



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biochimie Moléculaire et santé*

Intitulé :

**Contribution à l'étude phytochimique et du pouvoir
antioxydant des feuilles de blé tendre (*Triticum aestivum*).**

Présenté et soutenu par :

Le : 21-06-2016

- DJIMLI Manal
- KOUIZA Ismahane

Jury d'évaluation :

Président du jury : KHEDARA A

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine

Rapporteur : MERGHEM R

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine

Examineur : TENIOU S

MAA. Université des Frères Mentouri Constantine

Année universitaire

2015– 2016

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah qui nous a donné la force et la puissance pour réaliser et achever ce travail dans des bonnes conditions.

*Nous avons le plaisir d'exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur **Mr MERGHEM R** professeur à l'Université des Frères Mentouri pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi de ce travail.*

*Un grand merci à **KHEDARA A** professeur à l'université Frères Mentouri, pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jury.*

*Nos profonds remerciements vont aussi à **TENIOU S** Maitre-assistante « A » à l'université Frères Mentouri, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Enfin, nous remercions toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui ma tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie **ma mère** qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

A la mémoire de mon cher Papa.

A ma tante : Lamia, Malika et ces filles Imen et Wafa

A ma cher sœur :Amina et son adorable bébé mouad .

A mon binôme :Manal qui a partager avec moi tous les moments difficiles pendant notre étude.

A mon agréable ami le plus cher et adorable : amine qui ma encouragé pendant tous mes études.

A mes chers amies : Mounia, Sara.

A mes amis d'étude que j'ai passé avec eux les moments agréables : Assia, Roumaissa, besma, Abde Raouf.

A ma belle cousine :Siham.

A chaque membre de ma famille je dédie ce travail.

Ismahane

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui ma tracé le chemin de vie, j'ai pu réaliser ce travail

que je dédié aux personnes les plus chères au monde mes chers parents :

A la lumière de mes yeux, le bonheur de ma vie ma chère mère **SALIHA** qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Sans toi rien n'aurait été possible, que Dieu puisse te préserver t'accorder te donner la santé, longue vie inchallah.

A mon cher père **AMMAR** qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements. Je ne cesserais jamais de remercier mon dieu pour m'avoir donné un père comme toi. Puisse Dieu te protéger inchallah.

À mes très chères frères : Sofien et Amine, ainsi leur femmes Djamila et Manel

Merci pour votre soutien moral.

À mes chère neveux : Bahaa Eddine et Alaa Eddine

À ma chère nièce : Aridje ayt Errahmane

À mon Binôme Ismahane (**Asma**) qui à partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.

À tous mes chers Amis : Nihed, Wafa, Hayem, Assia, Abde Raouf, Romeissa ☺

Merci pour votre soutien et votre présence à mes cotés.

Sans oublier mes collègues de la promotion 2015/2016, Master 2 biochimie Moléculaire et santé.

Manal

Sommaire.

Introduction.

Première partie : Etude Bibliographique

Chapitre I : Métabolisme secondaire

Généralité.....	01
I- Classification des métabolites secondaires.....	01
I-1- Les Molécules issues du métabolisme secondaire.....	01
II- Le rôle des métabolites secondaires.....	01
II-1- Pour l'homme.....	01
III- Utilisation des métabolites secondaires.....	01
III-1- En médecine.....	01

Chapitre II: Les composés phénoliques

I- Définition générale.....	03
II-La biosynthèse des polyphénols.....	03
III- Les principale voie de biosynthèse des poly phénols.....	03
III -1-La voie de l'acide shikimique.....	03
III-2- La voie de l'acétate malonate.....	03
IV-Classification des composés phénoliques.....	03

Chapitre III: Intérêts thérapeutiques des polyphénols

I- Les composés phénoliques et la santé.....	07
II- Action et intérêt des polyphénols.....	07
II-1- La prévention des maladies cardio-vasculaires.....	07
II-2-La prévention du cancer.....	08
II-3-Prévention des inflammations.....	08

Chapitre IV: Les céréales

Généralité sur les céréales (le blé dur, le blé tendre, l'orge).....	09
I-Les principaux groupes des céréales.....	09

II-Origine du blé tendre.....	09
II-1-Classification de blé tendre.....	09
II-2- Maladie et résistance de la variété ARZ.....	10
II-3- Maladie et résistance de la variété HIDDAB.....	10
III- Le Cycle de développement.....	10
III-1-La période végétative	10
A- Phase semis – levée.....	10
B- Phase levée tallage.....	10
C-Phase début tallage-début montaison.....	10
III-2- La période reproductrice.....	11
III.3.La période de maturation.....	11
IV- La production et la surface cultivés en Algérie.....	12
V- Biochimie des céréales.....	12

Chapitre V : Utilisation actuel de jus des feuilles de blé

I- Le jus à base des feuilles de blé tendre.....	13
II- Les principaux composants des feuilles de blé.....	13
III- Utilisation des feuilles de blé comme indication thérapeutique.....	14

Deuxième partie : Matériels et Méthodes

I- Matériel végétal.....	18
I-1- Schéma de l'expérimentation.....	18
I-2- Les feuilles de blé tendre.....	20
II- Extraction.....	21
II-1- Extraction solide - liquide.....	21
a- Extraction par macération.....	21
b- Extraction au soxhelet.....	21
II-2- Chromatographie de partage (partitions entre solvants).....	21
III- Etude phytochimique (étude quantitative).....	23

III-1- Dosage des polyphénols.....	23
III-1-1- Principe.....	23
III-1-2- Protocole.....	23
IV-Etude phytochimique (étude qualitative).....	24
IV-1- La chromatographie sur couche mince.....	24
IV-1-1- Principe de la CCM.....	24
a) La phase mobile.....	24
b) La phase stationnaire.....	24
IV-1-2- Mode opératoire.....	24
a) Préparation de plaque CCM (la phase stationnaire).....	24
b) Préparation de la phase mobile.....	24
c) Le dépôt.....	24
d) Visualisation des plaque.....	25
IV-1-3- Identification.....	25
A) Facteur de rétention R_f	25
B) Relation fluorescence-structure.....	26
IV-2- La spectrophotométrie UV-Visible.....	27
V-Activité antioxydant (antiradicalaire).....	28
a) Principe de Test au DPPH.....	29
b) Protocole.....	29

Troisième partie : Résultats et interprétations

I-Aspect quantitatif.....	30
I-1-Dosage des polyphénols totaux.....	30
II- Aspect qualitatif.....	32
II-1-Diagnostic à l'aide de la chromatographie analytique sur couche mince.....	32
II-2- L'analyse spectrale des phases.....	36
III- Le pouvoir antioxydant « Test au <i>DPPH•</i> ».....	38

III-1-Aspect qualitatif38

III-2- Aspect quantitatif.....42

Conclusion et perspective

Références bibliographiques

Annexe

Liste d'abréviation

ACD : acétate d'éthyle.

CCM : chromatographie sur couche mince.

DPPH : diphényle-picryl hydrazyl.

ED : éther di éthylique.

MEC : méthyle éthyle cétone.

Na₂CO₃ : carbonate de sodium.

RF : rapport frontale.

T : temps.

UV : ultra-violet.

Liste des figures

Figure (01) : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Akroum, 2011).....	05
Figure (02) : Le cycle de développement du blé.....	11
Figure (03) : Exemple de l'herbe de blé en comprimé et en poudre.....	15
Figure (04): les principales étapes pour l'obtention de la poudre végétale.....	20
Figure (05): La courbe de croissance des feuilles de blé tendre en fonction des jours.....	20
Figure(06): Protocole d'extraction des flavonoïdes (Merghem R., 2009).....	22
Figure(07): mode de dépôt pour un CCM.....	25
Figure(08) : Le rapport frontale.....	26
Figure(09) : réaction de test DPPH• (2,2 diphenyl 1 picryl hydrazyl), (Congo, 2012).....	29
Figure (10) : la courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	30
Figure(11) : La concentration des phénols totaux et leur écart type de deux variétés de blé tendre	31
Figure (12) : CCM analytique représentative des flavonoides de blé tendre	33
Figure (13): Les spectres UV de la phase éther diéthylique des feuilles de blé tendre.....	36
Figure (14) : Les spectres UV de la phase acétate d'éthyle des feuilles de blé tendre.....	36
Figure (15) : Les spectres UV de la phase MEC(Butanone) des feuilles de blé tendre.....	37
Figure (16) : Les spectres UV de la phase eau résiduelle des feuilles de blé tendre.....	37
Figure (17) : Résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant de différentes phases des variétés	39
Figure(18): Histogramme Le pourcentage du pouvoir antioxydant des phases de la variété ARZ.....	40
Figure(19): Histogramme de pourcentage du pouvoir antioxydant des phases de la variété HIDDAB	40
Figure(20): Comparaison entre les phases des variétés ARZ et HIDDAB.....	40

Figure (21) : Résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant chez deux variétés de blé tendre.....	41
Figure(22): Histogramme de pourcentage du pouvoir antioxydant.....	42
Figure (23) : Diagnostic par CCM des différentes phases et leurs spectres d'absorptions de la variété HIDDAB.....	43
Figure (24) : Diagnostic par CCM des différentes phases et leurs spectres d'absorptions de la variété ARZ	44

Liste des tableaux

Tableau (01) : principales classes des composés phénoliques selon le nombre de carbone (Harborne, 1980; Macheix <i>et al.</i> , 1990).....	06
Tableau(02) : Les composés phénoliques contenant dans les graines de blé.....	16
Tableau(03) : Les Flavonoïdes contenant dans les feuilles de blé.....	16
Tableau (04) : les espèces de blé étudié.....	18
Tableau (05): Les dates et le poids des variétés étudiés.....	18
Tableau(06) : Relation entre Rf- Structure flavonique (Akroum S., 2011).....	26
Tableau (07) : Détermination de la structure des flavonoïdes par l'interprétation de leurs Fluorescences (Lahouel M., 2005).....	27
Tableau (08): Principales caractéristiques des spectres UV-visible des classes flavonique (Markham et Chari, 1982).....	28
Tableau(09) : Concentration des phénols totaux de la variété ARZ.....	30
Tableau(10): Concentration des phénols totaux de la variété HIDDAB.....	31
Tableau(11): Concentration des phénols totaux de la variété ARZ et HIDDAB	31
Tableau (12) : Comportement chromatographique des phases.....	34

Introduction

Au cours de ces dernières années, les études ont montré la grande richesse de l'alimentation en composés antioxydants représentés par les molécules de composés phénoliques. Grâce à leur rôle d'antioxydants naturels ils ont un intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires. (**Vârban et al, 2009**).

Ils sont également utilisés dans l'industrie agroalimentaire qui joue un rôle dans le domaine de la sécurité et la qualité sensorielle des aliments ; pharmaceutique comme la fabrication et commercialisation des médicaments ; cosmétique telles que les produits de beauté, parfums, produits d'hygiène. (**Suhaj, 2006**).

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des composés naturels. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (feuilles, grains etc...) et ont une grande importance notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Kœchlin-Ramonatxo, 2006**).

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est maintenant remise à cause des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont très recherchées (**Suhaj, 2006 ; Tadhani et al, 2007**).

Des recherches scientifiques ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir des différentes sources telles que les cultures agricoles et horticoles ou les plantes médicinales (**Huang et al, 2005 ; Sanchez-Moreno, 2002**).

L'intérêt est porté dans un premier temps sur les grains de blé en rapport à leur utilisation exclusive dans l'alimentation, mais actuellement l'intérêt est porté sur les feuilles de ces céréales.

Les études ont montré la richesse des feuilles de certaines espèces de céréales en ces composés phénoliques avec leur grand pouvoir antioxydant (**Bellebcir L., 2008**).

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

Notre travail porte sur l'études quantitative et qualitative des feuilles de deux variétés de blé tendre (*Triticum aestivum*) qui sont ARZ et HIDDAB, afin de dévoiler la richesse de ces feuilles en composés phénoliques et de tester leur pouvoir antioxydant in vitro. Le travail est réalisé au niveau du laboratoire de biologie Micromoléculaire et Phytochimie de l'Université frères Mentouri Constantine.

Première Partie:

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Métabolisme secondaire

Généralités

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante qui n'est pas encore parfaitement élucidé.

Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'ils n'entre pas dans le métabolisme générale (primaire), ce sont des métabolites secondaires, qui n'exercent aucune fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétale (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétale lui – même, rôle de défense, rôle de résistance (Merghem, 2009).

I- Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité des composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003).

I-1-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, interaction symbiotiques...), et dans ses mécanismes de défense (interaction biotiques et abiotiques).

II- Le rôle des métabolites secondaires

II-1- pour l'homme

Les métabolites secondaires des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Ces composés sont en grande mesure illustrés en thérapeutique (Bahorun, 1997).

III- Utilisation des métabolites secondaires

III-1- En médecine

Les métabolites secondaires qui font la base des remèdes pour l'homme :

- En urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, sommeil et désordre nerveux.

- Systèmes cardiovasculaires.
- Drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoire.
- Contre le diabète.
- Les maladies du stress : ces métabolites ont une activité antioxydante tels le thé noir le thé vert, le cacao sont riches en composés phénoliques parmi lesquels le résvératrol et la procyanidine (Lee et al, 2005)

- Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire : depuis des périodes très anciennes ces substances naturelles ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques tels :
 - la quinine obtenue à partir du quinquina "*Cinchona*" a été avec succès employée pour traiter la malaria,
 - l'arbre de thé (*Melaleuca alternifolia*) est renommé aussi pour ses propriétés : anti-infectieux, antifongiques, mais aucune plante n'est aussi efficace que les médicaments antirétroviraux pour arrêter la réplication du VIH (Mohammedi, 2006).

D'après (Isanh, 2006), ils sont également utilisés comme additifs pour :

- **L'industrie agroalimentaire : Berset et Bondini, (2000)** posent le problème de la place des polyphénols dans l'alimentation et soulignent leurs différentes fonctionnalités :
 1. Action sur la qualité sensorielle des aliments, flaveur, saveur et couleur.

Les épices et les herbes aromatiques contenant des diverses métabolites sont utilisées dans l'alimentation sont pour une bonne part responsable des plaisirs de la table, considérées comme condiments et aromates, ont été restés très liée à leurs propriétés organoleptiques. Mais également ces métabolites trouvent leurs utilisation comme suppléments diététiques (Mohammedi, 2006).

2. Action dans le domaine de la sécurité des aliments, rôle antibactérien et anti radicaux libre.
 3. Action sur l'amélioration de la santé publique, avec des implications possibles dans la lutte contre les pathologies dégénératives.
- **L'industrie Pharmaceutiques** : fabrication et commercialisation des médicaments pour la médecine humaine ex : Daflon, Cyclo 3 fort, Endotelon ... etc.
 - **L'industrie cosmétique** : les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes sur la santé et la beauté de la peau (Hannebelle et al, 2004).

Chapitre II: Les composés phénoliques

I- Définition générale

Les polyphénols constituent une famille des 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 des plantes. (Stanley et al, 2003).

II-La biosynthèse des polyphénols

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 Nunes X et al, 2012).

III- Les principales voies de biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques :

III -1-La voie de l'acide shikimique : conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples.

III-2- La 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, 2009). Voir **figure (01)**

De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques, due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée de deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, « les flavonoïdes » (Martin S et Andrant sitohaina R., 2002).

IV-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 C6 à des formes polymérisées)
- Les degrés de modification de ce squelette (degré 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 classes :

- Les acides benzoïques, les acides cinnamiques et les coumarines.
- Les flavones, flavols et dérivés voisins.
- Les chalcones, dihydrochalcones et auronnes.
- Les anthocyanes.

