

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة عمار تليجي بالاغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
Département des Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie organique appliquée

Présentées Par:

M^{elle} Obada Nadjet & M^{me} Dada Siham

THEME

***Contribution à la valorisation des propriétés
antioxydantes des extraits de sons de blé dur
(Triticum durum) et de l'orge (Hordeum vulgare)***

Soutenu publiquement le 27 septembre 2021 devant le jury composé de :

BENGUACHOUA Imane	M.C.B	Présidente
AMI Yasmina	M.A.A	Examinatrice
HAMIA Chahrazad	M.C.A	Encadreur

Année Universitaire : 2020- 2021

Remerciements

Nous remercions et louons Dieu, le tout puissant, actuellement et éternellement.

on remercie énormément Mr. YOUSFI Mohamed directeur du laboratoire des sciences fondamentales (LSF) de nous avoir permis d'accomplir ce travail à bras ouverts en de très bonnes conditions.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre promotrice M^{me} .HAMIA Chahrazed non seulement pour avoir accepté d'encadrer ce travail, mais aussi pour la confiance qu'elle nous a témoigné depuis le début, pour son soutien tous au long de la réalisation de ce travail, pour ses précieux conseils et ses grands efforts.

Nous remercions également les membres de jury d'avoir accepté de juger ce travail.

Nos remerciements vont aussi à l'égard de Mr. HARRATH Mohamed et Mr. BENALIA Mohamed et tous les chercheurs du laboratoire des sciences fondamentales pour leur assistance très bénéfiques.

Nous remercions aussi la doctorante BEY Djahida pour ses conseils et aide..

Nos remerciements s'adressent également à tous les personnes qui ont contribué à l'obtention de ce diplôme. Nous pensons en particulier à tous les enseignants qui nous ont accompagnés durant les années d'étude.

Enfin, notre grand attachement à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, surtout ceux que nous avons involontairement omis de citer.

Dédicaces :

Grace à toi mon bon Dieu, je m'incline devant ta puissance et ta miséricorde, pour te remercier de l'aide et du courage que tu m'as donné au cours de la réalisation de ce modeste travail, que je dédie :

A ma mère : Fatima

A mon père : Ahmed

A mon mari Ilyas et sa famille Mechikel

A mes frères : Abdelkader ; Bilal

A mes sœurs : kheira, Samira, Khalida et Bouchra

Les enfants de mes sœurs : Meriem, Islam et Amira

A toute ma famille ;

A tous mes camarades de promo

A mon binôme Nadjat et toute sa famille Obada

Et à madame HAMIA Chahrazed qui a dirigé ce travail avec beaucoup de patience et de tolérance.

Siham

Dédicaces :

Je dédie ce mémoire à :

❖ *Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

❖ *Ma mère, qui a œuvrée pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

❖ *A mon chère frère Abdelkader et mes chères sœurs Nawal, Salima et Fatima.*

❖ *A ma grand-mère ; qui me donne beaucoup d'amour et d'invocation*

❖ *A mon binôme Siham et toute sa famille Dada*

❖ *Et à madame HAMIA Chahrazed qui a dirigé ce travail avec beaucoup de patience et de tolérance.*

Nadjet

Liste des abréviations

A₀	Absorbance du control négatif.
AC/H₂O	Acéton/eau
A_{extrait}	Absorbance en présence de l'extrait
DMSO	Diméthylsulfoxyde..
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle
MeOH/H₂O	méthanol/eau
FAO	Food and agriculture organization
mg EAG/ 100g MS	milligramme d'équivalents d'acide gallique par100 gramme de matière sèche.
mg EAL/ g MS	milligramme d'équivalents d'Albumine par1 gramme de matière sèche.
mg EVC/ 100g MS	milligramme d'équivalents de vitamine C par100 gramme de matière sèche.
MS	Matière sèche
m_s	Masse en gramme de la matière sèche initiale.
m_r	Masse en gramme de résidu
OH	Groupement hydroxyde
PA %	Le pouvoir antiradicalaire
UV	Ultraviolet – visible
VCEAC	Capacité Antioxydant Equivalent en Vitamine C.

Liste des Figures

N°	Titre	page
Figure1	Carte des zones de céréaliculture à l'échelle nationale (MADR, 2018)	02
Figure2	Evolution de production céréalière internationale (utilisation et stocks)	02
Figure 3	Capture d'écran prise à partir de Google maps représentant localisation géographique des deux sites de collecte des différents échantillons de la région de Laghouat (Sidi makhlouf) et M'sila.	07
Figure4	Schéma récapitulatif de la préparation des échantillons	11
Figure5	Réaction du radical libre DPPH avec un antioxydant	15
Figure6	Couleurs des extraits : blé dur, orge, frick et mermaz de M'sila et de Sidi makhlouf	17
Figure 7	la courbe d'étalonnage de l'acide gallique	19
Figure8	Photographie des résultats des tests phytochimiques des flavonoïdes	22
Figure9	Photographie des résultats des tests phytochimiques des tanins	22
Figure10	la courbe d'étalonnage de l'albumine	23
Figure11	Courbe d'étalonnage de la vitamine C, par le test de DPPH	25

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Composition nutritionnelle des céréales (pour 100g de grains) (FAO, 2020)	03
Tableau 2	Les données GPS et l'étage bioclimatique de deux sites Sidi makhlouf et M'sila	08
Tableau 3	Classification des céréales investiguées (Classification de Cronquist A (1981))	08
Tableau4	Produits chimiques et réactifs utilisés dans ce travail.	10
Tableau 5	Rendement d'extraction des différents échantillons	18
Tableau 6	Teneur en polyphénols totaux des quatre échantillons étudiés de la région de Sidi makhlouf et de M'sila en mg EAG/100g MS	20
Tableau 7	Teneurs en protéines des quatre échantillons étudiés de la région de M'sila exprimées en mg EAL/g MS .	23
Tableau 8	Teneur en protéines des quatre échantillons étudiés de région Sidi makhlouf en mg EAL/g MS M'sila	24
Tableau 09	Les valeurs de VCEAC exprimées en mg EVC/100g MS des extraits de sons des céréales investiguées de la région de Sidi makhlouf	26
Tableau 10	Les valeurs de VCEAC exprimées en mg EVC/100g MS des extraits de sons des céréales investiguées de la région de M'sila	26

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
I. Introduction générale	01
II. Matériel et méthodes	07
II.1. Matériels	07
II.1.1. Matériel végétal	07
II.1.2. Standards et réactifs	09
II.2. Méthodes	10
II.2.1. Préparation des échantillons	10
II.2.2. Extraction des composés phénoliques par ultrasons	11
II.2.3. Quantification des composés phénoliques	12
II.2.3.1. Dosage des phénols totaux	12
II.2.3.2. Test phytochimiques des flavonoïdes	13
II.2.3.3. Test phytochimiques des tanins condensés	13
II.2.4. Dosage des protéines totales	13
II.2.5. Activité antioxydante	14
III- Résultats et discussions	17
III.1. Rendements d'extraction et teneurs des composés phénoliques	17
III.1.1. Rendements d'extraction	17
III.1.2. Teneur en phénols totaux	19
III.1.3. Analyse phytochimiques des extraits	22
III.2. Teneur en protéines totales	23
III.3. Evaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH	25
VI. Conclusion générale	31
Références bibliographiques	33

Introduction générale

I. Introduction générale

Les céréales sont un groupe des plantes cultivées appartenant à la famille des Poacées. Cette famille, parmi toutes celles du règne végétal, occupe une place à part, non seulement par le nombre de ses espèces, mais encore son ubiquité, sa répartition et son intérêt humain, historique comme économique **(Guignard et Dupont, 2004)**.

La nourriture reçoit une attention particulière pour une personne afin de bien manger et fournir au corps tous les éléments nécessaires à ses besoins. Les plus grandes sources de nourriture sont les plantes qui sont domestiquées et développées par les humains. Ces plantes sont cultivées sur de grandes superficies pour la disponibilité et la suffisance. Ces plantes contiennent dans leur constitution de nombreux nutriments sous forme de molécules biochimiques. Ce dernier est une contribution vitale au maintien du corps et de la santé, et est utilisé comme traitement curatif et préventif pour certaines maladies qui affectent les humains et les animaux. La culture des céréales a permis l'essor des grandes civilisations, car elle a constitué l'une des premières activités agricoles. En effet, il y a plus de trois millions d'années, l'homme préhistorique était nomade, pratiquait la chasse et la cueillette des fruits pour assurer sa nourriture. Le nomadisme a progressivement laissé la place à la sédentarité qui permit la culture des céréales. Le blé et l'orge font partie de ces céréales connues depuis l'antiquité **(Rue, 2006)**.

En Algérie, la production des céréales présente une caractéristique fondamentale depuis l'indépendance à travers l'extrême variabilité du volume des récoltes. Cette particularité témoigne d'une maîtrise insuffisante de cette culture et de l'indice des aléas climatiques. Cette production est conduite en extensif et elle est à caractère essentiellement pluvial. **(Bouchafaa et Kherch, 2012)**.

Durant les deux périodes 2000-2009 et 2010-2017, la superficie des céréales occupe en moyenne annuelle 40% de la Superficie Agricole Utile (SAU). La superficie ensemencée en céréales durant la décennie 2000-2009 est évaluée à 3200930ha, desquelles, le blé dur et l'orge occupent la majeure partie de cette superficie avec 74% de la sole céréalière totale. Durant la période 2010-2017, cette superficie a atteint en moyenne 3385560ha, en évolution de 6% par rapport à la période précédente (2000-2009).

La production des céréales en 2017 par zone de tout le territoire national est illustrée dans la **Figure 01**, selon le ministère de l'agriculture et du développement rural **(MADR, 2018)**.

