



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

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

Thème

**Valorisation et pouvoir antioxydant des
composés phénoliques des feuilles de blé dur
(*Triticum durum*) : GTA dur et CIRTA**

Présenté et soutenu par : LECHEHEB NORHENE
CHAABNA CHAIMA

Le : 20 -06-2017

Jury d'évaluation :

Président du jury : KITOUNI. R

Rapporteur : MERGHEM. R

Examinatrice : BELBACHE. H

MAA. Université des Frères Mentouri Constantine

Pr. Université des Frères Mentouri Constantine.

MAA. Université des Frères Mentouri Constantine

Année universitaire 2016- 2017

Remerciements

Qu'il nous soit permis de réunir ici dans une même pensée
reconnaissante
ALLAH.

Nos remerciements vont tout particulièrement au Monsieur le professeur **MERGHEM.R** qui a accepté de nous encadrer comme directeur de ce mémoire et nous a accueilli au sein du Laboratoire biochimie micro-moléculaire et phytochimie à l'université des frères Mentouri Constantine. C'est lui qui a géré et orienté nos travaux afin que nous puissions développer nos connaissances. Nous le remerciant pour sa disponibilité, pour ses conseils bienveillants et la grande attention qu'il a portée à notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur **KITOUNI. R**, pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger ce travail de mémoire et de présider le jury.

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

Nos meilleures salutations à tout le personnel administratif, technique. Aussi, nous remercions tous mes collègues pour leur soutien moral, Nos vifs remerciements vont à tous ceux qui ont collaboré à l'achèvement de ce mémoire.

Dédicace

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon Bonheur ; maman que j'adore.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes frères Mouad, Safouane, Mohamed Lamine et ma sœur Ines, je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude de 2016-2017

CHAIMA

Dédicaces

A la mémoire de mes parents

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mes frères « Achraf et Djamil » Mes oncles et Mes tantes « Houda, Mounira, Nassima et notre petite princesse Anfel » qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

La présente étude n'aurait pas été possible sans le bienveillant soutien de certaines personnes. Et je ne suis pas non plus capable de dire dans les mots qui conviennent, le rôle qu'elles ont pu jouer à mes côtés pour en arriver là. Cependant, je voudrais les prier d'accueillir ici tous mes sentiments de gratitude qui viennent du fond de mon cœur.

NORHÈNE

Table des matières

INTRODUCTION

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : PRÉSENTATION DE L'ESPECE ETUDIÉE

I. Généralités sur les céréales.....	01
II. La production mondiale des céréales.....	01
III. La production et l'importation Algérienne des céréales.....	02
IV. Blé dur.....	02
1. Définition.....	02
2. Classification botanique.....	02
3. Intérêt nutritionnel.....	02
4. Intérêt thérapeutique.....	04

CHAPITRE II : Polyphénols, structures et propriétés

I- Présentation général sur les polyphénols.....	05
II- La biosynthèse des polyphénols.....	05
1. La voie de Shikimate.....	05
2. La voie de l'Acétate / Malonate.....	05
III. Classification des polyphénols.....	06
1. Acides phénoliques.....	06
1.1. L'acide hydroxybenzoïque.....	06
1.2. L'acide hydroxycinnamique.....	07
2. Flavonoïdes.....	07
2.1. Flavanones.....	08
2.2. Flavonols.....	08
2.3. Flavones.....	09
2.4. Isoflavones.....	09
2.5. Flavan-3-Ols.....	10
2.6. Anthocyanidines.....	10
VI- Voie d'absorption, métabolisme et biodisponibilité des polyphénols.....	11
1. Absorption.....	12
2. Distribution.....	12
3. Métabolisme.....	12
4. Elimination	13
V- Intérêts des polyphénols.....	13
1. Vis-à-vis des plantes.....	13
2. Vis-à-vis de l'homme.....	14

CHAPITRE III : Stress oxydatif et l'activité antioxydante des polyphénols

I. Stress oxydatif.....	15
1. Définition.....	15
2. Le system pro-oxydant.....	15
2.1. Les radicaux libres.....	15
2.2. Sources des radicaux libres.....	16
2.2.1. Sources endogènes.....	16

2.2.2. Sources exogènes.....	17
2.3. Implication de stress oxydatif sur l'organisme.....	17
3. Système antioxydant.....	18
3.1. Le Système antioxydant enzymatique.....	18
3.2. Le système antioxydant non enzymatique.....	19
3.2.1. Le système antioxydant non enzymatique d'origine endogène	
3.2.2. Le système antioxydant d'origine alimentaire.....	19
II. L'activité antioxydante des polyphénols.....	20

CHAPITRE IV : Le Cancer et L'Alzheimer

I. Cancer.....	23
1. Définition.....	23
2. Causes.....	23
3. Traitements.....	23
3.1. Méthode classique.....	23
3.2. Phytothérapie.....	23
4. Type de cancer.....	24
4.1. Cancer du sein.....	24
4.2. Cancer de l'estomac.....	25
II. Alzheimer.....	25
1. Définition.....	25
2. Causes.....	25
3. Traitements.....	26
3.1. Médicaments.....	26
3.2. Phytothérapie.....	26

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV : Matériels et Méthodes

I. Matériel végétal.....	27
1. La semence.....	27
2. La récolte.....	28
3. Le broyage.....	28
II. Extraction des composés phénoliques.....	28
1. Extraction solide-liquide.....	28
1.1. Extraction au soxhlet.....	29
1.2. Extraction par macération.....	29
2. Extraction liquide-liquide.....	30
III. Etude quantitatif.....	31
1. Dosages des composés phénoliques totaux.....	31
2. Dosages des flavonoïdes.....	31
IV. Etude qualitatif.....	32
1. Chromatographie sur couche mince.....	32
1.1. Chromatographie sur couche mince analytique.....	32
1.2. Chromatographie sur couche mince préparative.....	34
2. Spectrophotométrie UV-Visible	34
2.1. Analyse spectroscopique des phases dans le Méthanol.....	35

2.2. Analyse spectroscopique des molécules isolées dans le Méthanol.....	35
V. Activité Biologique : Activité Antioxydante.....	35

CHAPITRE V : Résultats et discussion

I.. Etude quantitatif	37
1. Dosages des composés phénoliques totaux	37
2. Dosages des flavonoïdes.....	39
II. Etude qualitatif.....	41
1. Caractéristique chromatographique.....	41
1.1. Résultats de chromatographie analytique sur couche mince.....	41
1.2. Résultats de chromatographie préparative sur couche mince.....	45
2. Caractéristique spectrophotométrique.....	45
2.1. Analyse spectral de standards.....	45
2.2. Analyse spectral des phases.....	45
2.3. Analyse spectral des molécules isolées.....	48
III. Activité Biologique : Activité Antioxydante.....	50
1. La courbe de calibration du DPPH•.....	50
2. Activité Antioxydante de l'acide gallique.....	51
3. Activité Antioxydante des phases.....	52
4. Le pourcentage de la réduction du (DPPH•) par les antioxydants.....	53
 CONCLUSION GENERALES.....	 55
BIBLIOGRAPHIE	
ANNEXE	
RÈSUMÈ	

Liste des tableaux

- Tableau 01** : Classification de blé dur
- Tableau 02** : Composition nutritionnelle des feuilles de blé dur
- Tableau 03** : Les flavonoïdes identifiés dans les feuilles de blé
- Tableau 04** : Principaux acides hydroxybenzoïques
- Tableau 05** : Principaux acides hydroxycinnamiques
- Tableau 06** : Composés phénoliques et leurs propriétés
- Tableau 07** : Nomenclature des principales espèces réactives en oxygène et en azote
- Tableau 08** : Propriétés anticancéreuses, in vitro et in vivo de quelques flavonoïdes
- Tableau 09** : Les caractéristiques des deux variétés de blé dur "**GTA dur**" et "**CIRTA**"
- Tableau 10** : la surveillance de l'humidité des deux variétés **CIRTA** et **GTA dur**
- Tableau 11** : La gamme étalonnage d'acide gallique
- Tableau 12** : La gamme étalonnage du quercitine
- Tableau 13** : Relation entre la fluorescence sous UV et la structure des flavonoïdes
- Tableau 14** : Relation entre RF-structure flavonique
- Tableau 15** : Classement décroissant de teneur des composés phénoliques des phases
- Tableau 16** : Classement décroissant de teneur des flavonoïdes des phases
- Tableau 17** : Résultats de la CCM des phases (E : éther diéthylique, A : Acétate d'éthyle, M : MEC). Pour **CIRTA** et **GTA dur**
- Tableau 18** : Résultats de la CCM de la phase Aqueuse
- Tableau 19** : Comportement chromatographique de la phase Ether diéthylique
- Tableau 20** : Comportement chromatographique de la phase Acétate d'éthyle
- Tableau 21** : Comportement chromatographique de la phase MEC
- Tableau 22** : Comportement chromatographique de la phase Aqueuse
- Tableau 23** : Comportement chromatographique de la phase Ether diéthylique
- Tableau 24** : Comportement chromatographique de la phase Acétate d'éthyle
- Tableau 25** : Comportement chromatographique de la phase MEC
- Tableau 26** : Comportement chromatographique de la phase Aqueuse
- Tableau 27** : Résultats de la CCM préparative des phases (Aqueuse, Ether diéthylique, Acétate d'éthyle). Pour **CIRTA** et **GTA dur**
- Tableau 28** : Caractéristiques chromatographiques et spectrophotométriques des Molécules pures dans la phase aqueuse de **CIRTA** et **GTA dur**
- Tableau 29** : Caractéristiques chromatographiques et spectrophotométriques des Composés pures dans la phase Acétate d'éthyle de **CIRTA** et **GTA dur**
- Tableau 30** : Caractéristiques chromatographiques et spectrophotométriques des Composés pures dans la phase MEC de **CIRTA** et **GTA dur**
- Tableau 31** : Tableau récapitulatif des structure possibles des molécules isolées dans les phases : (Aqueuse, Acétate d'éthyle et MEC chez deux variétés de blé dur **CIRTA** et **GTA dur**).

Liste des figures

- Figure 01** : la production, l'utilisation et le stock des produits céréaliers
- Figure 02** : Structure du noyau phénol
- Figure 03** : les voies de synthèse des polyphénols
- Figure 04** : Squelette de base des flavonoïdes
- Figure 05** : Structure chimique des flavanones
- Figure 06** : Structures chimiques de flavonols
- Figure 07** : Structure chimique de flavones
- Figure 08** : Structure chimique d'isoflavones
- Figure 09** : Structures chimiques de certains flavan-3-ols
- Figure 10** : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes
- Figure 11** : Schéma général de biodisponibilité des polyphénols
- Figure 12** : Les principales sources des radicaux libres
- Figure 13** : Cycle oxydo-réducteur du glutathion
- Figure 14** : Piégeage d'un radical libre par un flavonoïde
- Figure 15** : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques
- Figure 16** : Comparaison entre deux pentahydroxyphénols
- Figure 17** : Comparaison entre le groupement hydroxyle
- Figure 18** : Les caractéristiques structurales responsables à l'activité antioxydante
Des flavonoïdes
- Figure 19** : Courbe de croissance du **GTA dur** et **CIRTA**
- Figure 20** : La courbe de décroissance de l'humidité (%) chez **CIRTA** et **GTA dur**
- Figure 21** : Le protocole classique d'extraction des compose phénoliques
- Figure 22** : Principe réactionnel des flavonoïdes avec le réactif de **Neu**
- Figure 23** : Conjugaison du groupement carbonyle avec les cycles A et B
- Figure 24** : la réduction du radical libre DPPH
- Figure 25** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique
- Figure 26** : Le taux des compose phénoliques totaux d'extrait brut des deux variétés
- Figure 27** : Le taux des compose phénoliques totaux des phases
- Figure 28** : Courbe d'étalonnage du Quercétine
- Figure 29** : Le taux des Flavonoïdes d'extrait brut
- Figure 30** : Le taux des Flavonoïdes des phases
- Figure 31** : Analyse spectrale UV-visibles de la quercétine
- Figure 32** : Analyse spectrale UV-visibles de la rutine
- Figure 33** : Analyse spectrale de la phase Ether diéthylique
- Figure 34** : Analyse spectrale de la phase Acétate d'éthyle
- Figure 35** : Analyse spectrale de la phase MEC
- Figure 36** : Analyse spectral de la phase Aqueuse
- Figure 37** : Structure spectroscopique de la flavone
- Figure 38** : La courbe de calibration du **DPPH•**
- Figure 39** : La cinétique de la réduction du **DPPH•** par l'acide gallique
- Figure 40** : La cinétique de la réduction du **DPPH•** par **GTA dur**
- Figure 41** : La cinétique de la réduction du **DPPH•** par **CIRTA**
- Figure 42** : Le pourcentage du **DPPH•** réduit

Liste des abréviations utilisées

Abs : Absorbance

AcOH : Acide acétique

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

C₁₄H₁₆BNO : Le réactif du Neu ou 2-aminoéthyl diphenyl borate

CCM : Chromatographie sur couche mince

CNCC : Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plantes

DPPH• : 2,2'-Diphényl-1-Pycrylhydrazyl

EAG : Equivalent d'acide gallique

ERN : Espèce réactive de l'azote

ERO : Espèce réactive de l'oxygène.

EtOH : Ethanol

FLO• : Radical flavoxyle

FLOH : Flavonoïde

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion

GSH : Glutathion

GSSG : Glutathion disulfide

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

H₃PMo₁₂O₄₀ : L'acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : L'acide phosphotungstique

MEC : (Butanone). Méthyle Ethyle Cétone

MeOH : Méthanol

Mg EAG/g : Milligramme Equivalent Acide gallique/ Gramme

Na₂CO₃ : Carbonates de Sodium

O₂^{•-} : Anion superoxyde

OH• : Radical hydroxyl

Phe : Phénylalanine

Q : Quercitine

R• : Radical libre oxydant

Rf : Rapport frontal

ROO• : le radical peroxyde.

SOD : Superoxyde dismutase.

Tyr : Tyrosine

UV : Ultra-violet

VIS : Visible

Introduction

La nutrition est un sujet traditionnel de l'éducation pour la santé. D'après Hippocrate (460-370 avant J.C.) souvent appelé « le père de la médecine » disait : « Que ta nourriture soit ta médecine et ta médecine, ta nourriture. Une vue d'ensemble sur cet art de guérison qui devient progressivement une science permet de mettre en relief les travaux de tous ces médecins qui ont soulagé et soigné d'abord par l'alimentation.

Les céréales constituent de loin la ressource alimentaire irremplaçable, la plus importante au monde à la fois pour la consommation humaine et pour l'alimentation du bétail. Le secteur des céréales a une importance cruciale pour les disponibilités alimentaires mondiales.

En ce début du XXI^e siècle, ils fournissent près de la moitié des calories alimentaires pour l'humanité, ils seront sans doute amenés à jouer un rôle fondamental face aux défis démographiques et environnement.

Il y a une face cachée, les céréales sont les catégories d'aliments qui sont vraiment essentielles pour vivre mieux et en santé. *Les Recommandations alimentaires pour la santé des Canadiens* précisent qu'il faut donner la plus grande part aux céréales, pain, autres produits ainsi qu'aux légumes et fruits. Elles peuvent nous apporter des phytonutriments importants pour notre santé.

Les résultats de certaines études épidémiologiques laissent entendre que la consommation de grains entiers serait liée à un risque moindre de maladies cardiovasculaires, de diabète, de certains cancers et d'obésité. Ces effets bénéfiques seraient obtenus grâce à la synergie entre les nombreux composants contenus dans les produits céréaliers à grains entiers, tels les fibres, les **antioxydants**, les vitamines et les minéraux...

Les plantes sont une précieuse source de nombreuses molécules. Ces végétaux synthétisent à côté des macronutriments, minéraux, vitamines, des phytonutriments ou phytoconstituants. Ces phytonutriments ont parfois des activités biologiques d'intérêt pour l'humanité, pharmacologiques (plantes médicinales) ou nutritionnelles (aliment), D'après (**Mergem R ; 2011**) les substances bioactives végétales aujourd'hui intéressent le monde médical, l'industrie pharmaceutique et alimentaire appartiennent essentiellement au groupe des « **composés phénoliques** ».

Les composés phénoliques possèdent un large éventail d'activités biologiques in vitro (antibactériennes, anti-cancérogène, anti-inflammatoire, antioxydante etc...) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques. Les polyphénols présentent ainsi des propriétés antioxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique (stress oxydant).

Finalement, les composés phénoliques contribueraient à assurer le bon fonctionnement des mitochondries, les minuscules fournaies de nos cellules, dont le dérèglement serait à la base du développement du syndrome métabolique, des cancers inflammatoires, des maladies d'Alzheimer et de Parkinson...etc.

Notre travail consiste à étudier :

Valorisation et le pouvoir antioxydant des composés phénoliques des feuilles de blé dur (*Triticum durum*) : GTA dur et CIRTA

Dans le but, d'étudier des propriétés antioxydantes des composés phénoliques qui concernent les feuilles de blé dur (*Triticum durum*) et comparer entre deux variétés (**CIRTA** et **GTA dur**).

Ce travail comporte de deux parties :

La première partie avec ces quatre (4) chapitres a été réservée à une dernière actualité bibliographique, pour cerner toutes les données de la problématique.

Le premier chapitre présente l'espèce étudiée dans notre travail : les feuilles de blé dur (*Triticum durum*).

Le deuxième vise l'étude des composés phénoliques, leurs biosynthèses, leurs principales classes, la biodisponibilité ainsi que les propriétés biologiques.

Dans le troisième décrit le stress oxydant, définit les principales sources de radicaux libres. Et Le quatrième constitue des problèmes majeurs de la santé publique tels que : les maladies d'Alzheimer et le cancer.

La deuxième partie, elle décrit les méthodes d'études phytochimiques utilisées.

La présentation des résultats et leurs interprétations dans **la troisième partie**.

Enfin, dans la conclusion générale, nous avons synthétisé les différents résultats obtenues et développé les perspectives de cette modeste recherche.

Chapitre I :
Présentation de l'espèce
étudiée.

I. Généralité

Les céréales tiennent de loin, la première place quant à l'occupation des terres agricoles, parce qu'elles servent d'aliments de base pour une grande proportion de la population mondiale. (kellou, 2008).

Les céréales sont des graines alimentaires appartenant à dix espèces végétales, trois les plus employés actuellement : blé, riz et maïs ; à cela s'ajoute l'orge, le seigle, avoine, le sorgho, le méteil (mélange de blé et de seigle), triticale (hybride de blé et de seigle). Les blés sont présentent partout dans le monde où deux espèces sont particulièrement cultivées : le blé dur (*Triticum durum*), c'est le blé de semoulerie par excellence ; le blé tendre (*Triticum aestivum*) (Bouasla Abdallah, 2007).

Ces deux espèces ; Ils se différencient par la friabilité de l'amande, qui est plus importante pour le blé tendre et permet la transformation en farine, alors que le blé dur est plus apte à se transformer en semoule, est utilisé pour les pâtes alimentaires, les biscuiteries, couscous, pain, galette, pâtisserie.

II. La production mondiale des céréales

La production céréalière mondiale devrait atteindre 2 597 millions de tonnes en 2017, volume qui représente seulement 0,3 % (9,0 millions de tonnes) de moins qu'en 2016, année record, et demeure supérieur à la moyenne enregistrée sur cinq ans.

Le tassement anticipé de la production céréalière mondiale par rapport à l'an passé serait presque entièrement imputable à la contraction de la production de blé, qui devrait s'établir à 740 millions de tonnes, en retrait de 2,7 % (20,3 millions de tonnes) par rapport à 2016 (Figure 01).



Figure 01 : La production, l'utilisation et le stock des produits céréaliers

III. La production et l'importation Algérienne des céréales

Selon le ministre de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche, M. Abdesslam Chelgham « La production de blé dur a augmenté de 61% », il a réalisé au 10 juillet 2016 une production céréalière de 900 quintaux par hectares. (Eco new, 2016).

La facture d'importation du blé tendre a reculé à 1,24 milliards de dollars contre 1,61 milliards de dollars (-23,05%), pour des quantités passées à 6,43 Mt contre 6,74 millions de tonnes (-4,6%). Pour les importations de blé dur, la facture a reculé à 549,5 millions contre 783,5 millions dollars (-29,87%) malgré une légère hausse des volumes importés à 1,79 millions de dollars contre 1,76 millions de tonnes (+1,8%). (Eco new, 2017).

Le bilan du commerce extérieur algérien des céréales pour 2016 fait ressortir qu'en blé dur, le principal fournisseur de l'Algérie ces deux dernières années est le Canada avec 1 082 687 tonnes en 2016 contre 770 230 t en 2015. Suivi par le Mexique soit 556 538 t en 2016 contre 598 443 t en 2015 (soit une diminution de 7%). (Imene A, 2017).

IV. Blé dur

1- Définition

Le blé dur selon plusieurs auteurs serait une plante anciennement cultivée et était la base de l'alimentation des premières civilisations humaines. Il est cultivé principalement dans les pays du bassin Méditerranéen à climat aride et semi-aride. Elle se caractérise par l'augmentation de la température couplée à la baisse des précipitations, en plus la désertification et la sécheresse, diminuent les potentialités de production des sols agricoles (Abeledo *et al.*, 2008).

2- Classification botanique

Tableau 01 : Classification de blé dur d'après (Feillet, 2000)

Embranchement	Spermaphytes
Sous - Embranchement	Angiospermes
Classe	monocotylédones
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Sous - Famille	Festucoideae
Tribu	Triticeae
Sous - Tribu	Triticineae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum Desf</i>

3- Intérêt nutritionnel

Si les céréales ont toujours été un aliment de base de l'humanité c'est avant tout parce qu'elles contiennent des nutriments énergétiques et structurels indispensables aux organismes humains et animaux : les glucides, les vitamines, les minéraux et oligo-éléments, les fibres et les protéines...

- Les glucides des céréales (sucres et amidon) sont souvent classés comme carbohydate des aliments riches, car ils sont composés d'environ 75% de glucides. (goldberg G, 2003).
- Le blé dur est la source d'énergie principale de l'organisme. D'environ 155 kcal de l'apport énergétique (calories) et 30.4 g des glucides. (Ciquial ; 2013).
- La teneur en protéines chez le blé dur d'environ 5.1 g.
- Le blé dur est source de multiples nutriments : phosphore, manganèse, magnésium, zinc, sélénium, cuivre. Il est pourvu en vitamines B1, B3, B6 et E.

Les jeunes pousses d'herbe de plants de blé, qui correspond au stade où le blé sort de terre, juste après la germination, sont couramment consommés comme jus provenant des pousses fraîches mixées ou encore sous la forme de poudre mélanger à de l'eau et consommés naturellement de cette façon.

- Les feuilles de blé sont incroyablement riches en glucides (sucres), en protéines et bien équilibrés en lipides.
- Il est suggéré dans la recherche que les feuilles de blé permettent d'augmenter la quantité totale d'oxygène qui peut être stocké dans le sang. Cela est dû à sa forte teneur en fer, minéral qui est lié à la production d'hémoglobine et de globules rouges.
- Elles contiennent entre autre de la vitamine A, de la vitamine C, de la vitamine E, de la vitamine B6, B5 et d'innombrables autres minéraux.

Le tableau 02 présente l'apport énergétique (Calories) de feuilles de blé dur les nutriments (protéines, sucres, matières grasses / eau et fibres alimentaires, sels minéraux et vitamines) qui entrent dans sa composition :

Tableau 02 : Composition nutritionnelle des feuilles de blé dur (Crop and Food Research NZ, 2002)

Composition	Quantité	% de l'apport quotidien	Composition Des <u>Minéraux</u>	Quantité	% de l'apport quotidien	Composition Des <u>Vitamines</u>	Quantité	% de l'apport quotidien
Energie	21 cal	-	Magnésium	24 mg	6%	Vitamine A	21.35 µg	2%
Sucre	2 g	2%	Phosphore	75.20 mg	11%	Vitamine B2	0.13 mg	10%
Gras	0.06 g	-	Potassium	147 mg	3%	Vitamine B5	6 mg	120%
Protéines	1.42 g	3%	Calcium	24.20 mg	2%	Vitamine B6	0.2 mg	15%
Eau	95 g	-	Fer	0.61mg	3%	Vitamine B9	29 µg	7%
Fibre	0.10 g	0%	Cuivre	46.50 mg	5%	Vitamine C	3.64 mg	5%

4- L'intérêt thérapeutique

En plus d'avoir une gamme de phytochimiques qui peuvent fournir une partie de la santé Les bénéfiques observés chez les populations consommant des régimes basés sur les aliments végétaux. (Goldberg, 2003).

La consommation des feuilles de blé peut permettre d'attester d'une augmentation du nombre de globules blancs et d'une meilleure production d'anticorps. Des éléments qui aident à combattre un certain nombre de maladies, de virus et affections, ce qui au final contribue à vous garder en forme et en bonne santé. (Alex Simpson, 2016).

Une autre bonne raison de considérer la consommation des feuilles de blé est le fait qu'elle contienne de fortes doses de chlorophylle. (Alex Simpson, 2016).

Les feuilles de blé contiennent des antioxydants qui aident à éliminer les toxines et les radicaux libres de votre corps. En outre, elle contient des composés phénoliques qui aident à éliminer les toxines, les carcinogènes, les radicaux libres, et autres produits chimiques nocifs présents dans le sang. (Alex Simpson, 2016). (Tableau 03)

Tableau 03 : Les flavonoïdes identifiés dans les feuilles de blé

Flavonoïdes	Classe	Références
Apigénine	Flavones	Wojakowska A et al., 2012
Chrysoeriol	//	//
Luteoline	//	//
Tricétine	//	//
Tricétine triméthyl éther	//	//
Tricine	//	//
Quercétine	Flavonol	Peterson et al., 2001
Kaempférol	//	//

Chapitre II :
Polyphénols, Structures
et propriétés.

I. Présentation général sur les polyphénols

Les polyphénols dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire.

On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits, ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement. Contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés.

Les polyphénols sont un très vaste groupe de substances dont l'élément structural commun c'est la présence d'au moins : un **Noyau Aromatique** lié à un groupement **Hydroxyle** (libre ou engagé). (**Figure 02**).

