

La détermination de la quantité de magnésium dans l'eau de cuisson des haricots verts

Stéphane Besançon, Marie-Claude Feore, Laure Fort et Hervé This

Résumé Les phénomènes observables macroscopiquement sont utiles pour l'apprentissage des sciences, mais il est bon qu'ils conduisent à des activités quantitatives. Quand on traite thermiquement, en phase aqueuse, des gousses immatures de *Phaseolus vulgaris* L. (haricots verts), la phéophytinisation des chlorophylles s'accompagne d'un changement de couleur visible et de la libération d'ions magnésium en solution. Dans cette activité, le dosage des ions magnésium libérés est comparé par deux méthodes : l'absorption atomique et le dosage par le sel disodique de l'acide tétraacétique éthylène diamine (EDTA).

Mots-clés *Phaseolus vulgaris* L., traitement thermique, cuisson, magnésium, chlorophylles, phéophytines.

Abstract **A class activity: determining the quantity of magnesium in the cooking water of the green beans** Macroscopically observable phenomena are useful for science education, but they have to lead to interpretable mechanisms. When the immature pods of *Phaseolus vulgaris* L. (green beans) are thermally processed in water ("cooked"), the pheophytinization of chlorophylls molecules is associated with a visible color change because of many chemical processes including "pheophytinization", i.e. the replacement of magnesium ions by protons in the tetrapyrrolic group at the core of chlorophylls. Where do these magnesium ions go? Using two analytical methods (atomic absorption, and chemical dosage using the disodium salt of ethylene diamine tetraacetic acid), it is shown that the ions can move toward the aqueous solutions in which the pods are thermally processed.

Keywords *Phaseolus vulgaris* L., thermal processing, cooking, magnesium, chlorophylls, pheophytins.



Les Ateliers Science & Cuisine sont des activités expérimentales en relation avec les programmes 2008-2012 de sciences physiques et de sciences de la vie et de la Terre du second degré [1]. Créés à la demande de l'Inspection de l'Académie de Paris en 2004, à la suite des Ateliers expérimentaux du goût qui avaient été introduits dans l'Éducation nationale pour les classes du premier degré [2], ils ne cessent de s'enrichir de nouvelles activités qui profitent de l'engouement des élèves pour l'activité de « cuisine » (témoignée par la présence de programmes de télévision dans de nombreux pays du monde).

Ces ateliers se présentent sous la forme de fiches expérimentales, comprenant une partie pour les élèves et une partie pour les professeurs, accessibles sur divers sites, tel celui de l'Académie de Paris ou celui du Centre international de gastronomie moléculaire AgroParisTech-INRA.

Une des fiches récemment mise au point concerne les « légumes verts », largement consommés par l'ensemble des populations humaines [3]. S'ils sont principalement appréciés pour leur contenu en composés « bioactifs » [4], leur couleur est un facteur d'appréciation de leur qualité [5]. Pour les végétaux frais, cette couleur est notamment due aux chlorophylles et aux caroténoïdes [3, 6-8] (figure 1). Toutefois ces composés sont souvent accompagnés de dérivés, notamment de dérivés des chlorophylles, telles les phéophytines [7], dont la quantité augmente au cours des traitements thermiques [3, 5, 9-10].

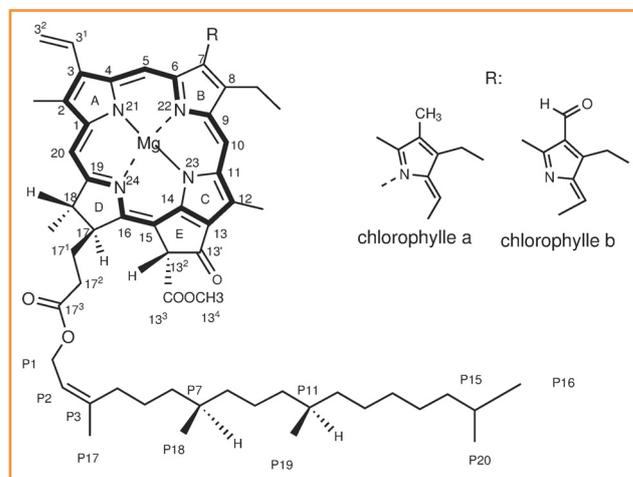


Figure 1 - Structure des chlorophylles des haricots.