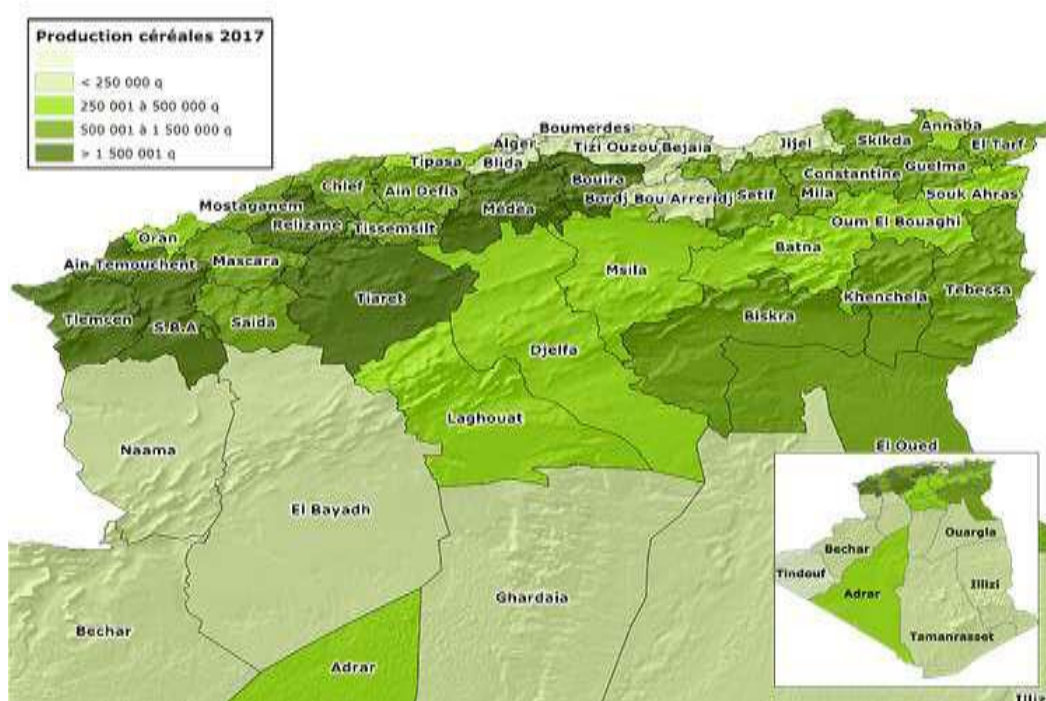


Figure 01: Carte des zones de céréaliculture à l'échelle nationale (MADR, 2018)

Parmi les espèces de céréales cultivées présentant des intérêts économique et écologique : le blé et l'orge qui constituent de loin la ressource alimentaire irremplaçable

Le blé est l'une des principales ressources alimentaires de l'humanité. Principalement destiné à l'alimentation des hommes (à hauteur de 75 % de la production) dont il assure 15% des besoins énergétiques, le blé sert également à l'alimentation des animaux (15% de la production) et à des usages non alimentaires (Feillet, 2000). Entier ou plus ou moins concassé, le blé dur est utilisé pour faire de la semoule, du boulgour, du pilpil, des grains, des pâtes de toutes sortes complètes ou raffinées.

A l'échelle mondiale et par ordre d'importance, l'orge est utilisée en alimentation du bétail, pour le maltage (notamment en brasserie) et en alimentation humaine. Dans les régions tropicales et subtropicales, la plus grande partie de l'orge en grains sert à confectionner un pain local qui ressemble à une crêpe ; mais on en fait aussi bien des bouillies et des soupes (Ceccarelli et Grando, 2005), alors que la production mondiale de céréales pour la dernière décennie (2010 - 2020) a connu une croissance vu son importance (Figure 02) (France-, 2017 ; Dubief, 2019 ; FAO, 2020).



Figure 02: Evolution de production céréalière internationale (utilisations et stocks)

Les céréales sont un élément important de l'alimentation humaine et elles sont utilisées dans la production de nombreux produits alimentaires, fournissant de l'énergie grâce à leur haute teneur en protéines et teneur en glucides (**Tableau 1**). Elles sont aussi caractérisé par une grande quantité d'insolubles et de solubles composants bioactifs tels que fibres, vitamines, minéraux, acides gras insaturés, tocophérols, lignanes, flavonoïdes et les acides phénoliques (**Okarter et al., 2010**).

Tableau 1: Composition nutritionnelle des céréales (pour 100g de grains) (**FAO, 2020**)

Composants	Blé	Orge
Protéines (g)	10.7	9.91
Lipides (g)	1.99	1.91
Glucide (g)	75.4	77.72
Fibre diététique (g)	12.7	15.6
Calcium (mg)	34	29
Fer (mg)	5.37	2.50
Phosphore (mg)	200	221
Sucre (g)	0.85	0.80
Eau (g)	10.4	10.09
Vitamine B1 (mg)	0.410	0.191
Vitamine B9 (ug)	41	23
Vitamine B6 (mg)	0.378	0.260
Calories	340	352

Face aux conditions oxydatives, causées par des stress tels que la chaleur, sécheresse, rayonnement UV, attaques chimiques ou pathogènes, les plantes produisent des métabolites secondaires pour se protéger mécanisme d'interception des réactions oxydatives générant des radicaux et les transformer en molécules inoffensives (**Manach et al., 2004**). En effet, les espèces réactives de l'oxygène notamment sont constamment formés dans le corps de l'organisme par des actions métaboliques normales. Leurs effets sont contrariés par un système équilibré d'antioxydants et de défenses enzymatiques. Le déséquilibre entre ces deux systèmes provoque une stress oxydatif, qui peut entraîner des lésions cellulaires et la mort (**Romano et al., 2010**). Étant donné que les antioxydants synthétiques sont soupçonnés d'être cancérigène (**Ratnam et al., 2006**), beaucoup d'attention a été donné à des antioxydants naturels, qui sont capable d'inhiber les réactions oxydatives en chaîne dans les tissus (**Nsimba et al., 2008**). Selon **Perez-Jimenez et al.,(2008)**, l'augmentation de la consommation d'aliments riches en antioxydants est associé à un risque plus faible aux maladies cardiovasculaires et du cancer. **Naczk et Shahidi (2006)** ont mentionné que les composés phénoliques sont utilisés dans le traitement de maladies cardiovasculaires. Consommation de céréales contenant des niveaux élevés d'antioxydants, provenant principalement de phénols, a été recommandée (**Ward et al., 2008**). **Anson et al. (2008)** ont mentionné que les principales composantes ayant une activité antioxydante dans le blé appartiennent au groupe des acides phénoliques, qui se trouvent principalement dans le son, suggérant l'utilisation de grains de blé entiers au lieu de raffiné. Traditionnellement, le grain de blé est moulu pour obtenir la farine blanche raffinée en enlevant le son. Selon **Dvorakova et al. (2010)**, l'orge est une excellente source des acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, proanthocyanidines et composés aminophénoliques. **Adom et al., (2005)** ont rapporté que la teneur en antioxydants dépend de l'espèce céréalière, variétés, les conditions environnementales et le type de traitement. D'autre part les protéines qui y jouent un rôle structural (au niveau musculaire ou encore cutané) sont également impliquées dans de très nombreux processus tels que la réponse immunitaire (anticorps), le transport de l'oxygène dans l'organisme (hémoglobine), ou encore la digestion (enzymes digestives) (**Kristina et Marika, 2003**).

Nous nous sommes intéressés dans ce présent travail à dévoiler la présence de composés phénoliques et de protéines dans les sons de ces céréales : le blé dur, l'orge, le mermez et le Frick qui sont récoltées dans les régions de M'sila et de Sidi makhlof (Laghouat) et de déterminer leurs propriétés antioxydantes.

Notre travail sera réparti en deux parties :

- La première partie est consacrée au matériel et méthodes utilisés dans les différentes manipulations qui s'appuient sur deux axes. Le premier axe est porté sur l'extraction et l'estimation de la teneur en phénols totaux et des protéines des différents échantillons par un dosage spectrophotométrique. Le second axe se concentre sur l'évaluation de l'activité antioxydant des extraits obtenus, de leur effet sur le radical libre DPPH[•] (Test DPPH).
- La deuxième partie se focalise sur tous les résultats obtenus accompagnés de leur discussion.

Enfin, nous achevons ce travail par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Matériels et méthodes

II. Matériels et méthodes

Nous avons réalisé ce travail au niveau du laboratoire des sciences fondamentales à l'université Amar Telidji (Laghouat).

II.1. Matériels

II.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude consiste en quatre échantillons: le blé, l'orge, le mermaz et le frick de deux régions : wilaya Msila et Sidi makhlouf (situé à 40 Km au nord-est de la région de la wilaya Laghouat) (**Figure 03**) où la date de récolte était en 2019.



Figure 03: Capture d'écran prise à partir de Google maps représentant localisation géographique des deux sites de collecte des différents échantillons de la région de Laghouat (Sidi makhlouf) et M'sila


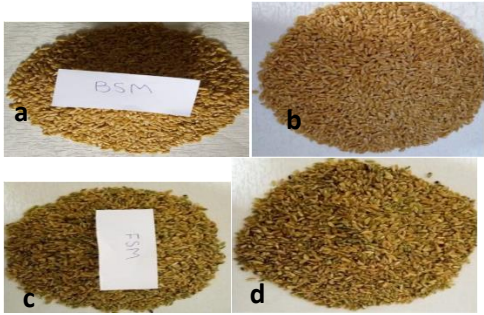
Les données GPS et l'étage bioclimatique des deux régions sont mentionnés dans le **Tableau 2**

Tableau 2 : Données GPS et l'étage bioclimatique de deux sites Sidi makhlouf et M'sila

Site	Longitude	Latitude	Altitude	Etage bioclimatique
Sidi makhlouf	3° 1' 0" E	34° 7' 60" N	900 m	Semi-aride
M'sila	4° 32' 49" E	35° 42' 7" N	471 m	Arde

Notre travail était sur la coque extérieure seulement (le son). La classification des céréales investiguées est présentée dans le **Tableau 3**

Tableau 03 : classification des céréales investiguées (**Classification de Cronquist A (1981)**)

L'orge	Le blé dur
<p>Règne : <i>Plantae</i></p> <p>Division : <i>Magnoliophyta</i></p> <p>Classe : <i>Liliopsida</i></p> <p>S/Classe : <i>Commelinidae</i></p> <p>Ordre : <i>Poale</i></p> <p>Famille : <i>Poaceae</i></p> <p>S/Famille : <i>Pooideae</i></p> <p>Tribu : <i>Triticeae</i></p> <p>Genre : <i>Hordeum</i></p> <p>Espèce : <i>Hordeum vulgare L.</i></p>	<p>Règne : <i>Planate</i></p> <p>Sous-règne : <i>Tracheobionta</i></p> <p>Division : <i>Magnoliophyta</i></p> <p>Classe : <i>Liliopsida</i></p> <p>S/Classe : <i>Commelinidae</i></p> <p>Ordre : <i>Cyperales</i></p> <p>Famille : <i>Gramineae</i></p> <p>Tribu : <i>Triticeae</i></p> <p>Genre : <i>Triticum</i></p> <p>Espèce : <i>Triticum turgidum</i></p> <p>Synonymes : <i>Triticum durum</i></p>
	
<p>a : Orge (Sidi Makhlouf) ; b : Orge (M'Sila)</p> <p>c : Mermez (Sidi Makhlouf) ; d : Mermez (M'sila)</p>	<p>a : Blé (Sidi makhlouf) ; b : Blé (M'Sila)</p> <p>c : Frick(Sidi makhlouf) ; d :Frick (M'sila)</p>

- **Le blé dur** (*Triticum durum*):

Est une espèce de blé caractérisée par son amande (intérieur du grain) dure et vitreuse. Cultivée depuis la Préhistoire, cette céréale est riche en protéines. Le blé dur contient des antioxydants qui aident à éliminer les toxines et les radicaux libres de votre corps. En outre, elle contient des composés phénoliques qui aident à éliminer les toxines, les carcinogènes, les radicaux libres, et autres produits chimiques nocifs présents dans le sang (Alex, 2016).