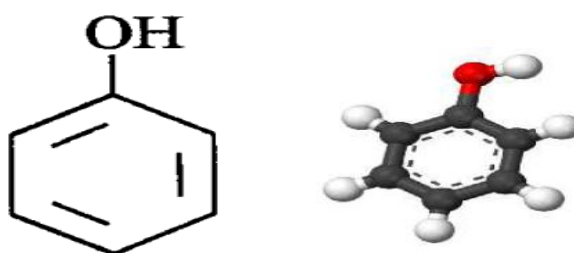


Figure 02 : Structure du noyau phénol.

II. La biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques (**figure 03**) :

1- La voie de Shikimate

Egalement responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr.

2- La voie de l'Acétate/Malonate

Qui consiste à la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe et d'un tissu particulier.

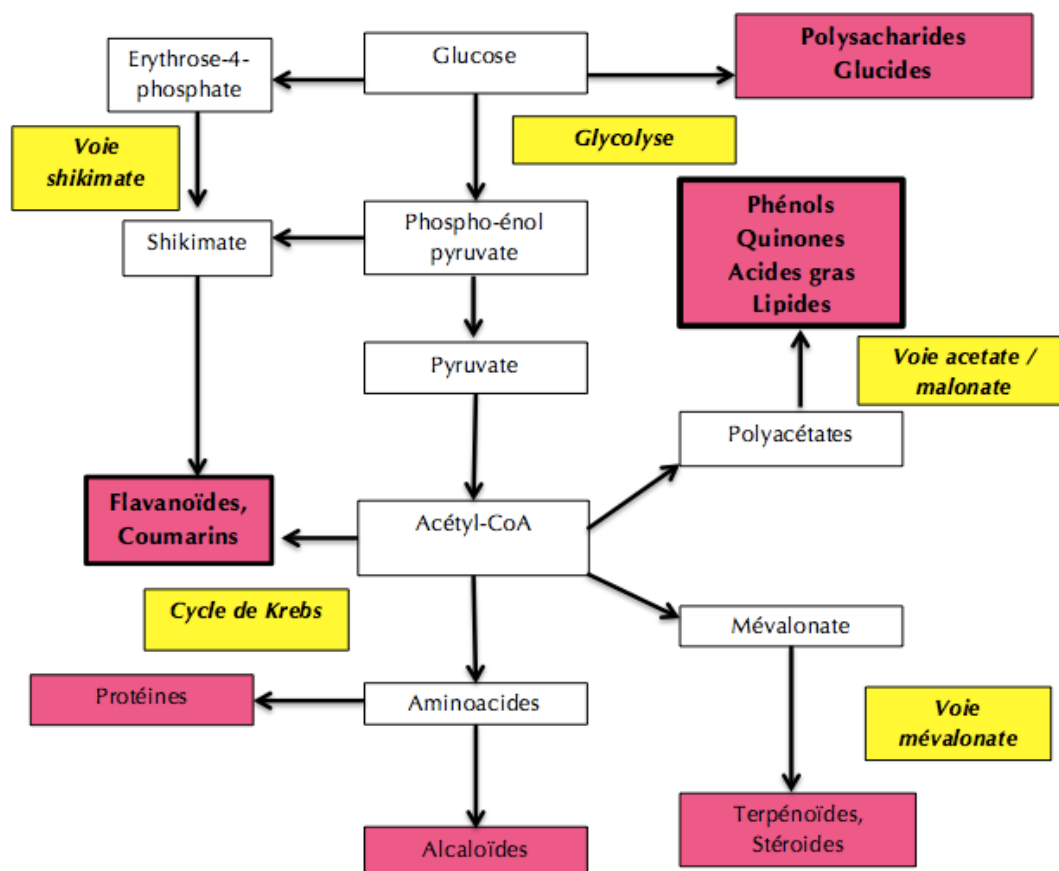


Figure 03 : Les voies de biosynthèse des polyphénols.

III. Classification des polyphénols

Les polyphénols présentent une grande diversité de structures, divisée en flavonoïdes et non flavonoïdes.

1- Acides phénoliques :

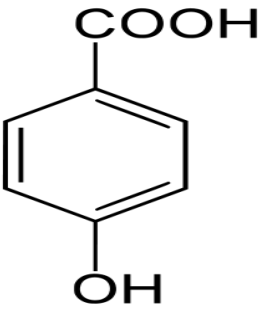
Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique.

➤ 1-1 Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1) :

Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment : les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon. (Manach C et al., 2004)

Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque les plus répandus sont illustrés dans le **tableau 04**.

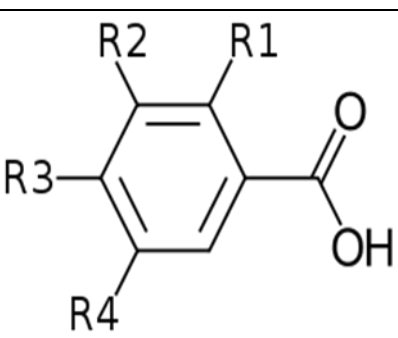
Tableau 04 : Principaux acides hydroxybenzoïques (Navarre et Langlade 2010)

Structure	R4	R3	R2	R1	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy Benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide Protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

➤ **1-2 Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3) :**

Ces composés (**tableau 05**) ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés. (Skerget M ; et *al.*, 2005), Et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglucosides, O-arylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique. (Bruneton J.2008).

Tableau 05 : Principaux acides hydroxycinnamiques (Navarre et Langlade 2010)

Structure	R4	R3	R2	R1	Acides phénoliques
	H	H	OH	H	Acide paracoumarique
	OH	OH	H	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	H	Acide sinapique

2- Flavonoïdes

Sont les composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Leur fonction essentielle semble être la colorisation de la plante ou du fruit : la coloration jaune (pigments flavonols) ou rouge à bleue (pigment anthocyanes). Ces pigments protecteurs, contenus dans

Chapitre II : Polyphénols, Structures, et propriétés

la peau et les pépins du raisin participent à la lutte contre les radicaux libres, substances dont l'excès pour les humains prédispose à la dégénérescence cellulaire. (Gaillac, 1998)

Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et ...).

Ils sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (Ghedira K. 2005). (Figure 04)

Ce squelette commun de 15 carbones C6-C3-C6, formé de trois anneaux (A, B, C), dont deux anneaux benzènes (A et B) unis par un anneau pyrane (C) (Lorrain *et al.*, 2013).

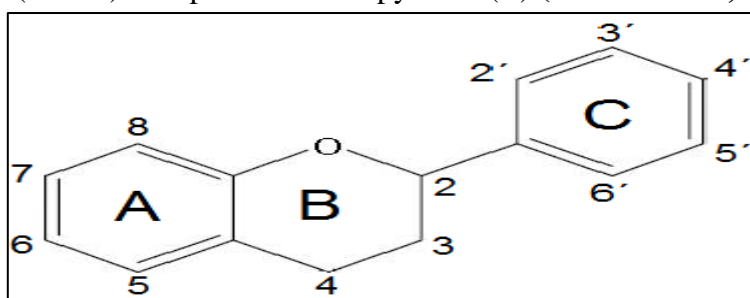


Figure 04 : Squelette de base de flavonoïdes

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes :

➤ Flavanones :

Les flavanones sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2 (Bruneton J. 2008).

Les agrumes constituent la principale source alimentaire de flavanones. Les principaux aglycones sont l'ériodictyol dans le citron, la naringénine dans le pamplemousse et l'hespéritine dans l'orange (Figure 05).

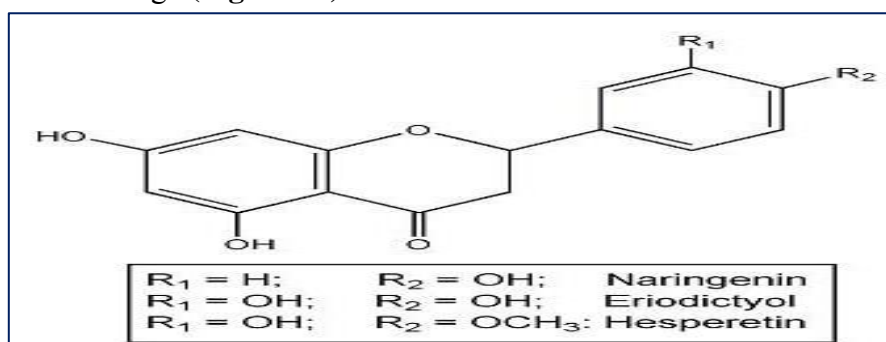


Figure 05 : Structure chimique de flavanones

➤ Flavonols :

Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison en C2-C3 (Figure 06). Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides (Crozier A. 2003).

Chapitre II : Polyphénols, Structures, et propriétés

Leurs principaux représentants sont la quercétine, le kaempférol et la rutine. Les sources les plus riches sont les oignons, le poireau, le chou et le thé contient. (Hertog M.G.L. *et al.*, 1992)

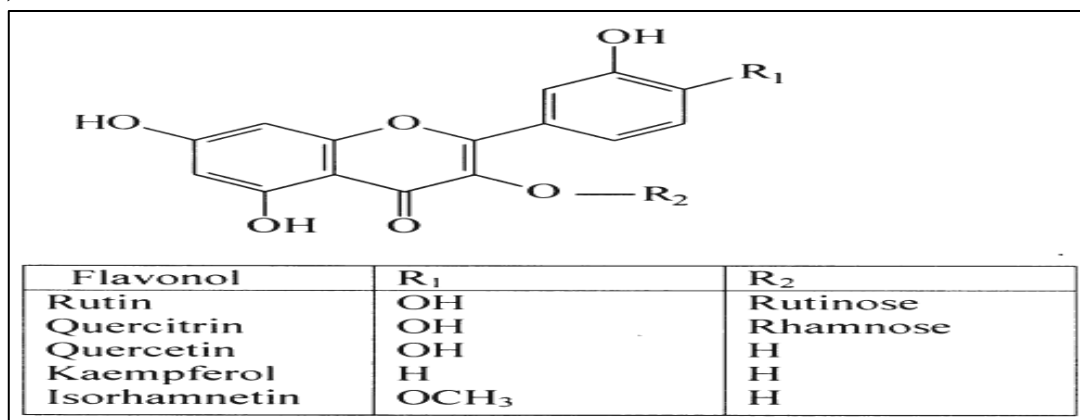


Figure 06 : Structures chimiques de flavonols.

➤ Flavone :

Les flavones naturelles (figure 07) sont des pigments végétaux polyphénoliques, de couleur jaune plus ou moins accentuée, appartenant au vaste groupe phytochimique des flavonoïdes ; existent à l'état libre (aglycones par exemple apigénine et lutéoline) ou le plus souvent sous forme d'hétérosides (*O*-hétérosides par exemple diosmine). Ils ont une seconde double liaison dans l'hétérocycle (Heller *et al.*, 1998). Dans plus de 90%, le cycle A est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C5 et C7 (Bruneton, 1999).

Les flavones sont présentes dans l'huile d'olive et le persil.

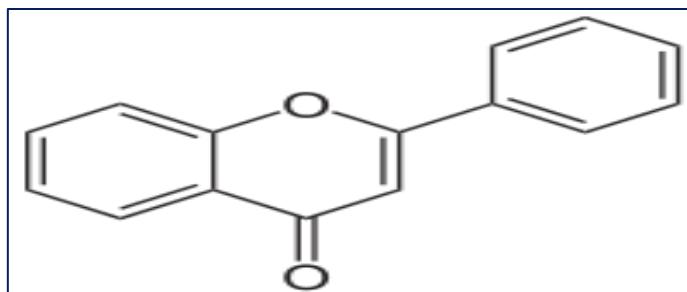


Figure 07 : Structure chimique de flavones

➤ Isoflavone :

Les isoflavones (Figure 08) sont des substances présentes dans le soja et le trèfle violet. Elles sont notamment intéressantes pour l'action qu'elles exercent au niveau de la densité osseuse (notamment chez les femmes âgées ménopausées).

Ils dérivent des flavanones mais outre une oxydation centrale, il y a transposition du cycle latéral du C2 au C4 de l'hétérocycle (Bruneton, 1999).

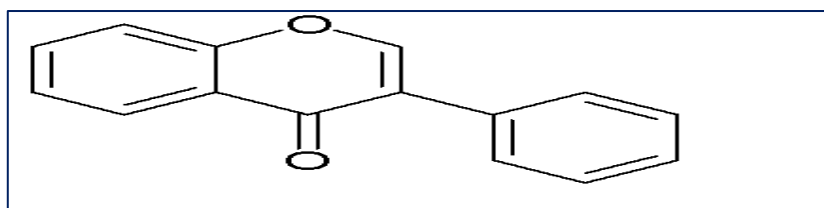


Figure 08 : Structure chimique d'isoflavones

➤ Flavan-3-ols :

Les flavan-3-ols ou dérivés de catéchine (**Figure 09**) sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Ces composés vont des simples monomères, (+)-catéchine et son isomère (-)-épicatechine, jusqu'aux oligomères et polymères, les proanthocyanidines (**Chira K. et al., 2008**).

Les catéchines sont présentes dans le chocolat noir, le thé (thé noir de Chine) et dans les fruits comme l'abricot (**Arts I.C.W. 2000**).

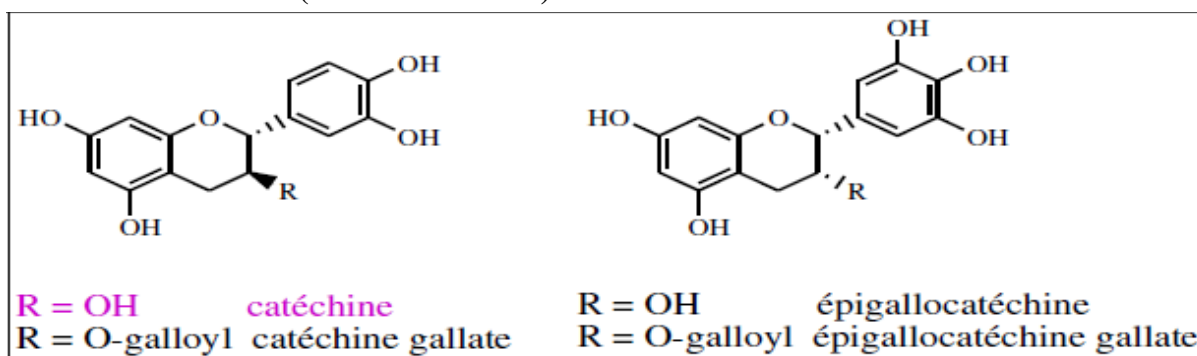


Figure 09 : Structures chimiques de certains flavan-3-ols. (Chira K et al., 2008)

➤ Anthocyanidines :

Ce sont des pigments, principalement sous formes de glycosides stables et hydrosolubles, rouges en milieu acide, virant au bleu violet en milieu neutre ou faiblement alcalin. Les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine (**Figure 10**).

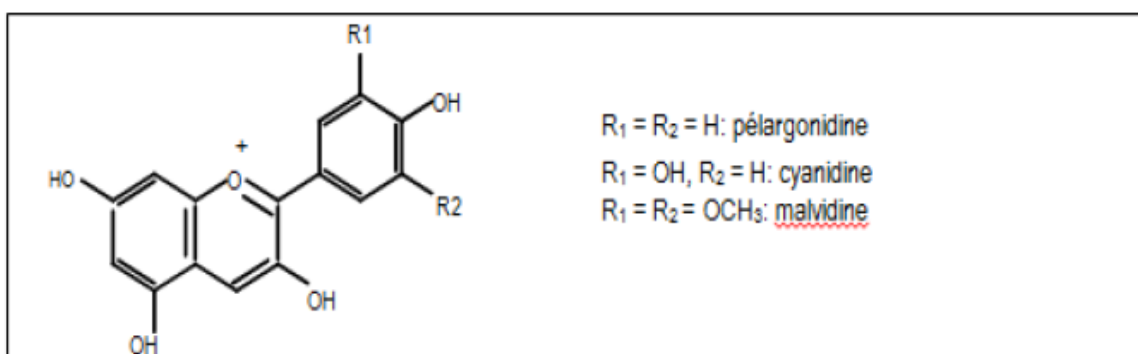


Figure 10 : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes (Chira K ; et al, 2008)

IV. Voie d'absorption, métabolisme et biodisponibilité des polyphénols

La biodisponibilité des phytomicronutriments (**Les composés phénoliques ou polyphénols, Terpènes... se trouvent naturellement dans les aliments du règne végétal**), est très variable d'un phytomicronutriment à l'autre, d'un repas à l'autre, et même d'un individu à l'autre. Elle est en effet affectée par de nombreux facteurs :

- ❖ Composition de la matrice dans laquelle les phytomicronutriments sont incorporés et dans lequel cette matrice est absorbée.
- ❖ Composition en nutriments et micronutriments du repas variations génétiques entre les individus.

Pour améliorer leur biodisponibilité, il faut donc connaître précisément leur métabolisme intestinal et les multiples facteurs qui sont capables d'interférer avec leur absorption. Le phytomicronutriment doit donc être libéré de la matrice alimentaire dans laquelle il a été consommé, absorbé par la cellule intestinale, puis transporté jusqu'à son tissu cible (**Borel P.2004**). (Figure 11).

Il est enfin présenté brièvement des stratégies visant à améliorer la biodisponibilité :

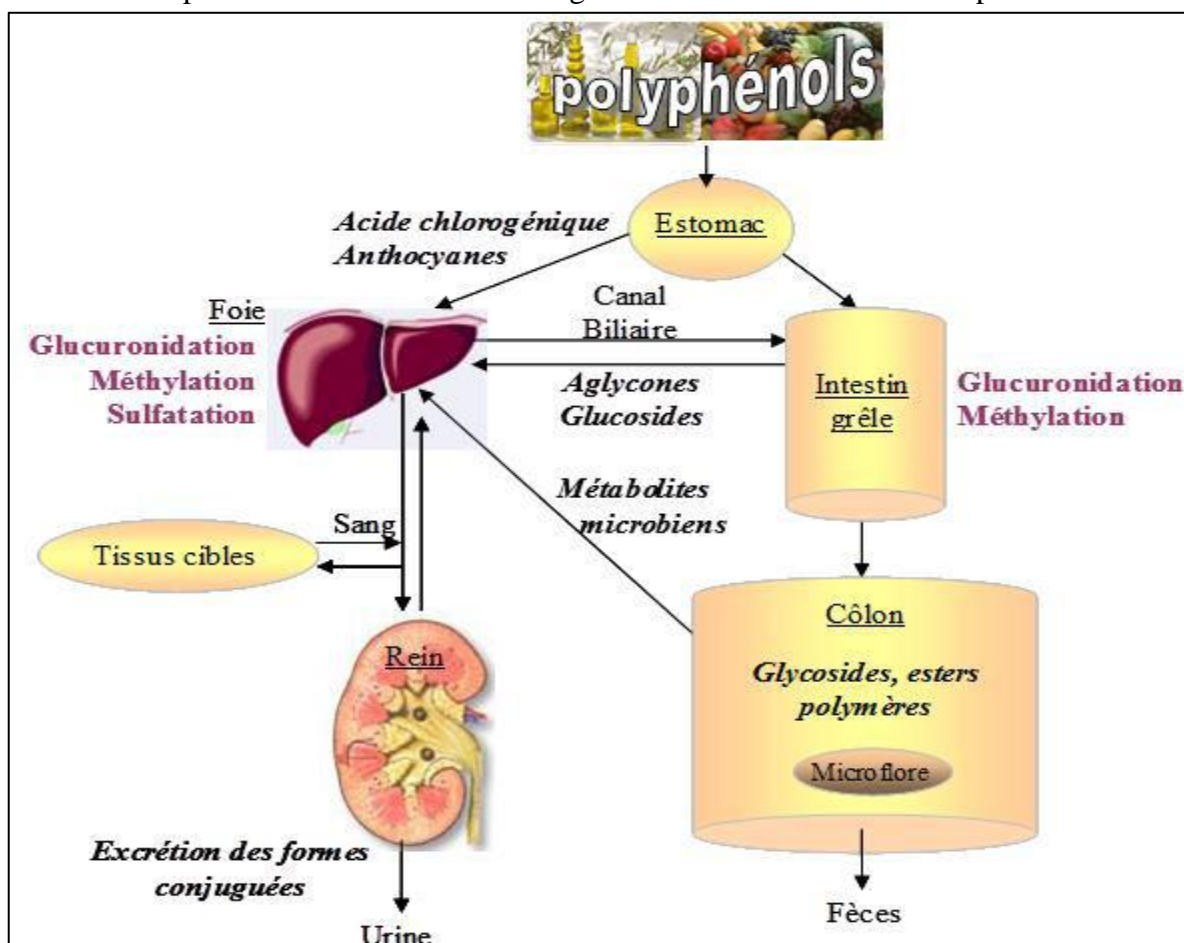


Figure 11 : Schéma général de biodisponibilité des polyphénols (Manach C ; et al., 2006)

Les principales données de la biodisponibilité des polyphénols de l'alimentation sont résumées comme suit :

1- Absorption

❖ Absorption au sein de l'estomac :

Seuls les anthocyanes et quelques acides hydroxycinnamiques sous forme liée tels que l'acide chlorogénique peuvent être absorbés directement à partir de l'estomac. (Manach C., et al., 2005)

❖ Absorption à partir de l'intestin grêle :

A l'exception des flavanols, tous les flavonoïdes se trouvent sous forme glycosylée dans les aliments. (Morand et al., 2000). Donc les aglycones de polyphénols (ex : les flavanols) et les O- β -D-glucosides peuvent être notablement absorbés dans le petit intestin, les premiers par diffusion passive, les seconds selon deux mécanismes.

En effet, si les polyphénols non glycosylés ni estérifiés, qui sont présents surtout dans les suppléments, peuvent être absorbés directement par l'intestin grêle (Gonthier et al., 2003).

❖ Absorption à partir du côlon :

Les polyphénols non absorbés au niveau de l'estomac et de l'intestin grêle atteignent le côlon, puis sont catabolisés par la microflore colique, ayant des activités enzymatiques diverses, avant d'être absorbés. En particulier, la rutine, un flavonol commun de l'alimentation (quercétine (3-O- β -D-(L-rhamnosyl--1,6-D-glucoside)), doit être hydrolysée par les enzymes bactériennes avant d'être absorbée au niveau du côlon et atteint la circulation sanguine (sous forme de conjugués de quercétine) avec un retard notable par rapport aux cas des glucosides de quercétine (abondants dans l'oignon), absorbés dès le petit intestin.

2- Distribution

Les flavan-3-ols et les procyanidines non métabolisés sont retrouvés dans le tractus gastro-intestinal. Les dérivés sulfatés ainsi que les dimères (B1, B2, B3 et B4) et trimères (C2) de procyanidines sont, quant à eux, détectés dans les urines alors que seuls les métabolites glucuronides ou méthyl-glucuronides atteignent le plasma, le foie et les reins. Aucune donnée ne montre que ces composés atteignent le cerveau (Aron P, 2008).

3- Métabolisme

Dans les entérocytes et ensuite au niveau du foie, les polyphénols sont conjugués et forment des dérivés méthylés, sulfatés, glucuronides ou glucuronides-sulfatés.

Selon Santos-Buelga et Scalbert (2000). Cette transformation des polyphénols en différents métabolites permet d'éviter la formation de quinones toxique et facilite l'excrétion par augmentation hydrophilicité.

La méthylation des polyphénols est catalysée par la catéchol-O-méthyl transférase, présente dans de nombreux tissus. Sa plus forte activité est mesurée dans le foie et les reins.

La méthylation a lieu essentiellement en position 3' sur le groupement catéchol du polyphénol bien qu'une faible proportion de dérivés 4'-O-méthylés puisse être produite.

Les phénol-sulfotransférases catalysent le transfert d'un sulfate provenant du 3' phosphoadénosine-5'phosphosulfate sur un groupement hydroxyl du polyphénol. Le foie constitue le site principal de sulfatation des polyphénols (**Manach C., et al., 2006**).

La glucuronidation des polyphénols est assurée par les UDP-glucosyltransférases retrouvées dans de nombreux tissus (**Kaldas M., et al., 2003**).

4- Elimination

Les métabolites conjugués de plus haute masse moléculaire sont principalement excrétés dans la bile, alors que ceux de plus faible masse moléculaire sont plutôt excrétés par voie urinaire. .

Les bactéries intestinales possèdent des β -glucuronidases capables de libérer les aglycones des métabolites conjugués sécrétés dans la bile. Les aglycones peuvent donc être réabsorbés, entraînant un cycle entérohépatique (**Manach C., et al., 2006**).

La faible biodisponibilité des polyphénols d'intérêt alimentaire est également soulignée dans l'excrétion urinaire faible, typiquement inférieure à 10%, à l'exception des isoflavones, de certains acides hydroxycinnamiques et des flavanols. (**Manach C., et al., 2005**)

V. Intérêts des polyphénols

Pour les nutritionnistes, l'intérêt des polyphénols a pris de l'ampleur depuis que certaines de ces substances se voient attribuer un certain nombre d'activités bénéfiques que ce soit pour les plantes (sources de ces polyphénols) que pour l'homme (consommateur de ces polyphénols).

❖ 1- Vis-à-vis des plantes :

Les travaux plus anciens ont montré que les polyphénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation (**Parr et Bolwell, 2000**).

Les polyphénols et en particulier les anthocyanes et certains flavonoïdes interviennent dans la qualité alimentaire des fruits et participent à la coloration des fruits mûrs. Ces composés déterminent également la saveur des fruits : les tannins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non mûrs (**Talcott et Howard, 1999**).

Les flavanones sont responsables de l'amertume des citrus et peuvent donner naissance, par transformation chimique, à des dihydrochalcones à saveur sucrée (**Hollman et al., 1996**).

D'autres composés phénoliques sont impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. De plus, la capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques. Par ailleurs, certains polyphénols responsables de la coloration et l'odeur des fleurs

Chapitre II : Polyphénols, Structures, et propriétés

représentent des signaux visuels ainsi que sensoriels qui attirent les insectes pollinisateurs (Robards *et al.*, 1999).

