (Darmon and Darmon, 2008) sont placés dans le quadrant des aliments recommandés (SAIN 23 élevé supérieur au seuil (8,85, 7,83, 6,60, 5,72)) et LIM faible ((5,77, 3,18, 4,27, 3,77) respectivement). En comparant les recettes moyennes des 4 plats, la Bahthoula était généralement le plat qui avait le meilleur profil nutritionnel probablement à cause du mélange de cinq légumineuses (fenugrec, fève, lentille, pois chiche et féverole), de blé dur (Mhamsa) et d'anchois séchés. La Mloukhiya, à base de corète, était comparable en terme de score SAIN, mais son score LIM a également été considérablement élevé en raison de la teneur élevée en acides gras saturés (apportés à la fois par la viande et l'huile) et par la forte teneur en sel. Le score SAIN 23 sans tenir compte du pain était élevé, mais était abaissé lorsque le pain était pris en compte. Il convient également de noter que pour ce plat, le score SAIN 5 était généralement inférieur à celui de SAIN 23, indiquant que certains des 23 nutriments sont bien représentés dans ce plat. Le ragoût de petit pois, appartenant à la classe 1, occupait une place importante compte tenu de l'utilisation d'un mélange de légumes (pois, cardon, cœur d'artichaut), de légumineuses (féverole) et de légumes-feuilles (épinards). Le couscous au fenouil sauvage (*Foeniculum vulgare*), appartenant à la même classe nutritionnelle, mais avec un SAIN 23 inférieur à celui des autres plats. Le fenouil sauvage utilisé a fortement contribué aux recommandations concernant le potassium, le sodium, le phosphore et le calcium.

Discussion générale et conclusion

Les plats tunisiens avec le profil le plus favorable étaient ceux avec un contenu élevé d'ingrédients typiques du régime méditerranéen traditionnel. En particulier, les céréales, les légumes feuilles et les légumineuses étaient prédominants dans les plats composites tunisiens.

Effet de la cuisson et de la matrice alimentaire sur la teneur en minéraux et leurs chélateurs dans la Mloukhiya

L'effet négatif de certains composés phénoliques (galloyls et catéchols), et des phytates, sur la biodisponibilité des minéraux des aliments à base de légume feuille est largement reporté dans la littérature. La deuxième partie de cette étude concernant les effets des procédés technologiques s'est focalisée sur l'évolution de la teneur en minéraux et leur inhibiteurs et activateurs de biodisponibilité en mettant en évidence la complexité des interactions et des changements qui se produisent lors de la cuisson d'un plat composite contenant des minéraux d'origine végétale (jute) et animale (viande) et en marquant la différence des voies d'absorption du fer héminique et non héminique. Cette approche est complémentaire de celle du SAIN LIM, qui ne prend pas en compte la biodisponibilité des nutriments.

L'effet de la cuisson sur la sauce de la Mloukhiya a montré une diminution de sa viscosité (66% après 5h cuisson) due à la dégradation thermique partielle des polysaccharides mucilagineux et a induit des modifications structurelles des protéines de la viande qui ont réduit sa capacité de rétention d'eau. Comme le jus expulsé de la viande contenait des composés solubles, une perte en minéraux (fer total (44%), zinc (22%) et potassium (54%)) dans les morceaux de viande a été observée pendant la première heure de cuisson, après laquelle, la teneur en minéraux est restée stable. Inversement, dans la sauce la teneur en fer totale, zinc et potassium a eu tendance à augmenter dès la première heure de cuisson (7%, 28% et 13 % respectivement). La teneur en calcium a diminué dans la sauce, alors qu'elle a augmenté de façon concomitante dans les morceaux de viande. La teneur en magnésium a légèrement fluctué dans la viande et la sauce. Pendant la cuisson, les micronutriments hydrosolubles ont été expulsés avec le jus de viande alors que d'autres ont été absorbés par la viande à partir de la sauce. Cet échange entre la sauce et la viande n'a pas influencé la teneur totale en minéraux qui est finalement restée stable dans le plat entier. Le suivi des taux de perte en fer héminique au cours de la cuisson a montré une perte de 42% de la teneur initiale

Discussion générale et conclusion

après une heure de cuisson et 63% après 5 heures, à cause de sa conversion partielle en fer non-héminique, engendrant un impact négatif sur la teneur en fer biodisponible.

La poudre de feuille de jute contient une teneur importante en composés phénoliques chélateurs de fer. La cuisson a entraîné la diminution de 50% après 5h de la teneur en ces composés phénoliques ce qui pourrait être dû à leur liaison à d'autres substances organiques ou protéiques, ou à des modifications de leur structure chimique réduisant leurs capacités de chélation des minéraux. Par conséquent, la cuisson pourrait avoir des effets positifs sur la biodisponibilité du fer et du zinc.

Afin d'estimer la bioaccessibilité des minéraux dans ce plat traditionnel un modèle (parag 2.4. matériels et méthodes) mimant le tractus digestif a été mis en place après avoir simulé les facteurs physiologiques qui influent majoritairement sur l'absorption des minéraux. La simulation de la digestion gastro-intestinale de la Mloukhiya a montré que le pourcentage de fer dialysable était faible en début de cuisson et est restait faible après 5h de cuisson, malgré son augmentation au cours du procédé de cuisson. La fraction de fer soluble non dialysable était extrêmement faible et diminuait significativement pendant la cuisson, suggérant que le fer soluble était partiellement libéré des agents chélateurs et devenait bioaccessible. La faible dialysabilité de fer (1,6% à 300 min) pourrait être liée à la teneur élevée en composés chélateurs (c'est-à-dire, galloyls et catéchols et fibres solubles). La diminution significative des composés phénoliques pendant la cuisson pourrait expliquer l'augmentation significative concomitante de la bioaccessibilité du fer. Néanmoins, la plus grande partie du fer (> 90%) est restée insoluble pendant tout le processus de cuisson. Le traitement thermique n'a pas eu d'effet significatif sur la fraction de zinc soluble (dialysable et non dialysable), alors que le pourcentage de zinc insoluble a augmenté de 16% significativement après 5h. Ceci pourrait être dû à la libération du zinc, lié aux protéines ou autres composés chélateurs, dans la sauce. Presque tout le calcium soluble, le magnésium et le potassium étaient dialysables et représentaient environ 20, 70 et 90% de la teneur totale des minéraux, respectivement, à la fin de la cuisson. La prédominance de la fraction insoluble de calcium (80%), s'explique en partie par la formation de complexes insolubles avec des composés phénoliques et des polysaccharides mucilagineux. La fraction de calcium dialysable a augmenté de manière significative au cours des premières heures de cuisson et est ensuite restée inchangée. Ceci est

Discussion générale et conclusion

en accord avec la dégradation partielle des composés mucilagineux et la teneur réduite en composés phénoliques.

En plus de la méthode *in vitro*, l'absorption du fer a été prédite en utilisant l'équation du modèle proposé par Hallberg et Hulthén (2000) pour une portion de 100 g de plat de Mloukhiya. Les inhibiteurs de l'absorption du fer considérés dans ce modèle sont le calcium, les composés phénoliques chélateurs de fer et les phytates, tandis que les activateurs de l'absorption sont la vitamine C et le facteur viande (la quantité de tissu animal à l'état frais). Ces effecteurs d'absorption ont été inclus dans l'équation du modèle qui a permis de prédire une très faible absorption du fer non héminique au début de la cuisson avec une augmentation de 1,2% à 300 min. Ces faibles valeurs étaient principalement dues aux forts effets inhibiteurs des composés phénoliques et du calcium. La légère augmentation de l'absorption du fer en fin de cuisson pourrait être attribuée à la dégradation partielle des composés phénoliques par la chaleur. La valeur prédite de l'absorption du fer était du même ordre de grandeur que celle de la fraction bioaccessible obtenue avec la méthode de dialyse (1,6% à 300 min). L'estimation de la biodisponibilité a été réalisée également par une autre méthode indirecte en calculant les rapports molaires Phy / Zn et $\text{Phy} \times \text{Ca} / \text{Zn}$ et le rapport molaire Phy / Ca . Les valeurs obtenues (0,3, 5,3 et 0,001, respectivement) étaient très inférieures aux valeurs maximales critiques.

Le plat de Mloukhiya est considéré riche en zinc et représente une source de calcium et de magnésium. Cependant, ce plat est moins intéressant pour sa faible teneur en fer biodisponible.

Le cas emblématique du fer, dont la carence est la principale cause nutritionnelle de l'anémie, est une des pathologies les plus fréquentes en Tunisie. Le fer est présent aussi bien dans les produits animaux que dans les produits végétaux. Par ailleurs, la consommation d'aliments d'origine animale, viande ou poisson, augmente l'absorption du fer non héminique et du zinc présents dans les autres aliments d'origine végétale du repas.

L'estimation de la couverture des apports nutritionnels recommandés de ce plat a montré qu'une portion de 100 g de Mloukhiya fournirait 0,11, 0,7, 52, 24 et 366 mg de fer, zinc calcium, magnésium et potassium biodisponible contribuant ainsi à 5, 65, 17, 20 et 12% de l'apport nutritionnel recommandé moyen pour les adultes homme et femme.

Etude de l'effet des procédés traditionnels (trempage, cuisson) sur la teneur en nutriments d'intérêts et les facteurs anti-nutritionnels dans cinq légumineuses Méditerranéennes

La consommation de légumineuses qui est généralement recommandée pour améliorer les profils alimentaires, est entravée par un inconfort gastro-intestinal associé à leur richesse en α -GOS. L'effet des procédés culinaires traditionnels (trempage, cuisson) sur la teneur en α -GOS et fibres solubles et insolubles a été étudié sur les 5 légumineuses (fève, fêverole, lentille, fenugrec et pois chiche) utilisées pour la préparation du plat traditionnel la Bahthoula.

Le trempage (pendant 16h à 25°C) a conduit à une diminution de la teneur en α -GOS total dans toutes les légumineuses étudiées à des degrés variables allant de 10% pour les lentilles et les fèves à 40% pour les pois chiches. Cette diminution pourrait résulter soit de la diffusion de α -GOS dans l'eau de trempage et/ou de la dégradation enzymatique qui peut avoir lieu dans la graine et/ou dans l'eau de trempage. L'examen des profils des α -GOS séparément a montré que le verbascose a connu la diminution la plus rapide et la plus importante par rapport au raffinose et au stachyose, mettant en évidence la distribution spatiale hétérogène de l' α -GOS dans les graines de légumineuses (Sreerama et al., 2010). En outre, une diminution importante du contenu en verbascose a également été observée dans la fêverole, la seule graine qui a été préalablement décortiquée. Cependant, la diminution du stachyose et du raffinose, ayant les masses molaires les plus faibles, est apparue plus lente et modérée.

De très faibles quantités d' α -GOS ont été trouvées dans l'eau de trempage. Cependant, les quantités de produits d'hydrolyse tels que le galactose, le glucose et le fructose ont augmenté de façon importante dans les graines trempées et les eaux de trempage, montrant que la dégradation enzymatique se produisait dans les graines ainsi que dans l'eau de trempage après lessivage. L'alpha-galactosidase endogène est effectivement présente dans les graines et produit du raffinose à partir de stachyose et de stachyose à partir de verbascose, en coupant leur galactose terminal (Coffigniez et al., 2017), ce qui pourrait expliquer l'augmentation de la teneur en galactose observée dans le fenugrec et le pois chiche (plus de 200% après 1h de trempage) et les deux variétés de fève (147% après 1 h de trempage).

La diversité d'espèces de légumineuses est accompagnée d'une diversité de comportements qui pourraient être dus à la présence et l'épaisseur de l'enveloppe externe, la forme, la taille et la composition chimique initiale des graines de légumineuses.

Discussion générale et conclusion

L'impact du processus de trempage sur les teneurs en fibres solubles et insolubles des légumineuses était variable. En effet, la teneur en fibres insolubles a diminué de manière significative au cours des premières heures de trempage variant de 17% (fenugrec) à 28% (lentille) après 6h. Cette réduction pourrait être due à la solubilisation partielle des fibres insolubles à partir du matériau de la paroi cellulaire qui n'est pas étroitement liée à la matrice fibreuse (Aguilera et al., 2009; Rehman et al., 2004). Cette matière insoluble a été récupérée dans la fraction des fibres solubles dans le fenugrec et la lentille, qui ont montré une augmentation de 41% et 3% à 1h respectivement. Alors que pour la féverole l'augmentation de la teneur en fibres solubles était significative dès la première heure de trempage (27% à 1h).

Cette étude a bien mis en évidence la différence de comportements des légumineuses en raison des différentes structures et compositions de parois cellulaires (la composition de la fraction de fibres dépend de sa localisation dans le tégument ou dans les cotylédons).

La cuisson après trempage des 5 légumineuses dans un plat a entraîné une diminution supplémentaire des teneurs en raffinose (32%), en stachyose (25%) et en verbascose (35%) associées à une augmentation concomitante de la teneur en galactose (54%) dans le plat de la Bahthoula, ce qui peut être dû à la poursuite de la dégradation enzymatique au cours de la montée en température, avant la dégradation de l'alpha-galactosidase, autour de 70°C (Celem et al., 2009; Dey et al., 1983). La cuisson a également conduit à une augmentation de la teneur en fibres insolubles (23%) dans le plat Bahthoula, tandis que la fraction des fibres solubles était constante.

La contribution du plat à la couverture des apports recommandés en fibres totales a été examinée. Ce plat pourrait être considéré comme une source exceptionnelle de fibres totales. Ainsi, une portion de 296 g de Bahthoula, pourrait couvrir 60% des AJR pour les adultes. Aussi, une portion de Bahthoula contribue à 22% de la dose quotidienne efficace d' α -GOS totale, agissant ainsi comme des composés bénéfiques en raison de leur action prébiotique.

L'intérêt nutritionnel des légumineuses réside également dans la présence des teneurs importantes en minéraux. Cependant, la présence des phytates, chélateurs des minéraux, diminuent leur biodisponibilité.

Discussion générale et conclusion

Des trempages de 24 h à 25°C de graines de lentille, pois chiche, fève, féverole et fenugrec ont conduit à des réductions des teneurs en fer, calcium, cuivre et potassium et dans une moindre mesure en zinc et magnésium par diffusion dans le milieu de trempage. La réduction la plus importante en fer a été observée dans les graines de lentille (70% à 1h). Le trempage a entraîné des pertes significatives de calcium dans les graines de lentille (53%), fève (27%) et fenugrec (11%) juste après une heure. Une partie de la quantité de minéraux lessivée a été retrouvée dans l'eau de trempage. Les quantités de minéraux lessivées dans l'eau de trempage dépendent de l'espèce de légumineuse, de la présence et l'épaisseur de l'enveloppe externe et le pH du milieu de trempage. Des quantités faibles de zinc et de cuivre ont été retrouvées dans l'eau de trempage. Par contre, des quantités importantes de fer, calcium, magnésium et potassium ont été détectées.

Le trempage n'a pas eu d'effet sur la teneur en phytate dans les graines de légumineuses. Les rapports molaires Phy/Fe et Phy/Zn ne variaient que légèrement et le trempage de graines entières de légumineuses ne semble donc pas être efficace pour améliorer la biodisponibilité du fer et du zinc. En vue de réduire davantage les teneurs en phytate et de diminuer les rapports molaires Phy/Fe et Phy/Zn, les effets du trempage en combinaison avec un autre procédé technologique (cuisson) ont été étudiés en essayant de comprendre la stabilité des teneurs en phytate en milieu aqueux. Pour cela, la dégradation et la diffusion des phytates, des minéraux dans les milieux de trempage ont été étudiés après trempage de graines entières et cuites. La préparation du plat par cuisson des légumineuses trempées n'a pas permis de dégradation supplémentaire des phytates, la teneur en myo-inositol hexakisphosphate (IP6) s'est trouvée stable suite à ce procédé.

Les résultats ont indiqué une biodisponibilité optimale du Zn et du Ca du plat, alors que celle du Fe était faible. En effet, la présence de phytates est le principal déterminant de l'absorption du fer et du zinc. À l'inverse, les protéines animales permettraient d'améliorer l'absorption du zinc et du fer présent dans les produits végétaux en contrant l'effet inhibiteur des phytates. Il faut d'ailleurs noter que le rapport d'une réunion d'experts sous l'égide de l'OMS et la FAO a conclu à l'impossibilité de couvrir les besoins en fer et en zinc dans les régimes des pays en développement sans ajouter de la viande ou du poisson dans ces régimes (FAO and WHO, 2001c).

Étude comparative des teneurs en nutriments calculées à partir des données de tables de composition et des valeurs expérimentales

Cette partie de l'étude vise à comparer les résultats expérimentaux (issus du deuxième et troisième chapitres) de la composition nutritionnelle des aliments avec ceux tirés des tables de composition des aliments (résultats issus du premier chapitre) (Tableaux 29 et 30) pour évaluer la valeur nutritionnelle des plats. Ainsi, les valeurs calculées, tirées de recettes sont obtenues à partir des teneurs en nutriments de tous les ingrédients et corrigées par les facteurs de préparation: perte ou gain de poids (ou rendement) et les changements des teneurs en micronutriments (ou facteurs de rétention). Ces valeurs ne sont que des estimations, du fait que les conditions de préparation des recettes peuvent varier considérablement, par exemple les températures et durées de cuisson, et influencer ainsi sensiblement le rendement et le taux de rétention.

Pour la plupart des minéraux étudiés, les résultats donnés par les méthodes expérimentales sont du même ordre de grandeur que ceux obtenus par les tables de composition des aliments, ce qui confirme l'intérêt de l'utilisation de l'approche SAIN LIM. Bien que la plupart des teneurs en nutriments (tableaux 29 et 30) soient proches, certains d'entre eux ne sont pas comparables (par exemple les folates et les fibres alimentaires). Pour les folates, ces différences pourraient être dues à des méthodes de dosage différentes (chromatographie liquide vs méthode microbiologique...), une grande variabilité des teneurs en folates des matières premières, et une perte variable (par diffusion, oxydation) en fonction des conditions de transformation. En ce qui concerne les fibres alimentaires, certaines méthodes historiquement utilisées dans l'analyse des fibres alimentaires, pour la constitution des banques de données sur la composition des aliments, ne permettent de prendre en compte que les fibres insolubles, mesurées par des méthodes de type Van Soest, qui sont réputées actuellement pour sous-estimer les teneurs en fibres de façon très importante. Cela indique la nécessité d'une mise à jour de ces tables de composition pour faire apparaître les fibres totales (fibres solubles et insolubles), mesurées au minimum avec la méthode de Prosky.