- **L'orge** (*Hordeum vulgare* L):

Est une plante herbacée annuelle, à tiges dressées, robustes, poussant en touffes et pouvant atteindre de 60 à 120 cm de haut. Les feuilles peu nombreuses sont alternes, au limbe linéaire-lancéolé, la feuille supérieure très proche de l'épi. Le limbe foliaire peut atteindre 25 cm de long sur environ 1,5 cm de large la gaine est lisse, striée, avec une ligule courte et membraneuse. L'orge est caractérisé par un fort tallage supérieur à celui du blé et un système racinaire plus superficiel et moins important (Soltner, 1986). L'orge aide à la diminution du risque d'affection cardiaque, la consommation importante de fibres (le son) entraîne une diminution du risque de développement d'un diabète (Salfer et al., 2002).

II.1.2. Standards et réactifs

Les produits chimiques utilisés dans ce travail, sont d'un grade analytique élevé sont résumées dans le **Tableau 4**.

Tableau 4: Produits chimiques et réactifs utilisés dans ce travail.

Produits	Firme
Acide gallique; Carbonate de sodium; Folin Ciocalteu ; Diméthylsulfoxyde (DMSO). Ethanol ; Tartrate double de potassium et de sodium ; Carbonate de sodium ; Albumine, Sulfate de cuivre ; DPPH(2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle), Chlorure de fer, l'ammoniac , Acide sulfurique	Sigma - Aldrich
Vitamine C (Acide ascorbique)	Analar Normapur
Chlorure d'aluminium	VWR (France)
HCl (Acide Chlorhydrique 37%)	Riedel de Haën

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation des échantillons:

Les quatre échantillons citées précédemment ont été nettoyés et séchées à l'air libre (à l'ombre). Après le séchage, chaque échantillon sec obtenu est réduit 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 nous sommes concentrée sur le son de chaque échantillon. Le protocole de la préparation des échantillons est présenté dans la **Figure 4**.

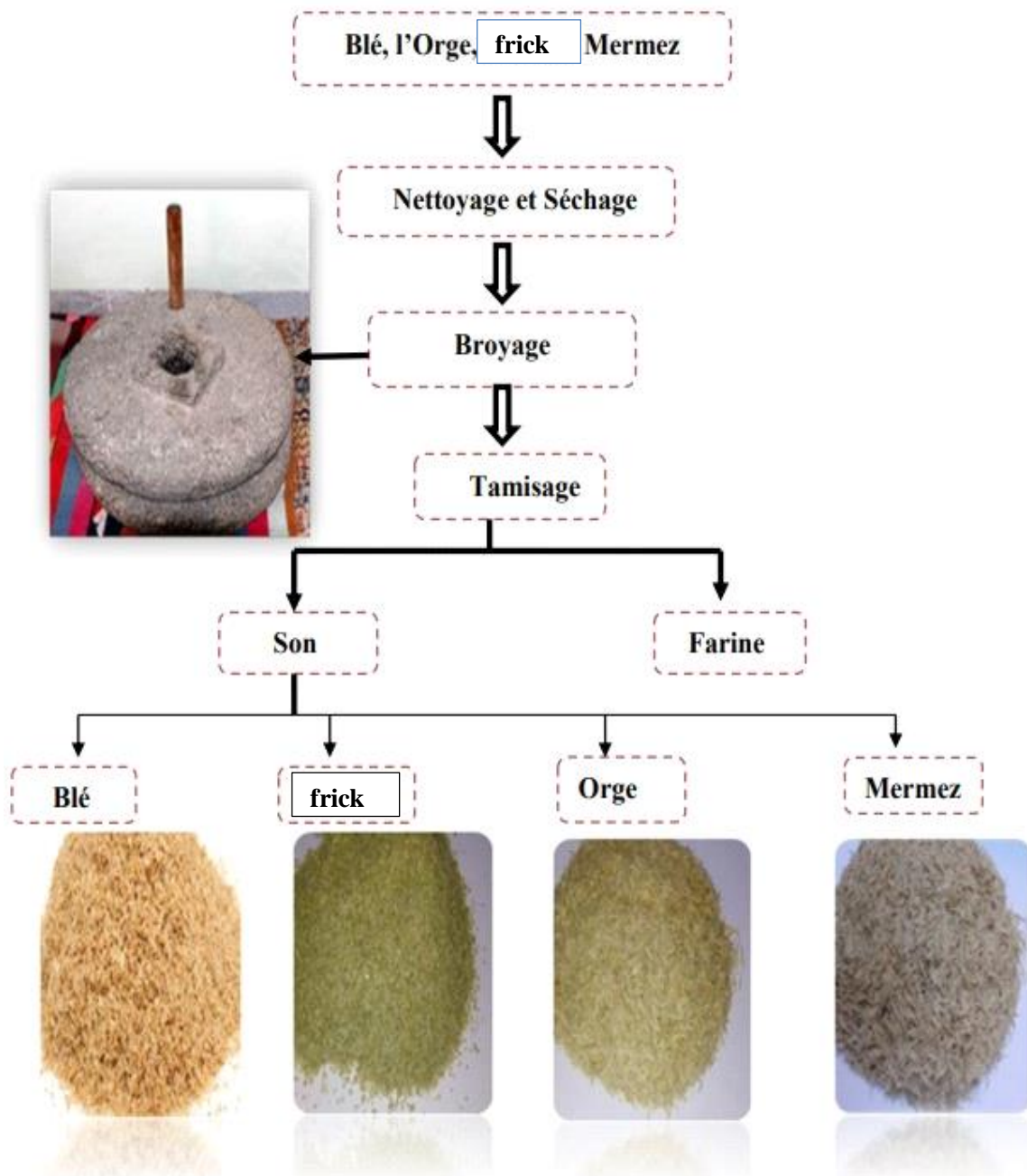


Figure 4 : Schéma récapitulatif de la préparation des échantillons

II.2.2. Extraction des composés phénoliques par ultrasons :

5 g de sons de chaque échantillons ont été extraits par ultrason en utilisant un volume de 50 ml de plusieurs solvants à savoir : méthanol, eau, acétone, méthanol/eau ; 8/2 : V/V et acétone/eau ; 7/3 : V/V pendant une heure à une température de 60°C. Les extraits ont été filtrés, évaporés puis pesés. La masse de chaque résidu sec est mesurée ensuite solubilisée dans un volume connu de DMSO puis transférée dans des flacons hermétiquement fermés ce qui nous a donc permis d'obtenir 40 extraits bruts. Ils sont ensuite conservés au réfrigérateur jusqu'à leur analyse.

Le rendement d'extraction de chaque extrait a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement \%} = \left(\frac{m_r}{m_s} \right) \times 100$$

m_r : Masse en gramme de résidu.

m_s : Masse en gramme de la matière sèche initiale.

II.2.3. Quantification des composés phénoliques

II.2.3.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par **(Singleton et Rossi, 1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu qui est un acide de couleur jaune constitué par un mélange de deux acides : acide phosphotungstique et acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe bleu constitué d'oxydes de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur produite, dont l'absorption maximum est au voisinage de 760 nm, est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux **(Boizot et al., 2006)**.

Courbe d'étalonnage

À partir d'une solution mère d'acide gallique (étalon choisi), des solutions de différentes concentrations ont été préparées. 100 µl de chaque solution diluée ont été suivis par l'ajout de 500 µl du réactif de Folin- Ciocalteu dix fois dilué. Après deux minutes, 2 ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 2% (m/v) sont ajoutés, les solutions ainsi obtenues ont été maintenues à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance de chaque solution préparée est mesurée par un spectrophotomètre UV Visible de type Shimadzu 1601, à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc.

Les teneurs en composés phénoliques totaux des différents extraits étudiés ont été calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et sont exprimées en milligramme d'équivalents de l'acide gallique par 100 gramme de la matière sèche (mg EAG/100g MS). Tous les essais ont été reproduits au moins trois fois.

II.2.3.2. Test phytochimique des flavonoïdes

Les analyses qualitatives sur les extraits des végétaux est une étape préliminaire et d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants connus par leur activités physiologiques et possèdent des vertus médicinales.

Nous avons utilisé des tests phytochimique simples, afin de déterminer la présence et/ou l'absence des différentes familles des métabolites secondaires (flavonoïdes et tanins) existant dans le son de ces céréales.

Nous avons utilisés deux tests phytochimiques simples :

1. Un volume de 200µl de chaque solution diluée est mélangé avec 2 ml d'eau distillée puis 1 à 3 gouttes (40µl) de solution de tri-chlorure d'aluminium. Par la suite, les solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 15 min. La présence des flavonoïdes est mise en évidence sur une couleur jaune (**Harrat, 2020**).
2. Traiter 1 ml de l'extrait aqueux avec 1 ml de NH₃ dilué et du H₂SO₄. La présence des flavonoïdes est mise en évidence sur une couleur rose ou rouge (**Hadjali, 2017**).