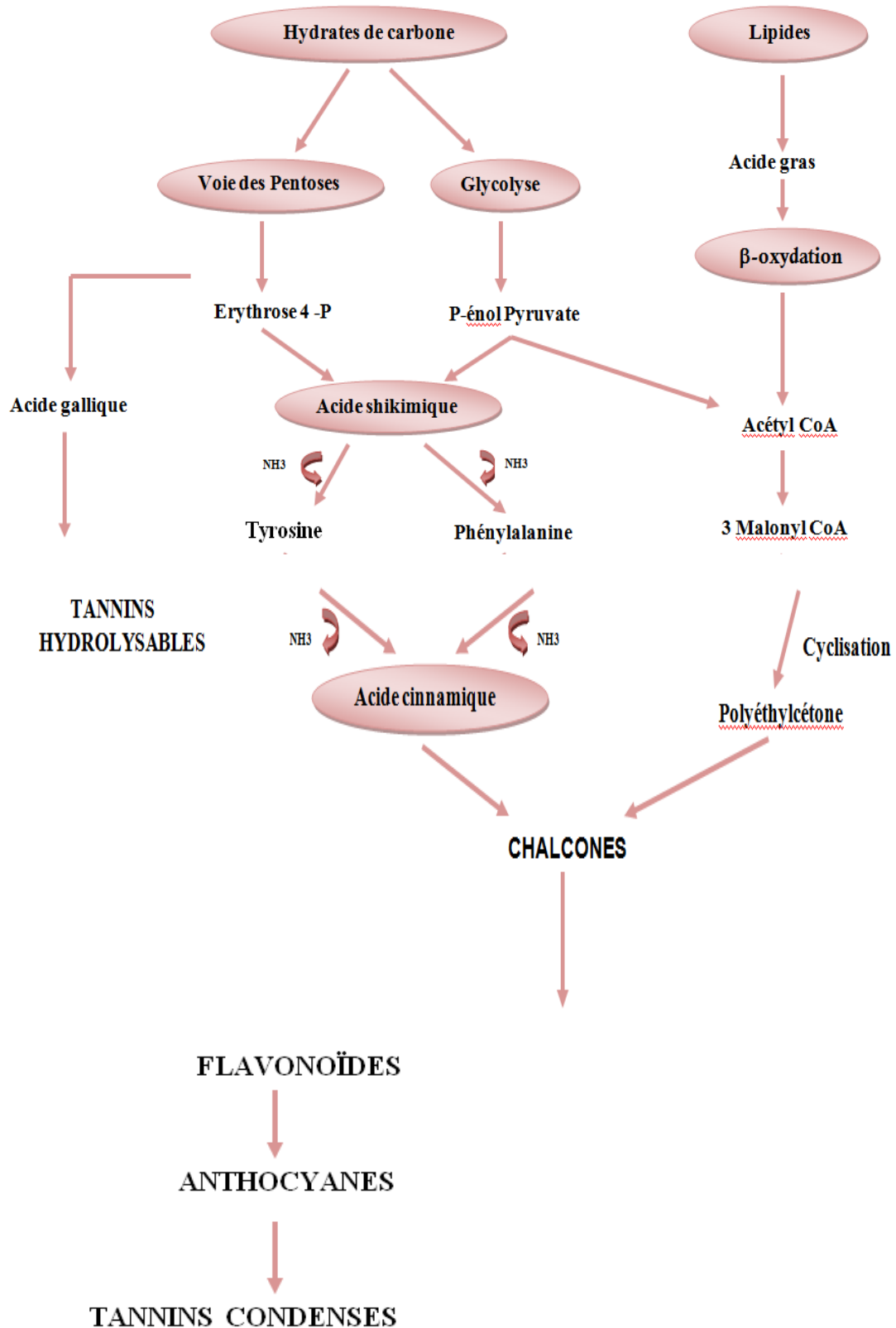


Figure (01) : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Akroum, 2011).

Tableau (01) : principales classes des composés phénoliques selon le nombre de carbone(Harborne, 1980; Macheix *et al.*, 1990)

Nombre de C	Classe	Exemple/origine
C6	Phénols simple	Hydroquinone, catéchol
C6-c1	Acide phénols	Acide salicylique acide p (oh) benzoïque
C6-c3	Acide cinnamique Coumarines	Acide caféique et férulique (café, pomme) esculétine, scopolétine (citron); eugénol (géroflier)
(C6-c3)2	Lignane	Pinorésinol (pin)
(C6-C3)n	Lignine	Bois, noyau des fruits
C6-c3-c6	Flavonoïdes isoflavonoïdes anthocyanes	Apégenine, lutéoline, quercétine (fruits) Pélagonidine, delphénidine et cyanidine
(C6-c3-c6)2	Bi flavonoïdes	Amentoflavone
(C6-C3-C6) n	Proanthocyanes	Procyanidines, prodelphinidines (raisin rouge)

Chapitre III : Intérêts thérapeutiques des polyphénols

I- les composés phénoliques et la santé

L'organisme humain ne peut pas assurer la biosynthèse de tous les antioxydants en particulier ceux de nature phénolique, l'ingestion des polyphénols dans la ration journalière est un facteur nutritionnel important. les composés phénoliques sont présents dans plupart des organes végétaux : graines (soja, moutard , riz ,café ,cacao) fruits (raisin , citrus, olive) feuilles (thé ,nombreuse épices, romarin ,thym) ou autre organes (oignon , jeune germination de blé et d'avoine , patate douce) ils se trouvent plus au moins transformés dans les produits industriels issus de ces végétaux : jus de fruits, bière, vin, thé, chocolat, huile d'olive et dérivés des céréales . (Macheix et al., 2005).

II- 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 , infection, etc.) qui favorisent le vieillissement cellulaire ingéré avec nos aliments , ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires (lipides et autres macromoléculaires) contre le stress oxydant et préviendrait ainsi les divers 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 œstrogènes 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 femme ménopausée) (Arnaud B et Martine L., 2001)

II-1- La prévention des maladies cardio-vasculaires

La consommation des polyphénols 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 de lipoprotéines de faible densité (low Density Lipoprotéins ou LDL) qui est l'un des facteurs clé du processus physiologique de l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguin et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués).

Les polyphénols :

1. agissent pour inhiber l'oxydation des LDL par l'augmentation de la vasodilatation.
2. 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.
3. 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 au 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 risque d'athérosclérose (**Arnaud B et Martinel, 2001**).

II-2-La prévention du cancer

Parmi les propriétés biologiques intéressantes des polyphénols, la prévention du cancer.

En effet, un certain nombre de recherches menées *in vitro* et *in vivo* ont montré que les polyphénols pourraient être utilisés comme des agents de prévention des différentes maladies cancéreuses (**Stagos et al., 2012**).

De nombreuses études ont montré que trois types de cancers (sein, prostate et digestif) peuvent être fortement influencés par l'alimentation notamment l'apport en lipides et en antioxydants.

II-3-Prévention des inflammations

L'inflammation est la réponse principale de l'organisme à une agression et est précisément régulée afin de limiter les atteintes possibles des structures de l'organisme.

Cependant, une régulation inappropriée de ce phénomène peut conduire à un état inflammatoire chronique. La plupart des pathologies chroniques possèdent des composées inflammatoires. C'est le cas de l'obésité, du diabète de type II, des maladies cardiovasculaires et du cancer.

Les différentes études menées sur les effets protecteurs des polyphénols dans ces contextes pathologiques ont montré que ceux-ci diminuaient les marqueurs de l'inflammation et agissaient sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation.

Autres études menées chez l'homme sain ont montré que le suivi d'un régime riche en fruits et légumes était inversement corrélé aux marqueurs de l'inflammation dans le plasma, et que la consommation d'anthocyanes était associée à la diminution du taux de cytokines circulantes (**Lenoir, 2011**).

Chapitre IV: Les céréales

Généralité sur les céréales (le blé dur, le blé tendre, l'orge)

I-Les principaux groupes des céréales

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.

Les céréales contiennent plusieurs espèces, parmi ces dernières le blé et l'orge :

Il existe deux espèces très connues du blé : le blé dur et le blé tendre, en terme de comportement agronomique, le blé dur présente quelques différences par rapport au blé tendre, notamment un grain riche en albumen (vitreux) qui lui confère un rendement en semoule très largement supérieur, ce qui explique ses débouchés alimentaires.

Il existe plus de vingt mille variétés de blé et chaque année des centaines de nouvelles sont créées. Selon qu'il s'agisse du blé d'hiver ou de printemps, le cycle de culture varie, dans l'hémisphère nord, le premier est planté de septembre à novembre, voire décembre, et récolté à compter du mois de juin, pour le second, le semis se fait au cours du printemps (mars – avril) et récoltés vers la fin de l'été ou le début de l'automne (août, septembre et octobre). Le choix d'une bonne variété de blé, de technique qui permettent d'optimiser l'utilisation des ressources hydriques et minérales, la lutte contre les maladies et les mauvaises herbes permettent d'obtenir des rendements importants. (**Hadria, 2006**).

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) C'est une plante annuelle autofécondée, très semblable au blé dans la morphologie de ces organes végétatifs et floraux.

D'après (**Benhacine, 2007**). L'orge est caractérisée par ses épis aux longues barbes, chaque épi comporte deux épillets par nœud, chaque épillet d'orge produit une seule fleur fertile. Le grain d'orge est de forme elliptique et de couleur blanc laiteux, il peut aussi être de couleur noire ou pourpre.

II-Origine du blé tendre

II-1-Classification de blé tendre

Familles	Triticum.
Espèce	<i>Triticum aestivum</i> .

II-2- Maladie et résistance de la variété ARZ

Rouille jaune	: résistante
Septoriose	: moyennement sensible
Fusariose	: moyennement sensible

II-3- Maladie et résistance de la variété HIDDAB

Rouille jaune	: très sensible
Rouille brune	: moyennement sensible
Rouille noire	: moyennement sensible
Septoriose	: moyennement sensible
Fusariose	: moyennement sensible

III- Le Cycle de développement

III-1-La période végétative

Qui s'entend de la germination au tallage. Cette période elle – même est subdivisé en trois stades principaux :

A- phase semis – levée

Elle début par le passage du grain de l'état de vie ralentie à l'état de vie active au cours de la germination, qui se traduit par l'émergence de la radicule et des racines séminales et celle de la coléoptile.

Dès que la première feuille a percé la coléoptile, ce dernier s'arrête de croître et se dessèche (**Heller, 1982; Boufenar et al, 2006**). La réalisation de cette phase est sous la dépendance de facteurs propres à la semence (faculté et énergie germinatives) et des facteurs extérieurs (température et humidité du sol).

B- Phase levée tallage

La première feuille fonctionnelle s'allonge, puis la deuxième, jusqu' la quatrième toute en position alterne .celles –ci, imbriquées les unes dans les autres, partant toutes d'une zone située au proche de la surface de sol appelée plateau de tallage, constituées par l'empilement d'un certain nombre d'entre-nœuds et reliées à la semence par le rhizome (**Clément, 1981**).

C-Phase début tallage-début montaison

Elle se caractérise par l'entrée en croissance des bourgeons différenciés à l'aisselle de la première feuille, dont le bourgeon donnera le maitre brin. Le nombre de talles émises par plante est fonction de l'espèce (l'orge talle beaucoup plus que le blé tendre), de la variété, du climat, de l'alimentation de la plante en azote, de la profondeur de semis (**Soltner, 1990**).

III-2- La période reproductrice

Selon (Boufenar et al, 2006), Le début de cette phase est marqué par une différenciation de l'ébauche d'épillet sur l'apex (stade A), ce stade marque la transformation du bourgeon végétatif en bourgeon floral.

Le stade B est repéré par l'apparition de deux renflements latéraux qui apparaissent sur l'épillet, ce sont les ébauches des glumes. Dès le début de la montaison, on assiste à une différenciation des pièces florales : glumelles (inférieure et supérieure), organes sexuels (étamines et stigmate), et en parallèle, la tige et l'inflorescence s'allongent. Les apex des talles différencient des ébauches d'épillets puis des pièces florales et montent. C'est le tallage épi au stade gonflement, l'inflorescence monte en grossissement dans les gaines des différentes feuilles. Ainsi, la graine de la dernière feuille : c'est stade épiaison. La fécondation et l'anthèse suivent de quelque jour l'épiaison.

III-3-La période de maturation

Au cours de cette dernière période, l'embryon se développe et l'albumen se charge de substances de réserves.

On observe une augmentation du volume et du poids des gains. La phase se termine par le stade laiteux (le grain s'écrase facilement en laissant apparaître un liquide blanchâtre). Ensuite, le poids frais des grains continue à augmenter alors que celui des tiges et des feuilles diminue. La phase se termine par le stade pâteux. Le grain à ce stade s'écrase en formant une pâte. Enfin, le grain devient dur et de couleur jaunâtre. C'est le stade de la maturation physiologique (Boufenar et al, 2006).

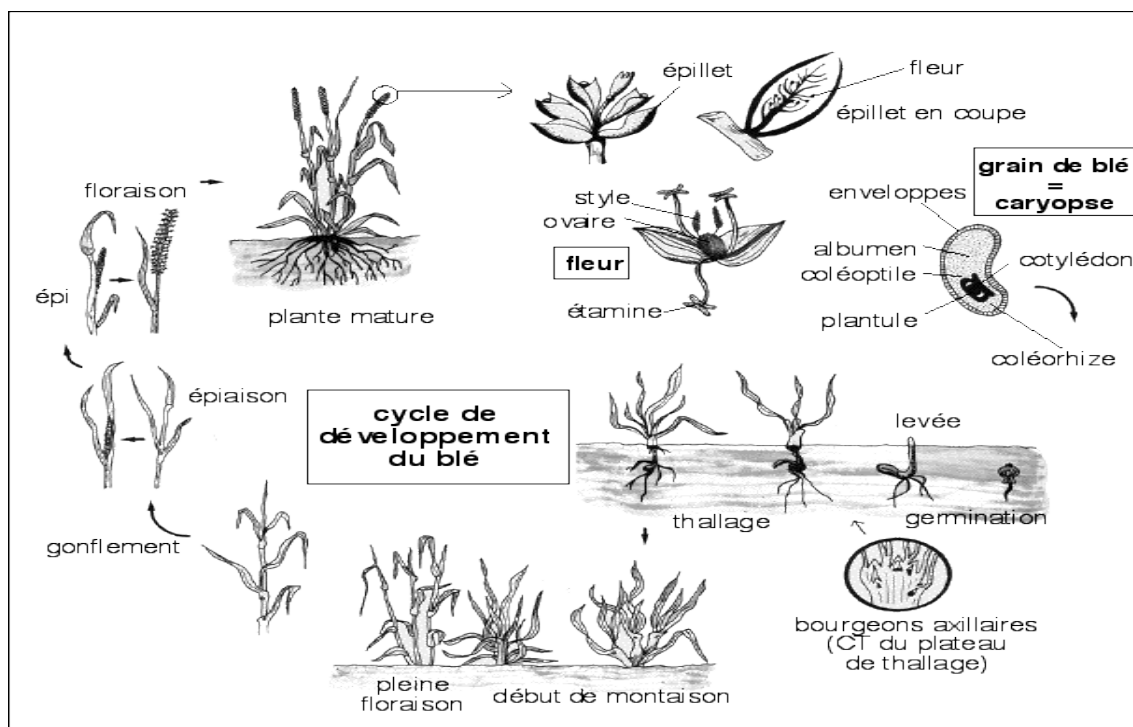


Figure (02) : Le cycle de développement du blé.

IV- La production et la surface cultivée en Algérie

✘ La production

La production céréalière algérienne sera limitée à 49 million 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, où la récolte a été faible (Djermoun, 2009).

✘ La surface cultivée

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).

V-biochimie des céréales

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

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 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 et elles sont également présentes dans l'endosperme.

