

République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEU

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة قسنطينة 1

Université Constantine 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

N° DE SERIE

MEMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DEMASTER

Option : Métabolisme secondaire et molécules bioactive

THEME

Etude quantitative et qualitative des composés phénolique chez quatre variétés de blé tendre (*Triticum aestivium*) et d'orge (*Hordeum vulgare*) soumises à un stress hydrique et leurs activités antimicrobiennes

Présenté par :

Kassah laoure Hayet

Khenioua Soumia

Devant le jury :

- **Président** : Mr.Chibani Salih MCB Université Constantine 1
- **Promoteur** : Mlle. Chaib Ghania MCB Université Constantine 1
- **Examineurs** : Mme. Zaghade Nadia MCB Université Constantine

Année universitaire 2014-2015

Remerciements

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et remerciements à **Mlle. CHAIB Ghania.***

➤ *Qui a initié et dirigé notre travail.*

➤ *Et avec laquelle nous avons beaucoup appris.*

Aussi nous adressons nos vifs remerciements :

- *A la président du jury: Mr.CHIBANI Salih Professeur à l'Université Mentouri.*
- *Madame zaghade , Maitre assistante à l'Université Mentouri, qui a accepté d'être membre du jury et d'examiner ce mémoire.*
- *MoncieurBAKA Mbarek professeur à l'Université Mentouri.*
- *Les ingénieures :NABILE Labo01,NABILE Labo biochimie,Abala,razika Labo microbiologie,Prof widade .*

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

Mes parents : AMMARE et MIMIA pour leur amour

Mon frère : ISAME

Mes soeurs : AMIRA ,ROKIA ,firouze,samira,

Les homme et les enfants de mes soeur. ines, zaki,

Mes chers amis : hizia,asama,marawa,isamahane,marayam,khadija

,chourouk,ahalame ,khadija,amina.

Tous mes amis d'étude : mariwa, HananeSabira,Soumia

A toute la famille kassah laouare hayat

Sommaire

Introduction

PARTIE 01 : SYNTHES BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Description de la plante.....	02
--	----

I. Description de la plante : les céréales	02
--	----

I.1. Définition.....	02
----------------------	----

I. 2. Origine et historique du blé	02
--	----

I. 2. 1. le blé tendre (<i>Triticum aestivum</i>)	03
---	----

I. 2. 1. 1. Description botanique.....	03
--	----

I. 2. 1. 2. Classification botanique du blé tendre	03
--	----

I.2.1.3. Le Cycle végétatif du blé.....	04
---	----

I.2.2. L'orge (<i>Hordeum vulgare</i>)	05
--	----

I.2.2.1. Description botanique.....	05
-------------------------------------	----

I.2.2. 2. Classification botanique d'orge.....	06
--	----

Chapitre II : les composé phénolique

II. Les composés phénoliques	08
------------------------------------	----

II.1. Généralités	08
-------------------------	----

II.2. La Biosynthèse des composés phénoliques.....	09
--	----

II.2.1. La voie de Shikimate	09
------------------------------------	----

II.2.2. La voie des phénylpropanoïdes	09
---	----

II.3. La voie de biosynthèse des flavonoïdes	10
--	----

II.4. Classe des polyphénols	11
------------------------------------	----

II.4.1. Acides phénoliques	11
----------------------------------	----

II.4.2. Les flavonoïdes	13
II.4.2. 1. Généralités	13
II.4.2. 2. Structure chimique et classification	13
II.4.2. 3. Classification des flavonoides	14
II.4.2. 4. Localisation et distribution des flavonoides.....	14
II.4.2. 5. Les propriétés des flavonoïdes	15
II.4.3. Les tannins	15
II.4.3.1. Généralités	15
II.4.3.2. Types et structures des tannins	15
II.4.3.3. Propriétés pharmacologiques des tannins	16
II.4.4. Stilbènes	16
II.4 .5. Lignanes	16
II.4.6. Lignines polymères	17
II.5. Les effets bénéfiques des polyphénols	17
II.6. Propriétés biologiques des polyphénols	18
II.7. Rôle technologique des polyphénols	18
II.8. Bioconversion des composés phénoliques de blé	18
Chapitre III : stress hydrique	
III. stress hydrique	21

III.1. Notion de stress	21
III.2 Le stress hydrique	21
III.3. Mécanismes d'adaptation des plantes au stress hydrique	21
III.3.1. Les stratégies de résistance	22
III.3.2. La stratégie de tolérance	22
III.4. Le stress oxydatif	22
III.4.1. Les radicaux libres	23
III.4.2. Détoxification des radicaux libres par les composés phénoliques	24
Chapitre VI : activités biologique	
VI. Activités biologiques	26
VI.1. Activité antioxydants	26
VI.2. Activité antimicrobienne	26
VI.2.1. Les principales substances antimicrobiennes	27
VI.3. activité antifongique	29
PARTIE 02 : MATERIELS ET METHODE	
I. Matériel végétal	30
I.1. Préparation des échantillons	30
II. Etude phytochimique	31
II.1.1. Protocole d'extraction	31
II.1.2. Principe de dosage	32
II.1.3. Protocole de dosage	32
II.1.4. Courbe d'étalonnage	33
III. Etude qualitative	34
III.1. Méthode d'extraction	34
III. 2. Protocole d'extraction	34
III.3. Les Affrontement	34

III.3.1. Affrontement à l'ether de pétrole	34
III.3.2. Affrontement à Ether Diéthylique.....	35
III.3. 3. Affrontement à l' Acétates d'éthyle	35
III.3. 4. Affrontement méthyléthylcétone (MEC)	36
III.4. Protocole	36
III.5. Techniques de séparation	37
III.5.1. Méthodes de séparations chromatographique	37
III.5.2. Analyse chromatographique sur couche mince	38
III.5.2.1. Principe	38
III.5.2.2. Mode opératoire	39
III.5.2.3. La révélation.....	40
III.6. Techniques d'identification structurale	
III.6.1. La spectrophotométrie UV-visible.....	41
III.6.2. Analyse spectrale des phases	42
III.7. Activité biologique	42
III.7. 1. L'activité antibactérienne	42
III .7. 1.1. matériel.....	42
III.7.1.2. Protocole	42
III.7.1.3. Lecture des résultats	43
III.7.1.4. L'activité antifongique.....	43
III.7.1.5. Matériel	43
III.7.1.6. Protocole	43
III.7.1.7. Lectures des résultats	44
PARTIE 03 : RESULTATES ET DESCUSION	
I. Teneur en composés phénoliques	45
II. Analyse quantitative.....	47
II.1. Analyse cromatografique	47
II.2. Les photos des plaques CCM.....	48
II.3. Spectrophotomètre UV-visible.....	59

III- L'activité biologique	63
III.1. Activité antibactérienne et antifongiques	63
III.1.1 Phase d'éthyle Acétate	67
III.1.2.Phase Ether diéthylique	71
III.1.3.Phase Butanone	74
III.1.4.Phase aqueuse.....	77

RESUME

CONCLUSIONS

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Résumé

Résumé

Notre travail est basé sur l'étude quantitative et qualitative des polyphénols extraits des parties aériennes de quatre variétés : deux de blé tendre (*Triticum aestivum*) (MP,FA) et deux variétés d'orge (*Hordeum vulgare*) (Jaidore, saida) durant deux traitements SDH et ADH, et de tester leurs activités antimicrobiennes (antibactérienne : *E.coli* et *Bacillus* ; antifongique : *Fusarium*). Les résultats obtenus de l'étude quantitative des extraits éthanoliques montrent l'existence d'une variabilité intravariétale et intervariétale. La variabilité se distingue aussi des traitements SDH et ADH.

L'étude qualitative des polyphénols commence par des répartitions entre quatre solvants de polarité différente. Cela a conduit à l'obtention de différentes phases. Leur composition est identifiée par le spectrophotomètre UV et la chromatographie sur couche mince.

Les résultats obtenus montrent que la majorité des polyphénols sont des flavonoïdes de type flavonols et flavones. L'activité antibactérienne montre que les extraits de chaque variété possèdent un effet inhibiteur considérable sur la croissance de *E.coli* et *Bacillus*. Contrairement, l'activité fongique ne présente aucun effet sur *Fusarium*.

Mots clés: blé tendre (*Triticum aestivum*), orge (*Hordeum vulgare*), polyphénols, déficit hydrique, spectrophotomètre UV –Visible, antimicrobienne, Chromatographie couche mince CCM.

الملخص

لقد ركز بحثنا الدراسة الكمية و النوعية للمركبات الفينولية تحت الاجهاد المائي و مقارنتها مع الحالة العادية عند 4 اصناف من القمح اللين. (MP,FA) (*Triticum aestivum*) والشعير (*Jaidore, saida*) (*Hordeum vulgare*) لجزء الاول تم دراسة كمية و نوعية المركبات الفينولية خلال المرحلتين العادية و الاجهاد . الجزء الثاني اختبار نشاطه المضاد للمكروبات (البكتيري *Bacillus*, *Escherichia-coli* والفطري *fusarium*).

تشير نتائج الدراسة الكمية الى وجود كميات مختلفة من المركبات الفينولية بين الاصناف بينما لا يوجد أي اختلاف بين المرحلتين . تمت معالجة المستخلصات الميثانولية بأربعة محاليل متفاوتة القطبية كل منهما متخصص في استخلاص قسم معين من المركبات الفينولية . حللت نتائج الدراسة النوعية للعينات الناتجة عن طريق قياس امتصاص الضوء في المجال المرئي و الفوق بنفسجي و تقنية الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة . دلت النتائج عن وجود فينولات بسيطة أحماض فينولية و كذا الفلافونويدات خاصة الفلافونولوفلافون. أظهرت المستخلصات الغنية بالمركبات الفينولية ان لها نشاطا عاليا ضد البكتيريا خاصة ضد *Bacillus* في حالة الاجهاد المائي. بينما ليس لها أي مقاومة ضد فطر *fusarium*

الكلمات المفتاحية

القمح اللين *Triticum aestivum*، الشعير *Hordeum vulgare*، المركبات الفينولية، المضاد للمكروبات، امتصاص الضوء، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، الإجهاد المائي.

Introduction

Introduction

Les céréales constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins. En Algérie, les produits Céréaliens occupent une place très stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale.

Le blé fait partie aujourd'hui des trois grandes céréales avec le maïs et le riz, avec environ 600 millions de tonnes annuelles. C'est l'aliment, le plus consommée par l'Homme et l'animal. Il possède un pouvoir nutritionnel important.

En raison de l'importance des produits à base de céréales, plusieurs études ont montré que les végétaux produisent des métabolites secondaires, dont toutes les fonctions n'ont pas encore été identifiées, qui sont fondamentaux, notamment pour l'adaptation des plantes aux environnements. Comme les composés phénoliques, chez les végétaux sont impliqués dans les mécanismes de résistance aux stress biotiques et abiotiques et à cause de leurs effets bénéfiques, des études récentes ont suggéré l'implication de ces composés dans la prévention et la lutte contre certaines maladies. Beaucoup de connaissances d'un point de vue scientifique de tel une augmentation en effet les variations des conditions de culture comme le doublement des teneurs en flavonoïdes.

L'objectif de notre étude vise la mise au point d'une étude photochimique de quelques variétés d'orge (*Hordum vulgare*) et de blé tendre (*Triticum aestivum*) afin de quantifier et qualifier, la teneur de ces céréales en composés phénoliques à l'état normal sans déficit hydrique et avec stress hydrique. et de tester leurs activités antimicrobiennes in vitro, à savoir antibactérienne et antifongique.

Paratie 01 : synthèse bibliographique

chapitre I : description de la plante

I. Description de la plante: les céréales

I.1. Définitions

Les céréales regroupent des plantes de la famille des Poacées (Graminées). Les cinq céréales les plus cultivées dans le monde sont : le maïs, le blé, le riz, l'orge et le sorgho. Les céréales constituent de loin la ressource alimentaire la plus importante à la fois pour la consommation humaine et pour l'alimentation du bétail et agricole. Le blé constitue la principale culture céréalière dans le monde et représente environ 31% de la consommation globale en céréales. La production mondiale de blé s'est élevée en 2001 à environ 575,5 MT,

I. 2. Origine et historique du blé

Durant le développement de la civilisation indo-européenne, le blé est devenu la principale céréale des peuples occidentaux sous climat tempéré (Henry et De Buyser, 2001). Le blé tendre est apparu entre 5000 et 6000 ans avant Jésus-Christ dans le croissant fertile puis s'est dispersé à partir de la Grèce en Europe (Doussinault *et al.* 1992). C'est à partir de cette zone que les blés ont été diffusés vers l'Afrique, l'Asie et l'Europe. La route la plus ancienne de diffusion des céréales vers les pays du Maghreb fut à partir de la péninsule italienne et de la Sicile (Bonjean, 2001 in Boulal et al, 2007).

En Algérie, Léon Duceillier (1878-1937) en particulier, parcourant le blé, fit au début du siècle le recensement d'une flore mal connue. Les blés ont d'abord évolué en dehors de l'intervention humaine, puis sous la pression de sélection qu'ont exercée les premiers agriculteurs (Henry et de Buyser, 2001), les deux espèces des céréales les plus cultivées sont :

- ✓ le blé dur (*Triticum durum*) : AABB (2n = 4x = 28) Tétraploïde ;
- ✓ le blé tendre (*Triticum aestivum*) : AABB DD (2n = 6x = 42) Hexaploïde.

I. 2. 1. le blé tendre (*Triticum aestivum*)

I. 2. 1. 1. Description botanique

Le blé appartient au genre *Triticum* de la famille des Graminée. C'est une plante herbacée annuelle, monocotylédone, à feuilles alternes, formée d'un chaume portant un épi constitué de deux rangées d'épillets sessiles et aplatis. Les fleurs de cette plante sont nombreuses, petites et peu visibles. Elles sont groupées en épis situés à l'extrémité des chaumes. La fleur est cléistogame, c'est-à-dire qu'elle reste fermée, la pollinisation s'effectuant par autogamie qui est le mode de reproduction le plus fréquent chez les blés. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscent (qui ne s'ouvre pas), appelé caryopse.

Il est cultivé pour faire la farine panifiable utilisée pour le pain. Ses grains se séparent de leurs enveloppes au battage. Communément dénommée blé tendre ou tout simplement blé, cette espèce a connu une très grande dispersion géographique et est devenue la céréale la plus cultivée. La sélection moderne, initiée à la fin du XIX^e siècle par Henry de Vilmorin, s'est concentrée sur trois axes : la résistante aux maladies et aux aléas climatiques, la richesse en protéines, notamment le gluten pour la panification, et bien entendu le rendement.

I. 2. 1. 2. Classification botanique du blé tendre

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

S/classe : Commelinidae

Famille : Poaceae

S/ famille : Pooideae

Tribu : Triticeae

Genre : *Triticum*

Espece : *aestivum*

2. 1. 3. Le Cycle végétatif du blé

Le cycle biologique de la vie de la plante se répartit aux stades suivants:

➤ **Germination et levée**

Au début de la germination, la semence de blé est sèche. Après humidification, il sort une radicule, puis une coléoptile. Une première feuille paraît au sommet de la coléoptile. La germination est uniquement déterminée par une somme de température 30 °C base 0 °C La levée commence quand la plantule sort de terre et que la première feuille pointe au grand jour son limbe.

➤ **Stade 3 feuilles**

Le stade 3 feuilles est une phase repère pour le développement du blé. Des bourgeons se forment à l'aisselle des feuilles et donnent des pousses appelées talles. Apparaissent alors, à partir de la base du plateau de tallage, des racines secondaires ou adventives, qui seront à l'origine de l'augmentation du nombre d'épis.

➤ **Tallage**

Il est marqué par l'apparition d'une tige secondaire, une talle.

➤ **Montaison**

Le bourgeon terminal se produit le début du développement de l'épi. Parallèlement, on assiste à l'allongement des entrenœuds.

➤ **Epiaison**

Quand la gaine éclatée laisse entrevoir l'épi qui va s'en dégager peu à peu, on peut voir un gonflement de la gaine. À ce stade, le nombre total d'épis est défini, de même que le nombre total de fleurs par épi. Chaque fleur peut potentiellement donner un grain par exemple 25 grains par épi.

➤ **Floraison**

s'observe à partir du moment où quelques étamines sont visibles dans le tiers moyen de l'épi, en dehors des glumelles (Hadria, 2006; Gates, 1995)

I.2.2. L'orge (*Hordeum vulgare*)

I.2.2.1. Description botanique

Hordeum vulgare est une céréale à paille, plante herbacée annuelle de la famille des poacées. L'orge est une espèce diploïde ($2n=14$). Elle est la plus ancienne céréale cultivée. Bien adaptée au climat méditerranéen du fait de sa rusticité. Elle constituait ainsi la principale céréale cultivée dans l'Antiquité grecque et était consommée sous forme de galette ou de bouillie. À noter que le mot « orge » s'emploie au féminin, sauf lorsque l'on parle d'orge mondé ou d'orge perlé. L'orge est caractérisée par ses épis aux longues barbes. L'épi d'orge: un épi d'orge porte de 25 à 30 épillets. Il existe l'orge à deux rangs et l'orge à six rangs. Chaque épi porte respectivement deux ou six grains par rangée longitudinale.

Les variétés d'orge d'hiver à six rangs sont résistantes au froid jusqu'à $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, portent le nom d'escourgeon. Elles se sèment fin septembre - début octobre, ayant besoin d'être bien installées avant l'hiver.

Parmi les variétés cultivées, on distingue : les orges de printemps, sensibles au gel, au cycle végétatif plus court, qui se sèment en février - mars

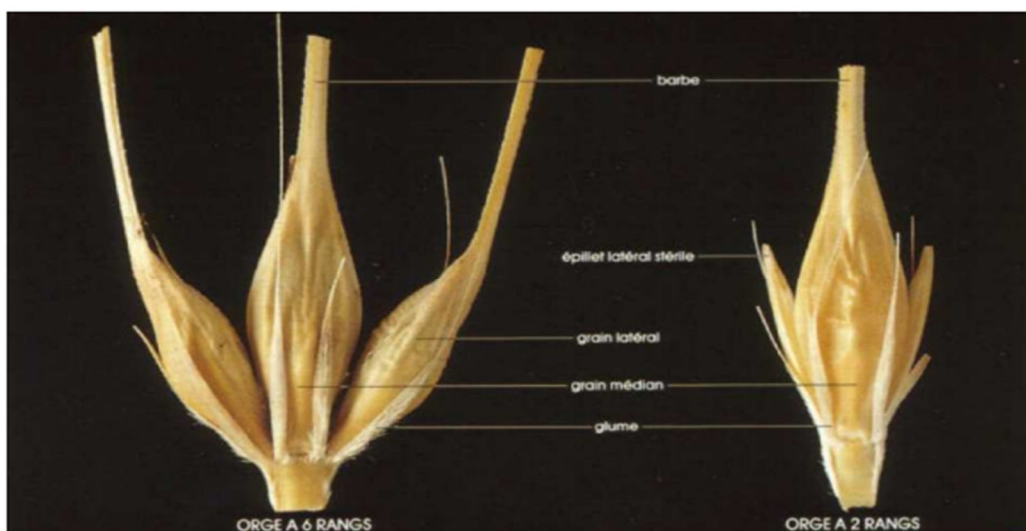


Figure 1 : L'orge à six rangs et orge à deux rangs

L'orge à 2 rangs ou l'orge distique, a un épi aplati composé de 2 rangées d'épillets fertiles, un sur chaque axe du rachis, entouré de 4 épillets stériles. Dans ce type existent surtout des variétés de printemps.

L'orge à 6 rangs ou orge hexastique: encore appelé exourgeon, à une section rectangulaire sur chaque axe du rachis . Les 3 épillets sont fertiles. Dans ce type n'existent pratiquement que des variétés d'hivers (Prats et Grandcourt, 1971; Soltner, 2005).

I.2.2. 2. Classification botanique d'orge

Règne:Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Ordre : Cyperales

Famille : Poaceae

Genre : Hordeum

chapitre II: les composés phénoliques

II. Les composés phénoliques

II.1. Généralités

Les composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal

Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (Bruneton, 1993). A l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés (Mompon et al., 1998). Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hennebelle et al., 2004). Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse Moléculaire peut atteindre 9000 (Harbone, 1993).

- Ils sont divisés en plusieurs catégories : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tannins, quinones, acides phénols, xanthones et autres phloroglucinols où les flavonoïdes représentent le groupe le plus commun et largement distribué (Figure 1). La grande diversité structurale des composés phénoliques rend difficile une présentation globale des méthodes qui permettent leur extraction et leur isolement, des processus mis en jeu au cours de leur biosynthèse, de leurs propriétés physico-chimiques et biologiques (Bruneton, 1993).

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs.

Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols, les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportant le reste (Middleton et al., 2000).

Les recherches des dix à quinze dernières années ont démontré que les composés phénoliques ne sont nullement des produits inertes du métabolisme. Ils subissent dans les tissus végétaux d'importantes variations quantitatives et qualitatives et interviennent dans de processus vitaux les plus divers. Le mode de leur action et sa signification physiologique ne sont pas encore toujours claires. Un rôle important est attribué aux phénols dans la résistance des plantes aux maladies, comme c'est le cas de la résistance du cotonnier à la maladie de flétrissement, la verticilliose. Le phénomène d'accumulation des substances phénoliques dans A partir des années quatre-vingt, c'est la découverte du rôle des radicaux libres dans les Processus pathologiques qui a relancé l'intérêt des polyphénols en particulier les flavonoïdes dont les propriétés antioxydants sont très marquées.

II.2. La Biosynthèse des composés phénoliques

II.2.1. La voie de Shikimate

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïdes (Yao *et al.*, 1995).

II.2.2. La voie des phénylpropanoïdes

La voie de phénylpropanoïdes commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide Salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose.