II.2.3.3. Test phytochimique des tanins condensés

La réaction au chlorure ferrique (FeCl₃) a permis de caractériser les tanins. A 200µl de chaque d'extrait, nous avons ajouté 2 ml d'eau distillée puis 1 à 3 gouttes (40µl) de solution de chlorure ferrique.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur bleu noir caractéristique des tanins hydrolysables, ou d'une couleur brune verdâtre caractéristique des tanins condensée (**Trease et Evans, 1987**).

II.2.4. Dosage des protéines totales :

Afin de déterminer les teneurs des protéines de réserve de sons du blé dur, de l'orge de mermez et du frick, le dosage des protéines est réalisé par la méthode de Biuret. Les résultats des dosages ont permis de donner des estimations des protéines totales de réserve.

Le dosage est basé sur la présence des liaisons peptidiques. Cette méthode est couramment utilisée pour sa rapidité et sa simplicité. Les liaisons peptidiques forment avec le réactif de

Gornall forment un complexe stable de coloration violette qui absorbe à la lumière visible à 540 nm. Le réactif de Gornall est composé de sulfate de cuivre (coloration bleu du réactif dû aux ions (Cu^{2+}) , hydroxyde de sodium et le tartrate double de sodium et potassium qui chélate les ions de (Cu^{2+}) pour éviter leur précipitation en milieu très alcalin, d'hydroxyde de cuivre insoluble et en présence de l'iodure de potassium pour éviter la réduction de cuivre (Graviliare et al., 1996).

Courbe d'étalonnage

A partir d'une solution mère d'albumine (choisi comme étalon) de 10g/l, plusieurs solutions filles ont été préparées avec des concentrations bien connues, une quantité de 300 μl de chaque solution et ajoutée à 900 μl de réactif de Gornall après incubation pendant 30 min à l'obscurité, la lecture des différentes absorbances a été faite dans un spectrophotomètre à 540 nm contre un blanc dans un spectrophotomètre UV-Visible de type Shimadzu-UV-1601. Une courbe d'étalonnage a été obtenue en traçant la variation de l'absorbance en fonction de la concentration.

Les teneurs en protéines totales des différents extraits étudiés ont été calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de l'albumine et sont exprimées en milligramme d'équivalents d'albumine par gramme de la matière sèche (mg EAL/g MS). Tous les essais ont été reproduits au moins trois fois.

II.2.5. Activité antioxydante

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits étudiés est réalisée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH

- **Activité antioxydant par le test de piégeage du radical DPPH**

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de nos extraits, a été réalisée par un test chimique. Dans ce test chimique, on s'intéresse à mesurer l'activité de balayage de radical libre par les fractions antioxydants en employant le 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH).

Le DPPH est un radical libre très stable, contrairement aux radicaux libres générés *in vitro*, tels que le radical hydroxyle et l'anion superoxyde, l'avantage de DPPH est qu'il n'est pas affecté par certaines réactions secondaires, telles que la chélation des ions métalliques et l'inhibition des enzymes. Une solution de DPPH fraîchement préparée présente une couleur violet foncé avec un maximum d'absorption à 517 nm. Cette couleur violette se dissimule

généralement lorsque les molécules antioxydants piègent les radicaux libres DPPH (**Figure 05**) (**Chevalley, 2000**).

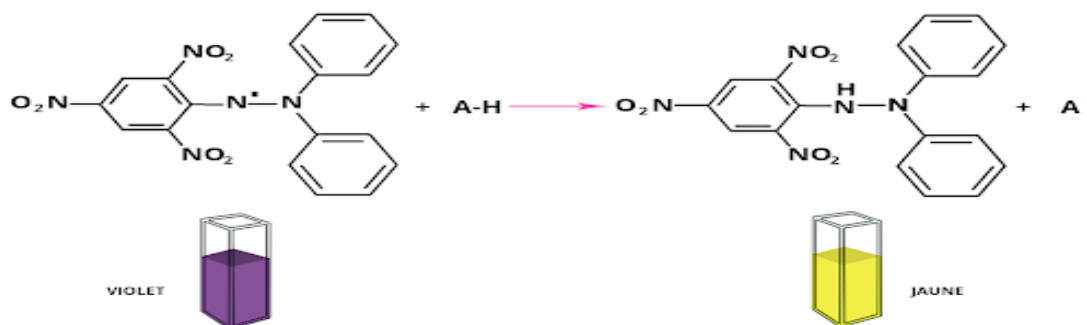


Figure 05: Réaction du radical libre DPPH avec un antioxydant.

100 µl de chaque extrait ou de l'antioxydant de référence (Vitamine C) à différentes concentrations est additionné à 1ml d'une solution de DPPH (100mM) (préparée dans l'éthanol). Les mélanges réactionnels ont été secoués immédiatement, puis ils sont maintenus à l'obscurité pendant 20 minutes à température ambiante pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc dans un spectrophotomètre UV-Visible de type Shimadzu-UV-1601 (**Kone, 2009 ; Atoui et al., 2005**). Tous les essais ont été reproduits au moins trois fois.

A partir de la valeur de l'absorbance du milieu mesurée en présence de l'extrait antioxydant de la pente de la courbe d'étalonnage de l'antioxydant de référence, nous avons déterminé les coefficients de l'activité antioxydant des extraits étudiés exprimée en valeur VCEAC (Capacité Antioxydant Equivalent en Vitamine C)

Le pouvoir antiradicalaire (PA%) est calculé par la relation suivante :

$$PA\% = (A_0 - A_{\text{extrait}} / A_0) \times 100$$

A₀: absorbance du control négatif.

A_{extrait} : absorbance en présence de l'extrait.

Résultats Et Discussions

III- Résultats et discussions

III.1. Rendements d'extraction et teneurs des composés phénoliques

III.1.1. Rendements d'extraction

La nature du solvant est très importante pour pouvoir extraire les molécules d'intérêt si possible, de façon sélective, le solvant, alors doit avoir une affinité importante pour les molécules ciblées et posséder une grande capacité de dissolution. En effet, une faible viscosité facilitera la pénétration du solvant dans la matière solide ainsi le transfert de matière au sein de la phase liquide (Penchev *et al.*, 2020).

Dans ce travail, on a utilisé l'eau et le méthanol et l'acétone dont la polarité sera moyenne par rapport aux mélanges méthanol/eau et acétone/eau qui présentent des polarités élevées ce qui nous a permis d'obtenir 40 extraits de différentes couleurs (Figure 06) issu des quatre échantillons utilisés.

D'autre part il faut savoir que les solvants organiques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité (Satyajit, 2006).

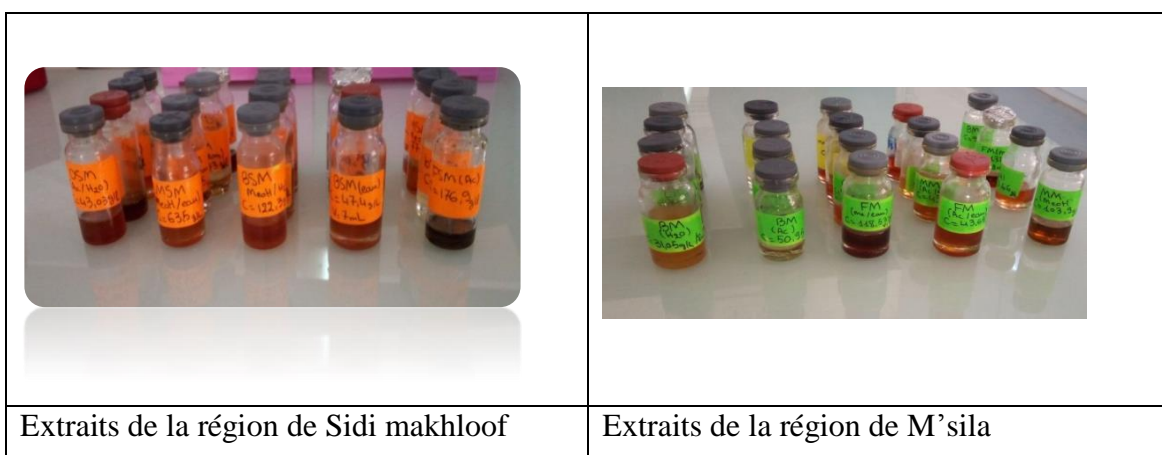


Figure 06 : Couleurs des extraits : blé dur, orge, frick et mermaz de M'sila et de Sidi makhloof

Il est constatable que les extraits sont différents par leurs couleurs, allant de la couleur orange au marron clair jusqu'au marron foncé et cela selon le solvant d'extraction et la nature de la source végétale à savoir : le frick, l'orge, le blé et le mermez.

Les rendements d'extraction des différents échantillons de céréales sont consignés dans le **Tableau 05**

Tableau 05: Rendement d'extraction des différents échantillons

M'sila	Frick	Mermez	Orge	Blé
Ex H ₂ O	6,1	4,2	4	6,3
Ex MeOH	7,9	2,1	4,4	5,9
Ex Ac	5,7	0,8	0,8	2,5
Ex (MeOH/H ₂ O)	8,8	7,4	4,8	9,8
Ex (Ac/H ₂ O)	6,4	5,3	3,5	6,3
Sidi makhlouf	Frick	Mermez	Orge	Blé
Ex H ₂ O	14,9	5,4	6,3	9,8
Ex MeOH	6,6	3,5	3,3	4,7
Ex Ac	4,8	0,9	0,8	2,5
Ex (MeOH/H ₂ O)	8,8	6	7,2	8,1
Ex (Ac/H ₂ O)	6,8	5,1	4,8	6,6

Les rendements d'extraction varient d'un échantillon à l'autre et d'une région à l'autre, ils varient de 0,8 à 9,8 % pour la région de M'sila et de 0,8 à 14,9% pour celle de Sidi makhlouf. La plus importante valeur du rendement d'extraction a été pour le frick de la région de Sidi makhlouf du système aqueux avec 14,9%, par contre dans la région de M'sila c'est le blé qui a exposé la valeur la plus importante dans le système de solvant hydrométhanolique avec 9,8%, d'un autre coté les plus faibles rendements dans les deux régions sont marqués par l'orge et mermez dans tous les systèmes de solvants. Une remarque qui attire l'attention aussi est que les rendements dans tous les extraits de sons de blé sont les plus importantes suivi de sa partie immature sons de frick et cela dans les deux régions.

