

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
DEPARTEMENT Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière
Filière : Chimie
Option : Chimie organique appliquée

Présenté Par :

M^{elle} MERIZGUI Wissam

M^{elle} MEDJELLED Souheila Manal

THEME

Effet des Extraits des sons du Blé dur et de L'Orge Sur l' α -amylase

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

| | | |
|-------------------------------------|-------------------------|---------------|
| M ^r . YOUSFI Mohamed | Professeur | Président |
| M ^{me} . HADBAOU Zineb | Maitre de conférences B | Examinatrice |
| M ^{me} . HAMDI Aicha | Maitre Assistantes A | Examinatrice |
| M ^r . BENALIA Mohamed | Maitre de conférences B | Rapporteur |
| M ^{elle} . MAHFOUDI Reguia | Maitre de conférences B | Co-rapporteur |

Année Universitaire : 2018- 2019

Dédicaces

Je dédie ce travail à ceux qui me sont les plus chers au monde

A la lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie, à ma mère pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien dans les moments les plus difficiles de ma vie. Maman sans vous je n'aurais jamais pu atteindre mes objectifs.

A mon adorable père, qui m'avez toujours donné la confiance lorsque la motivation n'était plus au rendez-vous. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHER PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.

A mon très cher frère : Ali, Tarek et sa femme Salima

A mes très chère sœurs : Fatima, Nadjoua et leurs époux smail, Abdelkader

A mes adorables nièces et neveux : Assil, , Amira ; Abed Nour

A mes très chères amies : Khadija H, Liley R, khaled A, Omar H, Hamza B, et mon binôme Souhaila M.

En témoignage de l'amitié sincère qui nous a liés et des bons moments passé ensemble je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux

A toutes ma famille pour l'amour et le respect qu'ils m'ont toujours accordé

A tous nos collègues de la promotion **A** tous nos professeurs de l'enseignement qui nous ont enseigné **A** tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, et qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Wissam



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A MES CHER PARENTS

A la souveraine de mon coeur ma Chère Mère : Qui a été toujours à mes côtés pour m'aider et m'encourager, et qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation à la source de l'amour et de la tendresse : Mama, mon soleil, ma vie, le seul véritable amour.

A Mon cher Père : Je vous remercie pour l'éducation que vous m'avez prodigué, avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices que vous avez consenti à mon égard. Merci papa.

A mes très chers frères et soeurs :Taher , Faissal, Rania qui je le sais ma réussite est très importante pour vous. Que Dieu vous protège.

A tous très chers mes amies ; Khadija H, Lileya R, khaled A, Omar H ; Hamza B, et mon binôme Wissam M.

A tous les membres de ma grande famille.

A tous nos collègues de la promotion **A** tous nos professeurs de l'enseignement qui nous ont enseigné **A** tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, et qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

souheila.Manal



Remerciements

Tout d'abord nous adressons nos remerciements les plus sincères au « Bon Dieu » le plus puissant de nous avoir guidé vers le chemin du savoir et de nous avoir donné le courage, la patience et la santé qui nous ont été utiles tout au long de notre parcours.

Toute œuvre qui résulte d'un effort humain est explicitement ou implicitement toujours le fruit d'une vaste collaboration. Ainsi, que tous ceux qui ont pris une part active dans la réalisation de ce mémoire puissent trouver dans ces lignes l'expression de notre profonde gratitude. En nous exprimant de la sorte

Notre mémoire a été réalisé au sein du laboratoire des sciences fondamentales à l'université Amar Telidji de Laghouat sous l'attention du **Pr. YOUSFI Mohamed**, que nous tenons à le remercier pour la disponibilité, les conseils et notamment le respect durant les années d'université.

Malgré les apparences, cette page est la plus difficile à écrire. En fait, comment dire en quelques mots toute notre gratitude aux personnes qui nous ont toujours encouragés. Cependant, ces quelques lignes sont une occasion pour nous de remercier les dirigeants et les personnes qui nous ont fourni leur soutien de différentes manières.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre encadreur **Dr BENALIA Mohamed** pour avoir encadré et dirigé ce travail, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous accordé pour réaliser ce travail.

Nous exprimons notre gratitude à ma Co-promotrice, **M^{lle} Mahfoudi Reguia**, pour son aide et tous les efforts qu'elle a déployés lors de la préparation de ce travail. C'est l'occasion pour nous d'exprimer notre profonde gratitude: vous avez toujours maintenu le meilleur accueil possible malgré vos engagements professionnels. Votre encouragement constant, votre gentillesse et votre gentillesse méritent toute l'admiration. Vous trouverez ici une expression de notre respect et de notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

Il nous est particulièrement agréable d'exprimer notre gratitude et reconnaissance à

Pr. DJERIDANE Amar pour vos précieux conseils et remarque.

Nos remerciements vont également aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner ce travail

Nous voudrions également remercier tous les membres du laboratoire des sciences fondamentales, qui nous ont soutenus dans la réalisation de ce travail.

A tous les enseignants du Département de Sciences de La matière, sans oublier tout le personnel de la bibliothèque de la Faculté des Sciences Technologie et Science de la Matière Université Amar Telidji de Laghouat En fin, nous remercions toutes les autres personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des sigles et abréviations

| | | |
|----------------------|---|---|
| A₀ | : | Absorbance en absence de l'inhibiteur |
| A₁ | : | Absorbance en présence de l'inhibiteur |
| AEIC | : | Capacité d'inhibition équivalente en acarbose (Acarbose Equivalent d'Inhibition Capacité) |
| EAG | : | Equivalent en acide gallique |
| EC | : | Enzyme Commission |
| ECAT | : | Equivalent en catéchine |
| EQ | : | Equivalent en quercétine |
| KDa | : | Kilo Dalton |
| MeOH | : | Méthanol |
| MS | : | matière sèche |
| PI | : | Pourcentage d'inhibition |
| UV | : | Ultraviolet – visible |

Liste des figures

| | | | |
|------------------|---|---|-----------|
| Figure. 1 | : | Photographie de Blé ; (1) Blé mûr (Blé dur) (Boukadir, Chlef, 2018) et (2) Blé non mûr (Frik) (zeribet Eloued, 2018). | 7 |
| Figure. 2 | : | Photographie de l'Orge ; (1) Orge mûr (EL-hadjeb 2018) et (2) Orge non mûr (Mermez) (Sidi Makhlauf, 2018). | 8 |
| Figure. 3 | : | Complexe entre amylase pancréatique porcine (en blanc), molécules d'eau (en bleu ; seul l'atome d'oxygène est repéré) et trois fragments d'amidon (coloration par type d'atome). Un sillon dans lequel est présent l'un des fragments d'amidon est repérable. | 9 |
| Figure. 4 | : | Schéma récapitulatif de préparation des échantillons. | 10 |
| Figure. 5 | : | Les extraits préparés. | 11 |
| Figure. 6 | : | Les courbes d'étalonnage réalisées avec : (1) L'acide gallique et (2) La quercétine, (3) catéchine. | 17 |
| Figure7 | : | Courbe d'inhibition de l' α -amylase de l'acarbose. | 22 |

Liste des tableaux

| | | |
|-------------------|---|----|
| Tableau. 1 | : Produit chimique et réactifs utilisés dans ce travail. | 8 |
| Tableau. 3 | : Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes et en tanins des extraits. | 18 |
| Tableau. 4 | : les valeurs de AEIC des extraits des quatre céréales étudiée vis-à vis de l' α -amylase. | 23 |

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

| | |
|---|-----------|
| I. Introduction générale | 01 |
| II. Matériel et méthodes | 06 |
| II.1. Matériel | 07 |
| II.1. Matériel végétal et réactifs chimiques | 07 |
| II.1.1. Matériel végétal | 08 |
| II.1.2 Standard et réactifs chimiques | 09 |
| II.1.3. Enzyme α -amylase pancréatique de porc | 10 |
| II.2. Méthodes | 10 |
| II.2.1. Prétraitement des échantillons | 12 |
| II.2.2. Extraction de la matière végétale | 12 |
| II.2.3 Quantification des composés phénoliques | 13 |
| II.2.3.1. Dosage des phénols totaux | 13 |
| II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes | 14 |
| II.2.3.3. Dosage des tannins | 14 |
| II.2.4. Evaluation de l'activité antidiabétique <i>in vitro</i> | 15 |
| III. Résultats et discussion | 16 |
| III.1. Dosages et quantification des phénols totaux et des flavonoïdes et Tanins | 16 |
| III.2. Evaluation de l'activité antidiabétique | 21 |
| IV. Conclusion générale | 26 |
| V. Références | 29 |

Introduction

générale

I. Introduction générale

Les céréales sont un groupe de plantes cultivées appartenant, à la famille des poacées dont les graines présentent par leur abondance et leur composition un pouvoir nutritionnel important et un intérêt majeur pour l'alimentation de l'homme et des animaux. Les graines alimentaires appartiennent à une dizaine d'espèces végétales. Les plus employées sont : le blé, le maïs et l'orge (REED, 1992).

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins. La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole en Algérie (EL-Haramein et Grando, 2010).

Les céréales, socle historique de la diète méditerranéenne, occupent encore aujourd'hui une place prépondérante à la fois dans la production agricole et agroalimentaire de l'Algérie et dans la consommation alimentaire des ménages. La consommation de céréales en Algérie représente 25% des dépenses alimentaires et 230 kg/an d'équivalent-grains, avec une prépondérance de la semoule de blé dur. Les céréales constituent la base de l'alimentation humaine en tant que sources protéiques et énergétiques. Le taux de couverture en blés par les importations s'établit à 74% sur la période 2005-2009, pour des besoins nationaux de 7,6 millions de tonne. Le déficit concerne beaucoup plus le blé tendre que le blé dur. Pour l'orge, les besoins en importation sont beaucoup plus faibles, de l'ordre de 15%. Par contre, la quasitotalité des disponibilités intérieures en maïs provient de l'importation (Rastoin et Benabderrazik, 2014).

