



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et de Biologie Cellulaire et Moléculaire



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de
Master 2

Option : Biochimie moléculaire et santé

Thème :

**Contribution à l'étude des composés
phénoliques des céréales et de leur
pouvoir antioxydant**

Présenté par :- Rached Fatima Zohra.

- Mokhtari Wided.

Devant le jury:

Mr GRAMA

Président

MA. Uni. Constantine 1

Mr MERGHEM R.

Directeur de thèse

Pr. Uni. Constantine 1

Mlle KLIBET F.

Examinatrice

MA. Uni. Constantine 1

Année universitaire : 2013-2014

Remerciements

Ce sujet a été proposé par Monsieur **R. MERGHEM**, Professeur et responsable du laboratoire de Biochimie Micro-moléculaire & phytochimie du département des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Constantine 1. Nous tenons à lui exprimer nos plus vifs remerciements et notre profonde gratitude pour avoir dirigé et orienté ce travail, et aussi pour tous ses précieux conseils pour l'élaboration et la conception de ce mémoire.

Nous tenons également à remercier Monsieur **GRAMA**, Maître assistant à l'université de Constantine 1, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.

Nous remercierons de même Mlle **F. KLIBET**, Maître assistante à l'université de Constantine 1, pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

ABBREVIATIONS

CAT	: catalase.
Na₂CO₃	: carbonate de sodium
CCM	: Chromatographie sur couche mince .
DO	: Densité Optique.
DPPH	: 2,2-Diphenyl-1-Picryl Hydrazyl.
GSH	: glutathion réduit.
GSH-Px	: glutathion peroxydase.
H₂O₂	: peroxyde d'hydrogène.
LDL	: lipoprotéine de faible densité .
MEC	: Methyl éthyl cétone .
MeOH	: Méthanol.
Neu	: Ethyl aminoester de l'acide diphényl borique.
O₂^{•-}	: ion superoxyde.
1O₂	: oxygène singulet.
R_f	: rapport frontale.
ROS	: Reactive oxygen species = Espèces réactifs de l'oxygène.
SOD	: <u>superoxyde dismutase</u> .
UV	: Ultra Violet.

LISTE DES FIGURES

- Fig. 01** - Schéma général de la voie de Shikimate (Zegad.N, 2009).
- Fig. 02** - Schéma simplifié des flavonoïdes (Milane, 2004).
- Fig. 03**- Biosynthèse des flavonoïdes (Merghem. R, 2009).
- Fig 04** - Structure de quelques classes des flavonoïdes(Gamet-Payraastre. *et al*, 1999).
- Fig 05** -Taxonomie de quelques céréales (Belitz. HD et al, 2009).
- Fig 06**- Les stades de développement d'une céréale (SOUILA. N, 2009).
- Fig 07** - Production et neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (Berger, 2003).
- Fig 08** - La complication métallique les flavonoïdes.
- Fig 09** - Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet.
- Fig10** - Evaporateur rotatif.
- fig11**- L'extraction des composés phénoliques selon le protocole classique (Merghem R. ,2009).
- Fig12**- Principe d'action de réactif de Folin-Ciocalteu avec l'acide gallique.
- Fig13** - Méthode de dépôts lors d'une CCM analytique.
- Fig14**- Migration des constituants de l'extrait lors d'une CCM analytique.
- Fig15** - Structure de 2-aminoéthyl diphényl bore (réactif de Neu) .
- Fig16**- Spectres UV-vis de la quercétine (flavonols) (A), de l'isobutrine (chalcone) (B) et de la naringénine (flavanone) (C) enregistrés entre 200 et 500nm (Michel M., 2011).
- Fig17** -Forme libre et réduite du DPPH° (Pereira Nunes X, 2012).

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n° 1- Principales classes des composés phénoliques selon le nombre de carbone (Merghem R., 2009).

Tableau n° 2 - Flavonoïdes et la prévention des maladies .

Tableau n° 3- Production de quelques céréales dans le monde (Agreste, 2014).

Tableau n° 4-Composition chimique moyenne de différents céréales (D'après CETIOM et enquêtes ITCF-ONIC, 2010). (% DE LA MS).

Tableau n° 5- Les composés phénoliques reportés chez les céréales

Tableau n° 6 - Résumant les espèces étudiées.

Tableau n°7- Détermination de la structure des flavonoïdes par l'interprétation de leurs fluorescences (Lahouel M., 2005).

Tableau n°8- Relation entre Rf- Structure flavonique (Akroum S., 2011).

Tableau n°9- Les principales caractéristiques des spectres UV-visible des flavonoïdes (Markham., 1982).

Tableau n° 10- Relation entre l'arrangement des groupements hydroxyles et le maximum d'absorption (Rice-Evans. et *al.*, 1996).

Tableau n°11- Principales caractéristiques spectrales UV-Visible des flavonoïdes en présence du réactif Me OH (Markham, 1982).

Résumé

Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques et la mise en évidence par les chercheurs des effets de ces molécules dans la protection et même la guérison de certaines maladies du siècle liées particulièrement au mode de vie moderne comme l'obésité le diabète, l'hypertension artérielle et même certains types de cancers a suscité l'intérêt des scientifiques sur certaines plantes riches en ces éléments, particulièrement les céréales, qui représentent la source alimentaire par excellence chez l'homme. Toutes les recherches et les études ont porté sur la graine qui est la partie de la plante la plus utilisée dans l'alimentation. Cependant ces dernières années l'intérêt s'est porté sur les autres parties de ces céréales en particulier les feuilles de ces plantes au stade herbe. Et les résultats de ces récentes recherches ont montré la richesse de ces feuilles de céréales en ces composés phénoliques, particulièrement les flavonoïdes. Pour notre part, nous avons essayé d'étudier la présence de ces molécules au niveau des feuilles de certaines variétés d'orge et de blé développés au niveau de l'institut des grandes cultures de Constantine. Les différentes analyses nous ont dégagé trois variétés très intéressantes pour la teneur de leur feuilles en flavonoïdes, une variété d'orge Saïda et deux variétés de blé Ain Abid (blé tendre) et Waha (blé dur). Les flavonoïdes identifiés sont surtout les molécules de Lutéoline et de Kaempférol, et dont les propriétés de leur pouvoir antioxydant et leur indication dans les traitements et les préventions de certaines maladies n'est plus à démontrer. C'est pourquoi nous suggérons à ce qu'on porte un intérêt particulier à ces variétés pour les destiner à un but de fabrication médicamenteuse ou à une utilisation comme compléments nutritifs.

Mots clés : Composés phénoliques, Céréales, Flavonoïdes, pouvoir antioxydant.

SUMMARY

SUMMARY

The antioxidant power of phenolic components and their effects observed by the research workers in both the protection and recovery of certain century diseases in relationship with the way of living as the obesity, the diabetes, high blood-pressure and even some types of cancer; particularly the cereal which represented the pre-eminently alimentary sources components. All the researches and studies concerned the seed which is the more used part of the plant. However, the interest was inclined to other parts of these cereals especially their leaves.

The recent results of researches showed the richness of cereal leaves in their phenolic components, particularly the flavonoids. We tried to study the presence or not of these molecules in the leaves of some varieties of barley and wheat developed in the institute of great cultures of Constantine. Different analyses isolated three attractive varieties in the leaf content in flavonoids:

One variety of barley Saïda and two varieties of wheat Ain Abid (tender-wheat) and Waha (hard-wheat). The identified flavonoids were especially the molecules of Luteoline and Kaempferol of which their antioxidant power and their suggestion in the treatment and preventions of some diseases were confirmed.

There is why we suggest to observe a particular interest for these varieties and intend them to medicament fabrication or a use as nutrient complementary.

Key words: phenolic components, cereals, flavonoids, antioxidant power.

إن قدرة المركبات الفينولية المضادة للأكسدة وتوضيح أثارها في معالجة بعض أمراض القرن والحماية منها والمتعلقة بالنمط الحديث للحياة كالسمنة، السكري، الضغط الوريدي العالي، وحتى بعض أنواع السرطان أثارت انتباه الباحثين والعلماء حول أنواع من النباتات الغنية به هذه المكونات وبالأخص الحبوب الأحادية مثل : القمح والشعير والذرة .. الخ والتي تمثل الغذاء الأساسي عند الإنسان .

وأوليت البذرة اكبر اهتمام دون الأجزاء الأخرى من النبتة ومرد ذلك أنها الجزء الأكثر استعمالا من النبتة. لكن خلال السنوات الأخيرة حظيت الأجزاء الأخرى باهتمام الفئو وعلى الخصوص الأوراق، فقد بينت نتائج الأبحاث الأخيرة غناء أوراق نباتات الحبوب الأحادية بهذه المركبات الفينولية وبالأخص ..la flavonoïde.

من جهتنا حاولنا دراسة مدى أهمية وجود ه ذه الجزيئات على مستوى أوراق بعض أنواع الشعير والقمح التي تم تطويرها بمعهد الزراعات الكبرى في قسنطينة، ومكنتنا التحليلات المتنوعة بعزل ثلاثة أنواع ملفتة للانتباه جراء النسبة العالية لهذه الجزيئات في أوراق :

1. نوع من الشعير المسمى سعيدة .
2. نوع من القمح اللين المسمى عين عبيد .
3. نوع من القمح الصلب المسمى الواحة .

وقد تم التعرف على ه ذه الفلافونويدات خاصة جزيئتا lutéoline et kaempférol والمعروفتين بخاصيتهما القوية المضادة للأكسدة والتي تتضح في المعالجة والوقاية من عدد من الأمراض، وله ذا الغرض فإننا نقترح إعطاء اهتمام خاص لهذه الأنواع وتعيينها لهدف صناعة الأدوية واستعمالها في المكملات الغذائية .

الكلمات المفتاحية : المركبات الفينولية، الحبوب الأحادية، الفلافونيدات، الخاصية المضادة للأكسدة.

Sommaire

Introduction

Première partie : Etude Bibliographique

Chapitre 01 : Les composés phénoliques

1-Définition des composés phénoliques	1
2-Classification des composés phénoliques	1
3-La biosynthèse des composés phénoliques.....	2
3.1- La voies de shikimate.....	3
3.2- voie de l'acide malonique	3
4-Action et intérêt des polyphénols.....	4
4.1- la prévention des maladies cardio-vasculaires.....	4
4.2- la prévention des cancers.....	5
4.3- des effets protecteurs contre les maladies hormono-dépendantes telle que l'ostéoporose.....	5
5- Les flavonoïdes.....	5
5.1- Définition	5
5.2- structure chimique	6
5.3- La biosynthèse des flavonoïdes.....	6
5.4 - Principales classe des flavonoïdes	7
5.5 - Intérêt biologique des flavonoïdes.....	8
5.6- Activité antioxydants des flavonoïdes	9

Chapitre 02 : Les céréales

1-Les céréales comme sources de composés phénoliques.....	11
1-1- Les principaux groupes de céréales	11

1-2- Nature botanique de ces 3 céréales.....	12
1-2-1-Cycle biologique de développement du blé et de l'orge.....	12
1-3-Importance des céréales	14
1-3-1-Surfaces cultivées	14
1-3-2-Production des céréales.....	14
1-4-Biochimie des céréales.....	15
1-4-1 - Molécules issues du métabolisme primaire.....	16
1-4-2-Molécules issues du métabolisme secondaire.....	17
1-5-L'orge.....	19
1-5-1- Les feuilles d'orge	19
1-5-2- Composition de l'orge en herbe	19
1-5-3- Les bienfaits de l'orge en herbe et certaines indications	20
1-5-4- Les principales indications d'herbe d'orge	21
1-6-Le blé.....	22
1-6-1- Composition du blé en herbe.....	22
1-6-2- Utilisation de l'herbe de blé comme indication thérapeutique	23

Chapitre 03 : Stress oxydant

1-Définition de stress oxydant	24
2-Les radicaux libres	24
3-Qu'est ce qu'un antioxydant	24
4-Système de défense antioxydant	25
4.1- Le système antioxydant enzymatique	25
4.1.1- Le superoxyde dismutase	25
4.1.2- La glutathion peroxydase	26
4.1.3- La catalase	26

4.2- Le système antioxydant non enzymatique	26
4.2.1- La vitamine E	27
4.2.2- La vitamine C	27
4.2.3- Les catéchines	27
4.2.4- Le glutathion réduit (GSH)	27
4.2.5- Les composés phénoliques issus des végétaux	27
5-Mécanismes d'action des antioxydants	28
6-Les antioxydants des céréales.....	28
7-Les composés phénoliques en tant qu'agents antioxydants	28
7.1- Les Acides phénoliques	28
7.2- Les flavonoïdes	29
8-Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	30
<i>Deuxième partie: Matériel et Méthodes</i>	
1-Récolte du matériel végétal.....	31
2-Aspect qualitatif : analyse phytochimique.....	31
2-1-Extraction des composés phénoliques.....	31
2-1-1-Extraction solide-liquide	32
2-1-2-Extraction liquide –liquide.....	34
3-Aspect quantitatif.....	37
4-Utilisation des techniques d'identification des composés phénoliques	38
4-1-Chromatographie sur couche mince.....	38
4-2-Spectrophotométrie UV/visible.....	43
5- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	45
<i>Troisième partie : Résultats et interprétations</i>	
I- Analyse phytochimique.....	47
1-Extraction des composés phénoliques.....	47

1-1-Extraction solide-liquide.....	47
1-2-Extraction liquide –liquide.....	47
II-Aspect quantitatif.....	47
1- Résultats de dosages des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu	47
III-Aspect qualitatif.....	48
1- Résultats de la chromatographie sur couche mince.....	48
2- Résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant par le DPPH.....	54
IV- DISCUSSION DES RESULTATS.....	57
<i>Conclusion générale</i>	
<i>Références bibliographiques</i>	
<i>Annexes</i>	

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

L'alimentation présente un intérêt particulier pour les êtres humains dans le but de se nourrir convenablement et apporter au corps tous les éléments nécessaires à ses besoins. Les plus grandes sources alimentaires sont représentées par les végétaux sauvages ou ceux domestiqués et développés par l'homme. Ces végétaux sont cultivés sur de grandes surfaces dans un but d'une grande disponibilité et de suffisance.

Ces végétaux renferment dans leur constitution une multitude d'éléments nutritifs sous forme de molécules biochimiques. Ces dernières constituent un apport vital pour l'entretien corporel et sanitaire, et sont utilisées comme remède curatif et préventif de certaines affections qui touchent l'homme et l'animal.

Les céréales sont les espèces végétales les plus cultivées et les plus utilisées dans l'alimentation humaine et animale. De très grandes surfaces sont emblavées annuellement dans toutes les contrées du monde en différentes sortes de céréales, et ce sont particulièrement les graines qui sont utilisées dans l'alimentation humaine et leurs issues de meunerie dans l'alimentation animale.

Au cours de ces dernières décennies les études ont montré la grande richesse des céréales en composés antioxydants représentés par les molécules de composés phénoliques, cette qualité a fait que ces espèces sont très indiquées par les nutritionnistes dans un intérêt nutritionnel et comme intérêt thérapeutique. L'intérêt fut porté dans un premier temps sur les graines en rapport à leur utilisation exclusive dans l'alimentation, et actuellement l'intérêt s'est porté sur les feuilles de ces céréales en herbe. Les études ont montré la richesse des feuilles de certaines espèces de céréales en ces composés phénoliques avec leur grand pouvoir antioxydant parmi lesquels les flavonoïdes, les phénols simples, les acides phénols, les anthocyanes etc...

Les feuilles d'herbe des céréales les plus étudiées sont celles du blé et d'orge.

Notre présent travail se propose d'étudier la présence de composés phénoliques dans les feuilles de blé et d'orge cultivées et développées au sein de l'institut technique des grandes cultures de Constantine (ITGC), et rechercher de nouvelles sources phytogénétiques riches en composés phénoliques dans le but de valoriser ces feuilles et les destiner à la fabrication d'aliments fonctionnels, et dans le même temps voir si ces herbes peuvent être utilisées dans la production de jus, de tisane ou de gélules qui entrent dans la catégorie de produits nutraceutiques.

INTRODUCTION GENERALE

Notre étude a porté sur les feuilles de six espèces de céréales : deux espèces d'orge et quatre espèces de blé (deux espèces de blé tendre et deux espèces de blé dur). Le travail fut réalisé au niveau du laboratoire de Biologie Micromoléculaire et Photochimie de l'université 1 de Constantine.

Le manuscrit est divisé en trois grandes parties : une partie bibliographique, une partie s'intéressant aux matériels et méthodes puis une dernière partie qui couvre les résultats et leurs discussions.

1-La partie bibliographique est divisée en 3 chapitres :

-Les composés phénoliques : comporte leur description, leur voie de biosynthèse et leurs propriétés thérapeutiques.

-Les céréales : comporte leur classification, leur qualité comme sources de composés phénoliques, et les propriétés thérapeutiques de leurs feuilles.

-Le stress oxydatif : concernant les radicaux libres, les systèmes de défense enzymatique et non enzymatique.

2-Partie comportant les matériels et les méthodes utilisés :

L'étude a consisté en une analyse phytochimique (aspect qualitatif) et qui consiste en l'extraction des composés phénoliques des échantillons. Cette extraction comporte 2 phases : une extraction solide-liquide au Soxhlet, et une extraction liquide-liquide dans des solvants (Ether diéthylique ; acétate d'éthyle ; et Méthyle-Ethyle-Cétone (MEC)), pour ce qui est de l'aspect quantitatif nous avons effectué un dosage par le réactif (Folin-Ciocalteu). Les techniques utilisées pour l'identification des composés phénoliques sont la chromatographie sur couche mince et la spectrophotométrie UV/VIS.

3-Résultats et discussions :

Les résultats obtenus et leurs discussions nous ont permis de dégager certaines propositions concernant l'intérêt à porter aux feuilles de céréales pour leur développement et leurs différentes utilisations.

**CHAPITRE 01 : LES COMPOSES
PHENOLIQUES**

1-Définition des composés phénoliques

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes .

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Stanley. et al., 2003**). En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer (**D. Chen. et al., 2004**), des maladies inflammatoire , cardiovasculaires et neurodégénératives. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**ISANH., 2006**).

2-Classification des composés phénoliques

D'après (**Macheix. et al., 2005**), les composés phénoliques sont regroupés en nombreuses classes qui se différencient par :

- Les voies de la biosynthèse ;
- La complexité du squelette de base (de simple C_6 à des formes polymérisées)
- Les degrés de modification de ce squelette (degrés d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation ...)
- Liaison possible de ses molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines et d'autres métabolites secondaires qui peuvent être des composés phénoliques).

La classification des composés phénoliques est différente selon les auteurs.

D'après **Ribereau G. (1968)** les composés phénoliques se regroupent en quatre groupes :

- Les acides benzoïques, les acides cinnamiques et les coumarines.
- Les flavones, flavols et dérivés voisins.

- Les chalcones, dihydrochalcones et auronés.
- Les anthocyanes.

Tableau 01: principales classes des composés phénoliques selon le nombre de carbone (Merghem R., 2009).

Nombre de C	Classe	Exemples/origine
C6	Phénols simples	Hydroquinine, catéchol
C6 - C1	Acides phénols	Acide salicylique Acide <i>p</i> (OH) benzoïque
C6 - C3	Acide cinnamique Coumarines Phénylpropènes	Acides caféique, férulique (café, pomme) Esculétine, scopolétine (citron), Eugénol (Giroflier)
(C6 – C3)2	Lignane	Pinorésinol (pin)
(C6 – C3) n	Lignine	Bois , noyau des fruits
C6 – C3 – C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes Anthocyanes	Apigénine, lutéoline, quercétine (fruits) Génistéine (soja, pois), Pélargonidine, cyanidine et delphinidine (Fleurs, fruits rouges)
(C6 – C3 – C6)2	Biflavonoïdes	Amentoflavone
(C6 – C3 – C6)n	Proanthocynes	Procyanidines, Prodelphinidines (Raisin rouge)

3-La biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires et sont synthétisés, par des plantes au cours de leur développement normal, en réponse à des infections, des blessures, des rayons ultra-violet (UV) et des insectes. Ces composés phytochimiques provenant de la phénylalanine et la tyrosine sont ubiquitaires dans les plantes (**Pereira N.X. et al., 2012**).

Les polyphénols sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques :

3.1- La voies de shikimate

C'est la voie de biosynthèse principale des composés aromatiques. Cette voie du shikimate est très spécifique des végétaux et conduit à la synthèse des trois acides aminés essentiels suivants : tryptophane, phénylalanine et tyrosine. Elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (**Voir figure 01**) (**Kening. et al., 1995**).