Tableau 29. Comparaison des résultats expérimentaux et les données de la table de composition des aliments tunisiens pour le plat traditionnel la mloukhiya.

Mloukhiya (/100 g MS)				
Nutriments	Corète en poudre		Plat cuit Mloukhiya	
	Exp*	Tables**	Exp*	Tables**
Fe (mg)	33,5 ± 1,4	40,3	10,7 ± 0,5	11,3
Ca (mg)	2041 ± 6	1762,6	527,8 ± 21,5	454,1
Zn (mg)	2,6 ± 0,1	6,7	6,7 ± 0,2	3,9
Mg (mg)	395 ± 4	542,3	143 ± 4,4	153,1
K (mg)	3359 ± 36	4737,0	1231 ± 57,9	1419,3
Vit B9 (µg)	92,6 ± 15,1	1042,3.	26,5 ± 4,8	199,6
IDF (g)	52,5 ± 5	n,d,	18,9 ± 1,2	n,d,
SDF (g)	10,3 ± 0,9	n,d,	8,8 ± 0,6	n,d,
TDF (g)	62,8	10,2	27,7 ± 1,8	3,8

Exp* : valeurs expérimentales

Tables** : valeurs tirées de la table de composition des aliments tunisiens (El-Ati et al., 2007).

Tableau 30. Comparaison des résultats expérimentaux et les données de la table de composition des aliments tunisiens pour le plat de la bahthoula.

Bahthoula (/100 g MS)												
Nutriments	Lentille		Pois chiche		Fève		Féverole		Fenugrec		Plat Bahthoula	
	Exp*	Tables**	Exp*	Tables**	Exp*	Tables**	Exp*	Tables**	Exp*	Tables**	Exp*	Tables**
Fe (mg)	21,4 ± 0,5	10,1	6,0 ± 0,0	7,0	6,0 ± 0,2	7,5	4,3 ± 0,2	7,5	6,7 ± 0,1	10,1	6,1 ± 0,1	6,9
Ca (mg)	167 ± 4,1	57,4	139 ± 5,9	118,6	143 ± 3,4	115,7	61 ± 2,7	115,7	211 ± 1,4	164,1	143,5 ± 7,3	152,7
Zn (mg)	3,4 ± 0,2	4,0	2,8 ± 0,4	3,8	3,0 ± 0,1	3,5	3,8 ± 0,0	3,5	3,7 ± 0,1	2,7	3,3 ± 0,0	2,7
Mg (mg)	99 ± 2	120,4	126 ± 3	129,9	135 ± 6	215,6	107 ± 6	215,6	127 ± 2	208,9	109,9 ± 1,2	125,9
K (mg)	901 ± 22	1019,0	1132 ± 8	10,1	1352 ± 54	1192,9	1185 ± 44	1192,9	1067 ± 18	842,4	1020,0 ± 8,3	870,5
Vit B9 (µg)	151	487,5	364	629,5	300	475,1	210	475,1	324	62,3	116,0 ± 1,2	247,1
IDF (g)	20,2 ± 0,0	n,d,	21,4 ± 3,4	n,d,	30,3 ± 0,0	n,d,	11,5 ± 0,4	n,d,	44,2 ± 0,8	n,d,	21,4 ± 2,1	n,d,
SDF (g)	3,9 ± 0,0	n,d,	4,6 ± 0,1	n,d,	4,6 ± 0,2	n,d,	4,2 ± 0,2	n,d,	20,2 ± 0,7	n,d,	7,5 ± 0,5	n,d,
TDF (g)	24,0 ± 0,0	34,3	25,9 ± 3,5	19,7	34,9 ± 0,2	28,0	15,7 ± 0,6	28,0	64,4 ± 1,5	49,2	28,9 ± 2,6	17,5

Exp* : valeurs expérimentales

Tables** : valeurs tirées de la table de composition des aliments tunisiens (El-Ati et al., 2007).

Conclusion générale

L'ensemble de ces travaux a permis de dégager certaines caractéristiques intéressantes des plats à base de légumes-feuilles et de légumineuses consommés en Tunisie, ceci à travers une description de leur consommation, une caractérisation de leur mode de préparation et de leur valeur nutritionnelle ainsi qu'une évaluation de l'impact des procédés culinaires traditionnels sur leurs teneurs en nutriments d'intérêts et en facteurs antinutritionnels. L'effet de la matrice alimentaire et la complexité des interactions et des changements qui se produisent lors de la préparation des plats composites a été également souligné dans cette étude. Force est de constater que les procédés culinaires n'ont pas entraîné une hydrolyse significative des fibres, une réduction importante des teneurs en phytates et en composés phénoliques chélateurs du fer (galloyls/catéchols) ce qui n'était pas efficace pour améliorer la biodisponibilité des minéraux. Ces procédés ont eu également un impact faible et à des degrés divers sur les teneurs en micronutriments d'intérêt, qui sont relativement préservées au cours des procédés.

Les résultats de cette étude ont permis d'établir que les plats traditionnels tunisiens identifiés constituent des sources intéressantes de minéraux d'intérêt nutritionnel tels que le calcium, le magnésium et le potassium dans l'alimentation tunisienne. Tandis que les apports en fer biodisponibles observés dans les deux plats sont nettement en deçà des recommandations, ce qui est préoccupant en terme de santé publique. En effet, un apport insuffisant de fer augmente le risque d'anémie ferriprive. Le faible intérêt des plats de la mloukhyia et la bahthoula pour leurs apports en fer est lié à la présence de teneurs importantes de composés chélateurs (phytate et composés phénoliques).

Dans un contexte de transition nutritionnelle caractérisée par une forte prévalence d'obésité et l'élévation concomitante de la prévalence des maladies cardio-vasculaires, diabète de type 2, hypertension et certains cancers, les apports extrêmement intéressants en fibres totales de ces deux plats traditionnels (la mloukhyia et la bahthoula) pourraient contribuer à atteindre les niveaux d'apports journaliers recommandés, et jouer un rôle dans la prévention de ces maladies chroniques.

Toutefois, les résultats obtenus au cours de cette thèse permettent au travers de l'étude des deux plats traditionnels de mieux mettre en évidence les facteurs influençant les teneurs en nutriments d'intérêt et en facteurs antinutritionnels et la complexité de leurs interactions au

cours des procédés pour une approche holistique de l'alimentation pour lutter contre le développement des maladies chroniques.

Recommandations pratiques et perspectives de recherche

Perspectives : Vers l'élaboration de recommandations pour améliorer la qualité nutritionnelle des aliments traditionnels: l'alimentation méditerranéenne tunisienne comme étude pilote.

Les résultats suggèrent que d'autres investigations sont nécessaires et parmi les perspectives de recherche envisageables dans l'objectif de contribuer à la réduction de la prévalence des carences en micronutriments en Tunisie, une étude d'optimisation des recettes et leur transférabilité est à proposer (il s'agit de reproduire au laboratoire les recettes dont les modes de préparation ont été observés, en variant différents facteurs comme les paramètres de cuisson (mode, durée, température) et la composition en ingrédients en vue d'optimiser plusieurs réponses (teneurs en folates, fer, zinc, calcium...)) au niveau des ménages. Des critères tels que l'acceptabilité organoleptique et la facilité de reproduction pourraient être pris en compte. Les études sur les interactions entre composés se développent aujourd'hui pour améliorer les formulations alimentaires et les recommandations nutritionnelles, ainsi que les conseils en terme de préparation culinaire. Ces études ne sont qu'à leur commencement et de nouvelles recommandations devraient voir le jour dans les prochaines années.

Afin d'optimiser la biodisponibilité des minéraux, des études plus poussées sont nécessaires dans le but d'accroître la réduction des teneurs en différents composés chélateurs et non uniquement en phytates. Pour cela, le décorticage des graines de légumineuses avant trempage semble être une solution intéressante étant donné qu'il permet, à la fois, de faciliter l'hydrolyse des phytates par les phytases et d'éliminer des quantités importantes de fibres et de tanins.

Le trempage entraîne des diminutions des teneurs en minéraux par lixiviation. Afin de limiter les pertes en minéraux, il est donc recommandable d'utiliser l'eau de trempage pour la cuisson des graines. Par ailleurs, les résultats ont montré la nécessité de favoriser la diffusion des phytates dans le milieu de trempage. Le trempage diminue peu la teneur en phytate dans les

Discussion générale et conclusion

graines de légumineuses et les modalités de dégradation de ces composés diffèrent selon l'espèce à laquelle appartiennent les graines. Les phytates sont dégradés, soit dans le milieu de trempage après diffusion, soit dans les graines. Cette diffusion semble favorisée par décorticage et/ou le broyage des graines avant trempage, mais les effets d'autres procédés pouvant la favoriser, en particulier le chauffage préalable des eaux de trempage susceptible d'augmenter l'activité des phytases, devrait être étudié.

Parmi les perspectives de recherche envisageables à l'issue de cette thèse, nous pouvons proposer :

- d'étudier l'effet des modes de cuisson sur les nutriments d'intérêts (minéraux, folate...), les facteurs antinutritionnels (composés phénoliques chélateurs du fer, phytates...) et leur implication sur la valeur nutritionnelle des plats traditionnels ;
- d'étudier l'effet de la germination, la fermentation et des traitements de décorticage sur la teneur en α -GOS et la biodisponibilité *in vitro* des minéraux dans les légumineuses ;
- d'étudier la biodisponibilité des minéraux dans les légumineuses, trempées dans différentes solutions de pH et cuites ;
- d'établir des modèles des cinétiques de perte en micronutriments au cours du trempage et la cuisson dans une large gamme de couples temps-température et qui devrait constituer le point focal d'une étude. La modélisation des données pourrait être envisageable, en utilisant la deuxième loi de Fick, dans le but de déterminer et décrire les phénomènes de diffusion des solutés hydrosolubles (les folates, les minéraux et les sucres) et en prenant en compte la géométrie des légumineuses étudiées. La prédiction de l'hydrolyse enzymatique pourrait également être mis en place en regardant si le modèle incorpore une réaction homogène ou bien hétérogène ;
- d'utiliser des modèles donnant des fourchettes de perte pour les modes de cuisson courants en Tunisie.

Alors que la plupart des travaux publiés concernant la biodisponibilité des minéraux dans les aliments consommés par les groupes de population vulnérables dans les pays en développement se limitent trop souvent encore à étudier l'effet de traitements isolés réalisés en conditions de laboratoire sur tel ou tel facteur antinutritionnel, cette étude a contribué à montrer la nécessité de prendre simultanément en compte non seulement l'ensemble des composés susceptibles d'influer sur la biodisponibilité des minéraux mais aussi les

Discussion générale et conclusion

interactions entre les effets des différents procédés intervenant au cours de la préparation des aliments. Ce n'est qu'en combinant des observations rigoureuses de terrain et les études en milieu contrôlé au laboratoire qu'il est possible de définir des solutions réellement transférables susceptibles de contribuer à la réduction des formes de malnutrition liées à des apports insuffisants en micronutriments.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abbaspour, N., Hurrell, R., and Kelishadi, R. (2014). Review on iron and its importance for human health. *Journal of research in medical sciences* **19**, 164–174.
- Abdel-Gawad, A. S. (1993). Effect of domestic processing on oligosaccharide content of some dry legume seeds. *Food Chemistry* **46**, 25-31.
- Adebayo, S. F. (2014). Effect of Soaking Time on the Proximate, Mineral Compositions and Anti-nutritional Factors of Lima Bean. *Food Science and Quality Management* **27**.
- Adebo, H. O., Ahoton, L. E., Quenum, F., and Ezin, V. (2015). Agro-morphological Characterization of *Corchorus olitorius* Cultivars of Benin *Annual Research & Review in Biology* **7**, 229-240.
- Afssa (2001). "Apports nutritionnels conseillés pour la population française."
- AFSSA (2008). Setting of nutrient profiles for accessing nutrition and health claims: proposals and arguments. pp. 83, France.
- Aguilera, Y., Martín-Cabrejas, M. A., Benitez, V., Molla, E., Lopez-Andreu, F. J., and Esteban, R. M. (2009). Changes in carbohydrate fraction during dehydration process of common legumes. *Journal of Food Composition and Analysis* **22**, 678–683.
- Al-Hasan, S. M., Hassan, M., Saha, S., Islam, M., Billah, M., and Islam, S. (2016). Dietary phytate intake inhibits the bioavailability of iron and calcium in the diets of pregnant women in rural Bangladesh: a cross-sectional study. *BMC Nutrition* **24**.
- Alexander-Jok, V., Che-Radzi, N., and Ku-Hamid, K. H. (2014). Effect of soaking on the temperature and pH profiles in agarwood extraction. *International Journal of Latest Research in Science and Technology* **3**, 111-113.
- Alonso, R., Aguirre, A., and Marzo, F. (2000). Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chemistry* **68**, 159-165.
- Anderson, R. J. (1914). A contribution to the chemistry of phytin. *The Journal of biological chemistry* **17**, 171.
- ANSES (2017a). "Actualisation des repères du PNNS: Révision des repères de consommations alimentaires." ANSES, France.
- ANSES (2017b). Les minéraux : Présentation et rôle des matières minérales dans l'organisme. France.
- AOAC (1995). "Official methods of analysis," Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Armah, S. M., Carriquiry, A., Sullivan, D., Cook, J. D., and Reddy, M. B. (2013). A complete diet-based algorithm for predicting nonheme iron absorption in adults. *The Journal of Nutrition* **143**, 1136-1140.
- Azuma, K., Ippoushi, K., Ito, H., Higashio, H., and Terao, J. (1999a). Evaluation of antioxidative activity of vegetable extracts in linoleic acid emulsion and phospholipid bilayers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **79**, 2010-2016.
- Azuma, K., Nakayama, M., Koshioka, M., Ippoushi, K., Yamaguchi, Y., Kohata, K., Yamauchi, Y., Ito, H., and Higashio, H. (1999b). Phenolic Antioxidants from the

Références bibliographiques

- Leaves of *Corchorus olitorius* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**, 3963-3966.
- Bach-Faig, A., Berry, E. M., Lairon, D., Reguant, J., Trichopoulou, A., Dernini, S., Medina, F. X., Battino, M., Belahsen, R., Miranda, G., and Serra-Majem, L. (2011). Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutrition* **14**, 2274–2284.
- Baye, K., Guyot, J. P., and Mouquet-Rivier, C. (2015). The unresolved role of dietary fibers on mineral absorption. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **57**, 949-957.
- Baye, K., Mouquet-Rivier, C., Icard-Vernière, C., Rochette, I., and Guyot, J. P. (2013a). Influence of flour blend composition on fermentation kinetics and phytate hydrolysis of sourdough used to make injera. *Food Chemistry* **138**, 430-436.
- Baye, K., Mouquet-Rivier, C., Icard-Vernière, C., Rochette, I., and Guyot, J. P. (2013b). Influence of flour blend composition on fermentation kinetics and phytate hydrolysis of sourdough used to make injera. *Food Chemistry* **138**, 430–436.
- Beck, K. L., Conlon, C. A., Kruger, R., and Coad, J. (2014). Dietary determinants of and possible solutions to iron deficiency for young women living in industrialized countries. *Nutrients* **6**, 3747–3776.
- Berrios, J. J., Morales, P., Cámara, M., and Sánchez-Mata, M. C. (2010). Carbohydrate composition of raw and extruded pulse flours. *Food Research International* **43**, 531–536.
- Bindra, G. S., Gibson, R. S., and Thompson, L. (1986). (Phytate)(calcium)/(zinc) molar ratios in Asian immigrant lacto-ovo vegetarian diets and their relationship to zinc nutriture. *Nutrition Research* **6**, 475–483.
- Bognár, A. (2002). "Tables on weight yield of food and retention factors of food constituents for the calculation of nutrient composition of cooked foods (dishes)," Germany.
- Bohn, L., Meyer, A. S., and Rasmussen, S. K. (2008). Phytate: impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding. *Journal of Zhejiang University Science B* **9**, 165-191.
- Bosscher, D., Caillie-Bertrand, M. V., Cauwenbergh, R. V., and Deelstra, H. (2003). Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. *Nutrition* **19**, 641-645.
- Bouchenak, M., and Lamri-Senhadji, M. (2013). Nutritional Quality of Legumes, and Their Role in Cardiometabolic Risk Prevention. *JOURNAL OF MEDICINAL FOOD* **16**, 1-14.
- Brune, M., Hallberg, L., and Skanberg, A. B. (1991). Determination of iron-binding phenolic groups in foods. *Journal of Food Science* **56**, 128-131.
- Burkitt, D., Walker, A., and Painter, N. (1972). Effect of dietary fibre on stools and transit times, and its role in the causation of disease. *Lancet* **2**, 1408–1412.
- Celem, E. B., Bolle, S. S., and Onal, S. (2009). Efficient and rapid purification of lentil alpha-galactosidase by affinity precipitation with alginate. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* **46**, 366-370.
- Cercamondi, C. I., Egli, I. M., Zeder, C., and Hurrell, R. F. (2014a). Sodium iron EDTA and ascorbic acid, but not polyphenol oxidase treatment, counteract the strong inhibitory

Références bibliographiques

- effect of polyphenols from brown sorghum on the absorption of fortification iron in young women. *British Journal of Nutrition* **111**, 481-489.
- Cercamondi, C. I., Icard-Vernière, C., Egli, I. M., Vernay, M., Hama, F., Brouwer, I. D., Zeder, C., Berger, J., Hurrell, R. F., and Mouquet-Rivier, C. (2014b). A higher proportion of iron-rich leafy vegetables in a typical burkinabe maize meal does not increase the amount of iron absorbed in young women. *Journal of Nutrition* **144**, 1394–1400.
- Cheryan, M., and Rackis, J. J. (1980). Phytic acid interactions in food systems. *Food Science and Nutrition* **13**, 297-335.
- Chibbar, R. N., Ambigaipalan, P., and Hoover, R. (2010). Molecular diversity in pulse seed starch and complex carbohydrates and its role in human nutrition and health. *Cereal Chemistry* **87**, 351.
- Choudhary, S. B., Pandey, S. P., Karmakar, P. G., Jambhulkar, S. J., Chowdhury, I., Sharma, H. K., Kumari, N., Singh, R. K., Kumar, A. A., and Souframanien, J. (2017). Morphological, histobiochemical and molecular characterisation of low lignin phloem fibre (*llpf*) mutant of dark jute (*Corchorus olitorius* L.). *Applied Biochemistry and Biotechnology*.
- Choudhary, S. B., Sharma, H. K., Karmakar, P. G., Saha, A. R., Hazra, P., Mahapatra, B. S., and Kumar, A. A. (2013). Nutritional profile of cultivated and wild jute (*Corchorus*) species. *Australian Journal of Crop Science* **7**, 1973-1982.
- CIHEAM (2012). "La diète méditerranéenne pour un développement régional durable," Presses de Sciences Po, Paris.
- CIHEAM, and FAO (2015). "Mediterranean food consumption patterns diet, environment, society, economy and health," CIHEAM-IAMB, Bari/FAO, Rome.
- Coffigniez, F., Briffaz, A., Mestres, C., Alter, P., Durand, N., and Bohuon, P. (2017). Multi-response modeling of reaction-diffusion to explain alpha-galactoside behavior during the soaking-cooking process in cowpea. *Food Chemistry* **242**, 279-287.
- Cohen, N. L., Keen, C. L., Lönnerdal, B., and Hurley, L. S. (1985). Effects of varying dietary iron on the expression of copper deficiency in the growing rat: Anemia, ferroxidase I and II, tissue trace elements, ascorbic acid, and xanthine dehydrogenase. *Journal of Nutrition* **115**, 633-649.
- Cook, J. D., and Reddy, M. B. (2001). Effect of ascorbic acid intake on nonheme-iron absorption from a complete diet. *American Journal of Clinical Nutrition* **73**, 93–98.
- Cummings, J. H., Mann, J. I., Nishida, C., and Vorster, H. H. (2009). Dietary fibre: an agreed definition. *The Lancet* **373**, 365-366.
- Cummings, J. H., and Stephen, A. M. (2007). Carbohydrate terminology and classification. *European Journal of Clinical Nutrition* **61**, 5-18.
- Dai, J., and Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* **15**, 7313-7352.
- Dang, J., Arcot, J., and Shrestha, A. (2000). Folate retention in selected processed legumes. *Food Chemistry* **68**, 295-298.
- Darmon, M., and Darmon, N. (2008). "L'équilibre nutritionnel : Concept de base et nouveaux indicateurs (Le SAIN et le LIM)," Lavoisier Tec & Doc, France.