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est, à côté du blé, du maïs et du riz, l'une des céréales les plus importantes dans le monde, étant classé au quatrième rang des céréales pour la production des grains avec 38% maïs, 29% blé, 20% riz et 6% d'orge (USDA, 2010/2011). L'orge est un aliment important dans plusieurs régions du monde telles que l'Afrique du Nord, le proche Orient, l'Asie, etc. La consommation moyenne et annuelle par personne dans ces régions varie entre 2 à 36 kg (EL-Haramein et Grando, 2010). Il joue également un rôle primordial non seulement en alimentation humaine au Maghreb et dans les montagnes d'Ethiopie, l'Eretria et le Pérou (Grando et al., 2005) mais également comme aliment de bétail en période hivernale lorsque le déficit fourrager est grand et le prix du fourrage est élevé.

Qu'ils soient consommés en farine, en bouillie ou en grain, les céréaliers présentent de nombreux bienfaits pour notre organisme. Les céréaliers sont très riches en fibres, et notamment Blé et l'orge. Ils contiennent deux types de fibres: solubles et insolubles. Les

fibres solubles ne sont pas assimilées par le corps humain. Elles contribuent toutefois à ralentir la vitesse à laquelle le sucre est absorbé par le sang, un aspect bénéfique pour les personnes souffrant de diabète. De plus, ces fibres procurent une sensation de satiété plus durable.

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisé les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner des maladies (Sango, 2006), les végétaux synthétisant des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides, lipides et acide nucléiques), ils accumulent fréquemment une vaste gamme de composés organiques dits métabolites secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi divers que la pharmacologie, l'agroalimentaire et la cosmétique (Macheix *et al.*, 2005 ; Roteau *et al.*, 2000).

En raison de leur diversité moléculaire (environ 12000) molécules et de leurs propriétés biologiques importantes telles que l'activité antioxydante, l'activité anti-inflammatoire, l'activité antimicrobienne et l'activité anti-diabétique, ces métabolites constituent une source inépuisable d'agents thérapeutiques pour lutter contre diverses pathologies (Samy et Gopalakrishnakone, 2008). Parmi lesquels on note le diabète sucré qui est l'une des principales causes de décès dans la plupart des pays développés, en développement ou récemment industrialisés. (Ma *et al.*, 1997).

Le diabète sucré est la maladie non infectieuse la plus fréquente. Il a été estimé que 347 millions de personnes ont été touchées globalement en 2011 et il sera doublé jusqu'en 2030. Le diabète sucré, est un trouble métabolique caractérisé par la présence d'une hyperglycémie attribuable à un défaut de la sécrétion d'insuline ou à l'action de l'insuline, ou des deux. L'hyperglycémie chronique liée au diabète est associée à des complications micro-vasculaires à long terme assez spécifiques touchant les yeux, les reins et les nerfs, ainsi qu'à un risque accru de maladie cardiovasculaire. Il est diagnostiqué par des symptômes tels que la chaleur interne du corps qui se traduit par l'émission d'un volume élevé d'urine, la faiblesse du corps, perte de poids...etc. (Goldenberg et Punthakee, 2013).

Le comité international d'experts a présenté une nouvelle classification d'origine des diabètes sucrés, cette classification est actualisée en fonction des données scientifiques récentes. On distingue deux types majoritaires : le diabète de type 1 consécutif d'une sécrétion insuffisante d'insuline (diabète insulino-dépendant, ou type 1) et le diabète de type 2 résultant d'une

carence ou mauvaise utilisation de l'insuline (diabète non insulino-dépendant, ou type 2). De plus, il existe d'autres types minoritaires (le diabète gestationnel) et autres types spécifiques (anomalie génétique de la fonction des cellules β -pancréatiques, anomalie génétique de l'action de l'insuline, maladie du pancréas exocrine, diabète au cours des endocrinopathies, diabètes induits par des médicaments) (Goldenberg et Punthakee, 2013).

Toutefois, le diabète sucré est une maladie grave, qui frappe à tout âge, partout dans le monde. En 1985, on estimait qu'un diagnostic de diabète avait été posé chez environ 30 millions de personnes dans le monde ; en 2000, ce nombre était passé à plus de 150 millions. En 2012, la fédération internationale du diabète (FID) a estimé que 371 millions de personnes étaient atteintes de diabète et on prévoit atteindre les 552 millions (soit un adulte sur 10) d'ici 2030, ce qui correspond à l'apparition de trois nouveaux cas par seconde (Alice, 2013).

L'Algérie n'est pas épargnée par cette épidémie qui interpelle le corps de la santé pour un redéploiement des moyens tournés vers ces pathologies chroniques non transmissibles. En effet, en Algérie, les études concernant ce fléau social sont encore peu nombreuses bien qu'elle est classée parmi les pays d'Afrique du nord les plus touchés par cette pathologie. Cependant, la maladie continue d'augmenter d'une manière particulièrement accélérée, en particulier dans certaines régions défavorisées du pays. Le nombre des diabétiques est passé d'un million de personnes en 1993, à plus de 2,5 en 2007 soit une prévalence de 7,3 % et à plus de 3 millions de personnes en 2011 soit 7,4 % de la population algérienne avec une prévision qui atteindra 8,9 % en 2025 et plus de 9,3 % en 2030 (Ouhada, 2012). Devant cette situation on note une absence de laboratoires pharmaceutiques et d'associations de malades atteints du diabète pour le dépistage de cette "catastrophe sanitaire", sachant que 10 % de la population algérienne ne sait pas qu'elle est diabétique.

Le traitement actuel du diabète sucré vise à soigner et non à guérir la maladie ce qui représente un échec des traitements pharmaceutiques conventionnels, surtout dans le cas des maladies chroniques. De ce fait, et malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement d'une multitude d'affections et de maladies dans les différentes sociétés et cultures, y compris dans les pays développés (De Smet et al., 2002 ; Eisenberg et al., 1993). Dans 81% des cas, les indications traditionnelles de plantes antidiabétiques ont été expérimentalement confirmées (Marles et Farnsworth, 1995).

Les médicaments antidiabétiques actuellement disponibles, contrôlent les niveaux de glucose sanguin sous la gamme normale et ceci en complétant l'insuline, en améliorant la sensibilité d'insuline, en augmentant la sécrétion d'insuline par le pancréas et en diminuant l'absorption du glucose au niveau intestinale (**Prabhakar et Doble, 2011**). Ainsi, le but de tout traitement antidiabétique est d'atteindre un taux de sucre dans le sang ne dépassant pas 1,6 à 1,8 g/l, pour le diabète de type 1, le traitement est strictement par l'administration d'insuline. Tandis que le traitement essentiel du diabète de type 2 se résume à l'application stricte d'un régime alimentaire associé à l'exercice physique permettant principalement de retrouver un poids normal. S'ils ne sont pas suffisants pour rétablir l'équilibre glycémique, (**Cheng et Josse, 2004**). Les tentatives thérapeutiques sont très intenses dans ce domaine et diverses approches pharmacologiques sont utilisées pour améliorer le traitement du diabète par différents modes d'action. Parmi ces stratégies est de réduire ou ralentir la digestion et l'absorption des glucides alimentaires par l'intermédiaire de l'inhibition des principales enzymes hydrolysant les glucides ingérés l' α -amylase et l' α -glucosidase dans les organes digestifs (**Alice, 2013 ; Khecheba, 2014**). Cependant, il existe de nombreuses enzymes digestives chez l'homme dont la plus importante est l'alpha-amylase pancréatique (EC 3.2.1.1), qui hydrolyse les liaisons alpha-1,4 glycosidiques de l'amidon, l'amylopectine, l'amylose, le glycogène et de nombreuses malt dextrines (**Eichler et al., 1984**).

Dans ce cadre et pour enrichir les banque de données des plantes antidiabétique le présent travail est consacré de quatre céréales spontanées, qui consiste à leurs extraits phénolique, le choix de ces plante est basé sur les céréales ne sont pas connue dans le traitement du diabète.

L'objectif est d'évaluer l'activité inhibitrice des extraits de ces plantes sur une d'hydrolase responsable du processus digestif des hydrates de carbone à s'avoir l' α -amylase dont l'inhibition, prolongent l'hydrolyse hydrates de carbone, réduisant ainsi le taux d'absorption du glucose afin d'éviter la monté de son taux plasmatique, ce qui présentera une éventuelle source d'antidiabétique natureles.

A travers cette étude, nous allons mettre en place une stratégie de recherche en commençant par la première partie qui s'intéresse à l'extraction de deux céréales et quatre à savoir : blé maturé (**Blé dur**), Blé non maturé (**Frik**), **Orge maturé** et Orge non maturé (**Mermez**), dans la deuxième partie, qui s'intéresse à le dosage des différents métabolites extraits (composés phénoliques et flavonoïdes et tanins). Tandis que, dans la troisième partie nous étudions l'effet inhibiteur de chaque extrait obtenu sur l' α -amylase.