❖ 2- Vis-à-vis de l'homme :

La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et l'hypertension (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Ces composés montrent des activités anticancéreuses, antivirales, antibactériennes. anti-allergique, antiathérogène, antioxydant, anti-inflammatoire, antithrombotiques, cardioprotecteur et les effets vasodilatateurs (Falleh *et al.*, 2008).

Tableau 06 : Composés phénoliques et leurs propriétés :

Classes de polyphénols	Activités	Références
Acide phénoliques	Anti carcinogènes - Anti mutagènes Anti oxydants	Ferguson ; 2001 Sarni-Manchado et Chenyier ; 2006
Flavonoïdes	Anti carcinogènes Anti mutagènes. Anti oxydants. Anti microbienne. Anti fongique.	Ferguson ; 2001 Alothane <i>et al.</i> , 2009 Ulanowska <i>et al.</i> , 2006 Ortuno <i>et al.</i> , 2006
Anthocyanes	Anti oxydants.	Sarni-Manchado et Chenyier ; 2006 Ferguson ; 2001
Tanins	Anti oxydants - Anti tumoral.	Mousavinejade <i>et al.</i> , 2009

Chapitre III :
Stress oxydatif
et l'activité antioxydante
des polyphénols

I. Stress oxydatif

1- Définition

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants/antioxydants » en faveur des pro-oxydants (**Almasiova et al., 2012**). Ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants ou d'une altération des mécanismes de défense (**Morena et al., 2002**).

Le système pro-oxydant comprend des espèces appelées les radicaux libres. Une augmentation de la présence de ces derniers est le résultat d'une augmentation de leur production du système antioxydant chargé de les neutraliser (**Djellouli, 2013**).

2- Le system pro-oxydant

2-1- Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) contenant un électron non apparié. La présence de ce dernier permet à ces molécules d'avoir une grande instabilité exprimée par une réactivité extrême et une vie très courte, jouant un rôle d'accepteurs d'électrons soustrairont à d'autres molécules voisines qui deviennent à son tour un radical libre.

Il y a plusieurs types de cette espèce chimique notamment : les espèces réactives de l'oxygène ERO, les espèces réactives de l'azote ERN (**Tableau 07**).

Tableau 07 : Nomenclature des principales espèces réactives en oxygène et en azote (Halliwell et Gutteridge, 2008).

	Radicaux libres	Non-radicaux
Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	Anion superoxyde, $O_2^{\cdot-}$ Radical hydroxyl, HO^{\cdot} Radical hydroperoxyl, HO_2^{\cdot} Anion carbonate, $CO_3^{\cdot-}$ Radical peroxy, RO_2^{\cdot} Radical alkoxy, RO^{\cdot} Dioxyde de carbone, $CO_2^{\cdot-}$ Anion oxygène singulet, O_2^{\cdot}	Peroxyde d'hydrogène, H_2O_2 Acide Hypobromeux, $HOBr$ Acide Hypochloreux, $HOCl$ Ozone, O_3 Oxygène singulet, 1O_2 Peroxyde organique, $ROOH$ Anion peroxydinitrite, $ONOO^-$ Acide peroxydinitrique, $ONOOH$ Anion peroxydinitrate, O_2NOO^- Anion nitrosoperoxydicarbonate, $ONOCOO_2^-$ Anion peroxomonocarbonate, $HOOCO_2^-$
Espèces réactives de l'azote (ERN)	Monoxyde d'azote, NO^{\cdot} Dioxyde d'azote, NO_2^{\cdot} Radical nitrate, NO_3^{\cdot}	Acide nitreux, HNO_2 Cation nitrosyl, NO^+ Anion nitroxy, NO^{\cdot} Tetroxyde dinitreux, N_2O_4 Trioxyde dinitreux, N_2O_3 Anion peroxydinitrite, $ONOO^-$ Acide peroxydinitrique, $ONOOH$ Anion peroxydinitrate, O_2NOO^- Cation nitrile, NO_2^+ Alkyl-peroxydinitrites, $ROONO$ Alkyl-peroxydinitrates, RO_2ONO Chlorure de nitrile, NO_2Cl Peroxyacétyl nitrate, $CH_3C(O)OONO_2$

2-2- Sources des radicaux libres :

Il existe de nombreuses sources de radicaux libres. Elles sont classées en deux catégories, les sources endogènes et les sources exogènes (**Figure 12**).

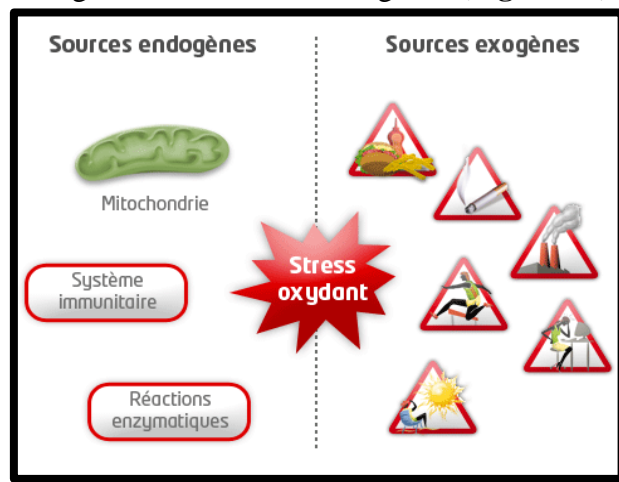


Figure 12 : Les principales sources des radicaux libres.

➤ **2-2-1 Sources endogènes :**

- **L'auto-oxydation de molécules** : le produit direct de ces auto-oxydations est souvent l' $O_2^{\cdot-}$. Ainsi, l'auto-oxydation de la dopamine est en partie impliquée dans le processus apoptotique lors de pathologies neurodégénératives.

- **La xanthine oxydase** : elle catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique. Mais elle peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique. Dans ces réactions, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron produisant ainsi l' $O_2^{\cdot-}$ (Phaniendra *et al.*, 2014).

- **La NADPH oxydase** : elle a un rôle fondamental dans la réponse immunitaire surtout la lutte contre les micro-organismes. En effet, lors de la phagocytose, cette enzyme catalyse la formation d' $O_2^{\cdot-}$.

- **Le réticulum endoplasmique lisse** : le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques, produisant ainsi des ERO. Il semble que cette production radicalaire régule certaines fonctions du réticulum (Sahnoun *et al.*, 1997).

- **Les peroxysomes** : l' H_2O_2 est utilisé comme substrat de la catalase peroxysomale, afin de réaliser des réactions de peroxydation d'autres substrats. Ces réactions sont importantes dans le processus de détoxification présent dans le foie et le rein.

➤ **2-2-2 Sources exogènes :**

- **Les rayonnements** : sont capables de produire des $O_2^{\cdot-}$ ou O_2^- après activation de photo sensibilisants (Gardès-Albert, *et al.*, 2003).

- **Les métaux toxiques** : notamment le chrome, le cuivre et le fer génèrent en présence de peroxyde d'hydrogène et des radicaux hydroxyles très réactifs par une réaction appelée réaction de Fenton : $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \cdot OH$.

2-3- Implication de stress oxydatif sur l'organisme :

Les radicaux libres attaquent les composants cellulaires, les lipides, les glucides, les protéines et les acides nucléiques.

- **Les lipides** : principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle, qui est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, et qu'il sera oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique (Esterbauer *et al.*, 1992).
- **Les glucides** : le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes (Barnoud *et al.*, 2007).
- **Les protéines** : l'électron non apparié des radicaux libres peut attaquer la structure de certaines protéines, en particulier les protéines porteuses d'un groupement sulfhydryle (-SH), c'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et entraîner la formation d'une fragmentation ou d'une dénaturation et des ponts entre les protéines, (Lacolley *et al.*, 2007)
- **Les acides nucléiques** : les radicaux libres et en particulier OH^{\cdot} , peuvent attaquer l'ADN. Ils réagissent avec les nucléotides. Ils peuvent mener : des modifications des bases azotées, la fragmentation de l'ADN et des ruptures de brins ou à des pontages entre des bases.

3- Système antioxydant

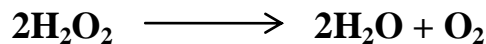
Les antioxydants sont définis par (Halliwell ; 1999) comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». Ils peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine.

➤ 3-1 Le Système antioxydant enzymatique

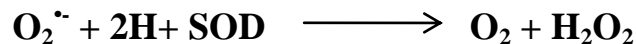
Qui est constitué de trois métalloenzymes essentielles : la catalase, les superoxydes dismutases et les glutathions peroxydases.

- **La catalase** : (EC1.11.1.6) est une enzyme responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène produit dans les condition physiologiques (Niki *et al.*, 2007).

La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène :



- **Les superoxydes dismutases** : ou SOD (EC 1.15.1.1) sont des antioxydants enzymatiques ubiquitaires. ils représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant en assurant l'élimination de l' $\text{O}_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire selon la réaction suivante (Haleng *et al.*, 2007):



- **Les Glutathions peroxydases (GPX)** : (EC 1.11.1.19) sont des enzymes tétramérique à sélénium qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion /glutathion disulfide (GSH/GSSG) (Matés *et al.*, 1999 ; Lacolley *et al.*, 2007) (Figure 13).

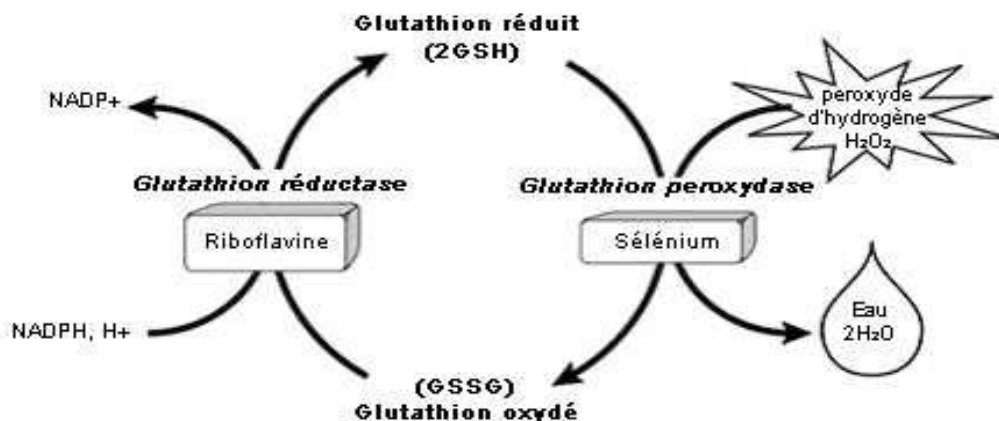


Figure 13 : Cycle oxydo-réducteur du glutathion (Hagen *et al.*, 1990)

➤ **3-2 Le système antioxydant non enzymatique**

❖ **3-2-1 Le système antioxydant non enzymatique d'origine endogène :**

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine.

a- Le glutathion

C'est un tripeptide (Lγglutamy-l-cystéinyl-glycine) appartient au groupe des thiols parmi les plus abondants dans la cellule (**Raman et Berry, 2011**).

b- L'acide urique

A un pH physiologique l'acide urique est majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux (**OH•, ROO•, NOO•**) (**Haleng et al., 2007**).

c- La bilirubine

Ce composé liposoluble est capable de piéger les radicaux peroxyde, l'oxygène singulet et le radical hydroxyle, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine contre les attaques radicalaires (**Algeciras-Schimmich et al., 2007**).

❖ **3-2-2 Le système antioxydant non enzymatique d'origine alimentaire :**

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ERO, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

a- La Vitamine E

Cette vitamine fait partie de la famille des tocophérols, α-tocophérols est la forme la plus active (**Cuvelier et al., 2003**),

Il est capable de piéger chimiquement l'oxygène singlet et aussi de réagir avec le radical hydroxyle **HO•**. Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydés **ROO•** pour former un radical tocophéryle. (**Dellatre et al., 2005**).

b- La vitamine C

Ou acide L-ascorbique est un antioxydant hydrosoluble souvent considéré comme le principal antioxydant des fluides extracellulaires. En plus de réagir directement avec les ERO, la vitamine C permet la régénération d'autres antioxydants, tel que l'α -tocophéol, le glutathion, l'urate et les α -carotènes. (**Carr et Frei, 1999**).

c- Le β carotène

Il appartient à la grande famille des caroténoïdes. Le β-carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyles et peroxydes et ainsi d'inhiber les chaînes de peroxydations lipidiques, il neutralise également l'oxygène singulet.

d- Les polyphénols

Sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes (thé, raisin, cacao, blé, orge, maïs, fruits et légumes...). Ils sont capables de piéger des radicaux libres et les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices.

II. L'activité antioxydante des polyphénols

Les polyphénols notamment les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes. Car ils sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (**Fuhrman et al., 1995**).

L'action antioxydante de ces phytonutriments ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, elle se manifeste aussi par la chélation des traces d'ions métalliques responsables de la production d'ERO. (**Cotelle, 2001**).

➤ **La capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres :**

les flavonoïdes (**Fl-OH**) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants (**R•**), comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle, par transfert d'hydrogène et le radical flavonoxy (**Fl-O•**) qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (**Jovanovic et al., 1998**) (**Figure 14**).

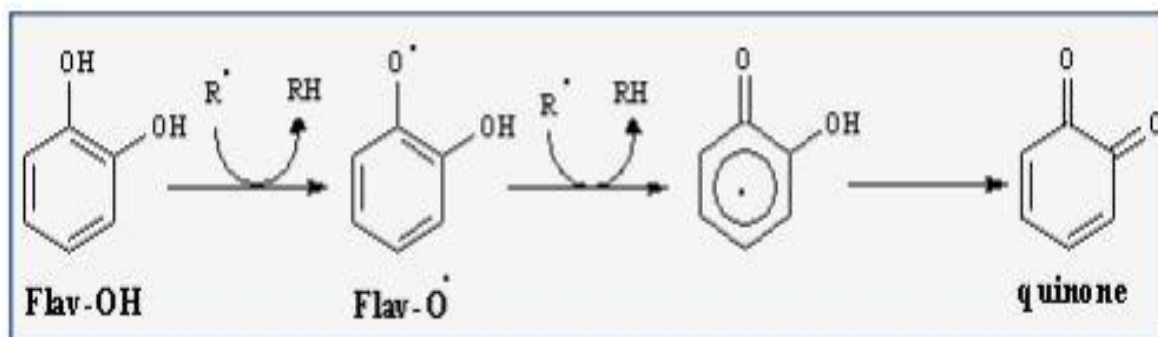


Figure 14 : Piégeage d'un radical libre par un flavonoïde.

➤ **La capacité de flavonoïdes de chélation des ions métalliques :**

La quercétine est le flavonoïde la plus active. La **figure 15** résume les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques :

- Un noyau catéchol sur le cycle B.
- Les groupes 3- hydroxyle et 4-oxo du cycle C.
- Les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C (**Van Acker et al., 1996**).

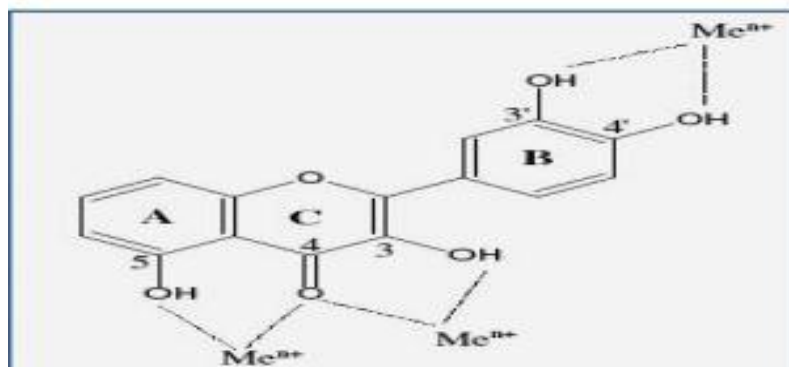


Figure 15 : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Me^{n+}) (Van Acker *et al.*, 1996).

➤ **Caractéristiques structurale et la activité antioxydantes des flavonoïdes :**

Plusieurs travaux décrivent les relations structures-activités des flavonoïdes (Rice-Evans *et al.*, 1996 ; Fuhrman *et al.*, 1995 ; Harborne *et al.*, 2000 ; Van *et al.*, 1996 ; woodman *et al.* 2005 ;). Ces travaux permettent de connaître les activités antioxydantes de ces molécules en fonction de leurs caractéristiques structurales. En fait, leur activité antiradicalaire nécessite :

- ❖ Les molécules possédant une double liaison entre les carbones C2-C3 et un **groupement** carbonyle en C4 sont les flavonoïdes dont les activités antioxydantes. Les plus marquées, ainsi l'activité de la quercétine (un flavonol) est deux fois plus élevée que celle de la catéchine (flavan-3-ol). (Harborne *et al.*, 2000) (Figure 16).

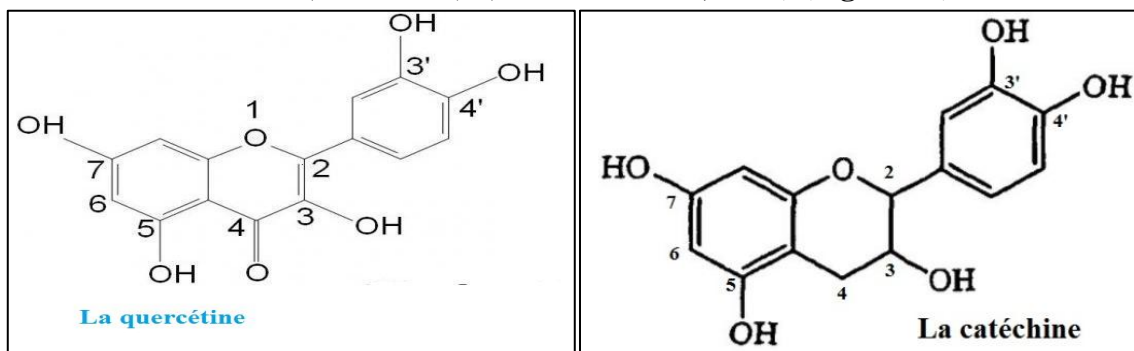


Figure 16 : Comparaison entre deux pentahydroxyphénols (Harborne *et al.*, 2000).

- ❖ La structure ortho-diphénolique du cycle B (=les groupements hydroxyles en position (C3'-C4')) ainsi qu'un nombre important de résidus hydroxyles augmenteraient le potentiel antioxydant des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé (Fuhrman *et al.*, 1995 ; woodman *et al.* 2005).

- ❖ Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle en position (C3) fortement réactif. (Rice-Evans *et ses collaborateurs* ; 1996) ont démontré l'importance de ce dernier. En effet, La glycosylation du groupe C3-OH de la quercétine (cas de la rutine) ou sa suppression (cas de la lutéoline) diminue l'activité antioxydante (Figure 17).

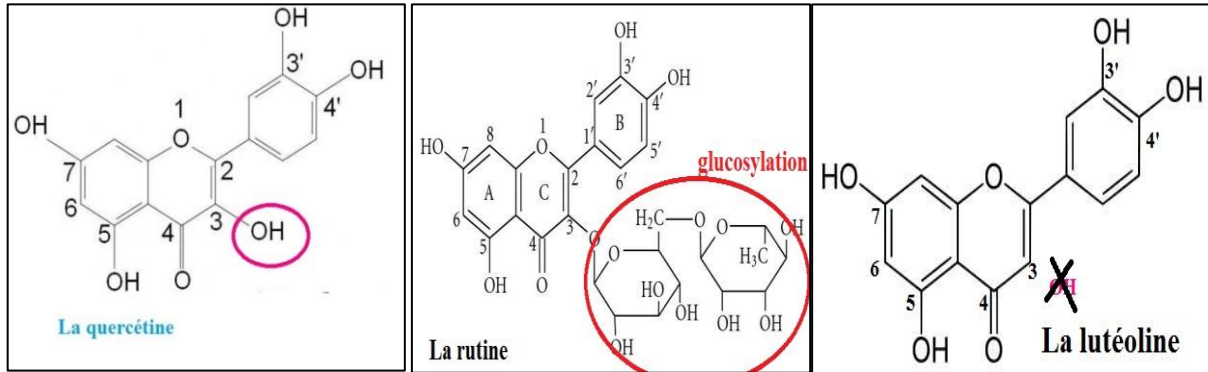


Figure 17 : Comparaison entre le groupement hydroxyle (C3-OH) (Evans et al., (1996).

Concernant la capacité de piéger les radicaux libres, chélation des ions métalliques et caractéristiques structurales des flavonoïdes. La quercétine satisfait à tous ces critères, (Evans et al., 1996).(Figure 18)

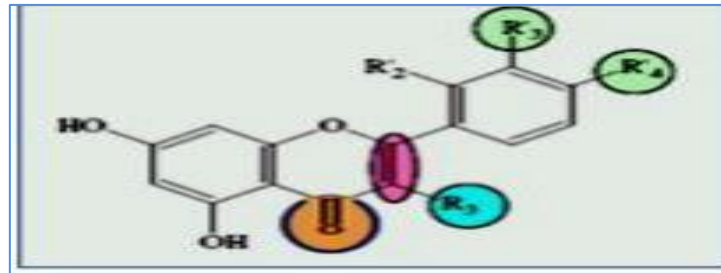


Figure 18 : Les caractéristiques structurales responsables à l'activité antioxydante des flavonoïdes (Evans et al., 1996).

Chapitre IV :
Cancer et Alzheimer

I- Le cancer

1- Définition

Le cancer est une maladie multifactorielle qui correspond à une multiplication anarchique et incontrôlée de certaines cellules normales de l'organisme. Ces cellules échappent aux mécanismes normaux de différenciation, de régulation de leur multiplication et résistent à la mort cellulaire programmée. Pour qu'un cancer se développe, la cellule doit accumuler plusieurs mutations dans son génome (Macdonald et al., 2003).

Ces mutations sont le résultat d'agressions par des facteurs environnementaux, ou d'origine naturelle lors de la division cellulaire. Le cancer se développe à partir d'une seule cellule saine en un ensemble de cellules cancéreuses (Macdonald et al., 2003; Mareel et Leroy, 2003).

2- Les Causes du cancer

Les progrès en médecine permettent aujourd'hui de définir les facteurs qui favorisent le cancer et donc favoriser le développement de cellules cancéreuses :

- **Les agents physiques** : tels que des aliments, des polluants ou des substances Chimiques...
- **L'hygiène de vie** : la consommation d'alcool, tabac, etc., l'exposition à des toxines environnementales, stress et le manque d'exercice physique.
- **Causes infectieuses** : certains virus, bactéries ou parasites peuvent augmenter le risque de développer un cancer.

3- Traitement

3-1 **Traitement par méthodes classiques :**

La Chirurgie, La Chimiothérapie, La Radiothérapie et l'immunothérapie.

3-2 **Prétraitement Phytothérapie :**

Elle est basée sur l'utilisation des propriétés pharmacologiques naturelles des molécules (les composés phénoliques) contenues dans les plantes. Certaines de ces propriétés sont également utilisées par la médecine occidentale, pour la confection de médicaments contrôlés.

➤ **Les Composés phénoliques et Cancer :**

Les polyphénols permettraient de lutter, à tous les stades de la cancérogénèse, contre de nombreux cancers comme celui du colon, de l'estomac, du foie, du sein, de la prostate, du poumon, de la peau, de la vessie (Hadi, Bhat et al., 2007).

Alors que la plupart des flavonoïdes / phénoliques sont considérés comme sûrs, la thérapie flavonoïde / phénolique ou l'utilisation chimiopréventive. (Galati G1, O'Brien PJ, 2004).

Conduisant à la croissance, la différenciation et l'apoptose. Leur action peut être attribuée non seulement à leur capacité d'agir comme antioxydants, mais aussi à leur capacité à interagir avec les mécanismes cellulaires de base.

Ces interactions comprennent l'interférence avec les récepteurs membranaires et intracellulaires, la modulation des cascades de signalisation, l'interaction avec les enzymes basiques impliquées dans la promotion des tumeurs et les métastases et enfin les interactions

directes ou indirectes avec les acides nucléiques et les nucléoprotéines. (Kampa M *et al.*, 2007).

Tableau 08 : Propriétés anticancéreuses, *in vitro* et *in vivo* de quelques flavonoïdes.

Flavonoïdes	Cibles	Actions	Références
Quercétine, kaempférol, apigénine, lutéoline	Cellule Jurkat T, MDA-MB-231	- Mort par apoptose des Cellule Jurkat T - Inhibition de la croissance des cellules MDA-MB-231 xéno greffées dans des souris	Chen & Dou, 2008.
Quercétine	Cellules cancéreuses SKBr3, MDA-MB- 453, HeLa	- Activité antiproliférative et arrêt de cycle cellulaire en phase G1.	Jeong <i>et al.</i>, 2009
Quercétine, myricétine, lutéoline	Cellules cancéreuses HEP2 et CK2	- Effet cytotoxique	Durgo <i>et al.</i>, 2007
Rutine	Cellules leucémiques murines WEHI-3	- Inhibition de la croissance des cellules WEHI-3 à des souris BALB C.	Lin <i>et al.</i>, 2009
Kaempférol,	Cellules cancéreuses	- Activité antiproliférative.	Susanti <i>et al.</i>, 2007.

4-Type du cancer

4.1. Cancer du sein :

Il a été constaté que le jus d'herbe de blé pris au cours de la chimiothérapie peut réduire la myélotoxicité. (Bar-Sela G1 *et al.*, 2007)

Des études épidémiologiques suggèrent qu'un régime de flavonoïdes enrichi est lié à une diminution du risque de cancer du sein. (Magne Nde CB *et al.*, 2015)

Le cancer du sein ont été trouvées pour les flavones, les flavonols, Les flavonols et les isoflavones, (métabolite dse mammifères des lignanes végétales) a été associée à une diminution significative du risque de cancer du sein dans une étude de cas-témoins chez des patients atteints de cancer du sein (Ingram *et al.*, 1997).

Par rapport aux autres flavonoïdes, la luteoline était habituellement parmi les plus efficaces, elle inhibait de manière significative la croissance des tumeurs de manière dépendante de la dose en ciblant STAT3 par deux voies: la dégradation dépendant de l'ubiquitine dans STAT3 phosphorylée par Tyr705 et la régulation négative progressive dans le STAT3 sévalé par Ser727 par inactivation du CDK5, provoquant ainsi une apoptose par régulation à la hausse dans Fas / CD95 (Selvendiran *et al.*, 2006).