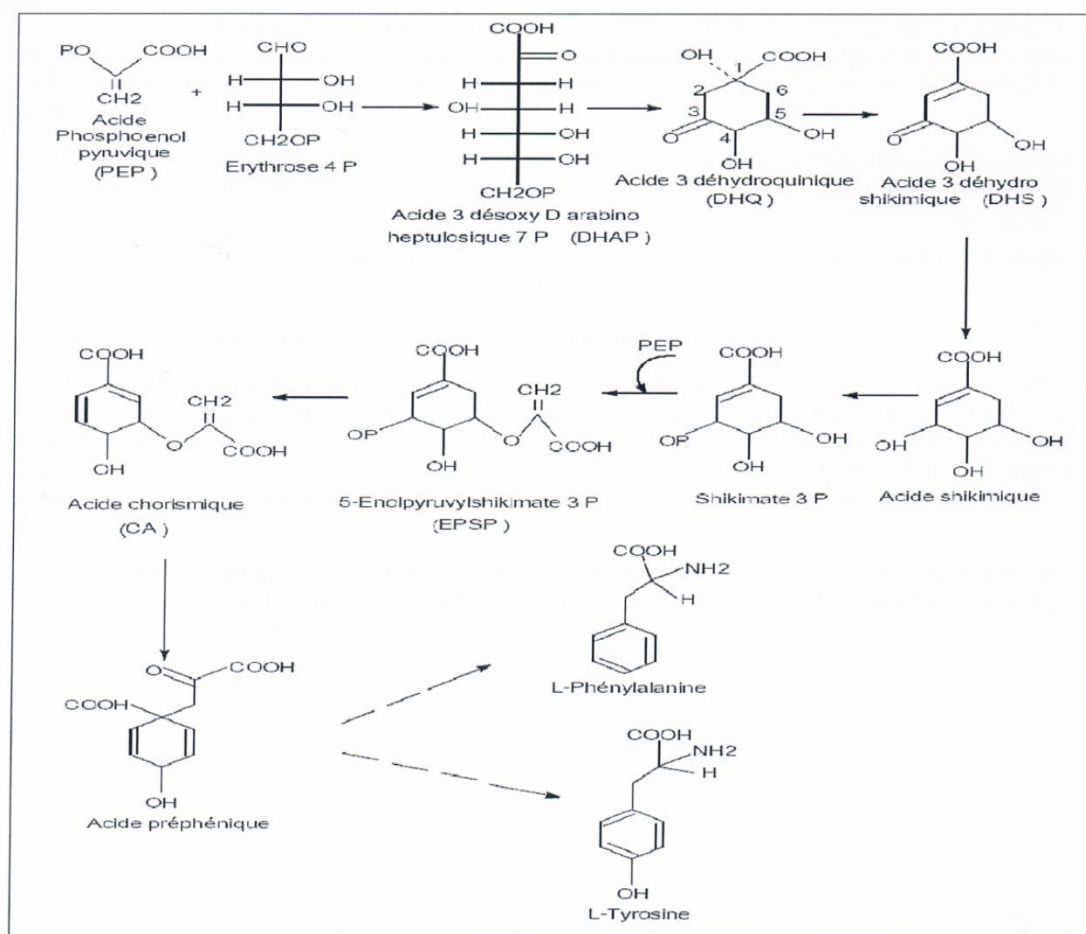


Figure 01 : Schéma général de la voie de Shikimate (Zegad N., 2009).

3.2- voie de l'acétate malonate

Ce mode de formation plus secondaire consiste en la cyclisation des chaînes polycétoniques, elles mêmes obtenues par condensation de groupements acétates. La condensation des groupements acétates ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl CoA en malonyl-CoA. (**Merghem R., 2009**).

4-Action et intérêt des polyphénols

En tant qu'antioxydants, tous les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections, etc.) qui favorisent le vieillissement cellulaire. Ingréés avec nos aliments, ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires (lipides et autres macromolécules) contre le stress oxydant et préviendraient ainsi les diverses maladies chroniques associées, telles que cancers, maladies cardio-vasculaires ou ostéoporose. Ils peuvent aussi interagir de manière spécifique avec des récepteurs cellulaires tels que les récepteurs des oestrogènes pour les isoflavones du soja, et induire ainsi des effets plus spécifiques sur l'organisme (par exemple inhibition par les isoflavones des bouffées de chaleur pour la femme ménopausée) (**Arnaud B., Martine L., 2001**)

4.1- la prévention des maladies cardio-vasculaires

Leur consommation se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (Low Density Lipoproteins ou LDL), qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguin et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués). En inhibant l'oxydation des LDLs, ils limitent leur incrustation dans les parois des artères qui contribue à l'épaississement des parois et à réduire le flux de sang qui parvient au niveau des tissus. Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères. Deux études cliniques récentes réalisées aux Etats-Unis et au Chili ont montré que les polyphénols améliorent le fonctionnement de l'endothélium, la couche cellulaire qui tapisse les surfaces des vaisseaux sanguins et qui joue un rôle essentiel dans le contrôle du bon fonctionnement du système vasculaire en réduisant les risques d'athérosclérose (**Arnaud B., Martine L., 2001**)

4.2- la prévention des cancers

Les polyphénols limitent le développement de tumeurs induites expérimentalement par exposition à des agents carcinogènes. Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumon, peau, vessie, etc.) à tous les stades de la cancérogenèse. Au stade d'initiation, ils agissent comme agents bloquants en empêchant l'activation de procarcinogènes, en piégeant les mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation des ADNs mutés. Au stade de promotion et de progression, ils agissent comme agents supprimeurs de tumeurs. Les mécanismes impliqués peuvent là encore être très variés: prévention du stress oxydant, inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et des réactions inflammatoires associées, inhibition de la protéine kinase C et de la prolifération cellulaire, induction de l'apoptose, inhibition de l'angiogenèse. Les preuves de leurs effets chez l'homme restent cependant encore insuffisantes. (**Arnaud B., Martine L., 2001**)

4.3- des effets protecteurs contre les maladies hormono-dépendantes telle que l'ostéoporose

Certains polyphénols et plus particulièrement les isoflavones du soja très étudiées aujourd'hui, ont une affinité remarquable pour les récepteurs des oestrogènes et sont qualifiés pour cela de phyto-oestrogènes. Les fruits et légumes contiennent aussi des polyphénols tels la quercétine de l'oignon ou le kaempferol de la chicorée qui possèdent également des propriétés pseudo-oestrogéniques ou inhibent la perte osseuse chez la rate ovariectomisée. Là encore, de nouvelles études restent nécessaires pour confirmer ces effets chez l'homme (**Arnaud B., Martine L., 2001**)

5- Les flavonoïdes

5.1- Définition

Les flavonoïdes sont des molécules d'origine végétale. Il s'agit de pigments donnant la coloration aux fleurs, fruits et dans certains cas aux feuilles. Les principales propriétés des flavonoïdes sont veinotoniques, anti-inflammatoires, protectrices (des vaisseaux) et anti-oxydantes .

5.2- structure chimique

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone (Milane.,2004) à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C (Dacosta., 2003), portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides . On signale que le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane de base (Voir figure 02).

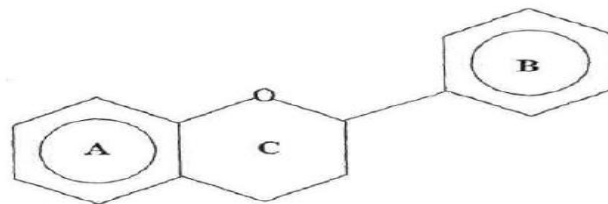


Figure 02 : Schéma simplifié des flavonoïdes (Milane., 2004)

5.3- La biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes résultent de la condensation de 3 groupements acétates (fournis sous forme d'acétyles CoA) avec l'acide 4' (hydroxy) cinnamoyl-CoA ; cette condensation conduit à la formation de 2 noyaux benzéniques-A et B- réunis par une chaîne de 3 atomes de carbones (hétérocycle C). La chalcone synthèse ou flavone synthèse (2^{ème} enzyme clé de ce métabolisme) est un complexe multi-enzymatique comprenant trois sites, chacune d'eux assurant successivement l'addition des unités malonates, l'accepteur est l'acide p-(OH) cinnamiques ou l'acide caféique .

Les flavonoïdes sont synthétisés au niveau des chloroplastes à partir de cinnamoyl-CoA (provenant du reticulum endoplasmique). Certaines molécules flavoniques quittent les chloroplastes et s'accumulent dans les vacuoles (anthocyanes).

Selon le degré d'oxydation de l'hétérocycle formé en général par condensation avec un OH phénolique du noyau A et la chaîne latérale de l'acide cinnamique, on distingue un grand nombre de variétés de flavonoïdes. (Merghem R., 2009).

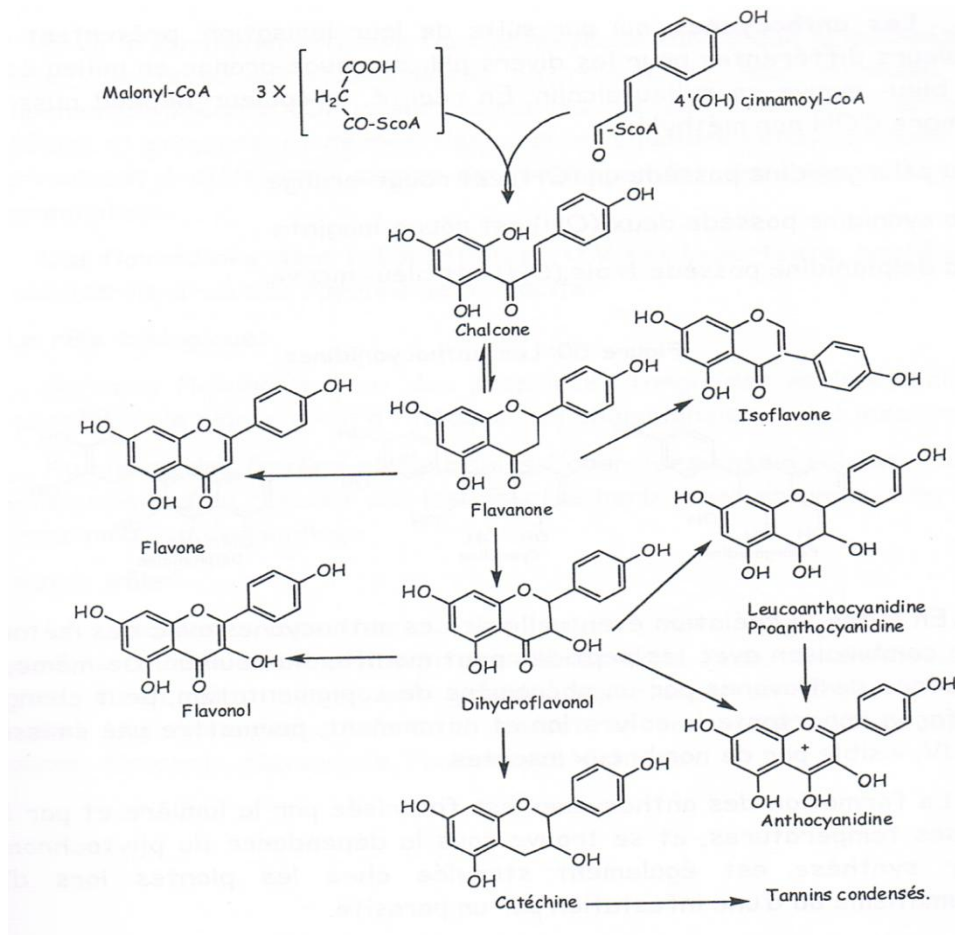


Figure 03: biosynthèse des flavonoïdes (Merghem R., 2009)

5.4 - Principales classe des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3 (Voir Figure 04).

- ❖ Dans la position 2 : le flavonoïde est appelé Flavane.
- ❖ Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle la flavane est appelé Flavanone.
- ❖ Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est nommé Flavone.
- ❖ Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle il est désigné par le nom de Flavonol.

Dans la position 3 : le flavonoïde est désigné par le terme Isoflavane (Athamena S., 2009).

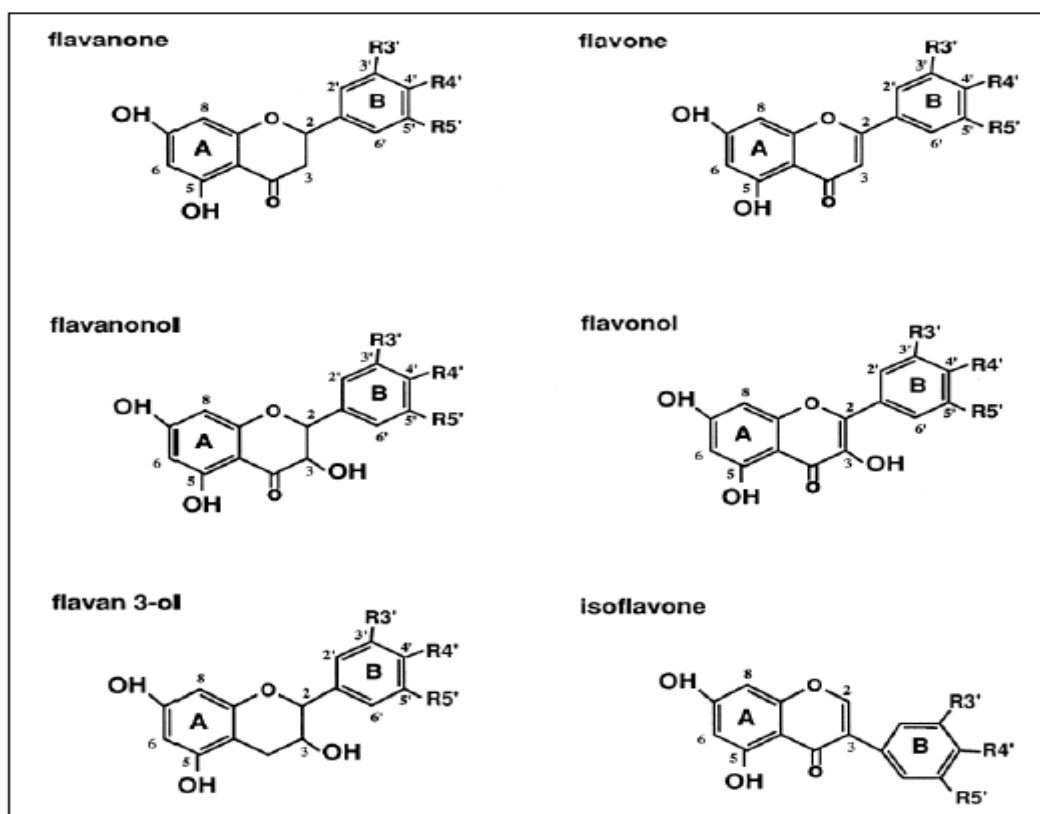


Figure 04 : Structure de quelques classes des flavonoïdes
(Gamet-Payraastre. *et al.*, 1999).

5.5 - Intérêt biologique des flavonoïdes

Les flavonoïdes présentent de nombreuses activités : antioxydants, anti-inflammatoires, inhibitrices d'enzymes, et prévention des maladies cardiovasculaires. (Jamila Hadj Salem., 2009)

Une synthèse de quelques études concernant l'action des flavonoïdes pour la prévention de maladies est présentée dans le **tableau 02**.

Tableau 02 : flavonoïdes et la prévention des maladies .

Références	Flavonoïdes	Activités
Mercader et al 2008	<i>flavonoïdes</i>	Inhibition de l'aldolase réductase : prévention de la formation de catarate chez les diabétiques
Cushnie et Lamb 2005	Différents types de flavonoïdes (flavones, isoflavones , flavonols)	Activité antifongique, antivirale antibactérienne
Ziaee et al 2009	<i>Rutine</i>	Inhibition de l'hypercholestérolémie chez des souris sous régime hypercholestérolémiant
Hooper et al 2008	Différentes sous classes de flavonoïdes et aliments riches en flavonoïdes (chocolat, thé noir , thé vert, soja ,cacao)	Diminution du niveau de LDL, diminution de la pression sanguine
Arts et al 2001	Catéchine	Prévention de la mort par cardiopathie ischémique
Nakagawa et al 2000	Quercétine, rutine	Limitation de la peroxydation des lipides dans les fractions lysosomales. Activité antioxydante grâce à sa localisation dans les membranes.
Hurano et al 2001	Catechin épicatechine, épigallocatechine, épicatechine gallate, gallate d'épigallocatechine, myricétine, quercétine, apigénine, kaempférol, et lutéoline	Inhibition de radical DPPH, inhibition de l'oxydation du LDL.
Kosmider et al 2004	Différents classes des flavonoïdes	Activité antitumorale

5.6- Activité antioxydants des flavonoïdes

Les flavonoïdes agissent principalement comme antioxydants primaires, en stabilisant les radicaux peroxydes mais ils peuvent aussi désactiver les espèces oxygénées réactives (ion superoxyde, radical OH[•], oxygène singulet), inhiber la lipoxygénase ou encore chélater les métaux (Sarni-Manchado.et V. Cheynier., 2006).

La limitation principale de cette activité antioxydante est la faible biodisponibilité des flavonoïdes après ingestion d'aliments riches dans ces composés. La faible quantité absorbée entre en concurrence avec les autres piègeurs de radicaux libres (α -tocophérol, ascorbates et glutathione) présents dans des concentrations très supérieures (**Mónica G. et al., 2010**).

Exception faite du tractus gastro-intestinal et peut-être du sang, l'action potentielle des polyphénols comme piègeurs de radicaux libres n'a probablement aucune signification physiologique dans la plupart des organes (**Cesar G. et al., 2010**).

CHAPITRE 02 : LES CEREALES

1-Les céréales comme sources de composés phénoliques

1-1- Les principaux groupes de céréales

Les céréales appartiennent à la famille des *Poacées* appelées « *graminées* ». Il existe trois grands groupes de céréales (Guignard et Dupont., 2004):

- Un premier grand groupe formé par le blé, l’orge, le seigle et l’avoine.
- Un deuxième grand groupe formé par le maïs.
- Un troisième grand groupe ordonné autour du riz.

Notre intérêt sera porté sur deux principales céréales à savoir (Alais et al., 2003) :

Le blé : il y a deux types de blé : le blé tendre (*Triticum aestivum*) le blé dur (*Triticum durum*) et l’orge (*Hordeum vulgare*). La Figure5 ci-dessous représente la phylogénie de la famille des graminées :

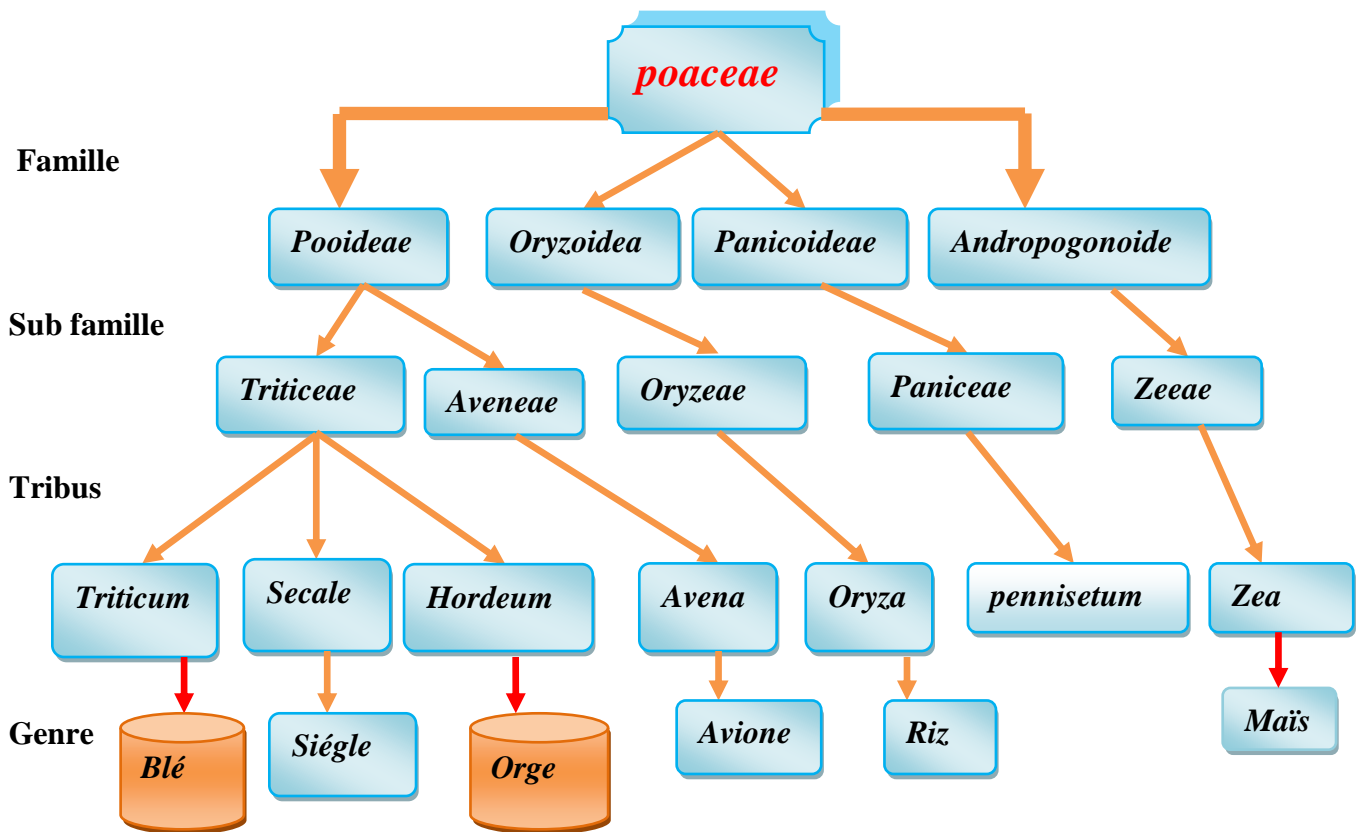


Figure 05: Taxonomie de quelques céréales (Belitz H.D. et al., 2009)

1-2- Nature botanique de ces 3 céréales

Ce sont des plantes herbacées qui poussent en touffes, elles sont constituées par les racines, les feuilles, la tige et l'épi dans lequel sont contenues les graines. Ces céréales ont un cycle évolutif qui se divise en trois grandes périodes (période végétative, période reproductrice et période de maturation) (Slafer *et al.*,2002).