Matériel et Méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal et réactifs chimiques

II.1.1. Matériel végétal

Le présent travail est consacré à l'étude de deux céréales largement utilisées dans l'alimentation humaine, ce sont le blé dur et l'orge. Notre étude a été réalisée sur deux céréales aléatoires du Sahara. Toutes classifications botaniques des plantes étudiées ont été obtenues selon Doumandji *et al.* 2003.

| | |
|-----------------------|------------------------------|
| Règne : | Règne végétale |
| Division : | Magnoliophyta (Angiospermes) |
| Classe : | Liliopsida (Monocotylédons) |
| Sous-classe : | Commelinidae |
| Ordre : | Poale |
| Famille : | Poaceae (ex Graminées) |
| Sous-famille : | Triticeae |
| Genre : | Triticum |
| Espèce : | Triticum aestivum |



Figure. 1 : Photographie de Blé ; (1) Blé mûr (Blé dur) (Boukadir, Chlef, 2018) et (2) Blé non mûr (Frik)(zeribet eloued, 2018).

| | |
|-----------------------|---------------------------------|
| Règne : | Plante |
| Sous règne : | plante vasculaires |
| Division : | Plantes à grain |
| Classe : | plante à fleur |
| Sous-classe : | monocotylédones |
| Ordre : | Cyperales |
| Famille : | Poaceae |
| Sous-famille : | Triticeae |
| Genre : | Triticum |
| Espèce : | Triticum aestivum Hordemnvalgar |



Figure. 2 : Photographie de l'Orge ; (1) l'orge mûr (EL-hadjeb, 2018) et (2) l'Orge non mûr (Mermez)(Sidi Makhloof, 2018).

II.1.2 Standard et réactifs chimiques

Les produits chimiques utilisés dans ce travail, sont d'un grade analytique élevé de marque Sigma et Aldrich sont résumées dans le tableau 1.

Tableau.1 : Produits chimiques et réactifs utilisés dans ce travail.

| Produit | Firme |
|---|-------------------------------|
| Amidon soluble, Carbonate de sodium (Na_2CO_3), Glycine ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$) | Riedel-deHaën (Allemagne) |
| Néocuproïne (2,9-diméthyl-1,10-phenanthroline), acarbose ($\text{C}_{25}\text{H}_{43}\text{NO}_{18}$), méthanol, sulfate de cuivre penta hydraté ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), dihydrogénophosphate de potassium ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), hydrogénophosphate de potassium dihydraté ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), la vanilline ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$) Acide gallique ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$), la catéchine ($\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$), la quercétine hydrate ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$), réactif Folin-Ciocalteu, chlorure d'aluminium, l' α -amylase de pancréas de porc (EC 3.2.1.1) type VI-B | Sigma- Aldrich (Allemagne) |
| Chlorure de sodium (NaCl) | VWR-PROLABO (France) |

II.1.3. L'enzyme α -amylase pancréatique de porc

L'amylase est formée de deux domaines principaux : un domaine catalytique et un domaine dit de liaison aux glucides (CBM pour "Carbohydrates Binding Module") dont le rôle est encore discuté (Figure 3). L' α -amylase pancréatique de porc (Sigma-Aldrich) utilisée dans notre travail est caractérisée par un poids moléculaire de 51–54 kDa et une activité enzymatique spécifique de 10 units/mg solide.

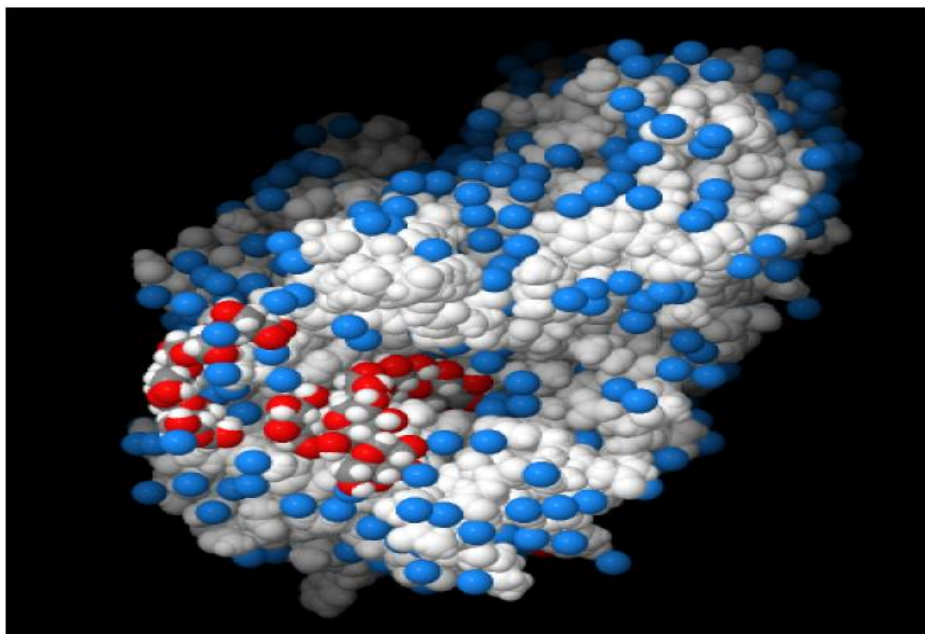


Figure. 3: Complexe entre amylase pancréatique porcine (en blanc), molécules d'eau (en bleu ; seul l'atome d'oxygène est repéré) et trois fragments d'amidon (coloration par type d'atome). Un sillon dans lequel est présent l'un des fragments d'amidon est repérable (Larson *et al.*, 2010).

II.2. Méthodes

II.2.1. Prétraitement des échantillons

Les quatre échantillons cités précédemment ont été nettoyés et séchés à l'air libre (à l'ombre). Après le séchage de chaque échantillon sec obtenu est réduite en poudre manuellement à l'aide d'un moulin à main, puis à l'aide d'un tamis le matériel végétal a été séparé en deux parties : farine et son. Dans cette étude, nous concentrée sur le son de chaque échantillon qui serviront à l'extraction.

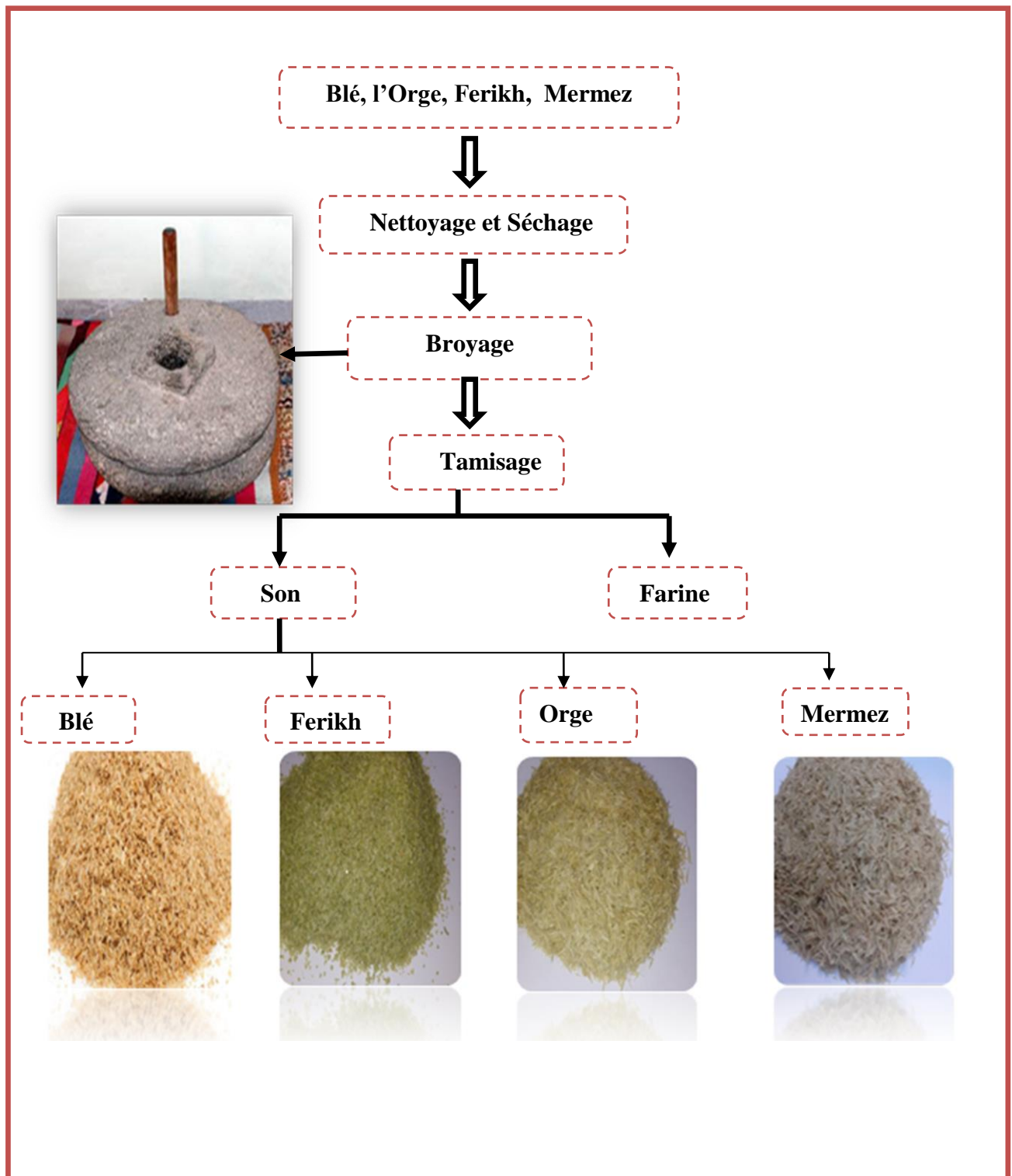


Figure.4 : Schéma récapitulatif de préparation des échantillons.