La lutéoline peut retarder ou bloquer le développement de cellules cancéreuses in vitro et in vivo par la protection contre les stimulants cancérogènes, par l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales, par l'induction de l'arrêt du cycle cellulaire et par l'induction de l'apoptose par des voies de signalisation intrinsèque et extrinsèque. (Cotroneo et al., 2002).

➤ Médicaments :

❖ **Luteolin 50 mg** : les chercheurs ont découvert que la lutéoline permet de :

- L'induction de l'apoptose et à l'inhibition de la prolifération cellulaire, de l'angiogenèse et des métastases.
- Sensibilise les cellules cancéreuses à la cytotoxicité induite par la suppression des voies de survie cellulaire (PI3K, NF-kB) et par la stimulation des voies de l'apoptose, y compris celles qui induisent le suppresseur de tumeur p53.

4.2. Cancer d'estomac :

Il a été démontré que la consommation des flavonoïdes diminue le risque et l'incidence de plusieurs types de cancers à savoir le cancer de l'estomac (Garcia-Closaset al., 1999).

Les apports élevés de quercétine et de kaempferol ont été associés à une réduction de 40 et 50% du risque du cancer de l'estomac.

II- *La maladie d'Alzheimer*

1- Définition

La maladie d'Alzheimer est découverte par le neurologue et psychiatre allemand Dr **Alois Alzheimer**, C'est une affection neurodégénérative qui entraîne une détérioration progressive des cellules nerveuses, due à une accumulation de protéines anormales dans le cerveau (protéines bêta-amyloïde (β A) et tau). Ces accumulations forment les deux lésions cérébrales de la maladie, appelées plaques amyloïdes et dégénérescences neurofibrillaires (Murphy et LeVine 2010).

2- Les causes de la maladie

Dans 1% des cas de la maladie d'Alzheimer, les causes sont bien connues car la maladie est due à la présence de mutations sur des gènes identifiés. Il s'agit de formes génétiques « autosomiques dominantes » : si une personne est porteuse de la mutation, elle développera obligatoirement la maladie d'Alzheimer. De plus, elle aura 50% de probabilité de transmettre ce gène muté à ses descendants ; voilà pourquoi des familles entières de personnes sont atteintes de la maladie d'Alzheimer. Ces formes familiales se développent précocement, avant 60 ans.

Mais dans 99% des cas de la maladie d'Alzheimer, on ne connaît pas la cause, probablement parce qu'il n'y a pas une cause unique mais une origine multifactorielle

(facteurs environnementaux, facteurs de risque cardiovasculaires, facteurs de risque génétiques...). La maladie d'Alzheimer qui développe généralement après 65 ans.

3- Traitements de la maladie d'Alzheimer

A l'heure actuelle, aucun traitement curatif ne permet de guérir de la maladie d'Alzheimer mais certains traitements permettent de ralentir l'évolution de la maladie comme :

❖ **Médicaments**

Certains traitements médicamenteux qui peuvent permettre de ralentir cette affection comme :

- **Des inhibiteurs** : Aricept®, Reminyl®, Exelon®.
- **Un antiglutamate** : glutaEbixa®

❖ **La phytothérapie**

Elle est fondée sur les extraits des plantes et les principes actifs naturels qui ont un effet sur la maladie d'Alzheimer, notamment soja, Ginkgo biloba et l'herbe de blé ...

- Pour connaître l'effet de l'herbe de blé sur la maladie d'Alzheimer. Une expérience a été décrite par **Veera Raghavulu Bitra, et ses collaborateurs 2014** :

L'herbe de blé a montré une amélioration significative de la réduction du stress oxydatif provoqué par bêta-amyloïde (β A) aux niveaux de malondialdéhyde et l'amélioration d'activité du superoxyde dismutase et de la catalase.

- En effet, des preuves suggèrent que le peroxyde d'hydrogène joue un rôle important dans l'évolution de la maladie d'Alzheimer. Or, on sait que certains antioxydants, notamment les polyphénols, possèdent une neuroprotection très forte contre le peroxyde d'hydrogène. Pour expliquer le rôle des polyphénols dans la protection contre les facteurs pathogènes de la maladie d'Alzheimer.

Les résultats de nombreuses études ont conduit à penser que l'inhibition des agrégations des protéines bêta-amyloïde (β A) et tau *in vivo* ne dépend des conditions oxydatives mais que les propriétés structurales des polyphénols qui comportent deux cycles aromatiques liés par six atomes et un minimum de trois fonctions hydroxyles favorisant les interactions non covalentes avec la protéine Tau.

- ❖ **Le resvératrol**, grâce à son pouvoir antioxydant, réduisait la production de radicaux libres par la bêta-amyloïde, provoquait une légère amélioration chez des patients souffrant de maladie d'Alzheimer. (**Savaskan E et al., 2003**)
- ❖ Des expériences *in vitro* ont montré que les catéchines améliorent la survie des cellules neuronales cultivées lorsqu'elles sont contestées par une β -amyloïde peptidique, 6-hydroxydopamine (**Augustin ; 2005**)

Matériels et Méthodes

Notre travail a été réalisé au laboratoire de Biochimie Micro-moléculaire et Phytochimie à l'université des frères Mentouri Constantine (Chaab Ersas).

I. Matériel végétal

Les feuilles des deux variétés de blé dur (*Triticum durum*) "GTA dur "et "CIRTA" ont été utilisées dans notre étude. Après 29 jours de semence des grains fournis par le Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plantes (CNCC), EL Kheroub Constantine.

Les principales caractéristiques des deux variétés de blé dur analysées sont rapportées dans le **tableau 09** ci-dessous :

Tableau 09 : Les caractéristiques des deux variétés de blé dur "GTA dur "et "CIRTA" (Bultin des variétés de céréales autogames. Edition 2015).

Variétés	GTA dur	CIRTA
Données		
Origine	Mexique	Algérie
Pédigrée	Gaviota × Durum	KB214-OKB-20KB-OKB-OKB-1KB-OKB
Obtenteur	*	ITGC Khroub
Demandeur	ITGC	ITGC
Année d'inscription	1998	2004

1- La semence

Le 13 mars 2017, dans la serre de la Biopol Chaab Ersas, Université des frères Mentouri Constantine, nous avons procédé à la semence de 70 g des grains de blé dur des deux variétés (**GTA dur** et **CIRTA**) pesées à l'aide d'une balance analytique, dans dix pots rectangulaires (cinq pots pour chaque variété). L'arrosage se fait trois fois par semaine avec une surveillance attentive de la croissance des plantes jusqu'à 20 cm d'hauteur. (**Figure 19**)

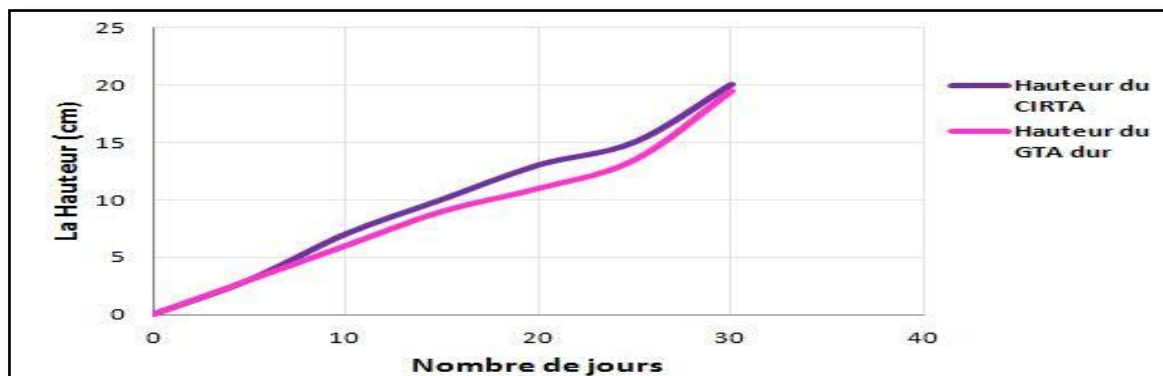


Figure 19 : Courbe de croissance du GTA dur et CIRTA.

2- La Récolte

La récolte s'est fait le 10 avril 2017, qui a consisté à couper toute la partie aérienne de la plante ensuite on les a laissés séchées sur un papier journal pendant quelques jours et au même temps on a surveillé la décroissance du taux d'humidité (**tableau 10 et figure 20**) par la prise de leurs poids à l'aide d'une balance analytique.

Tableau 10 : La surveillance de l'humidité des deux variétés CIRTA et GTA dur.

Date	Poids en g de la variété CIRTA	Poids en g de la variété GTA dur
10/04/2017	629.3	539,5
12/04/2017	245.6	218,7
16/04/2017	112.1	104,9
17/04/2017	106	100



Figure 20 : La courbe de décroissance de l'humidité (%) chez CIRTA et GTA dur

3- Le broyage

Les échantillons séchés sont broyés à l'aide d'un broyeur (de cuisine) puis conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de la lumière. Le broyage de la plante permet d'augmenter la surface de contact solvant-échantillon.

II. Extraction des composés phénoliques

1- Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est une technique d'extraction par solvant qui consiste à extraire une espèce chimique se trouvant dans un solide pour la transférer dans un solvant choisi, dans notre étude l'opération a été effectuée comme suivant :

1.1- Extraction au soxhlet

L'extracteur soxhlet est un ingénieux dispositif en verre permettant l'extraction par solvant continue des espèces chimiques contenues dans une poudre solide. Il est principalement utilisé dans la préparation d'échantillons avant analyse. Cet appareil porte le nom de son inventeur : **Franz von Soxhlet**.

➤ **Méthode :**

Dans des cartouche propres et sèches (cartouches en cellulose), verser un gramme du poudre végétal de chaque variété (**CIRTA** et **GTA dur**), et les placer dans le corps en verre de l'appareil de Soxhlet, le solvant d'extraction qui a un volume de 500 ml d'éthanol, est introduit dans un ballon porté à ébullition, les vapeurs de solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer la poudre végétal au bout du 1h 30 min, le solvant condensé s'accumule dans le corps en verre ; jusqu'à atteindre le sommet de tube siphon ; qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon accompagné des substances extraites.

Le solvant continue de s'évaporer, alors que les substances extraites restent dans le ballon (leurs températures d'ébullition doivent être nettement supérieures à celle de l'éthanol).

L'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, cette couleur indiquant que le solvant n'extrait plus rien du solide.

Le contenu du ballon (solvant chargé d'extrait) est récupéré puis évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif pour éliminer le solvant. Le résidu sec est repris dans 10 ml de méthanol dans un tube à essais pour chaque variété.

1.2- Extraction par Macération

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

➤ **Méthode :**

La poudre du matériel végétal, 95g de la variété **GTA DUR** et 100g de la variété **CIRTA**, sont placés dans un bécher, afin de subir une macération par un volume de 1 litre de solvant hydro alcoolique (éthanol/eau, 70/30), pendant 72h à l'air libre avec renouvellement du solvant chaque 24h.

L'extrait est récupéré dans un récipient, filtré à l'aide d'un papier filtre et un entonnoir. Puis, évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif équipé d'une pompe à vide (**Rotavapor BÜCHI**) pour éliminer le maximum de solvant et de concentrer l'extrait.

Ce dernier est laissé au réfrigérateur pendant 24heures, afin de décanter les cires, les boues, les lipides risquant de gêner la suite des opérations.

2- Extraction liquide – liquide

La phase limpide de la macération subit un lavage par **l'éther du pétrole** (v/v) (l'opération est répétée trois fois) pour éliminer tous les composés non phénoliques, comme les lipides et caroténoïdes et les pigments chlorophylliens.

Afin de séparer les composés phénoliques en fractions (**Merghem, 2009**) aglycones, monoglycosides et di-tri-glycosides, l'extrait brut est successivement mélangé avec les solvants suivants (**figure 21**) :

- ❖ **L'éther diéthylique** : est un solvant préférentiel des composés simples tels que les acides phénols et les flavonoïdes.
- ❖ **L'acétate d'éthyle** : pour entraîner les flavonoïdes aglycones mais surtout les monoglycosides et partiellement les di-o-glucosides.
- ❖ **Le méthyle-éthyle-cétone (butanone)** : pour le reste des di-o-glycosides, les tri-o-glycosides et les c-glycosides.

➤ **Méthode :**

Les différents affrontements sont faits dans l'ampoule à décanter. L'extrait brut et le solvant (v/v) sont mélangés énergétiquement en laissant sortir à chaque fois les gaz produits. Après une heure et demie, on récupère séparément la phase eau et le solvant utilisé chargé de ses composés spécifiques, on fait ces démarches d'abord avec **l'éther diéthylique**, la séparation des deux phases nous permet d'obtenir une phase organique qui s'évapore à l'air libre et une phase aqueuse qui subit à son tour une nouvelle extraction avec **l'acétate d'éthyle**. La phase aqueuse restante se mélange avec le **méthyle-éthyle-cétone** comme le dernier solvant, ces trois dernière phases récoltées sont concentrées par évaporation à basse pression à 70°C (**Merghem, 2009**).

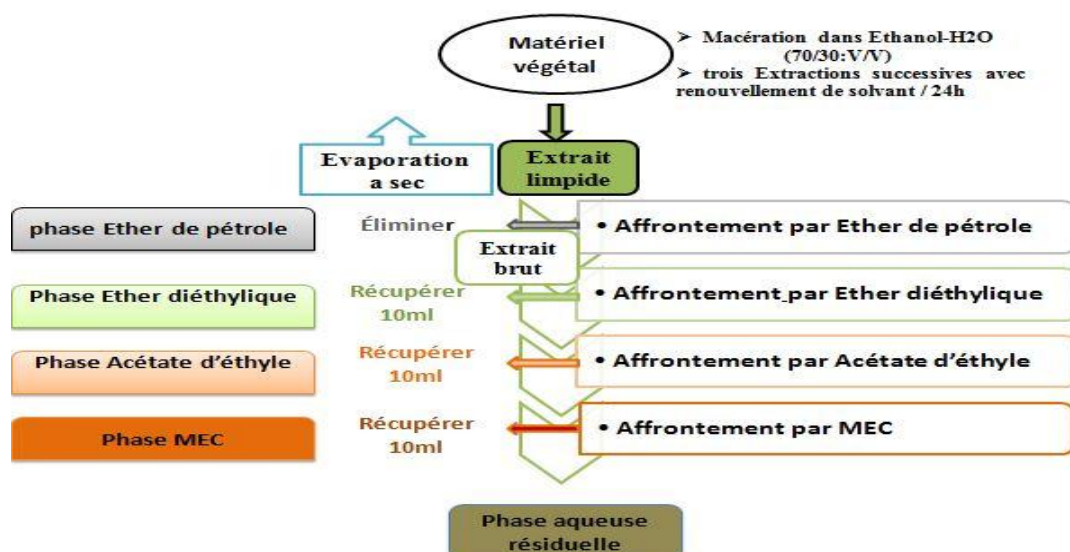


Figure 21 : Le protocole classique d'extraction des composé phénoliques (Merghem, 2009).

III. Etude quantitative

1- Dosages des composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (N. Boizot et J-P. Charpentier 2006). Ce réactif est un acide de couleur jaune 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 (Ribereau, 1968). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ghazi et Sahraoui, 2005).

➤ **Méthode :**

- **Préparation de la solution mère de l'acide gallique** : Mettre 0,03 g d'acide gallique en poudre dans 100 ml de l'eau distillée. Une gamme d'étalonnage a été préparée à partir d'une solution mère d'acide gallique de différentes concentrations (0-0,3 mg/ml). Le dosage a été fait selon cette gamme (tableau 11).

Tableau 11 : La gamme étalonnage d'acide gallique.

Concentration (mg/ml)	0	0,02	0,09	0,15	0,21	0,27	0,3
Volume prélevé de la solution mère de l'acide gallique (ml)	0	0,1	0,3	0,5	0,7	0,9	1
Volume d'eau distillée (ml)	1	0,9	0,7	0,5	0,3	0,1	0

- **Dans 7 tubes à essais :**

- 1ml de chaque solution de la gamme étalon préparée.
- 5 ml du réactif Folin Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée).
- Après 10 min.
- 4 ml Carbonates de Sodium (Na_2CO_3) à 20 %.
- Incubation de 30 min à une température ambiante dans l'obscurité.
- L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible (UV 1601, SHIMADZU).

- **Même méthode avec 1 ml de chaque extrait de deux variétés (CIRTA et GTA dur).**

2- Dosage des Flavonoïdes

La détermination des flavonoïdes a été effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (Bahorun *et al.*, 1996), elle est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits. L' $AlCl_3$ forme un complexe jaune avec les flavonoïdes, absorbe dans le visible à 430 nm.

➤ **Méthode :**

- Préparation de la solution mère du quercétine : Mettre 0,012 g du quercétine en poudre dans 100 ml de l'eau distillée. Le dosage a été effectué selon, une gamme d'étalonnage qui a été préparée à partir d'une solution mère du quercétine de différentes concentrations (0-0,12 mg/ml) (**tableau 12**).

Tableau 12 : La gamme étalonnage du quercétine

Concentration (mg/ml)	0	0,012	0,036	0,06	0,084	0,108	0,12
Volume prélevé de la solution mère du quercétine (ml)	0	0,1	0,3	0,5	0,7	0,9	1
Volume d'eau distillée (ml)	1	0,9	0,7	0,5	0,3	0,1	0

- Dans 7 tubes à essais :

- 1 ml de chaque solution de la gamme étalon préparée.
- 1 ml d' AlCl_3 à 2 % (m/v).
- Agiter puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 10 min.
- L'absorbance est mesurée à 430 nm en utilisant un spectrophotomètre UV (UV 1601, SHIMADZU).

-Même méthode avec 1 ml de chaque extrait de deux variétés (CIRTA et GTA dur).

IV. Etude qualitative

1- Chromatographie sur couche mince (CCM)

1.1- Chromatographie sur couche mince analytique

La chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites.

Elle permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans un extrait ou une fraction, un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées.

➤ **Méthode :**

A- Préparation de la phase stationnaire : elle est constituée d'un gel de polyamide préparé dans l'éthanol (11 g de gel de polyamide en poudre + 60 ml d'éthanol) et étalé sur une plaque en verre (20×20 cm) à l'aide d'un étaleur.

Après 48h la phase stationnaire sera prête à utiliser.

B- Préparation de la phase mobile ou l'éluant : c'est un système de solvant (mélange de solvants organiques), le système qui montre une bonne séparation est le suivant

- Pour les phases éther diéthylique, acétate d'éthyle et MEC :
Toluène / MEC / éthanol / éther de pétrole : 40 / 30 / 30 / 2.5.

- Pour la phase aqueuse :

Eau / Ethanol / MEC / Acide acétique (AcOH) : 13 / 3 / 3 / 1,5.

C- Le dépôt :

D- Développement :

E- Révélation et identification : L'identification des substances isolées se fait :

❖ **A l'œil nu ou sous UV :**

Les composés colorés visualisés : Soit à l'œil nu. Soit sous une lampe UV (365nm) (dans une chambre noire).

❖ **Avec le réactif du Neu (C₁₄H₁₆BNO) ou 2-aminoéthyl diphenyl borate :** Les composés non colorés, on ne peut pas les voir directement, on doit les révéler à l'aide d'un révélateur (réactif du **Neu**). Cette révélation consiste à vaporiser et pulvériser le réactif du **Neu** sur la plaque (**Grünz G et al., 2010**).

Les spots flavonoïques sont caractérisés par leurs fluorescences et leurs facteurs de rétention (**Figure 22**).

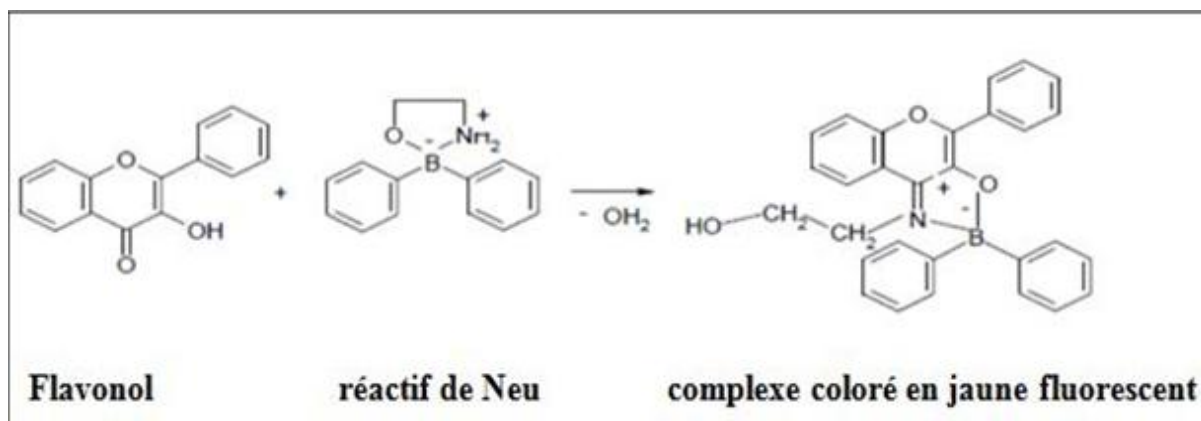


Figure 22 : Principe réactionnel des flavonoïdes avec le réactif de Neu

❖ **Relation fluorescence-structure**

Tableau 13 : Relation entre la fluorescence sous UV et la structure des flavonoïdes. (Markham, 1982, Lahouel, 2005).

Spot coloré	Types de flavonoïdes
Noir, Marron	Flavonols 5, 6, 7 tris-OH libres Flavonols 5, 7, 8 tris-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 ou Flavonols 5 -OH avec 4'-OH absent ou substitué en 3. Flavones 6 -ou 8 -OH Chalcones, isoflavones, dihydroflavonals, flavanones

Bleu- clair (fluorescent)	Flavones sans 5 –OH libres. Flavones sans 5 –OH libres avec 3 –OH substitué
Jaune terne, jaune, fluorescence orangé	Flavonols 3- OH libres avec ou sans 5 –OH substitué.
Jaune vert brillant	5- Oh libres ou 5- OH substitué
Jaune Fluorescent	Flavonols avec 3- OH libre
Jaune pâle	Dihydroflavonols
Rouge	Anthocyanidine 3 glucoside
Rose	Anthocyanidine 3,5 di glucoside

❖ **Relation RF-structure**

Chaque constituant migre à certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle **rapport frontal** ou **rétenion frontale** (Rf) :

$$Rf = \frac{\text{Distance[ligne de dépôt - tache]}}{\text{Distance [ligne de dépôt - front de solvant]}}$$

Ce rapport frontal peut donner des informations sur la structure des composés flavoniques séparés (**Bandyukova et Shinkarenko, 1973 ; Yaou, 2001**) (tableau 14).

Tableau 14 : 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
Hétéroside des flavones avec 3-OH libre	RF nul dans l'eau

1.2- Chromatographie sur couche mince préparative

La CCM préparative est une technique chromatographique utilisée dans la séparation et l'isolement de diverses molécules présentes dans un mélange.

Les solutions méthanoliques obtenues sont alors prêtes pour les séries spectrales pour l'identification.

2- Spectrophotométrie UV-Visible

C'est la méthode la plus importante pour l'identification des structures flavonoïques. Elle est basée essentiellement sur l'enregistrement d'un spectre dans un milieu alcoolique (méthanol ou éthanol) qui sera caractérisé par deux bandes d'absorption principales, la bande I et la bande II.

Ces deux bandes représentent les absorptions dans le proche UV, des chromophores composant le squelette flavonoïques.

- ❖ **La bande I** : présentant un maximum d'absorption entre 300 et 400 nm, est attribuée à l'absorption du système cinnamoyle qui résulte de la conjugaison du groupement carbonyle avec la double liaison (C2-C3) et le noyau B, elle donne donc, des renseignements sur les variations structurales du cycle B et l'hétérocycle C.
- ❖ **La bande II** : présentant un maximum d'absorption entre 240 et 280 nm, est attribuée à l'absorption du système benzoyle qui dérive de la conjugaison du groupement carbonyle avec le noyau A et donne des informations sur les variations structurales du cycle A (Markham, 1982) (figure 23).

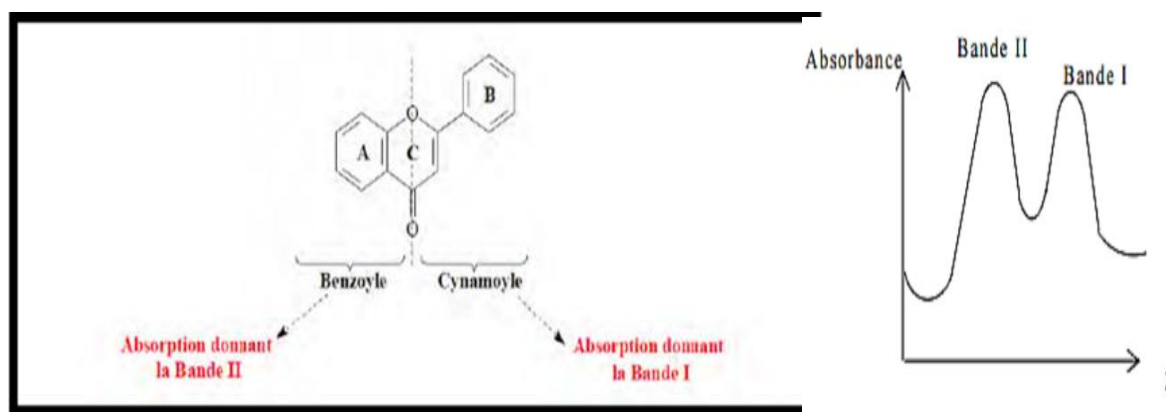


Figure 23 : Conjugaison du groupement carbonyle avec les cycles A et B.

2.1- Analyse spectroscopique des phases dans le méthanol :

L'analyse des phases (**Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, MEC et Aqueuse**) de deux variété **CIRTA** et **GTA dur**, se fait par le spectrophotomètre (UV 1601, SHIMADZU).

On utilise la quercétine et la rutine comme standard.