1-2-1-Cycle biologique de développement du blé et de l'orge**❖ La période végétative**

Qui s'étend de la germination au tallage (Feillet.,2000). Cette période elle-même subdivisée en trois stades principaux:

▪ Phase semis-levée

- Passage du grain de l'état de vie ralentie à l'état de vie active.
- Emergence de la radicule et des racines séminales.
- Dessèchement de la coléoptile.

▪ Phase levée-début tallage

- Allongement des quatre feuilles en position alternée.
- Imbrication des feuilles les unes dans les autres en partant du plateau de tallage.

▪ Phase début tallage-début montaison

Croissance des bourgeons différenciés à l'aisselle de la première feuille, dont le bourgeon donnera le maître brin.

❖ La période reproductrice

Stade A : transformation du bourgeon végétatif en bourgeon floral.

Stade B : ébauches des glumes.

Stade C : on assiste à une différenciation des pièces florales et à l'épiaison.

❖ La période de maturation

- Augmentation du volume et du poids des grains.
- Diminution du poids des tiges et des feuilles.
- Le grain devient dur et de couleur jaunâtre.

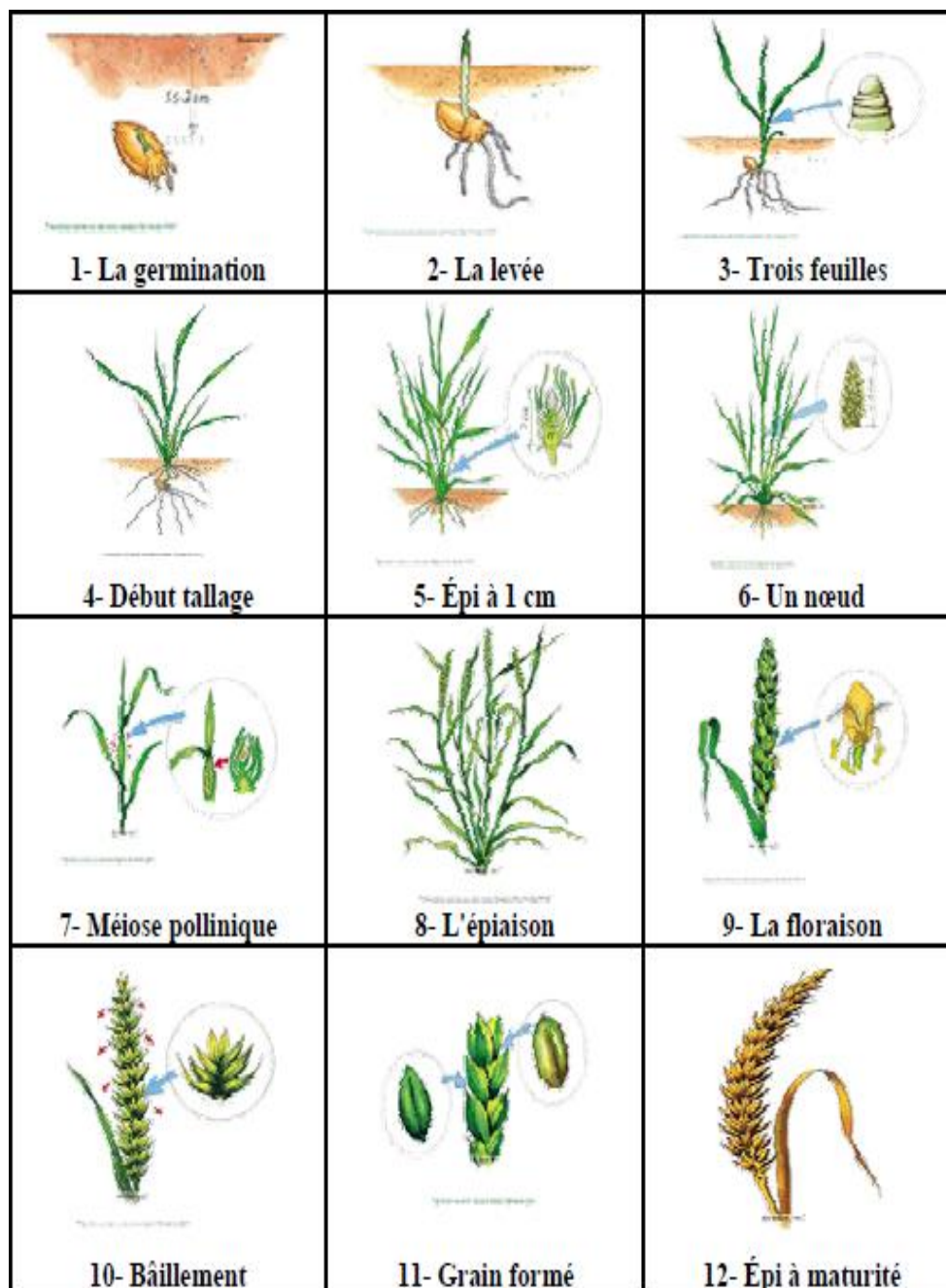


Figure 06: Les stades de développement d'une céréale (Soltner., 2005)

1-3-Importance des céréales

De par leur importance dans l'alimentation humaine et animale, les céréales sont cultivées sur de grandes surfaces pour subvenir aux besoins alimentaires toujours croissants. D'après les rapports de la **FAO de 2013**, les céréales représentent 45% de l'alimentation humaine.

1-3-1-Surfaces cultivées

❖ Au niveau mondial

La superficie mondiale consacrée aux céréales se situe autour de 700 millions d'hectare (ha). Le blé occupe la plus grande surface qui dépasse le tiers du total de la surface consacrée pour la culture de tous les genres de céréales (**Burney Ph., 2011**).

❖ En Algérie

En Algérie la production de céréales se pratique dans pratiquement les 48 wilayas du pays. Les plus importantes surfaces se situent au Nord du pays. 38% des terres utilisées pour l'agriculture sont occupées par les céréales (**Benbelkacem., 2007**).

1-3-2-Production des céréales

❖ Production mondiale

En 2013 FAO table sur une production céréalière mondiale de 2,479 milliards de tonnes. Le maïs, le blé et le riz viennent très largement en tête, avec 85 % de ce total, le niveau de production du blé et du riz se situe dans une fourchette de 560 à 585 millions de tonnes, Le maïs occupe désormais la première place, avec 876 millions de tonnes en 2011.

Entre 1960 et 2013, la production mondiale de blé a été multipliée par trois, la production de blé dépasse les 700 million tonnes (Mt) (707 Mt). Le maïs et le blé sont les deux premières principales céréales cultivées dans le monde. La production de l'orge quand à elle a subit une diminution de 20% entre 1990 et 2012. La production de l'orge est de l'ordre de 134 millions de tonnes en 2011.

❖ **production en Algérie**

La production céréalière algérienne sera limitée à 49 millions de quintaux en 2011, alors que la production s'était stabilisée au-dessus de 50 million de quintaux pendant cinq années de suite, cette baisse de la production est notamment due à la sécheresse qui a sévi dans plusieurs wilayas de l'Est du pays, d'où provient le gros de la récolte nationale en céréales. Cinq wilayas ont souffert de la sécheresse, particulièrement celle de Khenchela et Oum El-bouaghi, ainsi qu'une partie de la wilaya de Batna, ou la récolte a été faible (Djermoun A.,2009).

Tableau 03: Production de quelques céréales dans le monde (Agreste., 2014)

Millions de tonnes	Céréales	pays	U.E.	Etats-Unis	Chine	TOTAL MONDE
		Années				
	Maïs	2010 / 11	55,8	316,2	177,2	829,6
		2011 / 12	66,0	313,9	192,8	876,9
		2012 / 13	54,8	273,8	208,0	850,4
	Blé	2010 / 11	136,8	60,1	115,2	652,9
		2011 / 12	137,4	54,4	117,9	695,9
		2012 / 13	130,6	61,8	120,6	655,7
	Orge	2010 / 11	53,1	3,9	2,0	1,5
		2011 / 12	51,8	3,4	2,5	1,4
		2012 / 13	54,4	4,8	2,6	1,7

1-4-Biochimie des céréales

On a deux phases de métabolisme au niveau des céréales : le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire à l'issue desquels résultent des groupes moléculaires différents (Kumar P., 2011).

1-4-1 - Molécules issues du métabolisme primaire

Il s'agit des : **glucides, lipides et protides**, (Jeantet *et al.*, 2007).

- **Les glucides**

Les glucides ou sucres se présentent sous la forme de quelques sucres simples, mais surtout de composés plus ou moins complexes de ces mêmes sucres simples tels que le glucose et le pentose. Le plus important est l'amidon qui est la substance énergétique par excellence, facilement digestible, et la cellulose qui est un glucide complexe

- **Les protides et les protéines**

Ce sont des composés azotés que l'on rencontre sous forme simple (acides aminés) et sous forme plus complexe (protéines). La teneur en protéines des céréales varie suivant les espèces, 12 % pour le blé, 11 % pour l'orge et seulement 10 % pour le maïs. Certains de ces acides aminés, telle la lysine, sont indispensables pour l'alimentation humaine et animale (substance nécessaire à la croissance).

- **Les lipides**

Ce sont les matières grasses. Dans les céréales elles sont fortement concentrées dans le germe. Le blé en contient 1 à 2 % et le maïs 5 %. Dans les oléo-protéagineux elles sont également présentes dans l'endosperme.

Tableau 04: COMPOSITION CHIMIQUE MOYENNE DE DIFFERENTS CEREALES (D'après CETIOM et enquêtes ITCF-ONIC, 2010). (% DE LA MS).

COMPOSANTS	AMIDON	PROTEINES	MATIERES GRASSES	CELLULOSE
BLE TENDRE	65	12,5	2	2,5
ORGE	60	11	2,5	5,0
MAIS	72	10	5	2,5

1-4-2-Molécules issues du métabolisme secondaire

Il s’agit des composés phénoliques qui correspondent à un vaste ensemble de molécules ayant en commun un noyau benzénique portant un ou plusieurs hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction. Ces molécules sont spécifiques des végétaux et notamment des angiospermes.

Les composés phénoliques interviennent dans différents aspects de la vie de la plante. Ils sont impliqués dans la physiologie de la plante (lignification, interactions symbiotiques...), et dans ses mécanismes de défense (interactions biotiques et abiotiques).

Ils sont particulièrement intéressants par leur propriété antioxydante (**Macheix et al.,2005**).

❖ Exemples de composés phénoliques présents chez le blé et l’orge

Ce sont les deux céréales objet de notre étude. Leurs différentes parties présentent des intérêts alimentaires et thérapeutiques importants.

Tableau 05: Les composés phénoliques reportés chez les céréales

Composés phénoliques	Céréales		Auteurs
	Graines	Feuilles	
Acides phénoliques			
Protocatéchique	Orge et Blé		Mattila et al, 2005
p-Hydroxybenzoïque			Suba et al, 2002
salicylique			Kim et al, 2006
vanillique			Zhou et al, 2004
Férulique			Andreasen et al, 2000
Caféique			Suba et al, 2002
syringique			McDonough et al, 2000
o-coumarique			Mazza et Gao, 2005
m-coumarique			Kim et al, 2006
p-coumarique			
sinapique	Orge		Zhou et al, 2004

cinnamique	Blé		Rooney, 2000
Flavonoïdes	Graine	Feuilles	Auteurs
Cyanidine	Orge		Mazza et Gao, 2005
Cyanidine-3-galactoside	Blé et Orge		Abdel-Aal & Hul, 2003
Delphinidine	Orge		Mazza & Gao, 2005
Delphinidine-3glucoside	Blé		
Delphinidine-3rutinoside	Blé		Seitz, 2004
Pelargonidine	Orge		Awika et al, 2004
Pelargonidine glucoside			
Peonidine-3-glucoside	Blé et Orge		Mazza & Gao, 2005
Petunidine-3-rutinoside	Blé		Andreasen <i>et al</i> , 2000
Apigénine			Blé et Orge
Glucosides d'apigénine	Blé		
lutéoline		Blé et Orge	
Tricine	Blé	Blé	
saponarine		Orge	
lutarine			
Kaempférol	Blé	Blé et Orge	
Quercétine			
Catéchine	Orge		Mazza & Gao, 2005
Leucocyanidine			
leucodelphinidine			
Chrysoeriol			
Procyanidine B-3			Holtekjolen <i>et al</i> , 2006

1-5-L'orge

1-5-1- Les feuilles d'orge

L'étude faite sur les jeunes feuilles d'orge a montré que ces feuilles contiennent un niveau élevé de composés antioxydants : la saponarine et le lutochrome qui sont des flavonoïdes (**Holtekjflen et al., 2006**). Ces flavonoïdes (Polyphénols) ont une propriété préventive de certaines maladies, et des études variées sur des animaux ont montré que les feuilles d'orge possèdent des propriétés chimiques bioactives très bénéfiques pour la santé : antiulcère, antioxydant, hypolipidémique, antidépresseur, et un antidiabétique potentiel (**Besançon, P. 2000**).

1-5-2- Composition de l'orge en herbe

- **Les vitamines**

Les jeunes plantes contiennent à peu près les mêmes vitamines et minéraux que les légumes vert foncé. D'après ce qui a été rapporté par le ministère de l'agriculture des Etats-Unis les jeunes plants d'orge sont très riches en vitamine A comparativement à la farine d'orge qui n'en contient pas du tout. La vitamine A est un antioxydant important connu pour son effet protecteur sur les cellules. Elle joue un rôle dans la santé cardiovasculaire et on lui attribue des bienfaits anticancéreux. L'orge en herbe est considérée comme la plus nutritive des graminées vertes.

- **Les protéines**

Les protéines des feuilles d'orge en herbe sont des polypeptides et donc sont directement absorbés par le sang favorisant ainsi le métabolisme des cellules.

- **Les enzymes**

Les feuilles d'orge en herbe contiennent les enzymes essentielles nécessaires aux réactions chimiques qui se produisent dans l'organisme. Par exemple l'enzyme nommée superoxyde-dismutase (SOD) est un puissant antioxydant qui ralentit le taux de destruction cellulaire en défendant l'organisme contre les radicaux libres, et notamment le super-oxyde.

- **La chlorophylle**

L'orge en herbe contient aussi de la chlorophylle. La chlorophylle a été étudiée pour sa valeur potentielle comme désodorisant, comme stimulant de la croissance des tissus et comme stimulant des hématies en conjonction avec l'apport d'oxygène. La chlorophylle élimine aussi le gaz carbonique et l'oxyde de carbone, sous-produits de la respiration et de la pollution. Elle a de plus des propriétés anti-inflammatoires, anti-oxydantes et cicatrisantes.

- **Les substances phytochimiques**

Les substances phytochimiques sont tout simplement des substances chimiques de source végétale que l'on considère essentielles à la santé. Elles ont été associées à la prévention et/ou au traitement d'au moins quatre des affections qui sont les causes principales de décès : le cancer, le diabète, les affections cardiovasculaires et l'hypertension, ainsi qu'à la prévention et/ou au traitement d'autres troubles de santé tels que les anomalies des tubes neuraux, l'ostéoporose, les anomalies de la fonction intestinale et l'arthrite ainsi que de nombreuses affections chroniques.

- **Antioxydants**

L'orge en herbe renferme aussi des antioxydants végétaux uniques et puissants, parmi lesquels la lutonarine (7-O-GIO) et la saponarine (7-O-GIV). Selon les scientifiques, la lutonarine est supérieure à la saponarine on peut citer aussi la 2-O glycosylisovitexine Les antioxydants protègent les cellules de l'atteinte des radicaux libres (Quinde-Axtell et al., 2006).

1-5-3- Les bienfaits de l'orge en herbe et certaines indications

L'extrait d'orge en herbe a une activité anti-oxydante et anti-inflammatoire, soutient le système immunitaire contribue à équilibrer l'acidité et l'alcalinité des liquides physiologiques, en plus de ses effets hypocholestérolémiants. L'orge en herbe contient des minéraux tampons tels que le sodium, le potassium, le calcium et le magnésium. Ces minéraux tampons

neutralisent les matières acides et peuvent aider à conserver un équilibre sain entre acidité et alcalinité.

1-5-4- Les principales indications d’herbe d’orge

Il est indiqué lors des périodes de fatigue en renforçant l’immunité, le rééquilibrage de l’acido-alcalinité, amélioration des performances intellectuelles et sportives, et régule le cycle du sommeil pour ceux qui souffrent d’insomnie.

❖ **Quelques exemples de produits à base d’orge en herbe**

Détox	AIM BarleyLife	Poudre d'herbe d'orge	Gélules végétale
			

1-6-Le blé**1-6-1- Composition du blé en herbe**

Les études sur les jeunes plantes ont montré les hautes teneurs en flavonoïdes au niveau des feuilles de blé particulièrement les anthocyanidines, les flavones et les flavonoïdes (**Yu et al 2002**).

Les principaux composants de l'herbe de blé :

- **Les vitamines**

Les vitamines rencontrées sont celles du groupe B et la vitamine E. Les vitamines du groupe B sont des anti-stress par excellence, la vitamine E est un puissant antioxydant.

- **Les Acides aminés**

Les principaux acides aminés contenus dans l'herbe de blé sont : Lysine, Isoleucine, Leucine, Tryptophane, Phenyl-Alanine, Thymine, Valine, Methionine.

- **Les enzymes**

Présences de certaines enzymes qui neutralisent la toxicité de composés de nitrogène trouvés dans les gaz d'échappement des automobiles.

2 types: -enzymes indogènes (en nous-mêmes et qui s'affaiblissent avec le temps) - enzymes exogènes (herbe de blé, légumes frais).

- **La chlorophylle**

La chlorophylle de l'herbe de blé a la même structure moléculaire que l'hémoglobine du sang, à la seule différence que la molécule centrale est composée de magnésium et non de fer. C'est une protéine complète qui contient tous les acides aminés essentiels, elle aide à construire des tissus sains et à stabiliser le taux de sucre sanguin. Elle contient également une quantité importante de laetrile ou vitamine B17. Cette substance anti-tumorale bien connue est à la pointe des thérapies naturelles depuis des décennies.

- **Les sels minéraux**

Ils sont rencontrés sous forme d’oligo-éléments. On trouve la majorité des 116 minéraux, en particulier : le fer, le sodium, le potassium et le magnésium.

1-6-2- Utilisation de l’herbe de blé comme indication thérapeutique

L’herbe de blé est utilisée dans le traitement de plusieurs affections de santé que ce soit au niveau des maladies du métabolisme interne ou des affections au niveau de la peau et différents troubles au niveau des différents organes vitaux. Elle est souvent utilisée sous forme de jus.

Les travaux de (Wang et al., 2002) ont montré l’efficacité de l’utilisation du jus d’herbe de blé :

- Dans le renforcement du système immunitaire et amélioration de l’état de santé.
- Dans la régulation sanguine comme détoxifiant polyvalent.
- Dans la réparation des molécules d’ADN et des cellules reproductrices.
- Dans la neutralisation de la toxicité de composés de nitrogènes trouvés dans les gaz d’échappements.
- Imprégnation par le jus d’herbe de blé de compresses utilisées comme cataplasmes sur des zones du corps en souffrance (coupures, brûlures, tumeurs etc.....).

❖ **Quelques exemples de produits à base d’herbe de blé**

Poudre d’herbe de blé	Herbe de blé bio	Tisane d’herbe de blé
		

CHAPITRE 03 : LE STRESS
OXYDANT

1-Définition de stress oxydant

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses anti-oxydante. Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acides nucléiques. Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou non apparié) (**Angelos et al., 2005**).

2-Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes, ou un groupe d'atomes, avec un nombre impair d'électrons sur la loge extérieure, et ils peuvent se former quand l'oxygène interagit avec certaines molécules. Les radicaux libres sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir de la stabilité. Une «réaction en chaîne» débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui «volant» son électron, et «la molécule attaquée» devient alors elle-même un radical libre. Leur principal danger vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN ou la membrane cellulaire. Suite à une exposition aux radicaux libres, il peut se produire une prolifération (multiplication anormale) des cellules, entraînant un cancer, un dysfonctionnement cellulaire ou la mort des cellules. (**Kristina P. et Marika L., 2003**).

3-Qu'est ce qu'un antioxydant

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées. Chaque molécule antioxydante ne peut réagir qu'avec un seul radical libre, et par conséquent, il faut constamment refaire le plein de ressources anti-oxydantes. (**Kristina P. et Marika L., 2003**).