II.2.2. Extraction de la matière végétale

Afin d'éliminer des lipides et autres substances lipophiles qui peuvent perturber le processus extractif des échantillons, nous avons procédé à une délipidation de la matière végétale (son des céréales) où une masse d'environ 23 g a été extraite par Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

Dans le processus d'extraction, nous avons utilisé une méthode de macération assistée par ultrasons.

10 g de matière végétale délipidée des quatre échantillons étudiés, ont été solubilisé dans 100 ml d'un mélange hydro-alcoolique (méthanol/eau ; 80/20 : V/V) et hydro-cétonique (acétone/eau ; 70/30 : V/V) et l'eau distillé 100 ml pendant 1 heure à une température de 60°C. Les extraits ont été filtrés puis transférés dans des flacons hermétiquement fermés (Figure 2). Ce qui nous a donc permit d'obtenir 12 extraits bruts. Ils sont ensuite conservées au réfrigérateur jusqu'à l'eur analyse.

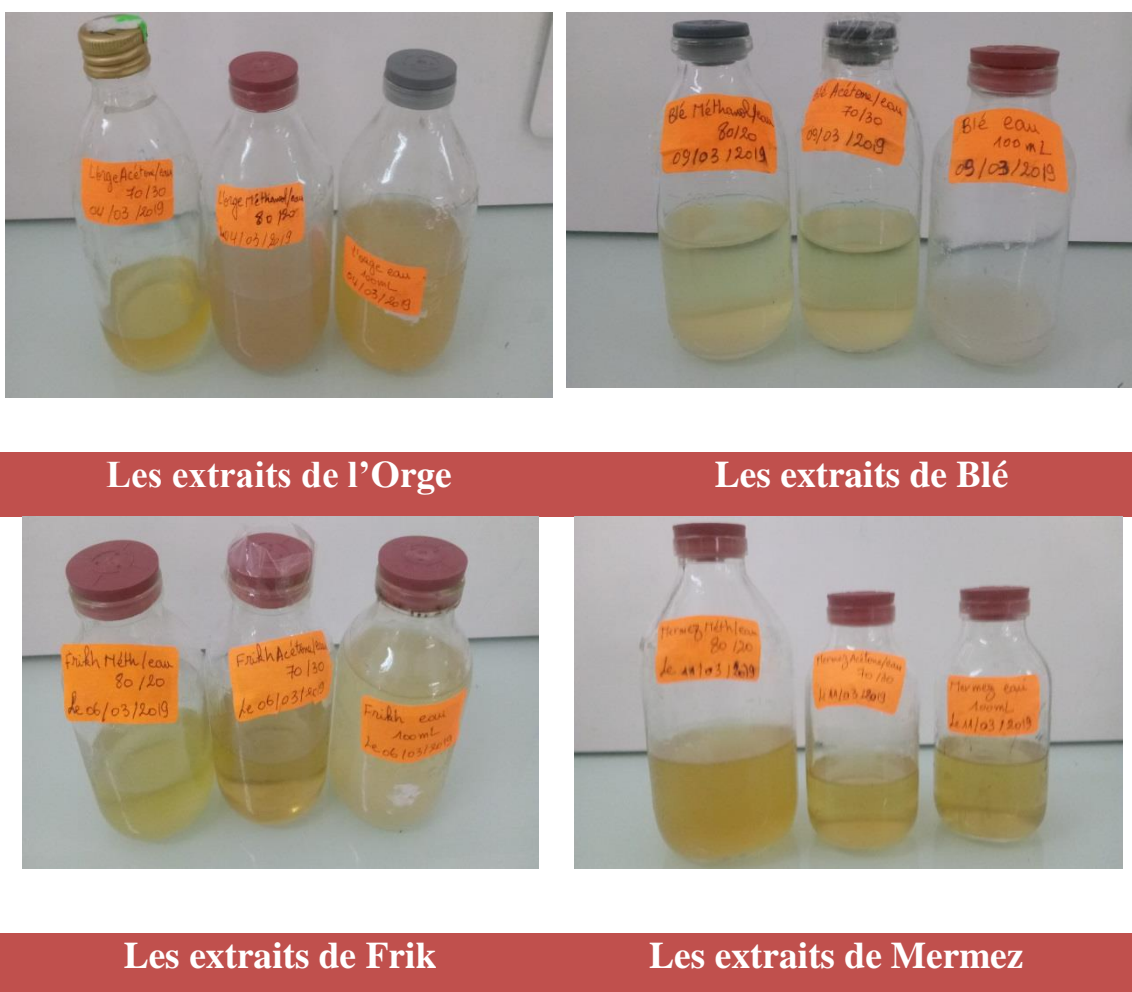


Figure .5 : Les extraits préparés.

II.2.3. Quantification des composés phénoliques

II.2.3.1. Dosage des phénols totaux

Le principe de ce dosage est adapté par Singleton et Ross en 1965 avec le réactif de Folin - Ciocalteu). En milieu basique, le réactif de Folin commerciales est un acide de couleur jaune(Giner-Chavez, 1996), qui constitue d'un mélange l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) et d'acide phosphotungestique ($H_3PW_{12}O_{40}$), est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de molybdène(Mo_8O_{23}) et de tungstène (W_8O_{23}) (Boizot et Charpentier 2006).

Pour quantifier les phénols totaux dans nos extraits une courbe d'étalonnage de l'acide gallique, a été réalisée. Pour la réalisation de la courbe d'étalonnage, différentes concentrations de l'acide gallique allant de 0,03 à 0,3 g/l ont été préparées. Par la suite, un volume de 500 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois par l'eau distillé) est mélangé avec 100 μ l de chaque solution préparée, après 2mn d'incubation, 2ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 (2%) sont ajouté. Les tubes sont ensuite agités et maintenus à l'obscurité pendant 30 mn à température ambiante.

L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm contre un blanc sur un spectrophotomètre UV-Visible de type UV/Vis (Shimadzu 1800). Les échantillons sont traité de la même manière que l'acide gallique.

II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement carbonyle CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) capte deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau-Gayon et al., 1972). La teneur en flavonoïdes des extraits obtenus est déterminée par la méthode de La maison et Carnet (1990). Le dosage des flavonoïdes nécessite aussi l'établissement d'une courbe d'étalonnage d'un flavonoïde standard (la quercitrine choisie comme étalon).

Pour la préparation de la gamme d'étalon, une série de dilution allant de 0,002 à 0,02 g/l de la quercitrine (préparée dans le méthanol). Par la suite, dans un tube à essai on met un volume de 1ml de la quercétine et 1ml de la solution de chlorure d'aluminium (2%). On laisse incubé

pendant 20 min à température ambiante. La lecture est effectuée à 430 nm par un spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800), et les valeurs des absorbances trouvées pour chaque solution sont utilisées pour tracer la courbe d'étalonnage. Les échantillons sont traités de la même manière que la quercétine. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine par 100 matières sèches.

II.2.3.3. Dosage des tanins :

Les tanins totaux sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (**Price et al., 1978**). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins en présence d'acide pour produire un complexe coloré qui absorbe à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère.

D'abord on prépare le réactif de vanilline (8 % d'HCl à 37% et 1 % de vanilline préparés dans le méthanol) sont maintenus à 30°C avant le dosage. Ensuite 500 µl d'extrait sont ajoutés à 2,5 ml du réactif de vanilline, et maintenus à 37°C pendant 20 min. l'absorbance est mesurée à 500 nm par spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800). La catéchine est utilisée comme standard.

II.2.4. Evaluation de l'activité antidiabétique *in vitro*

Dans la présente étude on s'intéresse à l'évaluation des capacités de quatre échantillons (**Blé, Orge, Frik et Mermez**) à inhiber l' α -amylase de pancréas de porc (EC 3.2.1.1) en adoptant la méthode de Dygert et *al.*, (1965).

L'activité enzymatique de cette enzyme est dosée sur l'amidon comme substrat. Elle catalyse l'hydrolyse de ce substrat qui libère le maltose et d'autres produits. Le maltose libéré est dosé spectrophotométriquement grâce à son pouvoir réducteur. Il réagit avec une solution basique de la glycine-cuivrique, en développant une coloration jaune-orangé en présence de la néocuproïne. Cette coloration est mesurable à 455 nm et son intensité est proportionnelle à la quantité du produit libéré.

Dans des tubes à essai, on a introduit 100 µl d'amidon, 100 µl extraits et 200 µl du tampon phosphate salé. Après 10 minutes d'incubation à 37°C, 100µl de la solution enzymatique (10 UI/ml) est ajoutée. La réaction est stoppée après 2 minutes en ajoutant 1ml de la solution cuivrique A [(la glycine (0,21 M), Na₂CO₃ (0,38 M), le CuSO₄ (1,8 mM)] et 1ml de la solution B [(Néocuproïne (4,9 mM)]. Ensuite, le mélange est porté à l'ébullition à 100°C pendant 10 min. Après l'ajout de 3 ml d'eau distillée, la lecture de la densité optique à 455nm

a été effectuée immédiatement par un spectrophotomètre UV/Visible (Shimadzu 1800). Le pourcentage d'inhibition (PI) a été calculé selon la relation suivante :

$$PI \% = \frac{A_0 - A_1}{A_0} * 100$$

Avec :

A_0 : Absorbance en absence des extraits (control négatif).

A_1 : Absorbance en présence des extraits (control positif).

Résultats

et

Discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Dosage des phénols totaux, des flavonoïdes et tannins

Avant toute étude d'activité inhibitrice nous avons effectué un dosage des composés phénoliques sur les différents extraits préparés à partir de quatre échantillons.