❖ 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).

Chapitre V : Utilisation actuel de jus des feuilles de blé

I- Le jus à base des feuilles de blé tendre

L'herbe de blé se réfère à la jeune pousse du blé (*Triticum aestivum*) qui est fraîchement pressée ou séchée pour la consommation humaine ou animale.

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).



II- Les principaux composants de l'herbe de blé :

A- Les vitamines

Les vitamines rencontrées celles du groupe B et la vitamine E.

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

B- Les acides aminés

Les principaux acides aminés contenus dans l'herbe de blé sont : lysine, isoleucine, leucine, tryptophane phényl -Alanine, valine, méthionine.

C- Les enzymes

La présence de certaines enzymes qui neutralisent la toxicité de composés de nitrogène trouvés dans les gaz d'échappement des automobiles, induit l'existence de deux types qui sont :

- Enzymes endogènes.
- Enzymes exogènes (herbe de blé, légumes frais).

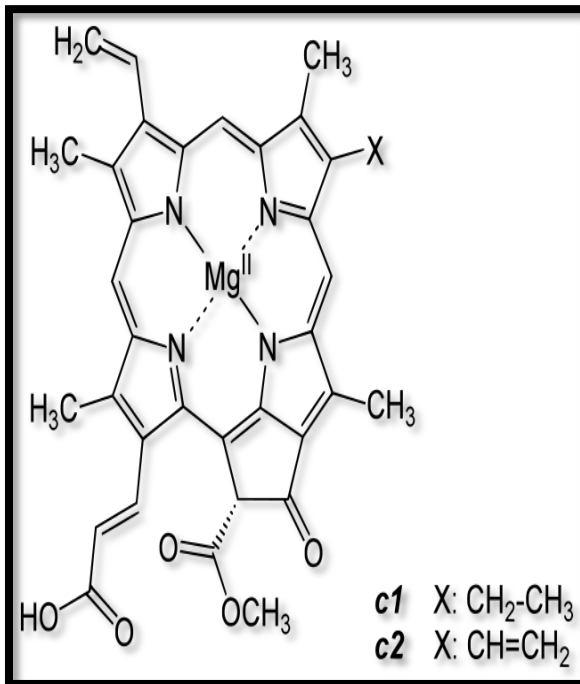
D-La chlorophylle

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 de la vitamine B17. Cette substance anti-tumorale bien connue est à la pointe des thérapies naturelles depuis des années.

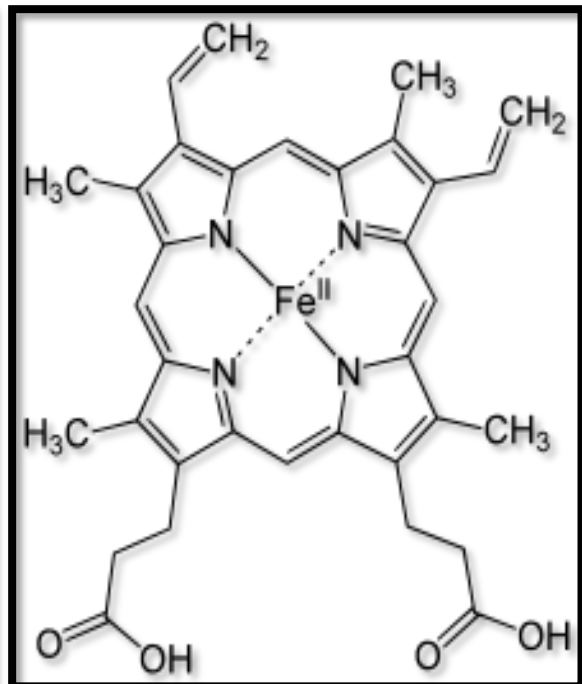
E- Les sels minéraux

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.

✓ Structure de la chlorophylle et de l'hémoglobine :



La chlorophylle



l'hémoglobine

III- Utilisation des feuilles de blé comme indication thérapeutique

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

1. Dans le renforcement du système immunitaire et amélioration de l'état de santé.
2. Dans la régulation sanguine comme détoxifiant polyvalent.
3. Dans la réparation des molécules d'ADN et des cellules reproductrices.
4. 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 (brûlures etc...).



Figure (03) : Exemple des feuilles de blé en comprimé et en poudre.

- ❖ La présence des composés phénoliques au niveau des grains et des feuilles, mentionné dans les tableaux suivants. **Tableau (02 et 03)**

Tableau(02) : Les composés phénoliques contenant dans les graines de blé

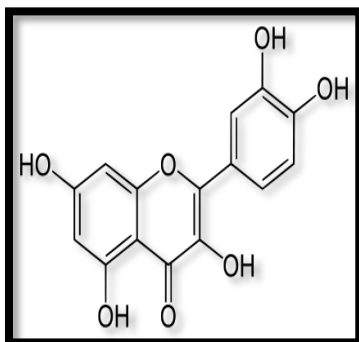
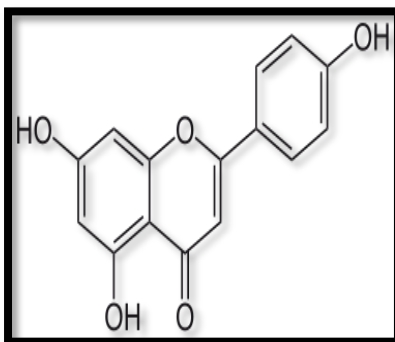
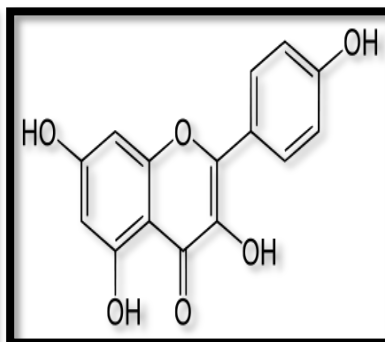
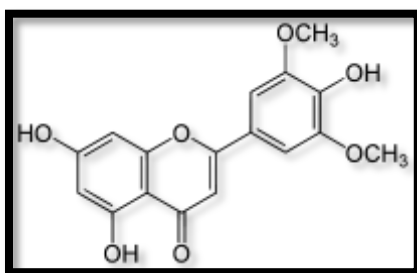
Composés phénoliques dans les graines des céréales (acide phénoliques)	Auteurs
Protocatéchique	Mattila et al, 2005
P-Hydroxybenzoïque	Suba et al, 2002
Caféique	
Salicylique	Kim et al, 2006
Vanilique	Zhoo et al, 2004
Férulique	Andreasen et al, 2000

Tableau(03) : Les Flavonoïdes contenant dans les feuilles de blé

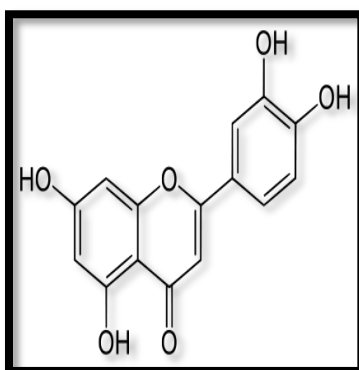
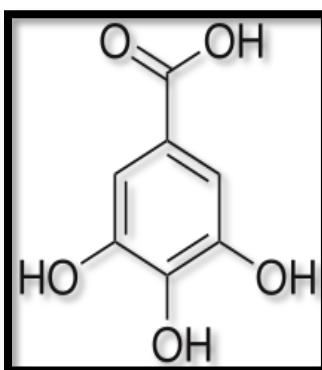
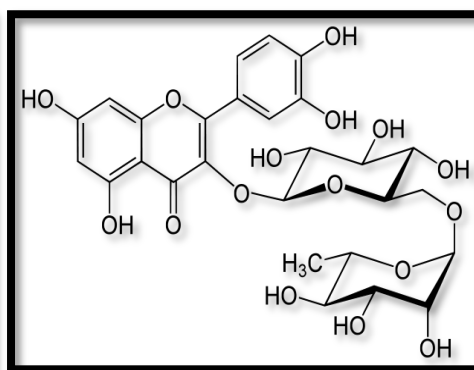
Flavonoïdes	Auteurs
Apigénine	Peterson, 2001
Lutéoline	
Tricine	
Kaempférol	

- L'apégénine, lutéoline et Tricine ce sont des flavones.
- Kaempférol est un flavonol.

- Quelques structures des composés phénoliques

**Apigenine****Lutéoline****Kaempférol****Tricine**

- Les structures des témoins utiliser dans le teste DPPH. .

**Quercétine****Acide gallique****La rutine**

Deuxième Partie:

Matériel ET méthodes

Matériel et méthodes

Nous avons réalisé ce travail au niveau du laboratoire de biologie Micromoléculaire et Phytochimie à l'Université Frère Mentouri Constantine.

L'analyse phytochimique consiste d'abord à la mise en évidence des composés phénoliques par des dosages caractéristiques qui confirment leur présence dans le végétal étudié.

I- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude vise l'étude de deux variétés des feuilles de blé tendre voire **tableau (04)**.

Tableau (04) : Les espèces de blé étudié.

Variété	Espèce
Blé tendre (<i>Triticum aestivum</i>).	HIDDAB
	ARZ

I-1- Schéma de l'expérimentation

Tableau (05): Les dates et le poids des variétés étudiés.

Variété de blé tendre Le poids en (g)	ARZ	HIDDAB
Le poids des grains	50 g	
Le poids frais des feuilles et la date de pesé	254,6 g	181,8 g
	Le : 12 avril 2016	
Le poids sec des feuilles et la date de pesé	41,4 g	28,6 g
	Le : 14 avril 2016	
Le poids sec finale des feuilles et la date de pesé	34,7 g	25,5 g
	Le : 17 avril 2016	

L'humidité est mesurée par la formule suivante :

$$H\% = ((P1 - P3) / (P2 - P1)) \times 100.$$

H% : humidité en (%).

P1 : masse en gramme de la vase tare.

P2: poids de la tare avec échantillon avant séchage.

P3 : poids constant après séchage multiple.

- **Taux d'humidité de la variété (ARZ)**

$$H\% = ((50 - 34,7) / (254,6 - 50)) \times 100$$

$$H\% = 7,48 \%$$

- **Taux d'humidité de la variété (HIDDAB)**

$$H\% = ((50 - 25,5) / (181,8 - 50)) \times 100$$

$$H\% = 18,59\%$$

Taux de matière sèche (%) = **100** – taux d'humidité

✓ **ARZ** :

$$100 - 7,48 = 92,52\%$$

✓ **HIDDAB** :

$$100 - 18,59 = 81,41\%$$

I-2- Les feuille de blé tendre

Nous avons semé les graines de deux échantillon (ARZ et HIDDAB) le 09 mars 2016 , dans des pots rectangulaires installés dans la serre au Bio pole à Chaabet Erssas Université Mentouri Constantine (**figure 04 ,A**)

L'arrosage est entrepris régulièrement deux fois par semaine jusqu'a ce que les plantes atteignent une hauteur de 20 cm (**figure 04, B**)

Le 12 avril 2016 nous avons procédé à la récolte qui consiste à couper toute la partie aérienne et on laisse sécher à l'air libre puis broyer à l'aide d'un mortier et un bras électrique jusqu' à l'obtention d'une poudre moyennement fine.



Figure (04) : Les principales étapes pour l'obtention de la poudre végétale.

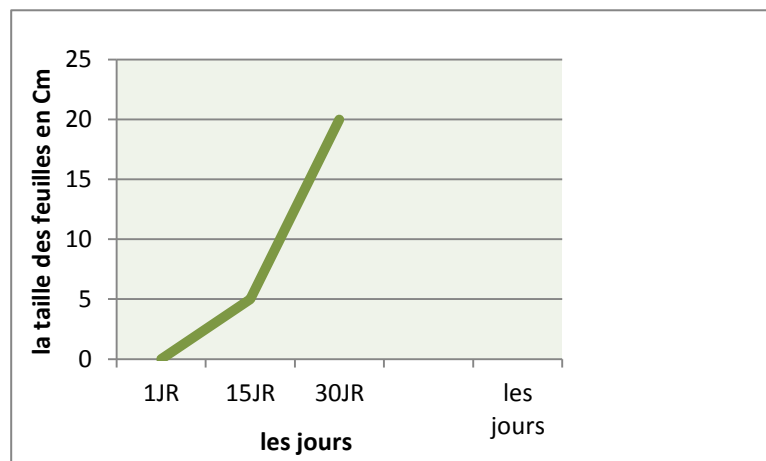


Figure (05) : La courbe de croissance des feuilles de blé tendre en fonction des jours.

Après l'obtention de la matière végétale, on a pesé **1 g** de chaque variété pour étude quantitative (Dosage des polyphénols) et **20 g** pour étude qualitative (extraction, identification et séparation des composés phénoliques).

II- Extraction

II-I Extraction (solide - liquide)

Dans notre étude nous avons appliqué deux méthodes d'extraction solide – liquide

a- Extraction au Soxhlet

L'extraction de 1 g de l'échantillon de blé a été préparée à l'aide d'un soxhlet.

1 g des feuilles de blé broyé à l'aide d'un mortier, extrait dans une 500 ml d'une solution éthanolique. le matériel végétal est placé dans une cartouche qui sera exposée au solvant d'extraction à une température d'évaporation, après environ une heure et demi d'extraction, la cartouche est retiré et le solvant chargé d'extrait de la variété est récupéré pour être évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif à 80 ° c.

b- Extraction par macération

La matière végétal de poids 20 g déjà coupée en petits morceaux, elle est macérée dans un mélange d'éthanol / eau distillée (v / v) = (50 / 50).

On laisse le mélange macéré à l'air libre pendant 72 heures successifs avec renouvellement du solvant une fois chaque 24 h avec filtration, les filtrats hydro alcoolique obtenus sont évaporés a l'aide d'un évaporateur rotatif à 80 ° c.

II-2- Chromatographie de partage (partitions entre solvants)

Les extraits obtenus sont affrontés par divers solvants organiques du moins polaire au plus polaire. les affrontements conduisent à l'obtention de quatre phases : phase éther de pétrole, phase (ED), phase (ACD), phase (MEC), **figure (06)**.