En comparant les systèmes de solvants, il est remarquable que l'acétone présente les plus faibles valeurs de rendements dans tous les échantillons des deux régions.

III.1.2. Teneur en phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué avec le réactif de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes adoptées dans la plupart des travaux concernant les antioxydants naturels. Elle est considérée comme étant la meilleure méthode spectrophotométrique pour la quantification de ce type de métabolites.

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Figure 07**) et exprimée en milligrammes équivalent en acide gallique (EAG) par 100 gramme de la matière sèche. Ces valeurs représentent la moyenne de trois essais réalisés en parallèle \pm SD. Les résultats obtenus sont présentés dans le (**Tableau 06**).

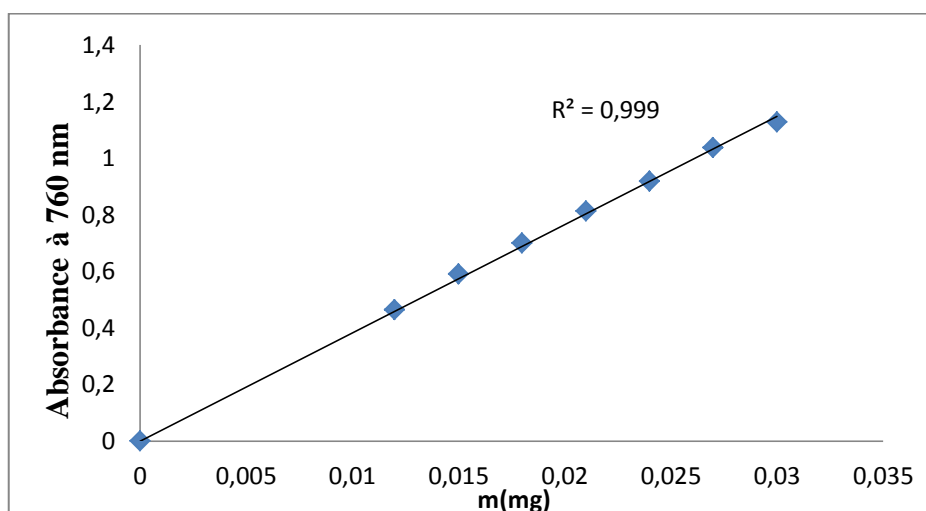


Figure 07: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

L'examen des résultats du dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits des différents échantillons de sons de céréales divulgue une forte hétérogénéité des teneurs en polyphénols totaux en fonction du solvant d'extraction utilisé, le type de céréale et la région de collecte (**Tableau 06**). Les résultats obtenus montrent que les teneurs en composés phénoliques varient entre 6,45 et 283,75mg EAG/100g MS pour la région de Sidi makhoulf contre 9,04 et 343,01mg EAG/100g MS pour la région de M'sila. Les taux des composés phénoliques les plus élevés ont été détectés dans les extraits hydrométhanoliques, tandis que les teneurs les plus faibles sont remarqués dans les extraits acétoniques et cela dans les deux régions. En outre, nous avons enregistré que les extraits qui ont donné un rendement important en résidu sec n'ont pas offert en parallèle une teneur

importante en phénols totaux. Ce résultat pourra être expliqué par le fait que la polarité des solvants n'influe pas sur le type de composés phénoliques.

Tableau 06: Teneur en polyphénols totaux des quatre échantillons étudiés de la région de Sidi makhoulouf et de M'sila en **mg EAG/100g MS**

Sidi makhoulouf	Frick	Mermez	Orge	Blé
Ex H ₂ O	227,88±1,50	107,63±3,93	165,72±2,82	243,3±3,00
Ex MeOH	85,02±0,97	92,25±0,60	109,25±2,52	58,61±0,33
Ex Ac	7,20±0,22	6,45±0,12	12,16±1,23	19,85±1,87
Ex (MeOH/H ₂ O)	191,83±6,20	222,01±1,05	283,75±2,73	124,57±0,59
Ex (Ac/H ₂ O)	171,78±1,25	147,23±1,67	142,43±2,60	58,94±0,11
M'sila	Frick	Mermez	Orge	Blé
Ex H ₂ O	94,36±0,44	73,57±1,67	95,63±0,68	100,71±3,90
Ex MeOH	157,21±0,00	94,92±0,31	54,70±1,75	71,24±1,93
Ex Ac	33,04±0,53	9,04±0,50	19,10±0,65	10,29±0,14
Ex (MeOH/H ₂ O)	208,74±4,07	200,63±0,94	78,66 ±4,84	343,01±5,30
Ex (Ac/H ₂ O)	152,12±4,11	180,27±4,70	167,11±1,40	69,29±0,22

Aussi nous avons constaté que les proportions les plus élevées de polyphénols dans toutes les céréales dans les différents solvants sont contenues dans la région de M'sila à l'exception de l'extrait aqueux de la région de Sidi makhoulouf où il présente des teneurs plus importantes par rapport à celle de M'sila.

Nous avons trouvé aussi qu'il est important de relever les points suivants :

- Pour la région de Sidi makhoulouf, l'extrait hydrométhanolique représente la teneur la plus élevée en phénols totaux (283,75 mg EAG /100 g MS) pour l'orge. Tandis que la plus faible teneur est remarquée pour le système acétonique (6,45 mg EAG/100 g MS) pour le mermez. Par contre l'extrait hydrométhanolique représente la teneur la plus élevée en phénols totaux (343,01 mg EAG /100 g MS) pour le blé, tandis que la plus faible teneur est remarquée dans le système acétonique (9,04 mg EAG/100 g MS) pour le mermez et cela dans la région de M'sila.

- Le taux en composés phénoliques dans les extrait acétonique de la région de Sidi makhoulf varie comme suit : blé > orge > frick > mermez par contre dans la région de M'sila on trouve : frick > orge > blé > mermez.
- Concernant les extraits méthanoliques de la région de Sidi makhoulf, la teneur la plus élevée est remarquée dans les sons de l'orge suivi par le mermez ensuite par le frick puis enfin par le blé, alors que dans la région de M'Sila on remarque que la teneur la plus élevée est pour l'extrait de frick suivi par le mermez ensuite par le blé et la plus faible teneur est attribuée à l'orge.
- Dans le système aqueux, le son de blé prends la tête avec les teneurs les plus importantes et le mermez en dernière position avec les plus faibles teneurs en phénols totaux dans les deux régions.
- Dans le système de solvant MeOH/H₂O, les teneurs en composés phénoliques totaux de sons de toutes les céréales de la région de M'sila varient en proportion inverse que celles de la région de Sidi makhoulf.
- Concernant les extraits hydro-acétonique : Dans la région de Sidi makhoulf, la teneur plus élevée est enregistrée pour le frick (171,78 mg EAG /100 g MS), suivi par le mermez (147,23 mg EAG/100gMS) suivi par l'orge (142,43mg EAG /100 g MS) est en fin par le blé (58,94 mg EAG /100 g MS). Or que dans la région de M'sila, la teneur la plus élevée est attribuée au mermez (180,27 mg EAG /100 g MS), suivi par l'orge (167,11 mg EAG /100 g MS), ensuite par l'extrait de frick (152,12 mg EAG /100 g MS) finalement l'extrait de blé (69,29 mg EAG /100 g MS).

En conclusion, la variabilité des teneurs en polyphénols totaux dans ces céréales est du probablement à la composition chimique entre les tissus des végétaux des échantillons d'une part et au stade de maturation non abouti, ainsi qu'aux conditions extrinsèques (la nature du sol, la température, reboisement en eaux...) et aussi aux étages bioclimatiques des deux régions où poussent ces plantes.

L'inconvénient majeur de ce test est que le réactif du Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux composés phénoliques, mais il réagit avec tous autres composés qui contiennent un groupement OH comme les sucres, les protéines et les pigments parce qu'une telle extraction ne donne pas que les composés phénoliques (**Djeridane et al, 2007**).

III.1.3. Analyse phytochimiques des extraits

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existants dans une plante par des réactions qualitatives de caractérisations. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques.

Le criblage phytochimique des réactions colorées a été réalisé sur quelques extraits de céréales investigués. Ce screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence ou pas de de certaines métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux dans ces céréales.

Les flavonoïdes comme l'un des groupes les plus diverse et répandue des composés naturels, se sont probablement les composés phénoliques naturels les plus importants. Ces composés possèdent un large spectre d'activités chimiques et biologiques, y compris les propriétés anti-radicalaires (Djeridane *et al.*, 2010).

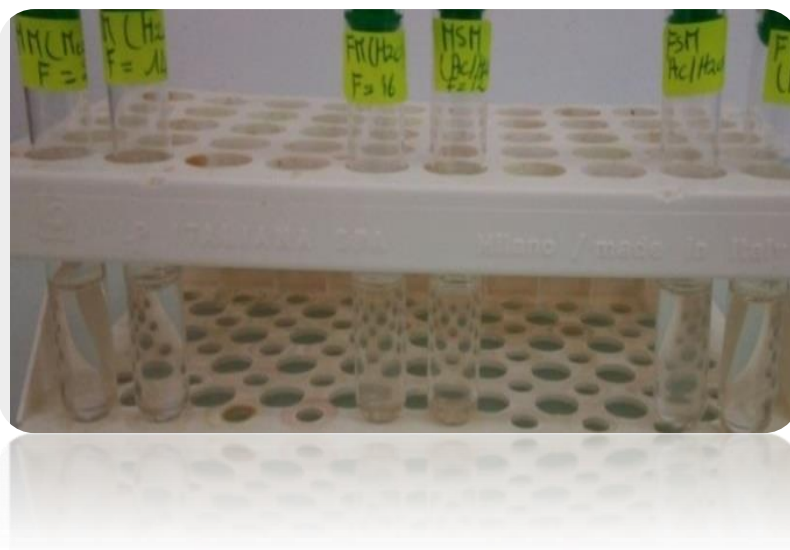


Figure 08: Photographie des résultats des tests phytochimiques des flavonoïdes

Les résultats des deux tests phytochimiques ont révélé l'absence de flavonoïdes dans quelques extraits par l'absence de coloration jaune et rose (tests négatifs) (**Figure 08**).