2.2- Analyse spectroscopique des molécules isolées dans le méthanol :

L'analyse des molécules isolées se fait par spectrophotomètre (UV 1601, SHIMADZU).

V. *Activité biologique : Activité Antioxydante*

Le DPPH• (2,2'-Diphényl-1-Pycrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violette intense. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH• (2,2'-Diphényl-1-picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en DPPHH (2,2'-Diphényl-1-picryl-hydrazine) de couleur jaune (Maataoui *et al*, 2006) (Figure 24).

Le DPPH• possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Lorsqu'il est mélangé avec une substance qui peut donner un hydrogène, alors cette réaction

donne lieu à la forme réduite DPPHH avec perte de la couleur violette et l'apparition d'une couleur jaune pâle. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette par spectrophotométrie à 515-518 nm.

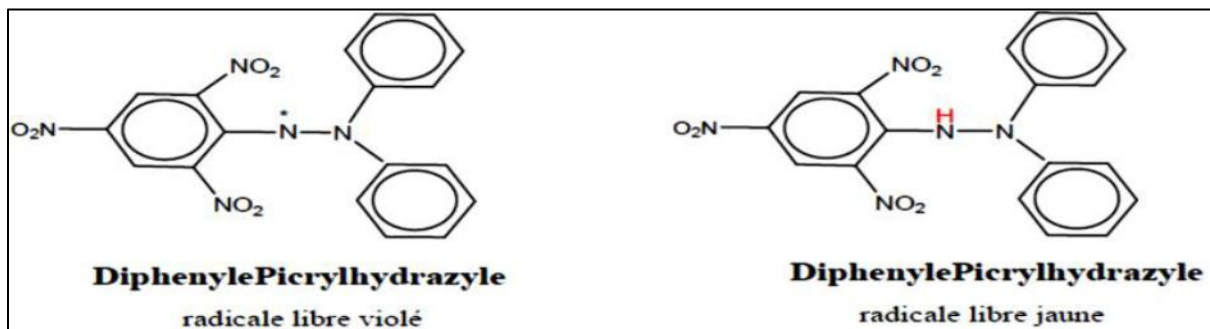


Figure 24 : La réduction du radical libre DPPH (Molyneux, 2004)

➤ **Méthode :**

Une solution de DPPH• (0,00625 g dans 100 ml de méthanol 90%, soit 0,0625 mg/ml) est préparée au moins 1 à 2 heures à l'avance car la solubilisation est difficile et elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à -5°C et à l'obscurité.

- Mélanger 0.1 ml de chaque extrait à tester avec 3,9ml de la solution du DPPH• avec agitation vigoureuse pendant 10 secondes.
- Incuber le contenu dans la cavité du spectrophotomètre pendant le temps nécessaire pour atteindre le plateau avec ce type d'échantillon.
- A l'aide d'un spectrophotomètre (UV 1601, SHIMADZU), lire les absorbances à 515 nm sur des intervalles de temps réguliers (0, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30 min).

Résultats et Discussions

I- Etude quantitative

1-Dosages des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu.

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (**figure 25**)

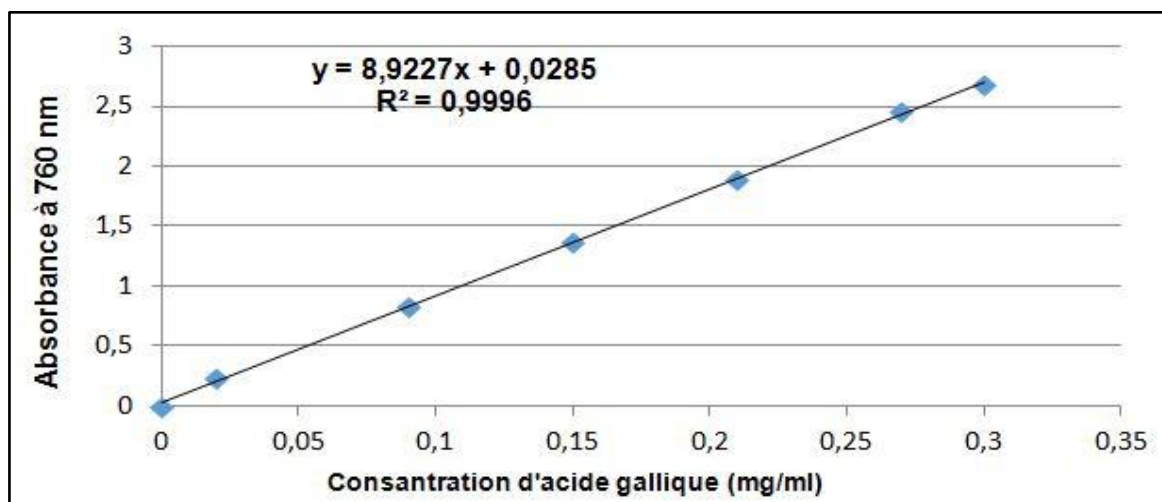


Figure 25 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des composés phénoliques totaux des extraits méthanolique du blé dur (*Triticum durum*) de deux variétés **GTA dur** et **CIRTA** a été estimée par l'équation de la courbe :

$$y = 8.9227x + 0.0285 \text{ avec un coefficient } R^2 = 0.999.$$

Correspond à la forme $Abs = a [AG] + b$, la teneur en composés phénoliques est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (**mg EAG/g**)

➤ Taux des composés phénoliques d'extrait brut :

Les résultats sont représentés dans histogramme suivant :

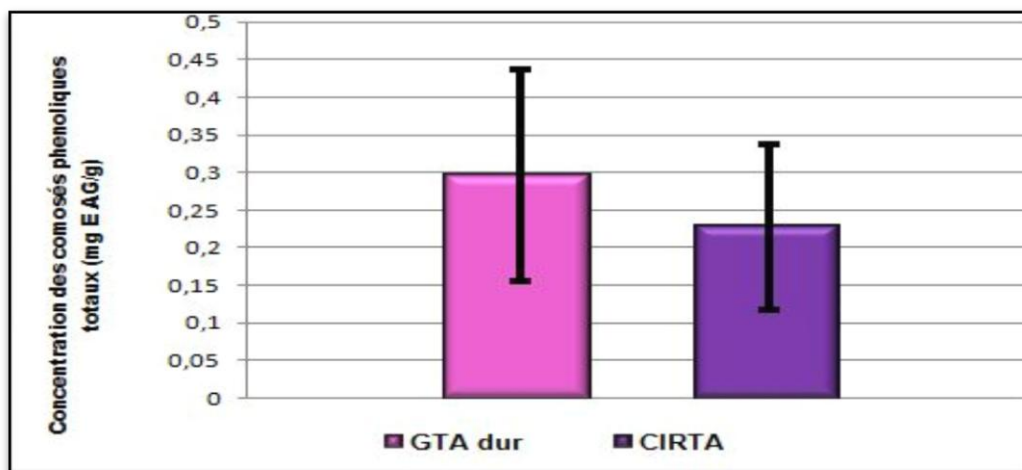


Figure 26 : Le taux des composés phénoliques totaux d'extrait brut des deux variétés.

Ces résultats montrent que les feuilles de deux variétés de blé dur sont riches en composés phénoliques sachant que la variété **GTA dur** contient un taux plus élevé que la variété **CIRTA** ($0,296 \pm 0,149$ mg E AG /g ; $0,228 \pm 0,116$ mg E AG/g)

➤ **Taux des composés phénoliques totaux des phases du GTA dur et CIRTA :**

Les résultats illustrés dans l'histogramme suivant :

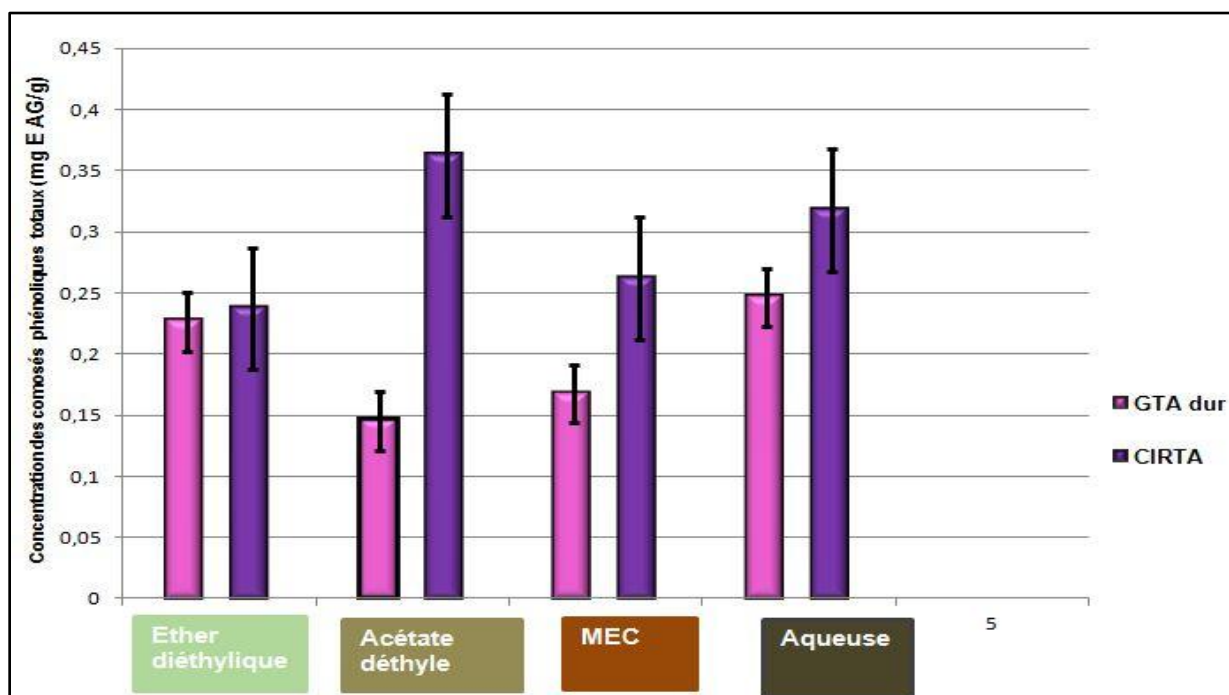


Figure 27 : Le taux des composés phénoliques totaux des phases.

D'après les résultats représentés dans la (Figure 27) : les deux variétés de blé dur sont riches en composés phénoliques mais avec des concentrations différentes selon la phase (Tableau 15).

- **GTA dur** : La teneur de la phase **Aqueuse** est $0,246 \pm 0,013$ mg EQ/g, La phase **Ether diéthylique** du : $0,226 \pm 0,006$ mg EQ/g. Le taux de la phase **MEC** est $0,167 \pm 0,006$ mg EQ/g. En fin La phase **Acétate d'éthyle** avec une teneur de : $0,145 \pm 0,002$ mg EQ/g.
- **CIRTA** : La phase **Acétate d'éthyle** est la plus riche en composés phénoliques de taux $0,362 \pm 0,007$ mg EQ/g, suit par la phase **Aqueuse** avec une teneur de $0,317 \pm 0,023$ mg EQ/g,

Et la phase **MEC** du $0,261 \pm 0,001$ mg EQ/g .En fin la phase **Ether diéthylique** est moins riche en composés phénolique du teneur $0,237 \pm 0,008$ mg EQ/g.

Tableau 15 : Classement décroissant de teneur des composés phénoliques des phases.

- **GTA dur** : \emptyset Aqueuse > \emptyset Ether diéthylique > \emptyset MEC > \emptyset Acétate d'éthyle.
- **CIRTA** : \emptyset Acétate d'éthyle > \emptyset Aqueuse > \emptyset MEC > \emptyset Ether diéthylique.

2 – Dosages des Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), la quercétine est utilisé comme étalon.

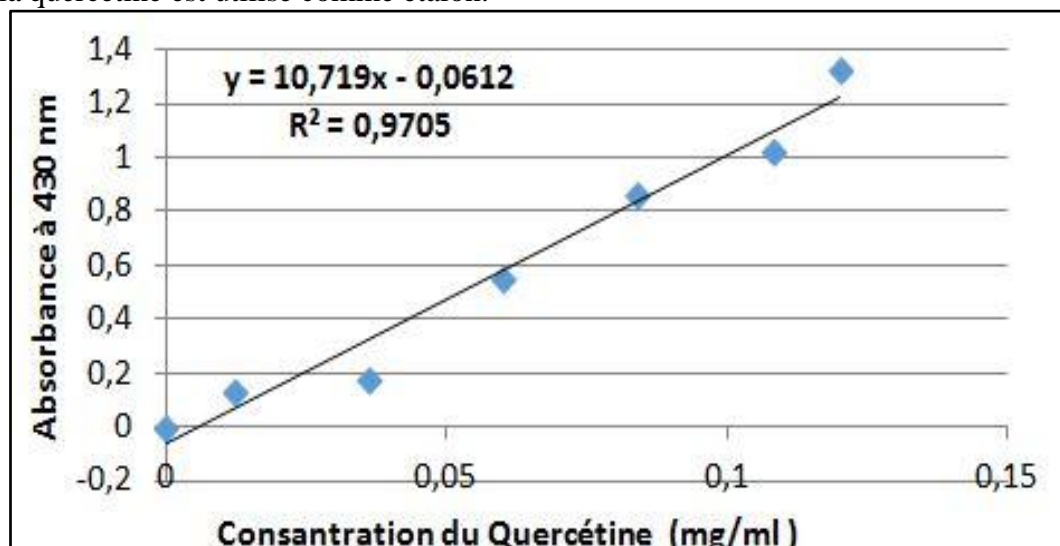


Figure 28 : Courbe d'étalonnage du Quercétine.

À partir de la courbe d'étalonnage (figure 28), la concentration des flavonoïdes des extraits méthanoliques de blé dur *Triticum durum* des deux variétés : GTA dur et CIRTA a été estimée par l'équation de la courbe :

$$y = 10.719x - 0.0612 \text{ avec un coefficient } R^2 = 0.970.$$

Correspond à la forme $Abs = a [Q] - b$, la teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

Les résultats sont représentés par les histogrammes suivants (figures 29 et 30) :

➤ Taux des flavonoïdes d'extrait brut

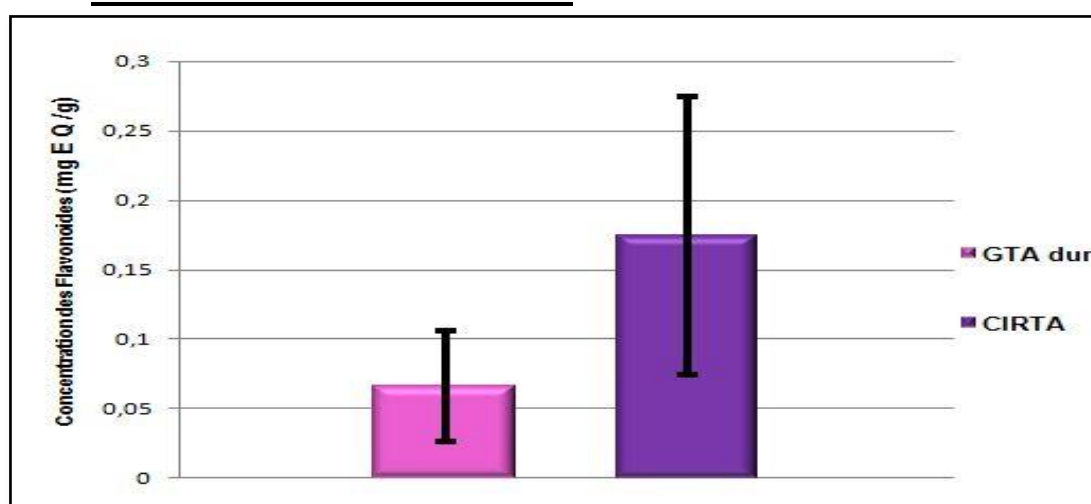


Figure 29 : Le taux des Flavonoïdes d'extrait brut.

D'après ces résultats (**figure 29**) on déduit que la variété **CIRTA** est plus riche des flavonoïdes ($0,174 \pm 0,013$ mg E Q/g) que la variété **GTA dur** qui contient un taux de ($0,065 \pm 0,003$ mg E Q/g).

➤ **Taux des flavonoïdes totaux des phases du GTA dur et CIRTA**

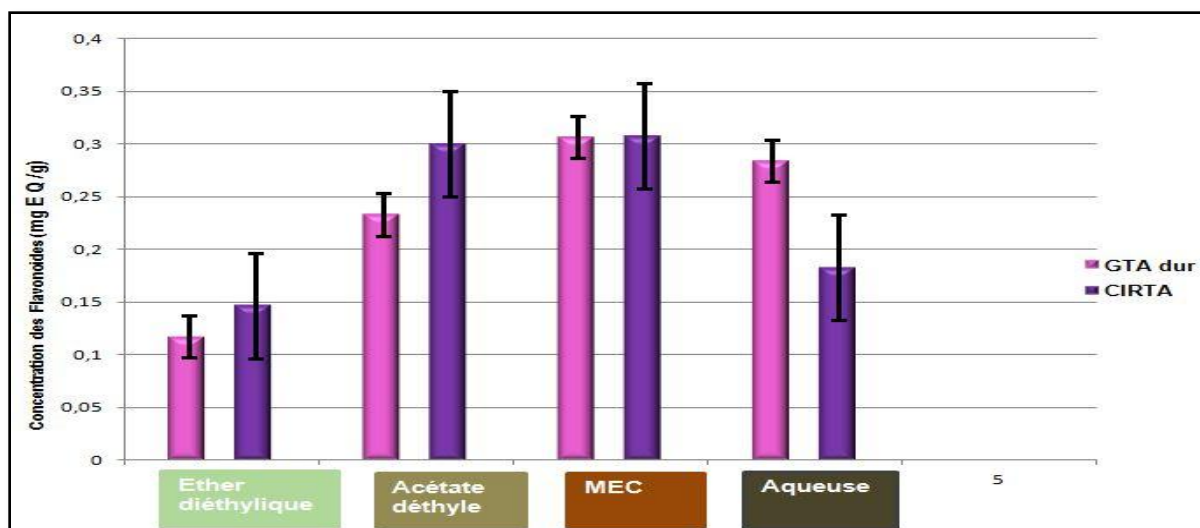


Figure 30 : Le taux des Flavonoïdes des phases.

La détermination quantitative des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle les résultats représentés dans la (**Figure 30**)

La phase **MEC** est la plus riche en flavonoïdes pour les deux variétés **CIRTA** et **GTA dur** avec une teneur respectivement : $0,308 \pm 0,022$ mg EQ/g et $0,306 \pm 0,028$ mg EQ/g.

- **GTA dur** : La phase **Aqueuse** avec une teneur de $0,283 \pm 0,014$ mg EQ/g, la phase **Acétate d'éthyle** de taux : $0,233 \pm 0,001$ mg EQ/g. et un taux de $0,117 \pm 0,012$ mg EQ/g pour la phase **Ether diéthylique**.
- **CIRTA** : La phase **Acétate d'éthyle** avec un taux de $0,299 \pm 0,1$ mg EQ/g, suivie par la phase **Aqueuse** avec une teneur de $0,182 \pm 0,097$ mg EQ/g. Cependant seulement $0,146 \pm 0,040$ mg EQ/g de teneur pour la phase **Ether diéthylique**.

Tableau 16 : Classement décroissant de teneur des flavonoïdes des phases.

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • CIRTA : Θ MEC > Θ Acétate d'éthyle > Θ Aqueuse > Θ Ether Diéthylique. • GTA dur : Θ MEC > Θ Aqueuse > Θ Acétate d'éthyle > Θ Ether Diéthylique |
|---|

Le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes indique la présence de ces deux métabolites secondaires. Et nous montre une différenciation entre les phases des deux variétés de blé dur **CIRTA** et **GTA dur**.

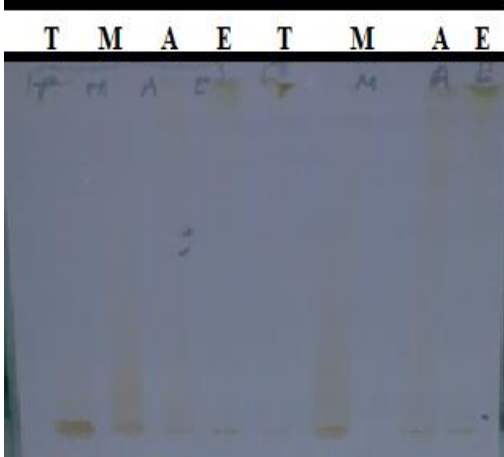
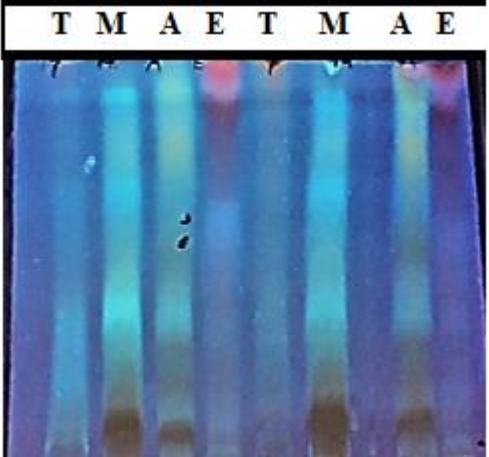
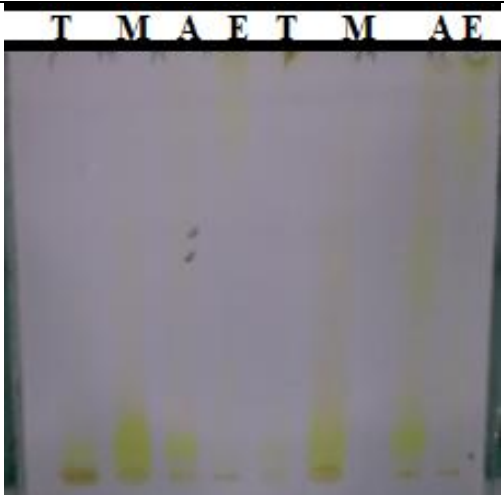
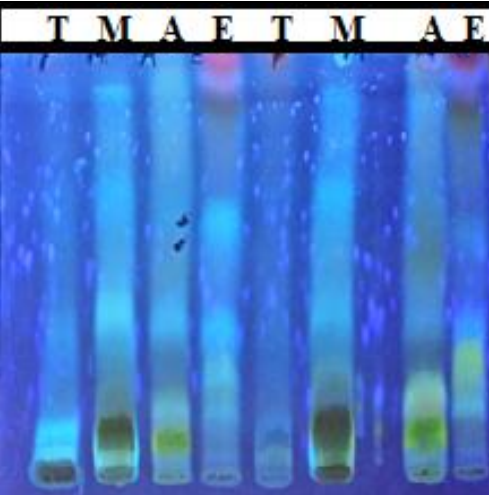
II- Etude qualitative

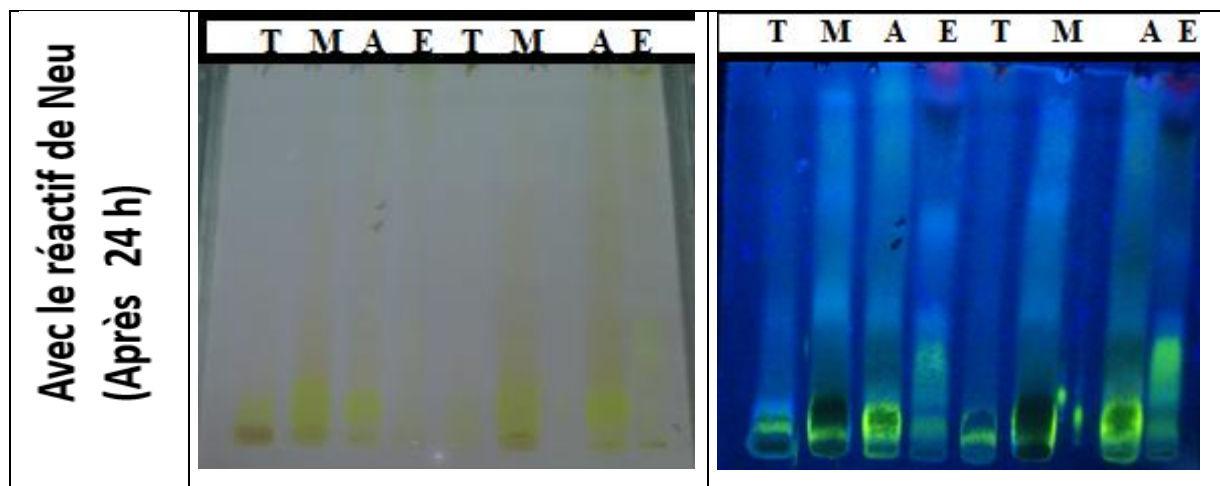
1- Caractéristiques chromatographiques

1.1. Résultats de la chromatographie analytique sur couche mince

La CCM analytique est réalisée sur le gel de polyamide (Tableau 17). Cette technique peut nous informer sur le contenu en composés phénoliques et on particulier en flavonoïdes des extraits analysés sous forme des spots flavonoïques.

Tableau 17 : Résultat de la CCM des phases (E : Ether diéthylique, A : Acétate d'éthyle, M : MEC). Pour CIRTA et GTA dur.

Les phases	à l'œil nu		UV à 365 nm	
	GTA dur	CIRTA	GTA dur	CIRTA
Sans le réactif de Neu				
Avec le réactif de Neu				



-Résultat de la CCM des phases aqueuse est dans l'annexe 05

Après la visualisation du chromatogramme sous l'UV à 365 nm dans une chambre noire, on a remarqué que :

✚ Il y a plusieurs tâches surtout dans la phase Ether diéthylique chez **CIRTA** et **GTA dur**.

Les rapports frontaux (RF) et les fluorescences des extraits phénoliques sont représentés dans les tableaux suivants qui montrent le comportement chromatographique de chaque phase des deux variétés, sans révélateur et sous UV 365 nm, les spots obtenus montrent une richesse et une diversité des échantillons.

Tableau 18 : Comportement chromatographique de la phase Ether diéthylique.