Références bibliographiques

- Darmon, N., Vieux, F., Maillot, M., Volatier, J.-L., and Martin, A. (2009a). Nutrient profiles discriminate between foods according to their contribution to nutritionally adequate diets: a validation study using linear programming and the SAIN,LIM system. *American Journal of Clinical Nutrition* **89**, 1227–1236.
- Darmon, N., Vieux, F., Maillot, M., Volatier, J. L., and Martin, A. (2009b). Nutrient profiles discriminate between foods according to their contribution to nutritionally adequate diets: a validation study using linear programming and the SAIN,LIM system. *American Journal of Clinical Nutrition* **89**, 1227–1236.
- Davis, J., Sonesson, U., Baumgartner, D. U., and Nemecek, T. (2010). Environmental impact of four meals with different protein sources: Case studies in Spain and Sweden. *Food Research International* **43**, 1874–1884.
- Delchier, N., Ringling, C., Grandois, J. L., Aoudé-Werner, D., Galland, R., and Georgé, S. P. (2013). Effects of industrial processing on folate content in green vegetables. *Food Chemistry* **139**, 815-824.
- DeVries, J. (2004). On defining dietary fibre. *Proceedings of the Nutrition Society* **62**, 37–43.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., and Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 3010–3014.
- Dey, P. M., Del-Campillo, E. M., and Lezica, R. P. (1983). Characterization of a glycoprotein alpha-galactosidase from lentil seeds (*Lens culinaris*). *Journal of Biological Chemistry* **258**, 923-929.
- DGPA (2011). *Annuaire statistique de la direction générale de la pêche et de l'aquaculture*. (M. d. l. a. d. Tunisie, ed.), Tunisie.
- Dhuique-Mayer, C., Servent, A., Descalzo, A., Mouquet-Rivier, C., Amiot, M. J., and Achir, N. (2016). Culinary practices mimicking a polysaccharide-rich recipe enhance the bioaccessibility of fat-soluble micronutrients. *Food Chemistry* **210**, 182–188.
- Duenas, M., Sarmiento, T., Aguilera, Y., Benitez, V., Moll, E., Esteban, R. M., and Martín-Cabrejas, M. A. (2016). Impact of cooking and germination on phenolic composition and dietary fibre fractions in dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and lentils (*Lens culinaris* L.). *LWT - Food Science and Technology* **66**, 72-78.
- Duhan, A., Khetarpaul, N., and Bishnoi, S. (2002). Content of phytic acid and HCl-extractability of calcium, phosphorus and iron as affected by various domestic processing and cooking methods. *Food Chemistry* **78**, 9–14.
- Dung, D. D., Godwin, I. R., and Nolan, J. V. (2010). Nutrient content and in sacco degradation of hydroponic barley sprouts using nutrient solution or tap water. *Journal of Animal and Veterinary Advances* **9**, 2432-2436.
- EFSA (2006). "Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) ;Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals."
- Egli, I., Davidsson, L., Juillerat, M. A., Barclay, D., and Hurrell, R. F. (2002). The influence of soaking and germination on the phytase activity and phytic acid content of grains and seeds potentially useful for complementary feeding. *Journal of Food Science* **67**, 3484-3488.

Références bibliographiques

- El-Arab, A. M. E. (2009). A diet rich in leafy vegetable fiber improves cholesterol metabolism in high-cholesterol fed rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences* **12**, 1299-1306.
- EL-Ati, J., Alouane, L., Mokni, R., Béji, C., Hsaïri, M., Oueslati, A., and Maire, B. (2002). Le retard de croissance chez les enfants tunisiens d'âge préscolaire: Analyse des causes probables et interprétation de son évolution au cours des 25 dernières années. In "L'approche causale appliquée à la surveillance alimentaire et nutritionnelle en Tunisie" (O. M. S. B. E. e. R. n. 41, ed.), pp. 162. CIHEAM, Montpellier.
- El-Ati, J., Béji, C., Farhat, A., Haddad, S., Cherif, S., Trabelsi, T., Danguir, J., Gaigi, S., Bihan, G. L., Landais, E., Duvernay, S. E., Maire, B., Delpeuch, F., and Rhidha, K. M. (2007). "Table de composition des aliments tunisiens," INNTA ; IRD, Tunis; Montpellier.
- ElMaki, H. B., AbdelRahaman, S. M., Idris, W. H., Hassan, A. B., Babiker, E. E., and El-Tinay, A. H. (2007). Content of antinutritional factors and HCl-extractability of minerals from white bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars: Influence of soaking and/or cooking. *Food Chemistry* **100**, 362–368.
- Embaby, H. E.-S. (2010). Effect of soaking, dehulling, and cooking methods on certain antinutrients and in vitro protein digestibility of bitter and sweet lupin seeds. *Food Science and Biotechnology* **19**, 1055-1062.
- Etcheverry, P., Grusak, M. A., and Fleige, L. E. (2012). Application of *in vitro* bioaccessibility and bioavailability methods for calcium, carotenoids, folate, iron, magnesium, polyphenols, zinc, and vitamins B6, B12, D, and E. *Frontiers in Physiology* **3**, 317.
- Etcheverry, P., Hawthorne, K. M., Liang, L. K., Abrams, S. A., and Griffin, I. J. (2006). Effect of beef and soy proteins on the absorption of non-heme iron and inorganic zinc in children. *Journal of the American College of Nutrition* **25**, 34-40.
- Fairweather-Tait, S., Jennings, A., Harvey, L. J., Berry, R., Walton, J., and Dainty, J. R. (2017). Modeling tool for calculating dietary iron bioavailability in iron-sufficient adults. *American Journal of Clinical Nutrition* **105**, 1408–1414.
- Fairweather-Tait, S., Lynch, S., Hotz, C., Hurrell, R., Abrahamse, L., Beebe, S., Bering, S., Bukhave, K., Glahn, R., Hambidge, M., Hunt, J., Lonnerdal, B., Miller, D., Mohktar, N., Nestel, P., Reddy, M., Sandberg, A. S., Sharp, P., Teucher, B., and Trinidad, T. P. (2005). The usefulness of in vitro models to predict the bioavailability of iron and zinc: A consensus statement from the harvest plus expert consultation. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* **75**, 371-374.
- FAO (2010). "International scientific symposium biodiversity and sustainable diets," Rome.
- FAO (2016). "Légumineuses: Des graines nutritives pour un avenir durable," FAO.
- FAO (2017). "Global food composition database for pulses," FAO/INFOODS Rome.
- FAO, IFAD, and WFP (2015). "The state of food insecurity in the world. Meeting the 2015 international hunger targets: taking stock of uneven progress," Rome.
- FAO, and WHO (2001a). Calcium. In "Human vitamin and mineral requirements", pp. 290. Food and Nutrition Division, Rome.
- FAO, and WHO (2001b). Folate and folic acid. In "Human vitamin and mineral requirements", pp. 290, Rome.

Références bibliographiques

- FAO, and WHO (2001c). "Human Vitamin and Mineral Requirements." Report of a joint FAO/WHO expert consultation, FAO, Bangkok, Thailand.
- FAO, and WHO (2001d). Iron. *In* "Human vitamin and mineral requirements", pp. 290. Food and Nutrition Division, Rome.
- FAO, and WHO (2001e). Magnesium. *In* "Human vitamin and mineral requirements", pp. 290. Food and Nutrition Division, Rome.
- FAO, and WHO (2001f). Zinc. *In* "Human vitamin and mineral requirements", pp. 290. Food and Nutrition Division, Rome.
- FAO, and WHO (2003). "Expert Report: Diet, nutrition and prevention of chronic diseases." WHO Technical Report.
- FAO, and WHO (2004). "Vitamin and mineral requirements in human nutrition," Second edition/Ed., Italy: Rome.
- FAO, and WHO (2011). Évaluation de l'importance de la malnutrition par carence en micronutriments sur le plan de la santé publique. *In* "Directives sur l'enrichissement des aliments en micronutriments", pp. 412, Italie.
- FAOSTAT (2011). Statistical database. FAO.
- FAOSTAT (2014). Production: Crops. FAO.
- Fardet, A. (2017). "Halte aux aliments ultra transformés ! Mangeons vrai."
- Fardet, A., Souchon, I., and Dupont, D. (2013). "Structure des aliments et effets nutritionnels," Versailles.
- Fernandes, A. C., Nishida, W., and Costa-Proença, R. P. (2010). Influence of soaking on the nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cooked with or without the soaking water: a review. *International Journal of Food Science and Technology* **45**, 2209–2218.
- Fernandez, R., and Phillips, S. (1982). Components of fiber bind iron in vitro. *The American Journal of Clinical Nutrition* **35**, 100-106.
- Fitzgerald, S. L., Gibson, R. S., Serrano, J. Q., Portocarrero, L., Vasquez, A., and Zepeda, E. (1993). Trace element intakes and dietary phytate : Zn and phytate × Ca : Zn millimolar ratios of periurban Guatemalan women during the third trimester of pregnancy. *American Journal of Clinical Nutrition* **57**, 195–201.
- Fратиanni, F., Cardinale, F., Cozzolino, A., Granese, T., Albanese, D., Matteo, M. D., Zaccardelli, M., Coppola, R., Nazzaro, F., and Aguilera, Y. (2014). Polyphenol composition and antioxidant activity of different grass pea (*Lathyrus sativus*), lentils (*Lens culinaris*), and chickpea (*Cicer arietinum*) ecotypes of the Campania region (Southern Italy). *Journal of Functional Foods* **7**, 551– 557.
- Freibauer, A., Mathijs, E., Brunori, G., Damianova, Z., Faroult, E., Gomis, J. G., O'Brien, L., and Treyer, S. (2011). "Sustainable food consumption and production in a resource-constrained world." European Commission/Research and Innovation/Food, Agriculture & Fisheries & Biotechnology, Brussels.
- Frias, J., Vidal-Valverde, C., Kozłowska, H., Tabera, J., Honke, J., and Hedley, C. L. (1996). Natural fermentation of lentils. Influence of time, concentration and temperature on the kinetics of monosaccharide, disaccharide and a-galactosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **44**, 579-584.

Références bibliographiques

- Furumoto, T., Wang, R., Okazaki, K., Hasan, A. F. M. F., Ali, M. I., Kondo, A., and Fukui, H. (2002). Antitumor promoters in leaves of jute (*Corchorus capsularis* and *Corchorus olitorius*). *LWT - Food Science and Technology* **8**, 239–243.
- Gandemer, G., Scislawski, V., Duchène, C., and Kondjoyan, A. (2013). Cooking losses of juice, heme iron, B3 and B6 vitamins in beef meat as related to cooking practices-consequences on nutritional value of meat. *International Congress of Meat Science and Technology*, 18-23.
- Gemedé, H. F., Haki, G. D., Beyene, F., Woldegiorgis, A. Z., and Rakshit, S. K. (2016). Proximate, mineral, and antinutrient compositions of indigenous Okra (*Abelmoschus esculentus*) pod accessions: implications for mineral bioavailability. *Food Science & Nutrition* **4**, 223–233.
- Gerber, N., Scheeder, M. R., and Wenk, C. (2009). The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat science* **18**, 148-154.
- Gibson, R. S., Bailey, K. B., Gibbs, M., and Ferguson, E. L. (2010). Phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability. *Food and Nutrition Bulletin* **31**, 134-146.
- Gibson, R. S., Vanderkooy, P. D. S., and Thompson, L. (1991). Dietary phytate × calcium/zinc molar ratios and zinc nutriture in some Ontario preschool children. *Trace Element Research* **30**, 87–94
- González-Córdova, A. F., Beltrán-Barrientos, L. M., Santiago-López, L., Garcia, H. S., Vallejo-Cordoba, B., and Hernandez-Mendoza, A. (2016). Phytate-degrading activity of probiotic bacteria exposed to simulated gastrointestinal fluids. *LWT - Food Science and Technology* **73**, 67-73.
- Goran, G. V., Tudoreanu, L., Rotaru, E., and Crivineanu, V. (2016). Comparative study of mineral composition of beef steak and pork chops depending on the thermal preparation method. *Meat Science* **118**, 117–121.
- Granito, M., Frias, J., Doblado, R., Guerra, M., Champ, M., and Vidal-Valverde, C. (2002). Nutritional improvement of beans (*Phaseolus vulgaris*) by natural fermentation. *European Food Research and Technology* **214**, 226–231.
- Grela, E. R., Kiczorowska, B., Samolińska, W., Matras, J., Kiczorowski, P., Rybiński, W., and Hanczakowska, E. (2017). Chemical composition of leguminous seeds: part I—content of basic nutrients, amino acids, phytochemical compounds, and antioxidant activity. *European Food Research and Technology* **243**, 385–395.
- Guillon, F., and Champ, M. M. J. (2002). Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *British Journal of Nutrition* **88**, 293–306.
- Gupta, C. P. (2014). Role of iron (Fe) in body. *Journal of Applied Chemistry* **7**, 38-46.
- Gupta, R. K., Gangoliya, S. S., and Singh, N. K. (2015). Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *Journal of Food Science and Technology* **52**, 676–684.
- Gupta, A. S., Lakshmia, M. J., Manjunathb, N., and Prakasha, J. (2005). Analysis of nutrient and antinutrient content of underutilized green leafy vegetables. *LWT - Food Science and Technology* **38**, 339-345.

Références bibliographiques

- Hadjichambis, A. C., Paraskeva-Hadjichambi, D., Della, A., Giusti, M. E., Pasquale, C. D., Lenzarini, C., Censorii, E., Gonzales-Tejero, M. R., Sanchez-Rojas, C. P., Ramiro-Gutierrez, J. M., Skoula, M., Johnson, C., Sarpaki, A., Hmamouchi, M., Jorhi, S., El-Demerdash, M., El-Zayat, M., and Pieroni, A. (2008). Wild and semi-domesticated food plant consumption in seven circum-Mediterranean areas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **59**, 383-414.
- Hallberg, L., Brune, M., Erlandsson, M., Sandberg, A. S., and Hulthén, L. R. (1991). Calcium: effect of different amounts on nonheme- and heme-iron absorption in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* **53**, 112-119.
- Hallberg, L., Hultén, L. R., Brune, M., and Gleerup, A. (1992a). Calcium and iron absorption: Mechanism of action and nutritional importance. *European Journal of Clinical Nutrition* **46**, 317-327.
- Hallberg, L., Hultén, L. R., Brune, M., and Gleerup, A. (1992b). Inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. *British Journal of Nutrition* **69**, 533-527.
- Hallberg, L., and Hulthén, L. (2000). Prediction of dietary iron absorption: an algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron. *American Journal of Clinical Nutrition* **71**, 1147-1160.
- Hama, F., Icard-Vernière, C., Guyot, J. P., Picq, C., Diawara, B., and Mouquet-Rivier, C. (2011a). Changes in micro- and macronutrient composition of pearl millet and white sorghum during in field versus laboratory decortication. *Journal of Cereal Science* **54**, 425-433.
- Hama, F., Icard-Vernière, C., Guyot, J. P., Picq, C., Diawara, B., and Mouquet-Rivier, C. (2011b). Changes in micro- and macronutrient composition of pearl millet and white sorghum during in field versus laboratory decortication. *Journal of Cereal Science* **54**, 425-433.
- Han, I. H., and Baik, B. K. (2006). Oligosaccharide content and composition of legumes and their reduction by soaking, cooking, ultrasound, and high hydrostatic pressure. *Cereal Chemistry* **83** 428–433.
- Hefnawy, T. H. (2011). Effect of processing methods on nutritional composition and anti-nutritional factors in lentils (*Lens culinaris*). *Annals of Agricultural Science* **56**, 57–61.
- Hefni, M., and Witthöft, C. M. (2011). Increasing the folate content in Egyptian baladi bread using germinated wheat flour. *LWT-Food Science and Technology* **44**, 706–712.
- Hefni, M., and Witthöft, C. M. (2014). Folate content in processed legume foods commonly consumed in Egypt. *LWT-Food Science and Technology* **57**, 337-343.
- Hefni, M. E., Shalaby, M. T., and Witthoft, C. M. (2015). Folate content in faba beans (*Vicia faba* L.)-effects of cultivar, maturity stage, industrial processing, and bioprocessing. *Food Science & Nutrition* **3**, 65–73.
- Hipsley, E. H. (1953). Dietary “fibre” and pregnancy toxæmia. *British medical journal* **2**, 420-422.
- Hooda, S., and Jood, S. (2003). Effect of soaking and germination on nutrient and antinutrient contents of fenugreek (*Triwnella Foenum Graecum* L.) *Journal of Food Biochemistry* **27**, 165-176.
- Hoppner, K., and Lampi, B. (1993). Folate retention in dried legumes after different methods of meal preparation. *Food Research International* **26**, 45-48.