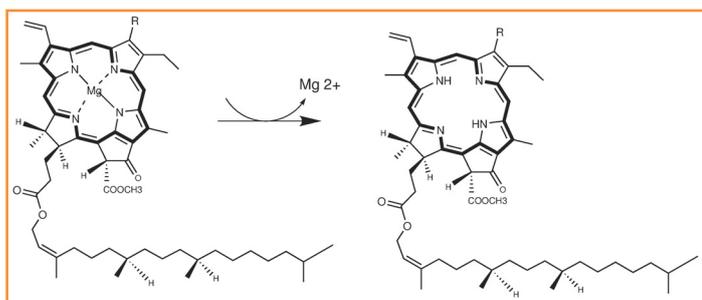


Figure 2 - La réaction de phéophytinisation.

La contribution de ces dernières à la couleur est importante, même quand elles sont en petite quantité, car le coefficient d'extinction molaire des phéophytines (dans la plupart des solvants) est supérieur à celui des chlorophylles dont elles sont dérivées [3, 5, 11-13].

Lors de la phéophytinisation, c'est-à-dire de la transformation des chlorophylles en phéophytines [3, 5], les ions magnésium du centre du groupe tétrapyrrolique des chlorophylles sont remplacés par deux protons (figure 2). Où vont les ions magnésium ?

En étudiant la « précision culinaire » relative à l'effet protecteur de l'hydrogencarbonate de sodium sur la couleur des végétaux verts, nous avons cherché les ions magnésium dans l'eau de cuisson, en effectuant les dosages par deux méthodes : absorption atomique et dosage à l'aide d'acide tétraacétique éthylène diamine (EDTA) [14]. Les expériences ont été effectuées pour les gousses immatures de *Phaseolus vulgaris* L. (haricots verts), en raison de l'importance de la couleur dans la « qualité » de tels légumes [3].

On verra ici que la méthode de dosage par l'EDTA donne des résultats fiables, de sorte qu'ils peuvent faire l'objet de travaux pratiques.

Matériels et méthodes

Pour nos expériences préliminaires, nous avons utilisé : le sel disodique de l'EDTA (AnalaR Normapur VWR) ; un tampon au pH = 10 préparé à partir de chlorure d'ammonium (RP Normapur Prolabo), d'hydroxyde d'ammonium (RP Normapur Prolabo, densité $d = 0,90$) et d'eau distillée milli-Q ; du noir ériochrome T (EBT) et de l'hydrogencarbonate de sodium (Sigma Aldrich) ; une solution d'acide nitrique (solution à 65 %, PlasmaPure, SCP Science). Nous avons également utilisé de l'eau de Volvic, choisie pour sa faible minéralisation

et notamment sa faible teneur en ions calcium (important pour la cuisson des légumes). Son contenu affiché en ions (Ca^{2+} : 11,5 mg/L ; Mg^{2+} : 8 mg/L ; pH = 7) a été dosé par l'emploi de la méthode à l'EDTA (méthode donnée ci-après) ; la somme des concentrations en ions calcium et magnésium a été trouvée égale à $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L (mesure répétée).

Enfin, des haricots verts peuvent être obtenus toute l'année (pour nos expériences, effectuées en hiver, les haricots avaient été cultivés au Kenya).

Plusieurs expériences ont été effectuées, avec différentes méthodes analytiques (voir tableau I).

Les premières expériences consistaient à faire un « blanc », en dosant les ions magnésium par l'EDTA dans les deux eaux utilisées. Puis on a voulu connaître un ordre de grandeur de la concentration en ions magnésium dans deux situations expérimentales : traitements « courts » (30 min, expérience T1) et traitements « longs » (180 min, expérience T2). Pour ces explorations, la méthode d'absorption atomique a été privilégiée.

Sur la base des résultats obtenus, on a alors procédé à des dosages à l'EDTA (confirmés par absorption atomique) pour deux durées de traitement thermique. Enfin, une dernière expérience a testé l'intérêt de l'ajout d'hydrogencarbonate de sodium à l'eau utilisée pour le traitement thermique.

Pour les expériences avec un traitement thermique, la température d'ébullition a été atteinte en moins de 1,5 min après le début du chauffage. Après le traitement thermique, 2 mL de solution aqueuse ont été prélevés, filtrés (filtre seringue 33 mm, PVDF 0,45 μm , Millex HV, Millipore), avant une acidification à l'acide nitrique à 2 % et une dilution par la même solution d'acide nitrique, avant l'analyse par absorption atomique. De l'eau du robinet a été utilisée comme contrôle. Les facteurs de dilution ont été respectivement 10, 100 et 200 pour l'eau du robinet, les solutions T1 et T2.