II.3. La voie de biosynthèse des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base. L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalcone synthase, d'une unité phényle propanoïde avec trois unités malonyl-CoA. Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse des divers flavonoïdes (Bruneton, 1999)

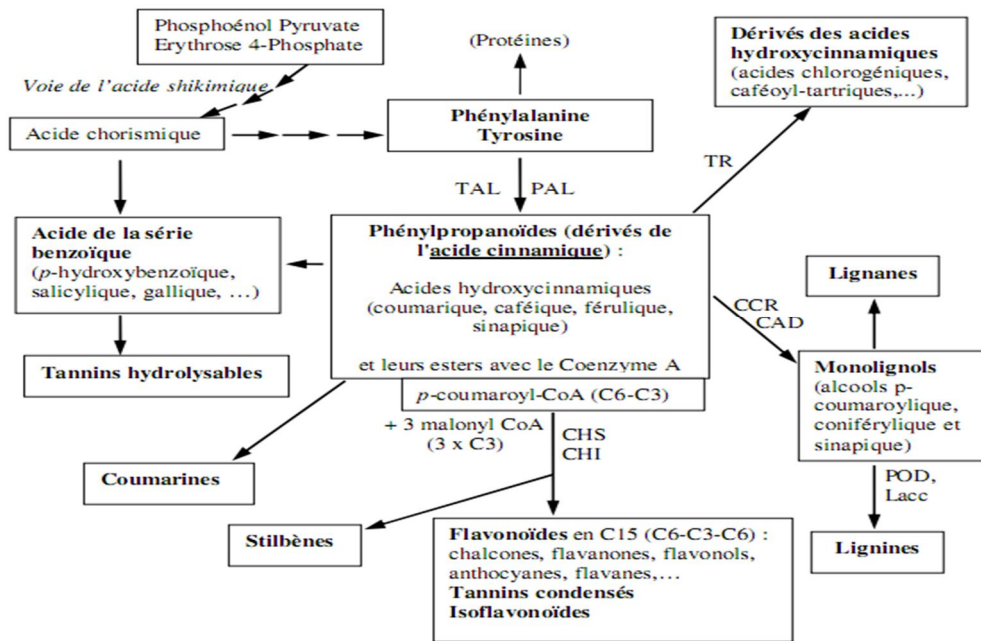


Figure 2 : Les grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques. (Macheix *et al.*, 2005)

Abréviation des principales enzymes : PAL : phénylalanine ammonialyase ; TAL : tyrosine ammonialyase ; CCR : cinnamate CoA réductase ; CAD : cinnamyl alcool déshydrogénase ; CHS : chalcone synthase ; CHI : chalcone flavanone isomérase ; POD : peroxydases ; Lacc : laccases ; TR : transférases.

II.4. Classes des polyphénols

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues (Han *et al.*, 2007 in Tsao, 2010). Les composés phénoliques sont subdivisés en groupes selon le Nombre de noyaux phénoliques et les éléments structurels qui relient ces cycles : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les Stibines, les tanins, les lignanes et les lignines polymères.

II.4.1. Acides phénoliques

Le nom « acides phénoliques », en général, décrit les phénols qui possèdent une fonctionnalité d'acide carboxylique. Cependant, lors de la description des métabolites de la plante, il se réfère à un groupe distinct d'acides organiques (Robbins, 2003). Les acides phénoliques sont des dérivés des acides benzoïques et cinnamiques (Han *et al.*, 2007 ; Tsao, 2010) et sont présents dans toutes les céréales (Dykes et Rooney, 2007). Ces acides phénoliques naturels contiennent deux structures distinctes de carbone : Les Structures hydroxycinnamiques (Xa) et hydroxybenzoïques (Xb). Bien que le squelette de base reste le même, le nombre et la position des groupes hydroxyles sur le noyau aromatique créent la différence. Dans de nombreux cas, les analogues de l'aldéhyde (Xc) sont également regroupés avec, et dénommés, les acides phénoliques (par exemple, l'acide vanillique) (Robbins, 2003). L'acide férulique, l'acide p-coumarique, l'acide Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques. Ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbone. Ces molécules sont généralement trouvées conjuguées aux sucres et aux acides organiques.

Tableau I. Structures de naturel des acides phénoliques (Robbins, 2003).

R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	X	code	nom commun
H	H	H	H	a	1	l'acide cinnamique
-OH	H	H	H	a	2	l'acide o-coumarique
H	H	-OH	H	a	3	l'acide p-coumarique
H	-OH	H	H	a	4	acide m-coumarique
H	-OCH ₃	-OH	H	a	5	acide férulique
H	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	a	6	acide sinapique
H	-OH	-OH	H	a	7	l'acide caféique
H	H	H	H	b	8	l'acide benzoïque
-OH	H	H	H	b	9	l'acide salicylique
H	H	-OH	H	b	10	l'acide p-hydroxybenzoïque
H	-OCH ₃	-OH	H	b	11	acide vanillique
H	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	b	12	acide syringique
H	-OH	-OH	H	b	13	acide protocatéchique
-OH	H	H	-OH	b	14	acide gentsique
-OH	-OH	-OH	-OH	b	15	acide gallique
H	-OCH ₃	-OCH ₃	H	b	16	acide vératrique
H	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	c	17	syringaldehyde
H	-OCH ₃	-OH	H	c	18	vanilline

II.4.2. Les flavonoïdes

II.4.2. 1. Généralités

Le nom flavonoïde proviendrait du terme *flavedo*, désignant la couche externe des écorces d'orange (Piquemal, 2008), cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du *flavus* ; (*flavus* = jaune) (Malev et Kunti, 2007). Les flavonoïdes ont été désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines. Il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Nijveldt *et al.*, 2001).

II.4.2. 2. Structure chimique et classification

La structure de base des flavonoïdes est le noyau du flavone (2-phenyl-benzo- γ -pyrane) mais de point de vue classification, le groupe des flavonoïdes peut être divisé en plusieurs catégories. Cette division dépend de l'hydroxylation du noyau du flavonoïde aussi bien que du sucre lié.

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, et de ce fait, possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement phenyl-2 chromane. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation de noyau pyranique central (Krishna *et al.*, 2001).

II.4.2. 3. Classification des flavonoïdes

Tableau II: Principales classes des flavonoïdes (Narayana et al, 2001; W- Erdman et al, 2007).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavanols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daïdezine

II.4.2. 4. Localisation et distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal. On signale environ 2% de la proportion du carbone photosynthétique global incorporé dans la biosynthèse flavonique. Ils sont cependant rares chez les végétaux inférieurs. De plus, leur localisation est caractéristique de la plante. En effet, les flavonoïdes sont présents dans les organes aériens jeunes où ils sont localisés dans les tissus superficiels (Remsy *et al.*, 1996). Au niveau cellulaire, on a observé que les flavonoïdes, sous forme d'hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux. En définitive, les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal. Ils sont largement abondants dans les légumes feuillés (salade, choux, épinards, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruit. (Bronner et Beecher, 1995).

II.4.2. 5. Les propriétés des flavonoïdes

Les flavonoïdes protègent les plantes contre les radiations UV. Elles sont également impliquées dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales. Ils agissent comme des pigments ou des Co-pigments. Ils peuvent moduler la distribution d'auxine, comme elles fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire. Ils agissent sur la régulation de l'élongation des tiges et interviennent dans la maturité des fruits. Ils ont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores (Subramanian *et al.*, 2007).

II.4.3. Les tannins

II.4.3.1. Généralités

Les tannins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes (tannins condensés) et les dicotylédones (tannins hydrolysables). Ces composés ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Le terme tannin vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir. Dans ce processus, les molécules de tannins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes. Le poids moléculaire des tannins varie entre 500 et 2000 K Da (3000 pour les structures les plus complexes) (Hagerman et Butler, 1981). varie entre 500 et 2000 K Da (3000 pour les structures les plus complexes) (Hagerman et Butler, 1981)

II.4.3.2. Types et structures des tannins

Selon la structure, on a deux types de tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés, dits aussi : proanthocyanidines.

✓ Les tannins hydrolysables

Ils sont formés par liaison de plusieurs acides galliques à un carbohydrate (généralement le glucose). On parle de gallotannins. Aussi des unités galloyles peuvent être ajoutées par liaisons esters, généralement en position C3 de l'acide gallique. Et les unités d'acide gallique voisines s'accouplent formant les esters d'acide hexahydroxydiphénique.

✓ **les tannins condensés**

3.3.2. Tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères (Bruneton, 1999).

II.4.3.3. Propriétés pharmacologiques des tannins

Plusieurs observations, chez les humains comme chez les animaux de laboratoires suggèrent que les tannins exhibent un large spectre de propriétés pharmaceutiques, thérapeutiques et chimio-protectrices dues à leur propriété anti radicalaire (Tohge *et al.*, 2005). En effet, les tannins protègent contre les toxicités induites par différents agents (hydrogène peroxyde, acétaminophène, extraits contenus dans la fumée du tabac). Ils jouent aussi un rôle dans la prévention contre les deux formes de mort cellulaire connues, apoptose et nécrose, diminuant ainsi les dommages causés dans l'ADN lors de ces deux dernières. L'action cytoprotectrice des proanthocyanidines est supérieure à celle des vitamines C, B et bêta-carotène (Ray *et al.*, 2000).

II.4.4. Stilbènes

Les Stilbènes sont structurellement caractérisés par la présence d'un noyau 1,2-diphényl avec des hydroxyles substitués sur les cycles aromatiques, et existent sous la forme des monomères ou oligomères (Han *et al.*, 2007).

II.4.5. Lignanes

Les lignanes sont formés de deux unités phénylpropane (Annexe I) (Manach *et al.*, 2004). Pour la plupart, ils sont présents dans la nature sous forme libre, tandis que leurs dérivés glycosidiques ne sont qu'une forme mineure (D'Archivio *et al.*, 2007).

II.4.6. Lignines polymères

La lignine "à partir du mot latin lignum" signifie le bois (Moura *et al.*, 2010). Les Lignines sont des polymères aromatiques méthoxylés des phénylpropanoïdes reliés à la fois des liaisons éther et carbone-carbone (Annexe I) (Ralph *et al.*, 2004). Les lignines sont des polymères produits nature à partir de trois principaux précurseurs (alcools p-coumaroyliques, coniféryliques et sinapyliques) résultant d'une polymérisation catalysée par l'enzyme déshydrogénase (Bunzel *et al.*, 2004).

II.5. Les effets bénéfiques des polyphénols

Intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et Shui, 2002). D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (Hennebelle *et al.*, 2004)

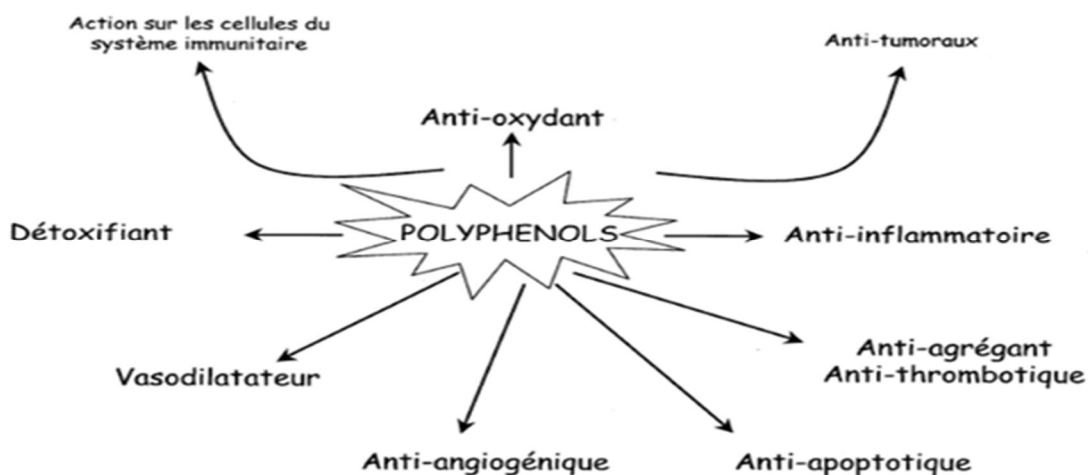


Figure 3 : Effets biologiques des polyphénols

II.6. Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités anti-allergique, anti-athérogène, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (Middleton *et al.*, 2000 ; Ksouri *et al.*, 2007). Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (Nijveldt *et al.*, 2001).

II.7. Rôle technologique des polyphénols

Généralement les polyphénols sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux. L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de la teneur en polyphénols (Lugasi *et al.*, 2003). L'astringence est liée à la polymérisation des tanins puisque la diminution de l'astringence dans les fruits lors de leur maturation est due à une augmentation de la polymérisation des tanins (Peronny, 2005)

II.8. Bioconversion des composés phénoliques de blé

Bhanja *et al.* (2009) ont utilisé des champignons filamenteux GRAS : *Aspergillus oryzae* et *Aspergillus awamori nakazawa* afin d'enrichir le blé en terme des composés phénoliques ayant des propriétés antioxydante intéressantes. Ils ont pu démontrer la corrélation entre les phénols totaux libérés à partir des grains de blé et les activités de trois différentes carbohydrases hydrolases à savoir : α -amylase, 3-glucosidase et xylanase produites par *Aspergillus oryzae*. En revanche pour le cas d'*Aspergillus awamori nakazawa*, uniquement deux enzymes sont mises en jeu à savoir, xylanase et 3-glucosidase et qui sont responsables de la libération des composés phénoliques. Enfin, cette étude a démontré que la fermentation des graines de blé est la meilleure source de la phytochimie, de plus différentes enzymes hydrolysantes ; les carbohydrases sont responsables du développement des propriétés de la phytochimie du blé fermenté.

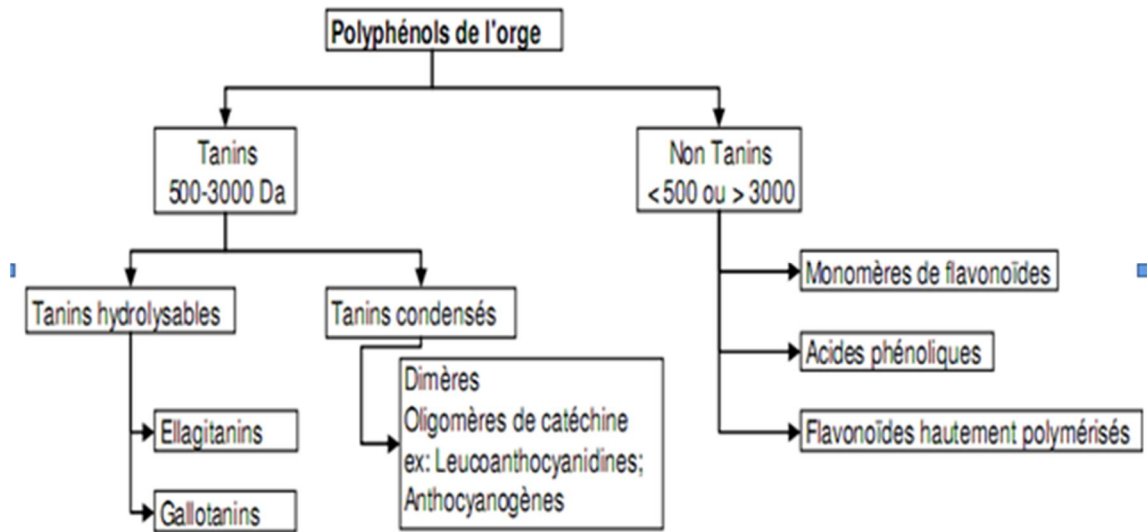


Figure 4: Différentes classes des composés phénoliques (Pollock et Moll, 1979)



chapitre III: STRESS HYDRIQUE

III. stress hydrique

III.1. Notion de stress

Selon les définitions. Selon Jones, Un stress désigne à la fois l'action d'un agent agresseur et les réactions qu'il entraîne dans l'organisme agressé, une force qui tend à inhiber les systèmes normaux (Tsimilli-Michael *et al.*, 1998). D'autre part, les stress environnementaux nés de la fluctuations des facteurs abiotiques (sécheresse, salinité, température) affectent les conditions de croissance, le développement et le rendement des plantes (Madhava Rao *et al.*, 2006).

III.2 Le stress hydrique

Le déficit hydrique est une contrainte permanente de la production agricole dans de nombreux pays au climat de type méditerranéen. Elle est à l'origine des pertes de production agricole dans de nombreuses régions. Les risques du manque d'eau sont et deviendront de plus en plus fréquents et persistants, à l'avenir, par suite des changements climatiques causés par l'effet de serre (Witcombe *et al.*, 2009). En effet, on assiste à un stress hydrique lorsque la demande en eau dépasse la quantité disponible pendant une certaine période ou lorsque sa mauvaise qualité en limite l'usage (Madhava Rao *et al.*, 2006).

III.3. Mécanismes d'adaptation des plantes au stress hydrique

La résistance d'une plante à une contrainte hydrique peut être définie, du point de vue physiologique, par sa capacité à survivre et à s'accroître et du point de vue agronomique, par l'obtention d'un rendement plus élevé que celui des plantes sensibles (Rao *et al.*, 2006). La résistance globale d'une plante au stress hydrique apparaît comme le résultat de nombreuses modifications phénologiques, anatomiques, morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de production (Hsissou, 1994).

III.3.1. Les stratégies de résistance

Classiquement, ces stratégies ont été groupées en trois catégories à savoir l'échappement, l'évitement et la tolérance (Levitt, 1972). Pourtant, ces stratégies ne sont pas mutuellement exclusives. En effet, les plantes peuvent combiner tout un ensemble de réponses (Ludlow, 89).

III.3.2. La stratégie de tolérance

La tolérance des tissus à un potentiel hydrique faible peut impliquer l'ajustement osmotique (Morgan, 1984), des parois cellulaires plus rigides et des cellules de petite taille (Wilson *et al.*, 1980). Plusieurs espèces d'arbres et d'arbustes dans les régions arides et semi-arides combinent une forte concentration des solutés avec une capacité photosynthétique et une conductance stomatique réduites. La plupart de ces adaptations à la sécheresse ne se privent pas d'inconvénients. Par conséquent, l'adaptation des plantes à la sécheresse doit refléter un équilibre entre l'échappement, l'évitement et la tolérance afin de maintenir une productivité adéquate (Mitra, 2001)

III.4. Le stress oxydatif

Le stress oxydant peut se définir comme un déséquilibre dans la balance entre des producteurs de radicaux libres (pro-oxydants) et protections contre radicaux libres (Antioxydants). Une conséquence des stress environnementaux, comprenant le stress hydrique, est l'apparition d'un stress oxydatif, c'est-à-dire l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui endommagent les structures cellulaires (Appel et Hirt, 2004). Dans des conditions optimales, les feuilles sont dotées d'enzymes et des métabolites antioxydants suffisants pour faire face aux ROS. De nombreux travaux montrent que des enzymes telles que des superoxyde dismutases (SOD), des ascorbate peroxydases (APX), des catalases (CA), des glutathion-S- transférases (GST) et des glutathion peroxydases (GPX) s'accumulent pendant le stress hydrique (Flexas *et al.*, 2006). La capacité du système antioxydant est déterminante pour maintenir l'intégrité du système photosynthétique lors d'une contrainte hydrique. Il existe différents mécanismes d'adaptation des plantes au stress hydrique. Chaque espèce se différencie de sa méthode physiologique et biochimique de synthétiser des différents composés biochimiques: sucre, proline, composés phénoliques.

III.4.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules produites par différentes réactions du métabolisme cellulaire. Ils peuvent avoir des effets néfastes sur l'intégrité des différentes composantes de la plante à cause de leur forte réactivité. Les radicaux superoxydes ($O_2^{\cdot -}$) et hydroxyle ($\cdot OH$) sont extrêmement réactifs, alors que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui est le plus abondant est le moins oxydant.

Depuis longtemps, les radicaux libres ont donc été considérés comme des sous-produits métaboliques indésirables qui doivent être désactivés pour éviter des dommages oxydants non-spécifiques dans les cellules. Cette vue un peu simpliste s'est transformée récemment par les évidences montrant que les radicaux libres peuvent aussi jouer un rôle important en agissant comme des molécules signal impliquées dans la régulation de plusieurs processus biologiques, dont la réponse des végétaux aux stress environnementaux. En effet, une faible augmentation de la concentration des radicaux libres, notamment le H_2O_2 , peut induire la tolérance à un stress tandis que de fortes accumulations peuvent activer le processus de mort cellulaire programmée. Ainsi, la balance entre l'acclimatation aux stress ou la mort cellulaire dépend d'interactions complexes entre d'une part la production et l'utilisation du pouvoir réducteur des radicaux libres générés par le flux d'électrons dans les chloroplastes, et d'autre part de antioxydants qui détoxifient ces radicaux libres et donc influe sur leur pouvoir de signalisation (Foyer et Noctor 2009; Mittler et Coll. 2004).

III.4.2. Détoxification des radicaux libres par les composés phénoliques

Lors d'un stress oxydant comme la photoinhibition, il a été proposé que les composés phénoliques pourraient contribuer à détoxifier les radicaux libres (Takahama, 2004). Les composés phénoliques joueraient le rôle de donneurs d'électrons et d'un atome d'hydrogène afin de réduire le peroxyde d'hydrogène pour les scinder en H₂O et O₂ (Castelluccio et coll, 1995; Yamasaki et coll, 1997). Cette réaction est catalysée par les peroxydases de classe III, le plus souvent dénotée guaiacol peroxydase, qui se retrouvent dans les vacuoles et l'apoplaste (parois cellulaires) (Almagro et coll, 2009). L'acide ascorbique pourra être de nouveau réduit à l'aide de l'enzyme de hydroascorbate réductase pour être réutilisé. Si les composés phénoliques ne sont pas régénérés par l'acide ascorbique, ils seront polymérisés et seront responsables du noircissement de l'épiderme observable sous conditions de stress photooxydants (Yamasaki et coll, 1997).