Les tanins qui font partie des composés phénoliques manifestent les propriétés de la vitamine P. Ils renforcent les vaisseaux sanguins et contribuent à l'accumulation de la

vitamine C dans l'organisme (Etutu, 2007).

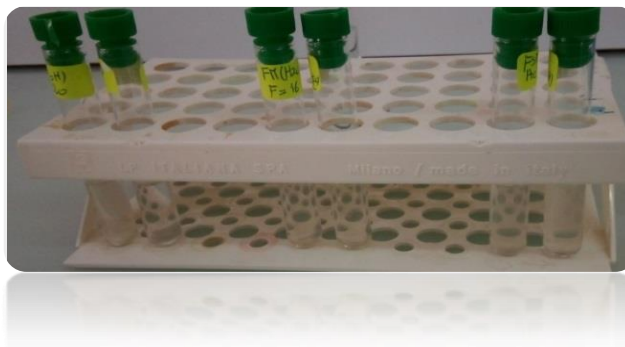


Figure 09 : Photographie des résultats des tests phytochimiques des tanins

Les tanins ont été mis en évidence dans les extraits par le réactif de FeCl_3 . La présence de cette famille n'a été observée dans aucun des extraits (absence de coloration bleu noir ou brune verdâtre) (**Figure 09**)

III.2. Teneur en protéines totales

La quantité des protéines dans nos extraits a été déterminée à partir la courbe d'étalonnage de l'albumine en suivant la méthode de Biuret (**Figure 10**), est exprimée en milligrammes équivalent en albumine par gramme de la matière sèche (mg EAL/g MS). Ces valeurs représentent la moyenne de trois essais réalisés en parallèle \pm SD.

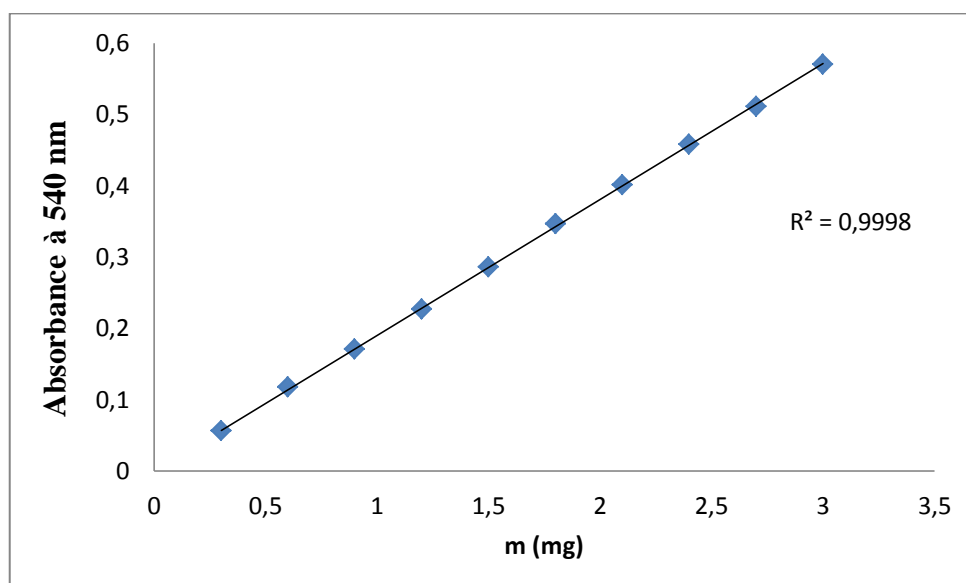


Figure 10: La courbe d'étalonnage de l'albumine.

Les résultats ont permis de donner des estimations sur les quantités de protéines totales dans tous les extraits (**Tableau 7, Tableau 8**).

Tableau 07:Teneurs en protéines des quatre échantillons étudiés de la région de Sidi makhlouf exprimées en **mg EAL/g MS**

Solvant	Frick	Mermez	l'Orge	Blé
H ₂ O	47,66±171,1	6,80±0,79	13,17±0,54	13,2±2,07
MeOH	123,55±8,28	12,82±0,08	7,02±0,63	82,45±1,88
Ac	27,44±1,20	17,85±0,23	24,44±0,89	48,35±0,59
(MeOH/H ₂ O)	107,28±0,20	13,90±0,28	14,13±0,66	100,23±2,55
(Ac/H ₂ O)	180,57±7,41	18,74±0,81	6,48±0,77	88,39±3,95

Les sons des céréales des deux régions ont montrés des teneurs en protéines très importantes et qui varient de 6,48 mg EAL/g MS à 180,57 mg EAL/g MS pour le site de Sidi makhlouf **Tableau 07** et de 6,87 mg EAL/g MS à 182,62 mg EAL/g MS pour celui de M'sila (**Tableau 08**).

La région de Sidi makhlouf a exhibé les teneurs les plus élevées dans le son de frick en utilisant les solvants d'extraction aqueux, méthanolique, hydrométhanolique et acétoniques avec 47,66 mg EAL/g MS, 123,55 mg EA/g MS, 107,28 mg EAL/g MS et 180,57 mg EAL/g MS respectivement. Or que les teneurs les plus élevées dans la région de M'sila sont attribuées aux extraits hydroacétonique de sons de blé et d'orge avec 182,62 mg EAL/g MS et 162,27 mg EAL/g MS respectivement.

On constate aussi que les plus faibles teneurs en protéines sont remarquées dans les extraits méthanolique et hydrométhanolique de l'orge ainsi que l'extrait mermez aqueux dans la région de Sidi makhlouf et par l'extrait aqueux de l'orge de la région de M'sila.

Egalement, il est aussi à noter que les extraits de sons de mermez et de l'orge présentent les teneurs les plus faibles en protéines dans tous les solvants d'extraction des deux régions à l'exception de l'extrait méthanolique de la région de M'sila où les sons de frick a montré la plus faible valeur (12,80 mg EAL/g MS).

Tableau 08:Teneur en protéines des quatre échantillons étudiés de région Sidi makhlouf en mg EAL/g MS M'sila

Solvants	Frick	Mermez	l'Orge	Blé
H ₂ O	23,15±0,87	17,30±1,92	6,87±1,10	13,93±0,80
MeOH	12,80±1,92	76,47±0,52	32,51±0,49	31,26±1,29
Ac	120,47±0,28	10,40±0,06	12,92±1,44	68,69±1,64
(MeOH/H ₂ O)	115,22±0,17	23,32±2,27	12,37±2,77	148,71±6,00
(Ac/H ₂ O)	102,50±2,03	17,35±0,41	162,27±0,00	182,62±2,06

Nous mentionnons que les extraits aqueux possèdent les plus faibles teneurs en protéines par rapport aux extraits des autres systèmes d'extraction or que le système d'extraction hydroacétonique renferme les valeurs les plus élevées en protéines.

Les résultats obtenus à partir du dosage des protéines totales par la méthode de biuret, révèle une richesse remarquable en composés protéiques par ces céréales. En effet il est préférable de quantifier les composés protéiques dans le son de ces céréales à travers des extraits obtenus par des solvants adoptés aux protéines (exemple : l'eau salée).

III.3. Evaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH

L'activité antioxydant de nos extraits a été évaluée par le test de l'effet scavenger du radical libre DPPH., les résultats sont exprimés en milligramme équivalent en vitamine C (antioxydant de référence) par cent grammes de matière sèche ou tout simplement VCEAC (Vitamine C Equivalent Antioxidant Capacity). Les valeurs VCEAC les plus élevées correspondent aux activités antiradicalaires les plus fortes.

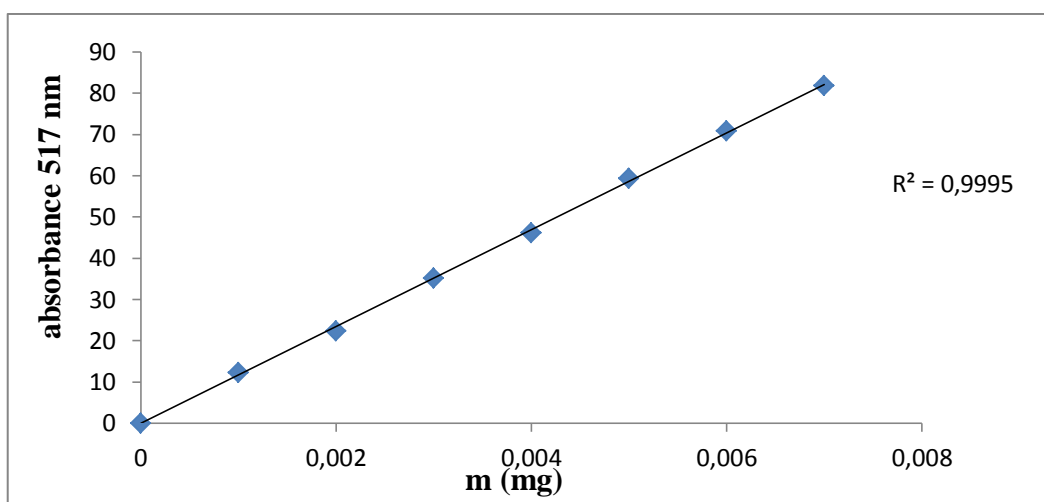


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la vitamine C par le test de DPPH.

A l'aide de la courbe d'étalonnage de la vitamine C (**Figure 11**), nous avons évalué l'activité antioxydant des différents extraits exprimée dans le **Tableau 09 et 10**. Ces valeurs représentent la moyenne de trois essais réalisés en parallèle \pm SD.

En analysant l'ensemble des résultats, il est remarquable que les extraits de sons de frick de la région de Sidi makhlouf possèdent un potentiel antioxydant important pour tous les systèmes de solvants utilisés comparant aux autres extraits et dont les VCEAC varient entre 2,02 et 15,21 mg EVC /100gMS **Tableau 9**, or que dans la région de M'sila l'activité antiradicalaire la plus puissante a été montrée par les extraits de blé avec des valeurs allant de 6,35 à 11,91 mg EVC /100gMS **Tableau 10**.