4-Système de défense antioxydant

La production de radicaux peut être régulée par l'organisme (Voir figure 7). Les systèmes de régulation se composent d'enzymes antioxydantes tels que les superoxydes, la catalase et plusieurs formes de peroxydases à glutathion, et les antioxydants non enzymatiques tels que la transferrine, l'albumine, la vitamine C, la vitamine E, le glutathion et l'acide urique (Krzystek-Korpacka. et al., 2011).

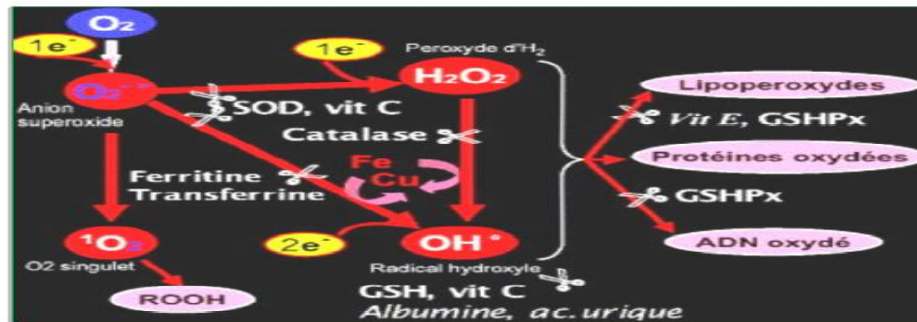


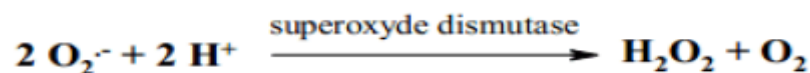
Figure 7 : production et neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (Berger., 2003)

4.1- Le système antioxydant enzymatique

Les antioxydants enzymatiques (la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion reductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS (Blandine G., 2006).

4.1.1- La superoxyde dismutase

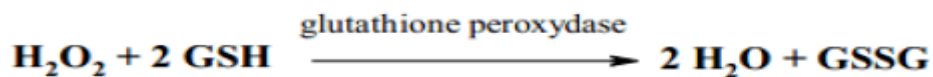
La SOD (SOD, EC : 1.15.1.1), est une métalloprotéine capable d'éliminer l'anion superoxyde par une action de dismutation. Cette réaction aboutit, à partir de deux superoxydes, à la formation d'une molécule d'oxygène et d'une molécule de peroxyde d'hydrogène (Garrel. et al., 2007). Selon la réaction suivante :



4.1.2- La glutathion peroxydase

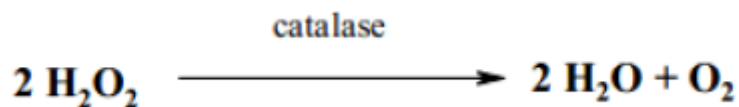
La glutathion peroxydase (GSH-Px, EC : 1.11.1.9), est une enzyme formée de quatre sous-unité contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine .

La GSH-Px a un rôle important dans la réduction du H₂O₂ en présence de glutathion réduit(GSH) et protège ainsi les membranes et les protéines cellulaires contre le stress oxydatif (**Schrader .et al., 2006**). Cette enzyme a un rôle clé dans les systèmes de défense enzymatiques et réduit les peroxydes organiques en leurs alcools correspondants (**Valko. et al., 2007**).



4.1.3- La catalase

La catalase (CAT, EC : 1.11.1.6) est une enzyme responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène produit dans les conditions physiologiques. La catalase est une enzyme extrêmement active, une seule molécule de cette enzyme est capable de décomposer plusieurs millions de molécules de peroxyde par minute (**Nancy. et al., 2006**). La catalase est surtout active lorsque le niveau du stress oxydant est élevé ou que la quantité de la glutathion-péroxydase est limitée et elle joue un rôle significatif dans le développement d'une tolérance au stress oxydatif dans la réponse adaptative des cellules (**Niki. et al., 2007**).



4.2- Le système antioxydant non enzymatique

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons, le glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols (**Kanoun K., 2011**).

4.2.1- La vitamine E

Sous le terme vitamine E est regroupée la famille des tocophérols (α , β , δ , γ). Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. Seuls α et δ tocophérols possèdent les propriétés antioxydantes les plus intéressantes (Vertuani *et al.*, 2004).

4.2.2- La vitamine C

C'est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra- et extracellulaires. La vit C peut directement réagir avec des espèces réactives de l'oxygène comme HO• ou O₂•. Elle peut recycler l' α -tocophérol pour aider à prévenir l'oxydation des lipides (Vertuani *et al.*, 2004).

4.2.3- Les catéchines

Les catéchines sont des molécules polyphénoliques hydrosolubles, composées d'au moins un groupement phénolique. Elles sont abondantes dans certaines plantes, particulièrement dans les feuilles de thé et dans le vin. Elles ont la capacité de piéger les ions superoxydes O₂^{•-}, et l'oxygène singulet ¹O₂, O₂^{•-} étant directement réduit en H₂O₂.

4.2.4- Le glutathion réduit (GSH)

Le glutathion (GSH) est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine) connu par son puissant pouvoir antioxydant (Douris *et al.*, 2009). C'est l'antioxydant le plus important dans le contrôle du statut redox, et qui protège non seulement contre les radicaux libres, mais aussi contre les peroxydes (Tang *et al.*, 2006).

4.2.5- Les composés phénoliques issus des végétaux

Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'années un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs. Une des raisons principales est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et ainsi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant.

Un très grand nombre de données expérimentales plaident aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que les cancers, les maladies cardio-vasculaires, l'ostéoporose ou les maladies inflammatoires. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins (**Rock., 2003**).

5-Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Favier., 2006**).

6-Les antioxydants des céréales

Les céréales complètes sont particulièrement riches en antioxydants (acides cinnamiques, tocophérols, tocotriénols...), parmi lesquels certains sont spécifiques à ce groupe d'aliments (avénanthramide, acide avénaluminique...). L'activité antioxydante exprimée par portion pour les céréales complètes (**41g**) ou le pain complet (**50g**) est comparable à celle d'une portion de fruit (**120g**). (**BENINGER C.W.et HOSFIELD G.L., 2003**).

7-Les composés phénoliques en tant qu'agents antioxydants

Les composés phénoliques typiques possédant une activité antioxydante appartiennent à deux principales classes qui sont : les acides phénoliques et les flavonoïdes (**Wojdylo A. et al., 2007**).

7.1- Les Acides phénoliques

Les acides hydroxycinnamiques ont une activité antioxydante plus élevée par rapport à leurs correspondants d'acides hydroxybenzoïques. La plus grande activité antioxydante des dérivés hydroxycinnamiques est liée à la présence d'une chaîne propionique latérale à la place d'une fonction carboxylique, de plus la double liaison peut stabiliser le radical phénoxy en augmentant leur activité antioxydante.

7.2- Les flavonoïdes

Plusieurs modes d'action de l'activité antioxydante des flavonoïdes ont été décrits :

❖ Activité scavenger

Trois mécanismes proposés par lesquels les antioxydants phénoliques peuvent jouer leurs activités scavenger :

- ❖ Le premier mécanisme inclut le transfert direct d'atome d'hydrogène à partir de l'antioxydant.
- ❖ Le deuxième mécanisme concerne le transfert d'un seul électron à partir de l'antioxydant au radical conduisant indirectement à l'abstraction d'atome d'hydrogène.
- ❖ Le troisième mécanisme a été conditionné séquentiellement par le transfert d'électron – perte de proton

Ces trois mécanismes peuvent avoir lieu en parallèle mais avec des vitesses différentes (Mohajeri A. et Asemani S.S., 2009).

❖ Chélation des métaux de transition

Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques peut s'exercer par la complexation des métaux de transition (exemple : le cuivre et le fer). En effet, ces derniers accélèrent la formation des ROS. Pour les flavonoïdes, les deux points d'attache des ions de transition sont le groupe O-diphénolique dans la position 3', 4' di hydroxy du cycle B (**Figure 8 a**), et entre la fonction 4 cétone et l'hydroxyle 3 (**Figure 8 b**) ou la fonction cétone et l'hydroxyle 5 du cycle A (**Figure 8 C**) (Laguerre M. et *a.l*, 2007).

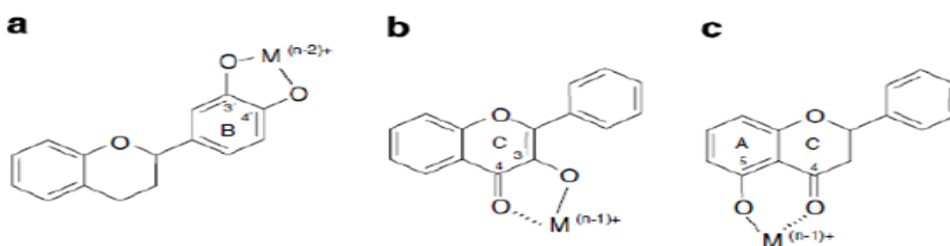


Figure 8 : La complication métallique les flavonoïdes.

❖ L'activité inhibitrice d'enzymes

Les flavonoïdes sont connus par leur pouvoir d'inhibition d'enzyme dont, en particulier, les oxydo-réductases qui font intervenir au cours de leur cycle catalytique des espèces radicalaires (lipoxygénase, cyclo-oxygénase, monoxygénase, xanthine oxydase, phospholipase A2, protéine kinase) (Ghedira k., 2005).

8-Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences en sécurité alimentaire (Marc .*et al.*, 2004).

Les méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant peuvent être qualitatives ou quantitatives. Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydante de composés, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. Une des méthodes utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie sur couche mince (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés (Li Peiwu. *et al.*, 1999). Une autre méthode a été proposée par Glavind et Holmer (1967) qui combine la méthode précédente avec la détection visuelle pour l'évaluation de l'activité de balayage de radical libre des fractions antioxydantes en employant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

En ce qui concerne l'évaluation quantitative de l'activité antioxydante, beaucoup de méthodes peuvent être appliquées pour estimer directement l'activité antioxydante. La génération de radical libre est reliée avec l'oxydation dans les aliments et les systèmes biologiques. Les méthodes principales comportent, le balayage des radicaux de superoxyde (O_2°), le balayage de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le balayage d'acide hypochloreux ($HOCl$) (Sanchez-moreno., 2002), le balayage du radical d'hydroxyle (HO°) ou le balayage du radical du peroxyde (ROO°). Parmi ces méthodes, la méthode de PIEGE (paramètre total d'antioxydant de radical en piègeage) (Brasseur. *et al.*, 1995), la méthode d'ORAC (capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) (Cao .*et al.*, 1993), la méthode d'ABTS (le balayage du radical 2,2-azinobis-éthylbenzothiazoline-6-sulphonate) (Duthie. *et a.l.*, 1991 In Maamri., 2008), le balayage du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (la méthode du radical DPPH $^\circ$) (Blois, 1958 ; Uchiyama .*et al.*, 1968), la méthode de DMPD (le balayage du radical N,N'-p-di-méthylque-phénylènediamine) (Li *et al.*, 1994), ou la méthode de Photochemiluminescence (PLC) (Magin. *et al.*, 2000).

CHAPITRE 04 : MATERIELS ET METHODES

Le présent travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Biologie Micromoléculaire et Phytochimie (Université de Constantine).

1-Récolte du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre analyse expérimentale a été récolté au niveau du champ de l'institut technique des grandes cultures de Constantine (ITGC), les échantillons récoltés appartiennent à différentes variétés de céréales qui sont présentés dans le tableau 6, ci-dessous, la partie étudiée est la partie aérienne de la plante et plus exactement les feuilles pour tous les échantillons:

Tableau 06 : résumant les espèces étudiées.

Variétés	Espèces	Longueur de feuilles	Date de semis	Date de récolte
<i>Triticum aestivum</i> (blé tendre)	Hidab HD1220...	20cm	15-Janvier- 2014	21-Avril- 2014
	Ain Abid			
<i>Triticum durum</i> (blé dur)	Cirta			
	Waha Shem I			
<i>Hordeum vulgare</i> (orge)	Barbarousse			
	Saïda			
Variété X	Inconnu à chercher			

La variété X est analysée en vu de déterminer son genre et son espèce.

2-Aspect qualitatif : analyse phytochimique

2-1-Extraction des composés phénoliques

Pour identifier les composés phénoliques d'une plante, il faut d'abord les extraire de cette plante, et pour cela il existe plusieurs méthodes d'extraction, dépendant des propriétés de la substance à étudier ou à extraire.

Dans notre étude nous avons appliqué deux méthodes d'extraction, l'extraction des composés phénoliques des échantillons de céréales alimentaires, a été réalisée par macération.

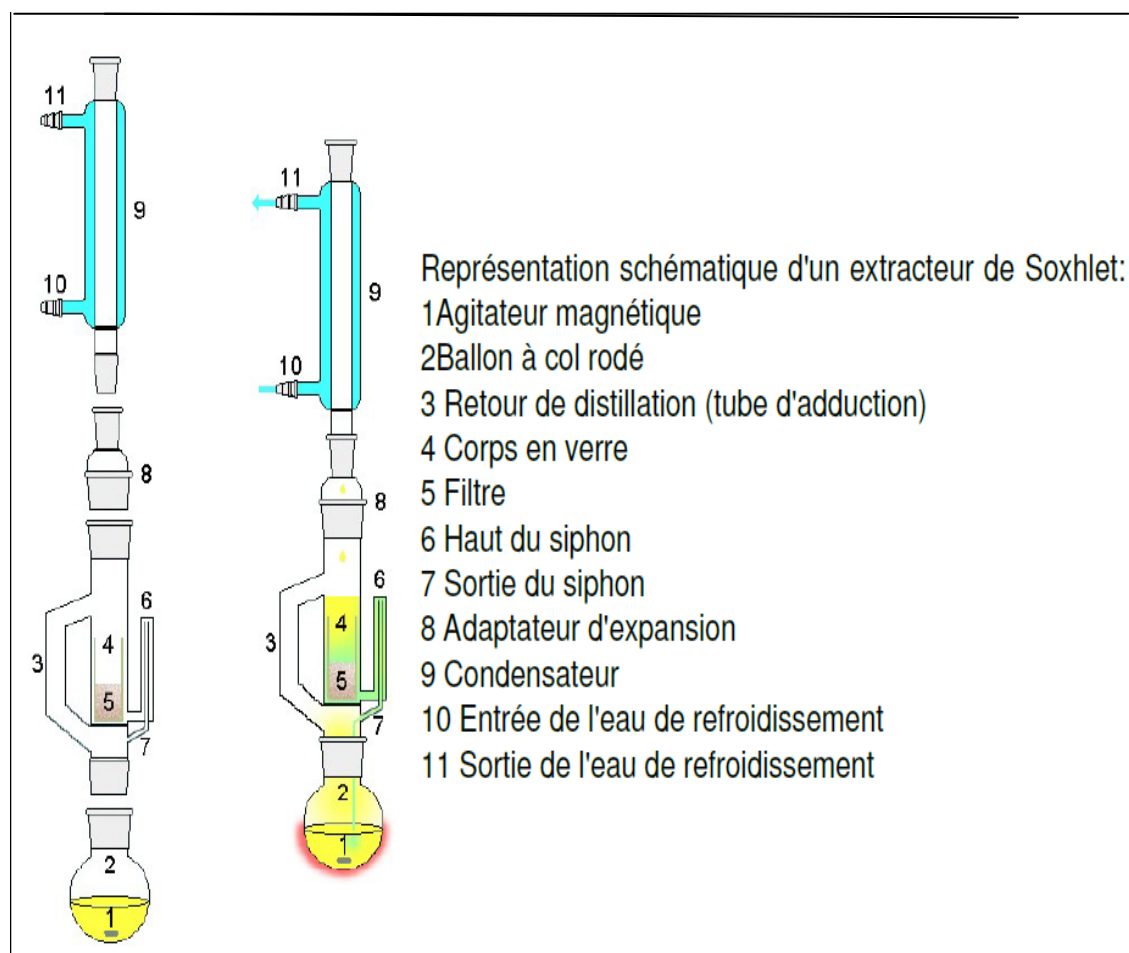
Elle est basée sur le degré de la solubilité des composés phénoliques dans les solvants organiques. Elle comprend deux grandes étapes :

- La première phase est une extraction solide- liquide, basée sur la solubilisation des composés phénoliques dans le solvant et leur transfert vers ce dernier,
- La seconde est une extraction liquide- liquide. Cette dernière consiste au transfert sélectif de solutés présents initialement dans un solvant (phase aqueuse dans notre cas) vers un autre solvant non miscible.

2-1-1-Extraction solide-liquide

- **Extraction au Soxhlet**

La méthode utilisée pour l'extraction des composés phénoliques est l'extraction au Soxhlet, c'est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs.



- **Figure 9 : Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet.**

- **Principe de fonctionnement**

L'extracteur de Soxhlet est un appareil spécialement conçu pour l'extraction continue solide- liquide. Le principe est le même pour toute extraction, mais ici se pose le problème de la diffusion du solvant dans la phase solide, qui peut être très lente. Il faut réaliser un grand nombre d'extractions successives pour obtenir une séparation satisfaisante.

Le solvant (5 à 10 fois la quantité de l'échantillon solide à extraire) est porté à ébullition, puis condensé avec le condenseur à boules, dans le réservoir à siphon, contenant le solide à extraire dans une cartouche de papier épais. Le contact entre le solvant et le produit à extraire dure pendant l'accumulation du solvant dans le réservoir, puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. Ce cycle peut être répété plusieurs fois, selon la facilité avec laquelle le produit diffuse dans le solvant.

- **Méthode**

Après la récolte, le matériel végétal est coupé en petits morceaux puis pesé (10g de feuilles) ensuite broyé à l'aide d'un mortier. Les composés phénoliques sont extraits du matériel végétal par macération dans un solvant alcoolique (500ml du méthanol), pendant 7 heures dans un Soxhlet.

Les solutions obtenues sont alors filtrées et évaporées à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif à basse pression et à une température de 40°C, pour concentrer l'extrait.

L'évaporateur rotatif est un appareil utilisé pour distiller rapidement des solvants dans le but de concentrer partiellement une solution, ou pour concentrer à sec une solution ou une suspension (on enlève tout le solvant). Le principe de cet appareil est basé sur la distillation sous vide (partielle). La solution est chauffée (généralement 40° pour éviter la dégradation des composés phénoliques) et on diminue progressivement la pression jusqu'à distillation du(es) solvant(s).

Cet évaporateur est constitué de différentes parties:

- Un bain d'eau qui permet de maintenir la solution à une température fixée et uniforme.
- Un ballon dont la forme est adaptable.
- Un réfrigérant qui condense les gaz.
- Un ballon réceptacle dans lequel les gaz condensés sont recueillis.

- Un dispositif qui fait tourner le ballon suivant son axe de symétrie afin de permettre une homogénéisation du milieu.



Figure10 : Evaporateur rotatif.

Le résidu sec est repris dans de l'eau distillée (100 ml) qui solubilise le résidu collé aux parois du ballon, ensuite les extraits sont laissés au réfrigérateur pour une décantation de 12 heures, suivie d'une filtration (ou plusieurs) permettant d'éliminer les boues (graisses, résine), pour ne pas gêner lors de la chromatographie. Un volume de 10 ml d'extrait aqueux de chaque échantillon est récupéré pour le dosage.

2-1-2-Extraction liquide -liquide

La solubilité des composés phénoliques est régie par le type de solvant (polarité) utilisé, le degré de polymérisation des composés phénoliques, ainsi que l'interaction avec les autres constituants et la formation des complexes insolubles. L'étape suivante est le fractionnement (ou partition) par plusieurs solvants spécifiques de polarité croissante. Elle a pour but de simplifier un extrait brut en séparant ses molécules en fonction de leurs propriétés physico-chimiques. Pour séparer les composés phénoliques en fractions, les extraits obtenus sont soumis à plusieurs affrontements par divers solvants organiques, Elle consiste au transfert sélectif de solutés présents initialement dans un solvant (phase aqueuse) vers un autre solvant non miscible pour avoir les différentes phases :

- **Ether de pétrole:** élimine les pigments chlorophylliens, caroténoïdes et les lipides et tous les composés non phénoliques.
- **Ether diéthylique:** solvant préférentiel des composés simples tels que les acides phénols et les flavonoïdes.
- **Acétate d'éthyle:** cette extraction entraîne la séparation des mono-o-glucosides et partiellement les di-o-glucosides qui se lient à l'acétate d'éthyle.

- **Méthyle -Ethyle -Cétone (butanone):** ce solvant va entraîner essentiellement le reste des di-o-glycosides, les tri-o-glycosides et les c-glycosides.

Ces affrontements se font dans des ampoules à décanter. La phase aqueuse et le solvant (V/V) sont mélangés énergiquement en laissant sortir à chaque fois les gaz des produits.

Après un repos d'une heure et demie, on récupère séparément la phase eau et le solvant utilisé chargé de ses composés spécifiques.

Pour chaque solvant (chaque partition), on refait trois fois cette opération pour un entraînement optimal des groupes poly phénoliques séparés.

Les phases éther de pétrole contiennent les pigments chlorophylliens, caroténoïdes et les lipides et tous composés non phénoliques, alors elles sont éliminées.