Spots Variétés	Spot 1	Spot 2	Spot 3	Spot 4
CIRTA	RF= 0,66 Bleu très claire	RF= 0,87 Violet	RF= 0,93 Rose claire	RF= 0,99 Rose
GTA dur	RF= 0,68 Bleu claire	RF= 0,87 Violet	RF= 0,93 Rose claire	RF= 0,98 Rose

Tableau 19 : Comportement chromatographique de la phase Acétate d'éthyle.

Spots Variétés	Spot 1	Spot 2	Spot 3	Spot 4	Spot 5
CIRTA	RF= 0,12 Marron foncé	RF= 0,28 Marron verdâtre	RF= 0,55 Vert	RF= 0,87 Jaune	RF= 0,93 Bleu claire
GTA dur	RF= 0,1 Marron foncé	RF=0,26 Marron verdâtre	RF= 0,58 Vert	RF= 0,81 Jaune	RF= 0,93 Bleu claire

Résultats et Discussions

Tableau 20 : Comportement chromatographique de la phase MEC.

Spots Variétés	Spot 1	Spot 2	Spot 3	Spot 4
CIRTA	RF= 0,12 Marron foncé	RF= 0,3 Marron verdâtre	RF= 0,41 Bleu claire	RF= 0,57 Jaune verdâtre
GTA dur	RF= 0,1 Marron foncé	RF= 0,24 Marron verdâtre	RF= 0,4 Bleu claire	RF= 0,57 Jaune verdâtre

Tableau 21 : Comportement chromatographique de la phase Aqueuse.

Spots Variétés	Spot 1	Spot 2	Spot 3	Spot 4
CIRTA	RF= 0,39 Jaune	RF= 0,7 Jaune	RF= 0,78 Marron	RF= 0,91 Jaune pâle
GTA dur	RF= 0,37 Jaune	RF= 0,72 Jaune	RF= 0,81 Marron	RF= 0,96 Jaune pâle

L'utilisation de réactif de Neu a permis l'observation d'autres fluorescences, donc les nouveaux spots les plus remarquées sont résumés dans les tableaux suivants, qui montrent le RF et la fluorescence de chaque phase (Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, MEC et Aqueuse) des variétés **CIRTA** et **GTA DUR**, sous UV 365 nm.

Tableau 22 : Comportement chromatographique des phases Ether diéthylique.

Spots Variétés	Spots 1	Spots 2	Spots 3	Spots 4	Spots 5
CIRTA	RF= 0,28 Jaune verdâtre	RF= 0,38 Bleu claire	RF= 0,87 Marron	RF= 0,93 Violet	RF= 0,99 Rose
GTA dur	RF= 0,68 Bleu claire	RF= 0,74 Violet	RF= 0,87 Marron	RF= 0,93 Rose claire	RF= 0,98 Rose

Tableau 23 : Comportement chromatographique des phases Acétate d'éthyle.

Spots Variétés	Spots 1	Spots 2	Spots 3	Spots 4	Spots 5
CIRTA	RF= 0,12 Jaune fluorescent	RF= 0,23 Jaune verdâtre	RF= 0,31 Vert foncé	RF= 0,55 Marron claire	RF= 0,87 Bleu claire
GTA dur	RF= 0,1 Jaune fluorescent	RF= 0,17 Jaune verdâtre	RF= 0,26 Marron verdâtre	RF= 0,35 Bleu claire	

Tableau 24 : Comportement chromatographique de la phase MEC.

Spots Variétés	Spot 1	Spot 2	Spot 3
CIRTA	RF= 0,12 Jaune fluorescent	RF= 0,27 Vert foncé	RF= 0,41 Bleu claire
GTA dur	RF= 0,11 Jaune fluorescent	RF= 0,18 Marron verdâtre	RF= 0,39 Bleu claire

Tableau 25 : Comportement chromatographique de la phase Aqueuse.

Spots Variétés	Spot 1	Spot 2	Spot 3	Spot 4
CIRTA	RF= 0,39 Jaune fluorescent	RF= 0,7 Jaune fluorescent	RF= 0,78 Marron	RF= 0,91 Jaune pâle
GTA dur	RF= 0,37 Jaune fluorescent	RF= 0,72 Jaune fluorescent	RF= 0,81 Marron	RF= 0,96 Jaune pâle

D'après ces résultats et après la pulvérisation par réactif de **Neu** on remarque que :

- **La phase Ether diéthylique** : l'apparition d'un spot (RF=0,87) de couleur marron pour **GTA dur** et l'apparition des deux nouveaux spots (RF=0,87 et 0,28) de couleur (marron et jaune verdâtre) pour la variété **CIRTA**.
- **La phase Acétate d'éthyle** : l'apparition d'un spot (RF=0,17) de couleur jaune verdâtre pour **GTA dur** et les spots (RF=0,23 et 0,55) de couleur jaune verdâtre et marron claire pour **CIRTA**.

Et une modification de certain couleur tel que le virement de la couleur marron foncé au jaune fluorescent chez **CIRTA** (RF=0,12) et **GTA dur** (RF=0,1).

- **La phase MEC** : il y a aussi le virement de la couleur marron foncé vers le jaune fluorescent (RF=0,12) pour **CIRTA** et (RF=0,12) pour **GTA dur**.
- **La phase Aqueuse** : il n y a pas des modifications sauf le virement de la couleur jaune vers le jaune fluorescent chez les deux variétés **CIRTA** et **GTA dur**.

Après l'observation de la fluorescence et en s'appuyant sur les données de la bibliographie (**Markham, 1982 ; Lahouel, 2005**) on peut éventuellement prédire les composés ou les familles de composés les plus probables qui peuvent entrer dans la composition des phases : éther diéthylique, acétate d'éthyle et MEC.

- Les résultats nous montrent que la majorité des polyphénols sont des flavonoïdes de type **flavones** et **flavonols**.

- Le RF moyen laissait supposer une monoglycosylation. Ceci a été vérifié par l'hydrolyse acide qui avait libéré un glucose. Il s'agissait donc d'une O-substitution et le composé était un **flavonol-3-O-glucoside**

La chromatographie CCM d'analyse des phases de deux variétés de blé dur (**CIRTA** et **GTA dur**) détermine que la phase **Ether diéthylique** est le plus riche en composés phénoliques suivi par la phase **Acétate d'éthyle, Aqueuse et MEC (Butanone)**.

1.2. Résultats de la chromatographie préparative sur couche mince

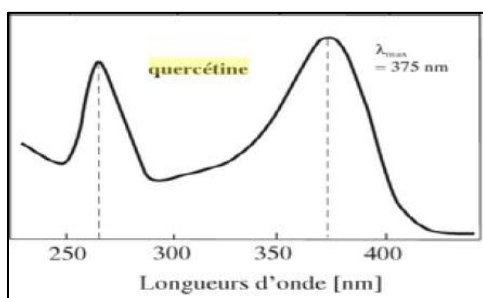
La CCM préparative est réalisée sur le gel de polyamide (**Annexe 06**)

D'après cette technique on a isolée et purifié des molécules dans chaque phase :

- La phase aqueuse** : trois (3) molécules isolées chez **CIRTA** et **GTA dur**
- La phase acétate d'éthyle** : cinq (5) molécules isolées pour **GTA dur** et **CIRTA**.
- La phase MEC** : six (6) molécules isolées pour **GTA dur** et **CIRTA**.

2- Caractéristiques spectrophotométriques

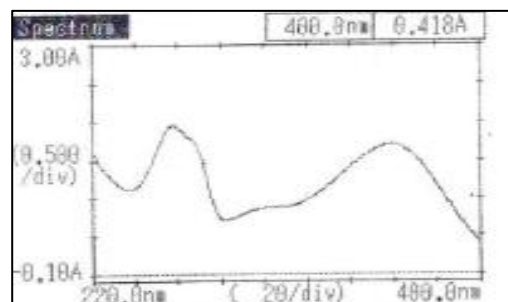
2-1- Analyse spectrale UV-visibles des standards



λ max I = 373 nm, λ max II = 256 nm

Figure 31 : Analyse spectrale UV-visibles

De la quercétine



λ max I = 359,5 nm, λ max II = 257 nm

Figure 32 : Analyse spectrale UV-visibles

De la rutine

2-2-Analyse spectrale UV-Visible des phases

Selon l'analyse des spectres UV-Visible on a montré que tous les phases chez **CIRTA** et **GTA dur** ont des absorbances dans l'intervalle (220 nm-420 nm) qui est l'intervalle d'absorption des composés flavonoïques.

❖ La phase Ether diéthylique

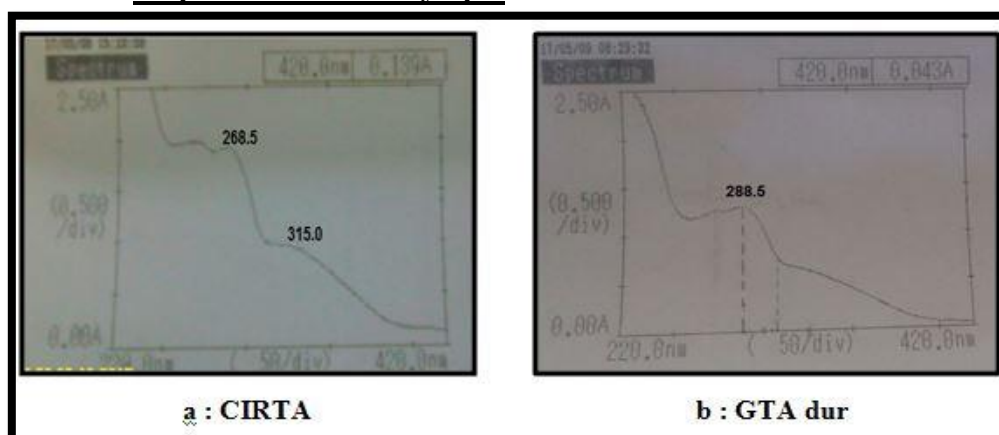


Figure 33 : Analyse spectrale de la phase Ether diéthylique.

Dans le domaine (UV-Vis), les solutions méthanoliques de la phase Ether diéthyle donnent un seul pic avec $\lambda_{\text{max}} = 268,5$ nm pour **CIRTA**, avec $\lambda_{\text{max}} = 288,5$ nm pour **GTA dur**, parfois accompagné d'un épaulement. Ces résultats nous orientent vers des acides phénols.

❖ La phase Acétate d'éthyle

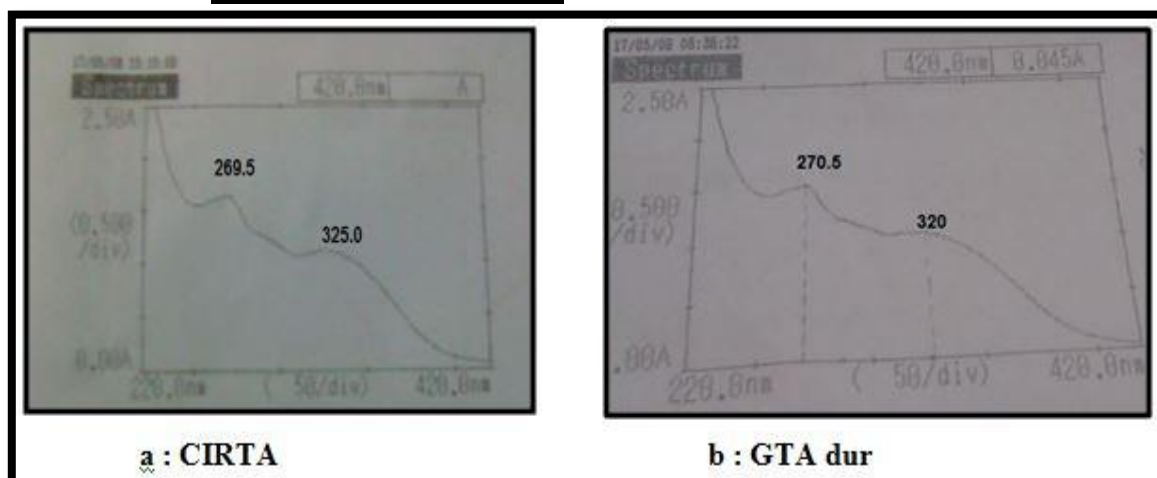


Figure 34 : Analyse spectrale de la phase Acétate d'éthyle.

Le spectre UV-Visible des solutions méthanoliques de la phase acétate d'éthyle montre que :

- **CIRTA** : deux pics caractéristiques dans le domaine (220-420) nm, (λ_{max} de la bande **I** = 325 nm et λ_{max} de la bande **II** = 269,5 nm).
- **GTA DUR** : avec deux pics, (λ_{max} de la bande **I** = 320 nm et λ_{max} de la bande **II** = 270,5 nm).

Donc les molécules de la phase Acétate d'éthyle sont en faveur de **Flavones** : λ_{max} de la bande **II** = 250 nm - 280 nm et λ_{max} de la bande **I** = 304 nm - 350 nm (Markham 1982).

❖ La phase MEC

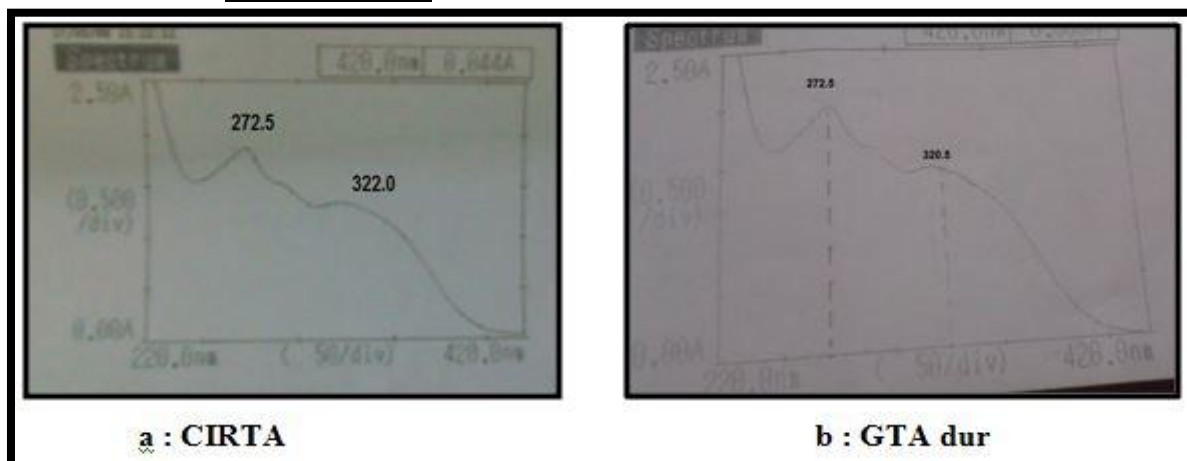


Figure 35 : Analyse spectrale de la phase MEC.

La phase MEC comme la phase acétate d'éthyle aussi donnent deux pics caractéristiques des composés flavonoïques qui absorbent dans l'intervalle (220 nm- 420nm)

- CIRTA : λ max de la bande I = 322 nm et λ max de la bande II = 272,5 nm.
- GTA DUR : λ max de la bande I = 320.5 nm et λ max de la bande II = 272,5 nm.

Les molécules de cette phase nous orientent vers **flavones** (Markham, 1982).

❖ La phase Aqueuse

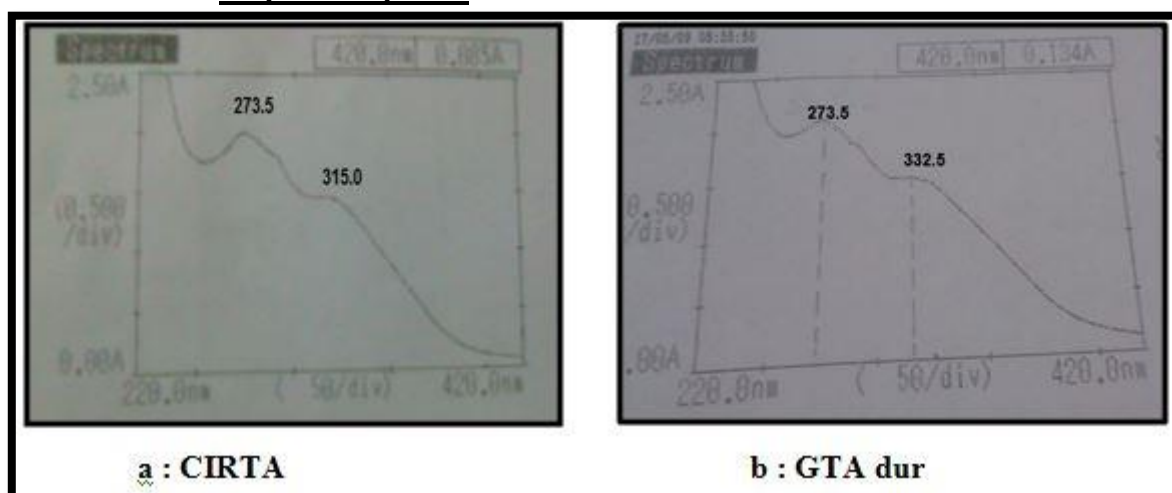


Figure 36 : Analyse spectral de la phase Aqueuse

La phase aqueuse donne des spectres caractéristiques des flavonoïdes qui sont en faveur de **flavones** (Markham, 1982)

- CIRTA : λ max de la bande I = 315 nm et λ max de la bande II = 273,5 nm.
- GTA dur : λ max de la bande I = 332,5 nm et λ max de la bande II = 273,5 nm.

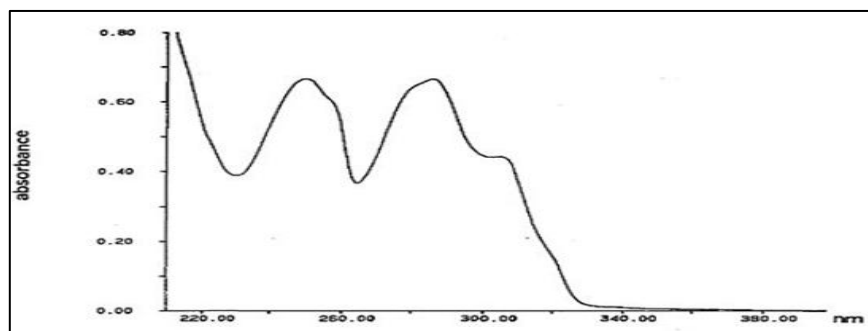


Figure 37 : structure spectroscopique de Flavones

2-3-Analyse spectral UV-visible des molécules isolées

Les spectres UV des composés flavonoïques isolés enregistrés dans le méthanol permettent de déterminer la classe des flavonoïdes à laquelle ils appartiennent dans l'UV de 220 à 420 nm.

Les tableaux suivants présentent les Caractéristiques chromatographiques et spectrophotométriques des molécules pures dans les trois phases. Les autres molécules sont présentées dans les annexes (08, 09 et 10) de la même façon.

Tableau 28 : Caractéristiques chromatographiques et spectrophotométriques des molécules pures dans la phase aqueuse de CIRTA et GTA DUR.

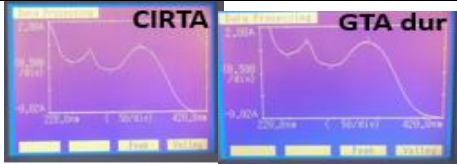
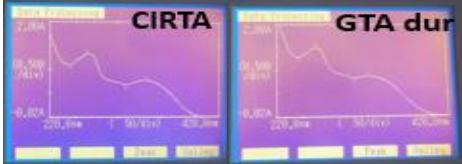
Molécules	Fluorescence	Rf	Spectre MeOH		Les spectres de chaque molécule	Classe possible des flavonoïdes
			Bande II	Bande I		
CIRTA (1)	Marron Claire	0,29	273nm	329nm		-Flavone (Markham, 1982)
GTA dur(1)		0,27	273nm	332,5nm		
CIRTA (2)	Marron foncé	0,59	273nm	332,5nm		-Flavone
GTA dur(2)		0,49	272,5nm	331,5nm		

Les molécules pures dans la phase aqueuse de **CIRTA** sont les mêmes de **GTA dur** avec un rapport frontal (RF) à peu près les mêmes valeurs et les mêmes fluorescences (Marron claire et Marron foncé) (**tableau 28**).

- Le spectre dans le MeOH des molécules 1 et 2 des deux variétés **CIRTA** et **GTA dur** sont en faveur de **flavones** (Markham, 1982).

Résultats et Discussions

Tableau 29 : Caractéristiques chromatographiques et spectrophotométriques des composés purs dans la phase Acétate d'éthyle de CIRTA et GTA DUR.

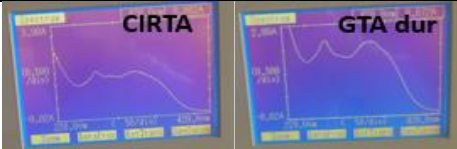
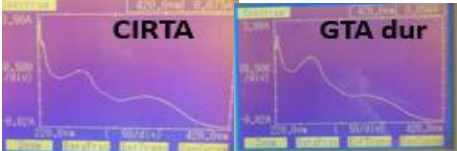
Molécules	Fluorescence	Rf	Spectre MeOH		Les spectres de chaque molécule	Classe possible des flavonoïdes
			Bande II	Bande I		
CIRTA (2) GTA dur (2)	Marron	0,26 0,24	271nm 271nm	334nm 338,5nm		-Flavone (Markham, 1982)
CIRTA (3) GTA dur (3)	Marron claire	0,46 0,44	263,5nm 266nm	334nm 326nm		-flavone

Le spectre dans le MeOH pour les 2 molécules isolées de la phase Acétate d'éthyle (Tableau 29) nous montre :

Les deux variétés CIRTA et GTA dur contiennent à peu près les mêmes molécules (les mêmes fluorescences).

- Les molécules 2 et 3 ont des valeurs dans une longueur d'onde (λ max de la bande I entre 304 et 350nm et λ max de la bande II entre 250 et 280 nm) et la Fluorescence marron sous la lumière UV- Visible (365 nm) indiquent que ces molécules sont de flavones (Markham, 1982).

Tableau 30 : Caractéristiques chromatographiques et spectrophotométriques des composés purs dans la phase MEC de CIRTA et GTA DUR.

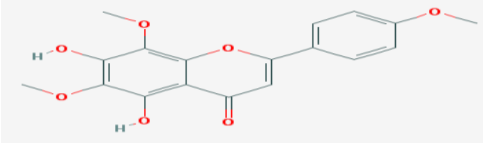
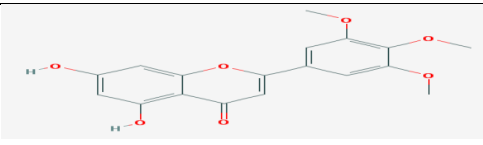
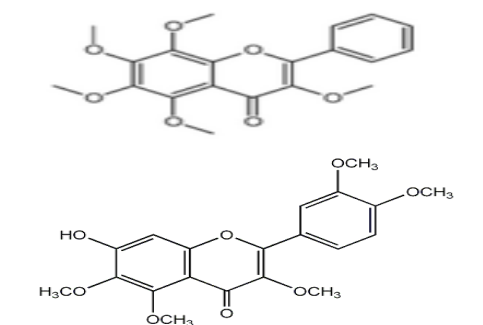
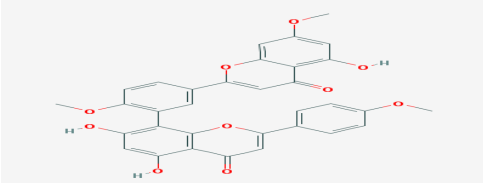
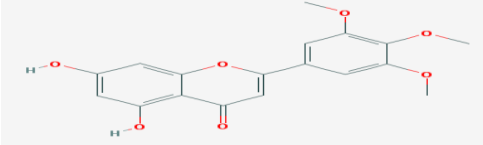
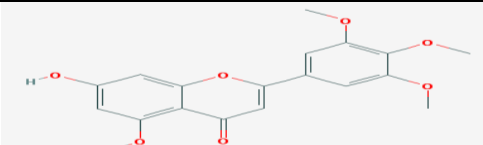
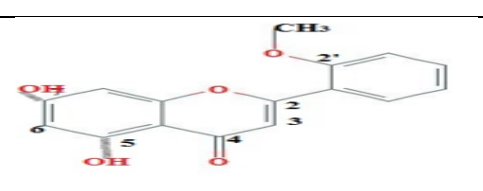
Molécules	Fluorescence	Rf	Spectre MeOH		Les spectres de chaque molécule	Classe possibles des flavonoïdes
			Bande II	Bande I		
CIRTA (1) GTA dur (1)	Marron	0,3 0,3	274nm 273nm	319nm 331,5nm		-flavone (Markham, 1982)
CIRTA (4) GTA dur (4)	Vert foncé	0,31 0,4	266nm 262,5nm	331nm 325,5nm		-flavone (Markham, 1982)

Le spectre dans le MeOH pour les 7 molécules isolées de la phase MEC (Tableau 30) nous montre que :

Résultats et Discussions

- La fluorescence marron du produit sous la lumière UV-Visible (356 nm) pour les molécules isolées 1 et 4 chez **CIRTA** et **GTA dur** indiquent que ces molécules sont des flavones (Markham, 1982).