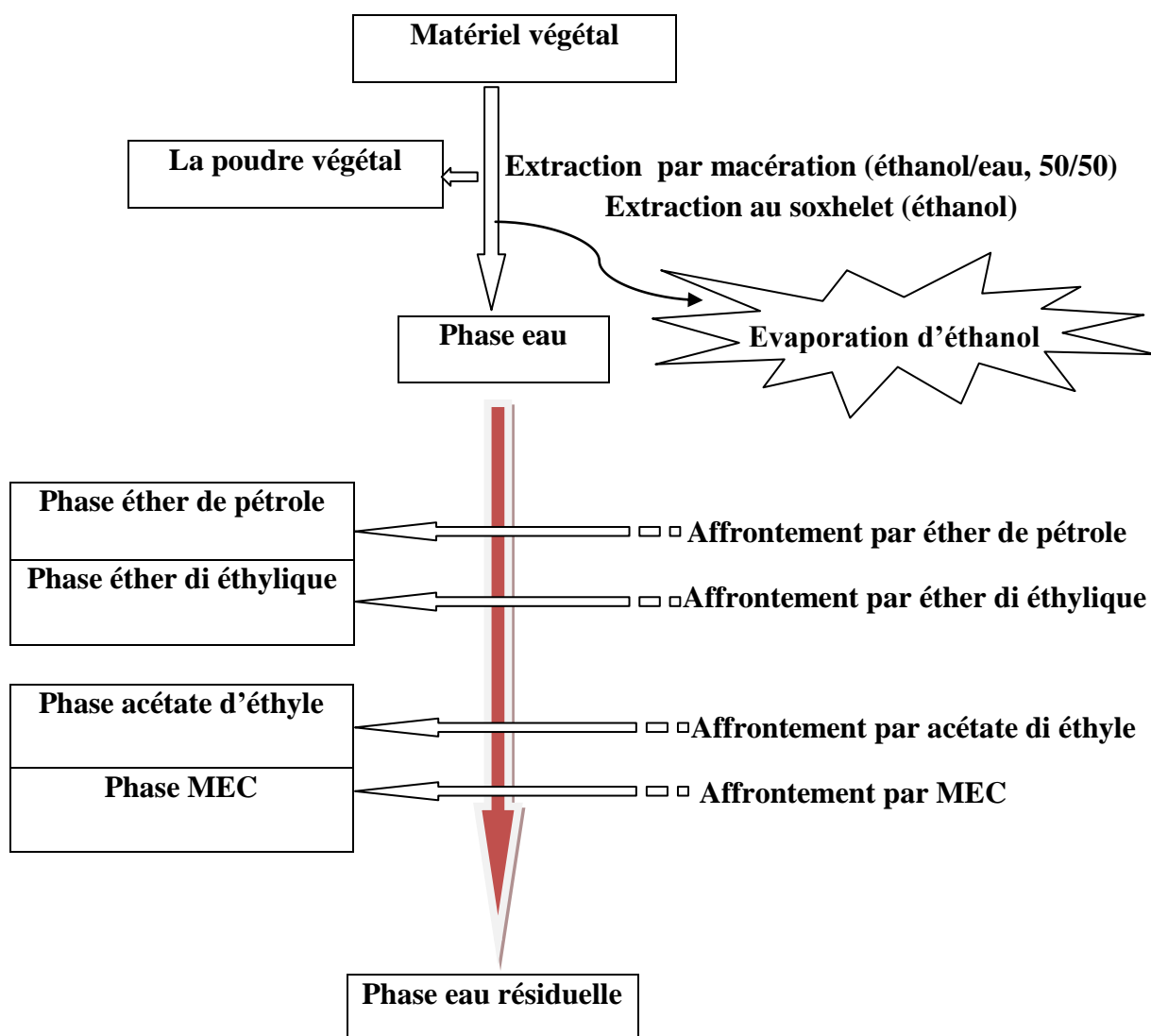
- ✚ **Affrontement avec éther de pétrole** : élimine les pigments chlorophylliens, caroténoïdes et lipides ; tous composés non phénoliques.
- ✚ **Affrontement avec éther diéthylique** : solvant préférentiel des composés simples tel que les acides phénols et les flavonoïdes.
- ✚ **Affrontement avec acétate d'éthyle** : cette extraction entraîne les mono-o-glucosides et partiellement les di-o-glucosides.
- ✚ **Affrontement avec méthyl – Ethyle – cétone (Butanone)** : ce solvant va entraîner essentiellement le reste des di-o-glucosides, les tri-o-glucosides et les c-glycosides.

Ces affrontements se font dans des ampoules à décanter. On verse 150 ml de l'extrait et on ajoute 100 ml de solvant, les deux sont mélangés énergiquement en laissant sortir à chaque fois les gaz des produits.

Après un repos d' une heure et demi a l'expitionnement du la phase (MEC) qu'on a laissé reposer pendant une nuit ,on récupère séparément le solvant utilisé chargé de ses composés spécifiques (en haut) et la phase eau (en bas) .

La phase éther de pétrole ne renfermant pas des composés phénoliques donc elle est rejetée .et les autres phases (ACD et MEC) sont évaporés à sec à température 80 ° c à l'expition le solvant dans la phase éther diéthylique s'évapore a l'aire libre (**Merghem R., 2009**).

La récupération des résidus est effectuée par 4 à 5 ml de méthanol.



Figure(06) : Protocole d'extraction des flavonoïdes (**Merghem R., 2009**)

III- Etude phytochimique (étude quantitative)

III-1- Dosage des polyphénols

Parmi les méthodes de quantification des composés phénoliques, la méthode la plus utilisée préférentiellement, le dosage utilisant le réactif de Folin – Ciocalteu.

III-1-1- Principe

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'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise à 765 nm est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux

III-1-2- Protocole

Le dosage des phénols totaux s'effectue par le Folin –Ciocalteu selon la méthode de **Zhu K.X., 2011** :

- ✚ 1 ml d'extrait.
- ✚ 5 ml de réactif de Folin –ciocalteu.
- ✚ Après 10 minutes, 2 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3).
- ✚ Après 30 minutes d'incubation à une température ambiante, l'absorbance du mélange est lue à 765 nm avec un spectrophotomètre UV.

La méthode de **Zhu K.X., 2011** est modifiée dans le laboratoire des micromoléculaires et Phytochimie de l'université frères Mentouri Constantine selon le protocole suivant :

- ✚ 1 ml d'extrait.
- ✚ 0,2 g acide gallique
- ✚ 20 ml éthanol
- ✚ 5 ml de réactif de Folin –ciocalteu diluée (1/10)
- ✚ Après 10 minutes, 2 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20%
- ✚ Après 25 minutes d'incubation à une température ambiante, l'absorbance du mélange est lue à 765 nm avec un spectrophotomètre UV.

La courbe d'étalonnage est effectuée par une solution mère de l'acide gallique (0.2 g /ml) à différentes concentration : 100 %, 80% ,60%,50% ,30%,10%, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage.

IV-Etude phytochimique (étude qualitative)

IV-1- La chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une chromatographie analytique qui permet d'identifier les composants d'un mélange.

IV-1-1- Principe de la CCM

La séparation des constituants du dépôt se fait dans une cuve ; c'est un récipient en verre à l'aide de deux phases :

a) **La phase mobile** : c'est l'éluant. Il est composé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvant.

b) **La phase stationnaire** : est un adsorbant maintenu sur plaque de verre.

IV-1-2- Mode opératoire :

a) Préparation de plaque CCM (la phase stationnaire)

La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques pré-étalées de gel de polyamide (DC6), ces dernières sont préparées de poudre de polyamide et d'éthanol, après étalement du gel sur des plaques en verre (20*20) et séchage, la phase stationnaire sera prête à l'utilisation.

b) Préparation de la phase mobile

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organiques, ils excitent plusieurs systèmes solvant utilisés pour la CCM de gel de polyamide.

Les systèmes essayés :

- ✓ Toluène /Méthyl éthyle cétone /éthanol /éther du pétrole : 40/30/30/5.
- ✓ Toluène /Méthyl éthyle cétone /méthanol /éther du pétrole : 40/30/30/5.

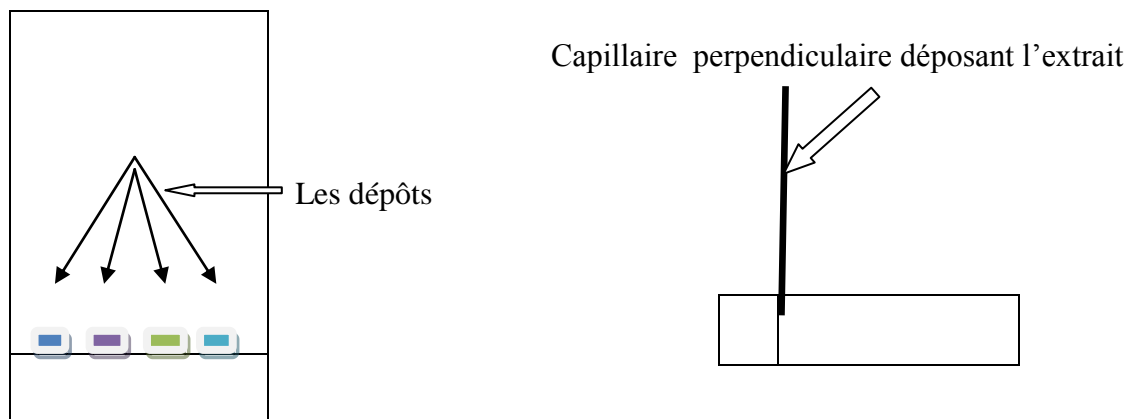
Le système choisi :

- ✓ Toluène /Méthyl éthyle cétone /éthanol /éther du pétrole : 40/30/30/2.

c) Le dépôt

Le dépôt se fait avec des tige en verre d'une façon perpendiculaire et linéairement. Chaque phase doit être déposée en solution diluée dans le méthanol, on effectue plusieurs dépôts successifs du même analyte en même endroit.

Cette pratique permet de concentrer l'analyte, le diamètre de la tache produite est séché rapidement entre chaque application, **figure (07)**.



Figure(07) : Mode de dépôt pour un CCM

d) Visualisation des plaques

- ✚ à l'œil nu
- ✚ la lampe UV (254/365) : on place les plaques sous la lampe UV à 365 nm : les produits qui absorbent les UV apparaissent sous forme de taches colorées
- ✚ Réactif de Neu : les plaques de CCM sont révélées avec réactif de Neu. Les flavonoïdes apparaissent sous forme de taches fluorescentes, selon la couleur obtenue, nous avons identifié le type de flavonoïdes.

IV-1-3- Identification

Il existe différentes méthodes d'identification des polyphénols notamment les flavonoïdes, parmi ces méthodes :

A) Facteur de rétention R_f

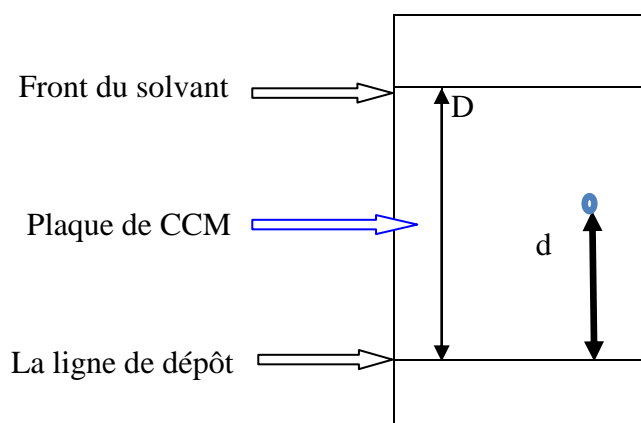
Le comportement chromatographique en fonction de la composition moléculaire dans un solvant alcoolique ou aqueux permettrait de mentionner les premières indications concernant la substitution du squelette de la molécule flavonique.

L'éluant est versé jusqu'à une hauteur de 1cm dans une cuve à élution fermée hermétiquement jusqu'à saturation en vapeur.

La plaque placée verticalement dans la cuve doit demeurer fermée et ne doit pas être déplacée. Lorsque le front du solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure, la plaque est retirée de la cuve.

Le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin. La plaque est séchée à l'air libre. Les distances parcourues par les différents spots sont mesurées par le rapport frontal (R_f).

$$R_f = d/D = \text{Distance parcourue par la substance} / \text{Distance parcourue par le front de solvant}$$



Figure(08) : Le rapport frontale.

Tableau(06) : 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 aqueux 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

B) Relation fluorescence-structure

L'examen en lumière ultraviolet est certainement le procédé le plus utilisé pour la détermination de la structure (Lahouel M., 2005).

Il fournit des informations très importantes sur la configuration structurale mais aussi les substituants sur les squelettes des molécules isolées. 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 violet	3-OH absent ou 3- OH substitué
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	Flavonols 5-OH libre ou 5-OH substitué
Jaune fluorescent	Flavonols avec 3-OH libre, aurone, chalcones, flavanones
Jaune pâle	dihydroflavonols

IV-2- La spectrophotométrie UV-Visible :

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

Les spectres UV-vis fournissent des informations sur la structure moléculaires, mais sont surtout utilisés pour une confirmation ou une identification grâce à des règles empiriques et à la comparaison avec des spectres de référence (Gentrie, 2001).

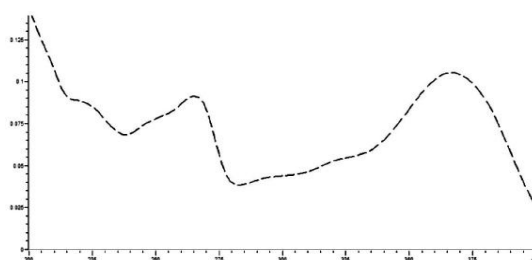


Figure 2. UV-spectrum of free kaempferol detected in *Agave victoriae-reginae* of Bustamante, Nuevo León, Mexico.

*Ilegibilidad de origen

- Spectre d'absorption de Kaempferol

Tableau (08): Principales caractéristiques des spectres UV-visible des classes flavoniques (Markham et Chari, 1982).

Bande II (nm)	Bande I (nm)	Types de flavonoïdes
250 – 280	310 – 350	Flavones
250 – 280	330 – 360	Flavonols substitués en 3-OH
250 – 280	350 – 385	Flavonols
245 – 275	310 – 330 (épaulement pic à 320)	Isoflavones Isoflavones (5-désoxy-6,7 dioxygènes)
275 – 295	300 – 330 (épaulement)	Flavones et dihydroflavonols)
230– 270 (faible intensité)	340 – 390	Chalcones
230 – 270	380 – 430	Aurone
270 – 280	465 – 560	Anthocyanes

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 385nm représentant la conjugaison entre les cycles B et C
- ✓ la bande II allant de 240 nm jusqu'à 280 nm représentant la conjugaison entre les cycles A et C.

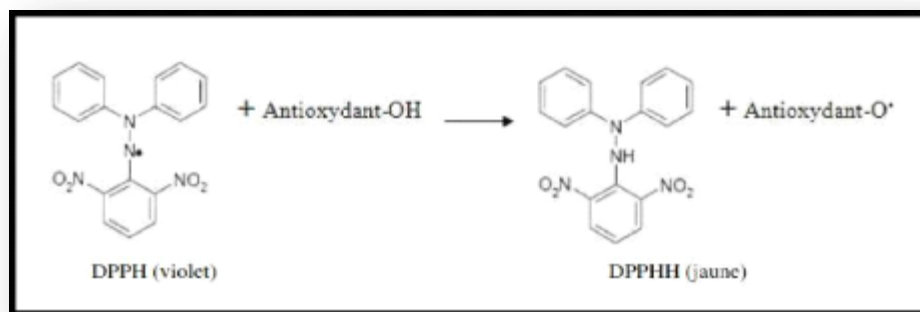
Pour les flavonols, une augmentation dans le nombre de groupes hydroxyles sur le B induit un déplacement de la bande I de 3 nm à 10 nm. Par exemple, la longueur d'onde d'absorption de la Kaempférol (un groupe OH en position 4') et de la quercétine (deux groupes OH en position 3' et 4') sont respectivement 364 nm et 367 nm (Markham, 1989).

V-Activité antioxydante (antiradicalaire)

Plusieurs protocoles de dosage mesurent l'activité antioxydant par piégeage des radicaux libre, c'est-à-dire l'activité anti radicalaire. Parmi ces méthodes la méthode utilisant le radical libre DPPH. (diphényl-picryl hydrazyl).

a) Principe de Test au DPPH•

En présence des piègeurs de radicaux libres, le **DPPH•** (2,2 diphényl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en (2,2 Diphényl 1 picryl hydrazine) de couleur jaune (Maataoui et al, 2006).



Figure(09) : réaction de test DPPH• (2,2 diphényl 1 picryl hydrazyl), (Congo, 2012)

b) Protocole

Le pouvoir anti-radicalaire de ces extraits est mesuré selon la méthode décrite par (Zaghad et Merghem, 2013)

On a préparé une solution méthanolique de DPPH. 0.02 %, puis on a mis 4 ml de réactif de DPPH° dans des tubes et on à ajouter 2 ml de chaque phase et on a attendu les résultats.

On a utilisé la quercétine, l'acide gallique et la rutine comme témoin, et on a comparé le temps de la réaction pour chaque phase.