Pour le diagnostic chromatographique les autres phases sont évaporées à sec et concentrées avec un évaporateur rotatif à basse pression à 40°C, à l'exception de la fraction éther diéthylique qui s'évapore à l'air libre, puis elles sont toutes reprises dans un volume de 4 à 5ml de méthanol.

Le schéma ci-dessous présente les différentes étapes de l'extraction jusqu'à l'obtention des différentes phases.

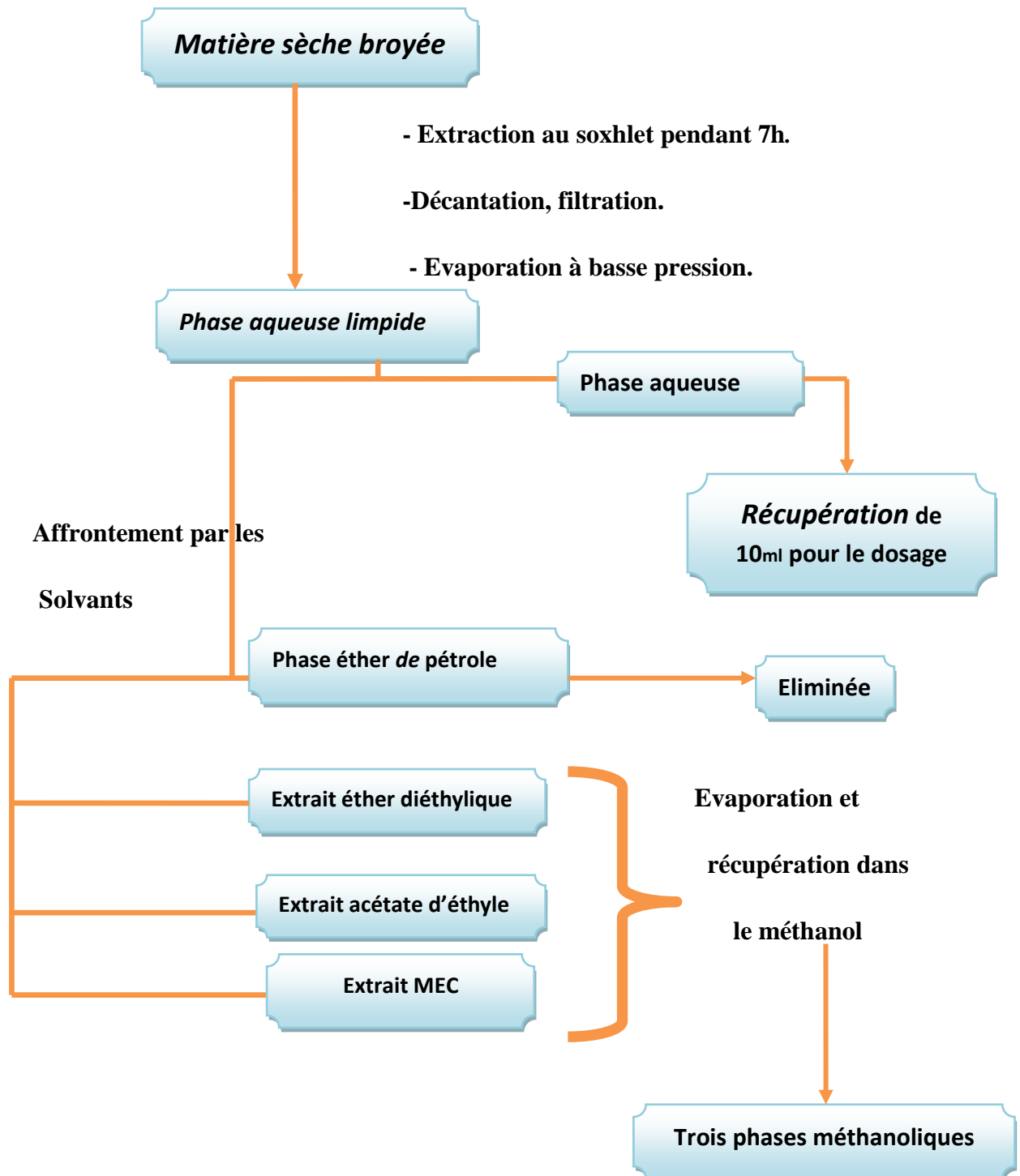


figure11: L'extraction des composés phénoliques selon le protocole classique (Merghem R., 2009).

3-Aspect quantitatif

- **Dosages des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu**

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de (**Ragae. et al., 2006**). Ce dosage non spécifique s'effectue à partir des extraits aqueux. On utilise le réactif de Folin-Ciocalteu qui voit ses propriétés colorimétriques modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction $-OH$ des phénols. Cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée, qui passe à une absorption maximale aux environs des 765nm permettant de déterminer la concentration des polyphénols en se référant à une courbe d'étalonnage à partir des concentrations connues.

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. La Figure ci-dessous montre le principe de la réaction de l'acide gallique avec le molybdène (**Oliveira. et al., 2009**).

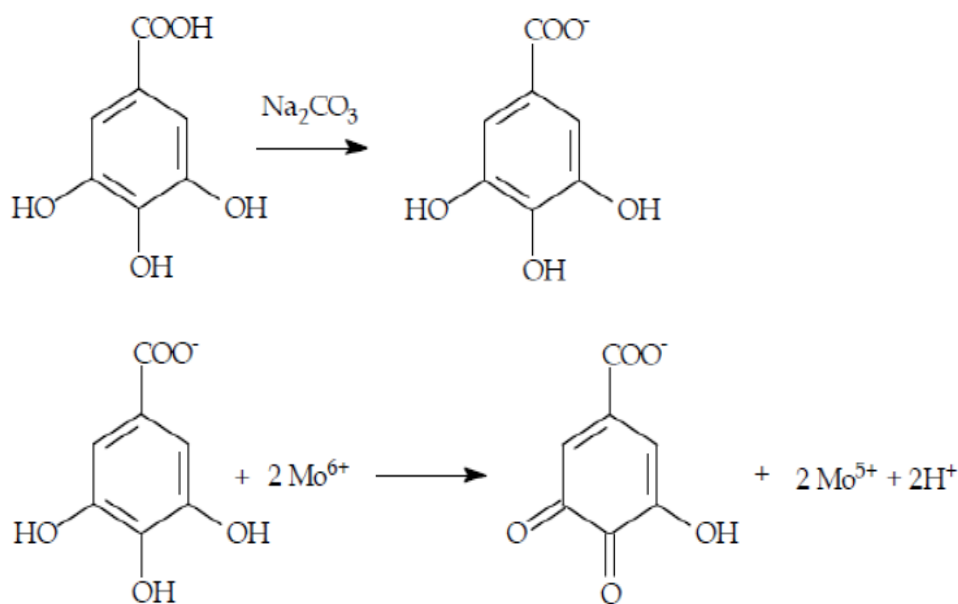


Figure12: Principe d'action de réactif de Folin-Ciocalteu avec l'acide gallique.

- **Utilisation de la méthode de Folin-Ciocalteu pour le dosage des polyphénols des échantillons étudiés**

Dans des tubes on met (2ml) d'extrait aqueux qui a été mis à part pour le dosage (à une concentration de 10mg/100ml avec une dilution 1/10 pour les extraits) et on ajoute 10 ml de réactif de Folin-Ciocalteu fraîchement préparé (dilué 10 fois).

Après 10 minutes, 8 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (75mg/ml) est ajouté au mélange réactionnel. Après 2 heures, la densité optique est mesurée à 765nm avec un spectrophotomètre UV-Visible type Shimadzu 1601.

La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (0-200 $\mu\text{g/ml}$).

Le contenu phénolique total (CPTs) est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{CPTS (mg/g)} = (\text{C} \times \text{V})/\text{M}$$

Où C, V, M sont la concentration ($\mu\text{g/ml}$) de l'acide gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage, le volume de l'extrait (ml) et le poids de l'extrait (mg), respectivement.

4-Utilisation des techniques d'identification des composés phénoliques

4-1-Chromatographie sur couche mince

La chromatographie est aujourd'hui, une méthode largement utilisée pour la séparation, l'identification et éventuellement le dosage des constituants chimiques dans des mélanges complexes (analyse qualitative et quantitative). Les facteurs qui interviennent dans le partage des molécules à séparer entre la phase stationnaire et la phase mobile sont: la solubilité dans un solvant liquide, la taille (la forme), la polarité, la charge électrique et la présence de groupements d'atomes formant des sites particuliers.

- **Principe de la méthode**

La chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. C'est une technique de séparation des constituants d'un mélange complexe par entraînement à l'aide d'une phase mobile (solvants) le long d'une phase stationnaire (gel de polyamide, gel de silice, alumine) maintenue sur une plaque en verre ou en plastique rigide, en se basant sur les phénomènes d'adsorption et de partage. La révélation se fait sous contrôle UV ou à la suite de pulvérisation de réactifs spécifiques pour les composés recherchés.

La mise en œuvre d'une CCM nécessite plusieurs matériels tels que :

- **Une cuve chromatographique:** c'est un récipient en verre, de forme variable (selon les manipulations à effectuer) fermé par un couvercle maintenu étanche.

- **Une phase stationnaire:** c'est une couche d'adsorbant étalé uniformément sur un support en aluminium ou en verre de dimensions variables (généralement 20 x 20 cm, 20 x 10 cm) avec une épaisseur comprise entre 0.5 et 2 mm.
- **La phase mobile:** c'est l'éluant, il est composé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvant qui migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé.

❖ **Préparation des plaques**

On utilise des plaques (en verre) de 10x20 cm et 20x20cm, qu'on place l'une à côté de l'autre sur le support chromatographique, dégraissées au méthanol.

L'étape suivante consiste à préparer le gel de polyamide DC6 (10g) dans 55ml d'éthanol, le mélange est versé immédiatement dans l'étaleur qui a été déjà placé à l'extrémité des plaques. On étale uniformément et à vitesse constante. Enfin, on laisse les plaques sécher à l'air libre (à peu près une journée).

❖ **La phase mobile**

Lors du choix de la phase mobile pour le développement des plaques de CCM, il est important de s'assurer que le solvant ne réagit pas chimiquement avec les substances du mélange à analyser. Dans notre analyse nous avons utilisé le système suivant:

- Toluène /Méthyléthylcétone /Méthanol / Ether de pétrole: 40/ 30/ 30 /05.

❖ **Dépôts**

Le dépôt des échantillons à séparer est l'étape la plus délicate. Il s'effectue à l'aide d'un capillaire. On dépose de façon perpendiculaire quelques microlitres d'échantillon et on sèche (pour éviter la diffusion de la tache) et on fait évaporer le solvant. On répète l'opération plusieurs fois.

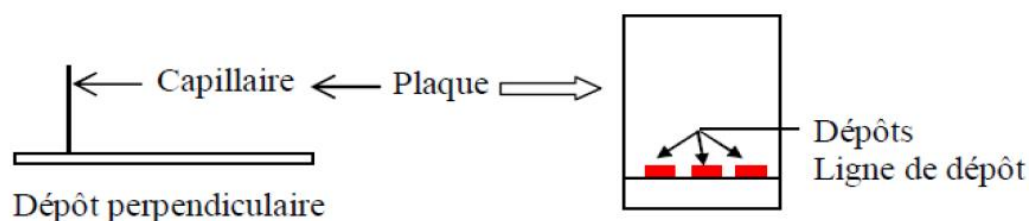


Figure13: Méthode de dépôts lors d'une CCM analytique.

Les phases récupérées de chaque échantillon (phase éther diéthylique, phase acétate d'éthyle et la phase MEC) sont solubilisés dans 5ml de méthanol.

La phase éther diéthylique et MEC des six espèces connues ont été développées sur deux plaques de CCM et confrontées avec 4 témoins de composés phénoliques :

quercitine, l'acide gallique, l'acide tannique et la cathéchine. La phase acétate d'éthyle des six échantillons a été développée séparément sur une plaque de CCM sans confrontation avec les témoins. Les 3 phases de l'espèce inconnue X ont été développées séparément sur une plaque de CCM et confrontées avec les 4 témoins de composés phénoliques suscités. Les dépôts de tous ces échantillons sont effectués avec un capillaire sous forme de spots ou de bandes, comme démontrés dans la figure13.

❖ *Développement des plaques*

La plaque est déposée verticalement dans la phase mobile constituée, comme indiqué auparavant, par un ou plusieurs solvants organiques. Pour une bonne élution, la cuve contenant le solvant d'élution doit être saturée, le solvant monte par capillarité, et les différents constituants de l'échantillon déposé migrent avec des vitesses différentes.

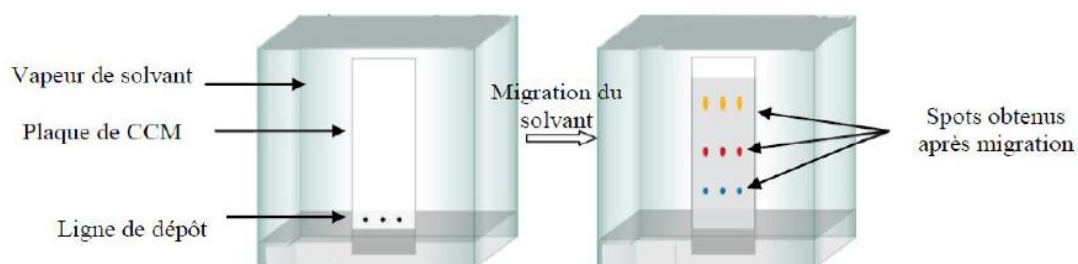


Figure14: Migration des constituants de l'extrait lors d'une CCM analytique.

Une fois le développement du chromatogramme effectué, la plaque est retirée puis séchée à température ambiante puis examinée à l'œil nu, soit sous l'UV dans une chambre noire, ou après pulvérisation avec des réactifs spécifiques.

- Révélation des plaques (Visualisation des tâches)

Après le développement et l'évaporation du solvant de migration les tâches sont visualisées.

- A l'œil nu
- Sous l'UV à 365nm et à 254 nm.
- Avant et après pulvérisation du Réactif de Neu.

- **Réactif de Neu**

Le réactif de Neu (C₁₄H₁₆BN₂O) ou 2-aminoéthyl diphényl borate (Naturstoff reagent A) est un colorant fluorescent utilisé en chromatographie sur couche mince, pour une visualisation fluorescente des molécules qui réagissent avec lui et donne une couleur (Grünz G. et al., 2010).

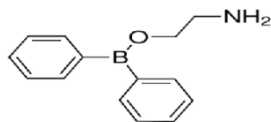


Figure15: Structure de 2-aminoéthyl diphényl bore (réactif de Neu) .

- **Mode opératoire**

Vaporiser une solution méthanolique du réactif de Neu 1% sur les plaques de CCM. Les flavonoïdes apparaissent sous forme de tâches fluorescentes. Selon la couleur obtenue nous avons identifié le type de flavonoïde.

- Les dérivés d'apigénine présentent une couleur fluorescente sous UV jaune-verdâtre et après 24 heures, leurs couleurs à la lumière visible virent au rouge-brun.
- Les dérivés de lutéoline présentent une couleur fluorescente sous UV jaune.
- Les dérivés de kaempférol présentent une fluorescence sous UV jaune verdâtre plus intense que celle des dérivés d'apigénine.
- Les dérivés de quercétol présentent une couleur fluorescente orange intense sous l'UV.

- Relation fluorescence-structure

Le Tableau ci-dessous montre les relations existantes entre la structure d'un composé flavonique et sa fluorescence sous UV.

Tableau 07: Détermination de la structure des flavonoïdes par l'interprétation de leurs fluorescences (Lahouel M., 2005).

Spot coloré	Type de flavonoïdes
Noir	Flavonols 5,6,7 tri- OH libres Flavonols 5,7,8 tri- OH libres
Brun-noir	3-OH absent ou 3- OH substitué
Violet	Flavones 5- OH et 4' - OH Flavones 3-OR et 5-OH, 4'-OH Flavones 6- ou 8-OH Chalcones, isoflavone, dihydroflavonols, flavonones
Bleu-clair (fluorescent)	Flavones sans 5-OH libres Flavonols sans 5-OH libre avec 3- OH substitué
Jaune terne, jaune, fluorescence orangée	Flavonols 3-OH libre avec ou sans 5- OH libre
Jaune vert brillant	5-OH libre ou 5-OH substitué
Jaune fluorescent	Flavonols avec 3-OH libre, aurone, chalcone, flavanones
Jaune pâle	Dihydroflavonols

-Relation R_f- structure

Le facteur de rétention (R_f) apporte aussi des informations sur la structure des polyphénols. Le facteur de rétention est calculé d'après la relation suivante :

$$R_f = \frac{\text{Distance entre la ligne de base et la tâche du produit}}{\text{Distance entre la ligne de base et le front de solvant}}$$

Sachant que la valeur du R_f n'est pas une constante physique du corps, car elle est influencée par plusieurs facteurs, tels que la nature du solvant, la technique employée, la température ainsi que les différents substituants et leurs positions sur le squelette flavonique.

Tableau 08: Relation entre Rf- Structure flavonique (Akroum S., 2011).

Structure flavonique	Rf
Augmentation des OH	Diminution du Rf dans un solvant lipophile
Glycosylation	Rf augmente dans un solvant aqueue Rf diminue dans un solvant alcoolique
Hydroxyles méthylés	Rf augmente dans un solvant alcoolique
Méthylation d'un OH en C5	Rf diminue dans un solvant alcoolique
Hétérosides de flavones avec 3- OH libre	Rf nul dans l'eau

4-2-Spectrophotométrie UV/visible

Deux types de paramètres sont importants en spectroscopie UV/Visible : les longueurs d'ondes des maximas d'absorption (λ max) et les épaulements et l'intensité de leurs absorptions .Ces paramètres sont mesurés le plus souvent par la valeur de leur coefficient d'extinction molaire (ϵ) accessible par la mesure de l'absorbance (loi de Beer Lambert).

L'ultraviolet (UV) utilisable en analyse s'étend de 190 à 400 nm, et le visible (Vis) de 400 à 800 nm environ.

- **Analyse spectrale UV– visible**

C'est une technique qui permet de compléter les informations apportées par le comportement chromatographique et la fluorescence du produit à identifier.

Il est reconnu que la plupart des flavones et flavonols possèdent deux bandes d'absorption dans la région ultraviolet/visible: la bande I entre 230 nm et 385 nm, représentant la conjugaison entre les cycles B et C, et la bande II allant de 240 nm jusqu'à 280 nm représentant la conjugaison entre les cycles A et C.

Les spectres UV-Vis fournissent des informations sur la structure moléculaires, mais sont surtout utilisés pour une confirmation ou une identification grâce à la comparaison avec des spectres de référence.

Le **Tableau 9** montre les principales classes de flavonoïdes et leur spectre d'absorption UV-visible.

Tableau 09: Les principales caractéristiques des spectres UV-visible des flavonoïdes (Markham., 1982).

Bande II (nm)	Bande I (nm)	Types de flavonoïdes
250-280	304-350	Flavones
250-280	352-385	Flavonols
250-280	328-357	Flavonols substitué en 3
275-295	300-330	Flavanones et dihydroflavanol
270-280		Flavanols
230-270	340-390	Chalcone
230-270	380-430	Aurone
270-280	465-560	Anthocyane
245-275	310-330	Isoflavone

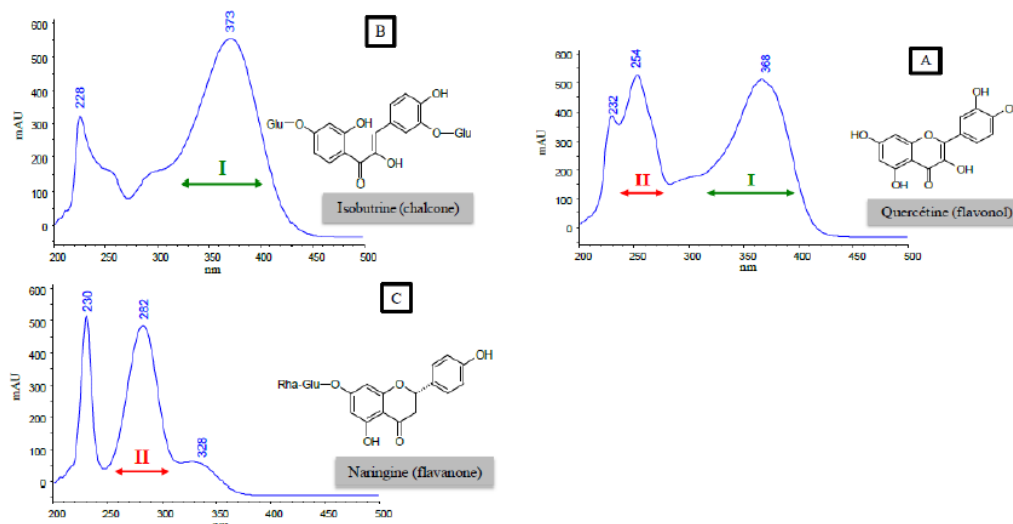


Figure16: Spectres UV-vis de la quercétine (flavonols) (A), de l'isobutrine (chalcone) (B) et de la naringénine (flavanone) (C) enregistrés entre 200 et 500nm (Michel M., 2011).