Le traitement thermique dans l'eau de Volvic (T3) a été comparé au traitement thermique où de l'hydrogencarbonate de sodium a été ajouté à l'eau de Volvic (T5) et à de l'eau milli-Q.

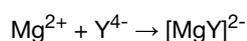
Les analyses par absorption atomique ont été effectuées à l'aide d'un spectromètre Hitachi Z5000 (Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrophotometer). Les ions magnésium ont été détectés à une longueur d'onde caractéristique de 285,2 nm par la méthode d'absorption atomique de flamme (FAAS). Pour chaque solution, trois mesures ont été faites, à l'aide du micro-échantillonneur, avec l'injection de 100 μL (sd 1 μL). Une courbe de calibration a été établie,

Tableau I.

| N° de l'expérience | Masse de haricots (g) | Solution | Température (°C) | Temps de traitement thermique (min) | Méthode d'analyse |
|--------------------|-----------------------|--|------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| T0 | 0 | Eau milli-Q | ambiante | 0 | EDTA |
| T'0 | 0 | Eau de Volvic | ambiante | 0 | EDTA |
| T1 | 200 | Eau milli-Q 500 g | 100 | 30 | Absorption atomique |
| T2 | 200 | Eau milli-Q 500 g | 100 | 180 | Absorption atomique |
| T3 | 55 | Eau milli-Q 175 g | 100, reflux | 30 | Absorption atomique, EDTA |
| T4 | 55 | Eau milli-Q 175 g | 100, reflux | 60 | Absorption atomique, EDTA |
| T5 | 55 | Eau de Volvic 175 g | 100, reflux | 30 | EDTA |
| T6 | 55 | Eau de Volvic 175 g + NaHCO_3 , 0,2 g | 100, reflux | 20 | EDTA |

à l'aide de solutions standard Merck : ces solutions ont été préparées à partir d'une solution étalon à 1 000 mg/L, par une série de dilutions en cascade. Les solutions finalement utilisées ont été à des concentrations de 0, 0,2 et 0,4 mg/L, conformément aux recommandations du *Guide d'utilisation Hitachi*. Les solutions inconnues dosées ont été diluées afin d'être dans la gamme d'étalonnage, après des tests préliminaires.

D'autre part, le dosage des ions magnésium dans l'eau, qui fait l'objet de séances pédagogiques expérimentales que nous voulions mettre au point, a été effectué par la méthode titrimétrique par l'EDTA [12]. Dans une burette de 25 mL, on a préparé une solution à $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L d'EDTA dans de l'eau milli-Q. Dans un bécher agité par un agitateur magnétique, un volume connu des solutions à doser était placé (T3 : 5 mL ; T4 : 3,70 mL) et additionné de 3 mL de tampon et d'EBT. De l'eau milli-Q était utilisée comme témoin (avec tampon et EBT). Le point d'équivalence était déterminé par le changement de couleur de l'EBT, conformément à l'équation simplifiée :



Deux mesures ont été faites pour chaque solution.

Résultats

Les résultats sont indiqués dans le *tableau II* où l'on voit que la concentration en ions magnésium dans l'eau milli-Q n'est pas accessible à des dosages par l'EDTA (T0), tandis que les ions de l'eau de Volvic peuvent être détectés (T'0). D'autre part, des dosages effectués par les deux méthodes (T3, T4) montrent un accord (à environ 15 % près).

Quand on chauffe 200 g de haricots verts dans 500 g d'eau (T1, T2), pendant 30 ou 180 min, on voit que la concentration en ions magnésium double environ.

Enfin, on observe que la concentration en ions magnésium est significativement réduite quand on ajoute de l'hydrogencarbonate de sodium (T5, T6), correspondant aux observations préliminaires, ce qui montre une réduction de la phéophytinisation des chlorophylles en milieu alcalin.

| Solution | Absorption atomique (mol/L) | Dosage EDTA (mol/L) |
|----------|-----------------------------|---|
| T0 | - | trop faible pour être utilisé par ce test |
| T'0 | - | $1,0 \times 10^{-3}$ |
| T1 | $34,77 \times 10^{-3}$ | - |
| T2 | $57,73 \times 10^{-3}$ | - |
| T3 | $1,45 \times 10^{-3}$ | $1,5 \times 10^{-3}$ |
| T4 | $2,40 \times 10^{-3}$ | $2,1 \times 10^{-3}$ |
| T5 | - | $1,3 \times 10^{-3}$ |
| T6 | - | $0,57 \times 10^{-3}$ |