Troisième Partie:

Résultats ET interprétations

Résultats et interprétation

Notre travail a porté sur l'étude quantitative et qualitative des composés phénoliques par des méthodes utilisées au niveau de laboratoire de biologie micro-moléculaire et phytochimie.

I-Aspect quantitatif

I-1-Dosage des polyphénols totaux

Le dosage est déterminé par le réactif de Folin-Ciocalteu.

Le contenu phénolique totale de nos extraits à été estimé à partir de la courbe d'étalonnage $y = 0,443x - 0,012$ (Y= l'absorbance, X=concentration de la solution d'acide gallique,mg/ml). Voir **figure (10)**.

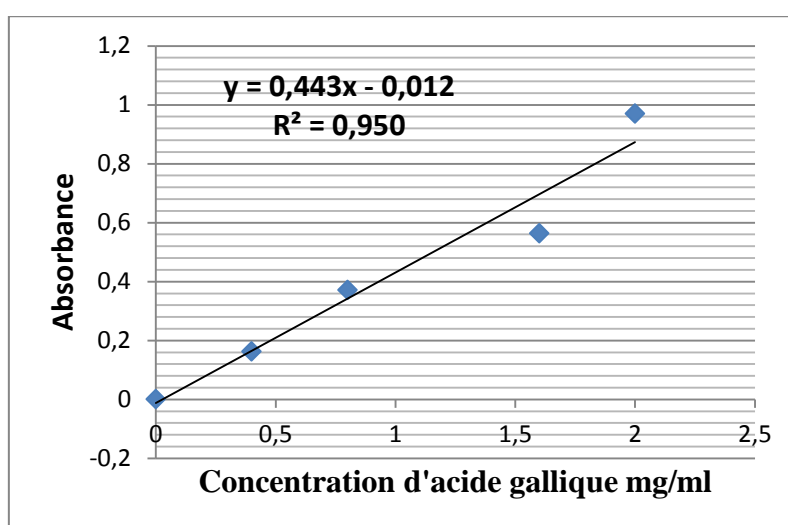


Figure (10) : la courbe d'étalonnage d'acide gallique.

La teneur en phénols totaux est rapportée en mg d'acide gallique/ ml d'extrait de plante.

La densité optique est mesurée à une longueur d'onde de 765 nm qui permet de déterminer la concentration des phénols totaux en se référant à la courbe d'étalon dressée à partir de la concentration connue de l'acide gallique

Tableau(09) :Concentration des phénols totaux de la variété ARZ

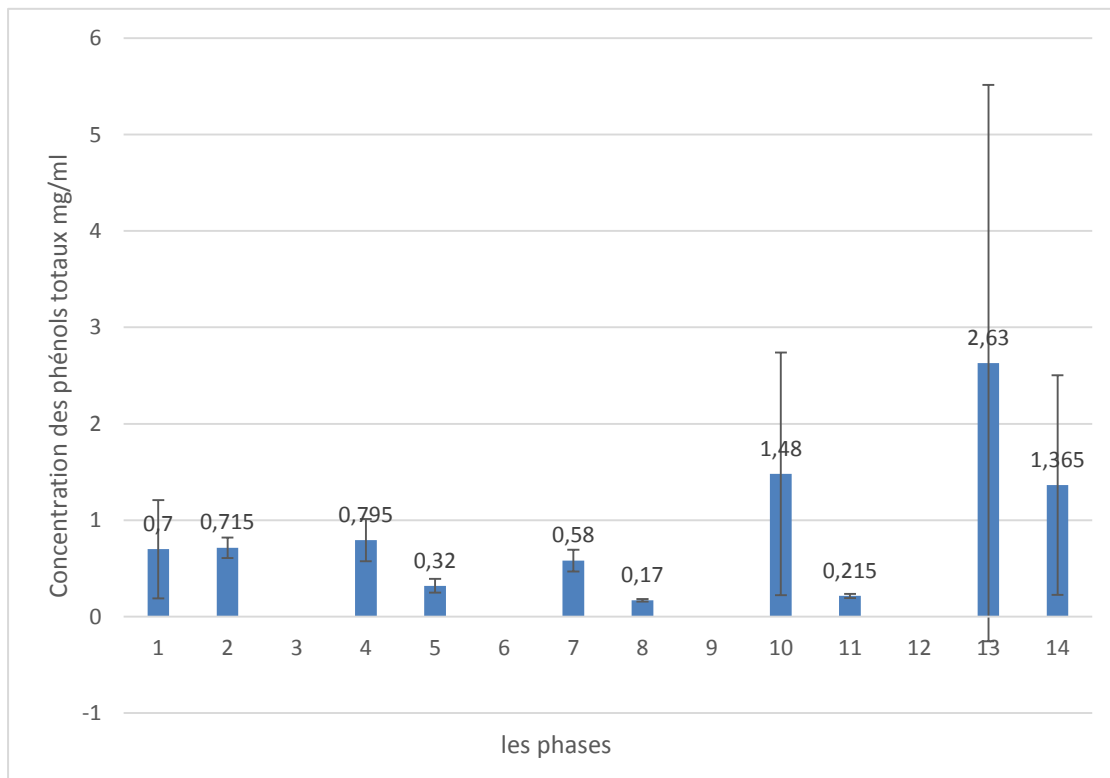
	Les feuilles ARZ			
Les phases	Ether	Acétate	MEC	H2O
Concentration des phénols totaux en mg/ml	0,7 ± 0,51	0,79 ± 0,22	0,59 ± 0,11	1,49 ± 1,26

Tableau(10): Concentration des phénols totaux de la variété HIDDAB

	Les Feuilles HDD			
les phases	Ether	Acétate	MEC	H ₂ O
Concentration des phénols totaux en mg/ml	0,72 ± 0,11	0,32 ± 0,07	0,18 ± 0,01	0,22±0,02

Tableau(11): Concentration des phénols totaux de la variété ARZ et HIDDAB

les feuilles	ARZ	HDD
Concentration des phénols totaux en mg/ml	2,63±2,88	1,36±1,14



Figure(11) : La concentration des phénols totaux et leur écart type de deux variétés de blé tendre . La variété **ARZ** : (1) = Ether, (4) = Acétate, (7) = MEC, (10) = H₂O.
 La variété **HIDDAB** : (2) = Ether, (5) = Acétate, (8) = MEC, (11) = H₂O.
 (13)=ARZ , (14)=HIDDAB.

D'après **la figure (11)**, on observe que la teneur en composés phénoliques totaux de nos extraits méthanoliques variées d' un échantillon a un autre.

Cette variation peut être expliquée par les différences qui existent au niveau de la composition chimique entre les tissus des végétaux.

On remarque que la phase éther diéthylique et acétate d' éthyl renferment plus des composés phénoliques que les phases MEC et H₂O de la variétés HIDDAB.

La teneur en composés phénoliques varie entre les phases . On remarque que la variété ARZ contient plus de composés phénoliques que la variété HIDDAB.

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

ARZ > HIDDAB

Ces résultats sont proches à ceux de **(Ragae et al., 2006)**, qui à été travailler sur les grains complète de blé.

II- Aspect qualitatif

II-1-Diagnostic à l'aide de la chromatographie analytique sur couche mince

La plaque de CCM utilisée est une plaque de verre constituée de gel polyamide DC6.

On a essayé plusieurs systèmes solvants et on a gardé celui qui donne le meilleur profil phénolique: toluène / Méthyléthylcétone / Méthanol / Ether de pitrole (40/30/30/2) pour les trois phases : Ether diéthylique , Acétate d'éthyle , MEC(butanone).

La phase Eau (H₂O) et moins bien séparée avec ce système solvant.

Cette technique peut nous informer sur le contenu en composés phénoliques et on particulier en flavonoides des extraits analysés sous forme des spots flavoniques.

Après séchage des chromatogrammes à l'air libre ,ils sont examinés, **figure (12)**

A : à l'œil nu.

B : Sous UV à longueur d'onde 365 nm.

C : Sous UV à longueur d'onde 365 nm après pulvérisation par le réactif de Neu .

D : Après 72 heures de pulvérisation par le réactif de Neu.

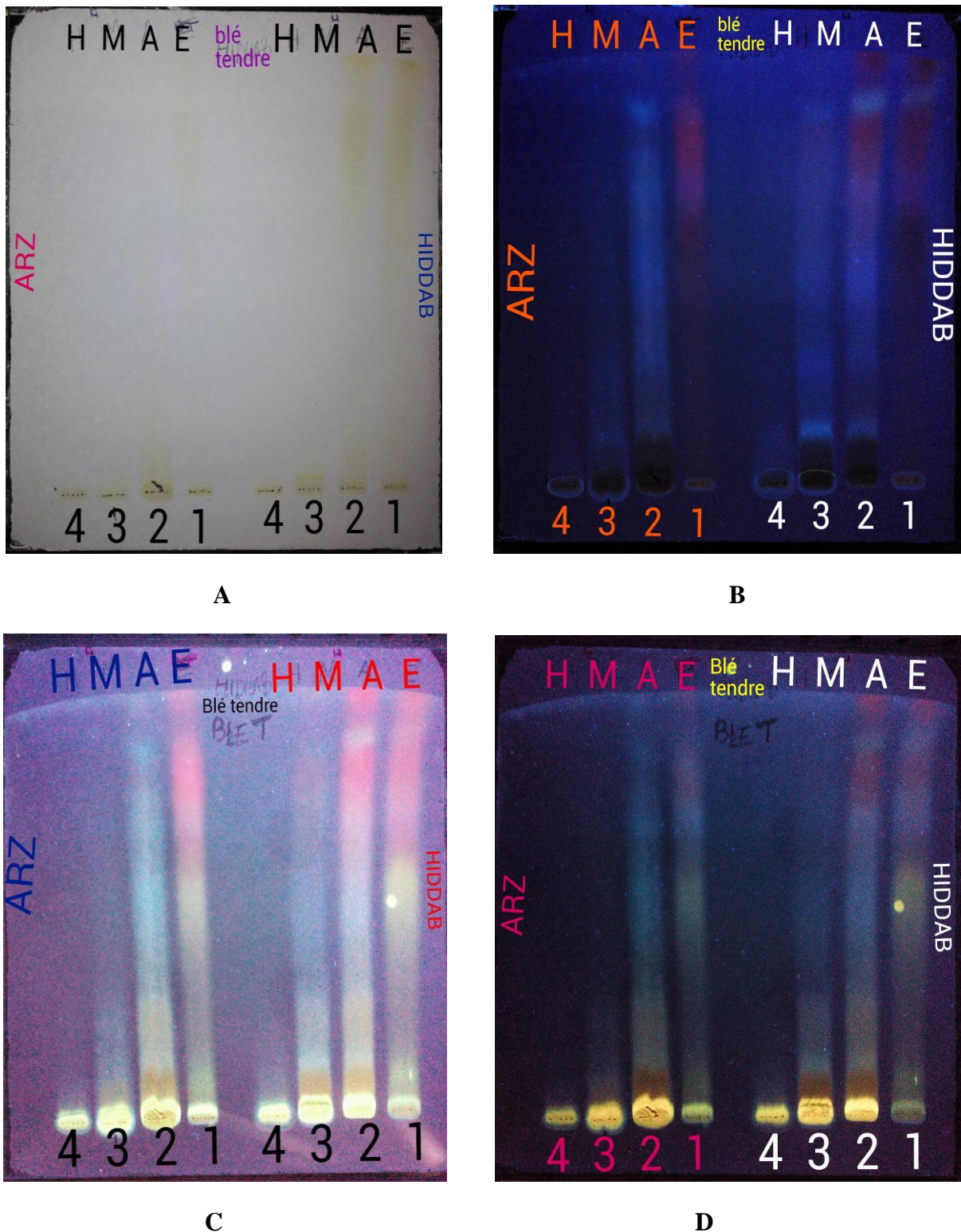


Figure (12) : CCM analytique représentative des flavonoides de blé tendre (ARZ et HIDDAB) des 4 phases : **E (1)** : Ether diéthylique , **A (2)** : Acétate d'éthyle , **M (3)** : Méthyl éthyle cétone, **H (4)** : H₂O, sur plaque de polyamide DC6 développé dans un système solvant :Toluène/Mec/méthanol/éther de pétrole :40/30/30/2.

Tableau (12) : Comportement chromatographique des phases : Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, Mec et H₂O, sur plaque de polyamide DC6 développé dans un système solvant :

Toluène/Mec/méthanol/éther de pétrole :40/30/30/2.

Extrait brut	Avant révélation		Après Le réactif de Neu		Type de flavonoïdes
	RF	Couleur	RF	Couleur	
Hiddab					
Ether	0 0,75 0,88	Jaune pale Jaune Jaune	0 0,025 0,075 0,75 0,88	Marron Vert Vert Violet Rose	? ? ? FLAVONE ?
Acétate	0 0,7 0,9	Jaune Jaune Jaune	0 0,012 0,62 0,81 0,9	Jaune Maroon Bleu claire Rose Rose	FLAVONOLS ? FLAVONE ? ?
MEC	0	Jaune	0 0,075 0,125	Jaune marron Marron Bleu	? ? FLAVONE
H ₂ O	0	Jaune	0	Vert	?
ARZ					
Ether	0 0,75	Jaune Jaune pale	0 0,025 0,625 0,75	Marron Vert fleurent Violet Rose	? ? FLAVONE ?
Acétate	0	Jaune	0 0,03 0,06 0,43	Marron Jaune vert Marron Blue claire	? FLAVONOLS ? FLAVONE
MEC	0	Jaune	0	Vert jaune	FLAVONOLS
H ₂ O	0	Jaune	0	Vert	?

Les chromatogrammes obtenus sur polyamide DC6, présentent une bonne migration grâce à la bonne séparation des molécules qui permet l'analyse qualitative des flavonoïdes, les spots obtenus montrent une richesse et une diversité des échantillons.

1. **A l'œil nu la plaque** : montre plusieurs taches jaunes (jaune, jaune pale, jaune marron)
2. **Sous l'UV à longueur d'onde 365 nm** : la plaque montre des taches à différentes couleurs Noir, bleu, violet et rose.
3. **Après pulvérisation de plaque avec réactif de Neu :**
 - ✓ **à l'œil nu** : on remarque l'intensification du noir.
 - ✓ **Sous l'UV à Longueur d'onde 365 nm** : Après 72 heures on observe que les différentes couleurs seront modifiés :

Le marron en marron noirâtre.

Le jaune en jaune fluorescent.

Le vert en jaune.

Le violet en bleu clair.

Le rose en pourpre.

- ✗ La réaction avec le réactif de Neu confirmés que le blé tendre est riche en flavonoïdes de type flavone qui sont confirmés par les taches violet et bleu et les flavonols sont confirmés par les taches noires.
- ✗ La chromatographie CCM d'analyse des extraits de deux variétés de blé tendre détermine que l'extrait de la phase éther di éthylique est le plus riche en composés phénoliques suivi par la phase acétate d'éthyle, MEC (Butanone) et H₂O.

On remarque que la migration des molécules diffère d'une phase à l'autre, cette migration est en fonction :

- De la polarité des substances.
- De l'éluant (phase mobile).
- Le pouvoir d'adsorption de la phase stationnaire.

On conclue que Les molécules qui migrent tout au long de la plaque en fonction de polarité se sont des molécules qui sont proche a la nature de la phase mobile (système solvant) donc ils ont une certain vitesse de migration qu'on la détermine par les rapports frontaux, par contre les molécules qui ont une nature différente restent fixé sur l'adsorbant (phase stationnaire).