Les céréales alimentaires sont une source importante en composés bioactives dont les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes...), qui peuvent être les majeurs contributeurs à l'activité antioxydante, et l'activité inhibitrice. Pour cette raison, le contenu phénolique des extraits de (Blé mûré (**Blé dur**), Blé non mûré (**Frik**), Orge mûré et l'Orge non mûré (**Mermez**), a été déterminé via le test de Folin-Ciocalteu. D'après Huang et *al.* (2005), le Folin-Ciocalteu est choisi pour doser les composés phénoliques pour les raisons suivantes :

- C'est une méthode qui satisfait les critères de faisabilité et de reproductibilité.
- La disponibilité du réactif de Folin-Ciocalteu.
- La méthode est bien standardisée.
- La grande longueur d'onde (760nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent colorée.

A partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 5(1)), nous avons calculé les teneurs des phénols totaux en milligramme en équivalent de l'acide gallique par 100 grammes de matière sèche (mg/100g EAG MS) dans les différents échantillons. Quant au dosage des flavonoïdes, la raison principale pour laquelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez-Caravaca et *al.*, 2006). De plus Daniel et *al.*, (2012) désigne que la teneur en polyphénols spécialement les flavonoïdes dans l'Orge est élevée ce qui ce qui approuve encore une fois la qualité nutritive de cette céréale. Ce dosage a été réalisé par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) en utilisant la quercétine comme étalon (Figure 5(2)). Cette courbe, nous permet de calculer les teneurs en flavonoïdes de quatre échantillons. Les résultats sont exprimés en milligramme de flavonoïdes en équivalent de la quercétine par 100g de matière sèche (mg/100g EQ). La Figure 5(3) représente la courbe d'étalonnage qui nous permis d'estimer les teneurs des tanins dans les échantillons. Les quantités des tanins sont exprimées en milligrammes équivalent de la catéchine par 100 grammes de matière sèche (mg/100g ECAT).

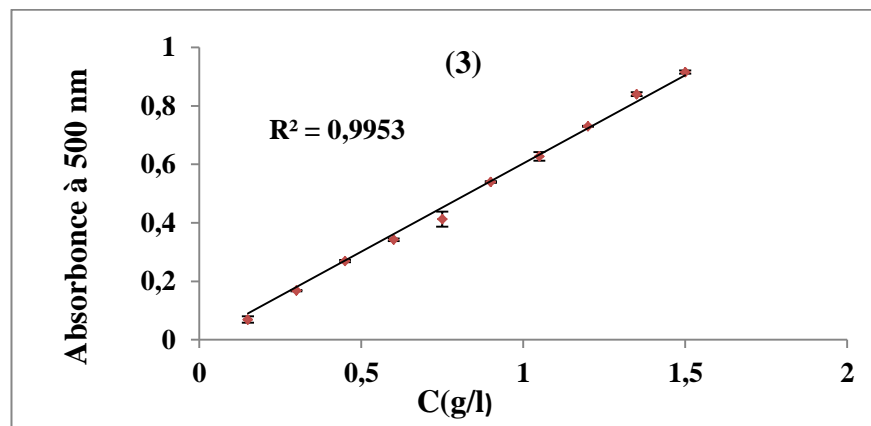
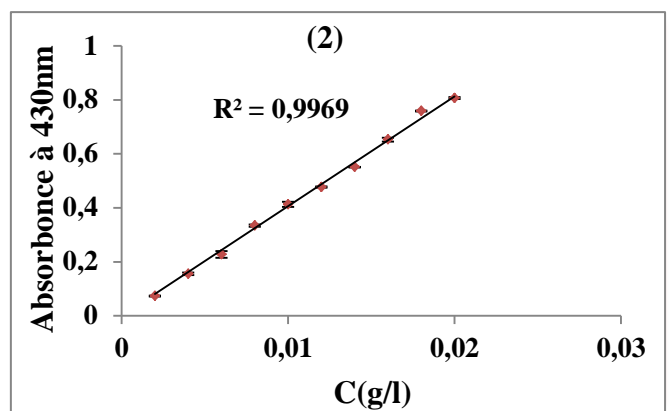
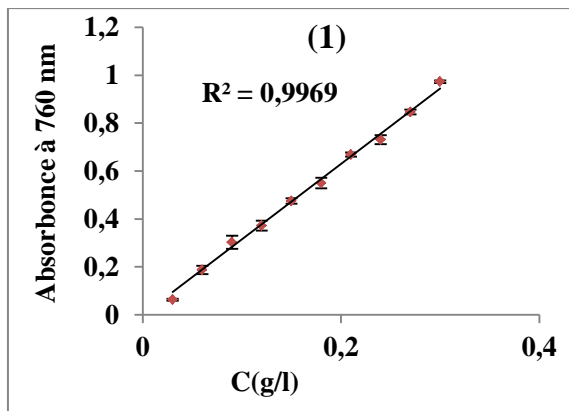


Figure. 6: Les courbes d'étalonnage réalisées avec : (1) L'acide gallique et (2) La quercétine, (3) La catéchine.

Le tableau 2, résume les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et les Tanins de chaque Echantillon

Tableau. 2: Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes et en tanins des extraits.

| | Echantillons | Teneur en phénols totaux (mg /100g) EAG | Teneur en Flavonoïdes (mg /100g) EQ | Teneur en tanins (mg /100g) E Cat |
|---------------------|--------------|---|-------------------------------------|-----------------------------------|
| L'eau | L'Orge | 1,70±0,03 | 0,93±0,13 | 1,70±0,01 |
| | Mermez | 1,44±0,03 | 0,16±0,07 | 1,34±0,04 |
| | Frik | 1,78±0,01 | 0,34±0,09 | 0,63±0,01 |
| | Blé | 1,46± 0,01 | 0,44±0,11 | 4,02±0,05 |
| Méthanol/eau | L'Orge | 1,80±0,01 | 1,97±0,07 | 1,35±0,02 |
| | Mermez | 2,79±0,02 | 0,47±0,27 | 1,11±0,01 |
| | Frik | 1,16±0,06 | 0,19±0,01 | 8,99±0,01 |
| | Blé | 1,74±0,05 | 0,03±0,03 | 1,77±0,01 |
| Acétone /eau | L'Orge | 1,56±0,02 | 0,76±0,02 | 0,44±0,05 |
| | Mermez | 1,06±0,04 | 0,72±0,03 | 13,01±0,03 |
| | Frik | 0,77±0,05 | 0,01±0,07 | 0,37±0,01 |
| | Blé | 0,76±0,02 | 0,40±0,01 | 0,20±0,01 |

D'après les résultats obtenus on constate que les teneurs en phénols totaux varient entre 0,76 ±0,02 et 2,79 ±0,02 mg EAG/100g MS. l'extrait hydro-méthanolique représente les teneurs les plus élevée en phénols totaux (2,79±0,02 mg EAG/100g MS pour le **Mermez** (1,80 ±0,01 mg EAG/100 g MS) pour **l'Orge**. Les plus faibles teneurs sont remarquées chez le système hydro-acétonique, (0,76±0,02 mg EAG/100 g pour le **Blé** et 0,77±0,05 mg EAG /100g pour le **Frik**).

Si on compare les teneurs en phénols totaux par solvants pour chaque échantillons, on constate que la teneur dans le système hydro-méthanolique l'extrait **Mermez** (2,79±0,02 mg EAG/100 g MS) et environ 1,6 fois plus supérieure que celle de l'échantillon de **L'Orge** (1,80±0,02 mg EAG/100 g MS), suivi par l'échantillon du **Blé** (1,74±0,05 mg EAG/100 g MS). La faible valeur a été retrouvé chez l'échantillon **Frik** (1,16±0,06 mg EAG/100 g MS). Par contre dans le système d'extraction hydr-oacétonique la teneur la plus élevée a été étaient enregistrée dans l'échantillon de **l'Orge** (1,56±0,02 mg EAG/100 g MS), suivi par le **Mermez**

(1,06±0,04 mg EAG /100g MS), ensuite le **Frik** (0,77±0,05 mg EAG /100g MS). La plus faible teneur a été obtenue dans l'échantillon de **Blé** (0,76±0,02 mg EAG /100g MS) et dans les extraits aqueux, la meilleure teneur est observée chez l'échantillon **Frik** (1,78±0,01 mg EAG /100g MS), suivi par **l'Orge** (1,70±0,03 mg EAG /100g MS), puis par le **Blé** (1,46±0,03 mg EAG /100g MS). La plus faible teneur a été obtenue dans l'échantillon **Mermez** (1,44±0,03 mg EAG /100g MS).

Cette variation peut être expliquée par la différence de la composition chimique entre les tissus des végétaux des échantillons d'une part et le stage de maturation non abouti (biosynthèse incomplète).

Le son **d'Orge** (maturé et non maturé) a été marqué par ses teneurs les plus élevées par rapport aux extraits de son de **Blé** (maturé et non maturé). Ce classement est en accord avec les résultats de plusieurs chercheurs, dans lesquels l'orge est classé en premier dans leur teneur en composés phénoliques (**Ivanisova et al., 2012 ; Amarowicz et al., 2007**).

Les teneurs en flavonoïdes sont variées selon la nature de l'échantillon et du solvant d'extraction, les résultats révèlent que les extraits hydro-méthanolique et aqueux sont les plus riches en flavonoïdes avec des teneurs de (1,97±0,07 mg EQ/100g et (0,93±0,13 mg EQ/100g MS) respectivement, suivi par l'extrait hydro-acétonique (0,76±0,02 mg EQ/100g MS) pour **l'Orge**. La teneur la plus faible enregistrée pour le **Frik** (0,01±0,07 mg EQ/100g MS) dans le système hydro-acétonique.