Il n'est d'ailleurs bien documenté que la concentration des composés phénoliques augmente dans les végétaux soumis à divers stress environnementaux (Dixon et Paiva 1995), des changements de leurs propriétés d'oxydoréduction causés par les stress environnementaux. Lors de stress chroniques, mais modérés, tels les fortes intensités lumineuses et le stress hydrique, il y a non seulement une augmentation globale de la concentration de composés phénoliques dans les plantes (Dixon et Paiva 1995), mais aussi une accumulation de composés comme la quercétine (Tattini et coll, 2004) et les anthocyanines (Gould et coll, 2010), réputées comme excellents antioxydants de par leur groupement catéchol (o-dihydroxybenzène).

chapitre VI: Aactivité biologique

VI. Activités biologiques

VI.1. Activité antioxydants

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (Guinebert *et al.*, 2005).

VI.2. Activité antimicrobienne

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont agressivement coloniser son revêtement cutané-muqueux. Pour résister à ces micro-organismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise (Kaufmann, 1997). La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman, 1998). Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999)

VI.2.1. Les principales substances antimicrobiennes

✓ Microbiologie du blé

De puis le moment de leur initiation au sein de l'épi jusqu'au passage au moulin non à l'usine, les grains de blé sont soumis à des contaminations par les bactéries, champignons parasites ou moisissures, levures (Cahagnier,1996).

✓ Les antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (Bergogne-Berezin et Dellamonica, 1995).

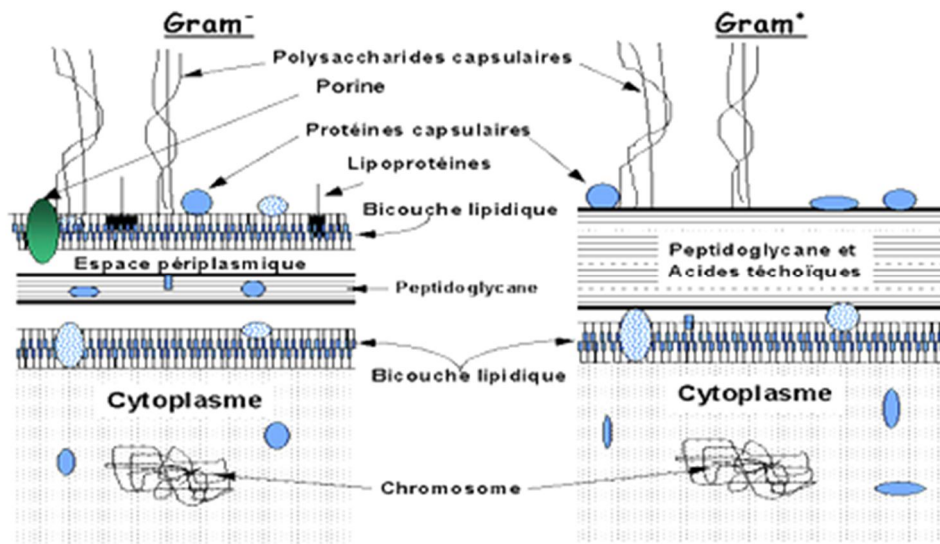


Figure 5: Structure de la paroi bactérienne (Corvee, 2009)

✓ **Les composés phénoliques**

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobienne des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales. Les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempferol) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*) (Ulanowska *et al.*, 2007). Des flavonoïdes, une flavone et une flavanone, respectivement isolés des fruits de *Terminalia bellerica* et de l'arbuste *Eysenhardtia texana* ont été montrés comme possédant l'activité contre le microbe pathogène opportuniste *Candida albicans* (Wächter *et al.*, 1999). Deux autres flavones isolés de la plante *Artemisia giraldi* ont été rapportés exhiber une activité contre l'espèce *Aspergillus flavus* une espèce de mycète qui cause la maladie envahissante chez les patients immunosuppresseurs (Valsaraj *et al.*, 1997).

✓ **Escherichia coli**

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, (Kaper *et al.*, 2004), de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm, *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (Percival, 2004).

VI.3. activité antifongique

Les champignons sont des végétaux dépourvus de chlorophylle, devant trouver leur carbone dans les composés organiques, ce qui conditionne souvent les circonstances de leur vie saprophytique ou parasitaire. En fonction de leur habitat, les champignons sont répartis en deux groupes : les endogènes et les exogènes. Les champignons endogènes sont représentés essentiellement par *Candida albicans*, cette levure vit normalement et de façon exclusive dans le tube digestif de l'homme et de certains animaux (Lysette Bossokpi, 2003).

L'activité antifongique des tanins a été démontré notamment contre les souches fongiques : *Aspergillus niger*, *Penicillium species*, *Colletotrichum graminicola* (Chung et al., 1998).

✓ **Penicillium sp**

Est un genre de champignon de type moisissure appartenant au phylum des ascomycètes. Il s'agit d'un champignon filamenteux .Le thalle est vert ou blanc. Ce genre comprend 100 et 250 espèces.

**Paratie 02:
Matériels et méthodes**

I. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes des deux genres des céréales; deux variétés de blé tendre (*Triticum aestivum*) et deux variétés d'orge (*Hordeum vulgare*).

Tableau VI : les variétés du blé tendre et l'orge étudiés

Type céréale	Les variétés
Le blé tendre	Flaurance aurore
	Mexipak
L'orge	Jaidore
	Saida

I.1. Préparation des échantillons

Le semis est effectué le 15/01/2014 dans des pots dans la serre de biologie à chaapat El rasase au labo de Développement et Valorisation des Ressources Phylogénétiques Université Constantine 1. Les pots ronds avec les démentions 18cm et 30 de hauteur, sont remplis d'un sol argilo limoneux avec une moyenne de cinq graines par pot et trois répétition à chaque variété. Les pots sont placés sous une serre selon le dispositif (**Figure 5**).

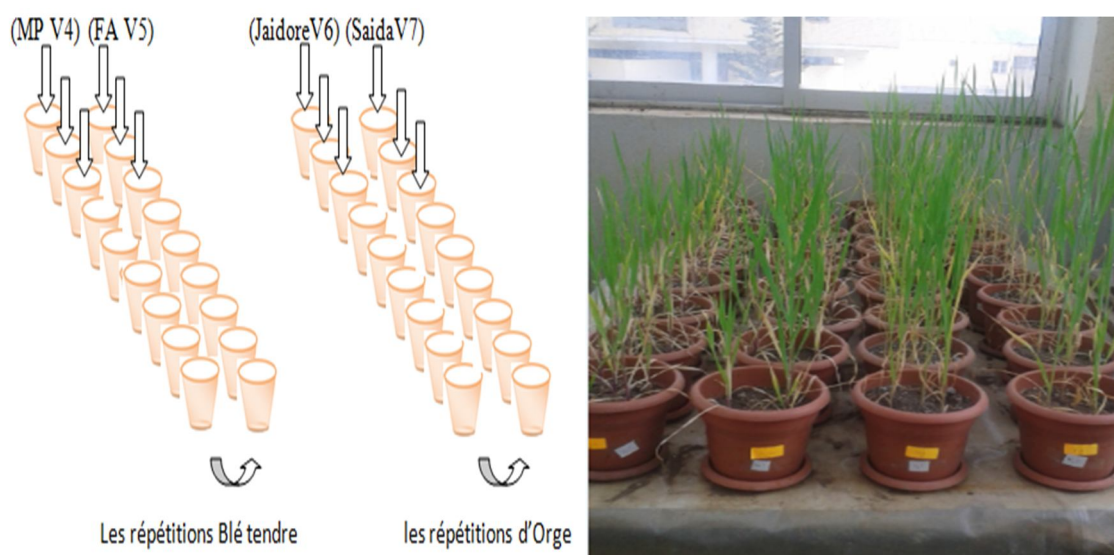


Figure06: Schéma générale disposition de l'expérimentation.

Les plantules sont irriguées une fois par semaine durant les premiers stades de la vie de la plante avec 1/4 de la capacité au champ. Au stade quatre feuilles, on partage l'essai à deux traitements : les premiers pots sont irrigués deux fois par semaine. Alors que les pots restants, on subit l'arrêt d'arrosage par application du stress hydrique. Les quarts variétés ont été récolté pendant le stade montaison à deux différents états SDH et ADH (le13/04/2014 et 20/04/2014) successivement.

I. Etude phytochimique

II.1. Etude quantitative (Dosage des composés phénoliques)

Les dosages sont effectués et suivis au laboratoire n°1 et n°2 de Biologie et Physiologie Végétale et laboratoire de biochimie.

II.1.1. Protocole d'extraction

L'objectif de cette extraction est de libérer les polyphénoles présents dans des substances vacuolaires par rupture du tissu végétale et par diffusion.

✓ Le matériel végétale est ramassé (l'appareil aérienne), on pèse 1g puis on le broyer à l'aide d'un mortier. On ajoute une quantité du mélange : eau/ éthanol (50/50) ml, et qu'on laisse macérer pendant 24heures.

✓ Pour les céréales il est recommandé d'utiliser l'éthanol à la mécanisme (Yu et *al.*2002), ou éthanol- eau avec différentes proportion (Liyana-Pathirana et shahidi, 2006).

✓ Filtration du mélange hydroéthanolique permet de récupérer les substances organiques.

✓ Les mécanismes hydroalcoolique sont alors réunies et évaporés à sec sous vide à l'aide de l'évaporation ; on sépare l'extrait sec de la phase aqueuse.

✓ Le résidu sec est repris dans 5ml d'eau distillée qui aide à la récupération des composés reste alcoolés aux parois du ballon d'évaporation.



Figure07 : macération matérielle végétatives

II.1.2. Principe de dosage

Cette méthode utilisant le réactif de Folin-ciocalteu, il est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation, il est réduit en un mélange d'oxyde bleu. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé (Kassmi, 2006). L'indice de Folin Ciocalteu est exprimé en degré ou en gramme d'acide gallique/l, on peut utiliser une gamme-étalon établie dans les mêmes conditions avec de l'acide gallique (0 à 1 g/l) ou de la D-catéchine (Ghazi et Sahraoui, 2005).

II.1.3. Protocole de dosage

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie suivant le protocole appliqué par (Miliauskas et *al*, 2004).

- 1 ml d'extrait éthanolique de la plante.
- 5 ml du réactif de Folin-ciocalteu (dilué dix fois 1/10).
- 4 ml d'une solution de bicarbonate de sodium Na_2CO_3 de (7,5 g).
- Agiter vigoureusement.
- Incuber pendant une heure à une température ambiante ($20C^\circ$).
- Lire l'absorbance à 765nm.



Figure 08 : La photo des extraits de dosage

La teneur des phénols totaux est calculée par l'équation

$$C=c.V/m$$

C: concentration d'acide gallique (mg/ml) est suivi de la courbe d'étalonnage (Bousmide, 2011) selon la formule ($y=0,765X+0,033$).

C : contenu total des polyphénoles (mg équivalent acide gallique /g d'extrait plante).

V : volume de l'extrait (ml).

m : masse de l'extrait pur de plante (g).

II.1.4.Courbe d'étalonnage

La quantification des composés polyphénoles à été fait en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisé par un extrait d'étalon « acide gallique » à différentes concentrations (1/10,1/5,1/2,7/10,1) dans les conditions que l'échantillon (Bousmide, 2011)

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme du poids sec de la plante en poudre.

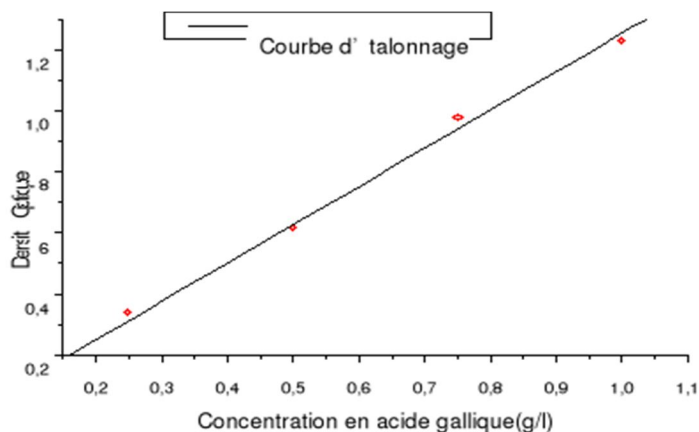


Figure09: courbe d'étalonnage de l'acide gallique

III. Etude qualitative

III.1. Méthode d'extraction

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénoliques contenues dans les parties aériennes de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction (Madi, 2009).

III. 2. Protocole d'extraction

20g de poudre végétale a été mise à macérer dans un mélange hydro alcoolique d'éthanol-eau distillé (50/50) et filtrés sur papier filtre.

Cette macération est répétée 3fois avec renouvellement de solvant chaque 24 heures. Les extraits sont ensuite réunis puis récupéré dans des flacons et stockés dans le frigifère.



Figure 10: photo de la filtration des extraits

III.3. Les Affrontement

III.3.1. Affrontement à l'Ether de pétrole

La phase aqueuse est ajoutée dans l'ampoule à décanter (100 ml) avec le même volume (100 ml) de l'ether de pétrole. Après une agitation et un repos de 24 h. On observe deux phases de séparation :

La première phase : phase éther de pétrole en haut, qui sera éliminé parce qu'elle contient les chlorophylles, les acides gras et tous les composés non phénoliques. La deuxième phase : phase aqueuse en bas contient le reste des composés phénoliques.



Figure11 : photo de l’Affrontement de l’Ether de pétrole.

III.3.2. Affrontement à Ether Diéthylique

La phase aqueuse obtenue du premier Affrontement, mis dans l’ampoule à décanter avec le même volume Ether Diéthylique. Après une agitation énergétique et repos de 2 heures .On a toujours observé deux phases séparées :

- La première phase (organique), phase éther Diéthylique en haut contient les polyphénols simples.
- La deuxième phase (aqueuse), contient le reste des composés phénoliques.



Figure12: photo de l’Affrontement Ether Diéthylique.

III.3. 3. Affrontement à l’Acétates d’éthyle

La phase aqueuse encaissée traité par la même méthode précédente. Mais cette fois avec l’Acétates Diéthylique. La phase organique permet de attirer les aglycones, les mono-o-aglycosides, et partiellement les di-o-glycosides.

III.3. 4. Affrontement méthyléthylcétone (MEC)

La phase aqueuse suit la même technique précédent ; mais ici nous nous réservons les phases organique et aqueuse dans des flacons. Ensuite les stockons dans le réfrigérateur



Figure13 : Stockage dans les fioles à julgy.

III.4. Protocole

Les échantillons affrontés successivement par les 4 solvants organiques : éther de pétrole, éther Diéthylique, acétate d'éthyle, méthyléthylcétone (MEC) sont placés successivement au rota-vapeur. Ils sont évaporés à sec. Les résidus sont récupérés avec 5 ml méthanol. D'ou les composés phénoliques se fondront bien dans le méthanol. Ils sont stockés dans le réfrigérateur.



Figure14 : photo rota-vapeur et le matérielle utilisé

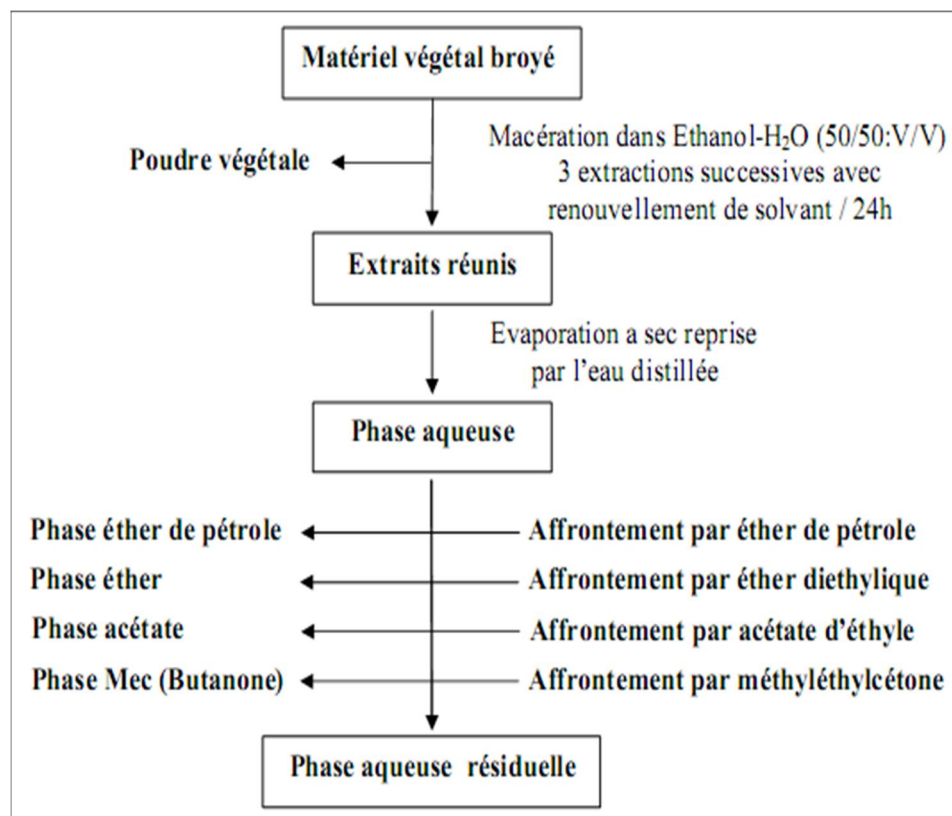


Figure 15 : l'extraction des polyphénols se fait selon le protocole classique (Merghem 2003)

III.5. Techniques de séparation

III.5.1. Méthodes de séparations chromatographique

Cette méthode se repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en général un mélange de solvants, adapté au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de polyamide ou de silice. Elle nous permet d'avoir les empreintes du contenu polyphénoliques et/ou flavonique de l'extrait (Madi, 2009).),"(Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux

Plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques",
Mémoire magister, Université Mentouri Constantine.)

III.5.2. Analyse chromatographique sur couche mince

III.5.2.1. Principe

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélanges en leurs constituants. Elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile.

La chromatographie sur couche mince, ou sur plaque (CCM), est effectuée surtout en vue d'une analyse d'un mélange. La phase stationnaire solide est fixée sur une plaque, et la phase mobile liquide, nommée éluant, est un solvant ou un mélange de solvants.

On dépose sur la phase fixe une petite quantité du mélange à séparer et on met cette phase au contact de la phase mobile.

La phase mobile migre de bas en haut, par capillarité, le long de la phase fixe en entraînant les constituants du mélange. C'est le phénomène d'élution, qui permet la séparation des constituants du mélange à analyser.

Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, la charge électronique et la présence de groupement d'atomes formant des sites particuliers (Iagnika, 2005), caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale (Rf) :

$$Rf = \frac{\text{Hauteur de la tache}}{\text{Hauteur du front du solvant}}$$

Chaque tache correspond à un constituant et on l'identifie par comparaison du Rf avec un témoin (une même substance migre à la même hauteur dans des conditions opératoires identiques; même Rf).

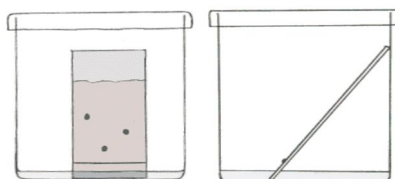


Figure16 : Principe de la chromatographies sur couche mince.

III.5.2.2. Mode opératoire

- Remplir la cuve chromatographique du mélange de solvants (hauteur 0, 5 cm).
- Pour la phase organique : 4 Toluène/3 Méthyléthylcétone (MEC)/3 Méthanol/5 Étheré de pétrole (Bousmid, 2011), et phase aqueuse : 50 H₂O distille/20 Botanole/25 Ethanole/2 Acétone. (Bousmid ,2011).
- La recouvrir, afin que l'atmosphère dans la cuve reste saturée en vapeur d'éluant.
- Sur la plaque chromatographique, tracer au crayon de papier un trait horizontal à 1 cm environ du bord inférieur. Ce trait ne doit pas tremper dans le solvant d'éluant contenu dans la cuve et tracer 4 points.
- Déposer sur le trait, à l'aide de pipette pasteur, à 10 mm d'intervalle, 4 microgouttes des extraits de chaque variété dans les plaques qui nous le coupont ont 10/10cm de la première phase Étheré diéthylique et même méthode pour le reste des variétés.
- Laisser sécher les taches avant d'éluant .
- Déposer la plaque verticalement dans la cuve et la couvrir.

Lorsque le solvant atteint les $\frac{3}{4}$ environ de la hauteur de la plaque avant qu'il est évaporé, mesurer : la hauteur du front, les R_f des substances différentes .

- **Remarque** : la manipulation de solvants organiques volatils, inflammables et à odeur piquante nécessite l'utilisation de la ventilation



Figure17 : dépôt des taches sur la plaque CCM

III.5.2.3. La révélation

La visualisation des plaques est effectués par :

- Fluorescence des composés sous lumière UV.
- Facteur de rétention.

❖ Fluorescence sous lumière UV

C'est une lumière de Wood. Notre travail exige un révélateur composé de (8 ml Acide acétique, 4 ml Acide sulfurique et 16 ml H₂O distillée)

❖ Facteur de rétention

Cette technique utilise un atomiseur contenant le révélateur en solution. Selon le révéler, la solution peut-être :

Acide sulfurique à 50% pour .

Lorsque l'on pulvérise le révélateur sur la plaque, éviter toute formation de gouttelettes. Le révélateur doit-être appliqué en plusieurs pulvérisations.

La position finale de la tâche est caractéristique de la molécule. On lui attribue une valeur, le Rf de Retention factor en anglais qui a été fort habilement traduit comme Rapport frontal. Ce Rf est le rapport de la distance parcourue par le composé divisé par la distance parcourue par l'éluant

Le Rf : $Rf = a / b$



Figure 18: Lumière UV.

III.6. Techniques d'identification structurale

III.6.1. La spectrophotométrie UV-visible

La spectrophotométrie UV-Vis est une des méthodes simples et rapide qui fournit des informations sur la structure chimique, les propriétés physico-structurales, et les caractéristiques optiques de divers types de composés. C'est une méthode quantitative et qualitative de grandes utilisations pour les analyses chimiques. Dans les composés, chaque chromophore absorbe à une longueur d'onde bien déterminée. Ceci permet de caractériser les fonctions chimiques dans les molécules à différentes conditions opératoires en se basant sur des témoins et des bases de données de la littérature.