Références bibliographiques

- Hotz, C., and Gibson, R. S. (2007). Traditional food-processing and preparation practices to enhance the bioavailability of micronutrients in plant-based diets. *The Journal of Nutrition* **137**, 1097–1100.
- Hotz, C., Lowe, N. M., Araya, M., and Brown, K. H. (2003). Assessment of the trace element status of individuals and populations: the example of zinc and copper. *Journal of Nutrition* **133**, 1563–1568.
- Huma, N., Anjum, F. M., Sehar, S., Khan, M. I., and Hussain, S. (2008). Effect of soaking and cooking on nutritional quality and safety of legumes. *Nutrition & Food Science* **38**, 570-577.
- Hunt, J. R. (1996). Bioavailability algorithms in setting recommended dietary allowances: Lessons from iron, applications to zinc. *American Institute of Nutrition* **96**, 2345-2353.
- Hurrell, R., and Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *American Journal of Clinical Nutrition* **91**, 1461-1467.
- Hurrell, R. F. (2004). Phytic acid degradation as a means of improving iron absorption. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* **74**, 445-452.
- Hurrell, R. F., Reddy, M., and Cook, J. D. (1999). Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *British Journal of Nutrition* **81**, 289-295.
- Hurrell, R. F., Reddy, M. B., Juillerat, M. A., and Cook, J. D. (2003). Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects. *American Journal of Clinical Nutrition* **77**, 1213–1219.
- Icard-Vernière, C., Olive, F., Picq, C., and Mouquet-Rivier, C. (2015). Contribution of leafy vegetable sauces to dietary iron, zinc, vitamin A and energy requirements in children and their mothers in Burkina Faso. *Plant Foods for Human Nutrition* **70**, 63-70.
- Icard-Vernière, C., Picq, C., Courbis, L., and Mouquet-Rivier, C. (2016). The type of fortificant and the leaf matrix both influence iron and zinc bioaccessibility in iron-fortified green leafy vegetable sauces from Burkina Faso. *Food and Function* **7**, 1103–1110
- İlhan, S., Savaroğlu, F., and Çolak, F. (2007). Antibacterial and antifungal activity of *Corchorus olitorius* L. (Molokhia) extracts. *International Journal of Natural and Engineering Sciences* **1**, 59-61.
- INC (2010). L'alimentation Méditerranéenne et le régime alimentaire actuel Tunisien
pp. 21. Institut National de la Consommation, Bizerte.
- INC (2013). Les mutations du comportement de consommation en Tunisie. (M. d. c. e. d. l'artisanat, ed.), pp. 165. Institut National de la Consommation, Tunisie.
- INNTA, and UNICEF (2002). Anémie en Tunisie : Causes et mesures d'intervention. pp. 136. Ministère de la santé publique-Institut national de nutrition et de technologie alimentaire, Tunisie.
- INSERM (1999). Besoins, carences et suppléments en vitamines et minéraux. In "Carences nutritionnelles : Etiologies et dépistage", pp. 350. Expertise collective Inserm, Paris.
- Issa, C., Salameh, P., Batal, M., Vieux, F., Lairon, D., and Darmon, N. (2009). The nutrient profile of traditional Lebanese composite dishes: comparison with composite dishes

- consumed in France. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **60**, 285-295.
- Jung, C. H., Choi, I., Kim, H. M., and Seog, H. M. (2002). Physicochemical Properties of Mucilage from Domestic Molokhia (*Corchorus olerius*). *Korean Journal of Food Science and Technology* **34**, 757-761.
- Kahane, R., Temple, L., Brat, P., and De-Bon, H. (2005). Les légumes feuilles des pays tropicaux : Diversité, richesse économique et valeur santé dans un contexte très fragile In "Les légumes : un patrimoine à transmettre et à valoriser. Thème III : Utilisation et perception", Colloque Angers.
- Kariluoto, S., Liukkonen, K. H., Myllymäki, O., Vahteristo, L., Kaukovirta-Norja, A., and Piironen, V. (2006). Effect of germination and thermal treatments on folates in rye. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**, 9522–9528.
- Kariluoto, S., and Piironen, V. (2009). Total folate. In "Healthgrain methods: Analysis of bioactive components in small grain cereals" (P. Shewry and J. W. S. Paul, eds.), pp. 59-68. AACC International, USA.
- Karkle, E. N. L., and Beleia, A. (2010). Effect of soaking and cooking on phytate concentration, minerals, and texture of food-type soybeans. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **30** 1056-1060.
- Kaushik, G., Satya, S., and Naik, S. N. (2010). Effect of domestic processing techniques on the nutritional quality of the soybean. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* **3**, 39–46
- Keys, A., and Keys, M. (1959). "How to eat well and stay well: The Mediterranean way," Doubleday, Garden City, New York.
- Khanbabae, K., and van-Ree, T. (2001). Tannins: classification and definition. *Natural product reports* **18**, 641-649.
- Kharrat, M., Ben-Salah, H., and Halila, H. M. (1991). Faba bean status and prospects in Tunisia. In "Present status and future prospects of faba bean production and improvement in the Mediterranean countries" (O. Méditerranéennes, ed.), pp. 169-172. CIHEAM.
- Kharrat, M., and Ouchar, H. (2011). Faba bean status and prospects in Tunisia. In "The magazine of the European Association for Grain Legume Research", Spain.
- Khattab, R. Y., and Arntfield, S. D. (2009). Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors. *LWT - Food Science and Technology* **42**, 1113–1118.
- Kiebre, M., Kando, P. B., Kiebre, Z., Sawadogo, M., Sawadogo, N., Sawadogo, B., Nanema, R. K., and Traore, R. E. (2016). Evaluation agromorphologique d'accessions de corète potagère (*Corchorus olerius*. L) du Burkina Faso *International Journal of Innovation and Applied Studies* **14**, 198-209.
- Kondjoyan, A., Kohler, A., and Realini, C. E. (2013). Towards models for the prediction of beef meat quality during cooking. *Meat Science* **97**, 323-331.
- Korhola, M., Hakonen, R., Juuti, K., Edelmann, M., Kariluoto, S., Nyström, L., SontagStrohm, T., and Piironen, V. (2014). Production of folate in oat bran

Références bibliographiques

- fermentation by yeasts isolated from barley and diverse foods. *Journal of Applied Microbiology* **117**, 679–689.
- Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P. S., and Becker, K. (2010a). Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition. *Food Chemistry* **120**, 945–959.
- Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P. S., and Becker, K. (2010b). Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry* **120**, 945–959.
- Kwun, I. S., and Kwon, C. S. (2000). Dietary molar ratios of phytate:zinc and millimolar ratios of phytate * calcium:zinc in South Koreans. *Biological Trace Element Research* **75**, 29-41.
- Lacirignola, C., Dernini, S., Capone, R., Meybeck, A., Burlingame, B., Gitz, V., El-Bilali, H., Debs, P., and Belsanti, V. (2012). "Vers l'élaboration de recommandations pour améliorer la durabilité des régimes et modes de consommation alimentaires : la Diète méditerranéenne comme étude pilote," CIHEAM.
- Lajolo, F. M., and Genovese, M. I. (2002). Nutritional significance of lectins and enzyme inhibitors from legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 6592-6598.
- Larsen, T., and Sandstrom, B. (1992). Effect of calcium, copper, and zinc levels in a rapeseed meal diet on mineral and trace element utilization in the rat. *Biological Trace Element Research* **35**, 167–184.
- Lazarte, C. E., Carlsson, N. G., Almgren, A., Sandberg, A. S., and Granfeldt, Y. (2015). Phytate, zinc, iron and calcium content of common Bolivian food, and implications for mineral bioavailability. *Journal of Food Composition and Analysis* **39**, 111–119.
- Lestienne, I., Icard-Vernière, C., Mouquet, C., Picq, C., and Trèche, S. (2005). Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. *Food Chemistry* **89**, 421–425.
- Lestienne, I., Icard-Vernière, C., Picq, C., and Trèche, S. (2003). Effets du trempage de graines et de farines de céréales et de légumineuses sur leur teneur en phytates et leurs rapports molaires Phy/Fe et Phy/Zn. In "2ème Atelier international. Voies alimentaires d'amélioration des situations nutritionnelles ", pp. 479-488, Ouagadougou.
- Lestienne, I., Mouquet-Rivier, C., Icard-Vernière, C., Rochette, I., and Trèche, S. (2005). The effects of soaking of whole, dehulled and ground millet and soybean seeds on phytate degradation and Phy/Fe and Phy/Zn molar ratios. *International Journal of Food Science and Technology* **40**, 391–399.
- Lewu, M. N., Adebola, P. O., and Afolayan, A. J. (2010). Effect of cooking on the mineral contents and anti-nutritional factors in seven accessions of *Colocasia esculenta* (L.) Schott growing in South Africa. *Journal of Food Composition and Analysis* **23**, 389–393.
- Lim, K. H. C., Riddell, L. J., Nowson, C. A., Booth, A. O., and Szymlek-Gay, E. A. (2013). Iron and zinc nutrition in the economically-developed world. *Nutrients* **5**, 3184–3211.
- Lombardi-Boccia, G., Martinez-Dominguez, B., Aguzzi, A., and Rincon-Leon, F. (2002). Optimization of heme iron analysis in raw and cooked red meat. *Food Chemistry* **78**, 505–510.
- Lönnerdal, B. (2000). Dietary factors influencing zinc absorption. *Journal of Nutrition* **130**, 1378–1383.

Références bibliographiques

- Lönnerdal, B. (2010). Calcium and iron absorption - mechanisms and public health relevance. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* **45**, 293-299.
- Lopez, H. W., Leenhardt, F., Coudray, C., and Remesy, C. (2002). Minerals and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition? *International Journal of Food Science and Technology* **37**, 727–739.
- Loumerem, M., and Alercia, A. (2016). Descriptors for jute (*Corchorus olitorius* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* **63**, 1103–1111.
- Lu, C. L., Hsu, K. H., and Wilson, L. A. (1984). Quality attributes and retention of selected B-vitamins of canned faba beans as affected by soaking treatments. *Journal of Food Science* **49**, 1053-1056.
- Luo, Y. W., and Xie, W. H. (2013). Effect of different processing methods on certain antinutritional factors and protein digestibility in green and white faba bean (*Vicia faba* L.). *CyTA - Journal of Food* **11**, 43-49.
- Macdiarmid, J., Kyle, J., Horgan, G., Loe, J., Fyfe, C., Johnstone, A., and McNeill, G. (2011). "Livewell: a balance of healthy and sustainable food choices." Rowett institute of nutrition and health, United Kingdom.
- Mahbubul, M. I. (2013). Biochemistry, medicinal and food values of jute (*Corchorus capsularis* L. and *C. olitorius* L.) leaf. *International Journal of Enhanced Research in Science Technology & Engineering* **2**, 35-44.
- Maneesh-Kumar, M., Prasad, K., Chandra, T. S., and Debnath, S. (2016). Evaluation of physical properties and hydration kinetics of red lentil (*Lens culinaris*) at different processed levels and soaking temperatures. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* **17**, 330-338.
- Marinangeli, C. P. F., Curran, J., Barr, S. I., Slavin, J., Puri, S., Swaminathan, S., Tapsell, L., and Patterson, C. A. (2017). Enhancing nutrition with pulses: defining a recommended serving size for adults. *Nutrition Reviews* **75**, 990–1006.
- Martin-Cabrejas, M. A., Aguilera, Y., Benitez, V., Mollà, E., Lopez-Andréu, F. J., and Esteban, R. M. (2006). Effect of industrial dehydration on the soluble carbohydrates and dietary fiber fractions in legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**, 7652–7657.
- Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., and Vidal-Valverde, C. (2008a). Alpha-galactosides: Antinutritional factors or functional ingredients? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **48**, 301-316.
- Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., and Vidal-Valverde, C. (2008b). Alpha-galactosides: Antinutritional factors or functional ingredients? *Food Science and Nutrition* **48**, 301-316.
- Matin, H. R. H., Shariatmadari, F., and M.A.K.Torshizi (2013). In vitro mineral-binding capacity of various fibre sources: The monogastric sequential simulated physiological conditions. *Advanced Studies in Biology* **5**, 235 - 249.
- McLean, R., Edmonds, J., Williams, S., Mann, J., and Skeaff, S. (2015). Balancing sodium and potassium: Estimates of intake in a new zealand adult population sample. *Nutrients* **7**, 8930–8938.
- McRorie, J. W., and McKeown, N. M. (2017). Understanding the physics of functional fibers in the gastrointestinal tract: An evidence-based approach to resolving enduring

Références bibliographiques

- misconceptions about insoluble and soluble fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* **117**, 251-264.
- Meghwal, M., and Goswami, T. K. (2012). A review on the functional properties, nutritional content, medicinal utilization and potential application of fenugreek. *Journal of Food Processing & Technology* **3**, 1-10.
- Mekonnen, M. M., and Hoekstra, A. Y. (2011). The green, blue and grey water footprint of crops and derived crop products. *Hydrology and Earth System Sciences* **15**, 1577–1600.
- Mekonnen, M. M., and Hoekstra, A. Y. (2012). A global assessment of the water footprint of farm animal products. *Ecosystems* **15**, 401–415.
- Miller, D., Schriker, B., Rasmussen, R., and Van-Campen, D. (1981a). An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *American Journal of Clinical Nutrition* **34**, 2248–2256.
- Miller, D. D., Schriker, B. R., Rasmussen, R. R., and Campen, D. V. (1981b). An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *The American Journal of Clinical Nutrition* **34**, 2248-2256.
- Miyada, T., Nakajima, A., and Ebihara, K. (2011). Iron bound to pectin is utilised by rats. *British Journal of Nutrition* **106**, 73-78.
- Moldovan, O., Păucean, A., Vlaic, R., Borș, M. D., and Muste, S. (2015). Preliminary assessment of the nutritional quality of two types of lentils (*Lens culinaris*) by near infrared reflectance spectroscopy technology (Nirs). *LWT-Food Science and Technology* 72(1) / 2015 **72**, 127-132.
- Monsen, E. R., Hallberg, G. L., Layrisse, M., Hegsted, D. M., Cook, J. D., Mertz, W., and Finch, C. A. (1978). Estimation of available dietary iron. *American Journal of Clinical Nutrition* **31**, 134-141.
- Morris, E. R., and Ellis, R. (1985). Bioavailability of dietary calcium. Effect of phytate on adult men consuming nonvegetarian diets. In "Nutritional bioavailability of calcium", Vol. 275, pp. 63-72. American Chemical Society, Washington, DC, USA.
- Morris, E. R., and Ellis, R. (1989). Usefulness of the dietary phytic acid/molar ratio as an index of bioavailability to rats and humans. *Biological Trace Element Research* **19**, 107–117.
- Mugendi, J. B., Njagi, E. N. M., Kuria, E. N., Mwasaru, M. A., Mureithi, J. G., and Apostolides, Z. (2010). Effects of processing technique on the nutritional composition and anti-nutrient content of mucuna bean (*Mucuna pruriens* L.). *African Journal of Food Science* **4**, 156-166.
- Mulimani, V. H., Thispesswamy, S., and Ramalingam, G. (1997). Effect of soaking, cooking and crude α -galactosidase treatment on the oligosaccharide content of soybean flour. *Food Chemistry* **59**, 279-282.
- Musa, A., and Ogbadoyi, E. O. (2012). Effect of cooking and sun drying on micronutrients, antinutrients and toxic substances in *Corchorus olitorius* (Jute Mallow). *Nutrition & Food Sciences* **2**, 14.
- Ndlovu, J., and Afolayan, A. J. (2008). Nutritional analysis of the South African wild vegetable *Corchorus olitorius* L. *Asian Journal of Plant Sciences* **7**, 615-618.

Références bibliographiques

- Neugart, S., Baldermann, S., Ngwene, B., Wesonga, J., and Schreiner, M. (2017). Indigenous leafy vegetables of Eastern Africa-A source of extraordinary secondary plant metabolites. *Food Research International*.
- Njoumi, S., Bellagha, S., Icard-Vernière, C., Picq, C., Amiot, M. J., and Mouquet-Rivier, C. (2018). Effects of cooking and food matrix on estimated mineral bioavailability in Mloukhiya, a Mediterranean dish based on jute leaves and meat. *Food Research International* **105**, 233-240.
- Noleppa, S. (2012). "Climate change on your plate." World Wildlife Fund.
- Oberleas, D., and Harland, B. F. (1981). Phytate content of foods: effect on dietary zinc bioavailability. *Journal of the American Dietetic Association* **79**, 433-436.
- Oberleas, D., Muhrer, M. E., and O'Dell, B. L. (1966). The availability of zinc from foodstuffs. In "Zinc Metabolism", pp. 225-238. Springfield.
- Oberleas, D., and Prasad, A. S. (1976). Zinc and copper In "Trace elements in human health and disease". Academic Press Inc, USA.
- Ohtani, K., Okai, K., Yamashita, U., Yuasa, I., and Misaki, A. (1995). Characterization of an acidic polysaccharide isolated from the leaves of *C. olitorius* (Moroheiya). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **59**, 378-381.
- Oilic, S., Lemoine, E., and Gros, J. B. (2011). Kinetic analysis of cooking losses from beef and other animal muscles heated in a water bath-Effect of sample dimensions and prior freezing and ageing. *Meat Science* **88**, 338-346.
- Omar, S., Feki, M., and Kaabachi, N. (2006). Le métabolisme du fer : revue générale et récents développements. *Annales De Biologie Clinique* **64**, 523-534.
- OMS, and FAO (2003). "Régime alimentaire, nutrition et prévention des maladies chroniques ", Genève, Suisse.
- Oomah, B. D., Caspar, F., Malcolmson, L. J., and Bellido, A.-S. (2011a). Phenolics and antioxidant activity of lentil and pea hulls. *Food Research International* **44**, 436-441.
- Oomah, B. D., François, C., Linda, J. M., and Anne-Sophie, B. (2011b). Phenolics and antioxidant activity of lentil and pea hulls. *Food Research International* **44**, 436-441.
- Ouji, A., Naouari, M., Mouelhi, M., and Younes, M. B. (2017). Yield and Yield Components of Faba Bean (*Vicia faba* L.) as Influenced by Supplemental Irrigation under Semi-arid Region of Tunisia. *World Journal of Agricultural Research* **5**, 52-57.
- Padilla, M. (2008a). Alimentation et évolution de la consommation. In "Les futurs agricoles et alimentaires en Méditerranée " (P. d. S. Po, ed.), pp. 149-167. CIHEAM, Montpellier.
- Padilla, M. (2008b). Assurer la sécurité alimentaire des populations. In "Les futurs agricoles et alimentaires en Méditerranée " (P. d. S. Po, ed.), pp. 231-249. CIHEAM, Montpellier France.
- Padilla, M., and Palma, G. (2015). L'alimentation méditerranéenne va-t-elle disparaître dans le pourtour méditerranéen ? *Phytothérapie* **13**, 76-81.
- Pal, R. S., Bhartiya, A., ArunKumar, R., Kant, L., Aditya, J. P., and Bisht, J. K. (2016). Impact of dehulling and germination on nutrients, antinutrients, and antioxidant properties in horsegram. *Journal of Food Science and Technology* **53**, 337-347.