On remarque que **l'Orge** a les teneurs les plus élevées en flavonoïdes dans les trois solvants : méthanol/eau (1,97±0,07mg EQ/100g MS), l'eau (0,93±0,13mg EQ/100 g MS) et acétone /eau (0,76±0,02mg EQ/100 g MS). Par contre l'échantillon **Mermez** a montré la teneur modérée (0,44±0,11mg EQ/100 g MS) dans le système méthanol /eau et le **Blé** a montré une teneur faible (0,47±0,27mg EQ/100 g MS) d'extrait par l'eau le **Frik** enregistre la plus faible teneur (0,01 ±0,07 mg EQ/100 g MS) dans le système hydro-méthanolique.

Si on compare les teneurs en flavonoïdes à celles des teneurs en composés phénolique pour tous les extraits, on remarque qu'elles sont toutes inférieures à ces dernières, ce qui indique que les extraits contiennent d'autres composés phénoliques possédant d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (acides phénoliques ; tanins ; ...), à l'exception de l'extrait hydro-acétonique de **Mermez** et l'extrait hydro-méthanolique de **l'Orge** où les teneurs en flavonoïdes sont supérieures aux celles des phénols totaux. Ces résultats pourraient

être expliqués par des structures chimiques similaires aux flavonoïdes et qui absorbent à la même longueur d'onde.

Les résultats ont révélé que les taux en phénols totaux et en flavonoïdes varient d'une part avec le solvant utilisé pour l'extraction et d'autre part pour l'espèce végétale. Ces variations sont probablement liées à un facteur écologique qui concerne, l'espèce, le sol, le climat et les périodes de récolte. Ces facteurs peuvent jouer un rôle très important dans les teneurs de ces composés phénoliques (**ben chibane.,2013**).

Les échantillons étudiés ont montré une richesse importante en composés phénoliques et flavonoïdes, qui sont doués sans doute d'une activité antioxydante en plus des autres activités biologiques.

Selon les résultats obtenus, on constate que les teneurs en tanins s'échelonnent entre (0,20±0,01 à 13,01±0,03 mg ECAT /100 g SM). L'extrait hydro-acétonique représente la teneur la plus élevée en tanins (13,01±0,03 mg ECAT /100 g SM) pour le **Mermez**, suivi par le **Frik** dans l'extrait hydro-méthanolique (8,99±0,10 mg ECAT /100 g SM). Le teneur le plus faible est remarquée chez le système hydro-acétonique (0,20±0,01 mg ECAT /100 g SM) pour le **Blé**.

Si on compare les teneurs en tanins par solvants pour chaque échantillons, on constate que la teneur dans le système hydro-méthanolique de l'extrait **Frik** (8,99±0,10 mg ECAT /100 g SM) plus supérieure que celle de l'échantillon de **Blé** (1,77±0,05 mg ECAT/100 g MS), suivi par l'échantillon du **L'Orge** (1,35±0,02 mg ECAT/100 g MS). La faible valeur a été retrouvé chez l'échantillon **Mermez** (1,11±0,01 mg ECAT/100 g MS). Par contre dans le système d'extraction hydro-acétonique la teneur la plus élevée a été étaient enregistrée dans l'échantillon de **Mermez** (13,01±0,03 mg ECAT /100 g SM), suivi par l'**Orge** (0,44±0,05 mg ECAT /100 g SM), ensuit le **Frik** (0,37±0,03 mg ECAT /100 g SM). La plus faible teneur a été obtenue dans l'échantillon du **Blé** (0,20±0,01 mg ECAT /100 g SM) et dans les extraits aqueux, la meilleure teneur est observé chez l'échantillon du **Blé** (4,02±0,05 mg ECAT /100 g SM), suivi par l'**Orge** (1,70±0,01 mg ECAT /100 g SM), puis par le **Mermez** (1,34±0,04 mg ECAT /100 g SM). La plus faible teneur a été obtenue dans l'échantillon **Frik** (0,63±0,01 mg ECAT /100 g SM).

L'analyse des résultats de la quantification des phénols totaux, et tanins montre que, les teneurs des tanins dans les différents échantillons sont généralement supérieures à celles des phénols totaux. A titre d'exemple dans l'extrait hydro-acétonique la teneur des tanins dans l'échantillon de **Mermez** est 12 fois plus grande que celles des phénols totaux.

D'après les résultats de plusieurs travaux effectués au sein du laboratoire des sciences fondamentales où nous avons réalisé notre travail (Yagoub et Sedki, 2018) et selon la littérature, nos résultats obtenus nous ont paru illogiques, car il a été toujours constaté que la somme des teneurs des flavonoïdes et tanins n'excèdent pas la valeur de la quantité des phénols totaux. La réaction de complexations utilisés dans le dosage des tanins n'est pas spécifique et peut être il existe d'autres composés qui forment un complexe avec la vanilline ce qui augmente la teneur des tanins. Pour améliorer et corriger les résultats et après une recherche bibliographique, peut-être à utiliser le réactif de Folin-Denis pour le dosage des tanins en utilisant l'acide tannique comme étalon.

III.2. Evaluation de l'activité antidiabétique

L'alpha-amylase pancréatique (E.C. 3.2.1.1) est une enzyme clé dans le système digestif et catalyse l'étape initiale d'hydrolyse de l'amidon en maltose et finalement en glucose. La dégradation de cet amidon alimentaire se fait rapidement et conduit à une hyperglycémie postprandiale élevée. Il a été démontré que l'activité de l' α -amylase pancréatique humaine dans l'intestin grêle est corrélée à une augmentation des taux de glucose postprandial, dont le contrôle est donc un aspect important dans le traitement du diabète (Bennacer, 2017 ; Eichler et al., 1984).

L' α -amylase est largement distribuée dans les échantillons, les tissus de mammifères et les microorganismes. Cependant, chez les mammifères, l' α -amylase est présente dans les sécrétions salivaires et pancréatiques. Il catalyse l'hydrolyse des liaisons α -D- (1,4) glucidiques des composants de l'amidon (amylose et amylopectine), le glycogène et divers oligosaccharides pour donner du glucose et du maltose. Pour la grande majorité des α -amylases, l'ion calcium Ca^{2+} a un effet positif sur leur activité enzymatique en contrôlant la géométrie du site actif de ces enzymes. Le rôle de l' α -amylase dans le clivage des glucides est complété par l'action de l' α -glucoside, présente dans la bordure de la brosse de l'intestin grêle et responsable de l'hydrolyse des liaisons α -(1 \rightarrow 4), libérant du glucose pour l'absorption des entérocytes (He, 1998 ; Buisson et al., 1987).

Par ailleurs, l'inhibition des deux enzymes peut retarder la digestion des oligosaccharides et des disaccharides, et retarder l'absorption du glucose ainsi que réduire les taux de glucose dans le plasma, aboutissant finalement à la suppression de l'hyperglycémie postprandiale. Les inhibiteurs de l' α -amylase sont diversifiés et généralement synthétiques utilisés comme médicaments contre le diabète comme l'acarbose, mais toujours on s'intéresse à la recherche d'autres inhibiteurs de cette enzyme (H.Bennacer, 2017 ; Lebovitz, 1997).

D'autre part, si l'effet d'un grand nombre de molécules naturelles ou synthétiques sur l'activité de l' α -amylase a fait l'objet d'un nombre important de travaux, (Rahimzadeh et al., 2014 ; Komaki et al., 2003 ; Tsujita et al., 2008), aucune étude n'a été consacrée sur l'effet des céréales vis-à-vis de l' α -amylase pancréatique de porc. Ceci nous a incité à étudier les propriétés anti- α -amylasique de quatre céréales utilisés dans l'alimentation afin de proposer un mécanisme d'inhibition et de comprendre les modes d'interaction entre ces céréales vis-à-vis de l' α -amylase pancréatique de porc. De ce fait, l'activité inhibitrice de l' α -amylase pancréatique de porc par les céréales choisis, ont été déterminées par une méthode spectrophotométrie en utilisant l'amidon comme substrat de l'enzyme. Ainsi, l'activité de l' α -amylase pancréatique de porc a été dosée spectrophotométriquement à 455 nm en suivant l'apparition du maltose. Le temps de la réaction (2 minutes) et le domaine de dépendance de l'enzyme avec la concentration de substrat a été déterminé par l'étude d'apparition de produit en fonction du temps pour une concentration fixe de substrat (1,2 g/l) (Belhadj et djellikh.,2018).

L'évaluation de l'activité antidiabétique *in vitro*, a été réalisée dans le présent travail par l'étude de leur effet inhibiteur sur l'activité enzymatique d' α -amylase.

Les résultats sont déterminés tous d'abord en pouvoir inhibition (%) en fonction de concentration (Figure 7) puis sont exprimés par le paramètre AEIC (Acarbose Equivalent Inhibition Capacité) qui est défini comme étant la concentration de la solution standard de la acarbose possédant la capacité Inhibition équivalente à une solution de 1 g/l de l'extrait étudié (Tableau 3).