Discussion

Les évolutions de la couleur des haricots verts ont été largement explorées dans le cadre des traitements thermiques associés à la préparation des aliments [7]. Lors de ces études, diverses « précisions culinaires » ont été testées [15], tels l'effet du chlorure de sodium, l'influence de la température et de la durée de traitement thermique, l'effet éventuel

du « blanchissement », l'effet éventuel d'un trempage dans l'eau glacée en fin de traitement thermique, l'effet du pH de l'eau où les tissus végétaux sont traités, l'effet de cuisson par micro-ondes ou par de très hautes pressions (« pascalisation »).

Ces explorations sont pédagogiquement intéressantes, pour de nombreuses raisons. Notamment, elles conduisent à s'interroger sur l'usage des adjectifs (« vert ») et la nécessité, pour des explorations rigoureuses, de remplacer ces mots par la réponse à la question « combien ? », qui permet ensuite l'exploration des mécanismes des phénomènes. On a notamment montré comment des dispositifs simples, tels des couches minces et un scanner de table, permettent d'accéder à des déterminations des quantités des divers pigments [16]. Évidemment, des techniques plus complexes valident utilement les analyses [17], mais il a été montré que les dosages simples donnaient des résultats accessibles en classe.

Les « couleurs » des tissus végétaux, classiquement attribuées à « la » chlorophylle par M. Caventou, sont en réalité dues aux chlorophylles et aux caroténoïdes, mais aussi à des composés phénoliques, par exemple. Pour les chlorophylles, plusieurs sortes se distinguent ; notamment la chlorophylle a qui est commune à tous les organismes photosynthétiques, mais des systèmes végétaux comme les haricots verts contiennent également des chlorophylles a', b, b' et leurs dérivés. Parmi ces derniers, ce sont les phéophytines qui correspondent à la perte d'un ion magnésium et à son remplacement par deux protons. Le changement conduit à une déformation du cycle tétrapyrrolique et, de ce fait, à une délocalisation différente des électrons, d'où un changement de couleur. Cela étant, bien d'autres dérivés existent dans les tissus végétaux ou sont formés lors de traitements thermiques : par désestérification, énoilisation, épimérisation, décarbométhoxylation, allomérisation... Chaque dérivé a un spectre d'absorption particulier, de sorte que la couleur totale dépend des proportions de chaque forme... et aussi de la présence des composés de types caroténoïdes, dont les principaux sont divers carotènes ou dérivés : lutéine, violaxanthine, néoxanthine.

Combien le tissu végétal contient-il de ces composés ? Nos explorations, avec une optimisation des conditions d'extraction (les composés qui contribuent à la couleur sont souvent dégradés en même temps qu'ils sont extraits dans les solvants d'extraction), conduisent à environ 12 mg de chlorophylle a pour 100 g de haricots frais, 4 mg de chlorophylle b et 0,5 mg de caroténoïdes. Dans l'hypothèse d'une libération complète du magnésium dans l'eau de traitement thermique, cela correspondrait à environ 0,43 mg par 100 g de tissus frais, à comparer au traitement thermique le plus énergique que nous ayons fait, et pour lequel nous dosons 34,43 mg de magnésium.

Références

- [1] Groupe de gastronomie moléculaire, Ateliers Science & Cuisine, www.agroparistech.fr/1-Les-Ateliers-Science-Cuisine.html (consulté le 05/10/2016).
- [2] Groupe de gastronomie moléculaire, Ateliers expérimentaux du goût.
- [3] Belitz H.-D., Grosch W., Schieberle P., *Food Chemistry*, 3rd ed., Springer-Verlag, 2004, p. 1070.
- [4] This H., Solutions are solutions, and gels are almost solutions, *Pure Appl. Chem.*, 2013, 85, p. 257.
- [5] Wrolstad R.E., *Handbook of Food Analytical Chemistry*, 1st ed., John Wiley & Sons, 2005, vol. 2, p. 155.
- [6] Khachick F., Mudlagiri B., Beecher G.R., Holden J., Lubsey W.R., Tenorio M.D., Barbera M.R., Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables, *J. Agric. Food Chem.*, 1992, 40, p. 390.