Références bibliographiques

- Pandey, H., and Awasthi, P. (2015). Effect of processing techniques on nutritional composition and antioxidant activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed flour. *Journal of Food Science and Technology* **52**, 1054–1060.
- Pandey, K. B., and Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2**, 270–278.
- Perez-Hidalgo, M. A., Guerra-Hernández, E., and García-Villanova, B. (1997). Dietary fiber in three raw legumes and processing effect on chickpeas by an enzymatic-gravimetric method. *Journal of Food Composition and Analysis* **10**, 66-72.
- Perry, J., and Ying, W. (2016a). A review of physiological effects of soluble and insoluble dietary fibers. *Journal of Nutrition & Food Sciences* **2**.
- Perry, J. R., and Ying, W. (2016b). A review of physiological effects of soluble and insoluble dietary fibers. *Journal of Nutrition & Food Sciences* **6**, 476.
- Persson, H., Nyman, M., Liljeberg, H., Onning, G., and Frolich, W. (1991). Binding of mineral elements by dietary fibre components in cereals in vitro (III). *Food Chemistry* **40**, 169-183.
- Pohl, H. R., Wheeler, J. S., and Murray, H. E. (2013). Sodium and potassium in health and disease. In "Interrelations between essential metal ions and human diseases", pp. 29-47. Metal Ions in Life Sciences.
- Porres, J. M., Aranda, P., Pez-Jurado, M. L., and Urbano, G. (2005). Nutritional potential of raw and free r-galactosides lupin (*Lupinus albus* Var. *multolupa*) seed flours. Effect of phytase treatment on nitrogen and mineral dialyzability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** 3088-3094.
- Pourkhalili, A., Mirlohi, M., and Rahimi, E. (2013). Heme iron content in lamb meat is differentially altered upon boiling, grilling, or frying as assessed by four distinct analytical methods. *The Scientific World Journal*, 5.
- Prosky, L., Asp, N. G., Schweizer, T. F., DeVries, J. W., and Furda, I. (1992). Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: Collaborative study. *Journal of AOAC* **75**, 360–367.
- Quinteros, A., Farré, R., and Lagarda, M. J. (2001). Optimization of iron speciation (soluble, ferrous and ferric) in beans, chickpeas and lentils. *Food Chemistry* **75**, 365–370.
- Radwan, A., Zaid, A. N., Jaradat, N., and Odeh, Y. (2017). Food effect: The combined effect of media pH and viscosity on the gastrointestinal absorption of ciprofloxacin tablet. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **101**, 100–106.
- Ramírez-Moreno, E., Díez-Marqués, C., Sánchez-Mata, M. C., and Goñi, B. (2011). *In vitro* calcium bioaccessibility in raw and cooked cladodes of prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica* L. Miller). *LWT - Food Science and Technology* **44**, 1611-1615.
- Reddy, M. B., Hurrell, R. F., and Cook, J. D. (2000). Estimation of nonheme-iron bioavailability from meal composition. *American Journal of Clinical Nutrition* **71**, 937–943.
- Reddy, M. B., Hurrell, R. F., and Cook, J. D. (2006). Meat consumption in a varied diet marginally influences nonheme iron absorption in normal individuals. *Journal of Nutrition* **136**, 576–581.

Références bibliographiques

- Reddy, N. R., Pierson, M. D., Sathe, S. K., and Salunkhe, D. K. (1982). "Phytates in cereals and legumes," CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Reddy, N. R., Pierson, M. D., Sathe, S. K., and Salunkhe, D. K. (1984). Chemical, nutritional and physiological aspects of dry bean carbohydrates-a review *Food Chemistry* **13**, 25-68.
- Reddy, N. R., Sathe, S. K., and Salunkhe, D. K. (1989). Phytates. In "Handbook of world food legumes: Nutritional chemistry, processing technology, and utilization", Vol. 1, pp. 163-187. Press: Boca Raton.
- Rehman, Z. U., Rashid, M., and Shah, W. H. (2004). Insoluble dietary fibre components of food legumes as affected by soaking and cooking processes. *Food Chemistry* **85**, 245–249.
- Ribeiro, N. D., Maziero, S. M., Prigol, M., Nogueira, C. W., Rosa, D. P., and Possobom, M. T. D. F. (2012). Mineral concentrations in the embryo and seed coat of common bean cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis* **26**, 89–95.
- Rickard, A. P., Chatfield, M. D., Conway, R. E., Stephen, A. M., and Powell, J. J. (2009). An algorithm to assess intestinal iron availability for use in dietary surveys. *British Journal of Nutrition* **102**, 1678–1685.
- Rock, E., and Fardet, A. (2014). Les antioxydants des agrumes : action en solitaire ou matricielle ? *Phytothérapie* **12**, 66-75.
- Rowland, G. C. (1977). Seed coat thickness and seed crude fibre in faba beans (*Vicia faba*). *Canadian Journal of Plant Science* **57**, 951-953.
- Rupérez, P. (1998). Oligosaccharides in raw and processed legumes. *Z Lebensm Unters Forsch* **206**, 130-133.
- Sahoré, A. D., Abouattier, L., and Gbogouri, F. G. (2014). Assessment of some mineral elements (Ca, Na, K, Mg, Fe, Mn Cu and Zn) and their nutritional intake of two traditional leafy vegetables: Leaves of *Corchorus olitorius* (Tiliaceae) and *Hibiscus sabdariffa* (Malvaceae). *International Journal of Agriculture Innovations and Research* **3**, 2319-1473.
- Sakhare, S. D., Inamdar, A. A., and Prabhasankar, P. (2015). Roller milling process for fractionation of fenugreek seeds (*Trigonella foenumgraecum*) and characterization of milled fractions. *Journal of Food Science and Technology* **52**, 2211–2219.
- Salawu, S. O., Akindahunsi, A. A., Sanni, D. M., Decorti, G., Cvorovic, J., Tramer, F., Passamonti, S., and Mulinacci, N. (2011). Cellular antioxidant activities and cytotoxic properties of ethanolic extracts of four tropical green leafy vegetables. *African Journal of Food Science* **5**, 267-275.
- Salem, A. A., El-Bostany, Nahla, A., Al-Askalany, S. A., and Thabet, H. A. (2014). Effect of domestic processing methods of some legumes on phytochemicals content and in vitro bioavailability of some minerals. *Journal of American Science* **10**, 276-288.
- Sanchez-Mata, M. C., Penuela-Teruel, M. J., Camara-Hurtado, M., Diez-Marques, C., and Torija-Isasa, M. E. (1998). Determination of mono-, di-, and oligosaccharides in legumes by high-performance liquid chromatography using an amino-bonded silica column. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**, 3648–3652.
- Sandström, B. (2001). Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. *British Journal of Nutrition* **85**, 181-185.

Références bibliographiques

- Sandström, B., Davidsson, L., Cederblad, A., and Lönnerdal, B. (1985). Oral iron, dietary ligands and zinc absorption. *Journal of Nutrition* **115**, 411-414.
- Sarmento, A., Barros, L., Fernandes, Â., Carvalho, A. M., and Ferreira, I. C. (2015). Valorization of traditional foods: nutritional and bioactive properties of *Cicer arietinum* L. and *Lathyrus sativus* L. pulses. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **95**, 179-185.
- Sayar, S., Turhan, M., and Gunasekaran, S. (2001). Analysis of chickpea soaking by simultaneous water transfer and water-starch reaction. *Journal of Food Engineering* **50**, 91-98.
- Scholz-Ahrens, K. E., Ade, P., Marten, B., Weber, P., Timm, W., Açil, Y., Glüer, C. C., and Schrezenmeir, J. (2007). Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *Journal of Nutrition* **137**, 838-846.
- Scholz-Ahrens, K. E., Schaafsma, G., Heuvel, E. G. V. D., and Schrezenmeir, J. (2001). Effects of prebiotics on mineral metabolism. *American Journal for Clinical Nutrition* **73**, 459-464.
- Schonfeldt, H. C., and Pretorius, B. (2011). The nutrient content of five traditional South African dark green leafy vegetables—A preliminary study. *Journal of Food Composition and Analysis* **24**, 1141-1146.
- Seth, A., and Mahoney, R. R. (2000). Binding of iron by chicken muscle protein digests: the size of the iron-binding peptides. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**, 1595-1600.
- Shankar, A. H., and Prasad, A. S. (1998). Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *American Journal of Clinical Nutrition* **68**, 447-463.
- Sharanagat, V. S., Kansal, V., and Kumar, K. (2016). Modeling the effect of temperature on the hydration kinetic whole moong grain. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.
- Sharma, A., and Kapoor, A. C. (1996). Levels of antinutritional factors in pearl millet as affected by processing treatments and various types of fermentation *Plant Foods for Human Nutrition* **49**, 241-252.
- Sharma, S., Goyal, R., and Barwal, S. (2013). Domestic processing effects on physicochemical, nutritional and anti-nutritional attributes in soybean (*Glycine max* L. Merrill). *International Food Research Journal* **20**, 3203-3209.
- Shehu, D. M., Salihu, A., and Inuwa, H. M. (2017). Effect of boiling on protein, mineral, dietary fibre and antinutrient compositions of *Nymphaea lotus* (Linn) seeds. *Journal of Food Composition and Analysis* **67**, 184-190.
- Shepherd, S. J., Lomer, M. C. E., and Gibson, P. R. (2013). Short-chain carbohydrates and functional gastrointestinal disorders. *The American Journal of Gastroenterology* **108**, 707-717.
- Shi, L., Arntfield, S. D., and Nickerson, M. (2018). Changes in levels of phytic acid, lectins and oxalates during soaking and cooking of Canadian pulses. *Food Research International*.
- Shitanda, D., and Wanjala, N. V. (2006). Effect of different drying methods on the quality of jute (*Corchorus olitorius* L.). *Drying Technology* **24**, 95-98.

Références bibliographiques

- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients* **5**, 1417-1435.
- Sofi, F., Macchi, C., Abbate, R., Gensini, G. F., and Casini, A. (2013). Mediterranean diet and health status: an updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score. *Public Health Nutrition* **12**, 2769–2782.
- Sonesson, U., Davis, J., and Ziegler, F. (2009). "Food production and emissions of greenhouse gases." SIK – the Swedish Institute for Food and Biotechnology, Sweden.
- Sreerama, Y. N., Neelam, D. A., Sashikala, V. B., and Pratape, V. M. (2010). Distribution of nutrients and antinutrients in milled fractions of chickpea and horse gram: Seed coat phenolics and their distinct modes of enzyme inhibition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 4322–4330.
- Sreerama, Y. N., Sashikala, V. B., and Pratape, V. M. (2009). Effect of enzyme pre-dehulling treatments on dehulling and cooking properties of legumes. *Journal of Food Engineering* **92**, 389–395.
- StatistiquesTunisie (2016). "Consommation et niveau de vie," Tunisie.
- Storcksdieck, S., Bonsmann, G., and Hurrell, R. F. (2007). Iron-binding properties, amino acid composition, and structure of muscle tissue peptides from *in vitro* digestion of different meat sources. *Journal of Food Science* **72**, 19-29.
- Taiwo, B. J., Taiwo, G. O., Olubiyi, O. O., and Fatokun, A. A. (2016). Polyphenolic compounds with anti-tumour potential from *Corchorus olitorius* (L.) Tiliaceae, a Nigerian leaf vegetable. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*.
- Takahashi, T., Furuichi, Y., Mizuno, T., Kato, M., Tabara, A., Kawada, Y., Hirano, Y., Kubo, K., Onozuka, M., and Kurita, O. (2009). Water-holding capacity of insoluble fibre decreases free water and elevates digesta viscosity in the rat. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **89**, 245-250.
- Teucher, B., Olivares, M., and Cori, H. (2004). Enhancers of iron absorption: Ascorbic acid and other organic acids. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* **74**, 403-419.
- Tharreja, M., Houetoa, A., Dubois, C., Vieux, F., Maillot, M., and Darmon, N. (2017). Comparaison de la classification de recettes par trois systèmes de profilage nutritionnel : SAIN, LIM, SENS et 5-C. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 9.
- Trowell, H. (1972). Ischemic heart disease and dietary fibre. *American Journal of Clinical Nutrition*, 926–932.
- Trowell, H., Southgate, D., and Wolever, T. (1976). Dietary fiber redefined. *Lancet* **1**, 967.
- Tuntawiroon, M., Sritongkul, N., Brune, M., Hulten, L. R., Pleehachinda, R., Suwanik, R., and Hallberg, L. (1991). Dose-dependent inhibitory effect of phenolic compounds in foods on nonheme-iron absorption in men. *American Journal of Clinical Nutrition* **53**, 554–557.
- Turco, I., Ferretti, G., and Bacchetti, T. (2016). Review of the health benefits of Faba bean (*Vicia faba* L.) polyphenols. *Journal of Food and Nutrition Research* **55**, 283–293.
- Turhan, M., Sayar, S., and Gunasekaran, S. (2002). Application of Peleg model to study water absorption in chickpea during soaking. *Journal of Food Engineering* **53**, 153–159.

Références bibliographiques

- Uebersax, M., and Occena, L. (2003). Legumes: Legumes in Diet. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 3520-3534.
- UNESCO (2010). La liste représentative du patrimoine culturel immatériel de l'humanité. (<http://www.unesco.org/>).
- Untersmayr, E., and Jensen-Jarolim, E. (2008). The role of protein digestibility and antacids on food allergy outcomes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **121**, 1301–1310.
- Urbano, G., Lopez-jurado, M., Aranda, P., Vidal-Valverde, C., Tenorio, E., and Porres, J. (2000). The role of phytic acid in legumes: antinutrient or beneficial function? *Journal of Physiology and Biochemistry* **56**, 283-294.
- Uusiku, N. P., Oelofse, A., Duodu, K. G., Bester, M. J., and Faber, M. (2010). Nutritional value of leafy vegetables of sub-Saharan Africa and their potential contribution to human health. *Journal of Food Composition and Analysis* **23**, 499–509.
- van-de-Kamp, M. E., Seves, S. M., and Temme, E. H. M. (2018). Reducing GHG emissions while improving diet quality: exploring the potential of reduced meat, cheese and alcoholic and soft drinks consumption at specific moments during the day. *BMC Public Health* **18**, 264
- Vasishtha, H., and Srivastava, R. P. (2013). Effect of soaking and cooking on dietary fibre components of different type of chickpea genotypes. *Journal of Food Science and Technology* **50**, 579–584.
- Verger, E. O., Perignan, M., J.El-Ati, Darmon, N., Dop, M. C., Drogué, S., Dury, S., Gaillard, C., Sinfort, C., Amiot, M. J., and Medina-Study-Group (2018). A "fork-to-farm" multi-scale approach to promote sustainable food systems for nutrition and health: A perspective for the Mediterranean region. *Frontiers in Nutrition* **5**, 30.
- Vidal-Valverde, C., Frias, J., Estrella, I., Gorospe, M. J., Ruiz, R., and Bacon, J. (1994). Effect of processing on some antinutritional factors of lentils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **42**, 2291–2295.
- Vidal-Valverde, C., Sierra, I., Frias, J., Prodanov, M., Sotomayor, C., Hedley, C., and Urbano, G. (2002). Nutritional evaluation of lentil flours obtained after short-time soaking process. *European Food Research Technology* **215**, 138–144.
- Vigüiliouk, E., Mejia, S. B., Kendall, C. W. C., and Sievenpiper, J. L. (2017). Can pulses play a role in improving cardiometabolic health? Evidence from systematic reviews and meta-analyses. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1392**, 43–57.
- Viuda-Martos, M., Lopez-Marcos, M. C., Fernández-López, J., Sendra, E., Lopez-Vargas, J. H., and Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Role of Fiber in Cardiovascular Diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **9**.
- Von-Witzke, H., Noleppa, S., and Zhirkova, I. (2011). "Fleisch frisst Land." Ernährung – Fleischkonsum – Flächenverbrauch, Berlin: WWF Deutschland.
- Wang, N., Hatcher, D. W., Toews, R., and Gawalko, E. J. (2009). Influence of cooking and dehulling on nutritional composition of several varieties of lentils (*Lens culinaris*). *LWT - Food Science and Technology* **42**, 842–848.
- Wang, N., Hatcher, D. W., Tyler, R. T., Toews, R., and Gawalko, E. J. (2010). Effect of cooking on the composition of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Food Research International* **43**, 589–594.

Références bibliographiques

- Wannes, W. A., and Marzouk, B. (2016). Research progress of Tunisian medicinal plants used for acute diabetes. *Journal of Acute Disease* **5**, 357-363.
- Whittaker, P. (1998). Iron and zinc interactions in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* **68**, 442-446.
- WHO (2010a). "Nutrient profiling: report of a WHO/IASO technical meeting." Geneva; WHO, London, United Kingdom.
- WHO (2010b). "The regional committee for the eastern Mediterranean fifty-seventh session ", Cairo, Egypt.
- WHO, and FAO (2003). "Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases." WHO Technical Report, Geneva, Switzerland.
- WHO, and IASO (2010). "Nutrient profiling ", London, United Kingdom
- Wien, E. M., and Van-Campen, D. R. (1991). Ferric iron absorption in rats: relationship to iron status, endogenous sulfhydryl and other redox components in the intestinal lumen. *Journal of Nutrition* **121**, 825-831.
- Wolfgor, R., Drago, S., Rodriguez, V., and Valencia, M. E. (2002a). In vitro measurement of available iron in fortified foods. *Food Research International* **35**, 85-90.
- Wolfgor, R., Drago, S. R., Rodriguez, V., Pellegrino, N. R., and Valencia, M. E. (2002b). In vitro measurement of available iron in fortified foods. *Food Research International* **35**, 85-90.
- Xu, B., and Chang, S. K. C. (2008). Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. *Food Chemistry* **110**, 1-13.
- Xue, S., Ye, X., Shi, J., Jiang, Y., Liu, D., Chen, J., Kakuda, Y., Shi, A., and J., D. (2011). Degradation kinetics of folate (5-methyltetrahydrofolate) in navy beans under various processing conditions. *LWT-Food Science and Technology* **44**, 231-238.
- Yamazaki, E., Kurita, O., and Matsumura, Y. (2009). High viscosity of hydrocolloid from leaves of *Corchorus olitorius* L. *Food Hydrocolloids* **23**, 655-660.
- Yokoyama, S., Hiramoto, K., Fujikawa, T., Kondo, H., Konishi, N., Sudo, S., Iwashima, M., and Ooi, K. (2014). Skin hydrating effects of *Corchorus olitorius* extract in a mouse model of atopic dermatitis. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications* **4**, 1-6.
- Zayas, J. F. (1997). "Functionality of proteins in food," Berlin.
- Zdunczyk, Z., Godycka, I., and Amarowicz, R. (1997). Chemical composition and content of antinutritional factors in Polish cultivars of peas. *Plant Foods for Human Nutrition* **50**, 37-45.
- Zeghichi, S., Kallithraka, S., and Simopoulos, A. P. (2003). Nutritional composition of Molokhia (*Corchorus olitorius*) and Stamnagathi (*Cichorium spinosum*). *World review of nutrition and dietetics* **91**, 1-21.
- Zhang, M. N., Huang, G. R., and Jiang, J. X. (2014). Iron binding capacity of dephytinised soy protein isolate hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Journal of Food Science and Technology* **51**, 994-999.
- Zhou, K., Slaviny, M., Lutterodt, H., Whent, M., Eskin, N. A. M., and Yu, L. (2013). Cereals and Legumes. *Biochemistry of Foods*, 48.