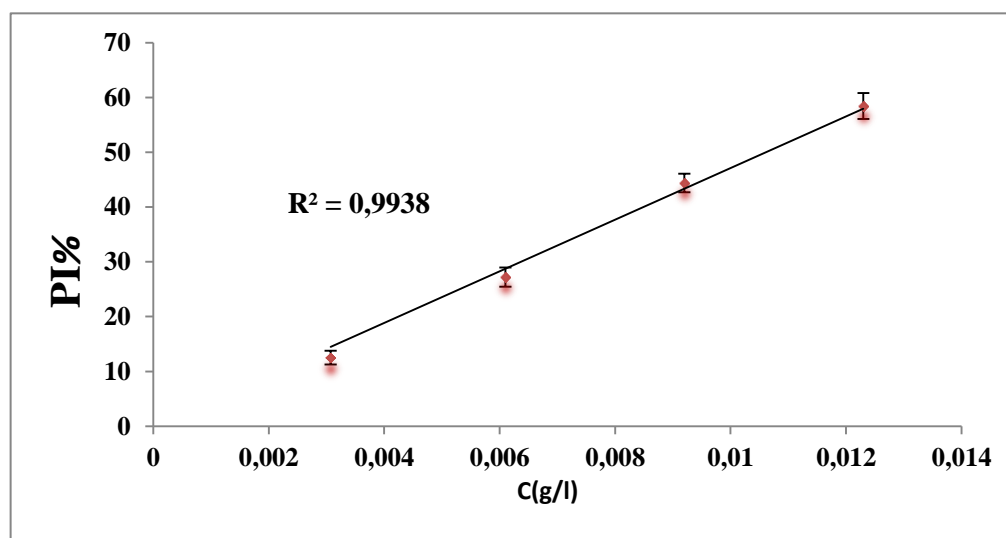


Figure. 7 : Courbe d'inhibition de l' α -amylase par l'acarbose.

Tous les résultats obtenus à partir de ce test indiquent que tous les échantillons testés montrent une inhibition importante avec des valeurs d'AEIC supérieures à valeur 1 (Tableau 3). D'autre part, **l'Orge** dans le système hydro-méthanolique (méthanol /eau : 80/20 v/v) a montré une meilleure activité contre l'amylase par rapport à tous les autres 70,74±0,08 µg/g, la plus basse valeur de AEIC sont remarquées chez la fraction Acétone /eau échantillon de **Blé** (3,46±0,08 µg/g).

Tableau. 3 : les valeurs de AEIC des extraits des quatre céréales étudiées vis-à-vis de l' α -amylase : (la moyenne de trois essais réalisés en parallèle \pm l'écart-type).

| Système | Echantillons | AEIC µg/g |
|----------------------|--------------|-------------|
| L'eau | L'Orge | 12.08±0,53 |
| | Mermez | 9,12±1,46 |
| | Frik | 39,77±0,27 |
| | Blé | 13,17± 0,36 |
| Méthanol /eau | L'Orge | 70,74±0,08 |
| | Mermez | 62,52±0,35 |
| | Frik | 9,17±2,04 |
| | Blé | 8.06±0,15 |
| Acéton/eau | L'Orge | 11,69±0,05 |
| | Mermez | 6,83±1,21 |
| | Frik | 12,58±0,31 |
| | Blé | 3.46 ±0,08 |

D'autre part, on remarque que l'activité inhibitrice de l'Orge dans le système eau (12,08±0.27 µg/g) est plus efficace que celle L'Orge dans le système dans le système hydro-acétonique (11,69±0,36 µg/g). Aussi le **Mermez** dans le système hydro-méthanolique (méthanol /eau : 80/20 v/v) (62,52±0,35 µg/g) est plus efficace que le **Mermez** dans le système eau (9,12 ±1,46µg/g) et ces dernier plus efficace que le système Acétone /eau (6,83±0.27µg/g).

Les valeurs AEIC ont varié globalement entre 3,46 µg/g et 70,74 µg/g les extraits hydro-méthanoïques et l'eau ont enregistré de meilleures AEIC par rapport aux autres extraits, notamment ceux de hydro-méthanolique. Peut être attribuée à la présence d'un groupe de molécules polaire dont la structure différente leurs conférant une activité inhibitrice plus efficace l'explication de la faible activité des extrait hydro cétonique peut être attribuée à l'existence de molécules à caractère apolaire les rendant moins actifs vis-à-vis à l'enzyme.

Nos extraits ont montré un potentiel très élevé par rapport l'inhibiteur de référence. Les valeurs (AEIC) les plus élevées ont été enregistrées pour l'extrait de l'**Orge** (70,74 µg/g), l'extrait de **Mermez** (62,52µg /g) dans le système hydro-méthanolique et l'extrait aqueux de **Frik** (39,77 µg/g). Ceci peut être expliqué par la richesse de ces échantillons en molécules spécifique qui sont responsable de l'inhibition de l' α -amylase.

L'activité inhibitrice enzymatique de plusieurs échantillons est due aux composés polyphénolique. Ces polyphénols ont une action sur l' α -amylase tels que les tannins qui sont capables de se lier aux enzymes digestives et d'inhiber de ces faits. On compare les résultats de l'activité inhibitrice aux résultats de dosage en phénols totaux nous avons remarqué que les teneurs en phénols totaux et les valeurs en AEIC varient de manière versément généralement. A titre de l'exemple, des extrait riche en phénols totaux et une bonne inhibition vis-à vis de l' α -amylase comme l'extrait hydro-méthanolique (Méthanol /eau) de **L'Orge** maturée et non maturé (**Mermez**) dont la quantité est pauvre polyphénols et en flavonoïdes et tanins. Par contre, l'extrait l'eau de **Blé** non maturée (**Frik**) est faible en phénol et en flavonoïdes mais a une fortement inhibition vis-à vis de l' α -amylase. De ce fait peut dire que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins ne sont pas les seules molécules qui influent sur l'activité enzymatique de l' α -amylase et qu'il est probable qu'une synergie entre différents métabolites est responsable d'inhibition.

De ce fait, les résultats obtenus à travers cette étude laissent un grand espoir pour l'avenir avec le rôle protecteur que peuvent conférer le son des céréales dans la prévention et la limitation des effets toxiques des radicaux libres et le traitement du diabète non insulino-dépendant. En effet, il ressort du présent travail que l'Orge dans le système hydro-méthanolique est un produit fort intéressant et riche en possibilités thérapeutiques. Nos résultats sont pour nous remarquables car ils ouvrent dans le futur des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet hypoglycémique et antioxydant des céréales et d'avancer vers une meilleure connaissance du (des) mécanisme(s) moléculaire(s) intervenant dans les effets pharmacologiques observés.

En conclusion, l'ensemble de ces résultats obtenu *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substance de source naturelle biologiquement active capable d'inhiber efficacement l'activité amylasique. Des essais complémentaires seront donc nécessaires pour

caractériser les molécules responsables à ces activités, afin qu'elles puissent être utilisées pour de diverses études pharmacologiques.

Conclusion générale

Les enzymes sont des catalyseurs d'une efficacité et d'une spécificité fonctionnelle remarquables. *In vivo*, elles interviennent dans tous les processus de biosynthèse, de dégradation, de régulation et de reproduction. L'étude cinétique des enzymes vis-à-vis de plusieurs composés peut améliorer les connaissances concernant leurs mécanismes réactionnels. En effet, l'effet hypoglycémiant des plantes médicinales et des métabolites qui les composent avaient déjà fait l'objet de différentes études.

Dans ce contexte, notre travail a étudié *in vitro* l'effet de quelques sons de céréales alimentaires vis-à-vis de l' α -amylase pancréatique du porc. Nous avons également, testé l'acarbose comme inhibiteur de référence de cette enzyme.

Dans un premier temps, nous avons réalisé une extraction organique par quatre solvants à polarité croissant (hexane, acétone/eau, MeOH/eau et eau). Après l'extraction de ces différents métabolites, nous avons évalué la quantité des phénols totaux en adoptant la méthode de Singleton et Ross (1965), les résultats montrent que les échantillons étudiés sont relativement riches en ces composés (varie de $0,76 \pm 0,02$ et $2,79 \pm 0,02$ mg dans tous les extraits en équivalent d'acide gallique par 100 gramme de matière sèche). De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode de Lamaison et Carnat (1991) (complexation des flavonoïdes avec le trichlorure d'aluminium), la teneur des flavonoïdes dans les extraits bruts est relativement élevé $1,97 \pm 0,07$ mg EQ/100g dans tout les extraits en équivalent de la quercétine par 100 gramme de matière sèche. Pour le dosage des tanins, la teneur dans les extraits phénoliques est relativement élevé $0,37$ mg ECAT /100 g- $13,01$ mg cat/100 dans toutes les extraits en équivalent de la catéchine par 100 gramme de matière sèche.

Nous avons pu mettre en évidence *in vitro* et pour la première fois, l'effet des extraits de ces céréales sur l' α -amylase ; les résultats obtenus à travers ce test montrent que la majorité de ces céréales présentent des effets inhibition importants.

Cette étude a montré des inhibitions vis-à-vis de l'activité catalytique de l'enzyme, avec des valeurs AEIC de l'ordre du $\mu\text{g/g}$ les valeurs de ces paramétré varient entre $3,46 \pm 0,08$ et $70,74 \pm 0,08 \mu\text{g/g}$.

Le son de l'Orge a exposé une activité inhibitrice plus importante que les autres dont son pouvoir anti-amylasique est supérieur à valeur 1 (AEIC : $70,74 \pm 0,08 \mu\text{g/g}$), par contre le blé a présenté la plus faible activité inhibitrice de cette enzyme. Le résultat le plus important de cette étude et l'effet inhibiteur *in vitro* de son de l'Orge qui jusqu'à présente n'a fait l'objet d'aucune étude de pont de vue activité biologique.

A la lumière des résultats achevés *in vitro*, on peut envisager l'utilisation de ces céréales en thérapie traditionnelle comme antidiabétique à condition de faire des tests *in vivo* sur différents modèles biologique, afin de trouver une application thérapeutique des molécules actives isolées et d'étudier l'effet synergique des extraits pour améliorer l'index thérapeutique.