✓ Principe

La spectrophotométrie est une méthode quantitative et aussi qualitative, sensible, elle permet d'analyser les échantillons à faible concentration. Les spectres sont caractéristiques aux molécules, et procurent des informations sur le squelette moléculaire et les différentes substitutions. Le spectre UV/vis. des composés flavonoïques solubilisés dans le méthanol présente deux bandes ; qui se situent respectivement entre 320 nm – 380 nm correspondant au cycle B et 240 nm – 270 nm correspondant au cycle A. Ce spectre est susceptible d'être modifié en présence des réactifs spécifiques, dont les changements du spectre apportent des indications

sur la position des substitutions (groupements hydroxyles) sur la molécule [7,22]. Un spectrophotomètre mesure l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée.

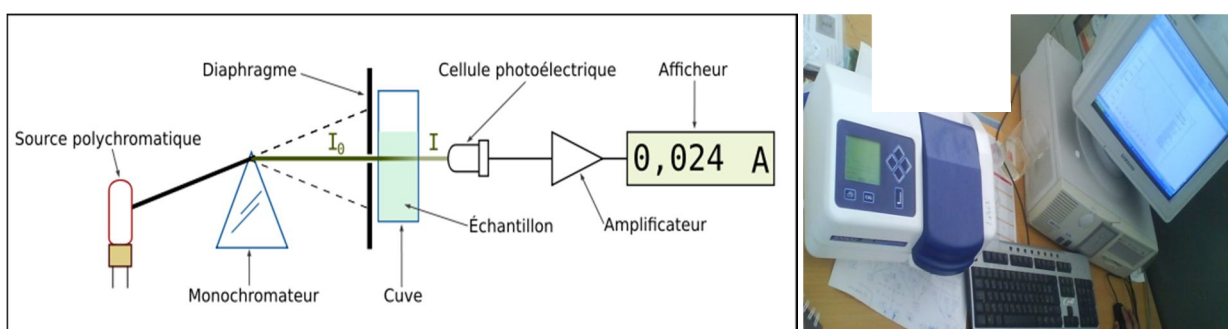


Figure19: spectrophotomètre branché à l'ordinateur avec un schéma de principe du spectrophotomètre UV-visible .

II.6.2. Analyse spectrale des phases

La phase résiduelles sont passées a l'analyse spectrales afin d'identifier les composés phénoliques dans la analyse des composés phénoliques par spectre UV est règle à l'intervalle 220 et 400 nm (Bousmide. 2011)

III.7. Activité biologique

Les microorganismes testés dans cette étude sont la bactérie (*Escherichia coli*) et (*Bacillus*) et les champignons (*penicillium sp*).

II.7. 1. L'activité antibactérienne

III.7. 1.1.matériel

- Préparer les disques de papier Watman N°4
- Préparer la gélose. mettre 30 g de l'agare avec 500 ml d'eau distillé chaude. A complètes avec 500 ml d'eau distillé froid (30 g dans 1L).
- Stériliser la gélose et les disques à l'autoclave, à 120C° pendant 20 minutes.
- Utiliser l'extrait qui déjà obtenu dans la méthode de CCM des deux stades SDH et ADH.

4.1.2. Protocole

- ✓ le travaille et misse sous l'hôte
- ✓ Mettre la gélose au bain-marie (100C°).
- ✓ Nettoyer bien la paillasse à l'aide d'un chiffon et d'eau javèle.
- ✓ allumer le bec Benzène il faut que la couleur bleu de flamme et bleu.
- ✓ déposer les boites de pétri devant la flamme et couler la gélose et laisse pour solidification
- ✓ imprégner les micro-disques dans l'extrait.
- ✓ Etaler la bactérie sur la surface de gélose et ajoutés à l'aide d'une pipette de pasteur l'extrait dans les puits.

- ✓ .déposer les disques et répéter la même étape pour les reste des phases
- ✓ placer les boit de pétri dans la étuve à 37C° pendant 28 heur



Féfigure20:préparé milieu de nutritive des barateries

4.1.3. Lecture des résultats

-mesurer la zone d' inhibitions a l'aide d'une règle .

4.2. L'activité antifongique

4.2.1. Matériel

On utilisera le sabouro comme milieu de culture. La souche fongique est déjà obtenue.

4.2.2. Protocole

La même étape précédents sauf :

-milieu nutritive en utilisé le sabouro.



Figure 21: la hotte et l'étuve

4.2.3. Lecture des résultats

La lecture activité l'antibactérienne 24h, antifongique 72heures.

partie 03 :
résultats et discussions

I. Teneur en composés phénoliques

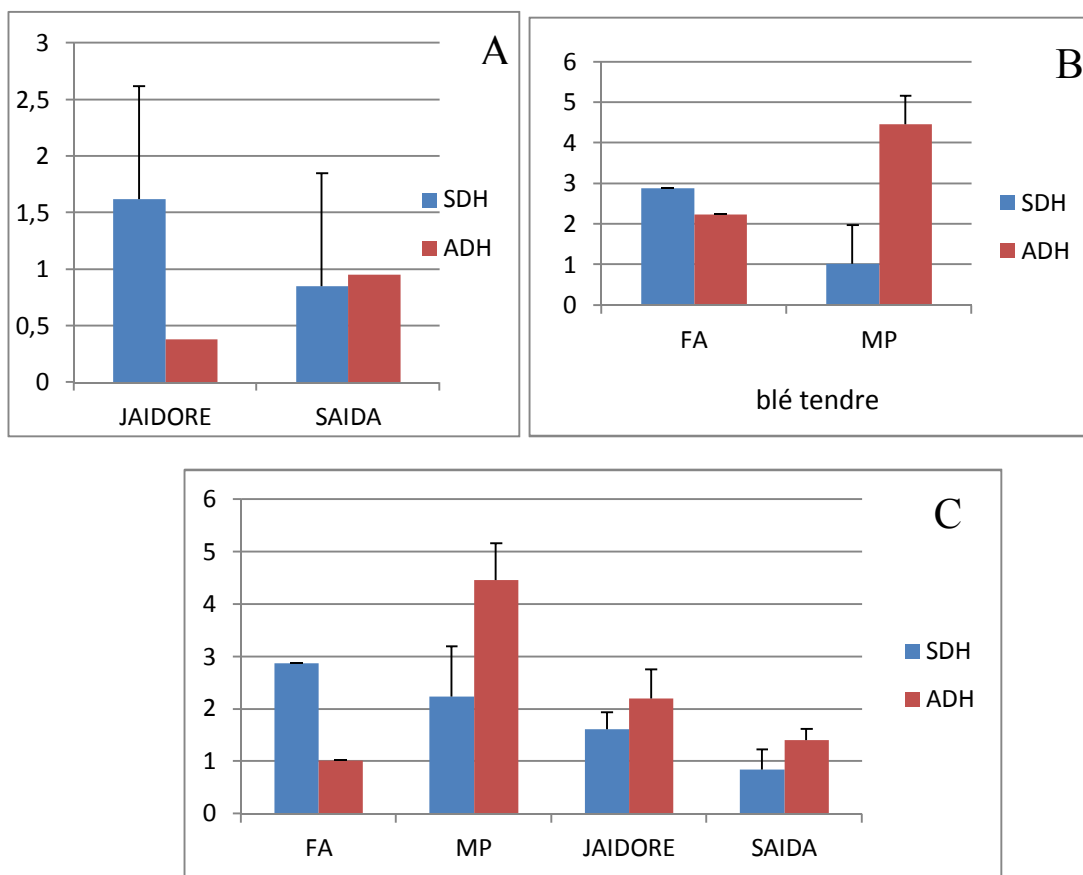


Figure 22 : Teneur en polyphénols totaux chez les deux variétés de blé tendre et deux variétés d'orge au traitement SDH et ADH. A: Blé tendre B: Orge C: Blé et Orge

La teneur en composés phénoliques totaux au stade montaison chez les quatre variétés au traitement SDH varie de 2.88 ± 0.95 mg/g équivalent acide gallique (eq AG) chez la variété FA à 0.85 mg/g eq AG chez la variété Saida. Jaidor et MP marquent des teneurs intermédiaires égales à 0.85 ± 0.95 à 1.62 ± 0.38 mg/g eq AG respectivement. La valeur maximale est enregistrée chez la variété FA, alors que la valeur minimale est enregistrée chez la variété Saida. Les deux variétés de blé tendre marquent des teneurs plus élevées que les variétés d'orge.

L'analyse de variance à un facteur révèle une différence significative entre les variétés étudiées. Le test Newman-keuls (SNK) les classe en trois groupes : FA présente le premier groupe. MP et Jaidor englobent le deuxième groupe. Le troisième groupe est présenté par la variété Saida.

Résultats et discussions

$$\mathbf{FA > MP \approx Jaidore \geq Saida \Leftrightarrow 2.88 > 2.24 \approx 1.62 \geq 0.85}$$

Par contre, au traitement ADH, les teneurs en polyphénols varient chez les quatre variétés 2.27 mg/g eq AG chez la variété MP comme valeur maximale à 4.46±0.55 mg/g eq AG comme valeur minimale FA à 1.02 ± 0.7, Les deux variétés d'orge (Jaidor et Saida) marquent deux teneurs maximale Jaidor 2.2±0.21 teneurs respectivement. Saida 1.41±0.16

Par rapport aux teneurs enregistrées au traitement SDH, les teneurs des Polyphénols augmentent au traitement ADH chez la totalité des variétés étudiées, à l'exception la variété FA. Cette augmentation est presque le double chez MP et Saida et légèrement chez Jaidor. La variété FA marque une diminution de 1/3.

L'analyse de la variance un facteur révéla une différence significative entre les quatre variétés étudiées. Le test Newman-keuls (SNK), classe les quatre variétés étudiées en quatre groupes différents.

$$\mathbf{MP > Jaidore \geq Saida \geq FA \Leftrightarrow 4.46 > 2.2 \geq 1.40 \geq 1.01}$$

L'analyse de la variance à deux facteurs montre une différence significative entre les quatre variétés étudiées. Mais, elle ne reflète aucune différence significative statistiquement entre les deux traitements SDH et ADH.

Le test NSK résume les différences comme suit:

$$\mathbf{A \geq AB \geq B \Leftrightarrow MP \geq FA \approx Jaidore \geq Saida \Leftrightarrow 3.35 \geq 1.94 \approx 1.91 \geq 1.13}$$

$$\mathbf{ADH \approx SDH \Leftrightarrow 2.27 \geq 1.89}$$

2. Analyse quantitative :

2.1. Analyse chromatographique sur couche mince

L'observation de CCM c'est effectuée en lumières visible et sous UV avant et après les révélations. L'utilisation de différents solvants à polarités différentes à permis de séparer, l'extrait méthanolique sur plaques CCM, Les résultats sont reportés sur le tableau 1 . Les extraits aqueuse ne representent aucune spot durant la migration.

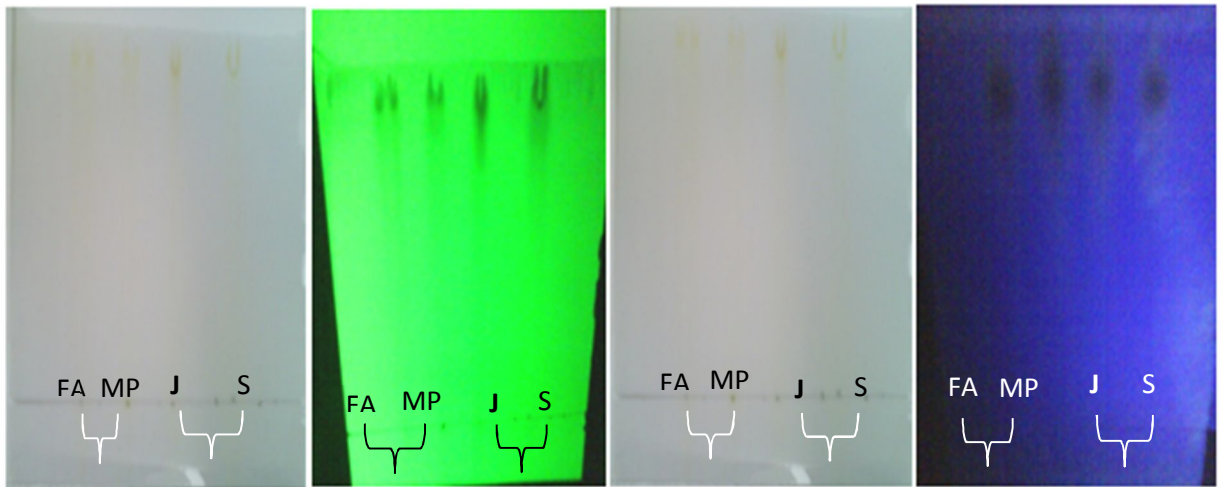
Tableau : Relation entre structure et couleur de flavonoïdes N .Mezache ; Boutiti ;

A, (2010,2004),".

Couleur de tache	Type de flavonoïde
Brun	3-OH absent ou 3-substitué
Violet	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanones.
Bleu clair	Flavone sans 5-OH libre Flavonol sans 5-OH libre avec 3-OH substitué
Jaune terne, jaune, fluorescence orangée	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.
Jaune vert brillant	5-OH libre ou 5-OH substitué
Jaune fluorescent	avec 3-OH libre Aurone, chalcone, flavanone.
Jaune pâle	Dihydroflavonol

2.2. Les photos des plaque CCM

SDH: phase aqueuse Butanone.



Après la migration

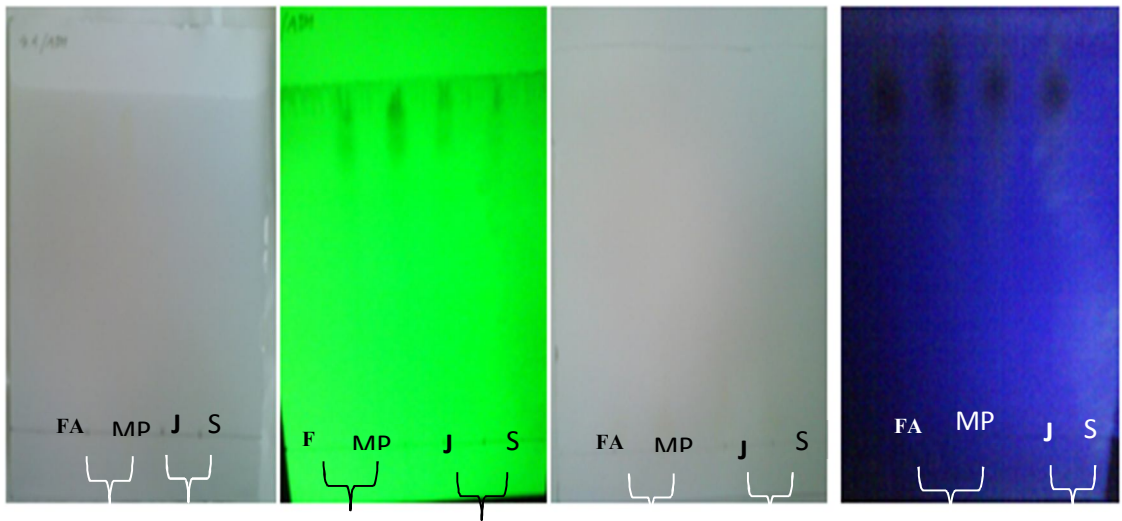
sous l'UV

Après révélation

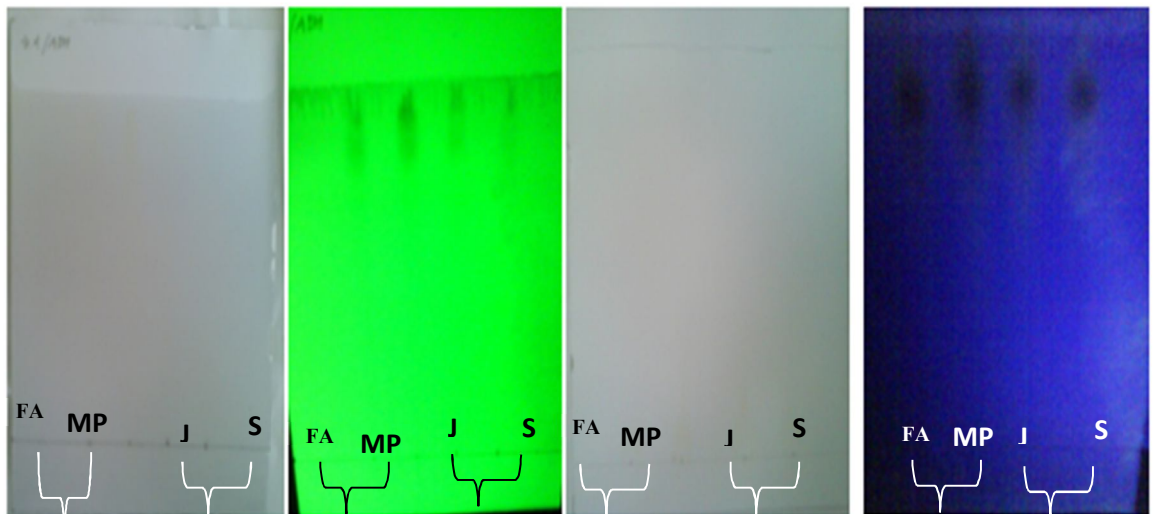
sous l'UV

Résultats et discussions

ADH : phase aqueuse Butanone.



ADH : phase aqueuse Butanone.



Après la migration

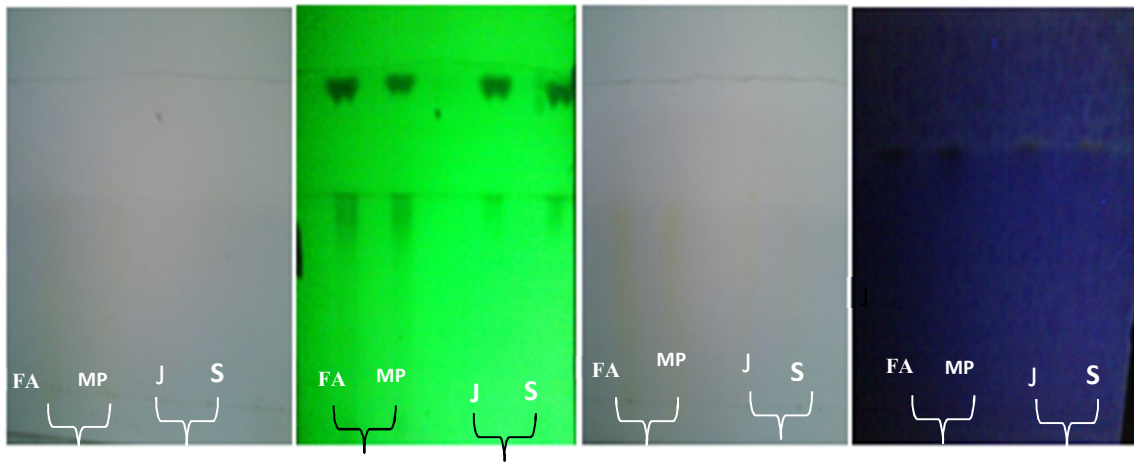
sous l'UV

Après révélation

sous l'UV

Résultats et discussions

SDH : phase organique Ether diéthylique.



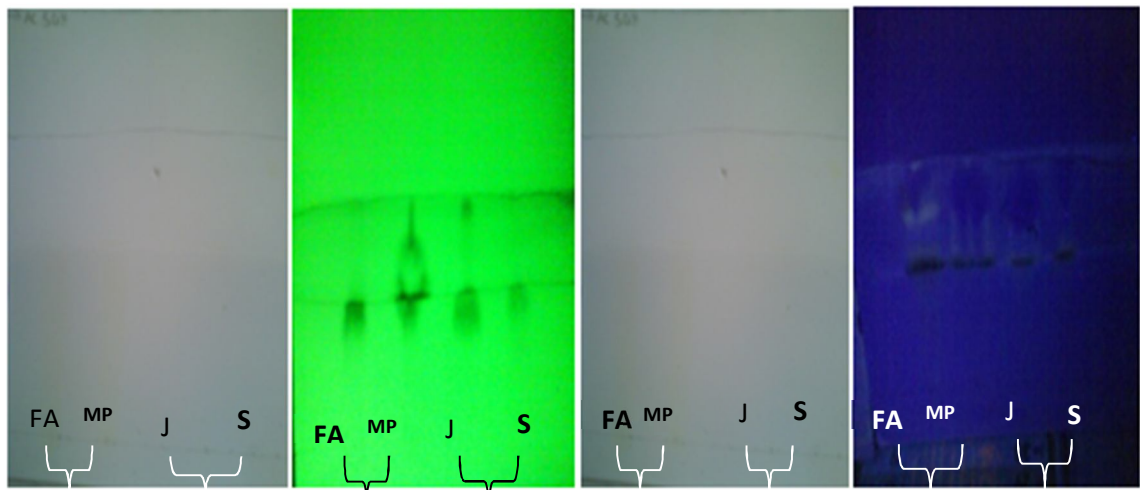
Après la migration

sous l'UV

Après révélation

sous l'UV

ADH : phase organique Ether diéthylique.