Tableau 31 : Tableau récapitulatif des structures possibles des molécules isolées dans les phases : (Aqueuse, Acétate d'éthyle et MEC chez deux variétés de blé dur CIRTA et GTA dur

Ph	Var	Spots	RF	Fluo	Noms	Structures possibles
Aqueuse	CIRTA	1	0,29	Marron claire	5,7-dihydroxy-4',6,8-trimethoxy flavone	
	GTA dur	2	0,49	Marron foncé	5,7-Dihydroxy-3',4',5'-Trimethoxy flavone	
Acétate d'éthyle	CIRTA	2	0,24	Marron	3,5,6,7,8-Pentamethoxy flavone -Quercetagenin 3,3',4',5,6-Pentamethyl ether	
	GTA dur	3	0,44	Marron claire	Amentoflavone-7,4',4'''-trimethyl ether	
MEC	CIRTA	4	0,31	Vert foncé	5,7-Dihydroxy-3',4',5'-Trimethoxy flavone	
	GTA dur	1	0	Marron	5,7-Dihydroxy-3',4',5'-Trimethoxy flavone	
		4	0,4	Vert foncé	5,7-Dihydroxy-2'-Methoxyflavone	

III. Activité biologique : Activité antioxydant

L'activité antioxydante des différents extraits (phases) issus des deux variétés étudiées (CIRTA et GTA DUR) a été évaluée *in-vitro* par le piégeage du radical libre DPPH•

1- Courbe d'étalonnage de la solution du DPPH•

Les dilutions de la solution du DPPH• sont faites dans le méthanol dans l'intervalle (0-0,0625) (mg/ml). Les résultats sont présentés sur la **Figure 38** suivante :

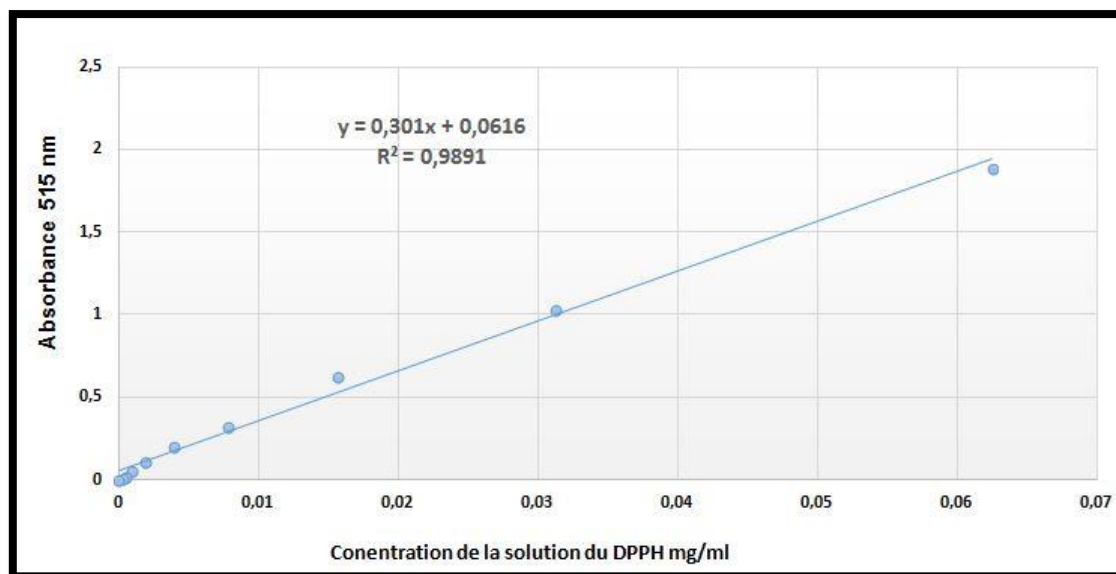


Figure 38 : La courbe de calibration du DPPH•

2- Activité anti-radicalaire du standard testé

✚ L'acide gallique :

L'acide gallique est un isomère de l'acide trihydroxybenzoïque. Ce composé organique aromatique est naturellement présent dans les plantes et les arbres. Considéré comme un acide phénolique, Il présente une activité antioxydante en piégeant 2,2- diphényl- 1- picrylhydrazyl et des radicaux libres hydroxyles et l'inhibition de la peroxydation des lipides des microsomes. Pour cela on a choisir comme standard d'activité antiradicalaire (**Figure 39**).

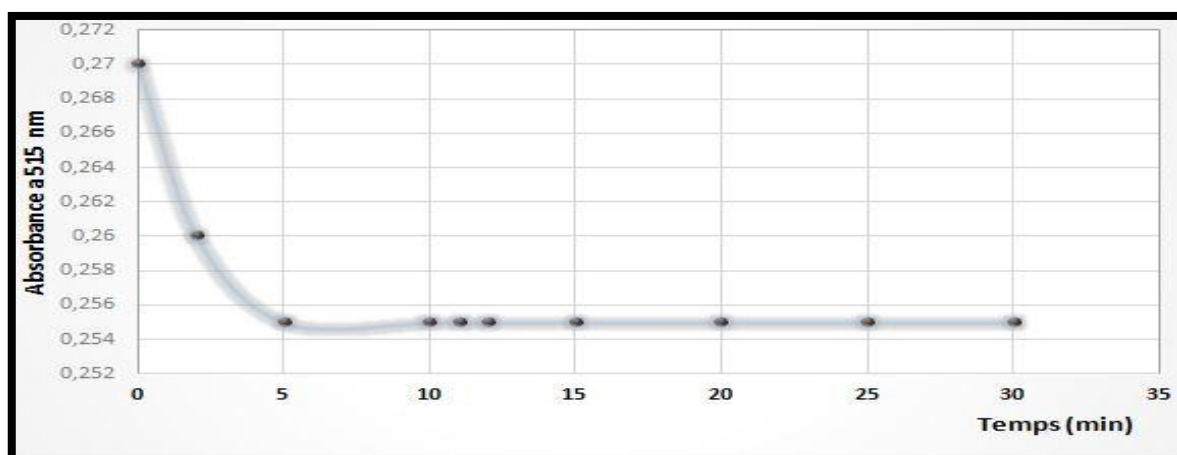


Figure 39 : La cinétique de la réduction du DPPH• par l'acide gallique.

3- Activité anti-radicalaire des phases testées

Les figures 40 et 41 montrent les profils de la cinétique de réduction du DPPH• en présence de la phase : Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, MEC et Aqueuse des deux variétés : GTA dur et CIRTA.

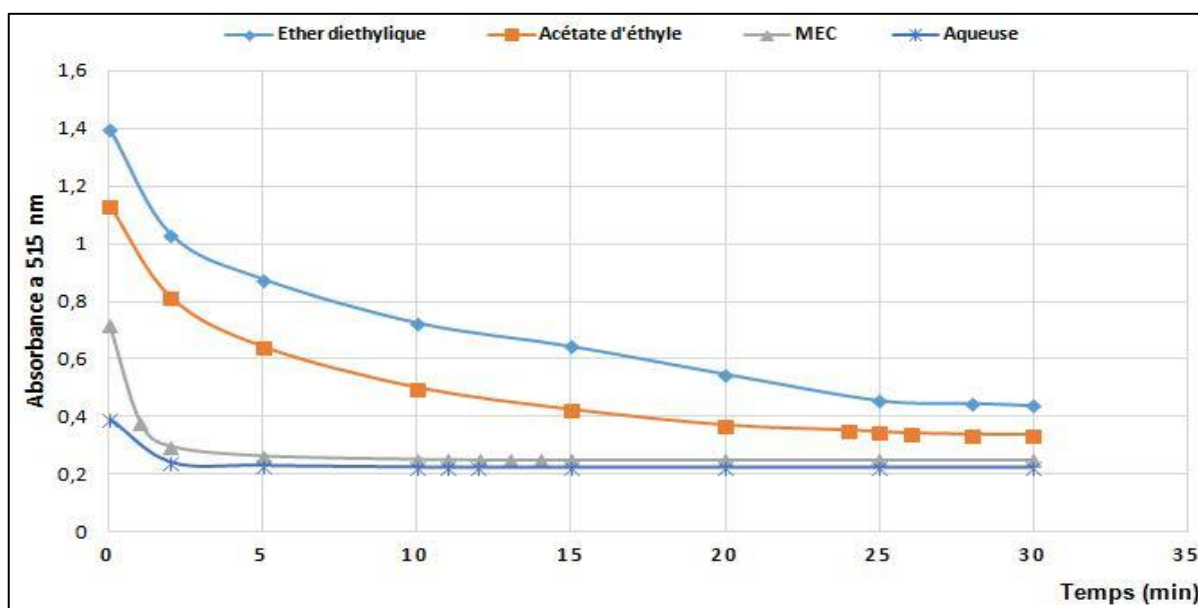


Figure 40 : La cinétique de la réduction du DPPH• par GTA dur

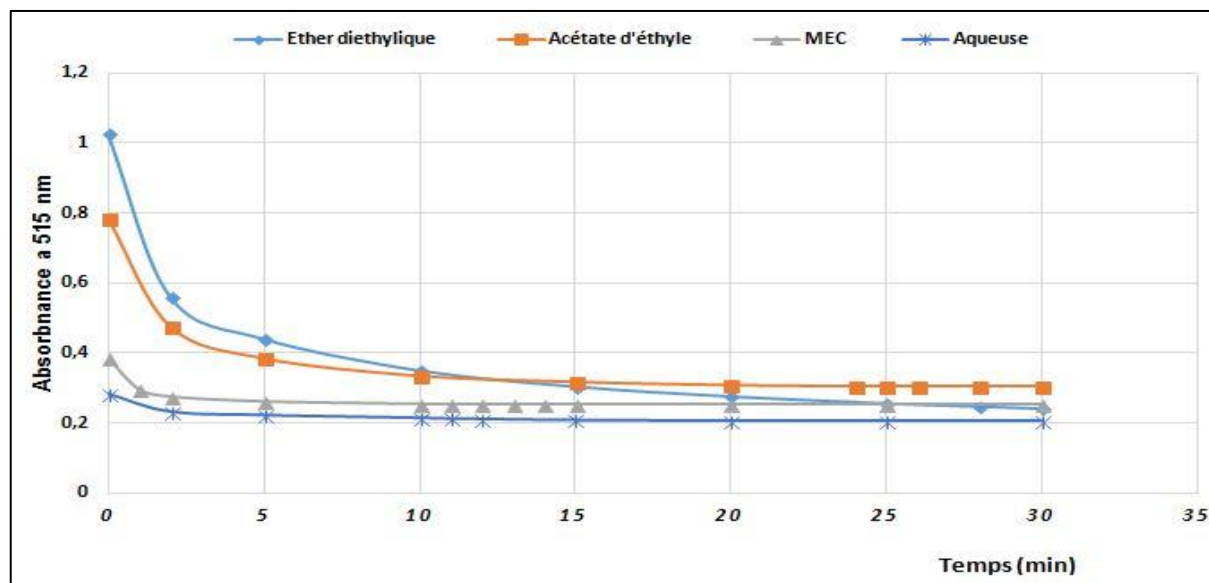


Figure 41 : La cinétique de la réduction du DPPH• par CIRTA

Le profil cinétique de la réduction du radical **DPPH•** chez **GTA dur** et **CIRTA** révèle que :

La réduction du radical libre **DPPH•** (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible (**Molyneux, 2004**), en mesurant la diminution de l'absorbance à 515 nm. Cette dernière est remarquable avec toutes les phases. Par rapport à la diminution de l'absorbance du **DPPH•** avec l'acide gallique.

Donc à partir de la cinétique de la réduction du **DPPH•** par les phases (Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, MEC et Aqueuse), et en fonction de la couleur (la couleur violette vers le jaune), nos extraits (phases) sont des antioxydants.

4- Le pourcentage de la réduction du (DPPH•)

La cinétique de la réduction du **DPPH•** par l'antioxydant standard l'acide gallique et les différentes phases testées (Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, MEC et Aqueuse) est suivie au cours du temps jusqu'à l'obtention d'un plateau au temps final (T_{eq}). La réduction des radicaux libres est évaluée par le rapport relatif de la concentration résiduelle $[DPPH•]_{t=T_{eq}}$ restant en fin de la cinétique par rapport à sa concentration initiale.

On a calculé le pourcentage de réduction du **DPPH•** par l'équation suivante :

$$\% (DPPH \bullet) = \frac{[DPPH \bullet]_{t = t_{eq}}}{[DPPH \bullet]_{t = 0}} \times 100$$

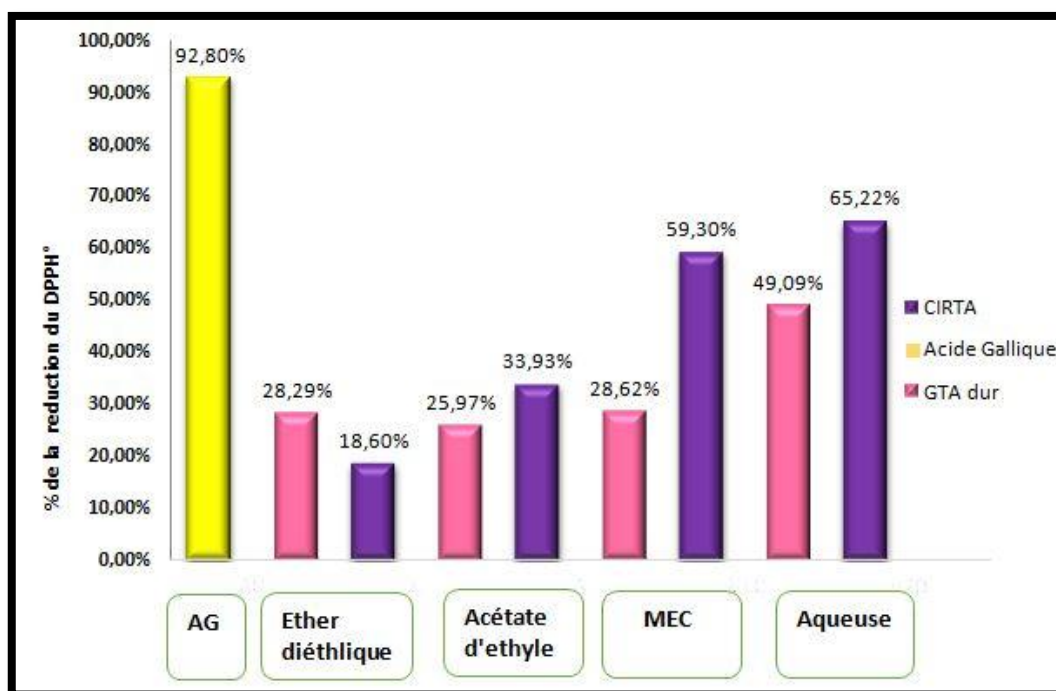


Figure 42 : Le pourcentage du DPPH• réduit.

D'après ces résultats (figure 42), on confirme que les phases testées sont des antioxydantes puissantes où la phase Aqueuse a la plus forte activité antioxydante pour les deux variétés. Les autres phases sont les suivant :

- 1- La phase Aqueuse : **GTA dur** (49.09%) et **CIRTA** (65.22%).
- 2- La phase MEC : **GTA dur** (28.62%) et **CIRTA** (59.30%).
- 3- La phase Acétate d'éthyle : **GTA dur** (25.97%) et **CIRTA** (33.93%).
- 4- La phase Ether diéthylique : **GTA dur** (28.29%) et **CIRTA** (18.60%).

Les deux variétés de blé dur **GTA dur** et **CIRTA**) sont des antioxydants riches en composés phénoliques notamment les flavonoïdes qui ont des propriétés antioxydantes.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives

Les céréales restent toujours une source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques. En revanche, ils représentent un réservoir de molécules bioactives encore peu exploré.

Ce travail a concerné les feuilles de blé dur (*Triticum durum*) de deux variétés (*CIRTA* et *GTA dur*) appartient à la famille des *Poacées*.

Une étude phytochimique a été réalisée par l'extraction des composés phénoliques solide-liquide et une extraction liquide-liquide.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des composés phénoliques totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités importantes en polyphénols. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 qui nous mène à conclure que ces extraits des herbes de blé dur contiennent une quantité considérable de flavonoïdes.

Des études qualitatives basés sur la chromatographie sur couches mince et la spectrométrie UV-Visible de ces composés nous permettons de visualiser des empreintes flavoniques de nos extraits, d'identifier les molécules et donner une approche sur la structure moléculaire. L'isolement de ces molécules par la CCM préparative et l'analyse spectroscopique nous a montré que nos extraits contiennent principalement des flavonoïdes de type de **flavone** et **flavonol**, potentiellement intéressants pour leurs propriétés biologiques.

Le potentiel antiradicalaire des extraits phénoliques a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité, donc cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que les maladies d'Alzheimer et le cancer, ce qui constitue un problème majeur de santé publique.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques, pharmacologiques et nutritionnelles tel que les feuilles de blé dur qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de:

- ❖ Identifier les composés bioactifs des molécules isolées et atteindre la structure exacte par les méthodes physiques et techniques instrumentales les plus sophistiqués telles que la spectrométrie de masse, l'HPLC et la R.M.N, etc.
- ❖ une étude *in vivo* est souhaitable sur modèle animal, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydantes et aussi antibactériennes des extraits sur les feuilles de cette plante.
- ❖ Développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes, doués d'une activité antioxydante.
- ❖ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Abeledo LG, Savin R, Slafer GA (2008)** Wheat productivity in the Mediterranean Ebro Valley: Analyzing the gap between attainable and potential yield with a simulation model. *Europ J Agron* 28: 541-550.
- Achieve Optimal Health & Brain Focus, 2017:** Top 12 Tips for a Plant Rich Life! Get Free eBook: . Wheat Grass Juice for Cancer June 2, 2017
- Akroum S.(2011).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels.Thèse de Doctorat en Science de l'Université de Constantine.
- Alex Simpson, 2016 :** Qu'est ce que l'agropyre ou herbe de blé ? 4 Bienfaits Nutritionnels Par Camille Thiebaut | dans Compléments Alimentaires | on August 2, 2016.
- Algeciras-Schimmich, A., Cook, W. J., Milz, T. C., Saenger, A. K., & Karon, B. S. (2007).** Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. *Clinical Biochemistry*, 40, 1311 – 1316.
- Almasiova V, Holovska K, Tarabova L, Cigankova V, Lukacinova A,Nistiar F (2012).** Structural and ultrastructural study of the rabbit testes exposed to carbamate insecticide. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. 47 :1319-1328.
- Aron P. et Kennedy A, 2008.** Flavan-3-ols : natures, occurrence and biological activity.*Mol. Nutri. Food Res.*,2008,52,79-104.
- Arts I.C.W., Van de Putte B., Hollman P.C.H. (2000).** Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods and processed foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 1746-1751.
- Auckland, A., 2008.** Surgery + adjuvant therapy beneficial for cervical cancer. *Inpharma weekly*1623, 3.
- Augustin Scalbert Claudine Manach , Christine Morand , Christian Rémésy & Liliana Jiménez (2005)** Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45:4, 287-306, DOI: 10.1080/1040869059096
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Vasseur J., Gazin JC., Pinkas M., Luyckx M., Gazin M., 1996** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim-Forsch/drug Res*:1-6.
- Bandyukova V. A. et Shinkareako A. L (1973)** The thin layer chromatography of flavonoids. *Chemistry of natural compounds.*, 9 (1) : 17-21.
- Barnoud D, Cano N, Schneider SM, Vasson MP, Hasselmann M, Leverve X. (2007).** *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. Springer, troisième édition. Paris : 241-242 B
- Bar-Sela G1, Tsalic M, Fried G, Goldberg H, 2007 :** *Nutr Cancer*. 2007;58(1):43-8. Wheat grass juice may improve hematological toxicity related to chemotherapy in breast cancer patients: a pilot study.
- Beaugrand, J. 2004.** Bases cytologiques et moléculaires de la dégradation enzymatique du son de blé tendre. Thèse de Doctorat. Univ de reims Champagne – Ardenne. Coll. INRA.
- Boizot N., Charpentier J.P (2006)** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra* : 79-82.

Références bibliographiques

- Borel P, 2014** Biodisponibilité des phytomicronutriments : Mécanismes impliqués et stratégies d'amélioration. UMR 1260 INRA/1062 INSERM/Université d'Aix-Marseille, NORT (Nutrition Obésité et Risque Thrombotique), Faculté de Médecine, 27, boulevard Jean Moulin, F-13385 Marseille Cedex 5. *Innovations Agronomiques* 42 (2014), 27-37
- Bouasla Abdallah, 2007** (*Cours de céréales de Mme GHARIB présentés le mardi 13/02/2007*).
- Bruneton J. (2008)**. Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.
- Bruneton, J. 1999**. Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales 3^{ème} édition. Tec&doc.Paris.
- Carr A., Frei B. (1999)**. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *The FASEB Journal* 13, (9), 1007–1024.
- Chira K., Such J., Saucier C., Teissède L. (2008)**. Les polyphénols du raisin. Ed :Springer.6 :75-82.
- Claire C. 16 février 2015** .Jus d'herbe de blé: le nouvel élixir de jeunesse
- Ciqual, 2013** :Table de composition nutritionnelle des aliments Licence Ouverte (data.gouv.fr)
- Cotelle N. (2001)**. Role of flavonoids in oxidative stress.Curr.Top. Med. Chem. 1:569-590. (cited in Yakhlaf G, 2009).
- Cotroneo MS, Wang J, Fritz WA, Eltoum IE, Lamartiniere CA, 2002**: Genistein action in the prepubertal mammary gland in a chemoprevention model. *Carcinogenesis*. 2002;23:1467–1474. [PubMed]
- Crop and Food Research NZ, 2002** : Wheat leaf Nutritional Analyses 12 Sept 2002 Certificate of Analysis
- Crozier A. (2003)**. Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants' Diet and Health*". Ed. *Goldberg*. pp: 27- 48
- Cuvelier, C., Dotreppe, O., & Istasse, L. (2003)**. Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann.Méd .Véte*, 147, 315 – 324
- Delattre, J., Beaudeau, J. L., & Bonnefont-Rousselot. (2005)**. Radicaux libres et stress oxydant:aspects biologiques et pathologiques. Edition *Lavoisier TEC & DOC éditions Médicales Internationales, Paris*, p 14 , 93 , 94.
- Djellouli F (2013)**. Aspect qualitatif et quantitatif des lipoprotéines sériques chez les agriculteurs utilisant les pesticides. Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en biologie
- Eco new, 07 février 2017** : L'Algérie a importé 2,71 Mrds US de céréales.
- Eco new, 11 juil. 2016** : La production de blé dur a augmenté de 61%.
- Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G. (1992)**. The role of lipid peroxidation and antioxydants in oxidative modification of LDL, *Free Rad. Biol. Med* 13 p:341
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N.,Trabelsi, N., Boulaaba, M.,Abdelly, C. (2008)** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*.331: 372-379.

Références bibliographiques

Feillet, P. 2000. Le grain de blé. Composition et utilisation. Edition INRA. Pp58-75; 196-198.

Fuhrman .B., LavyA., and Aviram M. (1995). Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid --peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr.*61:549-554. (cited in Yakhlaf G, 2009).

Gaillac(Tam), 1998 : station régionale ITV Midi-Pyrénées-Journée Technique Cinquantenaire ITV France composés phénoliques-8 juillet 1998

Galati G1, O'Brien PJ, 2004 : *Free Radic Biol Med.* 2004 Aug 1;37(3):287-303.Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties.

Garcia-Closas R, Gonzalez CA, Agudo A, Riboli E, 1999 : Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. *Cancer Causes Control.* 1999;10:71–75. [PubMed]

Gardés-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh., Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène .*L'actualité Chimique*, 91 – 96.

Gerontology 2003: red wine ingredient resveratrol protects from beta-amyloid neurotoxicity.; 49 : 380-3.

Ghazi F., Sahraoui S., 2005- Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de dattes communes : Tantbouchet et Hamraia. Mémoire d'Ingénieur. Institute national d'agronomie. Alger, 81 p.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.* 04: 162-169.

Goldberg G, ed. (2003) *Plants: Diet and Health.* The Report of the British Nutrition Foundation Task Force. Blackwell, Oxford

Gonthier M.P., Verny M.A., Besson C., Remesy C., Scalbert A., 2003. Chlorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats. *Journal of Nutrition* 133, 1853-1859.

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.

Hadi SM, Bhat SH, et al, 2007 : Oxidative breakage of cellular DNA by plant polyphenols: a putative mechanism for anticancer properties. *Semin Cancer Biol.* 2007;17(5):370–376. [PubMed]

Heller, R., Esnault, R., et Delance, C. 1998. *physiologie végétale 1-nutrition* 6ème édition.Dunod. Paris, Pp 289-288

Hagen, T. M., Wierzbicka, G. T., Sillau, A. H., Bowman, B. B., & Jones, D. P. (1990). Bioavailability of dietary glutathione: Effect on plasma concentration. *Am j Physiol*, 259, 524 –590

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62, 628 – 638.

Halliwell b 1999. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun*, 1999, 9, 1-32.

Halliwell B. (1994). Free radicals and antioxidants.*Nutr.Rev.*52:253-265.(cited in Yakhlaf G, 2009).

Références bibliographiques

Halliwell B., J. M. C. Gutteridge (2008). Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition. Oxford University Press.

Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Katan M.B. (1992). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 2379-2383.

HOLLMAN PCH, VAN TRIP JMP, BUYSMAN MNCP, (1996) Fluorescence detection of flavonols in HPLC by post-column chelation with aluminium. *Anal Chem* 68:3511-3515.

Imene A, 2017 :_Le Canada, principal fournisseur de l'Algérie en blé dur National 12 mars 2017 15:45

Ingram D, Sanders K, Kolybaba M, Lopez D, 1997 : Case control study of phyto-oestrogens and breast cancer. *Lancet*. 1997;350:990-994. [PubMed]

Jovanovic S.V.,Steenken S., Simie M.G.,HaraY .1998:Antioxydant properties of flavonoids *AHDIEQ*.7:137-161.

Kaldas M., Walle U et Walle T, 2003. Resveratrol transport and metabolism by human intestinal Caco-2 cells. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2003,55,307-312

Kampa M1, Nifli AP, Notas G, Castanas E, 2007 : *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 2007;159:79-113. Polyphenols and cancer cell growth..

Kellou R., 2008. Analyse du marché algérien du blé dur et les opportunités d'exportation pour les céréaliers français dans le cadre du pôle de compétitivité Quali-Méditerranée. Le cas des coopératives Sud Céréales, Groupe coopératif Occitan et Aude coop. Thèse de Master of Science du CIHEAM – IAMM n° 93.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et supplémentation antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans la maladie respiratoire. *Nutrition Clinique & Métabolisme*, 20, 165 – 177.

Lacolley, P., Babuty, D., Boulanger, C., Ghaleh, B., Loirand, G., Pinet, F., & Samuel, J.L. (2007). Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. Edition *John Libbey Eurotext, Paris*, p 312 , 316 , 317

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 de l'université Mentouri de Constantine.

Lefferts, J. A., Bartels, C.L., Tsongalis, G.J., 2008. Molecular oncology: current trends in diagnostics. *Future Oncology* 4, 61-70.

Lorrain B, Ky I, Pasquier G, Jourdes M, Guérin-Dubrana L, Gény L, Rey P, Donèche B, Teissedre PL (2012) Effect of Esca disease on the phenolic and sensory attributes of Cabernet Sauvignon grapes musts and wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18, 64-72

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.

Macdonald, F., Ford, C.H.J., Casson, A.G, 2003 : Molecular biology of cancer. BIOS Scientific Publishers (Oxford), 2003, 277p.

Références bibliographiques

Magne Nde CB, Zingue S, Winter E, Creczynski-Pasa TB, Michel T, Fernandez X, Njamen D, Clyne C1, 2015 : Curr Med Chem. 2015;22(30):3434-46. Flavonoids, Breast Cancer Chemopreventive and/or Chemotherapeutic Agents.

Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.

Manach C., Scalbert A., Remesy C., Morand C. (2006). Consommation et disponibilité des polyphénols. In: Les polyphénols en agroalimentaire. P. Sarni-Manchado and V. Cheynier (Ed). Paris, Lavoisier. 361–380.

Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Remesy C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition*. 81: 230S-242S.

Mareel, M., Leroy, A., 2003. Clinical, cellular, and molecular aspects of cancer invasion. *Physiological Reviews* 83, 337-376.

Markham K. R. (1982) Techniques of flavonoids identification. Ed Academic Press: 6-58.

Martin S, Andriantsitohaina R, 2002. Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Ann. Cardiol. Angéiol.* 2002, 51 (6): 304-15

Matés, J. M., Perez-Gomez, C., & Castro, N. I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*, 32, 595 – 603.

Merghem R (2009) Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine: 118-132.

Merghem R. (2011). Les plantes sources de molécules d'intérêt pharmacologique ou nutritionnel. In « congrès international de Nutrition. 22, 23 Mai 2011. Université d'Oran, Algérie. P 24-25.

Molyneux P (2004) The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol* 26 (2) :211-219.

Morand et al., (2000). Morand C., Manach C., Crespy V., Remesy C., 2000. Quercetin 3-O-beta-glucoside is better absorbed. than other quercetin forms and is not present in rat plasma. *Free Radical Research* 33, 667-676.

Morena, M., Martin-mateo, M., Cristol, J. P., & Canoud, B. (2002). Stress oxydant, hémo-incompatibilité et complication de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, 23 (5), 201 – 208.

Navarre Colette, 2010 , LANGLADE Françoise, L'Œnologie, coll. Tec & Doc, Cachan, Lavoisier, 7^{ed}. 2010, 366 pages

Niki, L., Reynaert, S. W., Aesif, T. M., Amy, B., Emiel, F. M., Wouters, C. G., Irvin., Yvonne, M. W., & Janssen-Heininger. (2007). Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The journal of Immunology*, 178, 3814 – 3821.

Parr, A.J. and Bolwell, G.P. (2000) Phenols in the Plant and in Man. The Potential for Possible Nutritional Enhancement of the Diet by Modifying the Phenols Content or Profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 985-1012.

Phaniendra Alugoju, Dinesh Babu Jestadi, and Latha Periyasamy 2014, Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases

Références bibliographiques

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. 1996: Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* 20:933-956

Robards K., Prenzler P.D., Tucke, G., Swatsitang P. and Glover W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66:401-436.

Raman AV, Berry MJ. 2011 Selenoproteins in Cellular Redox Regulation and Signaling *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates: Molecular Aspects of Cell Signaling*. 195-208

Sahnoun, Z., Jamoussie, K. and Zegal, K. M. 1997. Free Radicals and Antioxidants: Human Physiology and Therapeutic Aspects. *Thérapie*, 52: 251-70.

Santé en Danger, 2014 : Publié le 18 décembre 2014 Bien-Être. Guéri par l'herbe de blé : un homme de 74 ans a remporté le combat contre le cancer

Selvendiran K, Koga H, Ueno T, Yoshida T, Maeyama M, Torimura T, Yano H, Kojiro M, Sata M, 2006: Luteolin promotes degradation in signal transducer and activator of transcription 3 in human hepatoma cells: an implication for the antitumor potential of flavonoids. *Cancer Res.* 2006;66(9):4826-4834. [PubMed].

Skerget M., Kotnik P., Hadolin B., Hras A.-R., Simonic M. et Knez Z. (2005). Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 89: 191-198.

Sun T, Xu Z, Wu CT, Janes M, Prinyawiwatkul W, No HK, 2007 : Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *J. Food Sci.* 2007;72:S98-102. [PubMed]

Talcott, S.T. and Howard, L.R. 1999. Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (5): 2109-2115.

Van Acker S.A.B.F., van den Berg D.J., Tromp M.N.J.L., et al., 1996 : Structural aspect of antioxidant activity of flavonoids. *Free Rad. Biol. Med.* 20:331-342

Wojakowska. A et al, 2012 (Structural characterization of flavonoid glycosides from leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.) using LC/MS/MS profiling of the target compounds Anna Wojakowska, a Juliusz Perkowski, b Tomasz Góralc and Maciej Stobiecki* .. Received: 7 September 2012 Revised: 17 December 2012 Accepted: 20 December 2012 Published online in Wiley Online Library, (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jms.3160).

Woodman O.L., Meeker W.F., Boujaoude M. 2005 : Vasorelaxant and antioxidant activity of flavonoids and flavones. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 46:302-309.

Yaou A (2001) Contribution à l'étude des composés flavoniques d'une labiée : le *Teucrium polium* thèse

Les Annexes

**Annexe 01 : La Teneur des composés phénoliques totaux d'extrait brut
(Moyenne ± Ecartype)**

variétés	CIRTA	GTA dur
[Composés phénoliques] (mg E AG/ g)	0,228 ± 0,116	0,296 ± 0,149

**Annexe 02 : La Teneur des composés phénoliques totaux des phases
(Moyenne ± Ecartype)**

les phases [composés phénoliques]	Ether diéthylique	Acétate d'éthyle	MEC	Aqueuse
GTA dur : (mg E AG /g)	0,226 ± 0,006	0,145 ± 0,002	0,167 ± 0,006	0,246 ± 0,013
CIRTA: (mg E AG /g)	0,237 ± 0,008	0,362 ± 0,007	0,261 ± 0,001	0,317 ± 0,023

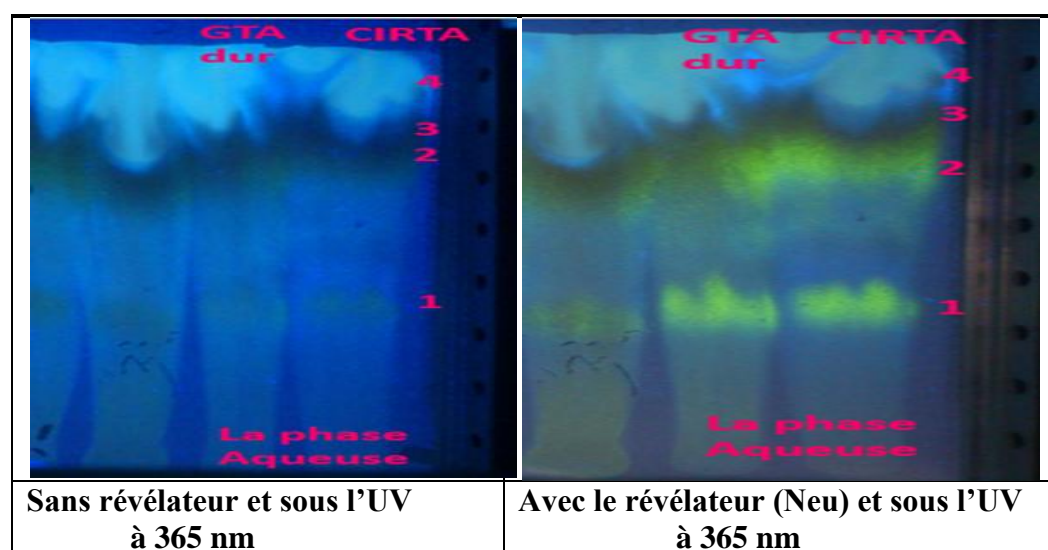
Annexe 03 : La Teneur des Flavonoïdes d'extrait brut (Moyenne ± Ecartype)

Variétés	CIRTA	GTA dur
[Flavonoïdes] (mg E Q/ g)	0,174 ± 0,013	0,065 ± 0,003

Annexe 04 : La Teneur des Flavonoïdes des phases (Moyenne ± Ecartype)

Les phases [Flavonoïdes]	Ether diéthylique	Acétate d'éthyle	MEC	Aqueuse
GTA dur: (mg E Q /g)	0,117 ± 0,012	0,233 ± 0,001	0,306 ± 0,028	0,283 ± 0,014
CIRTA : (mg E Q /g)	0,146 ± 0,040	0,299 ± 0,1	0,308 ± 0,022	0,182 ± 0,097

Annexe 05 : Résultat de la CCM des phases aqueuse

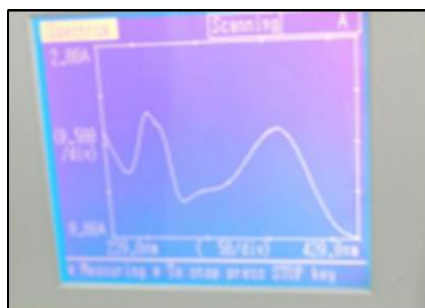


Annexe 06 : Résultats de la CCM préparative des phases (Aqueuse, Ether diéthylique, Acétate d'éthyle). Pour CIRTA et GTA DUR.

Phases	CIRTA	GTA DUR
Phase Aqueuse	<p>Phase aqueuse CIRTA</p>	<p>Phase aqueuse GTA DUR</p>
Phase Acétate d'éthyle	<p>Phase Acétate d'éthyle CIRTA</p>	<p>Phase Acétate d'éthyle GTA DUR</p>
Phase MEC	<p>La phase MEC CIRTA</p>	<p>Phase MEC GTA DUR</p>

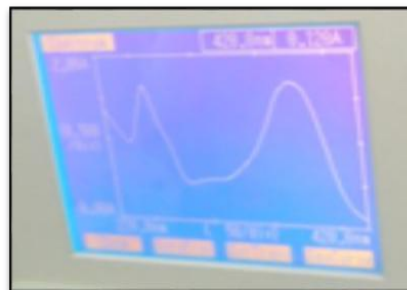
Annexe 07 : Analyse spectrale UV-visibles des standards

La rutine



λ max I = 359,5 nm, λ max II = 257 nm

La quercétine

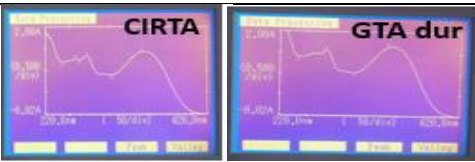
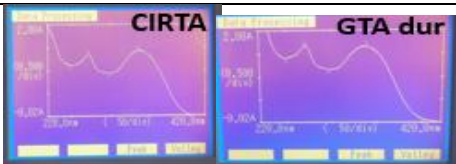
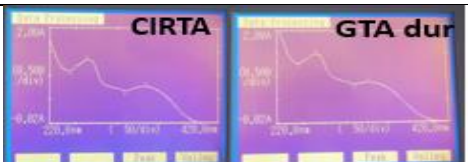
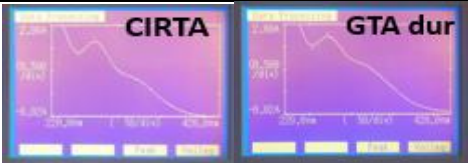
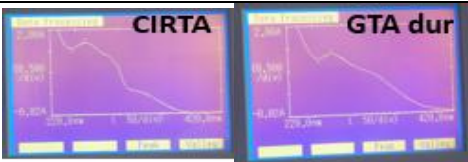


λ max I = 373 nm, λ max II = 256 nm

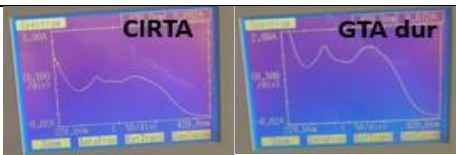
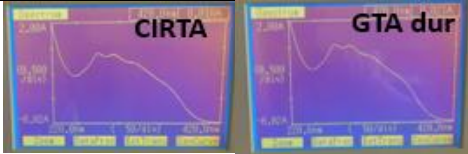
Annexe 08 : Caractéristiques chromatographiques et spectrophotométriques des molécules pures dans la phase aqueuse de CIRTA et GTA DUR.


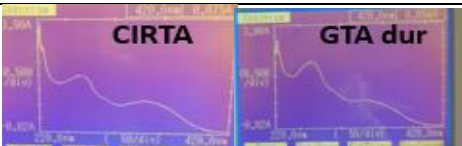

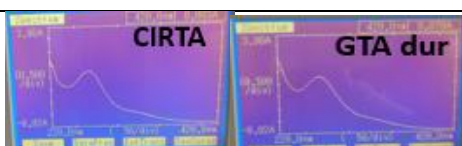
Molécules	Fluorescence	Rf	Spectre MeOH		Les spectres de chaque molécule	classe de flavonoïdes
			Bande II	Bande I		
CIRTA (1) GTA dur(1)	Marron Claire	0,29 0,27	273nm	329nm 332,5nm		-5 hydroxy flavone
CIRTA (2) GTA dur(2)	Marron foncé	0,59 0,49	273nm	332,5nm 331,5nm		-5 hydroxy flavone
CIRTA (3) GTA dur(3)	Jaune pâle	0,91 0,84		272nm 271nm		-flavanone (Markham, 1982)

Annexe 09 : Caractéristiques chromatographiques et spectrophotométriques des composés purs dans la phase Acétate d'éthyle de CIRTA et GTA DUR.

Molécules	Fluorescence	Rf	Spectre MeOH		Les spectres de chaque molécule	classe de flavonoïdes
			Bande II	Bande I		
CIRTA (1) GTA dur (1)	Marron foncé	0,12	272nm	339,5nm		-5 hydroxy flavone
CIRTA (2) GTA dur (2)	Marron	0,26	271nm	334nm		-5 hydroxy flavone
CIRTA (3) GTA dur (3)	Marron claire	0,46	263,5nm	334nm		-flavone (Markham, 1982)
CIRTA (4) GTA dur (4)	Jaune	0,69	272nm			-Flavanone (Markham, 1982)
CIRTA (5) GTA dur (5)	Bleu Vert	0,83 0,63	260,5nm	272,5nm		-Flavanone (Markham, 1982)

Annexe 10 : Caractéristiques chromatographiques et spectrophotométriques des composés purs dans la phase MEC de CIRTA et GTA DUR.

Molécules	Fluorescence	Rf	Spectre MeOH		Les spectres de chaque molécule	classe possible de flavonoides
			Bande II	Bande I		
CIRTA (1) GTA dur (1)	Marron	0,3	274nm	319nm		-flavone (Markham, 1982)
CIRTA (2) GTA dur (2)	Marron foncé	0,12 0,15	274nm	274nm		-flavanone (Markham, 1982)

CIRTA (3)	Marron claire	0,24	271nm	334,5nm		-flavone (Markham, 1982)
GTA dur (3)		0,27	272nm	334,5nm		
CIRTA (4)	Vert foncé	0,31	266nm	331nm		-flavone (Markham, 1982)
GTA dur (4)		0,4	262,5nm	325,5nm		
CIRTA (5)	Vert	0,47	262,5nm			-flavanone (Markham, 1982)
GTA dur (5)		0,52	261,5nm			
CIRTA (6)	Jaune	0,61	268nm			- flavanone (Markham, 1982)
GTA dur (6)		Rose	0,66	265nm		

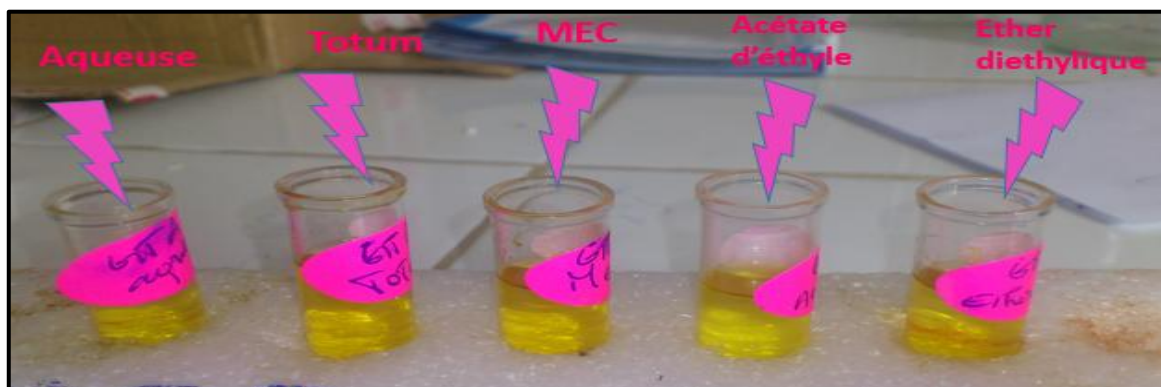
Annexe 11 : Maximum d'absorption UV des flavonoïdes

Spectre UV	Bande I	Bande II	Type de flavonoïdes	Reference
MeOH neutre	310-350	250-280	Flavones	Markham, 1982
	352-385	250-280	Flavonols	
	300-330	245-275	Flavanones	
	300-330	245-275	Isoflavones	
	348-390	230-270	Chalcones	
	380-430	230-270	Aurones	

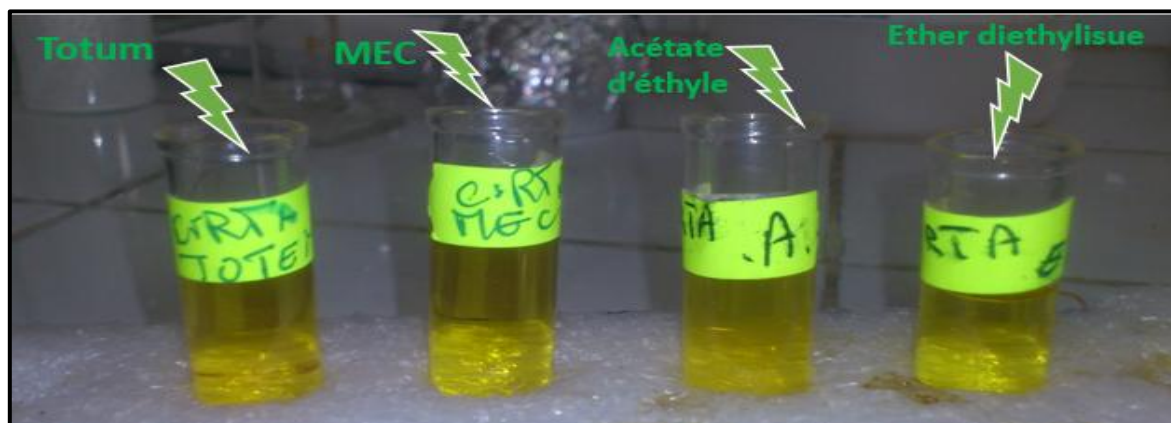
**Annexe 12 : Spectre UV de la bande I des flavones et des flavonols dans le méthanol
selon mabry et al., 1970)**

Flavonoid	Band] (nm)
Luteolin 7-O-rutinoside	349
Luteolin 7-O-glucoside	348
Zapotinin	348 ^c
Chrysoeriol	347
Orientin	346
Artemetin	345
Scoparin	345
Diosmetin	344
3-Hydroxyflavone	344
3'-4'-7-Trihydroxyflavone	343
5,7,8-Trihydroxyflavone 7-O-glucuronide	342 ^c
3',4',7-Trihydroxyflavone 7-O-rhamnoglucoside	341 ^a
3',4'-Dihydroxyflavone	340
Fisetin 3-O-glucoside	340 ^a
Galangin 3-methyl ether	340 ^c
5,7-Dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavone	340
Penduletin	340
3,5,6,7,8-pentamethoxyflavone	338
Quercetagetin 3,3',4',5,6-pentamethyl ether	338
Hymenoxin	336
Isovitexin (Saponaretin)	336
Saponarin	336
Apigenin	336
Rhamnosylvitexin	336
Vitexin	336
Violanthin	335
Amentoflavone	335
3',5,5'-Trihydroxy-3,4',6,7-tetramethoxyflavone	335
2''-O-Xylosylvitexin	335
5-Hydroxyflavone	333
3',4'-Dimethoxyflavone	333
Apigenin 7-O-glucoside	333
Apigenin 7-O-neohesperidoside	333
Quercetagetin hexamethyl ether	333
Xanthomicrol	332
5,7-Dihydroxy-3',4',5'-trimethoxyflavone	331
Pendulin	330
7-Hydroxy-3',4'-dimethoxyflavone	330
Nevadensin	329
4',7-Dihydroxyflavone	328
5-Deoxyvitexin (Bayin)	328
Acacetin	327
Sciadopitysin	326
4',7-Dihydroxyflavone 7-O-rhamnoglucoside	325
5,7-Dihydroxy-2'-methoxyflavone	325
Zapotin	325

Annexe 13 : L'activité antioxydante de nos extraits de la variété GTA dur est estimée sur le changement de la couleur (violette vers le jaune).



Annexe 14 : L'activité antioxydante de nos extraits de la variété CIRTA est estimée sur le changement de la couleur (violette vers le jaune).



Abstract

Cereals have been staple foods directly for human consumption and indirectly through feeding livestock since the beginning of civilization, these cereals are also rich in various health promoting components, which are often referred to as bioactive vegetable substances " Phenolic compounds ".

A phytochemical study was carried out by extracting phenolic compounds from the leaves of durum wheat (*Triticum durum*) of two varieties (CIRTA and hard GTA).

On the one hand, the results of the quantitative study show the existence of the phenolic compounds and the flavonoides with a variability of the content between the two varieties.

On the other hand, the qualitative study based on thin-layer chromatography and UV-Visible spectrometry of these compounds allows us to visualize flavonic fingerprints, to identify the molecules and to give an approach on the molecular structure and that the majority of the phenolic compounds are flavonoids of the flavone and flavonol type.

The antioxidant activity of the phenolic extracts was determined by the DPPH method, the results of which show that these extracts possess good activity but unevenly between the phases.

Finally, this plant contains molecules that are considered first class antioxidants and can be used for therapeutic applications, knowing that antioxidants contribute very effectively to the prevention of diseases such as Alzheimer's and Cancer, Which is a major public health problem. So we could direct their exploitation as much as medicinal plants.

Key words: Durum wheat leaves - Phenolic compounds and flavonoids - Antioxidant activity - DPPH - Medicinal plants

الملخص

الحبوب هي الأطعمة الأساسية للاستهلاك البشري بصورة مباشرة وغير مباشرة من خلال علف الماشية منذ بداية الحضارة، هذه الحبوب هي أيضا غنية في مختلف المكونات التي تعزز الصحة، وغالبا ما يطلق " المركبات الفينولية " المواد النشطة بيولوجيا النبات

وأجريت دراسة الكيمياء النباتي بها استخراج المركبات الفينولية من أوراق القمح الصلب من نوعين (القاسي و سيرتا)

من ناحية، ونتائج الدراسة الكمية تبين وجود المركبات الفينولية و الفلافونويد مع تنوع المحتوى بين نوعين.

من ناحية أخرى، فإن الدراسة النوعية على أساس اللوني طبقة رقيقة والتحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية مرئية هذه المركبات تمكننا من تصور بصمات الفلافونويد التعرف على الجزيئات وتعطي مدخلا للتركيب الجزيئي والتي تؤدي، الغالبية العظمى من المركبات الفينولية هي مركبات الفلافونويد من نوع الفلافون و الفلافونول

تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة من مقتطفات الفينولية. من خلال طريقة فقد بينت النتائج أن هذه مقتطفات لها نشاط جيد ولكن بشكل غير متساو بين المرحلتين

وأخيرا، وهذا المصنع يحتوي على جزيئات التي تعتبر مضادات الأكسدة من الدرجة الأولى، ويمكن استخدامها لتطبيقات العلاجية، مع العلم أن مضادات الأكسدة تساهم بشكل فعال جدا في الوقاية من الأمراض مثل مرض الزهايمر والسرطان المشكلة الكبيرة في الصحة العمومية. ادن نستطيع ان نوجه عملياتها مثل النباتات الطبية.

كلمات البحث: نبات القمح الصلب-مركبات الفينول و الفلافونويد-المضادة للأكسدة-النباتات الطبية-

DPPH

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

**Titre : Valorisation et pouvoir antioxydant des composés phénoliques des
feuilles de blé dur (*Triticum durum*) : GTA dur et CIRTA**

Résumé

Les céréales ont été des aliments de base directement pour la consommation humaine et indirectement par l'alimentation du bétail depuis le début de la civilisation, ces céréales sont également riches en divers composants favorisant la santé, ces derniers sont souvent appelées des substances bioactives végétales « **composés phénoliques** ».

Une étude phytochimique a été réalisée par l'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles de blé dur (*Triticum durum*) de deux variétés (*CIRTA* et *GTA dur*).

D'une part, les résultats de l'étude quantitative montrent l'existence des composés phénoliques et des flavonoïdes avec une variabilité de la teneur entre les deux variétés.

D'autre part, l'étude qualitative basée sur la chromatographie sur couches minces et la spectrométrie UV-Visible de ces composés nous permet de visualiser des empreintes flavoniques, d'identifier les molécules et donner une approche sur la structure moléculaire et qui résulte que la majorité des composés phénoliques sont des flavonoïdes de type **flavones** et **flavonols**.

L'activité antioxydante des extraits phénoliques a été déterminée par la méthode de **DPPH** dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité mais d'une façon inégale entre les phases.

Finalement, cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que les maladies d'Alzheimer et le Cancer, ce qui constitue un problème majeur de santé publique. Donc on pourrait orienter leur exploitation autant que plantes médicinales.

Mots clés : Les feuilles de blé dur– Les composés phénoliques et les flavonoïdes –L'activité antioxydante – DPPH– Plantes médicinales

**Laboratoire de recherche : (Biochimie Micro-moléculaire et Phytochimie) Développement
et Valorisation des Ressources Phytogénétiques à l'université des frères Mentouri
Constantine**

Président du jury : KITOUNI.R
Rapporteur : MERGHEM. R
Examinatrice : BELBACHE. H

MAA. Université des Frères Mentouri Constantine
Pr. Université des Frères Mentouri Constantine.
MAA. Université des Frères Mentouri Constantine