Ce travail a fourni un complément aux connaissances ethno pharmacologique et photochimique des céréales locale et a permis de mettre en évidence encore une fois le rôle des polyphénols naturels dans la normalisation des troubles glycémique.

En perspective, ces résultats restent préliminaires ce qui nécessite d'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Les prochaines étapes consisteront à étudier expérimentalement *in vitro* et/ou *in vivo* l'effet de ces céréales sur l'activité de l' α -amylase. Il mémé possible de développer la culture végétale de ces plantes en utilisant des technique sophistiqués pour améliorés la quantité de ces molécules.

Références

- **Alice Y. Y., Cheng M.D (2013).** Introduction (Comité d'experts des Lignes directrices de partie clinique de l'Association canadienne du diabète). *Canadian Journal of Diabète*, 2013, 37, S361-S364.
- **Archeix J, Fleuriet A, et Jay –Allemand C (2005).** les composé phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaire d'importance économique .Presses polytechniques et universitaires Romandes.
- **Belhadj naciria et djellikh meriem(2018).** Effet de quelques colorants alimentaires sur l'activité de l' α -amylase porcine.
- **Ben chibane tassadit(2013).** Détermination de l'activité antioxydante de deux céréales : blé dur et blé tendre.
- **Bozin, B, Mimica-Duric, N, Samojlik, I, Goran A.Igic, R. (2008).** Phenolics as antioxydants in garlic (*Allium Sativum L. Alliaceae*), *food Chemistry*, P925-929
- **Cheng Y Y, Josse R G. (2004).** Les inhibiteurs de l'absorption intestinale dans la prévention et le traitement du diabète de type 2, *Endocrinologie-Conférences Scientifique*, 4.
- **De Smet PA.** (2002) Herbal remédies. *N Engl J Med*, 347(25), 2046-2057.
- **Devillers j, marchand-geneste n, carpy a (2006),** porcher Jm. SAR and qsar modeling of endocrine disruptors. *sar and qsar environnemental research*, 17 : 393-412
- **Eichler h.g., korn a., and gasic s (1984).** the effect of a new specific α -amylase inhibitor on post-prandial glucose and insulin excursions in normal and type 2 (non-insulin dependent) diabetic patients, *diabetologia.*; 26(4): 278–281.
- **El-Haramein F.J., (2005).** Food Barley Qualité Evaluation at ICARDA, p. 141-144, In: Grando Stefanie, Helena Gomez Macpherson. *Food Barley: Importance, Uses and Local Knowledge*, ICARDA.
- **El Haramein FJ., Grando S., (2010).** Détermination of iron and zinc content in food Barley. In: Ceccarelli Sand Grando S. 2010. *Proceedings of the 10 th International Barley Genetics Symposium*, 5–10 April 2008, Alexandria, Egypt. Aleppo, Syria: International Center for Agricultural Rese arch in the Dry Areas (ICARDA) ,603- 606.
- **Godon B. 1991.** Composition biochimique des céréales. A : Grains d'avoine, blé, maïs, Orge, seigle, triticale. In : B. Godon, C. Willm, *Les industries de première Transformation des céréales* Paris : Lavoisier. p.77-94

- **Gómez-Caravaca, A.M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., SeguraCarretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., (2006).** Advanced in the analyses of phénolique compound in Product dérive from bees. *J. Pharm. Biome. Anal.* 41, 1220–1234.
- **He I.(1998).** alpha-glycosidase inhibitors as agents in the treatment of diabetes. *diabètes revu*, 6: 132–145.
- **Marles R J., Farnsworth N R. (1995).**Antidiabétique plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2(2), 137-189.
- **Prabhakar P.K., Doble M. (2011).** Mechanism of Action of Natural Products Used in the Trématent of Diabètes Mellites. *The Chinese Jress and Springer- Verlag*, 17, 563-574.
- **Price M.L., Van Scoyoc S. & Butler L.G., (1978).** A critical évaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chemistry* 26, 1214-1218.
- **Rahimzadeh mahsa, jahanshahi samaneh, moein soheila et moein mahmoud reza.** evaluation of alpha- amylase inhibition by *urtica dioica* and *juglans regia* extracts. *iranian journal of basic medical sciences*. 2014; 17(6): 465–469.
- **Rastoin Jean-Louis et Benabderrazik El Hassan, 2014.** Céréales et oléo protéagineux au Maghreb Pour un Co-développement de filières territorialisées. Algérie Une Agriculture sous fortes contraintes. Institut de Prospective Economique du Monde Méditerranéen, IPEMED. 32p.
- **Reed C. (1992).** Développement of Storage techniques: A historial perspective. In *Storage of Céréales Grains and Their Products*. Edited by D. B, Sauer, St Paul: 143-156.
- **Samy R et Gopalakrishnako,** thérapeutique potentiel of plants as Anti micromicrobial for Drug Discovery CAM Avance Access published. Edited by D. B, Sauer, St Paul: 143-156.
- **USDA, (2010/2011).** Les céréales dans le monde.
http://www.infocereales.fr/pdf/open/pdfnum/1/file/Les_cereales_dans_le_monde.pdf.
- **Yagoub ahmed et Sedki ayoub.(2018).** Evaluation de l'activité antioxydante des déchets de l'arachide (*Arachis hypogaeae* L.).

ملخص

يندرج هذا العمل في إطار تقييم الخصائص المضادة لداء السكري و تأثير مستخلصات اربعة انواع من نخالة الحبوب، الشعير (الناضج و غير الناضج) و القمح (الناضج و غير الناضج) على نشاط إنزيم ألفا أميلاز بهدف تخفيض نسبة السكر في الدم بعد الاكل.

تم في هذه الدراسة استخلاص و تقدير كمية المركبات الفينولية و دراسة الفعل المثبط على الفا اميلاز. تراوحت كمية المركبات الفينولية ما بين 0,76 و 2,79 مغ مكافئ حمض الغاليك لكل 100 غرام من المادة الجافة، بينما تراوح محتوى الفلافونيد ما بين 0,01 و 1,9 مغ/ 100 غرام مكافئ للكركستين من المادة الجافة، وتراوحت كمية العفص المكتف ما بين 0,02 و 13,01 مغ/ 100 غرام مكافئ للكركستين من المادة الجافة.

اظهرت جميع المستخلصات تأثير تثبيطي على الفا اميلاز وذلك بقيم تتراوح بين 3,46 و 70,74 ميكروغرام/غرام حيث تم تسجيل افضل تثبيط في مستخلص الشعير الناضج الهيدروميثانولي.

من خلال النتائج المتحصلة عليها في هذا العمل يمكن القول بأن محتوى الفلافونيدات في كل من القمح و الشعير لها تأثير ايجابي في تخفيض نسبة السكر في الدم، لذلك سيكون من الضروري إجراء مزيد من التجارب لوصف الجزيئات المسؤولة عن هذه الأنشطة ودراسة تأثيرها في الجسم الحي، بحيث يمكن استخدامها علاجياً.

الكلمات المفتاحية: الفا اميلاز، الشعير، القمح، داء السكري، التثبيط، المستخلصات الفينولية.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'évaluation des propriétés antidiabétiques et l'effet des extraits de son des céréales : l'Orge (maturé et non maturé) et le Blé (maturé et non maturé) sur l'activité d' α -amylase dans le but de corriger l'état de l'hyperglycémie postprandiale. La première démarche dans cette étude, consistait en une extraction et une quantification des composés phénolique ensuite nous avons étudié l'effet d'inhibiteur sur l' α -amylase. Le contenu en phénols totaux est compris entre 0,76 et 2,79 mg en équivalent d'acide gallique /100g de la matière sèche. Tandis que le contenu en flavonoïdes est exprimé en équivalent de la quercétine est compris entre 1,97 et 0,01 mg /100g MS. Tous les extraits ont montré une inhibition importante, avec des valeurs supérieure à l'unité, dont la meilleure inhibition, a été enregistrée pour l'extrait hydro-méthanolique (70,74 μ g/g).

Ce travail a fourni une nouvelle connaissance sur les céréales locales et permet de mettre en évidence le rôle composés phénoliques naturels dans la normalisation des troubles glycémiques. Des essais complémentaires seront donc nécessaires pour caractériser les molécules responsables à ces activités et d'étudier leur effet *in vivo*, afin qu'elles puissent être utilisées thérapeutiquement.

Mots clés : α -amylase, Orge, Blé, diabète, inhibition, extraits phénoliques.

Abstract

This Works is part of the evaluation of the antidiabetic properties and effect of the extracts of cereal barley (matured and non-matured) and wheat (matured and not matured) geslini on α -amylase activity in order to correct the phenomenon of postprandial hyperglycemia .The first step in this study consisted in the extraction and the quantification of the phénoliques compounds then we studid of their inhibitory effect on the α -amylase. The content of total phenolics is between 0,76 and 2,79 mg gallic acid equivalent / 100 g of the dry matter .while the flavonoids content expressed in equivalent quercitrin ranged from 1,97 and 0,01 mg / 100g. All extracts showed an inhibitory effects on α -amylase, with values that vary and whose the best inhibition 70.74 μ g / g, has been recorded for the hydroalcolic extract.

this work has provided a new Knowledge about into local grains and is a contribution to the study of the rôle of natural polyphenols in the normalisations of glycemic disorders ,Further tests will, therefore ,be necessary to characterize the molecules responsible for these activities and to study their effect in vivo, so that they can be used therapeutically.

Key words: α -amylase, barley, wheat, diabetes, inhibition, phenolic extracts.