II-2- L'analyse spectrale des phases

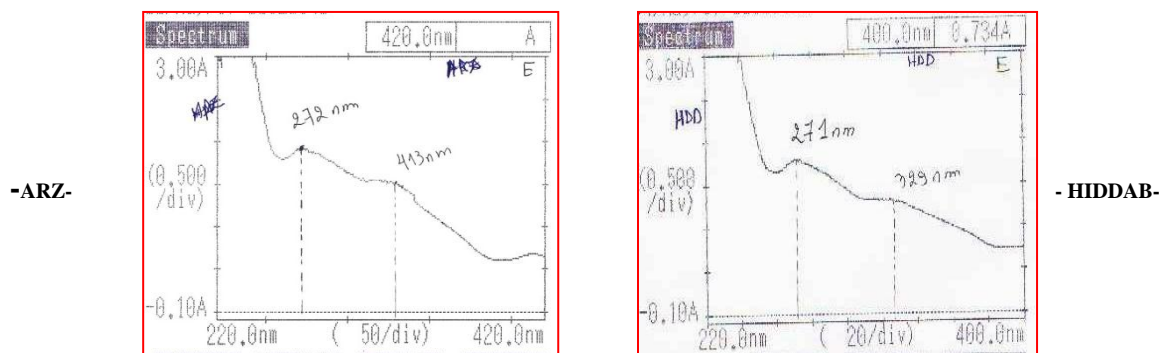


Figure (13): Les spectres UV de la phase éther di éthylique des feuilles de blé tendre.

D'après les spectres UV, on observe que la phase éther représente deux pics.

- ✓ Pour la variété ARZ :- la bande II = 272 nm.

-La bande I = 320 nm.

- ✓ Pour la variété HIDDAB :-la bande II = 271 nm

-la bande I = 329nm.

Ces résultats nous informe que cette phase ne contient pas des flavonoïdes mais on peut supposer que peut être ces deux spectres représentent des acides phénols.

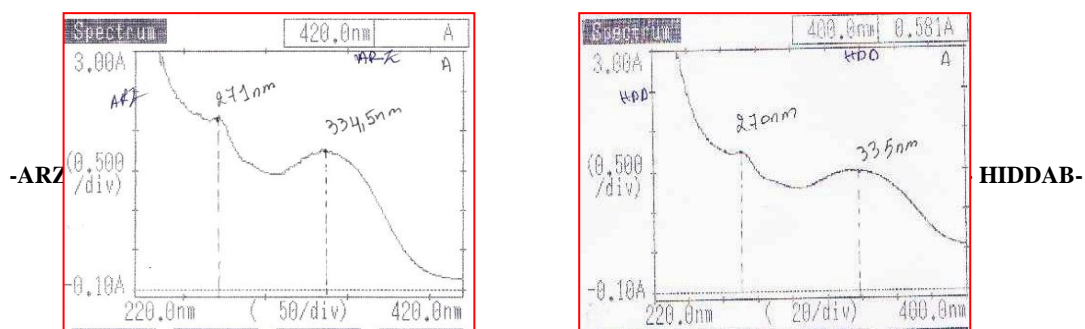


Figure (14) : Les spectres UV de la phase acétate d'éthyle des feuilles de blé tendre.

D'après les spectres UV, on observe que la phase acétate d'éthyle donne dans le domaine UV-Visible deux pics.

- ✓ Pour la variété ARZ :- la bande II = 271 nm.

-La bande I = 334 nm.

- ✓ Pour la variété HIDDAB :-la bande II = 270 nm

-la bande I = 335 nm.

Pour la bande II on suppose l'existence des isoflavones, et pour la bande I l'existence des flavonols.

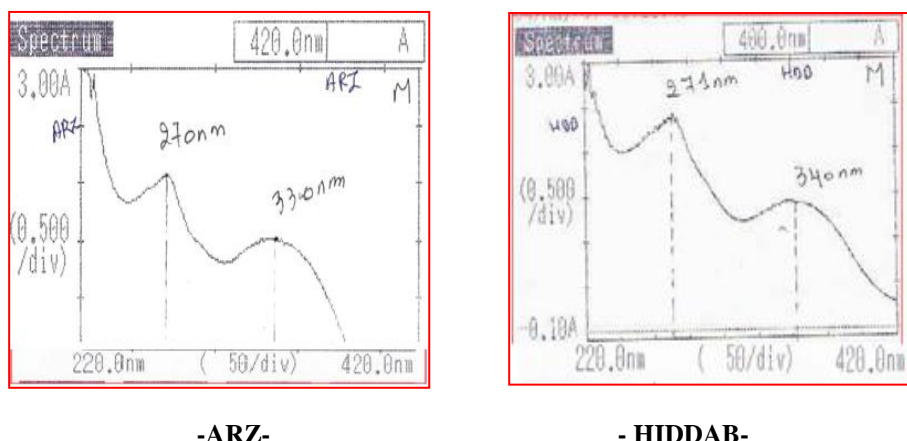


Figure (15) : Les spectres UV de la phase MEC(Butanone) des feuilles de blé tendre.

D'après les spectres UV, on observe que la phase acétate d'éthyle donne dans le domaine UV-Visible deux pics.

- ✓ Pour la variété ARZ :- la bande II = 270 nm.
- La bande I = 330 nm.
- ✓ Pour la variété HIDDAB :-la bande II = 271 nm
- la bande I =340 nm.

La même interprétation que la phase acétate d'éthyle, Pour la bande II on suppose l'existence des isoflavones, et pour la bande I l'existence des flavonols.

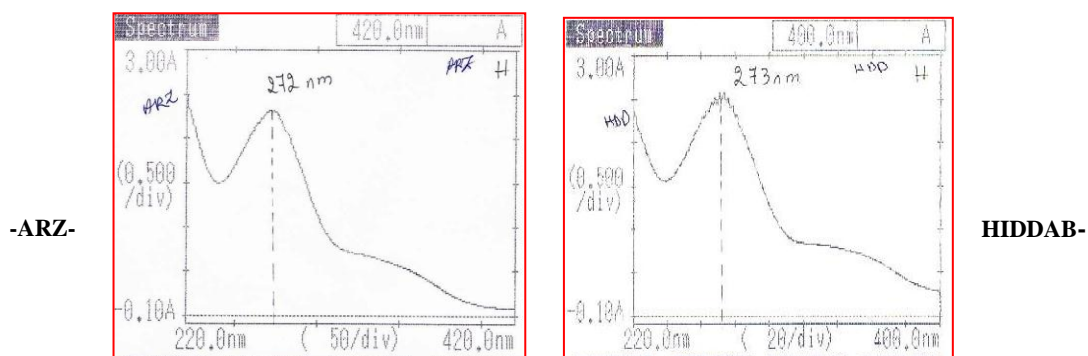


Figure (16) : Les spectres UV de la phase eau résiduelle des feuilles de blé tendre.

D'après les spectres UV, on observe que la phase eau donne dans le domaine UV-Visible n seul pic.

- ✓ Pour la variété ARZ :- la bande II = 272 nm.
- ✓ Pour la variété HIDDAB :-la bande II = 273 nm

La solution méthanolique pour la phase eau résiduelle de deux phases montre l'existence des flavonols et flavan -3- ol.

D'après l'analyse spectrale des phases acétate d'éthyle, MEC et H₂O on observe que les trois phases de deux variétés de blé tendre contiennent des flavonoïdes.

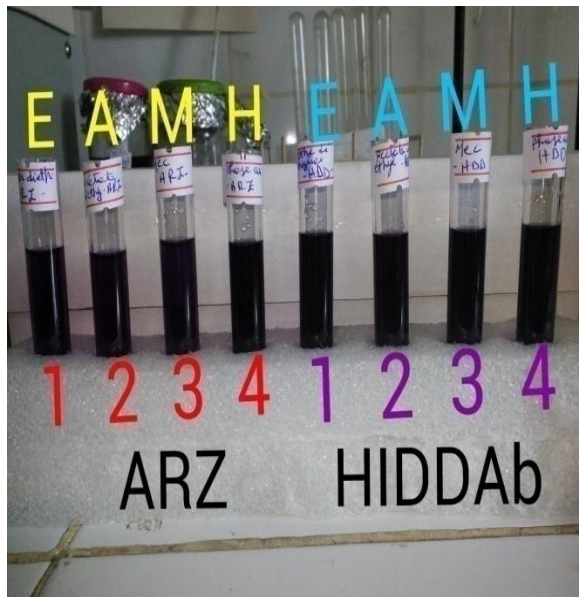
L'analyse spectrale des feuilles, dévoile la richesse de blé tendre en composés phénoliques notamment des flavonoïdes.

III- Le pouvoir antioxydant « Test au DPPH• »

III-1-Aspect qualitatif

Le DPPH • est un radical libre possède une couleur violette qui réduite en un couleur jaune, ce changement de couleur est attribué à la présence de pouvoir antioxydant. Le pouvoir antioxydant de nos extraits a été estimé par cette méthode.

Nos résultats sont estimés à l'œil nu , et on observe le changement de couleur en fonction du temps par rapport aux témoins qui sont : la quercétine, l'acide gallique et la rutine.



T = 0 min



T = 15 min



T = 1 heure

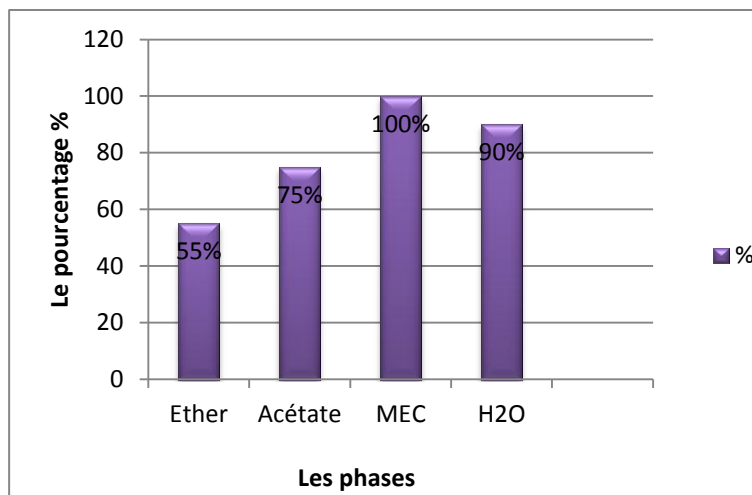


T = 24 heures

Figure (17) : Résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant de différents phases des variétés . 1 (E) = Ether diéthylique ; 2 (A) = Acétate d'éthyle ;
3 (M) = Méthyl éthyl cétone ; 4 (H) = H₂O

D'après la figure (17), On observe un changement de couleur des différentes phases des variétés de blé tendre, la couleur violette se transforme en couleur jaune avec le temps.

Cette transformation de couleur varié d'une variétés à une autre et aussi d'une phase à l'autre, par rapport au témoin qui sont la quercétine, l'acide gallique et la rutine.

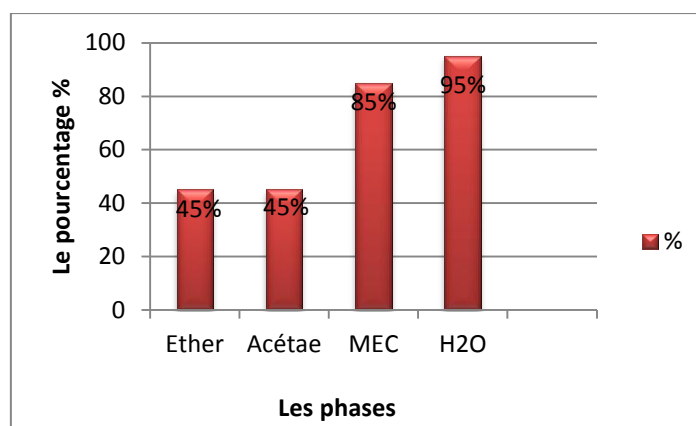


Figure(18): Histogramme Le pourcentage du pouvoir antioxydant des phases de la variété ARZ.

D'après l'histogramme illustré dans la **figure(18)**, nous avons observée que la phase MEC (butanone) à un pouvoir antioxydant le plus élevé, son poucentage est égale à 100%, suivi par la phase eau (95%), acétate (75%) et éther (55%).

➤ Le classement se fera par ordre décroissant :

MEC > H₂O > Acétate d'éthyle > Ether diéthylique.

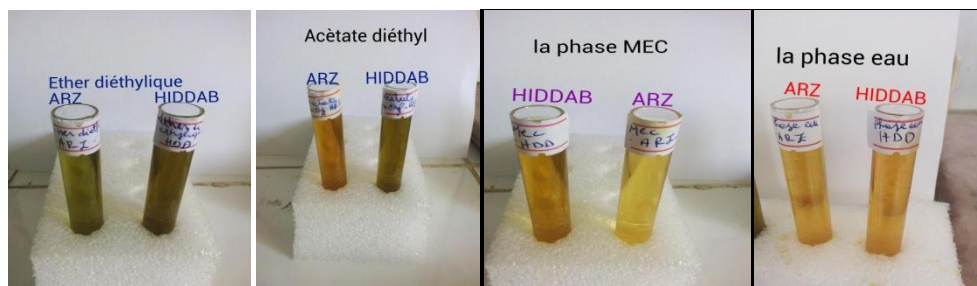


Figure(19): Histogramme de pourcentage du pouvoir antioxydant des phases de la variété HIDDAB .

D'après l'histogramme illustré dans la **figure(19)**, nous avons observer que la phase H₂O à un pouvoir antioxydant le plus élevée ,son poucentage est égale à 95%,suivi par la phase MEC (85%), et les phases acétate et éther possèdent le même poucentage qui est de 45%.

➤ Le classement se fera par ordre décroissant ,de la plus forte capacité du piégeage vers la plus faible capacité:

H₂O > MEC > Acétate d'éthyle > éther diéthylique.



Figure(20): Comparaison entre les phases des variétés ARZ et HIDDAB

La couleur de la phase MEC (butanone) pour les deux variétés de blé tendre change plus rapidement que les phases éther diéthylique et acétate diéthyle, suivie par la phase H₂O.

On remarque que la variété ARZ montre un changement de la couleur plus rapide que celle de la variété HIDDAB dans toutes les phases.

Les phases MEC et H₂O de deux variétés ont un pouvoir capture des radicaux libres élevés par rapport aux phases éther diéthylique et acétate diéthyle.

D'après ces remarques on peut dire que le blé tendre est riche en composés phénoliques et possède un pouvoir anti oxydants.