Tableau 09 : Les valeurs de VCEAC exprimées en mg E VC/100g MS des extraits de sons des céréales investiguées de la région de Sidi makhlouf

Solvants	frick	mermez	l'orge	blé
Ex H ₂ O	15,21 \pm 0,07	4,93 \pm 0,10	6,90 \pm 0,05	12,78 \pm 0,16
Ex MeOH	7,42 \pm 0,44	1,91 \pm 0,04	1,02 \pm 0,05	5,85 \pm 0,13
Ex Ac	2,02 \pm 0,08	0,79 \pm 0,01	0,85 \pm 0,00	2,65 \pm 0,01
Ex (MeOH/H ₂ O)	9,19 \pm 0,06	2,75 \pm 0,10	2,72 \pm 0,10	8,94 \pm 0,09
Ex (Ac/H ₂ O)	6,10 \pm 0,01	0,74 \pm 0,01	1,88 \pm 0,01	5,67 \pm 0,04

Les plus faibles activités antiradicalaires ont été exhibées par les extraits de sons de mermez et de l'orge dans tous les systèmes de solvants dans les deux régions, néanmoins le site de M'sila a montré des valeurs en VCEAC pour ces deux céréales plus au moins

importantes que celles de Sidi makhlouf, les valeurs enregistrées sont de 0,85 à 6,9 mg EVC /100gMS pour l'orge de la région de Sidi makhlouf contre 0,88 à 6,09 pour celui de M'sila, alors que les valeurs en VCEAC de sons de mermez sont de 0,74 à 4,93 mg EVC /100gMS pour la région de Sidi makhlouf contre 0,82 à 4,87 mg EVC /100gMS.

Il est constatable aussi que les extraits aqueux présentent globalement l'activité antiradicalaire la plus élevée suivie par les extraits hydrométhanoliques, méthanolique, et hydroacétonique. Tandis que l'activité la plus faible est montrée par les extraits acétoniques et ceux-ci dans les deux sites de collecte et dans tous les types de céréales.

Tableau 10 : Les valeurs de VCEAC exprimées en mg E VC/100g MS des extraits de sons des céréales investiguées de la région de M'sila

Solvants	frick	Mermez	l'orge	blé
Ex H ₂ O	6,85±0,17	4,87±0,00	6,09±0,01	11,91±0,15
Ex MeOH	7,20±0,14	3,17±0,07	1,49±0,08	7,65±0,09
Ex Ac	3,42±0,07	0,82±0,04	0,88±0,01	1,44±0,06
Ex (MeOH/H ₂ O)	5,38±0,13	2,49±0,15	3,88±0,13	11,29±0,22
Ex (Ac/H ₂ O)	4,88±0,10	1,46±0,01	3,30±0,02	6,35±0,04

Si nous revenons aux résultats du dosage des composés phénoliques nous constatons la richesse des extraits aqueux en composés phénoliques ce qui explique la grande activité antioxydante présentée par ces extraits. Ceci signifie que la polarité du solvant (eau) affecte sa capacité à extraire certains groupes de composés antioxydant et influence ainsi l'estimation de l'activité antioxydante. Les études menées par (**Gulçin et al., 2003**) et (**Tepe et al., 2005**), indiquent que le solvant d'extraction a une influence sur l'activité antioxydante des extraits.

L'activité antioxydante de tous les extraits ne varie pas dans le même sens (absence de tendance), c'est à-dire que le classement du pouvoir antioxydant dans les extraits de l'orge n'est pas le même avec celui du mermez et celui du blé dur n'est pas le même que le frick. Une explication peut être donnée pour cette constatation est que les différents extraits renferment des composés phénoliques individuels de structures chimiques différentes (relation structure-activité) et parfois des concentrations variables. Une analyse CLHP est nécessaire pour confirmer cette constatation.

Une recherche a été menée par nos collègues **Zemala et Djebrit** sur les mêmes extraits en utilisant deux tests chimiques *in vitro*, il s'agit du pouvoir piègeur du radical cationique ABTS^{•+} et du pouvoir réducteur du fer FRAP.

Les résultats obtenus par les deux tests révèlent que les extraits hydrométhanolique et hydroacétonique de sons de tous les céréales étudiés sont doués d'une importante activité antioxydante réductrice et antiradicalaire, par contre les plus faibles valeurs sont remarquées dans les extraits acétoniques. Nos extraits ne varient pas dans le même sens que ceux montrés par nos collègues ce qui explique la contenance des extraits de différentes molécules qui ne réagissent pas de la même manière contre le stress oxydatif (donneurs de protons et d'autre d'électrons)

Le test du radical libre DPPH[•] est largement utilisé dans l'étude des composés phénoliques en raison de leur facilité de mise en œuvre, sa stabilité et de sa rapidité ; temps d'incubation 20 min. De plus, les conditions utilisées (solvants organiques et faible température) permettent d'éviter l'auto oxydation des molécules testées et aussi de comparer un grand nombre de composés (**Belkheiri , 2010**).

En revanche, le radical DPPH[•] pose le problème de son instabilité à la lumière vu que son absorbance à 517 nm décroît sans l'intervention de quelconque antioxydant (**Portes, 2008**). C'est pourquoi les tests réalisés avec le DPPH[•] doivent impérativement se faire à l'obscurité.

Afin de trouver une relation entre l'activité antiradicalaire et le contenu en composés phénoliques présent dans les différents échantillons, une corrélation matricielle a été montrée, basée sur la détermination du coefficient de corrélation qui a été déterminée à l'aide de Microsoft Excel 2010.

Une faible corrélation positive a été enregistrée entre les quantités en phénols totaux et l'activité antiradicalaire avec un coefficient de corrélation égale à 0,23. Cette valeur montre que 23% des activités antiradicalaire dans le test de DPPH dans nos échantillons sont dus à la présence de ces métabolites. Ces résultats confirment que les polyphénols ne sont pas les seuls composés responsables des potentialités antioxydantes et qu'il doit y avoir d'autre composés actifs extraient à partir des différentes céréales en utilisant différents solvants.

Des faibles corrélations ont été enregistrées entre les quantités en protéines totales et l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH avec un coefficient de corrélation égale à 0.025 Cette valeur montre que les protéines totales sont très faiblement corrélées avec l'activité anti- radicalaire de ces extraits.

Conclusion Générale

VI. Conclusion générale

Le présent travail avait pour but d'étudier la présence de composés phénoliques et l'évaluation des propriétés antiradicalaires des différents extraits de sons des céréales (blé dur, orge, mermez et frick) de deux régions à savoir : Sidi makhlouf (Laghouat) et M'sila .

Tout d'abord, les extractions par ultrason de sons des céréales choisis en utilisant cinq systèmes de solvants différents (l'eau, méthanol, acétone, hydrométhanolique et hydroacétonique), nous en permis d'obtenir 40 extraits. Après extraction, nous avons quantifié la matière végétale en phénols totaux. L'examen des résultats du dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits des différents échantillons de sons de céréales divulgue une forte hétérogénéité des teneurs en polyphénols totaux en fonction du solvant d'extraction utilisé, le type de céréale et la région de collecte. Les résultats obtenues montrent que les teneurs en composés phénoliques varient entre 6,45 et 283,75mg EAG/100g MS pour la région de Sidi makhlouf contre 9,04 et 343,01mg EAG/100g MS pour la région de M'sila. En plus nous avons trouvé que les teneurs en composés phénoliques les plus élevés ont été détectés dans les extraits hydrométhanoliques, tandis que les teneurs les plus faibles sont remarqués dans les extraits acétoniques et cela dans les deux régions. Aussi nous avons constaté que les proportions les plus élevés de polyphénols dans toutes les céréales dans les différents solvants sont contenues dans la région de M'sila à l'exception de l'extrait aqueux de la région de Sidi makhlouf où il présente des teneurs plus importante par rapport à celle de M'sila.

D'autre part le criblage phytochimique par réactions colorées des flavonoïdes et des tannins, révèlent l'absence de ces familles dans la composition des phénols totaux.

En utilisant la méthode de Biuret nous avons trouvé une estimation des teneurs des protéines totales de sons des céréales des deux régions. Les résultats ont montrés des teneurs en protéines très importantes et qui varient de 6,48 mg EAL/g MS à 180,57 mg EAL/g MS pour le site de Sidi makhlouf et de 6,87 mg EAL/g MS à 182,62 mg EAL/g MS pour celui de M'sila. La région de Sidi makhlouf a exhibé les teneurs les plus élevées dans le son de Frick en utilisant les solvants d'extraction aqueux, méthanolique, hydrométhanolique et acétoniques avec 47,66 mg EAL/g MS, 123,55 mg EAL/g MS, 107,28 mg EAL/g MS et 180,57 mg EAL/g MS respectivement. Or que les teneurs les plus élevées dans la région de M'sila sont attribuées aux extraits hydroacétonique de sons de blé et d'orge avec 182,62 mg EAL/g MS et 162,27 mg EAL/g MS respectivement. Egalement,

il est aussi à noter que les extraits de sons de mermez et de l'orge présentent les teneurs les plus faibles en protéines dans tous les solvants d'extraction des deux régions à l'exception de l'extrait méthanolique de la région de M'sila où le son de frick a montré la plus faible valeur (12,8 mg EAL/g MS).

L'activité antioxydant de nos extraits a été évaluée par le test de l'effet scavenger du radical libre DPPH^{*}, les résultats sont exprimés en milligramme équivalent en vitamine C (antioxydant de référence) par cent grammes de matière sèche ou tout simplement VCEAC.

Les résultats ont montrés que les extraits de sons de frick de la région de Sidi makhlouf possèdent un potentiel antioxydant important pour tous les systèmes de solvants utilisés comparant aux autres extraits et dont les VCEAC varient entre 2,02 et 15,21 mg EVC /100gMS, or que dans la région de M'sila l'activité antiradicalaire la plus puissante a été montrée par les extraits de blé avec des valeurs allant de 6,35 à 11,91 mg EVC /100gMS. Les plus faibles activités antiradicalaires ont été exhibées par les extraits de sons de mermez et de l'orge dans tous les systèmes de solvants dans les deux régions, néanmoins le site de M'sila a montré des valeurs en VCEAC pour ces deux céréales plus au moins importantes que celles de Sidi makhlouf. Il est constatable aussi que les extraits aqueux présentent globalement l'activité antiradicalaire la plus élevée suivie par les extraits hydrométhanoliques, méthanolique, et hydroacétonique. Tandis que l'activité la plus faible est montrée par les extraits acétoniques et ceux-ci dans les deux sites de collecte et dans tous les types de céréales.