Après la migration

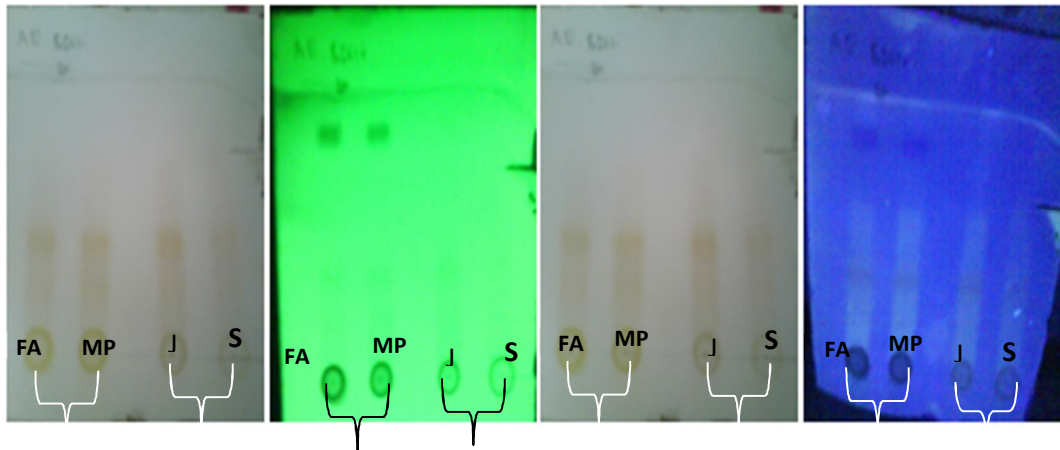
sous l'UV

Après révélation

sous l'UV

Résultats et discussions

SDH : phase organique Acétate d'éthyle.



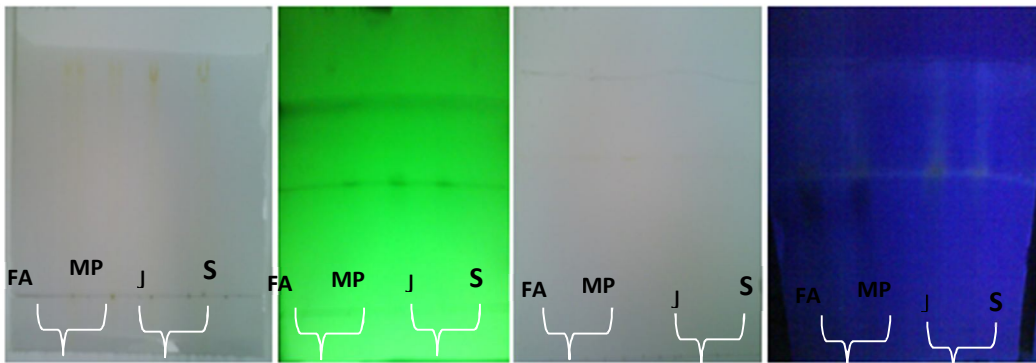
Après la migration

sous l'UV

Après révélation

sous l'UV

ADH : phase organique Acétate d'éthyle.



Après la migration

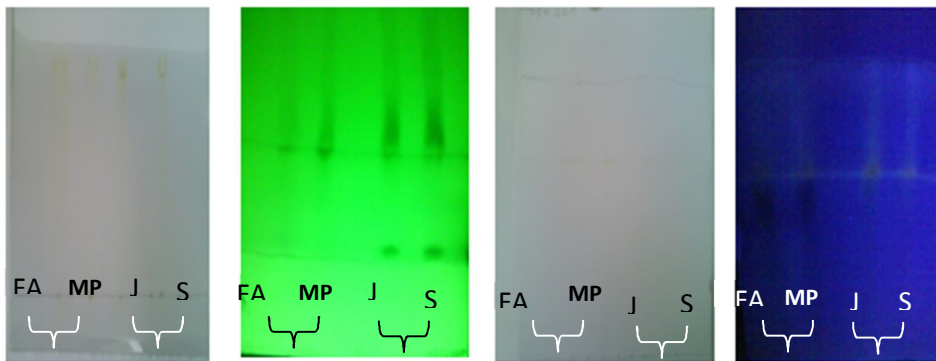
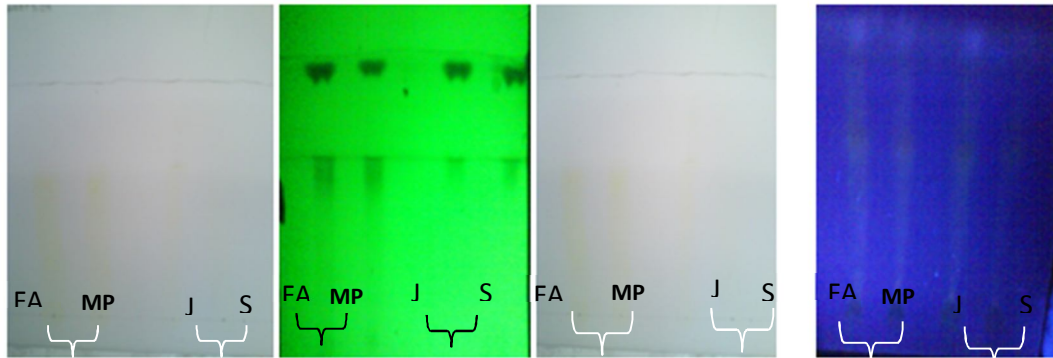
sous l'UV

Après révélation

sous l'UV

Résultats et discussions

SDH : phase organique Butanone.



Après la migration

sous l'UV

Après révélation

sous l'UV

-Acides phénoliques et phénol simple par contre traitements ADH contient plus des trois spots indique que la plant et produit des nouveaux molécule dans le stresse phases Acétate d'Ethyle les mêmes résultats d' Ether Diéthylique. Par contre la phase Butanone enregistre quater spots dans le traitement SDH et ADH.

Résultats et discussions

Les phases Ether Diéthylique ont montré un spot ver aux traitements SDH son Les

Tableau 2 : Relation entre le Rf et les structures des flavonoïdes [4,5, 6,14]. N . Mezache. (2010),"

Structure des flavonoïdes	Rf
Augmentation de nombre des groupements -OH	Diminution de Rf dans les systèmes organiques
Substitution des -OH par des groupements -CH 3	Croissement de Rf dans les systèmes organiques
Substitution des -OH par des groupements osidiques	La valeur de Rf diminue dans les systèmes organiques et croit dans les systèmes aqueux

Résultats et discussions

Tableau03 : Résultats de séparation par CCM de l'extrait acétate méthanolique On remarque que les rapports frontaux se varient entre 0.6 et 0.98 pour SDH et

ADH 0.53-0.96.

SDH					ADH				
PHASES	Variété	N SPOR	COULEUR DES POINTS	R _F	RESULTATS	N SPOT	COULAIRE	R _F	RESULTATS
ED	FA	1	Vert	0.72	5-OH libre ou 5-OH substitué	1		0.55	Flavonols5, 6, 7, tri OH libres Flavonols5, 7, 8 tris-OH
						2	vert	0.59	Flavonols5, 6, 7, tri OH libres Flavonols5
						3	jaune florescence	0.75	Aurone, chalcone, flavanone.
						4	move	0.90	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flagorne 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone.
	MP	1	Vert	0.72	5-OH libre ou 5-OH substitué	1	Marron	0.56	Flavonols5, 6, 7, tri OH libres Flavonols5, 7, 8 tris-OH
						2	Vert	0.85	5-OH libre ou 5-OH substitué
						3	move	0.86	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone.
	J	1	Jaune,	0.71	Dihydroflavonol	1	Orange	0.57	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.
jaune florescences			0.73	Aurone, chalcone, flavanone.	2	Marron	0.6	Flavonols5, 6, 7, tri OH libres Flavonols5, 7, 8 tris-OH	

Résultats et discussions

						3	jaune	0.62	Dihydroflavonol
						4	move	0.92	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone.
	S	1	Jaune,	0.71	Dihydroflavonol	1	orange	0.6	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.
		2	jaune floresc ences	0.73	Aurone, chalcone, flavanone.	2	marron	0.92	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone
						3	jaune floreescence	0.93	Aurone, chalcone, flavanone.
	FA	1	Vert,	0.6	5-OH libre ou 5- OH substitué	1	Marron	0.53	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone
		2	jaune floresc ence	0.65	Aurone, chalcone, flavanone.	2	, vert	0.58	5-OH libre ou 5- OH substitué
		3	, move	0.95	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone.	3	Jaune floreescence	0.6	Aurone, chalcone, flavanone.
	MP	1	Vert,	0.62	5-OH libre ou 5- OH substitué	1	Marron	0.6	Flavonols5, 6, 7, tri OHlibres, Flavonols5, 7, 8 tris-OH
		2	jaune floresc ence,	0.65	Aurone, chalcone, flavanone.	2	vert,	0.65	
						3	jaune floreescence +	0.75	Aurone, chalcone, flavanone.
		3	move	0.95	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH				

Résultats et discussions

				Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone.	4	move	0.9	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone.
J	1	Orange	0.65	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.	1	Vert terre	0.55	5-OH libre ou 5- OH substitué
	2	jaune floresc ence	0.67	Aurone, chalcone, flavanone.	2	orange	0.63	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.
					3	, bleu,	0.77	Flavone 5-OH et 4- OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanones.
	3	move	0.95	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone.	3			
4					jaune vert	0.9	Aurone, chalcone, flavanone.	
S	1	Orange	0.65	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.	1	Vert orange,	0.60	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.
	2	jaune floresc ence--	0.64	Aurone, chalcone, flavanone.	2	Jaune vert	0.65	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.
						jaune	0.75	Dihydroflavonol
3	move	0.93	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone.	3	jaune brillance	0.9	Aurone, chalcone, flavanone.	

Résultats et discussions

BUT	FA	1	Marron foncé+ +	0.57	Flavonols5, 6, 7, tri OH libres Flavonols5, 7, 8 tris-OH	1	Vert jaune	0.67	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.	
		2	jaune florescence	0.66	Aurone, chalcone, flavanone.	2	orange	0.72	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.	
		3	orange	0.96	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.	3	,bleu claire	0.96	Flavone sans 5-OH libre Flavonol sans 5-OH libre avec 3-OH substitué	
		4	move	0.98	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone.					
	MP	1	Marron foncé	0.55	Flavonols5, 6, 7, tri OH libres Flavonols5, 7, 8 tris-OH	1	Jaune	0.65	Dihydroflavonol	
		2	Jaune	0.67	Flavonol 3-OH					
		3	orange	0.97	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.	2	Jaune florescence	0.67	Aurone, chalcone, flavanone.	
		4	move	0.98	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanone.	3	orange	0.73	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.	
	4					bleu claire	0.96	Flavone sans 5-OH libre Flavonol sans 5-OH libre avec 3-OH substitué		
	J	1	Jaune florescence	0.58	Aurone, chalcone, flavanone.	1	Jeune florescence	0.62	Aurone, chalcone, flavanone.	
						2	orange jaune	0.66	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.	
			2	orange	0.65	Flavonol 3-OH libre avec ou sans 5-OH libre.				
			3	bleu claire	0.97	Flavone sans 5-OH libre Flavonol sans 5-OH libre avec 3-OH substitué				
							3	bleu ++	0.96	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH

Résultats et discussions

									Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanones.
	S	1	Jaune florescence,	0.64	Aurone, Chalcone, flavanone.	1	Jaune	0.65	Flavonol 3-OH
		2				2	Jeune florescence	0.69	Aurone, Chalcone, flavanone
		3	bleu claire	0.97	Flavone sans 5-OH libre Flavonol sans 5-OH libre avec 3-OH substitué	3	bleu	0.96	Flavone 5-OH et 4-OH Flavone 3-OR et 5-OH ; 4-OH Flavone 6 ou 8 OH Chalcone, isoflavone, dihydroflavonol, flavanones.

2.2. Spectrophotomètre UV-visible :

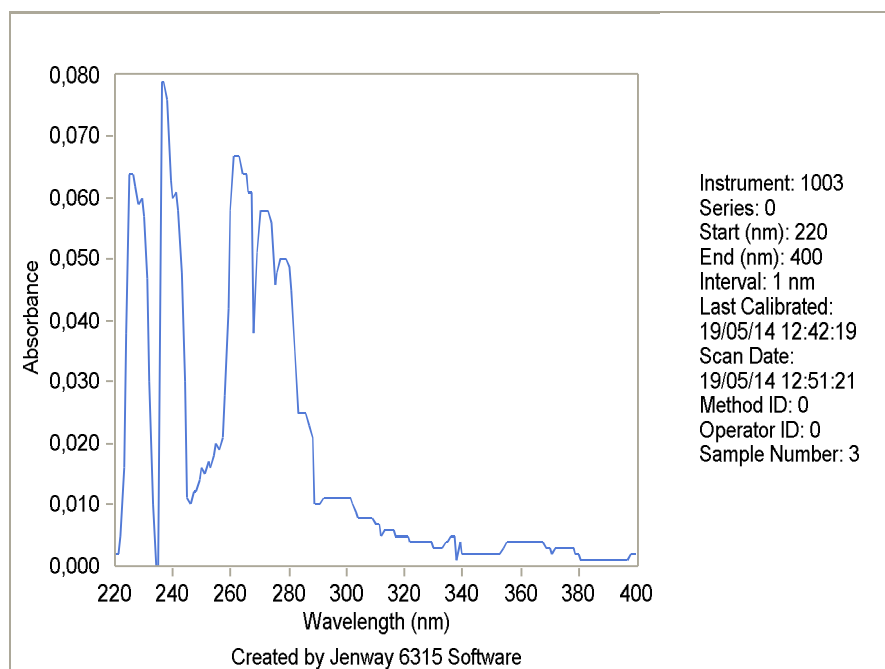


Figure 23: le spectre du méthanol pur

Le méthanol pur Permet de calibrer le spectre et pour faciliter l'analyse des molécules.

Résultats et discussions

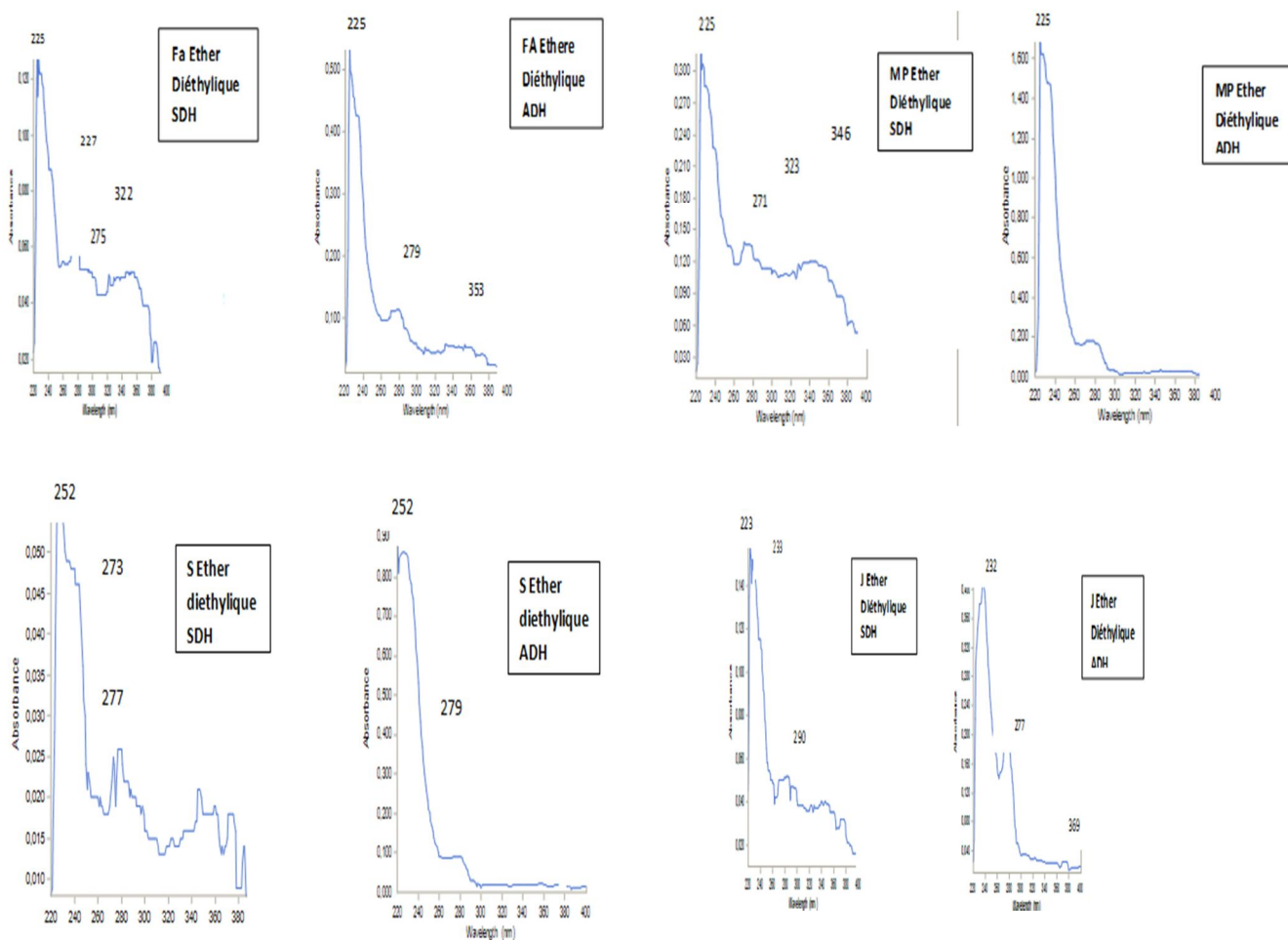


Figure 24: l'analyse du spectre sur variété FA de phase Ether diéthylique

- Les spectres de phase Éther diéthylique ont montré qu'il y'a deux pics entre 322-353 nm entre les deux phases SDH et ADH pour la bande BI et entre 223-280 pour la bande BII. ce qui nous permet de proposer une structure de conjugaison étendue, peut-être une forme proche de la forme benzoyle relative aux flavonoïdes mais. Mais ces composés ne sont pas purs car ils présentent d'autres pics comme 230 nm et 240

Résultats et discussions

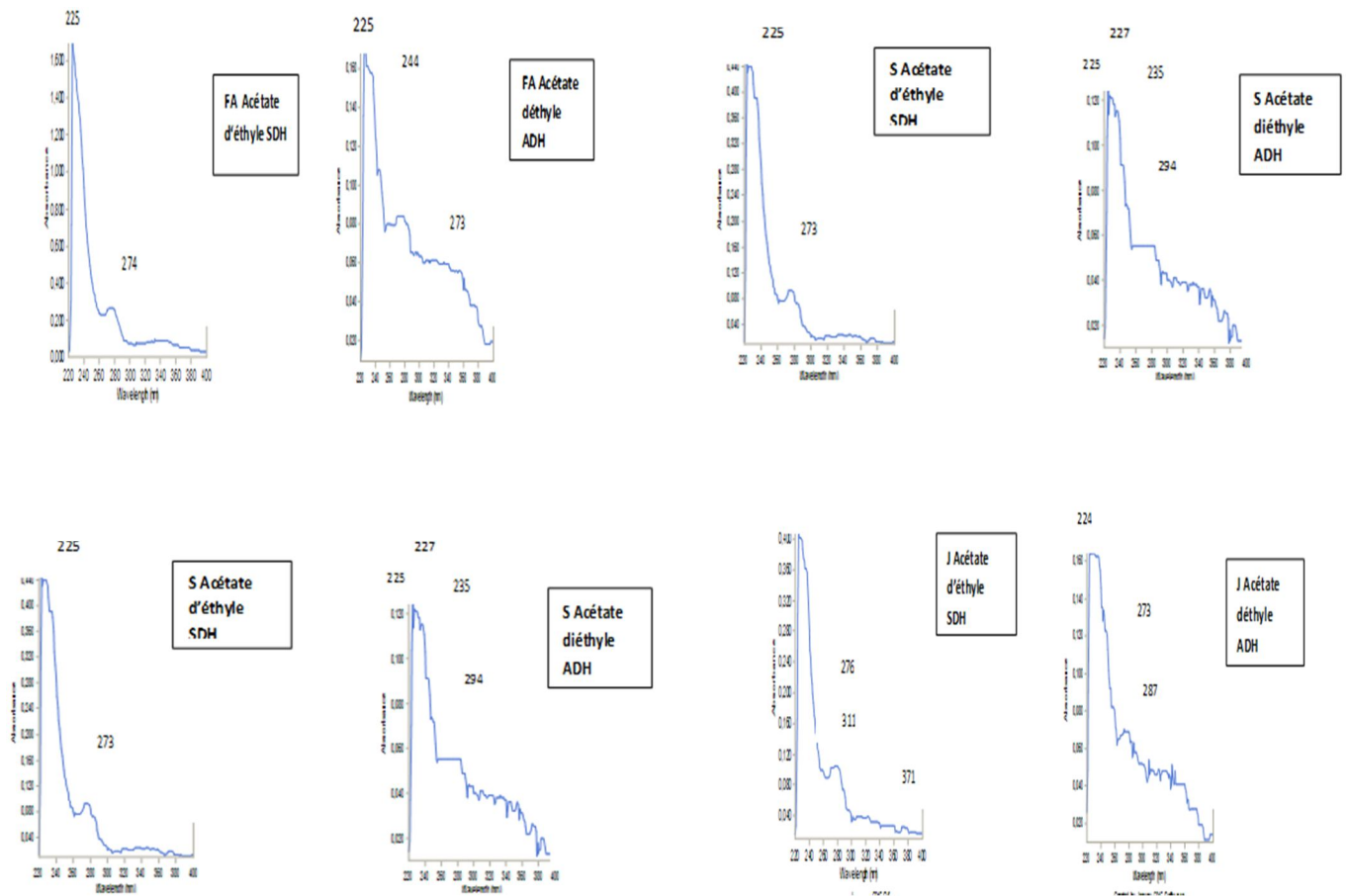


Figure 25: l'analyse du spectre sur variété FA de phase Acétate d'éthyle

- Le spectre UV-Vis de phase Acétate montre qu'il y'a trois pics entre 310-370 nm pour la BI, et entre 225-280 nm pour la BII. Ces pics déduire qu'il y'a des flavonoïdes de type flavonone.