Cependant, plusieurs facteurs peuvent affecter le spectre d'absorption des flavonoïdes. L'augmentation du nombre d'hydroxyle sur la partie aglycone provoque un déplacement des bandes d'absorption vers les plus grandes valeurs.

En absence d'hydroxyle en position 3, cas des flavones, la longueur d'onde de la bande I est plus courte de 20 à 30 nm. La méthylation comme la glycosylation, en particulier sur les hydroxyles en position 3, 5, 7, 4' provoquent un déplacement vers les longueurs d'ondes plus courtes. Toutefois, la nature du sucre n'a généralement pas d'effet.

Tableau 10: Relation entre l'arrangement des groupements hydroxyles et le maximum d'absorption (Rice-Evans. et al., 1996).

Flavonoïdes	Arrangement du OH	Position des bandes
Flavonols	3, 5, 7, 4'	367 nm
Kaempferol	3, 5, 7, 3', 4'	371 nm
Quercétine	3, 5, 7, 3', 4', 5'	374nm
Myricétine		
Flavones	5, 7	313nm
Chrysin	5, 7, 4'	337nm
Apéginine		
Flavanones	5, 7, 4'	289 (326sh) nm
Naringinine	3, 5, 7, 3', 4'	290 (327sh) nm
Taxifolin		

De plus, l'ajout de réactifs tels que le méthanol provoque un déplacement des bandes:

Tableau 11: Principales caractéristiques spectrales UV-Visible des flavonoïdes en présence du réactif Me OH (Markham., 1982).

Réactif	Déplacement en nm		Interprétation
	Bande I	Bande II	
MeOH	310-350	250-280	Flavones.
	330-360	250-280	Flavonols (3 OH substitué).
	350-380	250-280	Flavonols (3OH libre).

5- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

Le protocole de dosage mesurant l'activité antioxydante utilisé dans notre étude est le test du DPPH.

Le test au DPPH (2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl), basé sur le piégeage du radical libre stable DPPH par une molécule antiradicalaire, le DPPH° accepte un atome d'hydrogène (H) à partir d'une molécule scavenger par exemple un antioxydant, résultant une réduction du DPPH° en DPPH₂, un changement de la couleur (violette) en jaune ce qui entraîne la décoloration du DPPH, le degré de changement de la couleur est proportionnel à la concentration et à la puissance des antioxydants, aussi, cette méthode est rapide et facile à mettre en œuvre, et elle s'effectue à température

ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules testées (Mishra K. *et al.*, 2012)

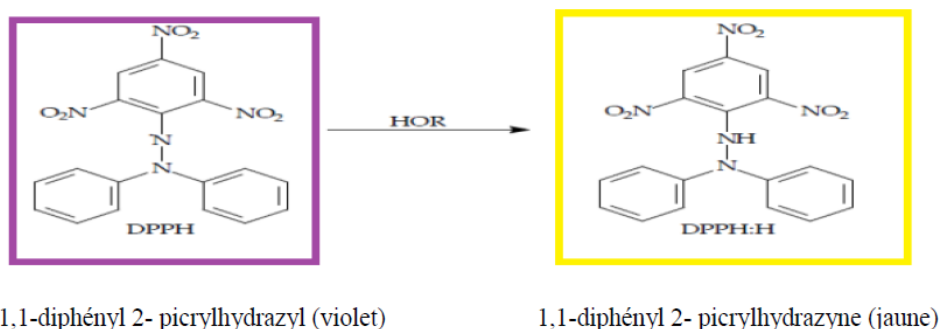


Figure17: Forme libre et réduite du DPPH° (Pereira Nunes X, 2012).

- **Mode opératoire du DPPH°**

On utilise le DPPH° pour remplacer les radicaux libres produits par les cellules en réponse à des stress externes ou internes. Les extraits actifs utilisés représentent les trois phases (la phase éther diéthylique, la phase acétate d'éthyle, la phase méthyléthylcétone).

- **Protocole utilisé pour l'évaluation du pouvoir antioxydant des échantillons**

On prépare une solution méthanolique de DPPH° (0,1g de DPPH° dans 300ml de méthanol), puis on met 3,5ml du réactif de DPPH° dans des tubes et on ajoute 0,2 ml de chaque phase dans les tubes et on attend le résultat. On utilise la quercétine et l'acide gallique ainsi que l'acide tannique et la catéchine comme des témoins, et on compare le temps de la réaction pour chaque phase (Brand-Williams *.et al.*, 1995).

CHAPITRE 05: RESULTATS ET DISCUSSION

I- Analyse phytochimique

1-Extraction des composés phénoliques

1-1-Extraction solide-liquide

- **Résultats de l'extraction aux soxhlet**

Pour l'extraction au Soxhlet nous avons constaté que la couleur des extraits obtenus varie entre les espèces, l'espèce de l'orge Barberousse ayant la couleur la plus foncée, suit l'espèce de l'orge Saïda, ensuite viennent les autres espèces qui ont des couleurs plus proches dans l'intensité.

- **Interprétation**

Le genre de l'orge renferme plus de pigment par rapport au genre de blé, et l'espèce de Barberousse contient le nombre de pigments le plus élevé par rapport aux autres espèces.

1-2-Extraction liquide –liquide

Pour l'extraction liquide –liquide nous avons constaté que l'espèce de l'orge Barberousse a demandé un nombre d'affrontements avec l'éther de pétrole plus élevé que les autres espèces.

II-Aspect quantitatif

1- Résultats de dosages des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu

Les concentrations des composés phénoliques pour chaque espèce sont déduites de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et de la densité optique de chaque espèce qui est mesurée à la longueur d'onde de 765nm.

D'après les résultats des concentrations, nous constatons que la concentration des composés phénoliques varie d'une espèce à l'autre et selon le tissu végétal et les conditions de vie de la plante ainsi que les besoins de chaque plante.

- Les deux espèces de blé tendre montrent les taux les plus élevés de concentration, et c'est le blé tendre Hidab HD 1220... qui exprime la plus grande concentration dont la valeur est égale à 26,3µg/ml, suit le blé tendre Ain Abid avec une valeur de 22,9µg/ml. La variété de blé dur Waha Shem I vient en troisième position avec une valeur intermédiaire de 18,7µg/ml, suivie par l'orge Saïda en quatrième position avec un taux de 12,6µg/ml, ensuite vient l'espèce de l'orge Barberousse en cinquième position avec un taux de 11,5µg/ml qui est très proche de celle de l'espèce de l'orge Saïda.

- Les valeurs de concentration les plus faibles sont exprimés par les espèces de blé dur Cirta et l'espèce X inconnu. Leurs concentrations sont vraiment très proches et elles sont respectivement de 9,9µg/ml et de 9,3µg/ml.

Le classement de la teneur en composés phénoliques chez les feuilles des espèces étudiées est le suivant :

Hidab HD1220... > Ain Abid > Waha Shem I > Saïda ≈ Barberousse > Cirta ≈ Espèce X

- **Interprétation**

Les deux variétés de blé tendre renferment plus de composés phénoliques que les autres espèces étudiées.

Ce classement est très proche de celui des résultats de (**Ragae et al, 2006**).

III-Aspect qualitatif

1- Résultats de la chromatographie sur couche mince

Après séchage des chromatogrammes, ils sont examinées à l'œil nu, sous l'UV dans une chambre noire, avant et après pulvérisation avec le réactif de Neu.

A l'œil nu les plaques ne montrent aucune couleur elles ne sont pas visualisées. Sous l'UV à la longueur d'onde de 354 nm les plaques montrent des taches sombres qui ne peuvent pas être identifiées. Après la pulvérisation des plaques avec le réactif de Neu les plaques montrent une couleur jaune pour toutes les taches à l'œil nu, il s'agit certainement de flavonoïdes, et sous l'UV à la longueur d'onde de 354 nm et après la pulvérisation des plaques avec le réactif de Neu les taches de chaque plaque montrent des différentes couleurs fluorescentes qui peuvent être identifiées.

Les taches identifiées de chaque espèce, sont représentés dans les tableaux suivants :

- **Pour le blé tendre Hidab**

Blé tendre Hidab					
Phase : éther diéthylique		Phase : acétate d'éthyle		Phase : MEC	
Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde
Brune-noir	?	Bleu clair	?	Bleu clair	?
Bleu clair	?	jaune verdâtre	kaempférol	jaune verdâtre	kaempférol
jaune verdâtre	Kaempférol	Marron	?	Marron claire	?
Marron claire	?			Bleu clair	?
Marron foncé	?				
Marron claire	?				
Bleu clair	?				

- ✚ Le blé tendre Hidab ne renferme que la molécule de kaempférol comme composé phénolique et cela pour toutes les phases.

- Pour le blé tendre AinAbid

Blé tendre AinAbid					
Phase : éther diéthylique		Phase : acétate d'éthyle		Phase : MEC	
Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde
Bleu clair	?	jaune verdâtre	kaempférol	Marron brune	?
Marron	?	jaune verdâtre	kaempférol	jaune verdâtre	kaempférol
jaune verdâtre	kaempférol	Jaune	lutéoline	Bleu claire	?
Marron	?	Marron	?	Bleu	?
Bleu	?	Jaune	Lutéoline	Bleu foncé	?
Violet	?	Marron	?	jaune verdâtre	kaempférol
Marron	?	Bleu	?	Marron claire	?
Noire	?	Marron	?	Bleu foncé	?
Bleu	?	Bleu	?	Jaune	lutéoline
Noire	?	Noire	?	Bleu	?
				Jaune	lutéoline
				Bleu	?

✚ Le blé tendre Ain Abid ne renferme que la molécule de kaempférol comme composé phénolique pour la phase Etherdiéthylique.

✚ Pour les deux phases Acétate d'éthyle et Butanone, le blé tendre Ain Abid renferme un taux égal des deux molécules : kaempferol et lutéoline.

- Pour le blé dur Waha

Blé dure Waha					
Phase : éther diéthylique		Phase : acétate d'éthyle		Phase : MEC	
Couleur de tache	Flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde
Bleu	?	Bleu	?	Marron brune	?
jaune verdâtre	Kaempférol	jaune verdâtre	kaempférol	jaune verdâtre	kaempférol
Marron	?	Jaune	lutéoline	Marron claire	?
Bleu	?	jaune verdâtre	kaempférol	Bleu	?
Violet	?	Jaune	lutéoline		
Bleu foncé	?	Marron	?		
Bleu	?	Bleu claire	?		
Noire	?	Bleu foncé	?		
		Jaune	lutéoline		
		Bleu	?		
		Noire	?		

✚ Le blé dur Waha ne renferme que la molécule de kaempférol comme composé phénolique pour les phases Etherdiéthylique, et Butanone.

✚ Pour la phase Acétate d'éthyle, le blé dur Waha renferme un taux à peu près égal de deux molécules : kaempferol et lutéoline.

- Pour le blé dur Cirta

Blé dure Cirta					
Phase : éther diéthylique		Phase : acétate d'éthyle		Phase : MEC	
Comleur de tache	Flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde
Bleu	?	Marron	?	Marron	?
Marron	?	jaune verdâtre	kaempférol	jaune verdâtre	kaempférol
jaune verdâtre	Kaempférol	Jaune	lutéoline	Marron	?
Marron	?	jaune verdâtre	kaempférol		
Bleu	?	Marron	?		
Violet	?	Bleu foncé	?		
Bleu foncé	?	Jaune	lutéoline		
Jaune	Lutéoline	Bleu foncé	?		
Bleu	?	Bleu claire	?		
Noire	?	Noire	?		

- ✚ Le blé dur Cirta ne renferme que la molécule de kaempférol comme composé phénolique pour la phase de Butanone.
- ✚ Pour la phase Acétate d'éthyle, le blé dur Cirta renferme un taux égal des deux molécules : kaempferol et lutéoline.

- **Pour l'orge Barberousse**

Orge Barberousse					
Phase : éther diéthylique		Phase : acétate d'éthyle		Phase : MEC	
Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde
Marron brune	?	Marron	?	Marron	?
Marron	?	Jaune	lutéoline	Jaune	lutéoline
Bleu claire	?	Marron	?	Marron	?
Bleu foncé	?	Jaune	lutéoline	Bleu foncé	?
Jaune	lutéoline	Marron	?		
		Bleu foncé	?		
		Jaune	lutéoline		
		Bleu claire	?		

✚ L'orge Barberousse ne renferme que la molécule de lutéoline comme composé phénolique et cela pour toutes les phases.

- **Pour l'orge Saïda**

Orge Saïda					
Phase : éther diéthylique		Phase : acétate d'éthyle		Phase : MEC	
Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde
Bleu foncé	?	Marron brune	?	Marron	?
Jaune	lutéoline	Jaune	lutéoline	Jaune	lutéoline
Bleu claire	?	jaune verdâtre	kaempférol	Marron	?
Jaune	lutéoline	Jaune	lutéoline	Jaune	lutéoline
Bleu foncé	?	Marron	?	Bleu foncé	?
Jaune	lutéoline	Bleu foncé	?		
		Jaune	lutéoline		
		Bleu claire	?		

- ✚ L'orge Saïda ne renferme que la molécule de lutéoline comme composé phénolique pour la phase Etherdiéthylique, et la phase de Butanone.
- ✚ Pour la phase Acétate d'éthyle, le blé dur Waha renferme un taux à peu près égal des deux molécules : kaempferol et lutéoline.
- **Pour l'espèce X inconnue**

X					
Phase : éther diéthylique		Phase : acétate d'éthyle		Phase : MEC	
Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde	Couleur de tache	flavonoïde
Invisible	?	Bleu foncé	?	Bleu foncé	?
invisible	?	Jaune	lutéoline	Jaune	lutéoline
invisible	?	Marron	?	Marron	?

- ✚ L'espèce X ne renferme que la molécule de lutéoline comme composé phénolique et cela pour les deux phases de l'acétate d'éthyle et butanone, et en ce qui concerne la phase étherdiéthylique les spots ne sont pas identifiés car ils sont invisibles.

2- Résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant par le DPPH

• Interprétation de la phase éther diéthylique

L'espèce qui a montré le pouvoir antioxydant le plus élevé est l'espèce de l'orge Saïda, elle a marqué une vitesse très rapide dans le changement de la couleur du violet vers le jaune avec un temps de réaction très court de 4 minutes. Donc dans cette phase l'orge Saïda renferme beaucoup de molécules ayant un pouvoir antioxydant. Cette espèce occupe la première place dans la puissance du pouvoir antioxydant pour la phase éther diéthylique. En deuxième position vient l'espèce de blé tendre Ain Abid avec une vitesse rapide dans le changement de la couleur du violet vers le jaune avec un temps de réaction court de 6 minutes, et montre un pouvoir antioxydant élevé par rapport aux autres espèces, mais qui reste plus bas que celui de l'orge Saïda, et donc elle renferme un nombre moyen de molécule ayant un pouvoir antioxydant.

Les espèces qui montrent un pouvoir antioxydant moyen sont les deux blés dur, ils sont intermédiaires dans leurs vitesse de réaction et le temps de changement de la couleur du violet vers le jaune, le blé dur Waha vient en troisième position suivi par le blé dur Cirta en

quatrième position, ces deux espèces renferment peu de molécules ayant un pouvoir antioxydant.

Les taux les plus faibles du pouvoir antioxydant sont représentés par l'espèce de l'orge Barberousse qui occupe la cinquième position suivi par le blé tendre Hidab en sixième position, ces deux espèces renferment très peu de molécules ayant un pouvoir antioxydant.

Et en dernier lieu vient l'espèce X inconnue qui occupe la septième position ; cette espèce ne montre aucune activité antioxydante, et donc elle renferme un nombre très faible de molécules ayant un pouvoir antioxydant.

- **Interprétation de la phase acétate d'éthyle**

L'espèce qui a montré le pouvoir antioxydant le plus élevé est l'espèce de blé tendre Ain Abid, elle a marqué une vitesse très rapide dans le changement de la couleur du violet vers le jaune avec un temps de réaction très court de 3 minutes, alors dans cette phase c'est elle qui renferme le plus de molécules possédant un pouvoir antioxydant, par conséquent elle occupe la première place dans la puissance du pouvoir antioxydant pour la phase acétate d'éthyle.

En deuxième position vient l'espèce de blé dur Waha avec une vitesse rapide dans le changement de la couleur du violet vers le jaune avec un temps de réaction court de 5 minutes, et ceci prouve un pouvoir antioxydant élevé par rapport aux autres espèces, mais qui reste plus bas que celui du blé dur Ain Abid, ces deux espèces renferment un nombre élevé de molécules ayant un pouvoir antioxydant.

Les espèces qui montrent un pouvoir antioxydant moyen sont le blé dur Cirta et le blé tendre Hidab, ils sont intermédiaires dans leurs vitesses de réaction et le temps de changement de la couleur du violet vers le jaune. Le blé dur Cirta vient en troisième position suivi par le blé tendre Hidab en quatrième position, ces deux espèces renferment peu de molécules ayant un pouvoir antioxydant.

Les taux les plus faibles du pouvoir antioxydant sont représentés par les deux espèces d'orge, l'espèce de l'orge Saïda qui occupe la cinquième position suivi par l'orge Barberousse en sixième position, ces deux espèces renferment très peu de molécules ayant un pouvoir antioxydant.

Et en dernier vient l'espèce X inconnu qui occupe la septième position cette espèce montre une très faible activité antioxydante, donc elle ne renferme que très peu de molécules ayant un pouvoir antioxydant.

- **Interprétation de la phase MEC**

L'espèce qui a montré le pouvoir antioxydant le plus élevé est l'espèce de blé tendre Ain Abid, elle a marqué une vitesse très rapide dans le changement de la couleur du violet vers le jaune avec un temps de réaction très court de 3 minutes, alors dans cette phase c'est elle qui renferme le nombre le plus élevé de molécules possédant un pouvoir antioxydant, et occupe ainsi la première place dans la puissance du pouvoir antioxydant pour la phase acétate d'éthyle.

En deuxième position vient l'espèce de blé dur Waha avec une vitesse rapide dans le changement de la couleur du violet vers le jaune avec un temps de réaction court de 5 minutes, et montre un pouvoir antioxydant assez élevé par rapport aux autres espèces, mais qui reste plus bas que celui du blé dur Ain Abid, ces deux espèces renferment un nombre élevé de molécules ayant un pouvoir antioxydant.

Les espèces qui montrent un taux de pouvoir antioxydant moyen sont l'orge Saïda et le blé tendre Hidab, ils sont intermédiaires dans leurs vitesses de réaction et le temps de changement de la couleur du violet vers le jaune, l'orge Saïda vient en troisième position suivi par le blé tendre Hidab en quatrième position. Ces deux espèces renferment peu de molécules ayant un pouvoir antioxydant.

Les taux les plus faibles du pouvoir antioxydant sont représentés par les deux espèces de blé dur Cirta et l'orge Barbarousse, l'espèce de blé dur Cirta occupe la cinquième position suivi par l'orge Barberousse en sixième position, ces deux espèces renferment très peu de molécules ayant un pouvoir antioxydant.

Et en dernier lieu vient l'espèce X inconnue qui occupe la septième position. Cette espèce ne montre aucune activité antioxydante et donc ne renferme qu'un nombre faible de molécules ayant un pouvoir antioxydant.

IV- DISCUSSION DES RESULTATS

Sachant que chaque phase nous renseigne sur la présence ou non du type de molécules de composés phénoliques, et de l'importance de leur quantité dans ces espèces étudiées, on constate ce qui suit :

-Pour la phase Ether diéthylique :

- **Les espèces d'orge :** l'espèce d'orge Saïda est très riche en composés phénoliques simples, en acides phénols et en flavonoïdes. L'espèce d'orge Barberousse est pauvre en ce type de molécules.
- **Les espèces de blé :** l'espèce de blé tendre Ain Abid est assez riche en ces molécules. Les espèces de blé dur Cirta et Waha sont moyennement riches en ces molécules, alors que l'espèce de blé tendre Hidab est la plus pauvre en ce type de molécules.
- **L'espèce X inconnue** ne renferme quand à elle que peu de ces molécules.

-Pour la phase acétate d'éthyle :

- **Les espèces d'orge :** les deux espèces d'orge étudiées Saïda et Barberousse sont très pauvres en molécules aglicones, les mono-o-glucosides et les di-o-glucosides.
- **Les espèces de blé :** l'espèce de blé tendre Ain Abid et l'espèce de blé dur Waha sont très riches en molécules phénoliques citées plus haut. Par contre l'espèce de blé dur Cirta et l'espèce de blé tendre Hidab renferment peu de molécules de ce type.
- **L'espèce inconnue X** renferme elle une infime quantité de ces molécules.

-Pour la phase MEC :

- **Les espèces d'orge :** l'espèce d'orge Saïda est moyennement riche en molécules phénoliques les di-o-glycosides, les tri-o-glycosides et les c-glycosides, cependant l'espèce d'orge Barberousse contient très peu de ces molécules.
- **Les espèces de blé :** l'espèce de blé tendre Ain Abid est très riche en ce type de molécules, ainsi que l'espèce de blé dur Waha qui est assez riche en ces molécules. L'espèce de blé tendre Hidab est moyennement riche alors que l'espèce de blé dur Cirta est pauvre en ce type de molécules.
- **L'espèce inconnue X :** ne renferme qu'une faible quantité de ces molécules.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Le but du présent travail est de déterminer la présence ou non et le type et la teneur en composés phénoliques, et leur pouvoir antioxydant au niveau des feuilles d'herbe de certaines céréales.

Pour cela nous nous sommes intéressés à certaines variétés de 2 genres de céréales, l'orge et le blé, cultivées et développées au niveau de l'institut des grandes cultures de Constantine.

Six échantillons de six variétés ont été étudiés. Nous avons effectué une étude phytochimique pour l'extraction et le fractionnement des molécules phénoliques contenues dans ces échantillons. Puis nous avons utilisé 2 techniques pour l'identification et la quantification de ces molécules. Nous avons utilisé la chromatographie sur couche mince (CCM) pour l'identification des molécules, et le dosage par le folin-ciocalteu en spectrophotométrie UV – visible pour la quantification de ces molécules.

Les résultats ont montré une disparité dans les teneurs en composés phénoliques entre les échantillons étudiés, et ce sont des flavonoïdes particulièrement des flavones (Lutéonine) et des flavonols (Kaempférol). Ces flavonoïdes sont connus pour leur pouvoir antioxydant et d'autres indications.

Pour les feuilles d'orge c'est la variété Saïda qui a présenté les plus grandes teneurs en flavonoïdes en particulier la molécule de Lutéonine. Quand aux feuilles de blé deux variétés ont montré les plus grandes teneurs en flavonoïdes : la variété de blé tendre Ain Abid contenant la molécule de Kaempférol et la variété de blé dur Waha avec une grande teneur en 2 types de molécules la Lutéoline et le Kaempférol.

Ces flavonoïdes sont très indiqués dans certaines actions thérapeutiques (activité anti-infectieuse, antioxydant des LDL du plasma sanguin, anti-tumoraux) et aussi en diététique en utilisant la poudre des feuilles de ces céréales comme complément de certaines denrées alimentaires.

Au regard de ce qui précède nous recommandons la destination des variétés Saïda pour l'orge et les variétés Ain Abid pour le blé tendre et Waha pour le blé dur pour l'utilisation de leurs feuilles d'herbe à la préparation de produits pharmaceutiques, et pour la fabrication de compléments antioxydants adjoints à certains aliments.

Références bibliographiques

1-Alais, C., Linden, G., Micho. 2003. Biochimie Alimentaire. 5^{ème} ed. Dunod. Pp 131.

2-Angelos,M.G.Kutala,V.K.Torres,C.A.He,G.Stoner,J.D.Mohammed,M,Oera nnan,K.2005.Hypoxic reperfusion of the ischemic heart and oxygen radiacal generation .*Am J Physiol Heart Circ Physiol*.Vol 290: 341-347.

3-Arnaud Basdevant. Martine Laville.(2001). Eric Lerebours. *Traité de nutrition clinique de l'adulte*. Flammarion Médecine-Sciences, p165-177..

4-Athamena S. (2009). Etude quantitative des flavonoides des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de magister de l'Université de Batna.

5-Benbelkacem, A. 2007. Les triticales : cultures, performances et différentes possibilités d'utilisation en Algérie. Journée techniques sur la culture du triticales en zone semi aride et son utilisation par les animaux domestique: Oum Elbouagui Elkhroub. 17-18 Juin 2007.

6-Beninger C.W.,Hosfield G.L.(2003). Antioxydant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris*L. Seed coat color genotypes. *J Agric Food Chem*. 51:7879-83.

7-Besançon, P. 2000. Effets benifiques pour la santé des fruits et des legumes. Alimentation méditerranéenne et santé : actualité et perspectives. Montpellier, John libbey. Pp99-108.

8-Blandine G. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin. Thèse de doctorat de l'Université de Josephfourier.

9-Burney Ph. (2011). Production et commerce mondial en céréales en 2010-2011. Livre Blanc « céréales » *ULg Gembloux Agro. Bio. Tech. Et CRA-W Gembloux*, 1-10.

10-Cao GH., Alessio H.M .,Cutler R.G. (1993). Oxygen – radical absorbency capacity assay for antioxydants, *Free Radic. Biol. Med.*, 14: 303-311.

- 11-Cesar G., Fraga., Monica Galleano., Sandra V., Verstraeten., Patricia I., Oteiza.(2010).** Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols », *Molecular Aspects of Medicine*.
- 12-Cuvelier M.E., Berset C. (1995).** Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant activity. *Lebensm. Wiss.Technol.***28**: 25-30. Karamac M. et al., 2002.
- 13-D. Chen et al.(2004).** Green tea and tea polyphenols in cancer prevention, *Front Biosci*, vol. 9, n° 2618.
- 14-Dacosta E. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris, p 317.
- 15-Delattre J.,Beaudeau J.L.,Bonfont-Rousselot D.(2007).** Radicaux libres et stress oxydant : aspect biologiques. Lavoisier Ed TEC et DOC. Paris.1-405.
- 16-Djermoun A. (2009).** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie* **01**, 45-53.
- 17-Douris P.C.,Elokda A.S.,Handrakis J.P. ,Principal S.,Rondo E.,Bovell J.,Coughlin W.P.,Mastroianni C.N.,Wong M.J.,Jimmerman T.(2009).** Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults.*JStrength Cond Res.* 23(5): 1518-23.
- 18-FAO. (2013).** Stockage et conservation des grains à la ferme. www.fao.com
- 19-Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines: 390-396.
- 20-Feillet P., 2000-** Le grain de blé. Composition et utilisation. Mieux comprendre. INRA. ISSN: 1144- 7605. ISBN: 2- 73806 0896- 8. p308.
- 21-Garrel C.,Ceballos-Picot I.,Germain G.,Al-Gubory K.H.(2007).** Oxidative stress inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F₂ alpha-induced luteal cell death in vivo. *Free Radical Research.* 41: 251-59.
- 22-Grünz G., Daniel H. and Spanier B. (2010).** In vivo visualization of flavonoids in *C.elegans* using 2-aminoethyl diphenyl borate. *The worm breeder's gazette* **18** : 1.
- 23-Guignard, J.L; Dupont, F. 2004.** Botanique Systématique moléculaire. 13 Ed révisée Masson Paris. Pp 116-117.

24-Hadj Salem J. (2009). Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de doctorat de l'Université de Nancy.

25-Holtekjflen, A.K., Kinitz, C., and Knutsen, S.H. 2006. Flavanol and bound phenolic acid contents in different barley varieties. *J.Agric. Food Chem.*54:2253, 2006.

26-ISANH. (2006). 3rd international Conference on Polyphenols Applications . The International Society for Antioxidants in Nutrition and Health.

27-Jeantet, R., Croguennec, T., PSchuck, P and Gerard Brulé.2007 : Science des aliments:Biochimie Microbiologie, procédés produits Pp138-159.

28-Kanoun K. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Thèse de magister de l'université de Tlemcen.

29-Kening Y., Vincenzo D. L., Normand B. (1995). Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. *The plant cell* 7:1787-1799.

30-Khelfallah A. (2013). Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires. Thèse de magister de l'université de Constantine.

31-Kristina Pelli ., Marika Lyly. (2003). Les antioxydants dans l'alimentation .Biotechnology Finlande, 3 : 7380-1069.

32-Krzystek M.,Patryn E.,Kustrzeba I.,Chrzanowka J.,Gamian A.,Noczynska A.(2011). The effect of a one-year weight reduction program on serum uric acid in overweight/obese children and adolescents. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 49: 915-21.

33-Kumar P., Yadara R.K., Gollen B., Kumar S., Verma R.K., Yadav S. (2011).

Nutritional contents and Medicinal properties of wheat: A review. *Life Science and Medicine Research* **22**: 1-10.

34-Laguerre M., Lecomte J., Villeneuve P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods. *New trends and challenges progress in lipid research* **46**: 244-282.

35-Li Peiwu., Hopia A., Jaris S., Teijo Y., Heikki V. (1999). TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology. *Chemistry and Nutrition*, (10) : 123-187.

36-Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux (un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques). Edition techniques et documentation, Lavoisier.

37-Macheix, J.J., Fleuriet, A et Christian, A .2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne.

38-Magin D.V., Lewin G., Popov I.N., Izmailov Yu. D., Vladimirov Yu .A. (2000).

Photochemi-luminescence as a tool to determine the antioxidant activity in biological systems, Mathematic modeling. Lavoisier, 419p.

39-Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M .,Fritsch P.

(2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S : médecine sciences*, (20): 458-463.

40-Merghem R. (2009). Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine.

41-Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.

- 42-Mishra K., Ojha H., Chaudhury N.K. (2012).** Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH° assay: A critical review and results. *Food Chemistry* **130**: 1036-1043. **Brand- Williams W.**
- 43-Mohajeri A., Asemani S.S. (2009).** The oretical investigation on antioxidant activity of vitamins and phenolic acids for designing a novel antioxidant. *Journal of Molecular Structure* **930**: 15-20.
- 44-Mónica Galleano., Sandra V., Verstraeten, Patricia I., Oteiza, Cesar G.,Fraga. (2010).** Antioxidant actions of flavonoids: Thermodynamic and kinetic analysis, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 501.
- 45-Nancy J.,Linford S.,Chriner E.,Peter S.,Rabinovitch1.(2006).** Oxidative damage and aging: Spotlight on mitochondria. *Cancer Res.*66:2497-2499.
- 46-Niki L.,Reynaert S.W.,Aesif T.,Mc Goven.,Amy B.,Emiel F.M.,Wouters C.,Irvin Yvonne**
- 47-M.W.,Janssen H.(2007).** Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse .*The Journal of Immunology.* 178: 3814-3821.
- 48-Oliveira A.C., Valentim I.B., Goulart M.O.F., Silva C.A., Bechara, E.J.H., Trevisan M.T.S. (2009).** Fontes végétales naturels des antioxydants. *Química Nova*, Vol.32, No.3: 689-702.
- 49-P Sarni-Manchado., V Cheynier. (2006).** *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 398 p.).
- 50-Pereira Nunes X., Souza Silva F., Alneida J.R.G. et al. (2012).** Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products. Chapter1. In “phytochemicals as Nutraceuticals Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health”. 1ère edition Venketeshwer Rao. Pp 1-20.
- 51-Quinde-Axtell; Baik, B. 2006:** Phenolic compounds of barley and their umplication in food product discoloration. *Jagr, Chimie alimentaire*, 2006, vol 54, n° 26, pp 9978-9984.
- 52-Ragae S., Abdel-Aal E.M., Noaman M. (2006).** Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry* **98**: 32-38.

- 53-Ribereau-Gayon p. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux .Edition Dumond, Paris.
- 54-Rock E. (2003).** Stress oxydant, micronutriments et santé. Inra – CRNH, unité des maladies métaboliques et micronutriments 63122 St Genès Champanelle. Université d'été de nutrition – Clermont- Fenand, 37-42.
- 55-Sanchez-Moreno C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. (8): 121-137.
- 56-Schrader M.,Fahimi H.D.(2006).** Peroxisomes and oxidative stress. *Biochimica and biophysica Acta* : 1763 : 1755-66.
- 57-Slafer G.A., Molina-Cano J.L., Savim R., Araus J.L. et Romagosa I., 2002 -** Barley science. Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of yield and Quality. 665p.
- 58-Stanley et al. (2003).** Antioxidants and the Free Radical Theory of Degenerative Disease, *Alternative Medicine and Rehabilitation*.
- 59-Tang F.T.,Chen S.R.,Wu. X.Q.,Wang T.Q.,Chen J.W.,Li J.,Bao L.P.,Huang H.Q.,Liu P.Q.(2006).** Hypercholesterolemia accelerates vascular calcification induced by excessive vitamin D via oxidative stress. *Calcif.Tissue. Int* .79:356-39.
- 60-Tayeb Ameziane E. H. (2013).** Croissance et Développement des plants cultivés. Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Rabat.
- 61-Valko M.,Leibfritz D.,Moncol J .,Cronin M.T.D.,Mazur M.,Telser J.(2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 39 : 44-48.
- 62-Vertuani S.,Angusti A.,Manfredini S.(2004).** The antioxidants and pro-oxidants network: an overview. *Curr Pharm Des*.Vol 10: 1677-1694.
- 63-Wojdylo A., Oszmianski. J, Czemerzys. R. (2007).** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* **105**: 940-949.

64-Wang, J ; Mazza, G. 2002. Effect of Anthcyanins and other phenolic compounds on the production of Tumor Necrosis Factors α in LPS/IFN- γ -Activated RAW .264.7.Macrophages. *J.Agric.Food.Chem.*50.4183-4189, 2002.

65-Yu, L., Haley, S., Perret, J and Harris, M. 2002. Antioxidant properties of hard winter wheat extracts. *Food Chemistry.* 78: 457-461.

Annexes

Annexe 1: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0-200µg/ml)

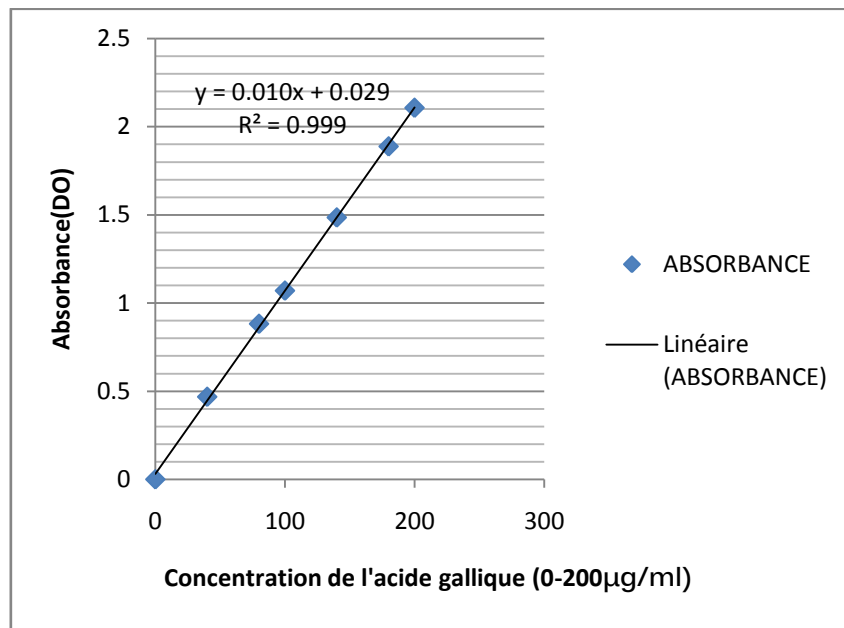


Figure: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0-200µg/ml).

Annexe 2: Absorbance et concentration des composés phénoliques chez les feuilles de céréales.

Tableau: Absorbance et concentration des composés phénoliques chez les feuilles de céréales.

Espèce de céréales	ABSORBANCE (DO)	CONCENTRATION (µg/ml)
Méthanol	0,034	0,5
Hidab HD1220... (blé tendre)	0,292	26,3
Ain Abid (blé tendre)	0,258	22,9
Cirta (blé dur)	0,128	9,9
Waha Shem I (blé dur)	0,216	18,7
Barberousse (orge)	0,144	11,5
Saïda (orge)	0,155	12,6
Variété X (inconnu)	0,122	9,3

Annexe 3: Histogramme de la concentration de composés phénoliques chez les feuilles de céréales.

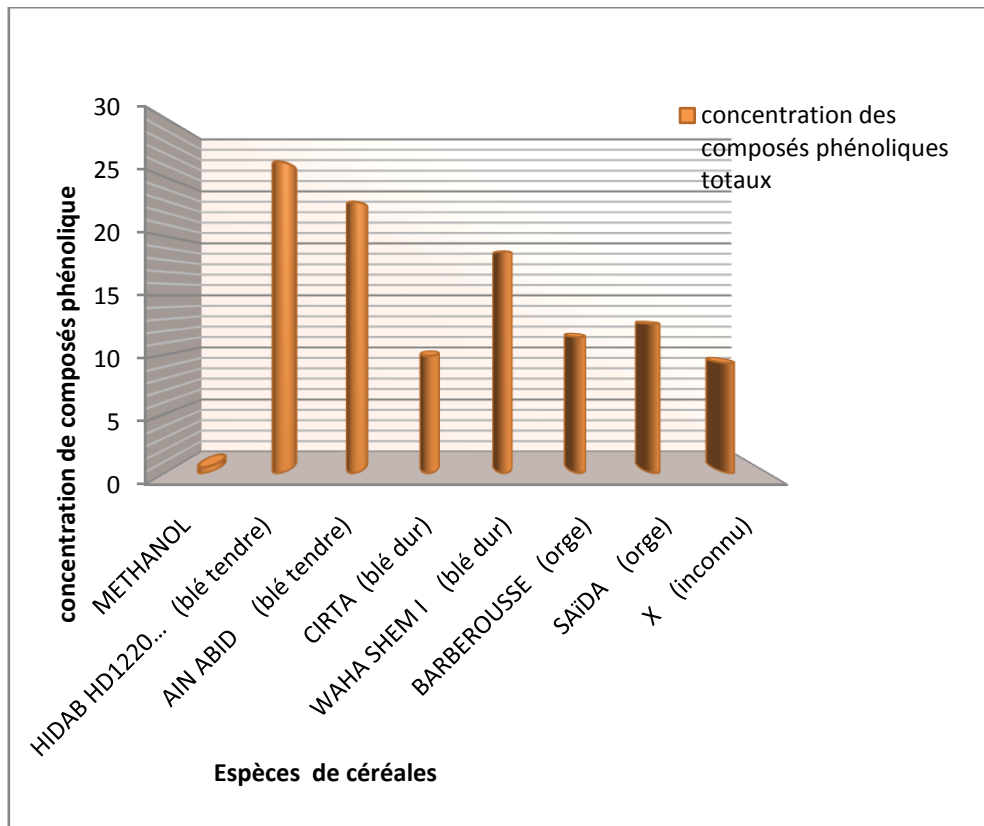



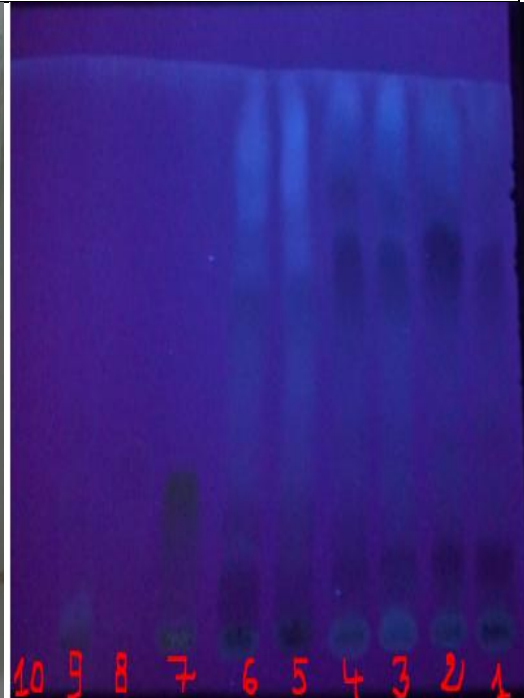

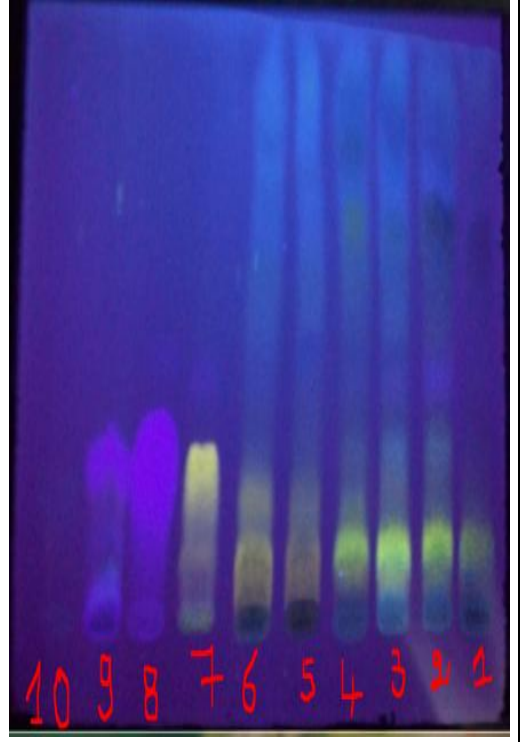
Figure: Histogramme de la concentration de composés phénoliques chez les feuilles de céréales.

Annexe 4: Résultats de la chromatographie sur couche mince

- **Comportement des chromatogrammes de la phase Etherdiéthylique**

Pour la phase Etherdiéthylique :


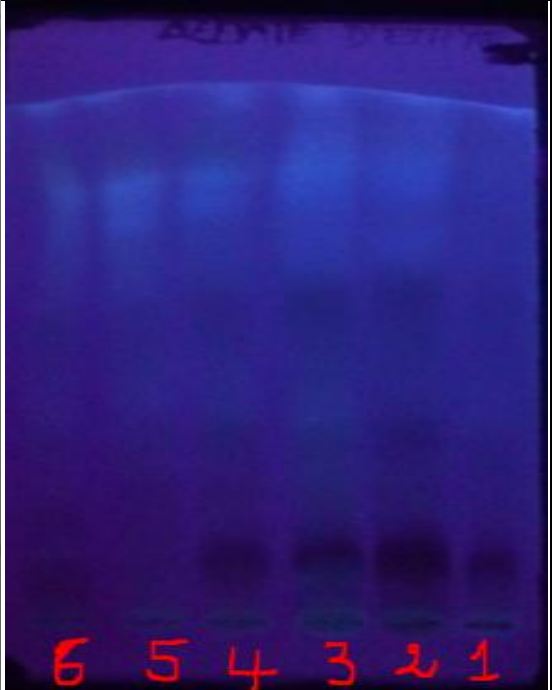

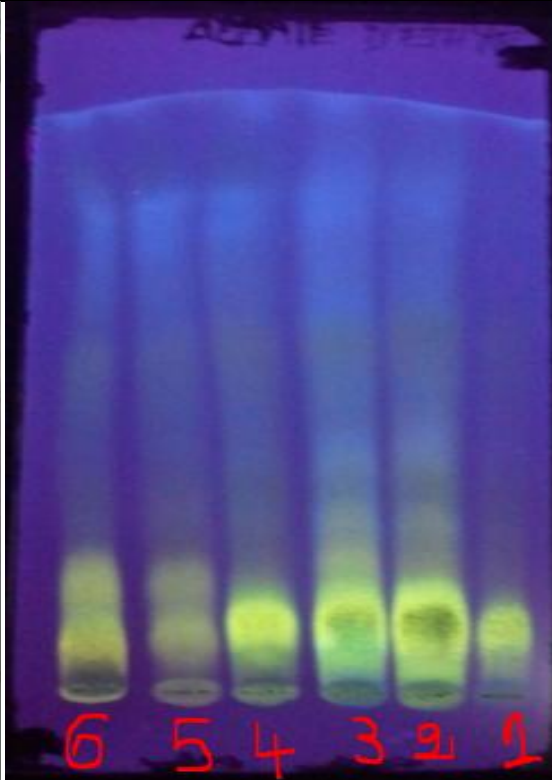
1:blé tendre Hidab, 2:blé tendre Ain Abid, 3:blé dur Waha, 4:blé dur Cirta, 5:orge Barberousse, 6:orge Saïda, 7:Quercitine, 8:acide gallique, 9:acide tannique, 10:catéchine.

	A l'œil nu	Sous l'UV à 365nm
Avant pulvérisation avec le réactif de Neu		
Après pulvérisation avec le réactif de Neu		

- **Comportement des chromatogrammes de la phase Acétate d'éthyle**

Pour la phase Acétate d'éthyle :




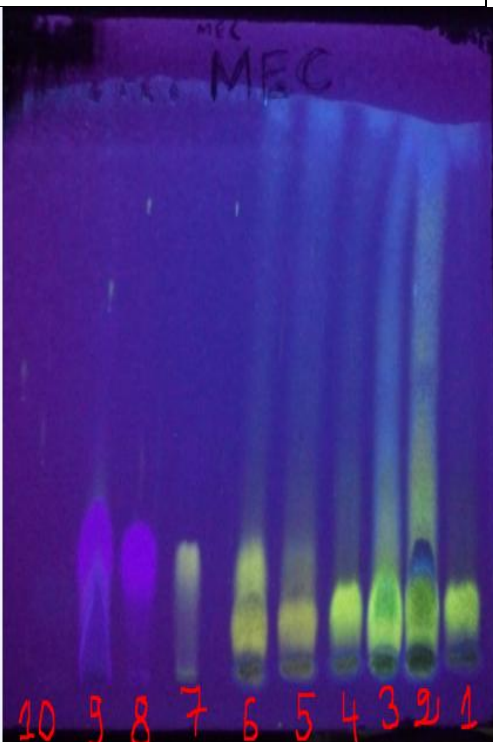
1:blé tendre Hidab, 2:blé tendre Ain Abid, 3:blé dur Waha, 4:blé dur Cirta, 5:orge Barberousse, 6:orge Saïda.

	A l'œil nu	Sous l'UV à 365nm
Avant pulvérisation avec le réactif de Neu		
Après pulvérisation avec le réactif de Neu		

- **Comportement des chromatogrammes de la phase Butanone**

Pour la phase Butanone :



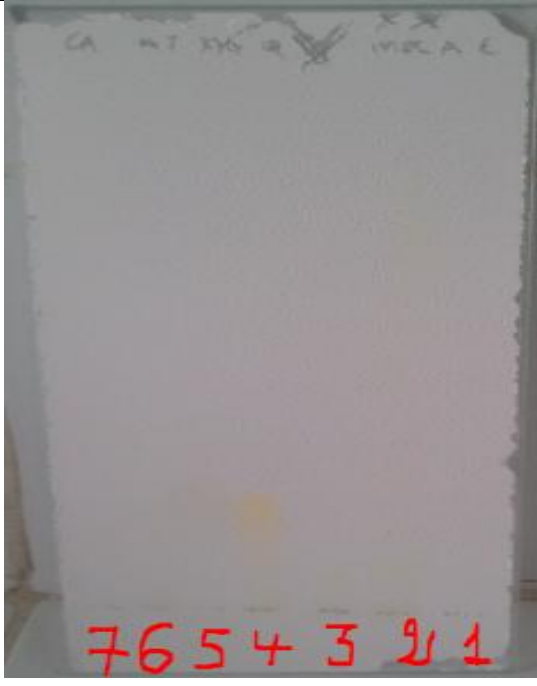

1:blé tendre Hidab, 2:blé tendre Ain Abid, 3:blé dur Waha, 4:blé dur Cirta, 5:orge Barberousse, 6:orge Saïda.

	A l'œil nu	Sous l'UV à 365nm
Avant pulvérisation avec le réactif de Neu		
Après pulvérisation avec le réactif de Neu		

- **Comportement des chromatogrammes de l'espèce X inconnue**

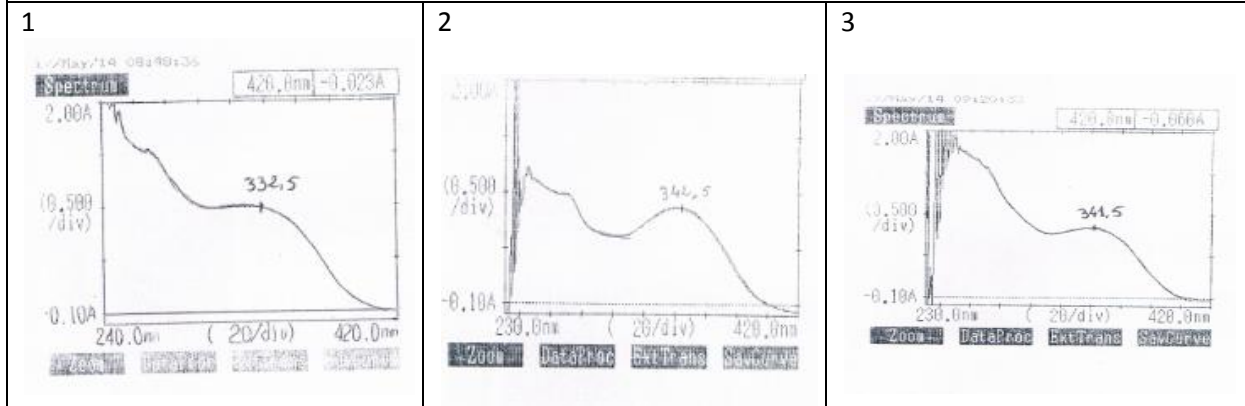
Pour les chromatogrammes de l'espèce X inconnue :

1:phase Etherdiéthyliques, 2:phase Acétate d'éthyle, 3:phase Butanone, 4:Quercitine, 5:acide Gallique, 6:acide tannique, 7:Catéchine.

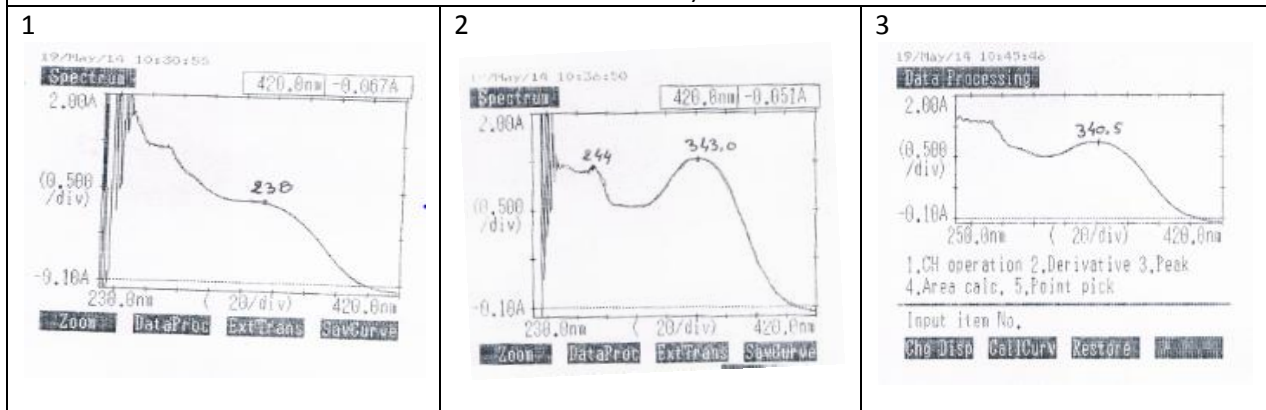
	A l'œil nu	Sous l'UV à 365nm
Avant pulvérisation avec le réactif de Neu	 <p>Chromatogramme à l'œil nu avant pulvérisation. Le papier est blanc avec des traces de développement. Les numéros 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 sont inscrits en rouge à la base.</p>	 <p>Chromatogramme sous UV à 365nm avant pulvérisation. Le papier apparaît violet foncé. Les numéros 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 sont inscrits en rouge à la base.</p>
Après pulvérisation avec le réactif de Neu	 <p>Chromatogramme à l'œil nu après pulvérisation. Une tache jaunâtre est visible dans la phase 5. Les numéros 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 sont inscrits en rouge à la base.</p>	 <p>Chromatogramme sous UV à 365nm après pulvérisation. Des taches fluorescentes sont visibles dans les phases 5 et 6. Les numéros 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 sont inscrits en rouge à la base.</p>

Annexe 5: Série spectrale des flavonoïdes isolés à partir des céréales

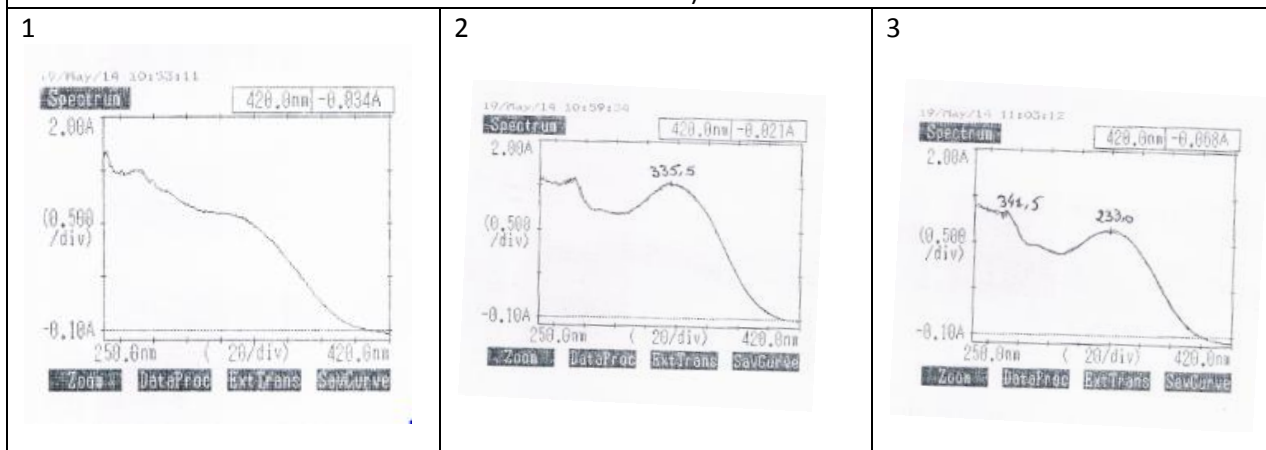
Les spectres des différentes phases du blé tendre Hidhab (1 : éther diéthylique, 2 : acétated'éthyle, 3 : butanone)



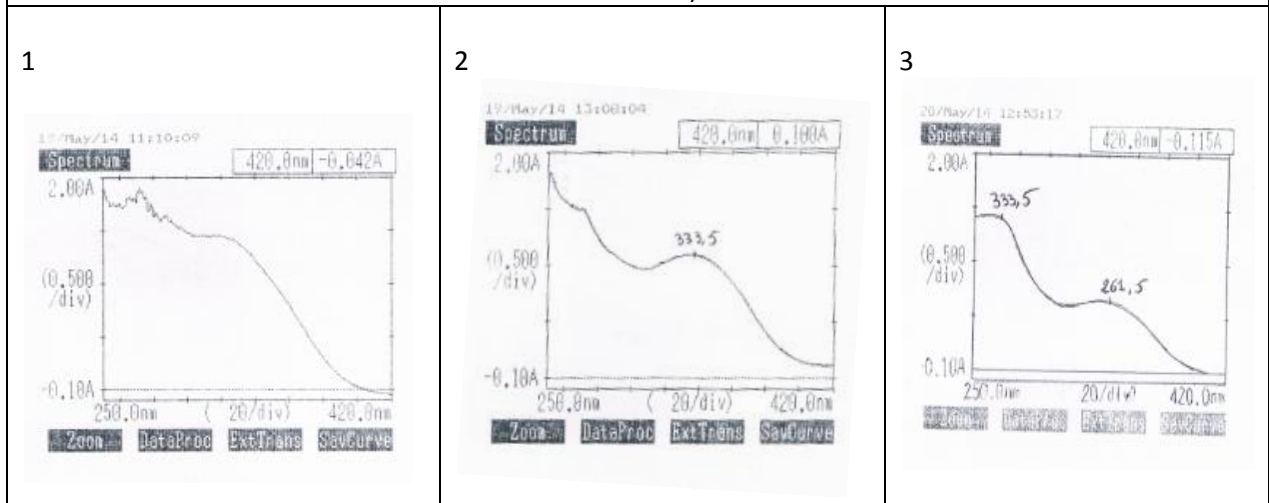
Les spectres des différentes phases du blé tendre Ain Abid (1 : éther diéthylique, 2 : acétated'éthyle, 3 : butanone)



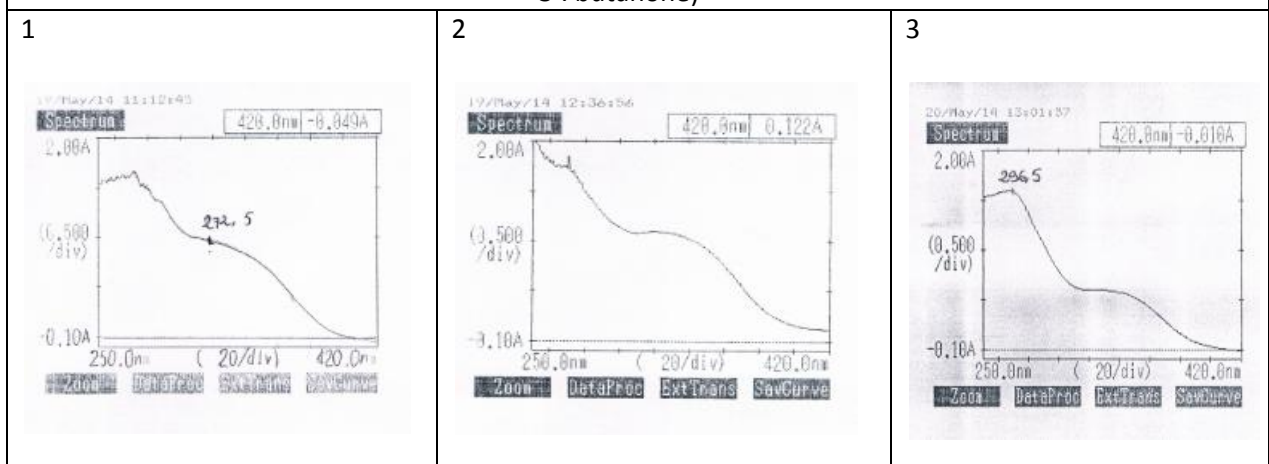
Les spectres des différentes phases du blé dure Waha (1 : éther diéthylique, 2 : acétate d'éthyle, 3 : butanone)



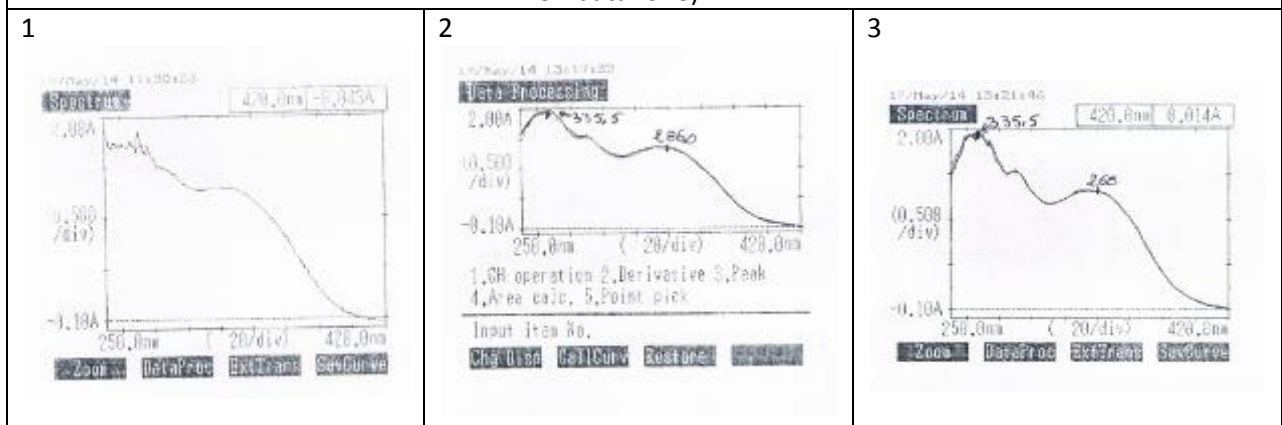
Les spectres des différentes phases du blé dure Cirta (1 : éther diéthylique, 2 : acétate d'éthyle, 3 : butanone)



Les spectres des différentes phases de l'orge Barberousse (1 : éther diéthylique, 2 : acétate d'éthyle, 3 : butanone)



Les spectres des différentes phases de l'orge Saïda (1 : éther diéthylique, 2 : acétate d'éthyle, 3 : butanone)



Nom: Rached et Mokhtari Prénom: Fatima Zohra et Wided.	Soutenu le : 23-06-2014	
Thème : Contribution à l'étude des composés phénoliques des céréales et de leur pouvoir antioxydant		
Nature du diplôme : Master 2	Option : Biochimie moléculaire et santé	
<p>Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques et la mise en évidence par les chercheurs des effets de ces molécules dans la protection et même la guérison de certaines maladies du siècle liées particulièrement au mode de vie moderne comme l'obésité le diabète, l'hypertension artérielle et même certains types de cancers a suscité l'intérêt des scientifiques sur certaines plantes riches en ces éléments, particulièrement les céréales, qui représentent la source alimentaire par excellence chez l'homme. Toutes les recherches et les études ont porté sur la graine qui est la partie de la plante la plus utilisée dans l'alimentation. Cependant ces dernières années l'intérêt s'est porté sur les autres parties de ces céréales en particulier les feuilles de ces plantes au stade herbe. Et les résultats de ces récentes recherches ont montré la richesse de ces feuilles de céréales en ces composés phénoliques, particulièrement les flavonoïdes. Pour notre part, nous avons essayé d'étudier la présence de ces molécules au niveau des feuilles de certaines variétés d'orge et de blé développés au niveau de l'institut des grandes cultures de Constantine. Les différentes analyses nous ont dégagé trois variétés très intéressantes pour la teneur de leur feuilles en flavonoïdes, une variété d'orge Saïda et deux variétés de blé Ain Abid (blé tendre) et Waha (blé dur). Les flavonoïdes identifiés sont surtout les molécules de Lutéonine et de Kaempférol, et dont les propriétés de leur pouvoir antioxydant et leur indication dans les traitements et les préventions de certaines maladies n'est plus à démontrer. C'est pourquoi nous suggérons à ce qu'on porte un intérêt particulier à ces variétés pour les destiner à un but de fabrication médicamenteuse ou à une utilisation comme compléments nutritifs.</p>		
Mots clés : Composés phénoliques, Céréales, Flavonoïdes, pouvoir antioxydant.		
Laboratoire : Laboratoire de Biochimie Micro-moléculaire & phytochimie du département des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Constantine 1.		
Les membres de jury:		
Mr GRAMA	Président	MA. Uni. Constantine 1
Mr MERGHEM R.	Directeur de thèse	Pr. Uni. Constantine 1
Mlle KLIBET F.	Examinatrice	MA. Uni. Constantine 1
Année universitaire : 2013-2014		