En perspective, des études complémentaires et approfondies devront être envisagées pour mieux comprendre l'implication des molécules dans d'autres tests d'activités biologiques. Il serait donc intéressant de procéder à une caractérisation qualitative des extraits de sons des céréales principalement en protéine à partir de solvants appropriés pour ces métabolites puis identifier et isoler les principes actifs responsables des effets antioxydants.

Références Bibliographiques

- **Adom KK and Liu RH**, 2005. Rapid peroxy radical scavenging capacity (PSC) assay for assessing both hydrophilic and lipophilic antioxidants. *J. Agric. Food Chem* ,53 :6572-6580.
- **Alex Simposon**, 2016. Qu'est-ce que l'agropyre ou herbe de blé 4 Bienfaits nutritionnels par Camille Thiebaut dans compléments alimentaires. Dans compléments alimentaires, on august 2,2016
- **Anson NM, Vanderberg R, Havenaar R, Bast A and Haenen M M.** 2008. Ferulic acid from aleurone determines the antioxidant potency of wheat grain (*Triticum aestivum* L). *J Agric Food Chem*, 56: 5589-5594.
- **Bahia Bouchafaa, Hanya Kherchi Medjden** 2012. Conférence : Les politiques publiques dans un contexte de crise économique: Champ, finalités, mesure et soutenabilité. Ecole nationale supérieure de statistique et d'économie appliquée
- **Belkheiri N**, 2010. Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes, thèse ; Univ toulouse III-paul sabatier, France, 244.
- **Boizot N et Charpentier J.P** 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthode et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. 79-82
- **(Bouchafaa et Kherch Medjden**, 2012. Essai de modélisation de la demande de blé en Algérie. *Algerian scientific journal platform.*, pp72-81
- **Ceccarelli S, Grandò S**, 2005. Decentralized-participatory plant breeding: Tuberosa In the wake of the double helix: from the green revolution to the gene revolution. 2005 Avenue media, Bologna, Italy, pp 145–156.
- **Djeridane A, Yousfi M, Najemi B, Vidal N, Lesgards JF, and Stocker P.** 2007. Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic Compounds and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.* 224 : 801-809.
- **Dupont F et J-L Guignard** 2004 *Botanique ; Systematique moleculaire* (13^E édition) Elsevier-masson abrégés de pharmacie , science & techniques., 116-117
- **Dvorakova M, Dostalek P, Skulilova Z, Jurkova M, Kellner V and Guido L F.** 2010. Barley and malt polyphenols and their antioxidant properties. *Kvasny Prum*, 56: 160-163.
- **Feillet, P**, 2000. le grain de blé. composition et utilisation. institut national de la recherche agronomie 147, rue de l'université Paris cedex 07. P 58-75 ; p 196-198.

- **Gravriolare M ,C. Schwartz, Gravriolovie,J. Wallach,M.J. Maginout.** 1996. Manipulation D'analyse Biochimique, PP 157 – 168.
- **Gulcin I,** 2006. antioxydant activity of caffeic acid(3,4-dihydroxycinnamic acid) toxicology .217,213-220
- **Hadjali . (2017).** Contribution à l'étude phytochimique des métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes et alcaloïdes) des feuilles de *Carlina acaulis* L. (Tafgha) de la région de Tlemcen. Mémoire de Master en Biologie .UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAÏD DE TLEMEN.
- **Kone WM, 2009 ; Atoui A.K et al,** 2005.traditional medicine in north cote-d'ivoire : screening of 50 medicinal plants.
- **Kristina P. et Marika L,** 2003. les antioxydants dans l'alimentation biotechnologie Finlande ,3 ;7380-1069.
- **MADR,** 2018. Statistique agricoles <http://madrp.gov.dz/agriculture/statistique-agricoles/>
- **Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C and Jimenez L.** 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.*, 79: 727–747.
- **Nacz M and Shahidi F.** 2006.Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J Pharm Biomed Analysis*, 41: 1523-1542.
- **Nsimba RY, Kikuzaki H and Konishi Y.** 2008. Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthusspp.* seeds. *Food Chem.*,106: 760-766.
- **Okarter N, Liu CS, Sorrels ME and Liu RH.** 2010. Phytochemical content and antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat. *Food Chem.*, 119, 249–257.
- **Perez-Jimenez, J, Arranz S, Tabernero M, Duazrubio M E, Serrano J, Goni I and Saura-Calixto F.** 2008.Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. *Food Res Intern.*, 41: 274-285.
- **Portes E.,** 2008.Synthèse et etudes de tétrahydrocurcuminoïdes : propriétés photochimiques et antioxydantes, Applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle, thèse doctorat- Univ ; Bordeaux I, 244
- **Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK and Kumar, RMNV.** 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. *J Contre Release*, 113: 189–207.

- **Romano AD, Serviddio G, de Matthaeis A, Bellanti F and Vendemiale G.** 2010. Oxidative stress and aging. *J Nephrol.*, 15: S29-S36.
- **RUE T.,** 2006. Document sur la culture du blé, édition Educ. agri.
- **Salfer G.A., Molina-Cano J.L., Savim R., Araus J.L et Romagosa I.,** 2002. Barley science recent advances from molecular biology to agronomy of yield and quality .665p.
- **Satyajit D, Zahid L, Alexander I,** 2006. Naturel products isolation. Humana press Inc. 999 Riveriew Drive, suite 208, Totowa, New jersey 07512.518p.
- **Singleton, V.L ; Rossi, J.A.** 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144-158.
- **Soltner L,** 1986. Les bases de la production végétale les techniques de production des céréales 1^{er} édition 472p.
- **Tepe B., Daferera D, Sokmen A., et Polissiou M.** 2005. antimicrobial and antioxydant activities of the essential oil and various extracts of salvia tomentosa Miller (Lamiaceae). *Food chemistry*, 90:333-340
- **Trease E & Evans WC.** 1987. Pharmacognosy. Billiare. Tindall. Londone 13 th Edn; pp; Vegetables and their antioxidant activities. *Free Radic Res*, Volume, 30: 62-153
- **Ward JL, Poutanen K, Gebruers K, Piironen, V, Lampi AM, Nystrom L,** Anderson, A A M, Aman P, Boros D, Rakszegie M, Bedo Z and Shewry PR, 2008. The health grain cereal diversity screen: Concept, results and prospects. *J Agric Food Chem.*, 56: 9699–9709.

المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى التقدير الكمي والنوعي للمركبات الفينولية والبروتينية لمستخلصات نخالة القمح الصلب، الشعير، الفريك والمرمز لمنطقتي سيدي مخلوف و المسيلة. تمت معايرة مستخلصات الميثانول والاسيتون والماء والهيدروميثانول والهيدرواسيتون للأنواع الأربعة من النخالة لتحديد فعاليتها المضادة للأكسدة بواسطة الاختبار DPPH تم تحديد كمية البوليفينولات الكلية بطريقة Folin ciocalteu , بحيث أظهرت النتائج كميات معتبرة من إجمالي المركبات الفينولية تتراوح ما بين 6,44 و 351,7 mg EAG/100gMS في ما كانت كميات البروتينات الكلية التي تم تحديدها بطريقة Biuret تتراوح بين 6,48 و 182,62 mg EAL/gMS . كما بينت النتائج التي تم الحصول عليها باختبار DPPH اختلاف في النشاط المضاد للجذور الحرة من نخالة لاخرى بحيث سمحت لنا هذه التجارب من معرفة الدور الذي تلعبه هذه العينات المدروسة في الحفاظ على المواد الغذائية والوقاية من الامراض التي تسببها الجذور الحرة.

الكلمات المفتاحية: النخالة، إجمالي المركبات الفينولية، النشاط المضاد للاكسدة DPPH ، المركبات البروتينية.

Résumé

Notre travail a pour objectifs l'estimation de la quantité et la qualité des composés phénoliques et protéiques des extraits de sons de blé dur, de l'orge, de mermez, et de frick de deux régions (m'sila et sidi makhlouf). Le dosage des composés phénoliques des différents extraits : méthanolique, acétonique, aqueux, hydrométhanolique et hydroacétonique pour les quatre type de sons a été effectué à l'aide du réactif de Folin-ciocalteu. Le dosage des protéines a été fait selon la méthode de Biuret en utilisant l'albumine comme étalon. L'activité antiradicalaire a été estimée en utilisant le test DPPH. Ces échantillons ont présentés des teneurs en phénols totaux avec des proportions variables, comprises entre 6.44 et 351.77 mg EAG/100gMS, les quantités en protéines ont enregistré des teneurs entre 6.48 et 182.62 mg EAL/g MS. Les résultats obtenus par le test DPPH montre qu'il existe une variation dans l'activité anti radicalaire d'un extrait de son à un autre. Ces résultats nous ont permis de connaitre le rôle de ces échantillons dans la prévention des maladies causées par le stress oxydatif.

Mots clés : Sons, phénols totaux, activité antioxydante, DPPH, les composés protéiques.

Abstract

The objectives of our work are to estimate the quantity and quality of phenolic and protein compounds in extracts of durum wheat, barley, mermez and frick bran from two regions (M'sila and Sidi Makhlouf). The determination of phenolic compounds of the different extracts: methanolic, acetic, aqueous, hydromethanolic and hydroacetic for the four types of bran was carried out using the Folin-Calcium reagent. Protein determination was performed according to the Biuret method using albumin as a standard. The free radical scavenging activity was estimated using the DPPH test. These samples presented total phenol contents with variable proportions, ranging from 6.44 to 351.77 mg EAG/100gMS, the protein quantities recorded contents between 6.48 and 182.62 mg EAL/g MS. The results obtained by the DPPH test show that there is a variation in the anti-radical activity from one bran extract to another. These results allowed us to know the role of these samples in the prevention of diseases caused by oxidative stress.

Key words: Bran, total phenols, antioxidant activity, DPPH, protein compounds.