Résultats et discussions

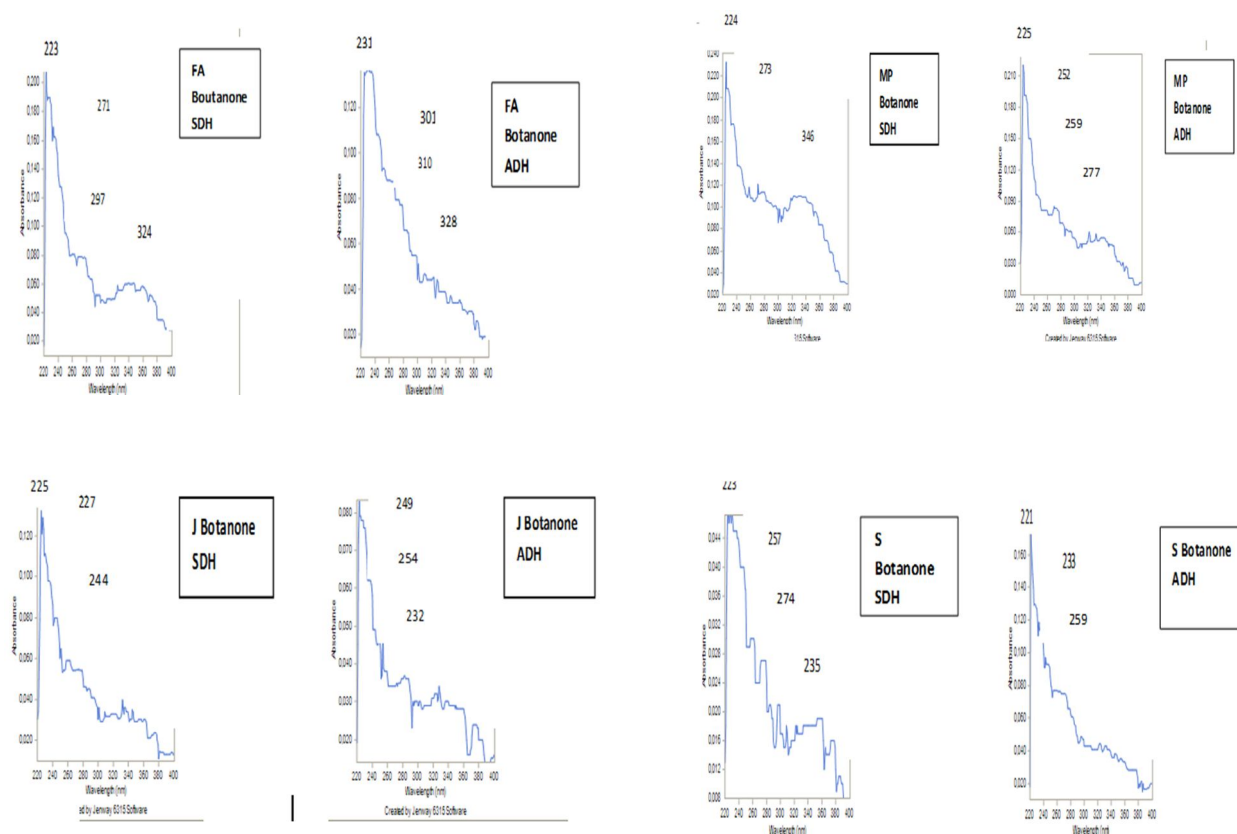


Figure 26: l'analyse du spectre sur variété FA de phase Butanone

- L'analyse de spectre de Butanone donne un produit entre 314-346 nm pour la bande BI et de 223-280 nm pour la bande BII sont des aglycone telle que Flavone ou flavonols (3-OH-substitué) ou flavonils3-OH –free et iso flavonols , Bousmid. (2011) a trouvé qu'après l'analyse spectrale des composés purs des phases Acétate d'éthyle et Butanone, les composés purs de ces phases sont des flavonoïdes

Résultats et discussions

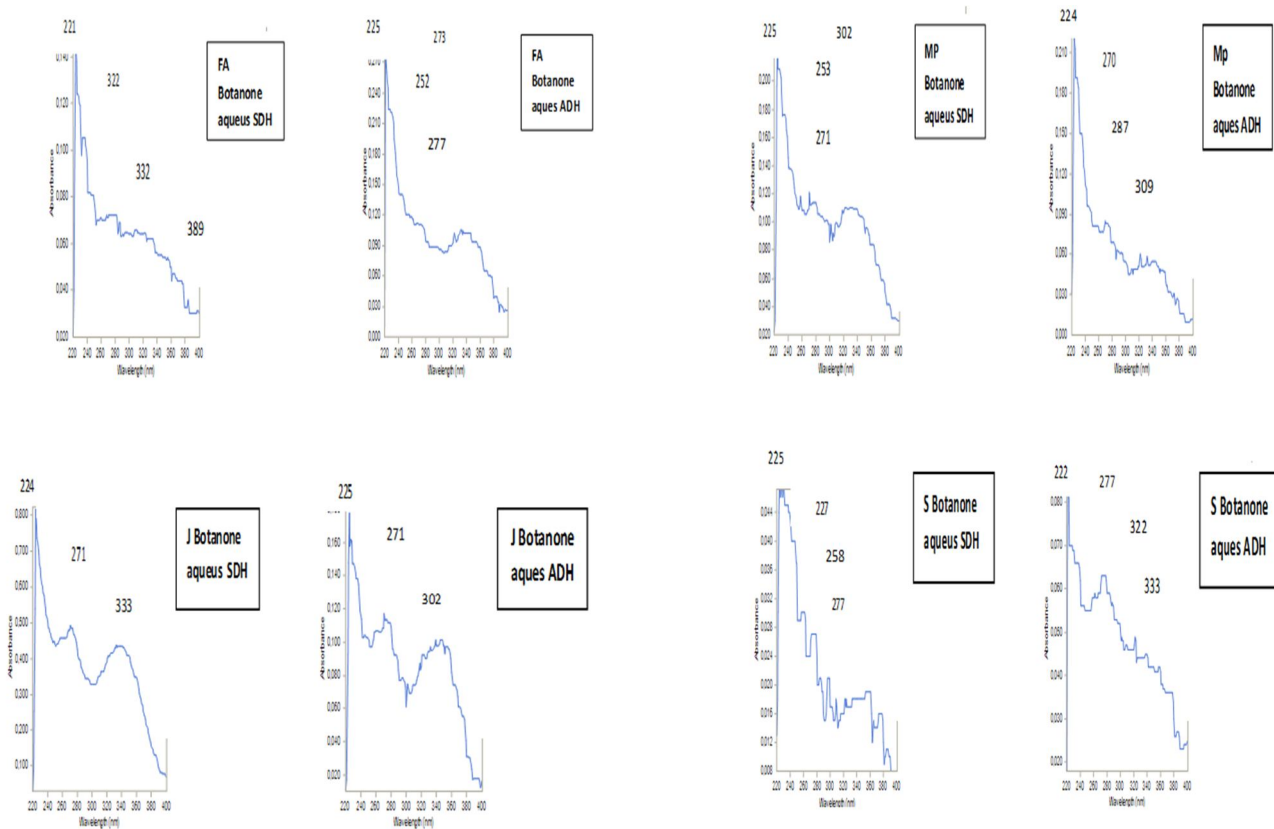


Figure 27: L'analyse du spectre sur variété FA de phase Butanone aqueuse

- L'analyse de la phase aqueuse donner les résultats comme suit ; 310-333 nm pour la BII et 221-280 nm pour BI. Ce sont flavonoïdes (flavonols3-OH –free flavonols3-OH –substitué)

III.L'activité biologique

III.1. Activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antibactérienne ont montré que les extraits apolaires Acétate d'éthyle et Ethers diéthyléque ont produit des zones d'inhibition plus grandes que celles obtenues avec les extraits Butanone et Butanone aqueux. Selon Bekker et Gluchencova (2003)

Antibactérienne (Diallo, 2005) obtenus par Sabir et al. (2007) qui ont étudié l'activité antibactérienne des fleurs et des fruits de *l'Elaeagnus umbellata* et qui ont trouvé que l'extrait étherique est efficace contre *P.aeruginosa*, *S.aureus*.

Pour les souches *E. coli*, petite une zone d'inhibition dans les puis et il y a des boîtes ou nous avons observé aucune résultats autour des disques, ce qui explique d'un faible resisetance contre les souches bacterienne Cette dernière est due caracataire de structure de la paroi cellulaire entre les bactéries gram positives et les bactéries gram négatives (Ali-Shtayeh *et al.*, 1998). Les moyenne des disques et les puits des *E.coli* et *Bacillus* varient selon les phases des extrais S . L'activité antibactérienne varie d'une plante à une autre et d'un germe à l'autre (Yameogo, 2003)



Figure 28: les boîtes de pétri des bactéries *E. coli* témoins

Résultats et discussions

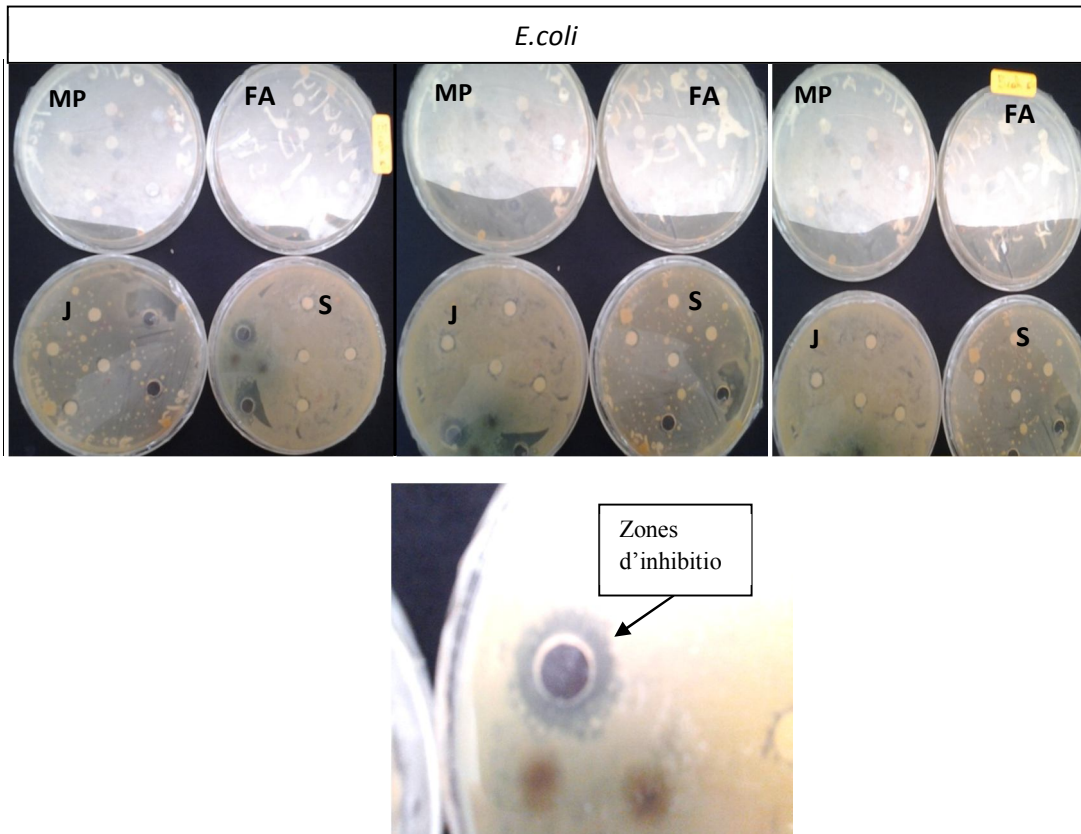


Figure29 : les boites de pétri des bactéries *E. coli* SDH

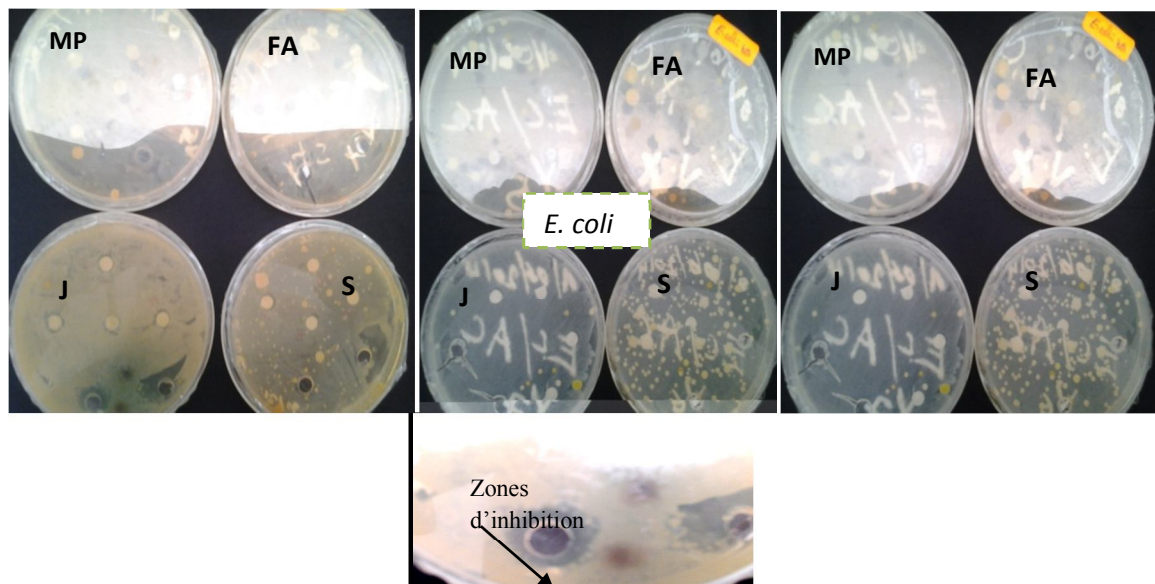


Figure30 : les boites de pétri des bactérie *E. coli* ADH

Résultats et discussions

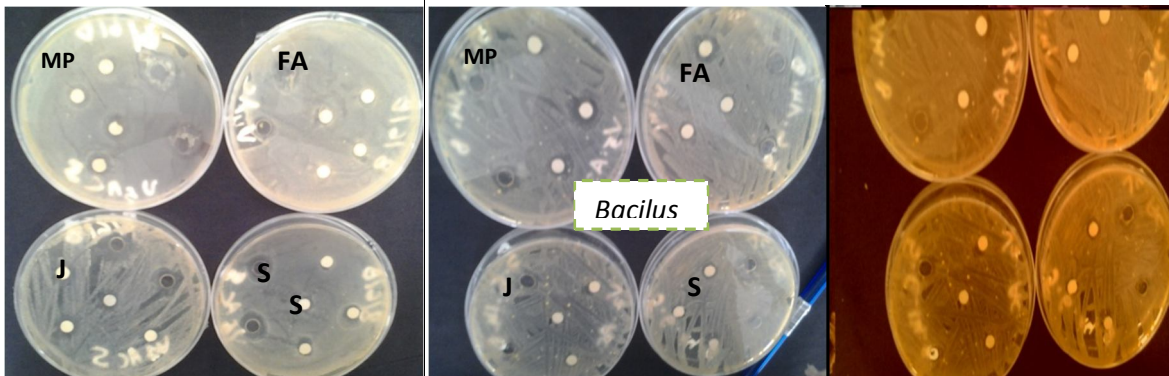


Figure 31 : les boîtes de pétri de la bactérie *Bacillus* SDH

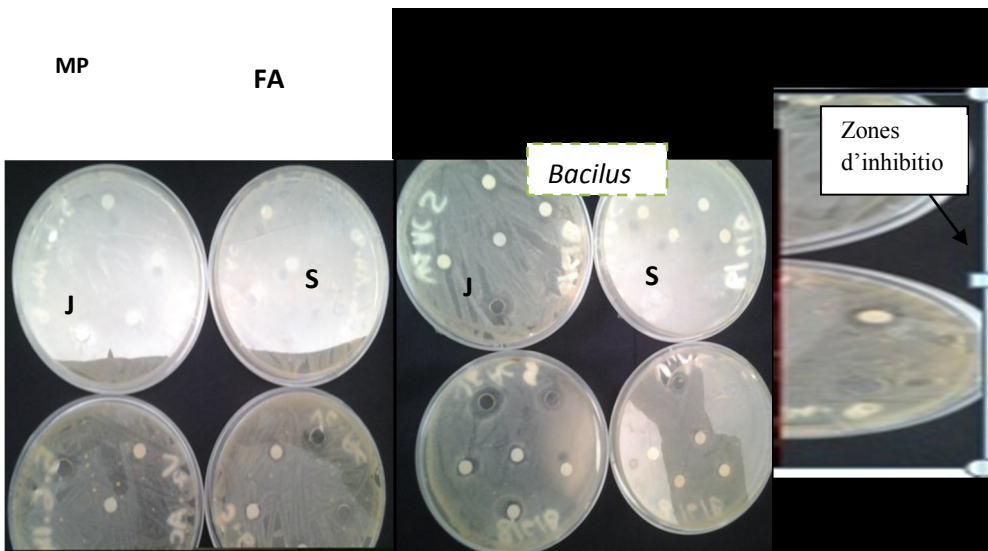


Figure 32 : les boîtes de pétri des bactéries *Bacillus* ADH



Figure 33: témoin souche fongique *Fuzarium*

Résultats et discussions

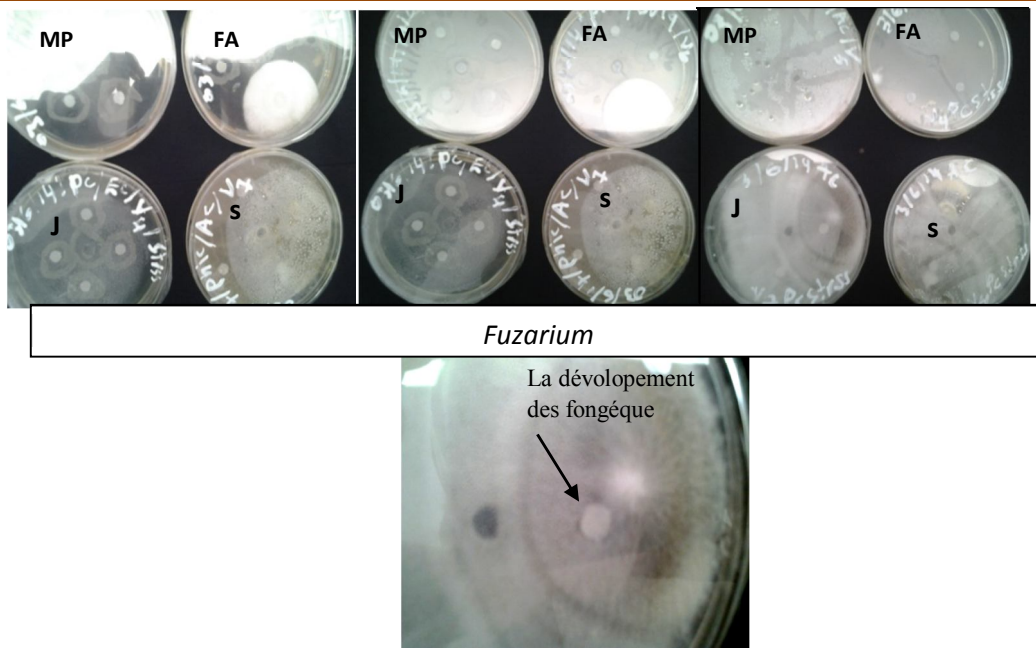


Figure 34: les boîtes de pétri souche fongique *Fuzarium* SDH

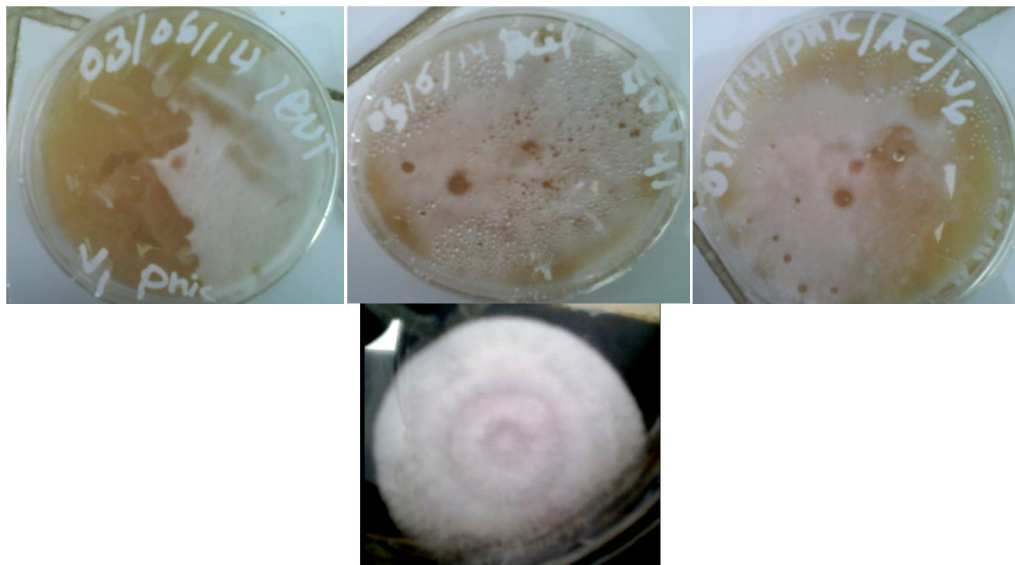


Figure 35: zone de développements ; fongique *Fuzarium* au ADH

III.1.1 Phase D'éthyle Acétate

❖ Disque

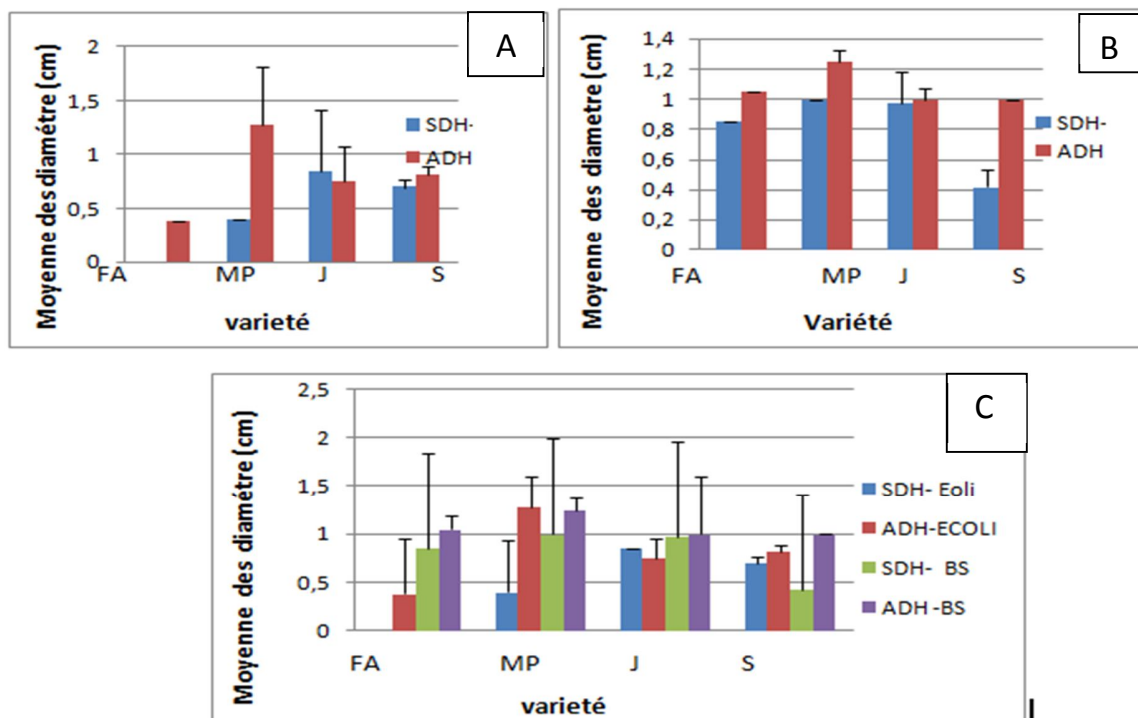


Figure 36 : Zones d'inhibition de développement des disques des deux bactéries *E.coli* et *Bacillus* aux traitements SDH et ADH par les extraits quatre variétés du blé tendre et l'orge de la phase D'éthyle Acétate; A: *E.coli* B: *Bacillus* C: *E.coli* et *Bacillus*