[7] Valverde J., This H., Vignolle M., Quantitative determination of photosynthetic pigments in green beans using thin-layer chromatography and a flatbed scanner as densitometer, *J. Chem. Educ.*, **2007**, *84*, p. 1505.

[8] Putzbach K., Krucker M., Albert K., Grusak M.A., Tang G., Dolnikowski G.G., Structure determination of partially deuterated carotenoids from intrinsically labelled vegetables by HPLC-MS and ¹H NMR, *J. Agric. Food Chem.*, **2005**, *53*, p. 671.

[9] Eijkelhoff C., Dekker J.P., A routine method to determine the chlorophyll a, pheophytin a and β-carotene contents of isolated photosystem II reaction center complexes, *Photosynth. Res.*, **1997**, *52*, p. 69.

[10] Turkmen N., Poyrazoglu E.S., Sari F., Velioglu Y.S., Effects of cooking methods on chlorophylls, pheophytins and colour of selected green vegetables, *Int. J. Food Sci. Tech.*, **2006**, *41*, p. 281.

[11] Lichtenthaler H.K., Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods Enzymol.*, **1987**, *148*, p. 350.

[12] Wellburn A.R., The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution, *J. Plant Physiol.*, **1994**, *144*, p. 307.

[13] Kupper H., Seibert S., Parameswaran A., Fast, sensitive, and inexpensive alternative to analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with Gauss peak spectra, *Anal. Chem.*, **2007**, *79*, p. 7611.

[14] AOAC, *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 16th ed., Arlington (VA), AOAC International, **1995**.

[15] This H., *Les Précisions culinaires*, Éditions Quae/Belin, **2013**.

[16] Valverde J., Vignolle M., This H., Quantitative determination of photosynthetic pigments in green beans using thin-layer chromatography and flatbed scanner as densitometer, *J. Chem. Educ.*, **2007**, *84*, p. 1505.

[17] Valverde J., This H., ¹H NMR quantitative determination of photosynthetic pigments from green beans (*Phaseolus vulgaris* L.), *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, *56*(2), p. 314.



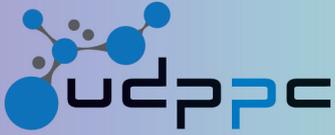
S. Besançon est technicien Formation Recherche à l'UFR de chimie analytique/UMR 1145, AgroParisTech.

Marie-Claude Feore est professeure certifiée de sciences physiques et chimiques, ancienne élève de l'École de chimie de Paris, attachée au groupe INRA-AgroParisTech de gastronomie moléculaire, et co-animatrice des Ateliers Science & Cuisine.

Laure Fort est professeure honoraire de lycée, agrégée en sciences physiques, attachée au groupe INRA-AgroParisTech de gastronomie moléculaire, et co-animatrice des Ateliers Science & Cuisine.

Hervé This (auteur correspondant) est physico-chimiste INRA, professeur associé à AgroParisTech, dans le groupe de gastronomie moléculaire de l'UMR 1145, et directeur du Centre international de gastronomie moléculaire AgroParisTech-INRA*.

* UMR Ingénierie Procédés Aliments, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, F-91300 Massy.
INRA, UMR 1145, Groupe de gastronomie moléculaire, AgroParisTech, UFR de chimie analytique, 16 rue Claude Bernard, F-75005 Paris.
Courriel : herve.this@inra.fr



L'Union des professeurs de physique et de chimie

Une association d'enseignants au service des enseignants

Tous les Bup de 1907 à ce jour
en téléchargement gratuit pour toute adhésion et abonnement

**Publication numérique mensuelle
avec impression papier trimestrielle**



**Consultation du Bup en ligne
par articles et par numéro avec BupDoc**

- ◆ Pour tous : 1907 → 2008
- ◆ Pour les abonnés : 2009 → 2016




Rejoignez-nous !
UDPPC
[facebook](#)

**Un congrès organisé chaque année
par une académie différente**



Le site : <http://www.udppc.asso.fr>

| | | | |
|--|----------------------------------|---------------------------|---|
| Espace Labo | Espace Collège | Espace Lycée | Documents thématiques |
| Textes statutaires et documents Gestion du laboratoire... | Programmes Liens intéressants | Enquêtes Programmes... | Autour de la classification périodique Métrologie... |

Siège social et courrier : 42 rue Saint-Jacques - 75005 PARIS
Tél. : 01 40 46 83 80 - Fax : 01 46 34 76 61 - secretariat.national@udppc.asso.fr