Nos résultats ont montré que tous les extraits testés ont un effet anti radicalaire mais avec une différence de pourcentage ce qui nous a permis de les classer : ARZ > HIDDAB

III-2- Aspect quantitative

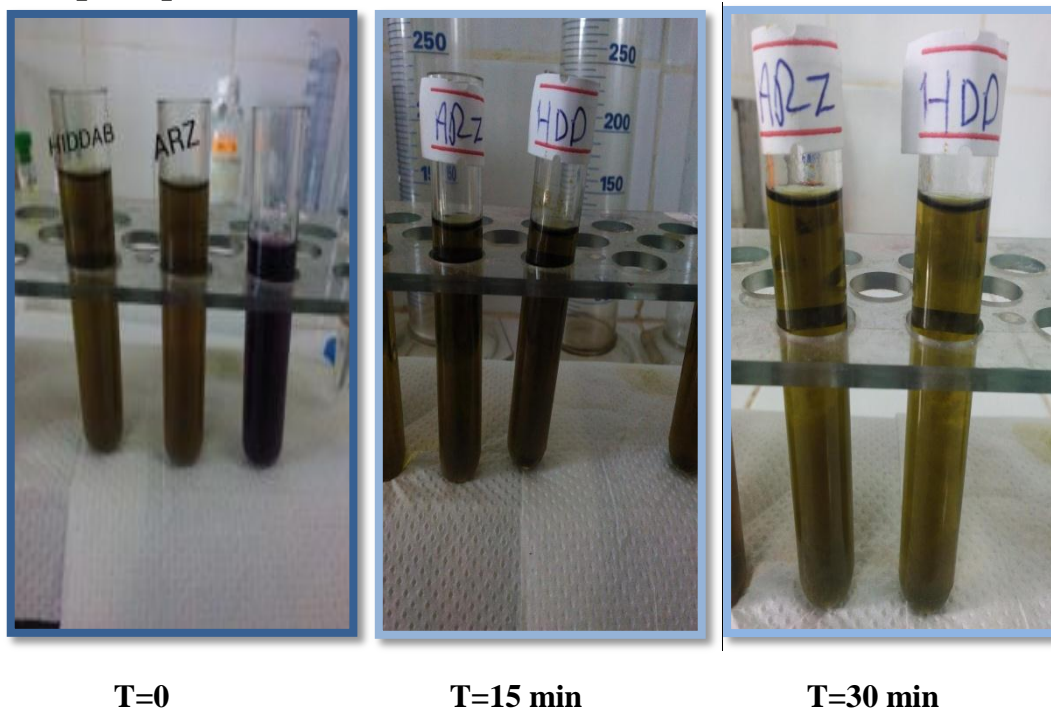
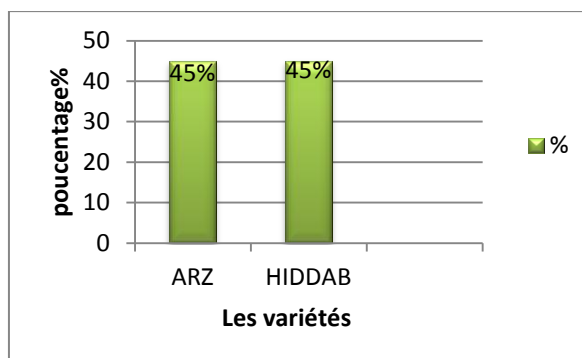


Figure (21) : Résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant chez deux variétés de blé tendre

D'après la **figure (21)** on observe un changement de couleur de deux variétés de blé de violet en vert foncé avec le temps par rapport au témoin qui est la quercétine, l'acide gallique et la rutine.



Figure(22): Histogramme de pourcentage du pouvoir antioxydant .

On remarque à partir de ce histogramme **figure(22)**, que les deux variétés ARZ et HIDDAB possèdent le même pouvoir antioxydant .

Le pouvoir antioxydant est observé et déterminé au niveau des phases est mieux par rapport au totum, parce que au niveau de ce dernier les composés phénolique ne sont pas bien séparé.

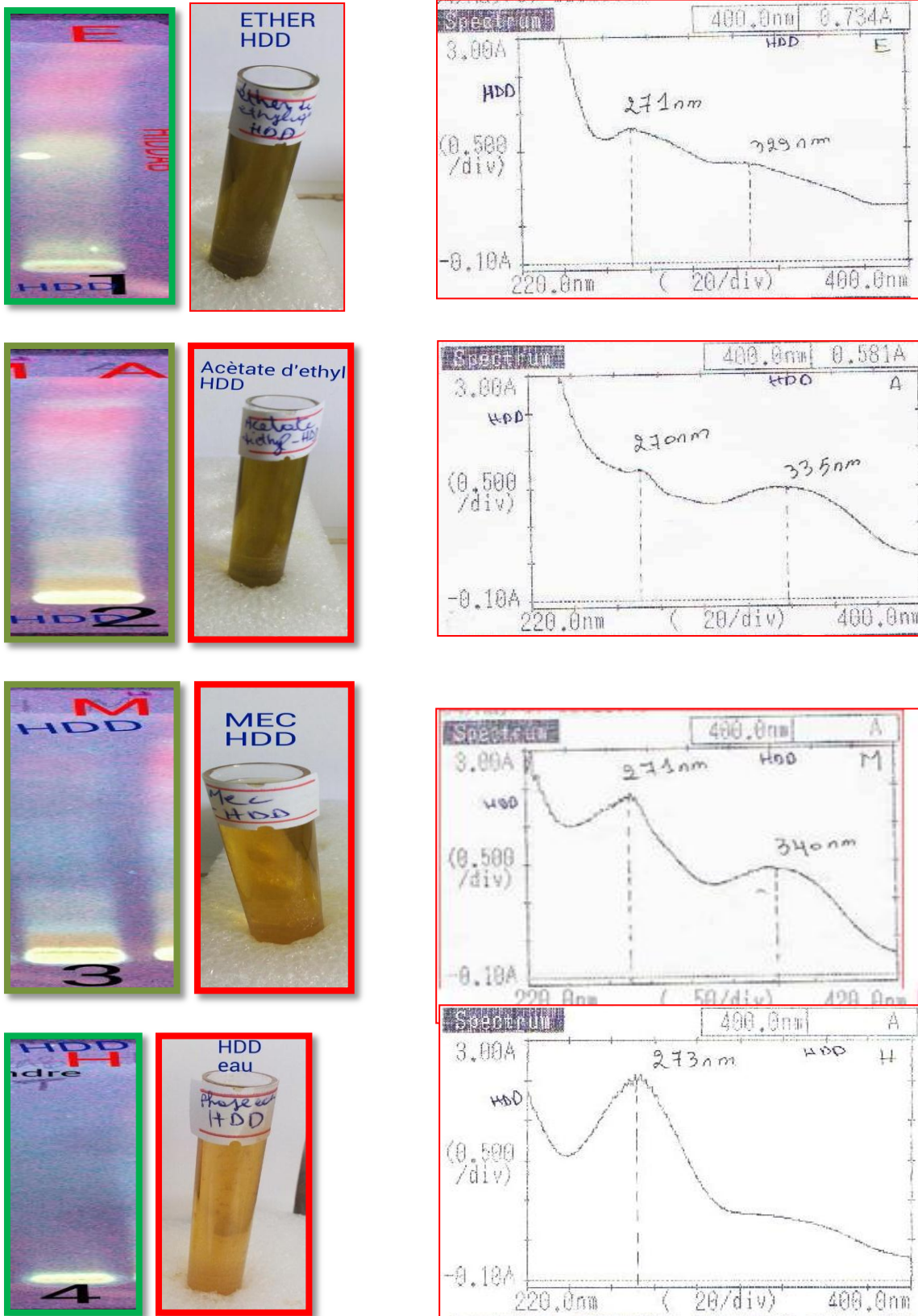


Figure (23) : Diagnostic par CCM des différentes phases et leurs spectres d'absorptions de la variété HIDDAB

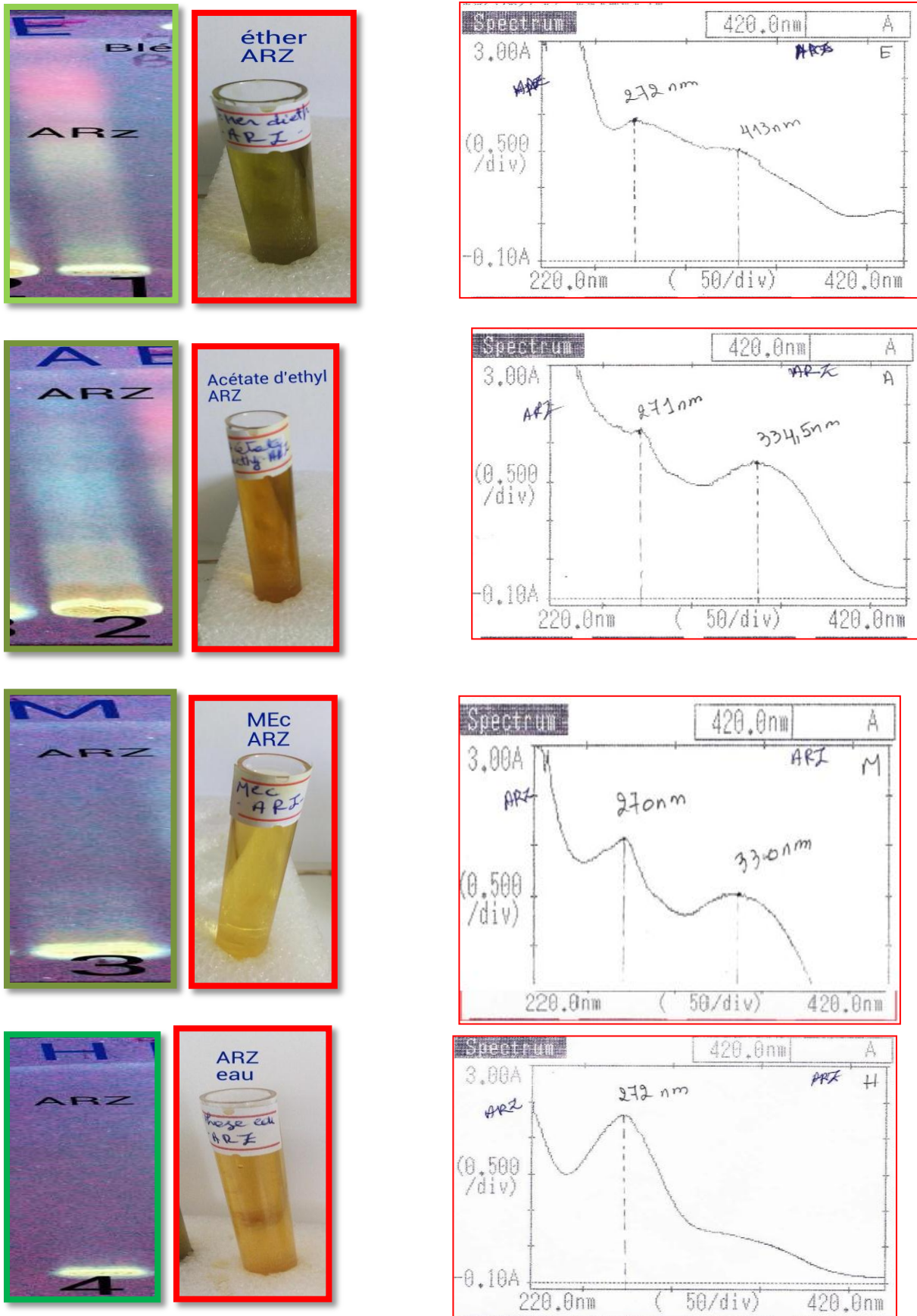


Figure (24) : Diagnostic par CCM des différentes phases et leurs spectres d'absorptions de la variété ARZ

Conclusion

Conclusion

L'objectif de ce travail est d'étudier la présence des composés phénoliques dans les feuilles de blé tendre.

L'étude phytochimique est menée sur deux variétés de blé tendre. Les polyphénols totaux sont quantifiés par le dosage colorimétrique de Folin –ciocalteu. Les résultats obtenus nous ont montré la richesse de blé tendre en composés phénoliques.

La variété ARZ contient une grande teneur de polyphénols totaux par rapport à celle HIDDAB. Les partitions entre solvant et le diagnostic chromatographique sur couche mince, nous a permis de visualiser des empreintes flavoniques de nos extraits.

Le diagnostic par la chromatographie analytique sur couche mince nous a permis de montrer que les phases éther, acétate sont plus riches en composés phénoliques que la phase MEC et H₂O.

La réaction positive de réactif de Neu avec les molécules confirme que le blé est riche en flavonoïde de type flavone et flavonols.

L'analyse spectrale en milieu méthanolique dévoile la présence des acides phénols dans la phase éther et des polyphénols essentiellement des flavonoïdes dans les phases acétate et MEC, alors que la phase eau contient la catéchine et autres molécules tel que la Naringénine.

D'après le test de DPPH on a remarqué que les phases H₂O et MEC des deux variétés possèdent un pouvoir antioxydant plus élevé par rapport à la phase acétate, alors que la phase éther est la plus faible. Ce pouvoir est remarqué par le changement rapide de la coloration du violet vers le jaune. A l'aide de test du DPPH on peut dire que la variété ARZ a un pouvoir antioxydant plus élevé que la variété HIDDAB.

Selon les résultats obtenus dans cette étude nous pouvons dire que la variété ARZ est riche en composés phénoliques par rapport à celle HIDDAB, cela est confirmé par la technique de la CCM, le pouvoir antioxydant, ainsi que leurs spectres d'absorptions.

Résumés

Résumé

Notre recherche porte sur l'étude phytochimique et le pouvoir antioxydant des feuilles de blé tendre de deux variétés (ARZ et HIDDAB). Les résultats de l'étude quantitative des extraits montrent l'existence d'une variabilité de la teneur en phénols totaux entre les deux variétés.

L'étude quantitative des polyphénols de ces variétés est effectuée par la méthode de Folin –ciocalteu, qui montre que la teneur des phénols totaux est complètement variable.

Par ailleurs les compositions de ces deux phases sont identifiées par chromatographie sur couche mince, qui résulte que, la majorité des polyphénols sont des flavonoïdes de type flavonols et flavones.

D'autre part les résultats de l'activité antioxydante montrent que l'extrait de chaque variété possède un pouvoir antioxydant mais d'une façon inégale entre les phases.

Enfin, au lieu de classer le blé tendre comme étant des céréales ou des plantes purement alimentaires, on pourrait orienter leur exploitation autant que plantes médicinales.

Mots clé : Blé tendre, composés phénoliques, CCM, DPPH, polyphénols, flavonoïdes.

Abstract

Our research focuses on the phytochemical study and the antioxidant power of the leaves of soft wheat of two varieties (ARZ and HIDDAB).

The results of the quantitative study of the extracts show the existence of variability of the content total phenols between two varieties. Quantitative study of polyphenols of these varieties is carried out by the method of Folin – ciocalteu, which shows that the content of total polyphenols is completely variable.

Furthermore the compositions of these two phases were identified by thin layer chromatography, the results shown that the majority of the polyphenols are flavonoids specially flavonol and flavon.

Secondly the results of antioxidant activity showed that the extract of each variety possesses antioxidant power but an uneven manner between the phases.

Finally, instead of classifying the soft wheat as being purely of cereals or food plants, could guide their operations as well as medicinal plants.

Key Word: Soft wheat, phenolic compound, CCM, DPPH. , polyphénols, flavonoïde.

ملخص

بحثنا هذا يتمحور حول دراسة التركيبة الكيميائية والنشاط المضاد للأكسدة لأوراق القمح اللين. نتائج الدراسة الكمية للمستخلصات بينت تواجد تنوع في المحتوي الفينولي الكلي بين المستخلصين.

الدراسة الكمية لفينولات المستخلصات كانت بواسطة طريقة Folin-ciocalteu, وضحت الاختلاف في المحتوي الكلي للفينولات.

من ناحية أخرى تركيب المرحتين عرفت بواسطة كوماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)، ووضحت النتائج أن أغلبية الفينولات هي فلافونويد من نوع فلافونول وفلافون.

من جهة أخرى نتائج النشاط المضاد للأكسدة DPPH يوضح أن مستخلص كل نوع لديه نشاط مضاد للأكسدة مختلف من مرحلة إلى أخرى.

أخيرا، عوض ترتيب القمح اللين كحبوب او نبتة غذائية نستطيع القول أنه يصنف ضمن الاعشاب الطبية.

الكلمات المفتاحية: القمح اللين، مركبات فينولية، DPPH، CCM، الفينولات، الفلافونويدات.

Références bibliographique

- Akroum S. (2011).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de Doctorat en Science de l'Université de Constantine.
- Andreasen M F, Christensen L P, Meyer A S, Hansen. (2000) .** Content of phenolic acids dehydrodimers in 17 ryes (*Secale Cereale L.*) varieties, *J.Agric. Food Chem*, 48:2837.
- Arnaud Basdevant , Martine Laville. (2001).** Eric Le rebours. Traité de nutrition clinique de l'adulte. Flammarion Médecine – sciences.p165-177.
- Bahorun T. (1997).** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritiass. p83-94.
- Bellbcir L. (2008).** Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales. Mémoire de magister de l'université mentouri constantine.
- Benhacine A. (2007).** Etude comparative de quelques paramètres agro morpho-physiologiques chez trois variétés d'orge (*Hordeum vulgare L*) soumises sous stress hydrique à différents niveaux. En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'Etat en biologie végétale, Dept SNV, université de Constantine. (20).P2-11.
- Boufenar , Zaghouan F, Zaghouan O. (2006).** Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). ITGC d'Alger. 1ère Ed .P 14-121.
- Clément M, Grand court J.Prats. (1971).** Les céréales. 2ème Edition revue et augmentée J.B. Baillié et fils, Editeurs.
- Congo M. (2012).** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L.* (Salvadoraceae). Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso .P42.
- Djermoun A. (2009).** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie* 01.P 45-53.
- Gentrie D. (2001).** TP de chimie (en ligne) : <http://cfi.insa-rouen.fr/enseignements/Labo> enseignements/chimie analytique/TP analytique.
- Guignard J L , Dupont F. (2004).** Botanique Systématique moléculaire. 13 Ed révisée Masson Paris. P 116-117.
- Harborne J B. (1980).** Secondary Plant Products. Encyclopedia of Plant Physiology. Vol 8. Bell EA, Charlwood BV, eds, Springer-Verlag, Berlin, 1980. In: Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Macheix JJ, Fleriet A, Christian A. 2005. PPTUR Lausanne. p329-402
- Hadria R. (2006).** Adaptation et spatialisation des modèles stricts pour la gestion d'un périmètre céréalier irriguée en milieu semi aride. Thèse de doctorat. Univ Cadi AYYAD Samlalia- Marrakech.
- Heller R. (1982).** Physiologie végétale .Tome2. Développement. Éd. Masson, Paris. P215.
-

Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. p 3-6.

Huang D, Ou B, Prior R L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. And Food Chemist.* 53 .P 1841-1856.

Isanh. (2006) .3 rd international conference on polyphénols applications. The international society for antioxidants in nutrition and Health.

Jeantet R, Croguennec T, PSchuck P and Gerard Brulé. (2007). Science des aliments: Graine à la plante. Ed. Belin, Paris. p 69-72.

Kim K H, Tsao R and Cui S W. (2006). Phenolic acid profile and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect hydrolysis conditions. *Food Chem.*95.P 466.

Koehlin-Ramonatxo C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way of nutrition in respiratory diseases. *Nutr. Clin. Et Métab.* 20.P 165-177.

Krief S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal. thèse doctorat.muséum national d'histoire naturelle.P 32.

Kumar P, Yadara R K , Gollen B , Kumar S, Verma R K , Yadavs. (2011). Nutritional contents and médicinal properties of wheat : A review. *Life science and medicine Research* 22 .P 1-10.

Lahouel M. (2005). Interaction Flavonoïdes-Mitochondrie et rôle de la Propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de Doctorat d'Etat de L'Université de Constantine.

Lee K W, Hur H J , Lee C Y. (2005). Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. *J. Agric. Food Chem.* 1990-1995.P 53.

Lenoir L. (2011). Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse de Doctorat . Université D'Auvergne.

Maataoui B S , Hmyene A , Hilali S. (2006). Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de Fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal.* 7(1).P 3-8.

Macheix J J, Fleuriet A et Billot J .(1990). Fruit phenolics, CRC press, Boca Roton. In : les polyphenols en agroalimentaire Sarni-Manchado P, Cheynier V.2006. Tec et Doc Lavoisier-Paris.

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.

Markham K R. (1989). Flavone, flovonols and their glycosides, In method in plantsbiochemistry. Vol I.

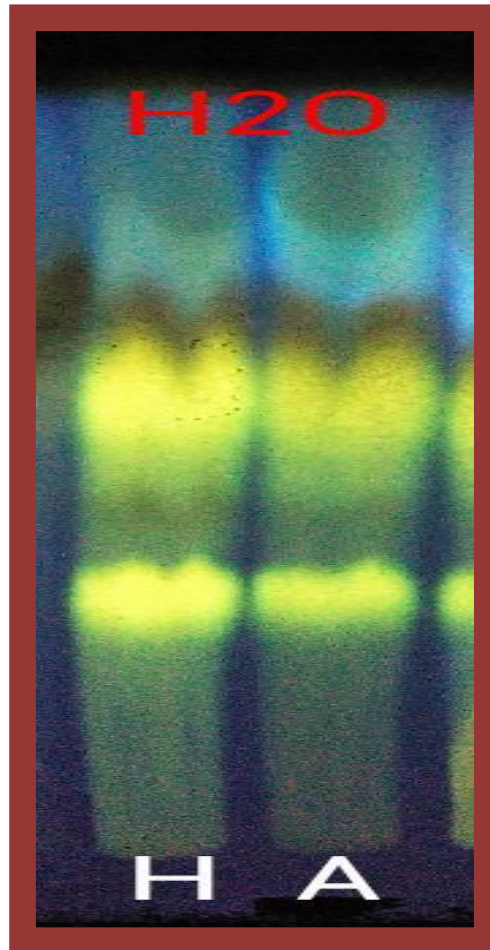
- Markham K R, chari V M. (1982).** in the Flavonoïdes advances in research eds Harbone & Mabry T.J. Chapman and Hall.
- Martin S et Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angiologie* **51**.P 304-315.
- Mattila P, Pihlava J M and Hellström K. (2005).** Contents of phenolic acids, alkyl and Alkylesorcinols, and avenanthramides in commercial grain product. *J. Agric. Food chem.* **53**.P 8290.
- Merghem R.(2009).** Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine.
- Mohammedi Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen.P 155.
- Pereira Nunes X , Souza Silva F, Alneida JRG 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 édition Venketeshwer Rao. P 1-20.
- Peterson D M.(2001).** Oat antioxydants. *J.Cereal Sci*, in Phenolic compound in cereal Grains and their health benefits. Dykes. L . Rooney, L W. 2007. Texas A&M university college station TX. PDF.P 33-115.
- Ragae S, El-Sayed M , Noaman M.(2006).**Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **98** .P 32–38.
- Ribéreau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod, Paris.P 254 .
- Ribereau –Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux .Edition dumond, Paris.
- Sanchez-Moreno C. (2002).** Methods used to evaluate the free scavenging activity in foods and biological systems, *Food Sci. And Technol. Inter.* **8**(3).P 121-137.
- Soltner D. (1990).** Phytotechnie spéciale, les grandes productions végétales céréales, plantes sarclées, prairies. Sciences et technique Agricoles Ed .p24.
- Stagos D, Amoutzias G D , Matakos A , Spyrou A , Tsatsakis A M & Kouretas D. (2012).** Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols. *Food and Chemical Toxicology* **50**.P 2155–2170.
- Stanley et al. (2003).** Antioxidants and the Free Radical theory of degenerative disease, alternative medicine and Rehabilitation.
-

- Suba A, Muralikrishna G. (2002).** Evaluation of the antioxidant properties of free and bound phenolic acids from native and malted finger millet. *J. Agric. Food Chem.* In Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits: Dykes, L ; Rooney, L W. Texas A&M university college station TX. PDF. 50.P 889.
- Suhaj M. (2006).** Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *J. Food Compos. And Analys.* 19 .P 531–537.
- Tadhani M B , Patel V H , et Subhash R. (2007).** In vitro antioxidant activities of Stevia rebaudiana leaves and callus. *J. Food Compos. And Analys.* 20 .P 323-329.
- Vârban D I , Duda M , Vârban R , et Muntean S. (2009).** Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis L.* *Culture.Bulletin UASVM Agriculture.* 66(2).P 225- 229.
- Wang J , Mazza G. (2002).** Effect of Anthocyanins 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.P 4183-4189.
- Yu L , Haley S , Perret J and Harris M. (2002).** Antioxidant properties of hard winter Wheat extracts. *Food Chemistry.* 78.P 457-461.
- Zhao Z , Robards K , Helliwell S & Blanchard C. (2004).** The distribution of phenolic acids in rice. *Food chem.* In Phenolic compound in cereal grains and Their health benefits .Dykes. L . Rooney, L .W. 2007. Texas A&M university college Station TX. PDF.87.P 401.
- Zhu K , Zhou H. (2011).** purification and characterization of a novel glycoprotein from wheat germ water soluble extracts. *Process biochemistry* **40** .P 1469-1474.
-

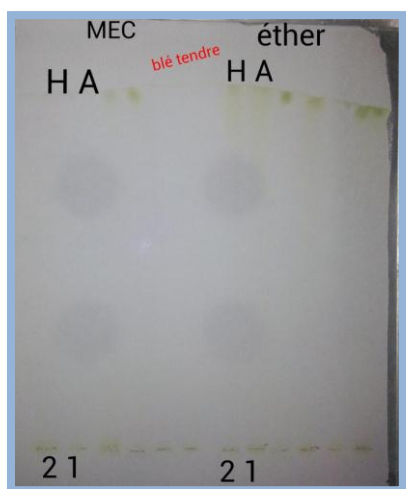
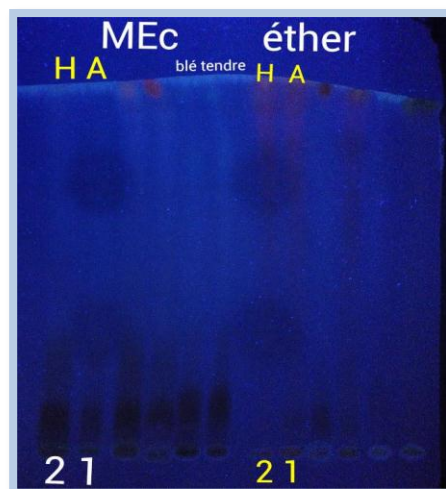
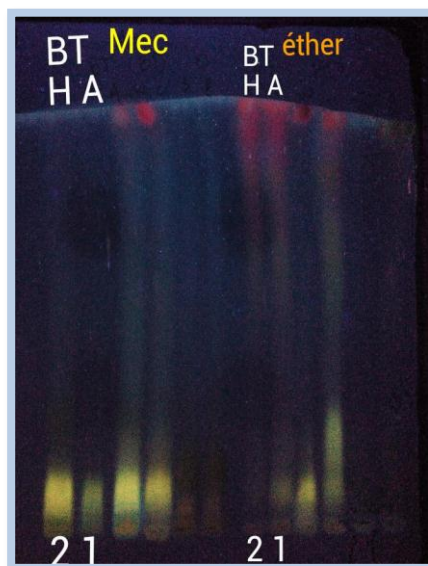
Annexes

Annexes 1

- Le système solvant précédent qu'on a utilisé, ne laisse pas les molécules qui se trouvent au niveau de la phase eau de migrer, C'est pour cela on a utilisé un autre système solvant qui est : H₂O / éthanol /MEC /Acide acétique (13/3/ 3/1).



- CCM analytique représentative des flavonoides de blé tendre (ARZ et HIDDAB) de la phase eau ,(H): Hiddab,(A): ARZ sur plaque de polyamide DC6 développé dans un système solvant :H₂O/éthanol /MEC/acide acétique:13/3/3/1.
-

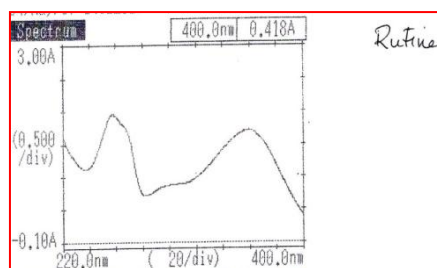
Annexes 2**A)** à l'œil nu**B)** sous UV à longueur d'onde 365 n**C)** à l'œil nu après le réactif de Neu**D)** Sous UV après le réactif de Neu

- CCM analytique représentative des flavonoïdes de blé tendre (ARZ et HIDDAB) des 2 phases : **Éther (1)** : Ether diéthylique , **MEC(2)** : Méthyle éthyle cétone, sur plaque de polyamide DC6 développé dans un système solvant : Toluène/MEC/méthanol/éther de pétrole : 40/30/30/2.

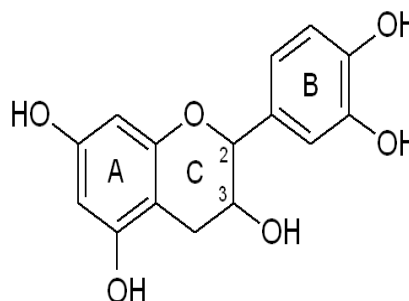
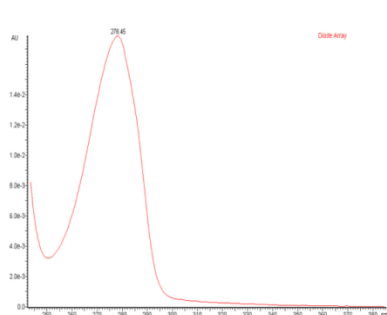
On observe que la phase éther de la variétés ARZ et HIDDAB sont bien séparés et déterminés que celle du MEC.

On remarque que la variétés de blé tendre possèdent un profile phénoliques meilleur par rappot au blé dur et orge.

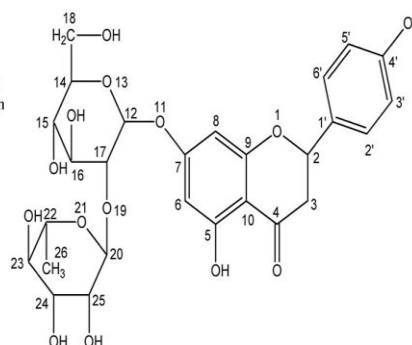
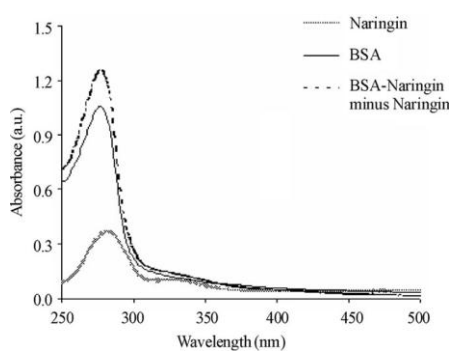
Annexes 3



- Spectre d'absorption de la rutine



- Spectre d'absorption de la catéchine et leur structure chimique



- Spectre d'absorption de naringin et leur structure chimique

Contribution à l'étude phytochimique et du pouvoir antioxydant des feuilles de blé tendre (*Triticum aestivum*).

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Moléculaire et Santé

Résumé

Notre recherche porte sur l'étude phytochimique et le pouvoir antioxydant des feuilles de blé tendre de deux variétés (ARZ et HIDDAB). Les résultats de l'étude quantitative des extraits montrent l'existence d'une variabilité de la teneur en phénols totaux entre les deux variétés.

L'étude quantitative des polyphénols de ces variétés est effectuée par la méthode de Folin –ciocalteu, qui montre que la teneur des phénols totaux est complètement variable.

Par ailleurs les compositions de ces deux phases sont identifiées par chromatographie sur couche mince, qui résulte que la majorité des polyphénols sont des flavonoïdes de type flavonols et flavones.

D'autre part les résultats de l'activité antioxydante montre que l'extrait de chaque variété possède un pouvoir antioxydant mais d'une façon inégale entre les phases.

Enfin, au lieu de classifier le blé tendre comme étant des céréales ou des plantes purement alimentaires, on pourrait orienter leur exploitation autant que plantes médicinales.

Mots clés : Blé tendre, composés phénoliques, CCM, DPPH, polyphénols, flavonoïdes.

Laboratoire de recherche : Biologie Micromoléculaire et Phytochimie

Jury d'évaluation :

Président du jury :	<i>KHEDARA A</i>	(Pr - UFM Constantine).
Rapporteur :	<i>MERGHEM R</i>	(Pr - UFM Constantine).
Examineur :	<i>TENIOU S</i>	(MAA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 21/06/2016