- L'extrait de MP a l'activité la plus forte contre le développement et la croissance des *E.coli* au traitement SDH avec une moyenne de diamètre des zones d'inhibition de MP 1 ± 0.21 mm suivi par l'extraits J avec une moyenne 0.97 ± 0.11 de, et en dernier celui de FA avec un effet plus faible que l'extraits des autres variétés S $0.42 \pm$ mm. En dernier celui Par contre, au traitement ADH, l'extraits méthanoliques des quatre variétés l'activité la plus vigoureuse avec des moyenne de diamètre des zones d'inhibition de 1 ± 0.07 , 0.97 ± 0.07 , 0.38 ± 0.53 , 0.82 ± 0.54 mm et mm successivement. Alor que

Aucun différence entre l'effet méthanoliques de la phase acétate d'éthyle sur la bactérie *E.coli* mis, les deux traitements ADH et SDH il ya une augmentation dans la zone d'inhibition

Résultats et discussions

Selon le test Newman-Keuls (SNK), un 3 groupe englobe quatre variétés étudiées avec une simple différence entre les moyennes.

différence entre les moyennes

$$. MP > S \geq J > FA \leftrightarrow 0.86 \geq 0.75 \geq 0.65 > 0.25$$

Aussi, le test SNK associe les deux stades dans un seul groupe.

$$ADH \approx SDH \leftrightarrow 0,76 \approx 0,50$$

L'extrait MP a l'activité la plus forte contre le développement et la croissance des *Bacillus* au traitement SDH avec une moyenne de diamètre des zones d'inhibition de MP 0.75 ± 0.07 mm suivi par l'extrait J avec une moyenne de 0.8 ± 0.14 mm, FA celui de avec un effet moyenne que l'extrait des autres variétés 0.95 ± 0.21 mm. et en dernière Par contre au traitement ADH, les extraits méthaniques des deux variétés ont un effet remarquable avec des moyenne de diamètre des zones d'inhibition de $1.450.21 \pm$ mm et 1.5 ± 0.14 mm successivement.

$$MP \approx S \approx J \approx FA \leftrightarrow 0.86 \approx 0.75 \approx 0.65 \approx 0.25$$

$$ADH \approx SDH \leftrightarrow 0.76 \approx 0.50$$

Comparaison entre les deux bactéries

L'analyse statistique ne révèle aucune différence entre l'effet des extraits méthaniques de la phase acétate d'éthyle sur les deux bactéries dans la technique des disques et le même effet sur les deux traitements SDH et ADH.

Le test SNK regroupe les variétés en seul groupe et même les deux traitements et les deux Bactéries.

$$MP \approx S \approx J > FA \leftrightarrow 0.97 \approx 0.87 \approx 0.74 > 0.39$$

$$ADH \approx SDH \leftrightarrow 0.67 \approx 0.81$$

$$Bacillus \approx E. coli \leftrightarrow 0.97 \approx 0.69$$

Résultats et discussions

❖ Puis

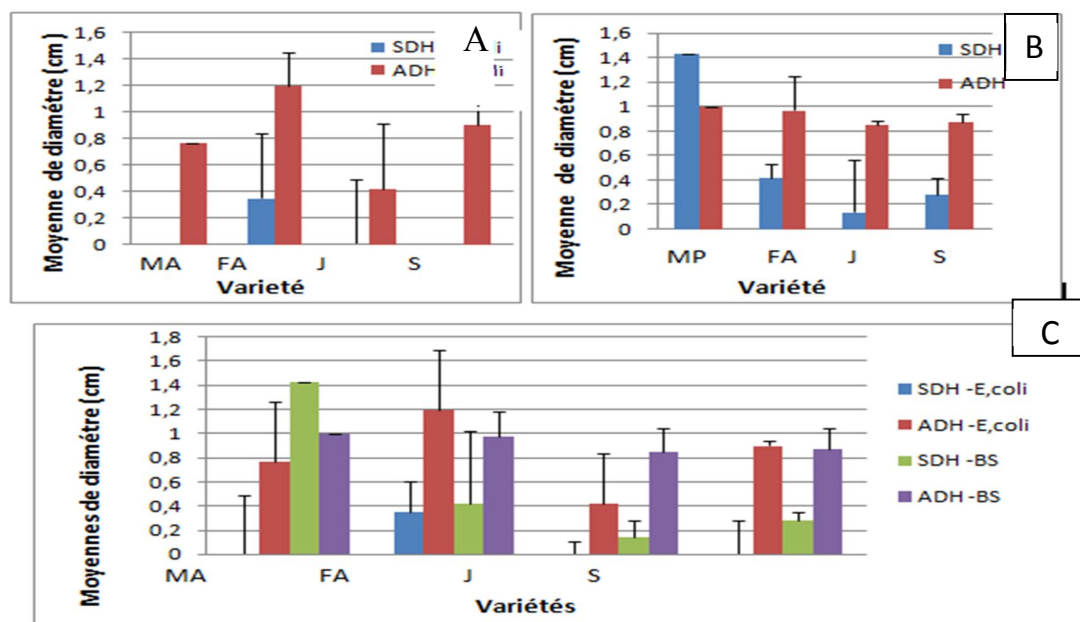


Figure 37: Zones d'inhibition de développement des puits des deux bactéries *E.coli* et *Bacillus* aux traitements SDH et ADH par les extraits quatre variétés du blé tendre de la phase D'éthyle Acétate; A: *E.coli* B: *Bacillus* C: *E.coli* et *Bacillus*

Les extraits MP et J ET S ont aucune effet contre le développement et la croissance des *E. coli* au traitement SDH suivi par l' extrait FA avec une moyenne de diamètre des zones d'inhibition de 0.75 ± 0.07 mm, au traitement SDH. Par contre au traitement ADH les extraits méthanoliques des variétés FA ont un grande effet avec des moyenne de diamètre des zones d'inhibition de 1.42 ± 0.32 mm et 1.65 ± 0.14 et 1.45 ± 0.21 mm et moyenne zone d'inhibition des variétés jaidore .

L'analyse statistique ne révèle aucun différence entre l'effet des extraits des trois variétés sur la bactérie *E.coli* pour la technique des puits et également sur les deux traitements

le test SNK regroupe les vriétés en seul groupe et aussi les deux traitements

$$S > MP \geq FA \geq J \leftrightarrow 1.31 > 1.10 \geq 0.86 \geq 0.40$$

$$SDH > ADH \leftrightarrow 1.21 > 0.62$$

L'extrait MP a l'activité la plus forte contre le développement et la croissance des *Bacillus* au traitement SDH avec une moyenne de diamètre des zones d'inhibition de 1.45 ± 0.21 mm

Résultats et discussions

suivi par l'extrait avec une moyenne de $MP 0.75 \pm 0.07$ mm, et en dernier celui de S et J avec un effet plus faible que les extraits. Par contre au traitement ADH, les extraits méthanolique des variétés MP et FA ont une augmentation au moyennes de diamètre des zones d'inhibition de toute les variétés 1.02 ± 0.31 mm et 1.6 ± 0.21 mm successivement,

L'étude statistique ne montre aucune différence entre l'effet des extraits méthanoïques des trois variétés étudiées de la phase Acétate d'éthyle sur la bactérie *Bacillus*. (Figure 34 B).

Par contre, on remarque une différence entre les deux traitements. Les extraits ADH répondent mieux que les extraits SDH. Le test SNK enregistre le même groupe pour les trois variétés et deux groupes différents pour les deux traitements SDH et ADH.

Comparaison entre les deux bactéries

L'étude statistique nova à trois facteurs montre aucune différence entre l'effet des extraits des quatre variétés mais enregistre aucune différence significative entre l'effet des deux traitements et les deux bactéries. (Figure 34c).

$$J \approx S \approx MP \approx FA \leftrightarrow 1.36 \approx 1.31 \approx 1.23 \approx 1.17$$

$$ADH \approx SDH \leftrightarrow 1.39 \approx 1.15$$

Selon le test SNK les trois facteurs sont classé groupe: les variétés ont le même groupe. Alors que les traitements et les bactéries présentent deux groupes différents dont les extraits ADH exerce un effet activité plus forte que les extraits SDH. Aussi *Bacillus* a un effet plus rigoureux qu' *E.coli*.

Comparaison entre les deux bactéries

$$S \approx MP \approx FA \approx J \leftrightarrow 1.21 \approx 1.20 \approx 0.88 \approx 0.85$$

$$ADH > SDH \leftrightarrow 1.33 > 0.74$$

$$Bacillus > E. coli \leftrightarrow 1.44 > 0.74$$

III.1.2. Phase Ether diéthylique

❖ Disque

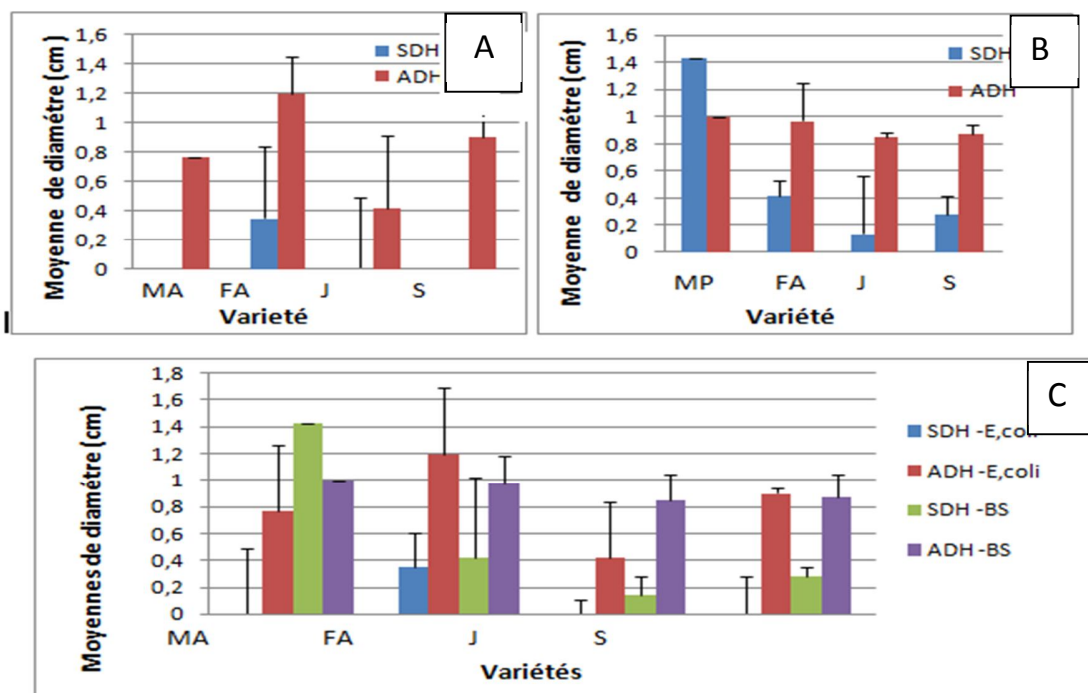


Figure 38 : Zones d'inhibition de développement des disques des deux bactéries *E. coli* et *Bacillus* aux traitements SDH et ADH par les extraits des quatre variétés du blé tendre de la phase Phase Ether diéthylique A: *E. coli* B: *Bacillus* C: *E. coli* et *Bacillus*

- E.COLI :

$$MP \approx FA \approx S \approx J \leftrightarrow 0.8 \approx 0.56 \approx 0.45 \approx 0.28$$

$$ADH > SDH \leftrightarrow 0.85 > 0.20$$

- B : *Bacillus* :

$$MP \approx FA \approx S \approx J \leftrightarrow 0.80 \approx 0.56 \approx 0.45 \approx 0.28$$

$$ADH \approx SDH \leftrightarrow 0.85 \approx 0.20$$

Résultats et discussions

Comparaison entre les deux bactéries

$MP \approx FA \approx S \approx J \leftrightarrow 0.85 \approx 0.76 \approx 0.74 \approx 0.49$

$ADH \approx SDH \leftrightarrow 0.88 > 0.54$

$Bacillus > E. coli \leftrightarrow 0.90 > 0.52$

❖ puis

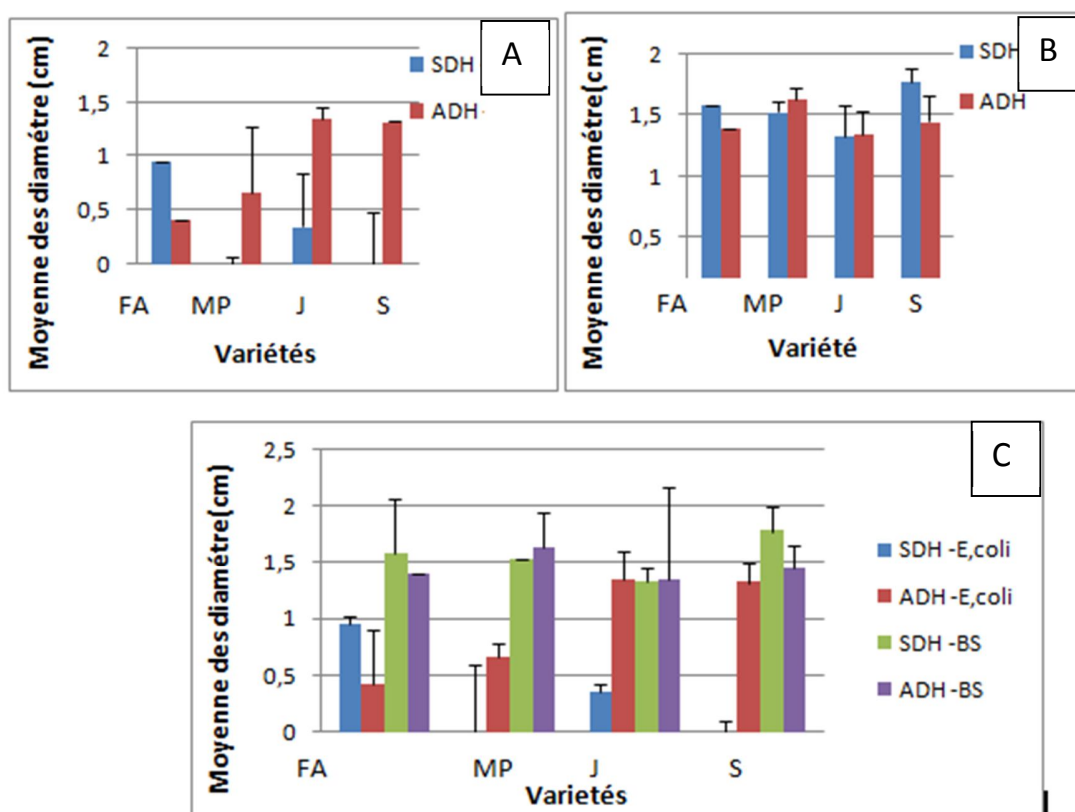


Figure 39: Zones d'inhibition de développement des puits des deux bactéries *E.coli* et *Bacillus* aux traitements SDH et ADH par les extraits des quatre variétés du blé tendre de la phase Ether diéthylique; A: *E.coli* B: *Bacillus* C: *E.coli* et *Bacillus*

Résultats et discussions

A : E. coli

$$J \approx S \approx MP \approx FA \leftrightarrow 0.85 \approx 0.68 \approx 0.66 \approx 0.33$$

$$ADH > SDH \leftrightarrow 0.94 \approx 0.32$$

- B : Bacilles

$$S \approx MP \approx FA \approx J \leftrightarrow 1.61 \approx 1.57 \approx 1.48 \approx 1.3$$

$$SDH \approx ADH \leftrightarrow 1.55 \approx 1.45$$

Comparaison entre les deux bactéries

$$S \approx J \approx FA \approx MP \leftrightarrow 1.16 \approx 1.09 \approx 1.08 \approx 0.95$$

$$ADH \approx SDH \leftrightarrow 1.2 \approx 0.93$$

$$\text{Bacillus} > \text{E.COLI} \leftrightarrow 1.50 > 0.64$$

III.1.3. Phase Butanone

❖ Disque

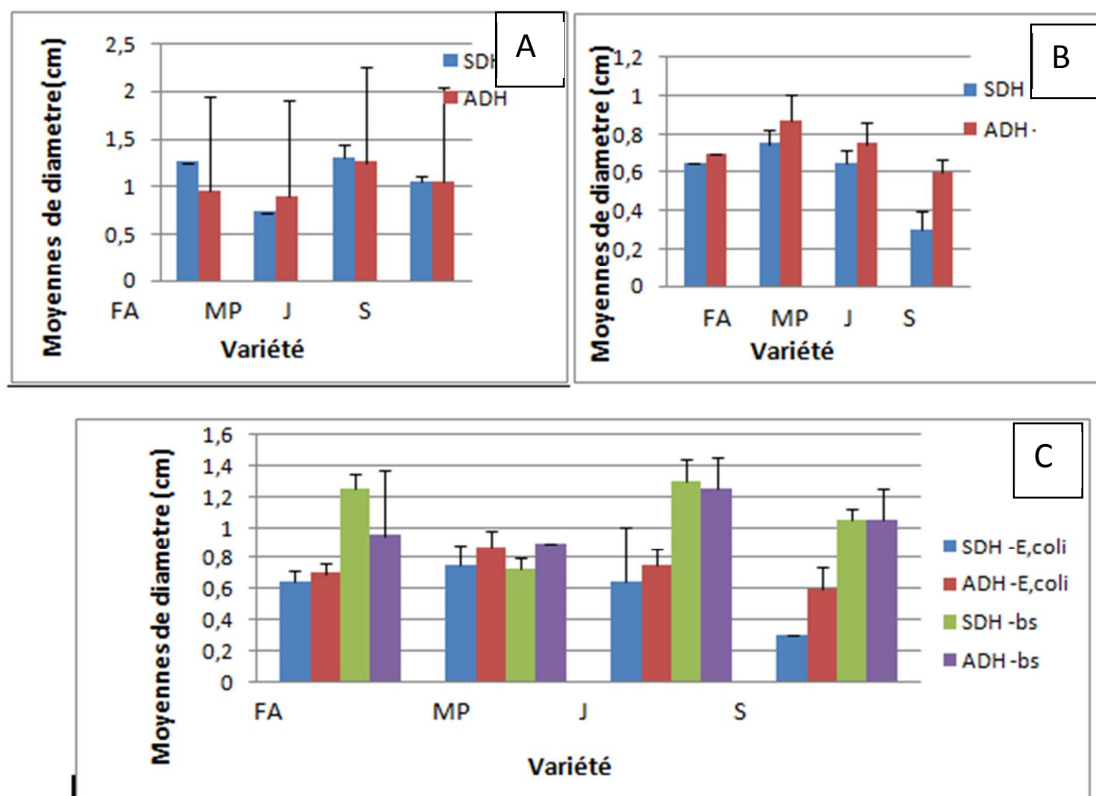


Figure 40 : Zones d’inhibition de développement des disques des deux bactéries *E.coli* et *Bacillus* aux traitements SDH et ADH par les extraits des quatre variétés du blé tendre de la phase Butanone; A: *E.coli* B: *Bacillus* C: *E.coli* et *Bacillus*

• A : *E. coli* :

$$FA \approx S \approx MP \approx J \leftrightarrow 0.92 \approx 0.86 \approx 0.55 \approx 0.37$$

$$SDH \approx ADH \leftrightarrow 0.74 = 0.61$$

• B : *Bacillus*

$$S \approx J \approx FA \approx MP \leftrightarrow 1.4 \approx 1.42 \approx 1.32 \approx 0.93$$

$$SDH \approx ADH \leftrightarrow 0.744 \approx 0.61$$

Résultats et discussions

Comparaison entre les deux bactéries

$S \approx J \approx MP \approx FA \leftrightarrow 0.78 \approx 0.67 \approx 0.67 \approx 0.57$