Références bibliographiques

Zúñiga, R. N., and Troncoso, E. (2012). Improving nutrition through the design of food matrices *In* "Scientific, health and social aspects of the food industry" (B. Valdez, ed.), pp. 295-321. InTech, Croatia.

Annexes

Annexe 1 : Photos de la corète



Photo 1. *Corchorus olitorius*

Annexe 2: Carte de la Tunisie

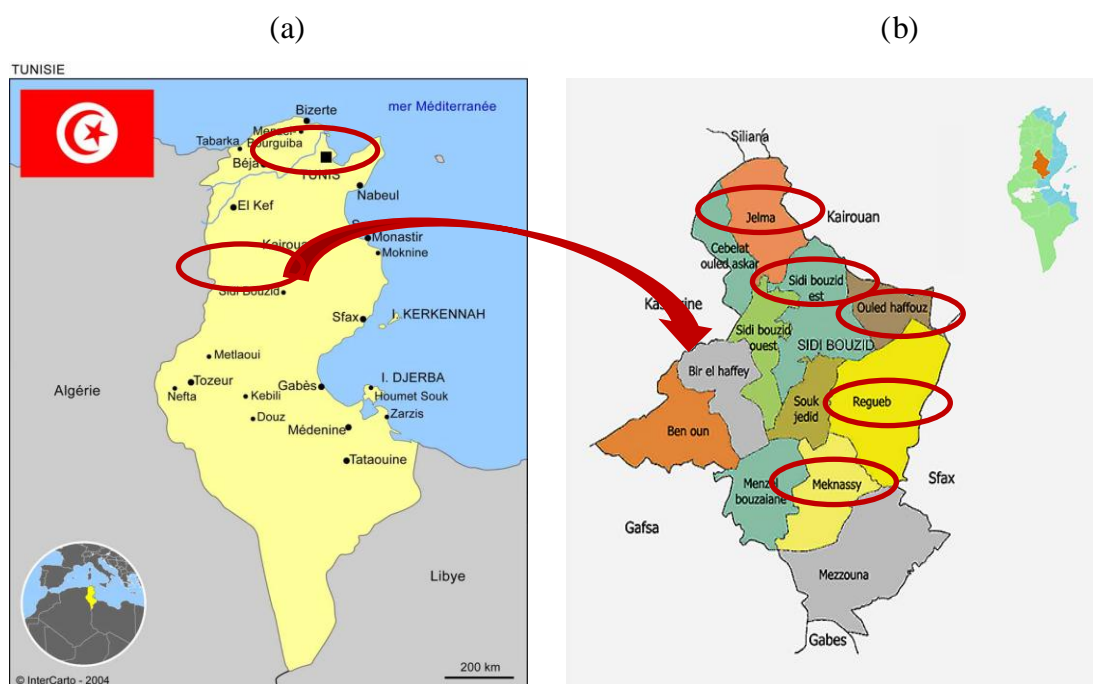


Photo. Carte de la Tunisie (a), du gouvernorat et des 12 délégations de Sidi Bouzid (b).

Annexe 3 : Questionnaire d'enquête sur la consommation de certains plats tunisiens

Identification du plat :

Nom de l'enquêteur :

Date et lieu de l'enquête :

1. Consommez et cuisinez-vous ce plat ?
2. A quelle fréquence consommez-vous ce plat ?

Questionnaire :

3. Est-il consommé par tous les membres de votre famille ?
4. Connaissez-vous l'origine de ce plat ?
5. Quels ingrédients utilisez-vous et en quelle proportion ?
6. Comment préparez-vous ce plat ? Le préparez vous de plusieurs façons différentes ?
7. Avec quels accompagnements, servez-vous ce plat ?
8. Quelle appréciation sur le plan gustatif accordez-vous à ce plat ?

Bon

Moyen

Mauvais

9. Que pensez-vous que ce plat apporte sur le plan nutritionnel et de la santé?
10. Cuisinez-vous des plats à partir de produits sauvages ou issus de la bio-diversité ?, Si oui, lesquels ?
11. Quels autres plats cuisinez-vous régulièrement ?

Annexe 4 : Protocole de suivi de recette : Bahthoula Suivi 1**Date : 17/04/2014****Lieu : Sidi Bouzid****Observateurs : Sondos NJOUMI****Bthissam EL HADRATI****I. Identité de la personne ressource**

Nom : Toumi Prénom : Radhia

Village : Garet Hadid

Délégation : Sidi Bouzid Est

Gouvernorat : Sidi Bouzid

Nationalité : Tunisienne**II. Composition du ménage**

Tableau 1: Personnes habitant quotidiennement sous le même toit

Prénom	Sexe	Statut			Age (ans)	Manger à la maison		
		Parent	Enfant	Autres personnes		midi	soir	Week- end
Radhia		x			40	x	x	X
Saad		x			56	x	x	x
Majdi			X		22	x	x	x
Moez			X		19	x	x	X
Maryem			X		16	X	x	x
Mourad			X		12	x	x	X
Ameur			x		4	x	x	x

→ Parmi lesquelles :

-Nombre d'hommes adultes (18< <60 ans) | _3_ |

-Nombres de femmes (18< <60 ans) | _2_ |

-Nombre d'enfants de 6 à 18 ans | _2_ |

-Nombre d'enfants de 2 à 5 ans | _1_ |

-Nombre d'enfants de 6 à 23 mois | _ |

-Nombre d'enfants de moins de 6 mois | _ |

-Nombre de personnes âgées de plus de 60 ans | _ |

III. Questions de la consommation de la Bahthoula

a. Depuis combien de temps préparez-vous cette recette dans le ménage ?

Depuis toujours apprise par la sa mère

C'est une recette typique et originaire de la région de Sidi Bouzid

b. Au cours du mois précédant aujourd'hui, combien de fois avez-vous préparé et consommé cette recette ?

2 fois par semaine

c. Préparez-vous cette recette tout au long de l'année ?

oui

d. Est-elle consommée par tous les membres du ménage ?

Non, les enfants ne la consomment pas trop car ne l'apprécient pas vraiment

e. Pour quelles raisons préparez-vous cette recette pour votre famille ? (plusieurs raisons possibles, citez les trois plus importantes)

Recette pas très chère

Contient beaucoup d'ingrédients bénéfiques pour la santé

Présence des ingrédients à la maison

f. Que pensez-vous de cette recette du point de vue nutritionnel/santé ?

Recette en énergie

g. Est-ce que tout est consommé au cours d'un seul repas ?

h. Vous-même, quelle quantité consommez-vous au cours d'un repas ?

I. Ingrédients et matériels

Tableau 2 : Ingrédients majoritaires

Ingrédient	Etat	Lieu d'approvisionnement	MP	MP après parage (g)	
			brute (g)	Masse produit utilisé (g)	Masse Déchets (g)
			Masse (g)		
Lentilles	Sec	Souk SB	-	113	-
Fenugrec	Sec	Souk SB	-	113	-
Fèves égyptiennes	Sec	Souk SB	-	105	-
Pois chiches	Réhydratés et congelés	Souk SB	-	129	-
Fèves sèches avec peau (tégument)	Réhydratées et congelées	Souk SB	-	191	-
Fèves sèches sans peau	Réhydratées et congelées	Souk SB	-	107	-
Abricots secs	Sec	Souk SB	-	42	-
Anchois secs	Sec	Marché SB	-	73	-
Harra	Fraiche	Champs personnel	-	148	-
Oignons verts (bulbes)	Frais	Production personnelle	103	74 (partie blanche)	29
Double concentré de tomate	Conserve	Magasin SB, marque	-	110	-
Huile d'olive	-	Production personnelle	-	25	-
Ail	Gousse parée	Souk SB	-	29	-
Mhamsa	Sec	Fabrication maison	-	108	-
Rue (= herbe de grâce)	Frais	Champs personnel	-		
Quantité totale des produits consommés				1374 g	

Tableau 3 : Trempage des ingrédients

Ingrédient	Masse produit sec (g)	Masse produit réhydraté (g)	Temps trempage	Facteur de réhydratation
Fèves sèches avec peau	83	191	1 nuit	x 2.3
Fèves sèches sans peau	46.5	107	1 nuit	x 2.3
Pois chiches	58.6	129	1 nuit	x 2.2
Abricots sec	42	46	20 min	x 1.09
Mélange fenugrec, pois chiches et lentilles	355 (113+129+113)	548	10 min	x 1.55
Anchois	73	98	13 min	x 1.34

Valeurs d'après expérience trempage labo IRD Montpellier et données terrain Tunisie

Tableau 4 : Epices et condiments

Condiments	Plat	Etat	Lieu approvisionnement	Masse (g)
Piments rouge	bahthoula	Poudre	Souk SB	6
Sel fin n°1	bahthoula	Poudre	Souk SB	12
Sel fin n°2	bathoula	Poudre	Souk SB	5
curcuma	bahthoula	Poudre	Souk SB	13
Tabel-karouia	bahthoula	Poudre	Souk SB	14
Clous de girofle	bahthoula	Boutons floraux	Souk SB	3
Poivre noir	bahthoula	Poudre	Souk SB	4
Quantité totale				57 g

Tableau 5 : Eau ajoutée dans la préparation de la recette

Eau ajoutée (ml)		
Ajout n°	Heure	Quantité (ml)
1	17h49	4085
Eau totale		4085 ml

Tableau 6 : Ustensiles

Ustensiles	Masse (en g)
Marmite de couscoussier	487
Petite assiette blanche	151
Assiette en terre cuite	351
Panier bleu en plastique	59
Verre doseur	271
Petit verre	154

II. Préparation

17h49 : Début de la préparation

Dans la marmite du couscoussier, ajouter :

Eau : 4085 ml

17h52 : Mettre la marmite sur le feu

Mise de la sonde 1

18h00 : Début de la réhydratation des ingrédients secs

Cf tableau 2 : trempage ingrédients

18h10 : Ajouter les fèves parées et non parées décongelées

18h13 : Mélange fenugrec, pois-chiches et lentilles réhydraté

18h17 : Harra lavée et ciselée en petits morceaux

Bulbes des oignons verts coupés en petits morceaux

Double concentré de tomate

18h19 : Huile d'olive

18h20 : Abricots réhydratés

18h21 : Anchois réhydratés

Piment rouge en poudre

Sel fin n°1

Curcuma

18h26 : Dans un mortier pilonner l'ail avec le mélange tabel-karouia
 18h28 : retrait et remise de la sonde pour peser le plat en début de cuisson
 → Poids du plat au début de la cuisson : 5430

Prélèvement échantillon B1-PF0 : 147g

18h30 : Pose du couvercle

18h53 : Ajout de la mhamsa

18h59 : Rue (ou herbe de grâce)

19h05 : Mélange clous de girofles et poivre noir pilonnés dans un mortier

19h07 : sel fin n°2

19h08 : Arrêt de la cuisson

Retrait de la sonde 1

Ajout de la Rue (= herbe de grâce)

Prélèvement échantillon B1-PF1

Tableau 7 : Temps préparation de la recette

Temps préparation				
	Début de la préparation	Début de cuisson	Fin de cuisson	Durée de cuisson
Temps	t0= 17h49	18h00	19h08	1h08

Tableau 8 : Masses plats et portions consommées

Masse des ingrédients + eau (g)	Masse plat début de cuisson (g)	Masse plat final (g)	Masse portion type (g)
5516	5430	4495	Portion 1 : 308
			Portion 2 : 344
			Portion 3 : 337
			Portion 4 : 280
			Moyenne : 318 g

Annexe 4 : Protocole de suivi de recette : Mloukhiya Suivi 2

Date : 25.04.2014

Lieu : Sidi Bouzid

Observateurs : Sondos NJOUMI

Bthissam EL HADRATI

IV. Identité de la personne ressource

Nom : Prénom : Chedleya

Village :

Délégation : regueb

Gouvernorat : Sidi Bouzid

Nationalité : Tunisienne**V. Composition du ménage****Tableau 1.** Personnes habitant quotidiennement sous le même toit

Prénom	Sexe	Statut			Age (ans)	Manger à la maison		
		Parent	Enfant	Autres personnes		midi	soir	Week-end
Chedleya		X			40	x	x	x
Mari		X			56	x	x	x
Fille			X		22	x	x	x

→ Parmi lesquelles :

-Nombre d'hommes adultes (18 < <60 ans) |_1_|

-Nombres de femmes (18 < <60 ans) |_1_|

-Nombre d'enfants de 6 à 18 ans |_1_|

-Nombre d'enfants de 2 à 5 ans |_|

-Nombre d'enfants de 6 à 23 mois |_|

-Nombre d'enfants de moins de 6 mois |_|

-Nombre de personnes âgées de plus de 60 ans |_|

I. Questionnaire de consommation de la Mloukhya

i. Depuis combien de temps préparez-vous cette recette dans le ménage ?

Depuis toujours, apprise par sa mère

j. Au cours du mois précédant aujourd'hui, combien de fois avez-vous préparé et consommé cette recette ?

1 à 2 fois par mois

k. Préparez-vous cette recette tout au long de l'année ?

Oui toute l'année

l. Est-elle consommée par tous les membres du ménage ?

Oui car toute la famille apprécie cette recette

m. Pour quelles raisons préparez-vous cette recette pour votre famille ? (Plusieurs raisons possibles, citez les trois plus importantes)

- Recette très appréciée par tous les membres de la famille
- Recette pas très chère
- Bonne pour la santé

n. Que pensez-vous de cette recette du point de vue nutritionnel/santé ?

Riche en énergie, contient des vitamines

o. Quand vous préparez cette recette pour toute la famille, quelle quantité préparez-vous ? (indiquer les quantités des 3 ingrédients principaux, en précisant l'unité)

- Corète : 150 g
- Viande : 500 kg
- Huile d'olive : 300 g

Est-ce que tout est consommé au cours d'un seul repas ?

Pas toujours

La Mloukhya s'améliore avec le temps, elle est meilleure le lendemain, c'est pour cela que beaucoup de personnes la cuisine la veille.

p. Prix de revient de la recette

La personne ressource produit la majorité des ingrédients de la recette, elle n'achète que les épices, l'ail et le double concentré de tomate.

II. Préparation de la Mloukhya

Préparation pour : 7 personnes

Tableau 2. Ingrédients majoritaires

Ingrédients majoritaires	Lieu d'approvisionnement	MP brute (g)	MP après parage (g)	
			MP consommés	MP déchets
Poudre de corète	Achat des feuilles au souk et réduction en poudre par la personne ressource	-	158	-
Viande de veau	Boucher SB	-	607	-
Huile d'Olive	Production personnelle	-	332	-
Oignons vert	Souk SB	-	34	-
Ail	Souk SB	-	18	-
Double concentré de tomate	Magasin SB	-	27	-
Quantité totale			1176	

Tableau 3. Epices et condiments

Epices et condiments	Etat physique	Lieu	Masse (g)
		approvisionnement	
Tabel-karouia	Poudre	Souk SB	9
Sel	Cristaux	Souk SB	6
Curcuma	Poudre	Souk SB	8
Piment rouge	Poudre	Souk SB	7
Laurier	Feuilles	Production personnelle	2
Clous de girofle	Boutons floraux	Souk SB	1
Menthe séchée	Feuilles	Production personnelle	2
Quantité totale			35

Tableau 4. Ustensiles

Ustensiles	Masse (en g)
Marmite 1	902
Marmite 2	
Verre blanc	64
Bol	312
Casserole	194

Tableau 5. Quantité d'eau utilisée

Ajout n°	Eau utilisée	
	heure	Quantité (ml)
1	t20 min	1086
2	t21 min	1096
3	t23 min	394
Eau totale		2576

Tableau 6. Préparation

Temps préparation de la sauce				
	Début de la préparation	Début de cuisson	Fin de cuisson	Durée de cuisson
Temps	11h49	12h	14h40	2h40

Début de la préparation : 11h49

Laver les oignons verts, retirer les feuilles et couper le bulbe (partie blanche) en petits morceaux de 2cm .

11h50 : Mettre la marmite 1 avec l'eau (2576 ml) et mettre sur le feu pour porter à ébullition. (l'eau bouillante sera progressivement rajoutée dans la marmite 2 pour la cuisson de la mloukhya)

t 10 min : 12h : mise de la marmite 2 sur le feu et rajouter :

Rajouter l'huile d'olive

Bulbes des oignons verts coupés en petits morceaux de 2cm

Mise de la sonde de température

t= 14 min : ajouter la poudre de corète en remuant régulièrement

t= 17 min : ajouter le tabel-karouia, du sel, du curcum et du piment rouge en poudre

t= 20 min : ajouter de l'eau bouillante : 1086 ml

t = 21 min : ajouter de l'eau bouillante : 1096 ml

t= 23 min : ajouter de l'eau bouillante : 394 ml

t= 24 min : ajouter le double concentré de tomate

t = 27 min : ajouter le laurier

t = 28 min : ajouter les clous de girofle

t = 43 min : mettre le couvercle sur la marmite 2

t = 50 min : ajouter la viande de veau coupée en gros morceaux (5 cm)

t = 2h48 min : ajouter la menthe séchée

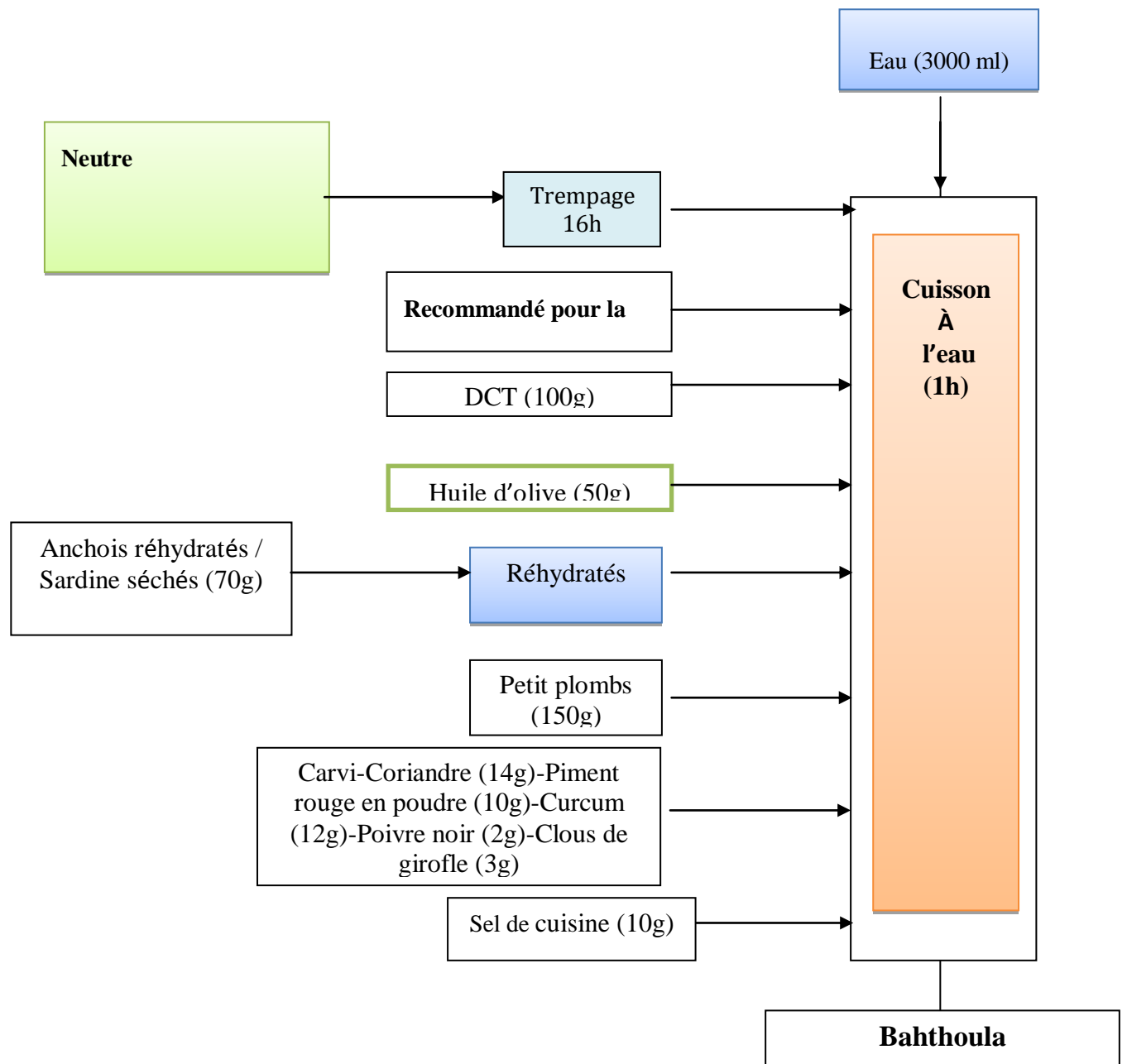
t = 2h50 : arrêt de la cuisson

Retrait de la sonde de température

Prélèvement échantillon M2-PF1

Masse des ingrédients + eau (g)	Masse du plat final (g)	Masse d'une portion type (g)
3787	1810	135

Annexe 5 : Diagramme de préparation de la Bahthoula-Cuisson à l'eau



Annexe 6 : Fiche recette de la Mloukhya

Tableau 1. Ingrédients de la recette moyenne de la Mloukhya pour 100 g de plat final

Ingrédients	Fréquence d'utilisation	Masse ingrédient brut (g)	% Matière sèche
Ingrédients majoritaires			
Corète en poudre	6	8,6	23,9
Oignons verts	3	1,5	0,2
Ail	6	1,2	0,6
Viandes (au choix)			
Lapin	1	38,5	5,9
Veau	4	21,3	9,9
Agneau	1	49,1	5,6
Double concentré de tomate	5	1,3	0,8
Harissa faite maison	1	3,1	0,4
Piments rouges séchés	1	1,4	0,6
Huile (au choix)			
Huile d'olive	5	15,2	35,7
Huile de tournesol	1	3,9	4,7
Huile de maïs	1	13,2	7,2
Epices et condiments			
Mélange carvi-coriandre	6	0,3	0,9
Sel	6	0,3	0,9
Curcuma	3	0,4	0,5
Piment rouge en poudre	3	0,3	0,4
Clous de girofle	1	0,1	0,04
Poivre noir	6	0,1	0,3
Plantes aromatiques			
Romarin	1	0,1	0,04
Laurier	6	0,1	0,4
Menthe séchée	1	0,1	0,04
Eau	6	192,7	0,0

Annexe 7 : Photos de la corète en poudre et des légumineuses étudiées



Photo 2: Corète en poudre (*Corchorus olitorius*)



Lentille (*Lens culinaris*) Pois chiche (*Cicer arietinum*)
Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*)



Fève sèche (*Faba bean*
var. major)

Féverole (*Faba bean*
var. minor)

Photos 3: Légumineuses

Annexe 8: Kinetics of total polyphenol and total flavonoid variation in Tunisian *Corchorus olitorius* and in Mloukhya during two common domestic cooking methods

Kinetics of total polyphenol and total flavonoid variation in Tunisian *Corchorus olitorius* and in Molokheiya during two common domestic cooking methods



Sondos Njoumi^{a*}, Leila Ben Haj Said^a, Marie-Josèphe Amiot^b, Sihem Bellagha^a

^a Department of Food Technology, Laboratory of Economy, Sciences and Food Technology, National Institute of Agronomy of Tunisia, University of Carthage, LR03AGR01 INAT, 43, Avenue Charles Nicolle, 1082, Tunis Mahrajene, Tunisia

^b INRA's Nutrition, Chemical Food Safety and Consumer Behaviour Division, Joint Research Unit for Nutrition, Obesity and Thrombotic Risks, INRA/Inserm Aix-Marseille University
*E-mail: sondosnjoumi@yahoo.fr

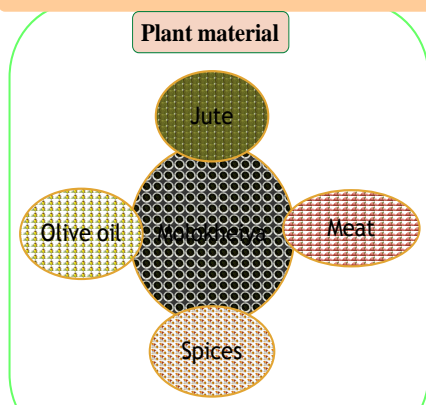
Introduction

Corchorus olitorius leaves are consumed in various parts of the world in particular in Africa where it is a popular vegetable. It is prepared into a common mucilaginous soup or sauce in some West African cooking traditions. In Tunisia, leaves are dried then the powder is cooked into a dark sauce called Molokheiya (Islam, 2013).

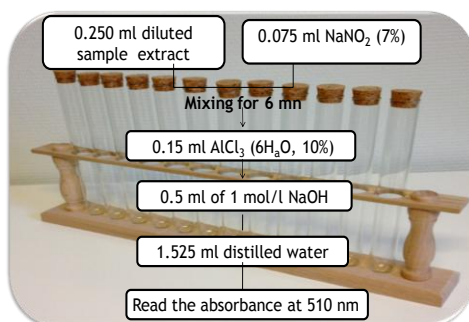
Corchorus olitorius contains appreciable levels of polyphenols (Acho et al., 2014). Technological treatments such as the cooking method can affect the amount of polyphenols present in this leafy vegetable (Barkat and Kadri, 2011). In this context, the content of soluble polyphenols was assessed in *Corchorus olitorius* in raw and cooked state (Molokheiya) by two heat treatments: stewing and stir-frying.

Materials and methods

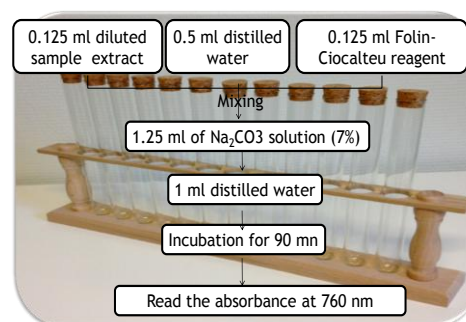
Plant material



Total flavonoid content



Total phenolic content

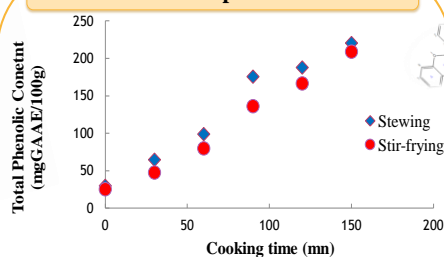


Results and discussion

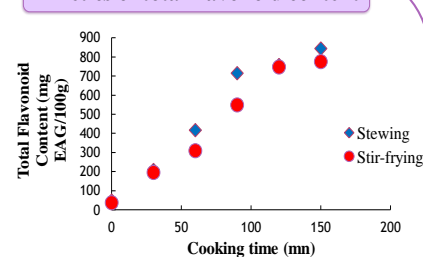
Characterization of the raw material

	dry matter	TPC (mg GAE/100g)	TFC (mg QE/100g)
<i>C. olitorius</i> (powder)	0,935 ± 0,006	390,833 ± 2,971	1217,29 ± 6,505

Kinetics of total phenolic content



Kinetics of total flavonoid content



TPC and TFC of Molokheiya was remarkably enhanced as cooking time increased. The increased levels could be explained by the ease with which they are extracted, certainly result in a strong embrittlement of the cell walls by heat (Ngho Neevilah et al., 2005). This positive impact can be explained by a concentration and a greater retention of soluble polyphenols due to the thermal modification (Barkat and Kadri, 2011). The retention of flavonoid depends on the culinary treatment. Results prove that the concentration in flavonoid increased more when using stewing than stir-frying.

Conclusions

Tunisian *Corchorus olitorius* powder and Molokheiya (cooked-meal) contained important amounts of TPC and TFC. Total polyphenol and flavonoid contents of Molokheiya were remarkably enhanced as cooking time increased for both cooking methods applied (stewing and stir-frying). Moreover, total polyphenol and flavonoid contents increased more greatly when using stewing cooking method. As these two cooking methods are commonly used, it seems judicious to encourage the use of the stewing method.

References

- *Acho, F., Zoue, Lessoy T., Akpa, Eric E., Yapou, Valery G. and Niamke, Sébastien L., 2014. Leafy vegetables consumed in Southern Côte d'Ivoire: a source of high value nutrients Constant. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 3, 20.
- *Barkat, M., Kadri, F., 2011. Impact de deux modes de cuisson sur la teneur en polyphénols solubles de six légumes. *Revue de Génie Industriel*, 6, 41-45.
- *Islam, M. Mahbulul., 2013. Biochemistry, Medicinal and Food values of Jute (*Corchorus capsularis* L. And *C. Olitorius* L.) Leaf: A Review. *International Journal of Enhanced Research in Science Technology & Engineering*, 35-44.
- *Ngho neevilah, G., Brat, P., Tchango, J., Tomekpe, K., Alter, P., Fokou, E., Etoa, F-X., 2005. Effet de la cuisson sur la teneur en polyphénols totaux de quelques cultivars de bananiers (*Musa* sp.) au Cameroun.

Annexe 9: Evaluation de la teneur en fer et de sa biodisponibilité d'un plat traditionnel méditerranéen à base de corète.

Evaluation de la teneur en fer et de sa biodisponibilité d'un plat traditionnel méditerranéen à base de corète.

Njoumi Sondos^{1,2}, Bellagha Sihem¹, Icard-Vernière Christèle², Amiot Marie-Josèphe³, Mouquet-Rivier Claire²

¹ Laboratoire EGAA, INAT, Université de Carthage, Tunis, Tunisie. ² NUTRIPASS, IRD, UM, SupAgro, Montpellier, France

³ NORT, Aix-Marseille Université, INSERM, INRA, Marseille, France.

Contexte et but de l'étude

Les plats traditionnels méditerranéens peuvent contribuer à une meilleure couverture des apports recommandés en micronutriments. La Mloukhiya, à base de poudre de feuilles de corète (*Corchorus olitorius*) semble intéressante, spécifiquement pour le fer. Or, l'anémie ferriprive demeure un problème de santé publique en Tunisie¹. Les apports nutritionnels conseillés en fer sont de 12,5 mg/jour chez les adultes, pour une biodisponibilité moyenne de 10%. Cependant, la biodisponibilité du fer des plats composés majoritairement de produits végétaux reste problématique à cause de la présence de composés chélateurs. Cette étude, qui s'inscrit dans le cadre du projet ANR « MEDINA », vise à évaluer l'effet de la cuisson traditionnelle de la Mloukhiya sur son apport en fer biodisponible et sa contribution potentielle à la couverture des apports recommandés.

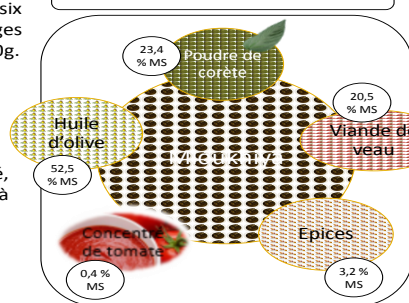
Matériels et méthodes

Une recette moyenne a été établie à partir de six préparations de la Mloukhiya observées dans des ménages tunisiens. La taille de portion mesurée était d'environ 200g.

Fer total et calcium : Après minéralisation par voie humide, les minéraux sont dosés par spectrométrie d'émission optique à plasma induit ICP-OES 5100

Fer héminique : Après extraction par l'acétone acidifié, le fer héminique est dosé par spectrophotométrie à 640nm

Phytates : Les phytates sont extraits par l'HCl à chaud, le dosage est réalisé par chromatographie ionique HPAEC



Acide ascorbique : La vitamine C a été dosée par HPLC

Composés phénoliques complexant le fer : L'ammonium sulfate ferrique (FAS) forme des complexes Fe-galloyl et Fe-catéchol dosés au spectrophotomètre, respectivement à 578 et 680 nm.

Estimation de la Biodisponibilité : La biodisponibilité du fer a été estimée à l'aide du modèle empirique proposé par Hallberg et Hulthen (2000), pour une portion de 200 g (62,4 g de viande + 137,6 g de sauce) et en prenant en compte les effecteurs de l'absorption suivants :

- les activateurs : acide ascorbique, viande
- les inhibiteurs : phytates, calcium, polyphénols (galloyls)

Résultats et discussion

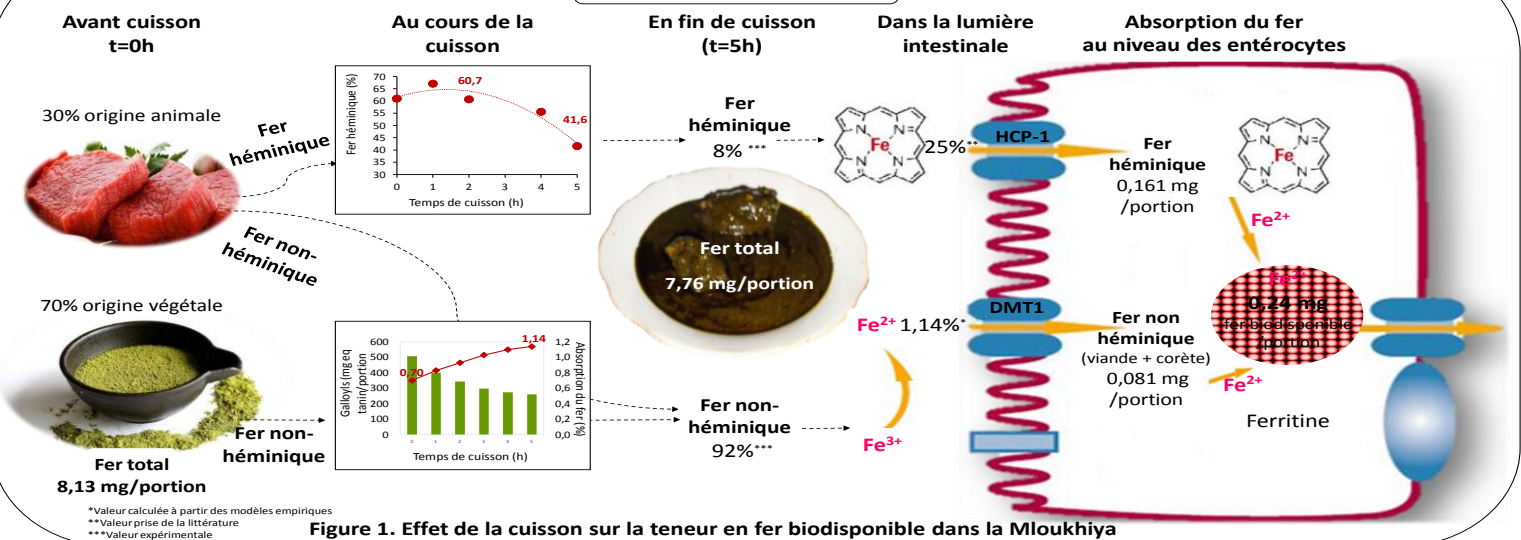


Figure 1. Effet de la cuisson sur la teneur en fer biodisponible dans la Mloukhiya

Conclusion

La Mloukhiya présente un profil nutritionnel intéressant. Cependant, malgré sa richesse en fer, sa contribution aux apports nutritionnels conseillés reste modeste du fait d'une faible biodisponibilité liée à la présence importante de polyphénols.

Références :

1. INNTA et UNICEF, 2002. Anémie en Tunisie, causes et mesures d'intervention. 137p
2. Darmon N et Darmon M, 2008. L'équilibre nutritionnel Concepts de base et nouveaux indicateurs : Le SAIN et le LIM. 300p.
3. Hallberg L et Hulthen L, 2000. Prediction of dietary iron absorption: an algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron. Am J Clin Nutr 71:1147-60.

La teneur en fer total ne varie pas de manière significative au cours de la cuisson. En revanche, le fer héminique subit une dégradation et représente 60,7 % du fer de la viande à t_{2h} et 41,6 % à t_{5h} . Parmi les effecteurs de l'absorption du fer, les teneurs en phytates et en acide ascorbique se sont révélées négligeables. La teneur en calcium est très élevée (329 mg/portion) et ne change pas au cours de la cuisson. Seuls, les polyphénols chélateurs en quantité très importante à t_0 (508 mg/portion) diminuent de moitié environ après 5 heures (fig1). Cependant, malgré cette dégradation, l'absorption du fer non héminique de la mloukhiya calculée selon le modèle empirique de Hallberg et Hulthen (2000) reste extrêmement faible même si elle augmente de 0,7 % à t_0 à 1,14 % à t_{5h} pour une portion de 200g (fig1). Les polyphénols chélateurs jouent un rôle prépondérant sur cette faible biodisponibilité. La contribution d'une portion aux apports nutritionnels conseillés en fer pour un adulte est de 19%, ce qui fait de la mloukhiya un aliment source de fer. Mais c'est la viande qui finalement est le plus fort contributeur aux apports en fer biodisponible. La consommation simultanée d'une source de vitamine C pourrait améliorer la biodisponibilité de la fraction de fer non héminique: par exemple, une orange apportant 53 mg d'acide ascorbique augmente l'absorption calculée à une valeur de 1,74%.

**Annexe 10: Physicochemical properties of mucilages from Mloukhiya, a traditional Tunisian dish
based on jute (*Corchorus olitorius*) powder**

Physicochemical properties of mucilages from Mloukhiya, a traditional Tunisian dish based on jute (*Corchorus olitorius*) powder

Sondos Njoumi^{1, 2}, Sihem Bellagha¹, Marie-Josèphe Amiot³, Isabelle Rochette², Claire Mouquet-Rivier²

¹Laboratory of Economy, Sciences and Food Technology, University of Carthage, Tunis, Tunisia ²UMR Nutripass, IRD, UM, Montpellier SupAgro, Montpellier, France ³NORT, Aix-Marseille Université, INSERM, INRA, Marseille, France

Contact : *sondosnjoumi@yahoo.fr

Context and Objectives

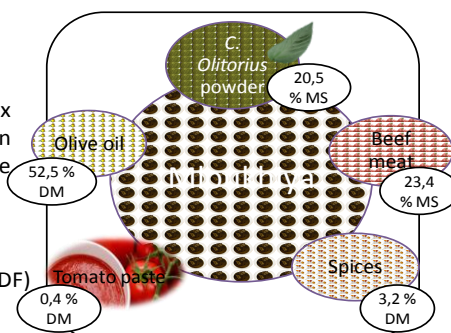
Diets in industrialized countries suffer from a reduced intake of dietary fiber associated to an increase of chronic diseases. Leafy vegetables, and particularly *Corchorus olitorius*, are rich in dietary fiber and their consumption should be promoted. "Mloukhiya", a Tunisian traditional dish, is based on *C. olitorius* dried leaves reduced in powder. This dish undergoes up to 5h cooking which may cause structural changes in dietary fiber. Our study aimed to evaluate the potential impact of heat processing on structural changes in soluble and insoluble dietary fiber components and the behavior of oligosides and uronic acid in "Mloukhiya".

Materials and Methods

An average recipe was derived from six Mloukhiya preparations observed in Tunisian households, in Tunis and Sidi Bouzid. The measured serving size was about 200g.

• Insoluble and soluble fibers

Insoluble and soluble dietary fiber (IDF and SDF) were measured using K-TDFR kit (Megazyme).



• Viscosity

The apparent viscosity was measured with a rotational viscometer Haake Viscotester VT 550 (Thermo electron, Karlsruhe) equipped with a measuring device SV-DIN thermostated at 25°C. The viscosity was recorded after a shear time of 30 seconds at a shear rate of 100 s⁻¹.

• Oligosides and uronic acid

The sugars and uronic acids were extracted in ethanol and determined by High Performance Anion-Exchange Chromatography (Dionex).

Results and Discussions

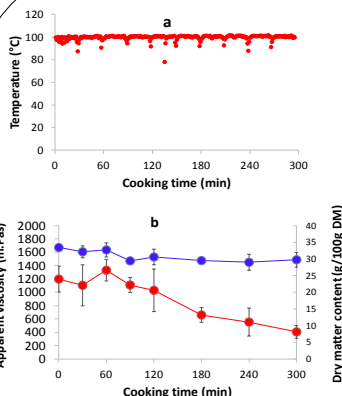


Fig. 2. Evolution of temperature (a), dry matter content and apparent viscosity (b) during Mloukhiya cooking

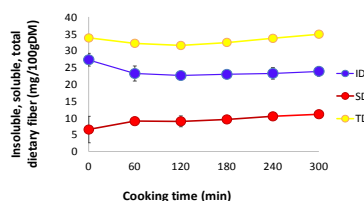


Fig. 3. Changes in Fiber contents (IDF, SDF and TDF) during the Mloukhiya cooking

The fiber content of *C. olitorius* powder was high, with IDF = 52.5±4.6 and SDF = 10.3±0.9 g/100g DM. The mixture started to thicken as soon as water was added (fig. 1) The viscosity initially increased with the temperature, reaching 1.20±0.19 Pa.s when the mixture starts to boil. Viscosity reaches a maximum equal to 1.33±0.16 Pa.s after 60 min cooking, and then decreases up to a final value of 0.41±0.1 Pa.s (fig. 2).

The TDF content appeared quite constant during cooking, but SDF content increased as the result of the decrease of IDF (fig. 3), indicating partial solubilization.

The hydrothermal treatment had antagonistic effects: (i) hydration and swelling of mucilage due to the high water-binding capacity of polysaccharide hydroxyl groups, (ii) hydrolysis of low energy bonds explaining the decrease of the viscosity and (iii) structure change and destabilization of the initial emulsion.



Fig. 1. Thick and highly mucilaginous sauce

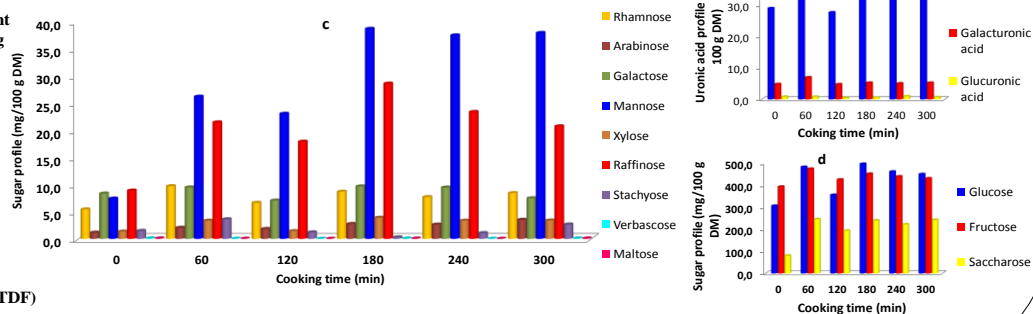


Fig. 4. Sugar (c,d) and uronic acid (e) profiles in *C. olitorius* powder and in Mloukhiya during cooking times (mg/100 g DM)

Conclusion

The long-lasting cooking step of Mloukhiya led to the solubilization of a part of initially insoluble fiber. This can be regarded as beneficial as soluble fibers are better tolerated in human digestive tract. The properties of *C. olitorius* mucilage should be further investigated for potential use as intestinal patch.

Sugar and uronic acid profiles showed few changes during cooking. Uronic acids (gluconic, galacturonic and gluconic) and rhamnose that are constitutive of mucilages remained constant while galactose, mannose, arabinose and xylose, constitutive of other fibers slightly increased, indicating a small fiber hydrolysis (fig. 4).

**Annexe 11: Effets de pratiques culinaires traditionnelles sur la teneur en fibres, solubles
et insolubles, et en oligosides de cinq légumineuses à la base de plats typiques
Méditerranéens**



Effets de pratiques culinaires traditionnelles sur la teneur en fibres, solubles et insolubles, et en alpha-galactosides de cinq légumineuses à la base de plats typiques Méditerranéens.

Sondos NJOUMI^{1,2}, Marie-Josèphe AMIOT³, Sihem BELLAGHA¹, Isabelle ROCHETTE², Claire MOUQUET-RIVIER²
¹PATIO, UR17AGR01 INAT, Univ. Carthage, Tunis, Tunisie; ²NUTRIPASS, IRD, Univ. Montpellier, SupAgro, Montpellier, France; ³MOISA, INRA, Univ. Montpellier, CIRAD, CIHEAM-IAAM, Montpellier SupAgro, Montpellier, France. Contact email: sondosnjourmi@yahoo.fr

Contexte et but de l'étude

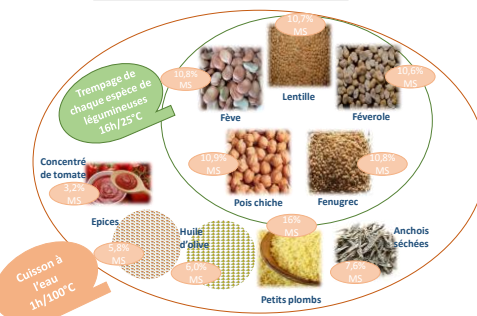
- ❖ Les légumineuses sont des aliments riches en fibres qui présentent des avantages reconnus pour la santé, notamment par leur effet protecteur contre le développement de maladies cardio-métaboliques, comme l'obésité, le diabète, les maladies cardiovasculaires, et aussi contre le cancer du côlon.
- ❖ Les légumineuses sont riches en oligosaccharides, en particulier les alpha-galactosides (α-GOS) qui sont connus pour agir comme des prébiotiques ayant des effets bénéfiques sur notre écosystème microbien, mais qui génèrent également pour une partie de la population des inconforts digestifs.

✓ **Légumineuses :**
Fenugrec, Fève, Féverole, Lentille et Pois chiche.

✓ **Bahthoula : plat typique Tunisien**
La Bahthoula est une recette traditionnelle préparée selon un procédé simple impliquant principalement un trempage des graines entières et une cuisson.

✓ La Bahthoula a été préparée en mélangeant 100 g de chaque espèce de légumineuse trempée avec 70 g d'anchois, 150 g de petits plombs, 50 g d'huile d'olive, 51 g d'épices et 100 g de concentré de tomate.

Matériels et méthodes



✓ **Dosage des teneurs en fibres solubles et insolubles :**

Les fibres alimentaires insolubles et solubles (FI et FS) ont été mesurées selon la méthode de Prosky à l'aide du kit K-TDFR (Megazyme).

✓ **Détermination de la teneur en alpha-galactosides (α-GOS) :**

Après extraction à l'éthanol, les α-GOS (raffinose, stachyose et verbascose) ont été dosés par chromatographie ionique par échange d'anions avec détection par ampérométrie pulsée (HPAEC-PAD).

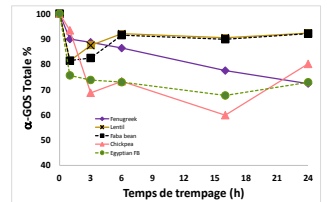
Résultats et discussion

❖ Les teneurs totales en α-GOS testées allaient de 2500 mg/100 g (pois chiches) à plus de 4000 mg/ 100 g (fenugrec).

Tableau: Effet du trempage sur la teneur en fibres solubles et insolubles des cinq légumineuses

Temps de trempage (h)	Fenugrec	Fève	Pois chiche	Lentille	Féverole (décortiquée)
0	44.2 ^a ± 0.8	30.3 ± 0.0	21.4 ± 3.4	20.2 ^a ± 0.0	11.5 ± 0.4
16	34.7 ^b ± 1.5	28.9 ± 0.2	19.0 ± 0.3	19.0 ^b ± 0.3	12.1 ± 0.6
	Fibres solubles (g/100g MS)				
0	20.2 ^a ± 0.7	4.6 ± 0.2	4.6 ± 0.1	3.9 ± 0.0	4.2 ± 0.2
16	30.8 ^b ± 1.2	5.8 ± 0.0	5.6 ± 0.0	4.3 ± 0.6	5.3 ± 0.8

Effet du trempage sur la teneur en α-GOS totale



❖ Au cours du trempage, les teneurs en α-GOS ont diminué de 10% (lentille et fève) à 40% (pois chiche) par un double effet de diffusion (lixiviation partielle indiquée par la présence d'α-GOS dans les eaux de trempage) et de dégradation enzymatique se produisant *in situ* dans la graine, aussi bien que dans les eaux de trempage.

- ❖ Les fibres insolubles représentaient 69 à 87% des fibres totales des légumineuses étudiées alors que les teneurs en fibres solubles variaient sensiblement d'une espèce à l'autre.
- ❖ Au cours du trempage des légumineuses (16 h / 25°C), les teneurs en fibres insolubles diminuaient de 17 à 28% avec une augmentation concomitante des teneurs en fibres solubles ce qui indique la solubilisation partielle des fibres insolubles des parois cellulaires.
- ❖ La teneur en fibres totale du fenugrec était très élevée, presque double de celles des autres légumineuses étudiées. Sa teneur en fibres solubles, en particulier, était remarquable.

Effet de la cuisson

- ❖ La cuisson traditionnelle a entraîné une réduction supplémentaire des taux d'α-GOS (-29%), ce qui pourrait entraîner un inconfort digestif moindre.
- ❖ De manière concomitante, il a été observé une augmentation des fibres totales (+18%) après cuisson des légumineuses.

Conclusion

Cette étude met en évidence des comportements différents des légumineuses lors des opérations de trempage et de cuisson traditionnellement pratiquées, vis-à-vis de leurs contenus en fibres et α-galactosides. Nous mettons en évidence que les plats traditionnels à base de légumineuses peuvent contribuer à atteindre des quantités adéquates en fibres alimentaires dans un régime alimentaire plus équilibré. La consommation de plats traditionnels à base de légumineuses doit être promue dans les guides alimentaires sur les repères de consommation, notamment dans les pays du Sud, afin de contrecarrer les effets délétères des diètes riches en aliments à fort index glycémique contribuant à une explosion de maladies non transmissibles.



Résumé:

Dans l'objectif de la valorisation du patrimoine culinaire traditionnel et pour assurer la préservation du régime méditerranéen, le potentiel nutritionnel de deux plats traditionnels tunisiens (la Mloukhiya à base de légume-feuilles et la Bahthoula à base de légumineuses) a été étudié. Les effets des procédés culinaires (cuisson, trempage...) et de la composition de la matrice alimentaire et de leurs interactions sur les teneurs en nutriments d'intérêt en santé publique et leur biodisponibilité ont particulièrement été examinés, en vue d'évaluer la contribution potentielle de ces plats à la couverture des apports journaliers recommandés (AJR). Des suivis de recettes sur terrain ont permis d'élaborer des recettes et procédés de préparation de ces plats, utilisables par la suite au laboratoire, pour la détermination de la teneur en minéraux par ICP-OES, des phytates et oligosides par HPAEC Dionex, et des fibres par gravimétrie après l'extraction enzymatique. Les procédés culinaires testés, ont montré un impact faible et à des degrés divers sur les nutriments d'intérêts sans entrainer de réduction importante en facteurs antinutritionnels (α -galactooligosides, fibres, phytates et composés phénoliques chélateurs de minéraux). Les pertes que ces procédés ont engendré, s'expliquent par des phénomènes de diffusion et/ou d'hydrolyse par des enzymes endogènes, elles ont évolué au cours de la préparation du plat et des modifications subies par la matrice alimentaire. Les méthodes d'évaluation de la biodisponibilité des minéraux (bioaccessibilité *in vitro*, les équations modèles, les ratios molaires phytate/minéral) ont donné des résultats du même ordre de grandeur pour les différents minéraux étudiés (Fe, Zn, Ca, Mg et K). Les résultats ont montré que les deux plats traditionnels étudiés étaient particulièrement riches en Zn, Ca, Mg et fibres solubles et insolubles. Une portion de Bahthoula contribuerait ainsi à couvrir jusqu'à 60% des AJR en fibres totales, tout en restant une source d' α -galactooligosides pour assurer un effet prébiotique. La Mloukhiya est riche en zinc et source de calcium et de magnésium (une portion de 100 g couvrirait respectivement 65, 17 et 20% des AJR). Ces travaux mettent en évidence l'intérêt de promouvoir le maintien de ces aliments traditionnels dans notre modèle alimentaire. Néanmoins, des recherches supplémentaires seraient nécessaires pour définir des solutions efficaces d'amélioration de la biodisponibilité de certains nutriments présents dans les aliments traditionnels.

Mots clés: Plats traditionnels; micronutriments; facteurs antinutritionnels; procédés culinaires; biodisponibilité.

Abstract:

With the aim of the valorization of traditional culinary heritage and to ensure the preservation of the Mediterranean diet, the nutritional potential of two traditional composite dishes (Mloukhiya based on jute leaf powder and Bahthoula based on legumes) was studied. The effect of culinary processes (cooking, soaking ...) and the food matrix and the complexity of the interactions on the nutrients of interest in public health and their bioavailability were studied in order to determine their contribution to the coverage of the recommended nutrients intake (RNI). Information was gathered on recipes and the culinary practices of dishes in Tunisian households in order to determine their nutrient composition by examining their content in mineral using ICP-OES, in phytates and oligosaccharides using HPAEC Dionex and dietary fibers using enzymatic-gravimetric method. These processes reduced to a greater or lesser extent the content of nutrients and did not have a significant impact on the levels of anti-nutritional factors (iron binding compounds, α -galactooligosaccharides, fibers, phytates), which were not effective to improve the bioavailability of minerals. Nutrient losses during processes, occurred by diffusion and / or enzymatic hydrolysis, varied with the time and the modifications of the food matrix induced by the various processes involved in the preparation of the food. The results of bioavailability of the studied minerals (Fe, Zn, Ca, Mg and K), assessed with different methods (*in vitro* bioaccessibility, model equations, phytate/mineral molar ratios), were of the same order of magnitude. The two traditional dishes studied were particularly rich in zinc, calcium, magnesium and soluble and insoluble dietary fibers. A portion of Bahthoula would cover 60% of the average RNI of total dietary fiber and also presents a source of α -galacto-oligosaccharides thus acting like prebiotic. Mloukhiya was rich in zinc and a source of calcium and magnesium (a portion would cover respectively 65, 17 and 20% of RNI). To define effective solutions for improving the nutritional quality of these dishes, further research is needed to improve the bioavailability of the nutrients of interest to ensure food and nutritional quality. But this study shows as of now the interest of promoting the maintenance of these foods in our diet.

Keywords: Traditional dishes; micronutrients; anti-nutritional factors; culinary processes; bioavailability.