$ADH \approx SDH \leftrightarrow 1.06 \approx 0.88$

$Bacillus > E.COLI \leftrightarrow 1.28 > 0.67$

Résultats et discussions

❖ Puis

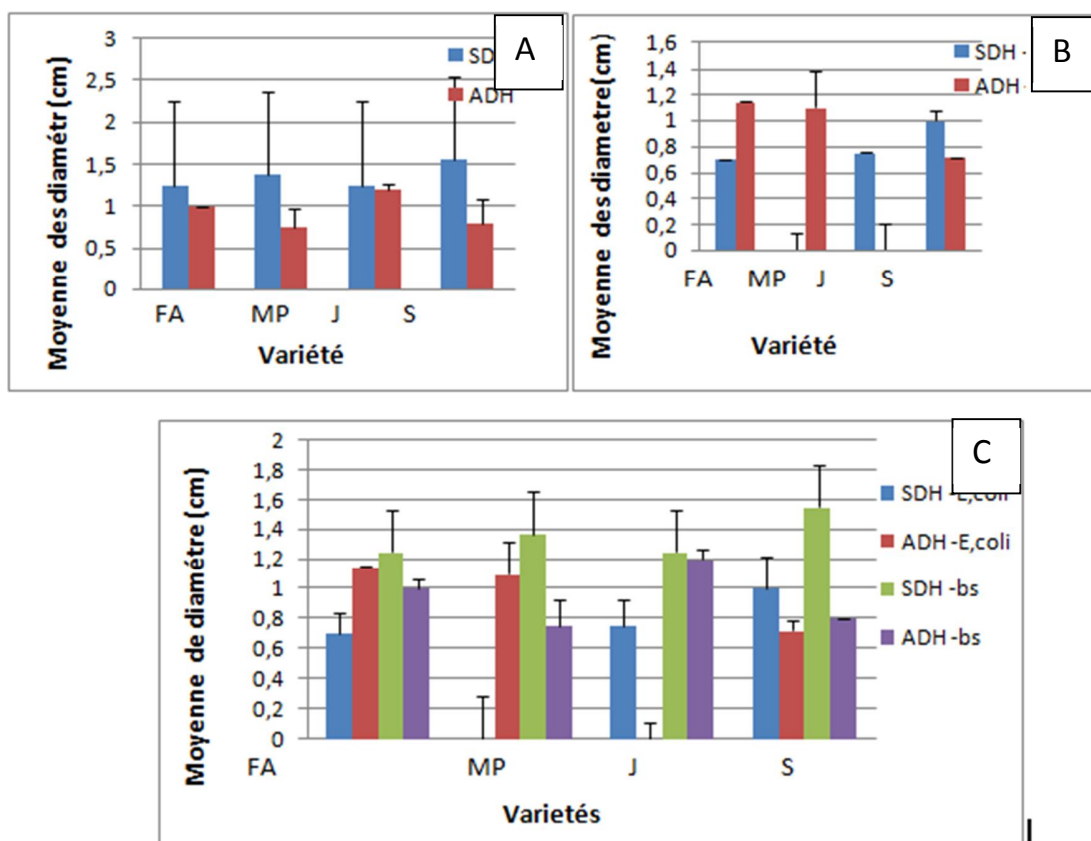


Figure 41: Zones d'inhibition de développement des puits des deux bactéries *E.coli* et *Bacillus* aux traitements SDH et ADH par les extraits des quatre variétés de blé tendre de la phase Butanone; A: *E.coli* B: *Bacillus* C: *E.coli* et *Bacillus*

- E. coli :

$$FA \approx S \approx MP \approx J \leftrightarrow 0.92 \approx 0.86 \approx 0.55 \approx 0.37$$

$$ADH \approx SDH \leftrightarrow 0.74 \approx 0.61$$

- b. Bacillus :

$$FA \approx S \approx MP \approx J \leftrightarrow 0.92 \approx 0.86 \approx 0.55 \approx 0.37$$

$$ADH \approx SDH \leftrightarrow 0.74 \approx 0.61$$

Comparaison entre les deux bactéries

$$FA \approx S \approx MP \approx J \leftrightarrow 1.11 \approx 1.09 \approx 0.88 \approx 0.87$$

$$SDH \approx ADH \leftrightarrow 1.05 \approx 0.92$$

$$Bacillus \geq E. coli$$

III.1.4. Phase aqueuse

❖ Disque

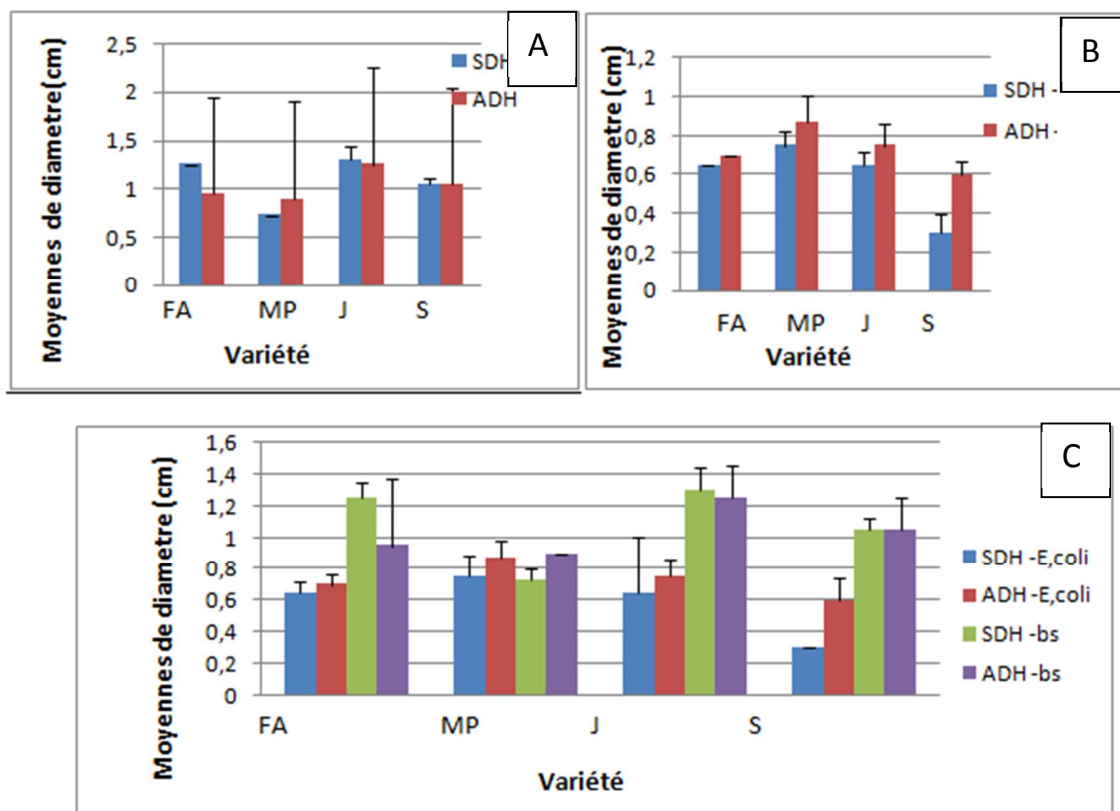


Figure 42 : Zones d'inhibition de développement des disques des deux bactéries *E.coli* et *Bacillus* aux traitements SDH et ADH par les extraits des quatre variétés du blé tendre de la phase aqueuse; A: *E.coli* B: *Bacillus* C: *E.coli* et *Bacillus*

- A : *E.coli*

$$MP \geq J \geq FA \geq S \leftrightarrow 0.84 \geq 0.71 \geq 0.68 \geq 0.56$$

$$SDH \approx ADH \leftrightarrow 0.053 \approx 0.425$$

- B : *Bacillus*

$$S \geq FA \geq J \geq MP \leftrightarrow 1.20 \geq 1.04 \geq 1 \geq 0.75,$$

$$SDH \approx ADH \leftrightarrow 1.042 \approx 0.96$$

Comparaison entre les deux bactéries

$FA \approx J \approx MP \approx S \leftrightarrow 0.96 \approx 0.86 \approx 0.8 \approx 0.78$
 $SDH \approx ADH \leftrightarrow 1.05 \approx 0.92$
 Bacillus > E. coli

❖ puis

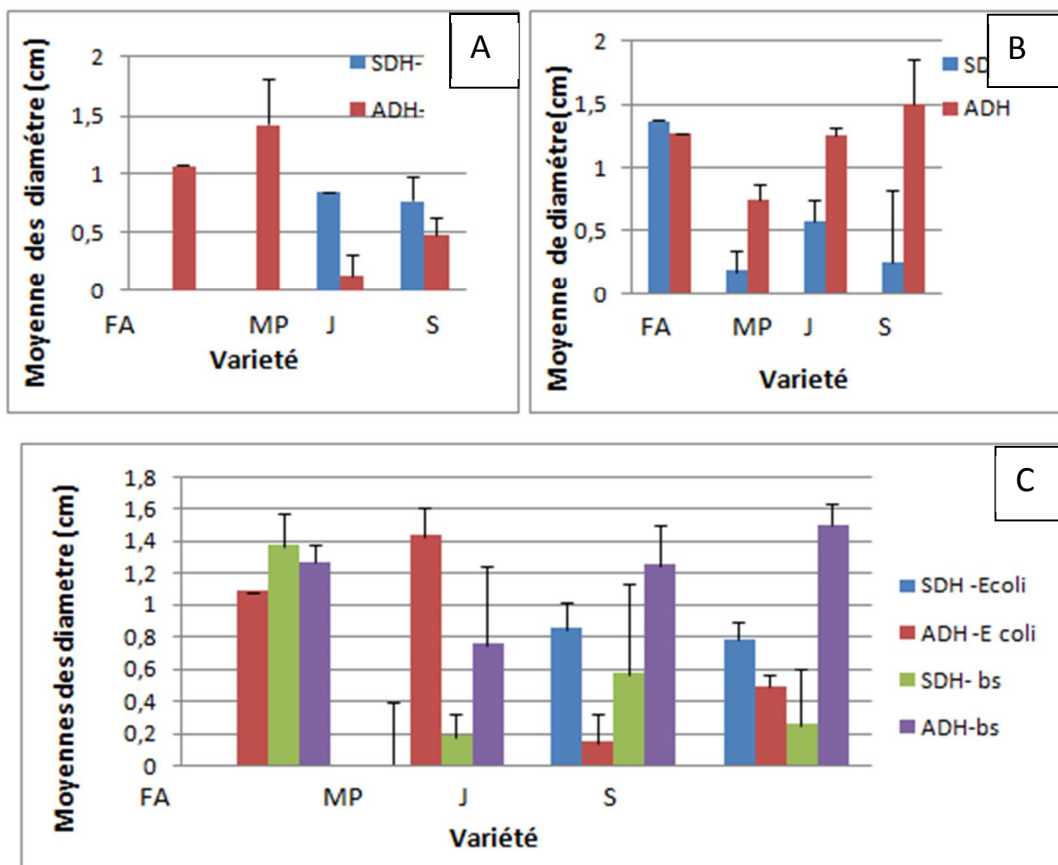


Figure 43 : Zones d'inhibition de développement des puits des deux bactéries *E.coli* et *Bacillus* aux traitements SDH et ADH par les extraits quatre variétés du blé tendre de la phase aqueuse;
 A: *E.coli* B: *Bacillus* C: *E.coli* et *Bacillus*

Résultats et discussions

- **A : E. coli**

$$J \approx MP \approx S \approx FA \leftrightarrow 0.87 \approx 0.71 \approx 0.56 \approx 0.53$$

$$ADH \approx SDH \leftrightarrow 0.93 \approx 0.40$$

- **B : Bacilles**

$$S \approx J \approx FA \approx MP \leftrightarrow 1.43 \approx 1.42 \approx 1.32 \approx 0.93$$

$$SDH \approx ADH \leftrightarrow 1.36 \approx 1.19$$

Comparaison entre les deux bactéries

$$J \approx S \approx FA \approx MP \leftrightarrow 1.15 \approx 1 \approx 0.93 \approx 0.82$$

$$SDH \approx ADH \leftrightarrow 1.06 \approx 0.88$$

$$E. Coli < Bacillus \leftrightarrow 1.28 > 0.67$$

Conclusion générale

Conclusion

Dans notre travail, les études photochimiques menées sur deux Genres des Céréale; deux variétés du blé tendre (*Triticum aestivum*) et deux variétés d'orge (*Hordeum vulgare*).

L'analyse quantitative est quantifiée du dosage le Folin-ciocolteu. Les résultats obtenues nous a montré la richesse de blé en composés phénoliques, il existe une variabilité entre les deux traitements SDH et ADH.

Concernant les teneurs des polyphenols, notre résultats montrent que dans les variétés de l'orge sont riches en polyphénols (3.94 mg/g eq AG) mieux que blé tendre (2,9 mg/g eq AG) .

Cependant, nous avons remarqué une grande teneur de polyphénols dans MP et Jaidore et remarqué une faible teneur dans Saida et FA.

Dans ce travail, nous avons isolé quelques métabolites secondaires majoritaires de cette plante. La méthodologie de purification a été essentiellement fondée sur la combinaison de différentes méthodes chromatographiques. Nous avons pu obtenir 4 produits purs par la chromatographie préparatrices qui ont été analysés par les méthodes spectroscopiques IR et UV/Vis.

L'analyse spectrale en milieu méthanolique neutre dévoile la présence de polyphénols et essentiellement les flavonoïdes de type flavonols chez toutes les variétés de deux espèces des céréales à deux traitement SDH et ADH.

Les tests effectués sur les bactéries ont donné des résultats positifs dont l'extrait Acétate diéthyle Ether éthylique, a montré le plus d'efficacité sur la souche *Bacillu* et *e.coli*, aucune activité antifongique.

Référence bibliographique

Référence bibliographique

Akroum S., 2011. Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de doctorat. Univ. Mentouri Constantine. Faculté des sciences de la nature et de vie. Dept. De biologie animale ;P 32-40.

Akroum S., 2006. Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba L.* Thèse de magister. Univ. Mentouri Constantine. Faculté des sciences de la nature et de vie. Dept. De biologie animale ; P 55-56.

Benbelkacem A. et Kellou K., 2000. Évaluation du progrès génétique chez quelques variétés de blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) cultivées en Algérie. In Royo C., Nachit M.M., Di Fonzo N. et Araus J.L. (eds.). Durum wheat improvement in the Mediterranean region

Bouhadjerak ., 2005. Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana R.Br.* et *Aristida pungens L.* Thèse de Doctorat d'Etat. Univ. Abou Bekr Belkaid. Discipline : Chimie Organique Appliquée.

Bousmid A ., 2011. Etude des polyphénols chez le blé et l'orge : évolution au cours des stades phénologiques. Thèse de Master UMC.

Croston R. P. et Williams J.T. 1981. A world survey of wheat genetic resources. IBRGR. Bulletin

Courrier S ., 2011. Etude des caractères d'adaptation au déficit hydrique de quelques variétés de blé dur et « espèces sauvage apparentées : inert potentiel de ces variétés pour l'amélioration de la production.

Dicko Mamoudou H., Gruppen H., Traoré Alfred S., Voragen Alphons G. J. and Van Berkel Willem J. H., 2006. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnology and Molecular Biology Review* vol. 1, pp 21-38.

Donmez, E., R.G. Sears, J.P. Shroyer et G.M. Paulsen. 2000. Evaluation of Winter Durum Wheat for Kansas. Kansas State University Agricultural Experiment Station, and Cooperative Extension Service. Publication, 1:172-180. Mediterranean region: New Challenges Zaragoza: CIHEAM –IAMZ,.

Farrant Jill M., Lehner A., Cooper K. and Wiswedel S., 2009. Desiccation tolerance in the vegetative tissues of the fern *Mohria caffrorum* is seasonally regulated. *The Plant Journal*, vol. 57, pp 65–79.

Référence bibliographique

Feillet P., 2000. Le grain de blé, composition et utilisation .Ed. INRA, Paris ; P308.

François N., N 2010. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydants et étude de leur propriétés biologiques. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur de l'université Paul Verlaine-Metz., P 103.

Feliachi, K. 2002. PNDA, Intensification et développement des filières, cas de la céréaliculture. Acte des 31èmes Journées Scientifiques sur le Blé, 12 et 13 février 2002, Université Mentouri, Constantine. 21-27.

Gabor ., 1988. Dans : Isolement et caractérisation des molécules polyphénoliques chez quelques variétés de céréales (Blé dur, Blé tendre). Mellak, R ; Lahiouel, H. 2010 Mémoire de D.E.S. Faculté des sciences de la nature et de vie. Dept. Biochimie et microbiologie/ Univ. Mentouri Constantine.

Gate P., Ecophysiologie de blé, de la plante à la culture. I.T.C.F, TEC, et DOC Lavoisier, IN : Etude de la contribution des paramètres morphologiques dans l'adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf) dans l'étage bioclimatique semi-aride.

Giban M., Minier B., Malvosi R., 2003 Stade du blé ITCF. ARVALIS. Institut du végétal.

Gerhard Richter Métabolisme des végétaux P317-318.

Janina B., 1973. Polyphénols des Feuilles de cotonniers et influence sur leur composition d'un choc hydrique ou nutritionnel.

John Wiley and son, INC., 2003 Physiologie végétale <<HOPKINS>> P451 - 453.

Hadria R., 2006. Adaptation et spatialisation des modèles stochastiques pour la gestion d'un paramètre céréalier irriguée en milieu semi-aride. Thèse de doctorat. Uni Cadi AYYAD Samlaila_ Marrakech.

Haddad, L. 2010. Contribution à l'étude de la stabilité des rendements du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous climat méditerranéen. Mémoire de Magister, Département Agronomie, FSNV, UFA, Sétif. 70 pages.

Haddad L., 2010. Contribution à l'étude de la stabilité des rendements du blé dur (*Triticum durum* Desf) sous climat méditerranéen.

Référence bibliographique

HARAR ABD EL NACER., 2012 Activité antioxydant et antimicrobienne d'extrait de rhammusalaternus L. Diplôme de Magister département de biochimie et physiologie expérimentales.

Harlan J.R., 1975. Our vanishing genetics resources. *Science*, 188

Janina B ., 1973. Polyphénols des Feuille de cotonniers et influence sur leur composition d'un choc hydrique ou nutritionnel.

John Wiley and son, INC ., 2003 Physiologie végétal<<HOPK INS>> P451 - 453.

Kondakova V., Tsvetkov I., Batchvarova R., Badjakov I., Dzhambazova T. and Slavov S., 2009. Phenol compounds - qualitative index in small fruits. *Biotechnol. & Biotechnol.*, pp 1444-1448.

Lahouel M ., 2005. Interaction flavonoïdes – mitochondrie et rôle de la propolis dans prévention de l'apoptose induite par certains médicament anticancéreux. Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine.

Lattanzio V., Lattanzio Veronica M. T. and Cardinali A., 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Editor: Filippo Imperato. Phytochemistry: Advances in Research*, pp 23-67.

Lemand R., 2005. Activité antioxydant et antibactérienne des polyphénols extrait de plante medicinales de la pharmacopée traditionnelle. Mémoire de magister. Département de biotechnologie. Université de Toulouse.

Levitt J., 1980. Water stress in "responses of plant environmental stress, water, radiation, salt and other stresses. New York, Academic Press.

Luthar 1992. Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seeds (*Fagopyrum esculentum Moench*). *Fagopyrum*, vol. 12, pp 36 – 42.

Luthra Y. D., Joshi U. M., Gandhi S. K. and Arora S. K., 1988. Biochemical alterations in downy mildew infected lucerne leaves. *Indian Phytopathology*, vol. 41, pp 100.

Macheix J J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechniques et universitaires romandes.

Mackey J., 1968. Species relations in *Triticum*. Proc. 2nd International Wheat Genetic Symposium, Hereditas,

Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C. and Jiménez L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, vol.79, pp727-47.

Marston A., Hostettmann K., 2006. Separation and quantification of flavonoids. In OY vindMA, Markham KR. Chemistry, biochemistry and application. Ed. CRC Press Taylor and Francis group., P2-20.

Merghem R., 2009. Element de biochimie Vegetal P107-119

Moellef A., 2010, caractères physiologique et biochimique de tolérance du blé dur (*Triticum durum*) Dset au stress hydrique. P9-12.

Mohammadi V., Bihamta M.R. and Zali A.A., 2007. Evaluation of Screening Techniques for Heat Tolerance in Wheat. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, vol. 10, pp 887-892.

Moore John P., Vicié-Gibouin M., Farrant Jill M. and Driouich A., 2008. Adaptations of higher plant cellwalls to water loss: drought vs desiccation. *Physiologia Plantarum*, vol. 134, pp 237-245.

Mursu J., 2007. The Role of Polyphenols in Cardiovascular Diseases. *Kuopio University Publications D. Medical Sciences*, vol. 409, 88 p.

Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*.

Simmond F., 1974. Selection for local adaptation in a plant breeding program App. Gen. 8.

Soltner D., 2005 les grandes productions végétal 20ème. Ed. CCTA.

Taşgım E., Atici O. and Nalbantoğlu B., 2003. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Regulation*, vol. 41, pp 231-236.

Référence bibliographique

Turner N.C., 1978. Osmotic adjustment of sorghum and sunflower crops in response to deficits and its influence on the water potential at which stomatal closure. *Aust. J. plant Physiologic Wheat*, 5: 597-608.

Urquiaga I. N. E. S. and Leighton F. E. D. E. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res.* 2000

Yaou A., 2001. Contribution à l'étude des composés flavoniques d'une labiée ; *Teucrium pollium*. Thèse de magistère. P 102.

Yves H ; De Buyser J ., 2000, L'origine des blés pour la science Horg-Serie n°26 p 62.

Zegad N., 2009 Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne.