

ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE QUELQUES VARIETES DE BLE TENDRE (*TRITICUM AESTIVUM*) ET D'ORGE (*HORDEUM VULGARE*) ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

Chaib Ghania, PhD

Bouchelaleg Amira

Talbi Romeissa, master

Laboratoire de Développement et Valorisation de Ressources
Phytogénétiques, Département de Biologie et Ecologie Végétale Faculté des
Sciences de la Nature et de la Vie. Université Frères Mentouri Constantine.
Algérie.

Abstract

Our research focuses on the photochemical study of polyphenols extracted from the leaves of the three varieties (MD, MP and FA) of soft wheat (*Triticum aestivum*) and the three varieties (Jaidore, Rihane and Saida) of barley (*Hordeum vulgare*), during two stages of their life cycle (bolting and flowering), and to test their biological activities (antibacterial: *E.coli* and antifungal: *Aspergillums* and *Penicillium*). The results of the quantitative study of ethanol extracts show the existence of a variability intra and inter varietal. The qualitative study of polyphenols begins with repartitions between four solvents with different polarities. This leads to obtain different phases. Their compositions are identified by thin layer chromatography, which show's that the majority of polyphenols are flavonoids of flavones and flavonols type. The results of antibacterial activity showed that the extract of each variety has a significant inhibitory effect on the growth of *E. coli*. On the contrary antifungal activity reveals no effect on *Aspergillums* and *Penicillium*. Finally, instead of classifying soft wheat and barley as cereal or purely food plants, we could oriente their exploitation to medicinal plants.

Keywords: Wheat (*Triticum*), barley (*Hordeum*), photochemical, Phenolic compounds, flavonoids, antibacterial, antifungal

Résumé

Notre recherche porte sur l'étude phytochimique des polyphénols extraits des feuilles de trois variétés (MD, MP et FA) de blé tendre (*Triticum*

aestivum) et trois variétés (Jaidore, Rihane et Saida) d'orge (*Hordeum vulgare*), durant deux stades de leur cycle de vie (montaison et floraison) et de tester leurs activités biologiques (antibactérienne : *E.coli* et antifongique *Aspergillus* et *penicillium*). Les résultats de l'étude quantitative des extraits éthanoliques montrent l'existence d'une variabilité intra et inter variétale. L'étude qualitative des polyphénols commence par des répartitions entre quatre solvants de polarités différentes. Cela a conduit à l'obtention de différentes phases. Leurs compositions sont identifiées par chromatographie sur couche mince, qui résulte que, la majorité des polyphénols sont des flavonoïdes de type flavonols et flavones. Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que l'extrait de chaque variété possède un effet inhibiteur considérable sur la croissance d'*E. coli*. Contrairement, l'activité antifongique dévoile aucun effet sur *Aspergillus* et *Penicillium*. Enfin, au lieu de classer le blé tendre et l'orge comme étant des céréales ou des plantes purement alimentaires, on pourrait orienter leur exploitation autant que plantes médicinales.

Mots clés: Blé (*Triticum*), orge (*Hordeum vulgare*), phytochimique polyphénols, antibactérienne, antifongique, flavonoïdes

Introduction

Les céréales sont des plantes annuelles cultivées appartenant, botaniquement à la famille des « Graminées-Poacées ». Elles constituent une partie très importante des ressources alimentaires et ayant l'avantage de se conserver sous formes des graines (Clément et al. 1971; Feldman, 2001).

Les graines les plus employés sont le blé, le maïs, l'orge, l'avoine et le seigle. Elles peuvent être transformées en farines et semoules à usage alimentaire ou promues par l'industrie agroalimentaire comme aliment-santé. Ces derniers peuvent nous apporter des phytonutriments importants pour la santé (Parry, 1995; Dorais 2008).

En raison d'une forte consommation de produits à base de céréales dans le monde, plusieurs études montrent une reconnaissance des nombreux métabolites secondaires présents dans toutes les parties de la plante, nommé plante médicinale (Atefeibu, 2002; Elqaj et al. 2007). Ces métabolites ont des structures chimiques diversifiées (Karaali et al. 2004; Malesev et kuntie, 2007), possèdent des propriétés biologiques très intéressantes (Violet, 2005), bénéfiques à la santé humaine. Ils sont utilisés dans divers applications à savoir: pharmacologie (Hans, 2007), agroalimentaire (Noars, 1999) et cosmologie (Nathan, 2002). Ces métabolites sont les polyphénols principalement flavonoïdes et acides phénoliques.

L'objectif de notre étude vise la mise au point d'une étude phytochimique de quelques variétés d'orge (*Hordum vulgare*) et de blé tendre (*Triticum aestivum*) afin de dévoiler la richesse de ces céréales en composés phénoliques et de tester leurs activités antimicrobiennes *in vitro* à savoir antibactérienne et antifongique.

Matériel et Méthodes

Matériel végétal

L'étude a porté sur deux genres des céréales ; trois variétés du blé tendre (*Triticum aestivum*): Flaurance aurore (FA), Mahodamias (MD) et Mexipak (MP) et trois variétés d'orge (*Hordeum vulgare*) : Jaidore (J), Rihane (R) et Saida (S). La préparation de la matière végétale est réalisée sous une serre. Les six variétés sont récoltées durant deux différents stades phénologiques, montaison et floraison à des périodes différentes en fonction de la précocité des variétés.

Etude phytochimique

Etude quantitative (dosage des polyphénols)

Le dosage des phénols totaux permet d'identifier la teneur des composés phénoliques dans 1g de matériel végétal. Ce dernier est broyé dans un mélange eau/ éthanol (50/50) et macéré pendant 24 heures selon la technique (Liyana-Pathirana et Shahidi, 2006).

Le contenu des composés phénoliques de nos extraits est estimé par la méthode de Folin ciocalteu (Adesegun et al. 2007) et déterminé par spectrophotométrie suivant le protocole de Miliauskas et al. (2004). La quantification des composés phénoliques est calculée en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par un extrait d'étalon de l'acide gallique (Bousmid, 2011). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme du poids sec de la plante.

Etude qualitative (Extraction, identification et séparation des composés phénoliques)

Extraction

La matière végétale de poids 20 g est coupée en petits morceaux. Elle est macérée dans un mélange d'éthanol-eau distillée (50/50). Le rapport du matériel végétal/solution hydro-alcoolique est de 1/10 ml/g (Marston et Hostettmann, 2006). Le tout repose pendant 72 heures avec renouvellement du solvant 3 fois tout les 24 heures avec filtration. Les extraits obtenus sont affrontés par divers solvants organiques du moins polaire au plus polaire. Les affrontements conduisent à l'obtention de quatre phases : phase Ether (ED) diéthylique, phase acétate d'éthyle (ACD), phase butanone (MEC) et la phase aqueuse ou résiduelle (H₂O). Toutes les phases sont évaporées à sec à

50°C, à l'exception le solvant dans la phase Ether diéthylique s'évapore à l'air libre (Merghem, 2009). La récupération des résidus est effectuée par 5 ml de méthanol .

séparation : Analyse chromatographique sur couche mince

Les plaques utilisées sont en verre (20/20 cm et 20 /10). L'adsorbant choisi est le gel de silice pour CCM. Le système choisi pour les trois phases Ether diéthylique, Acétate d'éthyle et Butanone est 50/20/25/2 : H₂O distillée/n Butanol/Ethanol/ Acéto. Alors que , la phase aqueuse est réalisée par le système solvant 50/20/25: H₂O distillée/n Butanol/EtOH. L'éluant est versé jusqu'à une hauteur de 1cm dans une cuve à élution ferme hermétiquement jusqu'à saturation en vapeur. Le dépôt des échantillons se fait à l'aide d'une pipette capillaire en verre, ou un trait de 3 mm est marqué au crayon à environ 2 cm du côté inférieur de la plaque. Le diamètre de la tâche produite est séché rapidement entre chaque application. La plaque placée verticalement dans la cuve doit demeurer fermée et ne doit pas être déplacée. Lorsque le front du solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure, la plaque est retirée de la cuve. Le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin. La plaque est séchée à l'air libre renforcé par un séchoir. Les distances parcourues par les différents spots sont mesurées par le rapport frontal(RF).

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le front de solvant}}$$

Activité biologique (anti bactérienne et anti fongique)

Les micro-organismes testés dans cette étude sont la bactérie *Escherichia coli* et les deux champignons *Penicillium sp* et *Aspergillus niger*. Dans cette expérience, on a utilisé 100 ml d'extraits éthanolique de chaque variété du stade floraison. Après évaporation à sec, les résidus sont récupérés par 5 ml d'éthanol. Une feuille de papier de Wattman est coupée en disques de 6 mm de diamètre stérilisés dans un autoclave à 120°C pendant 20 min. Puis, ils sont imbibés dans six tubes stérilisés chacun contient un extrait éthanolique pour chaque variété. les milieux nutritifs utilisés sont respectivement le Potato Detrox Agar (PDA) pour les champignons et la gélose nutritive GN pour les bactéries.

La même procédure est utilisé pour la stérilisation de la GN. Les géloses (GN et PDA) sont fondues et coulées dans des boites de petri à moitié. Dès que les géloses sont totalement solidifiées, ou une suspension soit bactérienne ou fongique de 10 µL est étalée sur la gélose par un râteau. Les disques imprégnés dans les extraits éthanoliques sont à moitié séchés déposés délicatement à l'aide d'une pince sur la suspension. Les boites bien

fermées sont incubées respectivement dans des étuves à 30°C pendant 72h pour les champignons et à 37°C pendant 24h pour les bactéries. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

Etude statistique

Les résultats obtenus présentent la moyenne de trois répétitions pour les deux études phytochimique et biologique. Le test statistique réalisé est l'analyse de variance à deux et à trois facteurs, suivi par un test de comparaison des moyennes Newman-Keuls (NSK) à un seuil 95% de confiance effectué par le logiciel Excel Stat version 2008.

Résultats et discussion

Etude quantitative

Chez l'orge : Au stade montaison, la teneur en composés phénoliques varie successivement de 12,05±0,43 mg/g eq AG chez Saida à 12,49±1,21 mg/g eq AG chez Rihane. Alors que la variété Jaidore enregistre une teneur maximale de 16,22±3,00 mg/g eq AG.

Au stade floraison, la teneur en composés phénoliques augmente chez toutes les variétés. Elle est le double chez Rihane et le un tiers (1/3) chez Jaidore et Saida. Elle varie d'une teneur minimale chez Saida de 18,67± 2,42 mg/g eq AG à une teneur maximale chez Jaidore et Rihane successivement 25,31±1,80 mg/g eq AG et 25,35±1,48 mg/g eq AG.

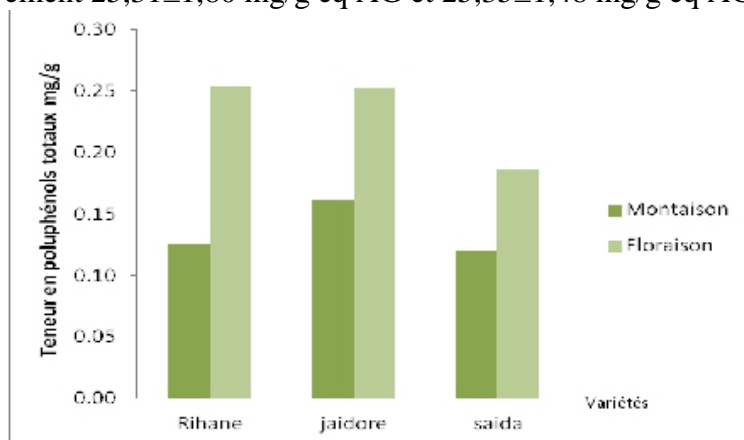


Fig .1. Teneur en polyphénols totaux aux stades montaison et floraison chez l'orge.

L'analyse de variance à deux facteurs ne révèle aucune différence significative entre les variétés. Alors quelle est très significative entre les stades . Le test SNK regroupe les trois variétés en un seul groupe : J < R < S <=> 20,76 < 19,96 < 18,91 et classe les deux stades en deux groupes différents : Floraison > Montaison <=> 23,11 > 13,58

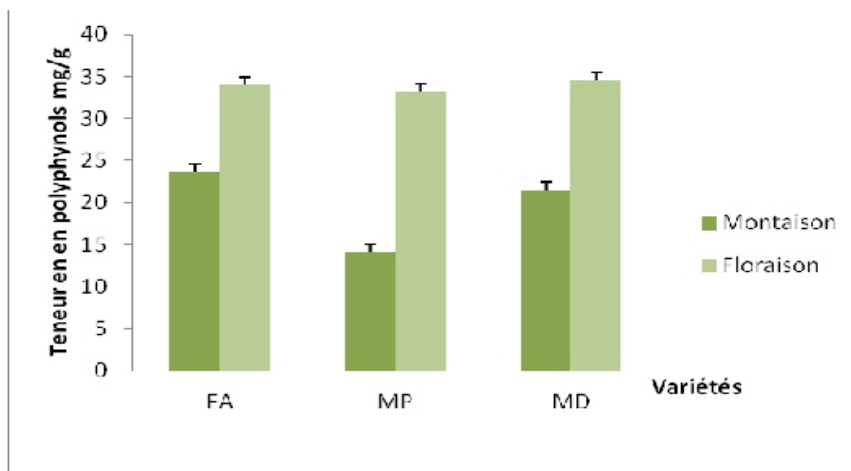


Fig.2. Teneur en polyphénols totaux aux stades montaison et floraison chez le blé tendre.

Chez le blé tendre: Au stade montaison, la teneur en composés phénoliques varie de $14,09 \pm 3,09$ mg EAG/g chez MP à $21,39 \pm 0,87$ mg EAG/g chez MD. La variété FA enregistre une teneur maximale de $23,64 \pm 1,97$ mg EAG/g

Au stade floraison, la teneur en composés phénoliques est très convergente chez toutes les variétés. Elle est le double par rapport au stade montaison.

L'analyse de variance à deux facteurs révèle une différence très hautement significative entre les variétés, les stades et leur interaction. Le test SNK regroupe les trois variétés en deux groupes:

$$FA \leq MD > MP \Leftrightarrow 28,77 > 27,60 > 23,63$$

et classe les deux stades en deux groupes différents : Floraison > Montaison

$$\text{floraison} > \text{montaison} \Leftrightarrow 33,64 > 19,70$$

L'analyse de variance à trois facteurs (Variété, espèce, stade) est très hautement significative pour les trois variables. Le test SNK classe les six variétés étudiées en quatre groupes différents, à savoir :

$$FA \geq MD > MP > J \geq R > S \Leftrightarrow 28,63 \geq 27,94 > 23,63 > 20,76 \geq 19,96 \geq 18,91.$$

Et distingue les deux espèces différemment ou le blé marque presque le double de la teneur des polyphénols que l'orge : Blé > orge $\Leftrightarrow 26,78 > 18,34$

Le même test repère que la teneur en composés phénoliques au stade floraison est deux fois la teneur mesurée au stade montaison

$$\text{Floraison} > \text{Montaison} \Leftrightarrow 29,91 > 16,64.$$

Nos résultats concordent avec ceux de Zhou et al. (2005).

Analyse qualitative

Chromatographie sur couche mince

L'observation des profils CCM est effectuée en lumière visible et sous UV (254nm) avant et après révélation par l'acide sulfurique (H₂SO₄) dilué avec l'eau distillée.

Stade montaison =1

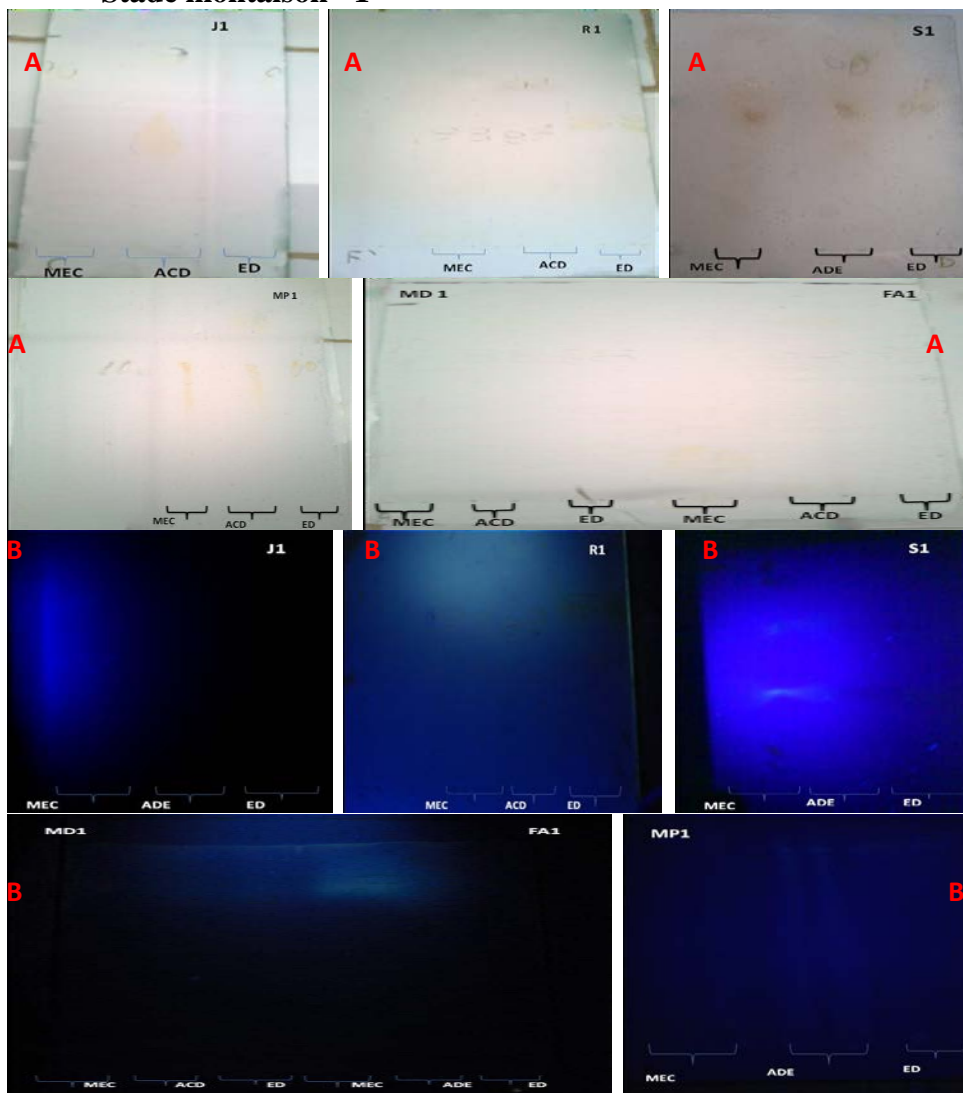


Fig .3. CCM des six variétés de blé tendre et d'orge au stade Montaison, dans le système Tol/ MEC/ EtOH/ EP (4/ 3/ 3/ 5). 1: Montaison ; ED: Ether Diéthylique ; AE: Acétate d'Ethyle ;MEC: Méthyle Ethyle Cétone. A: Visible, B: sous UV.

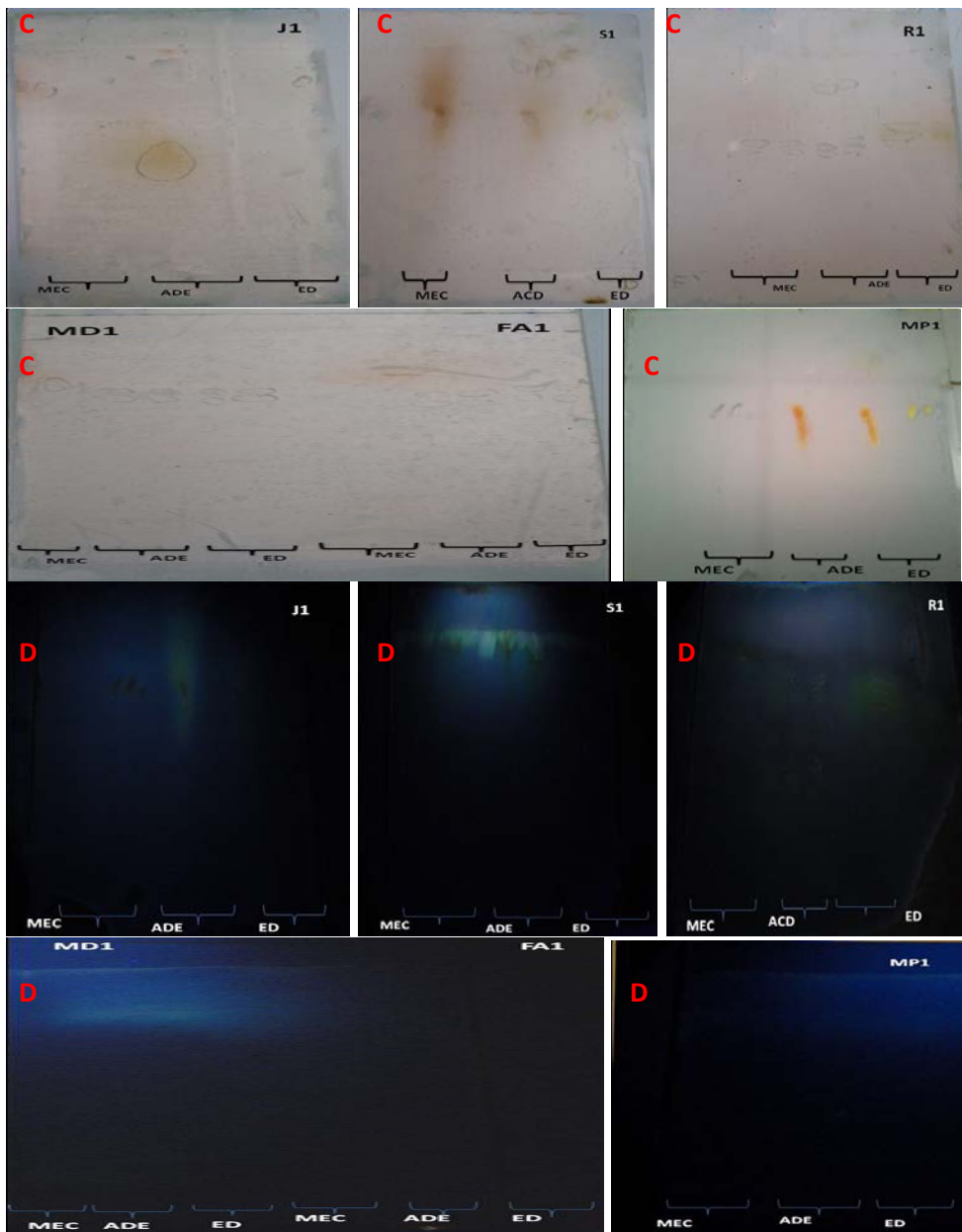


Fig. 4. CCM de six variétés de ble tendre et d'orge au stade Montaison, dans lesystème Tol/MEC/ EtOH/ EP (4/ 3/ 3/ 5). 1: Montaison ; ED: Ether Diéthylique ; AE: Acétate d'Ethyle ;MEC: Méthyle Ethyle Cétone. C: Visible après pulvérisation par l'acide sulfurique 50%, D : UV après la pulvérisation.

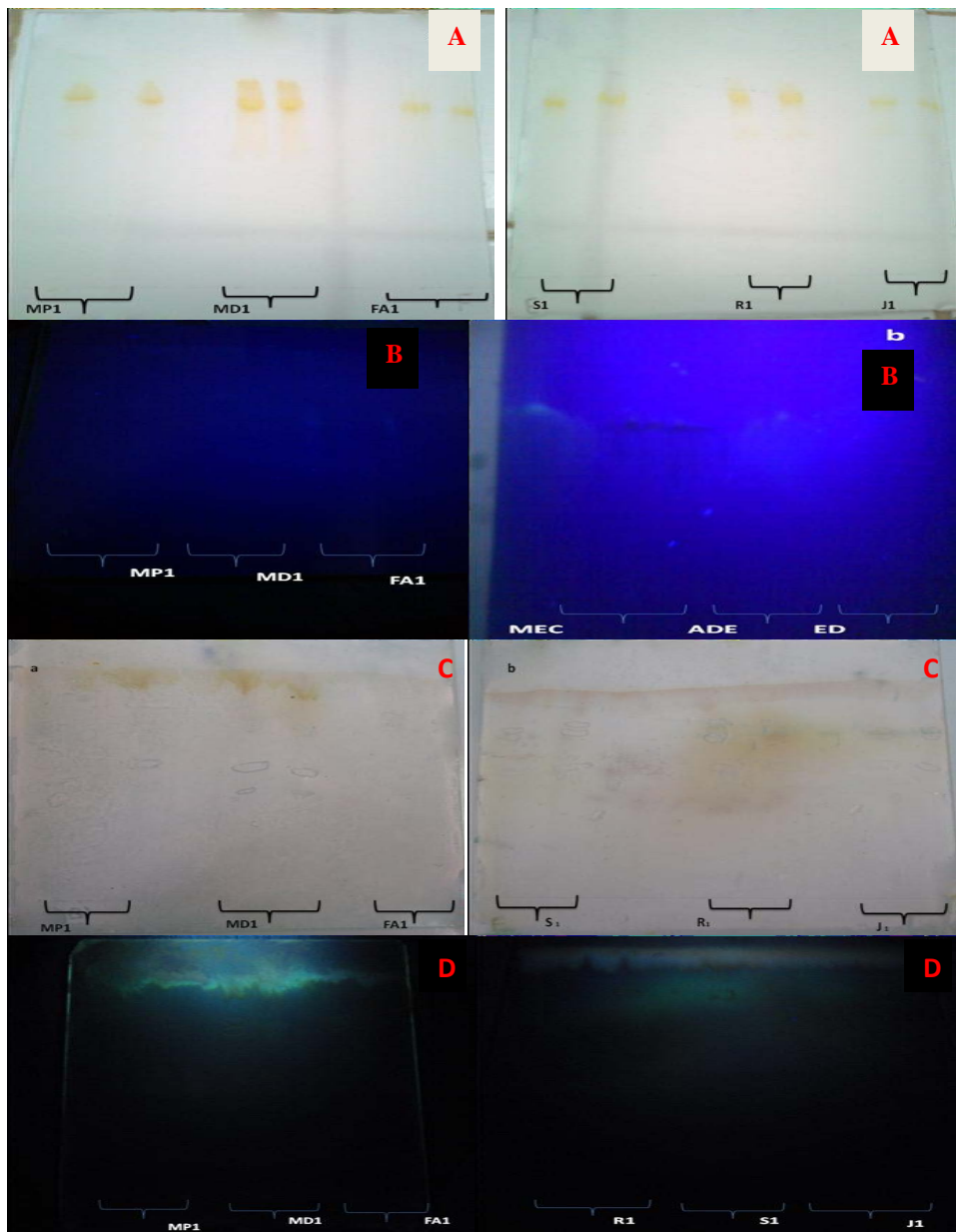


Fig .5. CCM de la phase aqueuse de six varietes de blé tendre et d'orge au stade Montaison dans le système 50/20/25: H2O distillée/n Butanol/EtOH. 1: Montaison A: Visible, B sous UV, C: Visible après pulvérisation par l'acide sulfurique 50%, D : UV après la pulvérisation.

Stade floraison = 2

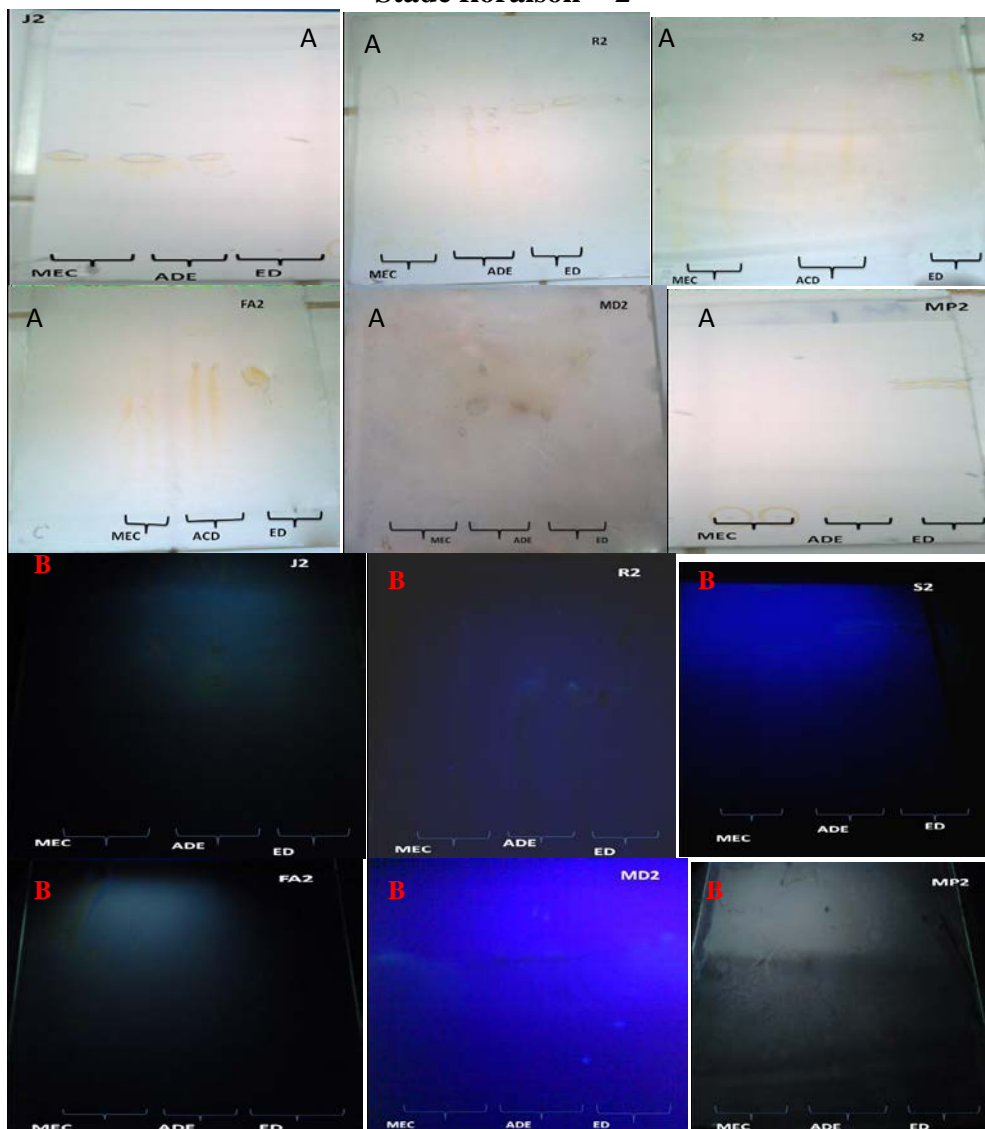


Fig .6. CCM des six varietes de blé tendre et d'orge au stade floraison , dans le système Tol/ MEC/ EtOH/ EP (4/ 3/ 3/ 5). 2: Floraison ; ED: Ether Diéthylique ; AE: Acétate d'Ethyle ;MEC: Méthyle Ethyle Cétone. A: Visible, B: sous UV.

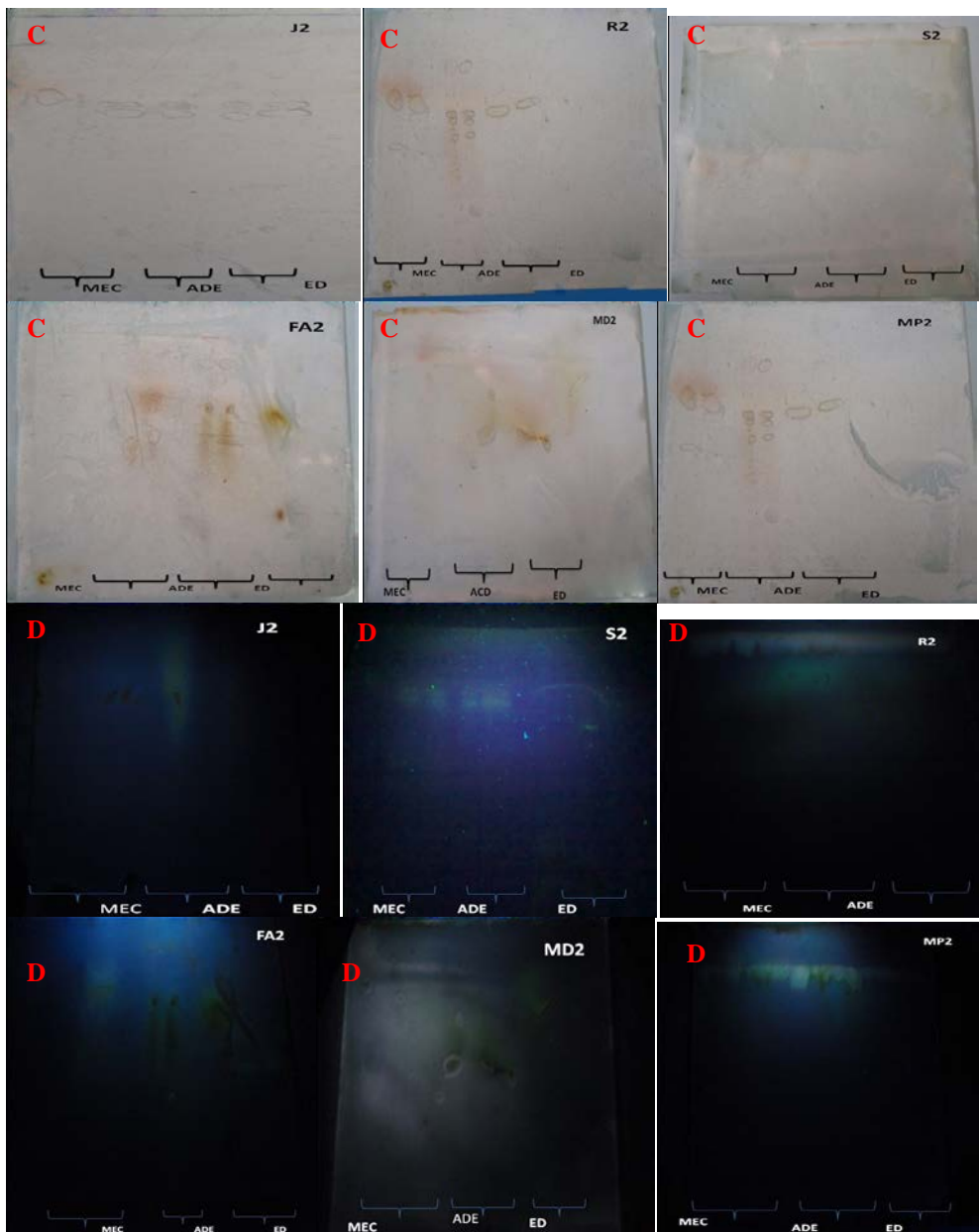


Fig .7. CCM des six variétés de blé tendre et d'orge au stade floraison , dans le système Tol/ MEC/ EtOH/ EP (4/ 3/ 3/ 5). 2: Floraison ; ED: Ether Diéthylique ; AE: Acétate d'Ethyle ;MEC: Méthyle Ethyle Cétone. C: Visible après pulvérisation par l'acide sulfurique 50%, D : UV après la pulvérisation.

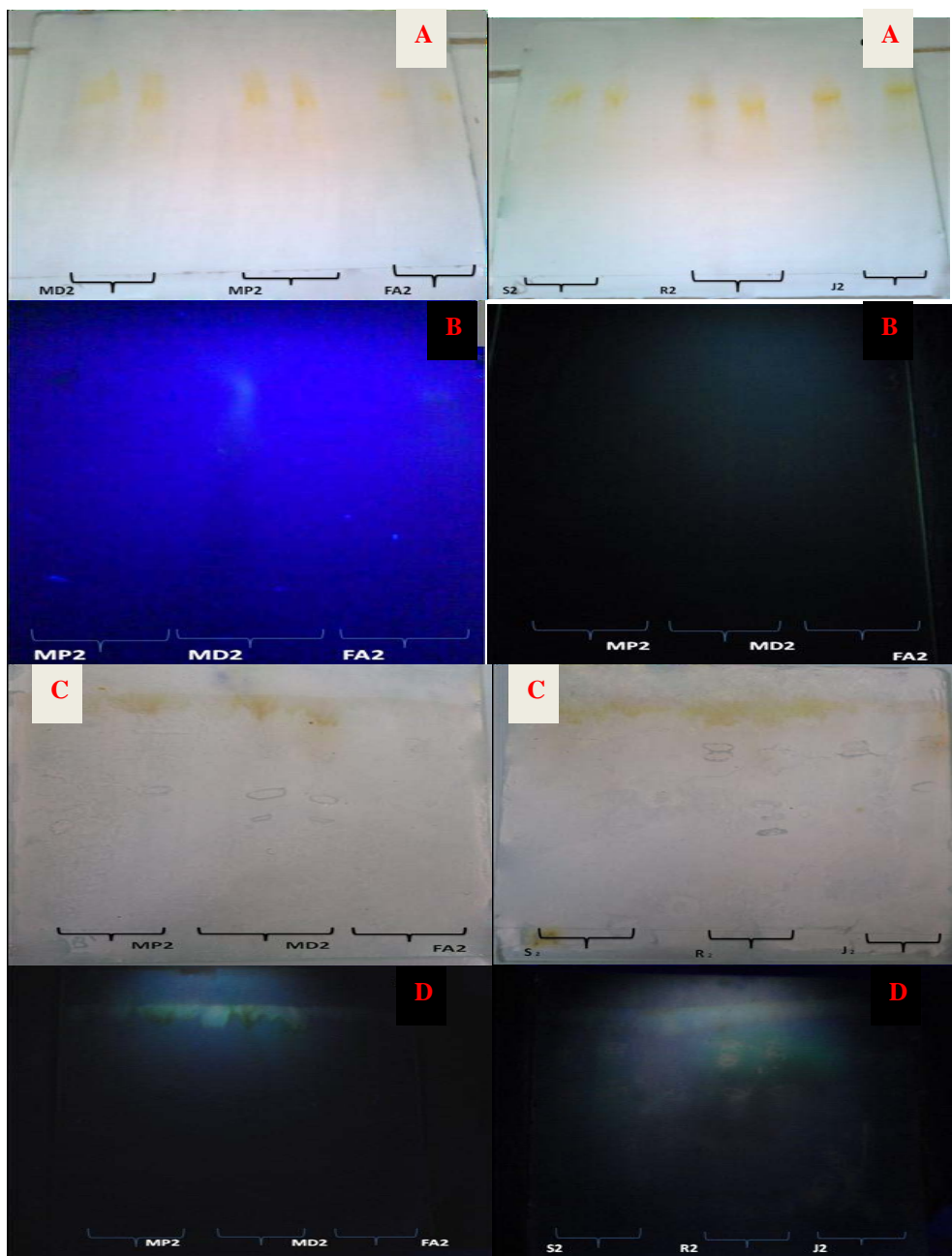


Fig .8. CCM de la phase aqueuse de six varietes de blé tendre et d'orge au stade floraison dans le système 50/20/25: H2O distillée/n Butanol/EtOH. 2: floraison A: Visible, B sous UV, C: Visible après pulvérisation par l'acide sulfurique 50%, D : UV après la pulvérisation.

Identification des spots

Dans les tableaux 1 à 9 sont présentés les différents rapports frontaux (Rf), la fluorescence (Fluo) et le type de flavonoïdes (TF) des six variétés étudiées aux quatre phases utilisées : Ether diéthylique (ED), Acétate diéthylique (ACD), butanol (MEC) et la phase résiduelle (H₂O) selon Lahouel. (2005).

Tableau 1: Rf, fluorescence et type de flavonoïdes de la phase ED du blé tendre.

Variété		S1			S2		
		Rf	Fluo	Type de flavonoïdes selon Lahouel,2005	Rf	Fluo	Type de flavonoïdes selon Lahouel,2005
Montaison	MD	0,65	Vert		0,70	Jaune vert brillant	5- OH libre ou sans 5- OH substitué
	MP	0,57	Jaune vert brillant	5- OH libre ou sans 5- OH substitué	0,60	Jaune vert brillant	5- OH libre ou sans 5- OH substitué
	FA	0,66	Jaune fluorescent	Flavonols avec 3- OH libre	0,70	Bleu	Flavones sans 5-OH libre Flavonols sans 5- OH libre avec 3-OH substitué
Floraison	MD	0,70	Vert		0,46	Jaune terme	Flavonols 3- OH libre avec ou sans 5-OH substitué
	MP	0,49	Bleu	Flavones sans 5-OH libres, Flavonols sans 5-OH libre avec 3-OH substitué	0,59	Vert	
	FA	0,60	Marron	3.OH absent ou 3-OH substitué			

Tableau 2: Rf, fluorescence et type de flavonoïdes de la phase ED de l'orge

Variété		S1			S2		
		Rf	Fluo	Type de flavonoïdes selon Lahouel,2005	Rf	Fluo	Type de flavonoïdes selon Lahouel,2005
Montaison	MD	0,83	Vert --	5- OH libre ou sans 5- OH substitué			
	MP	0,38	Marron	3.OH absent ou 3-OH substitué			
	FA	0,67	Vert +++				
Floraison	MD	0,67	Marron	3.OH absent ou 3-OH substitué			
	MP	0,57	Jaune fluorescent	Flavonols avec 3- OH libre	0,63	Jaune vertatre	5- OH libre ou sans 5- OH substitué
	FA	0,71	Vert++		0,76	Brun noiratre	3.OH absent ou 3-OH substitué

Les deux stades se manifestent pour la majorité des variétés, blé tendre et orge, par un ou deux spots. Ce qui prouve que la phase ether diéthylique est riche en acides phénoliques et phénols simples.

Tableau 3: Rf, fluorescence et type de flavonoïdes de la phase ADE du blé tendre.

Variété	S1			S2			S3			
	Rf	Fluo	Type de flavonoides selon Lahouel,2005	Rf	Fluo	Type de flavonoides selon Lahouel, 2005	Rf	Fluo	Type de flavonoides selon Lahouel,2005	
Montaison	MD	0,63	Vert							
	MP	0,30	Jaune terne	Flavonols 3-OH libre avec ou sans 5-OH substitué						
	FA	0,80	Bleu	Flavones sans 5-OH libre Flavonols sans 5-OH libre avec 3-OH substitué	0,71	Jaune Orangé	Flavonols 3-OH libre avec ou sans 5-OH substitué			
Floraison	MD	0,44	Violet	Flavones 5-OH et 4'-OH Flavones 3-OR et 5-OH, 4'-OH Flavones ou Flavonols 5-OH avec 4'-OH absent ou substitué en 3. Flavones 6- ou 8-OH Chalcones, isoflavones, dihydroflavonols, flavanones.	0,57	Vert+++		0,67	Bleu	Flavones sans 5-OH libre Flavonols sans 5-OH libre avec 3-OH substitué
	MP	0,33	Vert		0,57	Jaune pale	Dihydroflavonols	0,63	Jaune Orangé	Flavonols 3-OH libre avec ou sans 5-OH substitué
	FA	0,65	Brun noir	3.OH absent ou 3-OH substitué	0,85	Brun noire	3.OH absent ou 3-OH substitué			

Tableau 4: Rf, fluorescence et type de flavonoïdes de la phase ADE de l'orge.

Variété	S1			S2			
	Rf	Fluo	Type de flavonoides selon Lahouel,2005	Rf	Fluo	Type de flavonoides selon Lahouel,2005	
Montaison	MD	0,83	Vert --				
	MP	0,38	Marron	3.OH absent ou 3-OH substitué			
	FA	0,67	Vert +++				
Floraison	MD	0,67	Marron	3.OH absent ou 3-OH substitué			
	MP	0,57	Jaune fluorescent	Flavonols avec 3- OH libre	0,63	Jaune vert	5- OH libre ou sans5- OH substitué
	FA	0,71	Vert++		0,76	Brun noir	3.OH absent ou 3-OH substitué

Malgré qu'il y ait beaucoup de tâches à la phase acétate, la fluorescence n'est pas bien claire donc il y a une condensation des molécules.

Tableau 5: Rf, et fluorescence et type de flavonoïdes de la phase MEC du blé tendre.

Variété		S1			S2		
		Rf	Fluo	Type de flavonoides selon Lahouel,2005	Rf	Fluo	Type de flavonoides selon Lahouel,2005
Montaison	MD	0,78	Violet	Flavones 5-OH et 4'-OH Flavones 3-OR et 5-OH, 4'-OH Flavones ou Flavonols 5-OH avec 4'-OH absent ou substitué en 3. Flavones 6- ou 8-OH Chalcones, isoflavones, dihydroflavanols, flavanones.	0,07	Jaune terne	Flavonols 3- OH libre avec ou sans 5-OH substitué
	MP	0,80	Bleu	Flavones sans 5-OH libres Flavones sans 5-OH libres avec 3-OH substitué			
	FA	0,75	Jaune vert Brillant	5-OH libres ou 5-OH substitué			
Floraison	MD	0,45	Violet	Flavones 5-OH et 4'-OH Flavones 3-OR et 5-OH, 4'-OH Flavones ou Flavonols 5-OH avec 4'-OH absent ou substitué en 3 Flavones 6- ou 8-OH Chalcones, isoflavones, dihydroflavanols, flavanones.	0,76	Vert-	
	MP	0,35	Violet	Flavones 5-OH et 4'-OH Flavones 3-OR et 5-OH, 4'-OH Flavones ou Flavonols 5-OH avec 4'-OH absent ou substitué en 3. Flavones 6- ou 8-OH Chalcones, isoflavones, dihydroflavanols, flavanones.	0,62	Marron -	
	FA	0,51	Jaune pale	Dihydroflavonols			

Tableau 6: Rf, fluorescence et type de flavonoïdes de la phase MEC de l'orge.

Variété	S1			S2			S3			
	Rf	Fluo	Type de flavonoïdes selon Lahouel,2005	Rf	Fluo	TF Lahouel, 2005	Rf	Fluo	TF Lahouel,2005	
Montaison	J	0,81	Jaune pale	Dihydroflavonols	0,83	Jaune terne	Flavonoïls 3-OH libres avec ou sans 5-OH substitué			
	R	0,39	Marron	3.OH absent ou 3-OH substitué						
	S	0,20	Jaune fluorescent	Flavonoïls avec 3-3- OH libre						
Floraison	J	0,48	Jaune pale	Dihydroflavonols	0,70	Bleu	Flavone sans 5-OH libres Flavone sans 5-OH libres avec 3-OH substitué			
	R	0,51	Jaune pale	Dihydroflavonols	0,53	Jaune vert brillant	5-OH libres ou 5-OH substitué	0,81	Jaune orangé	Flavonoïls 3-OH libres avec ou sans 5-OH substitué
	S	0,45	Jaune vert brillant	5-OH libres ou 5-OH substitué	0,43	Jaune orangé	Flavonoïls 3-OH libres avec ou sans 5-OH substitué			

Tableau 7: Rf ,et fluorescence et type de flavonoïdes de la phase H2O du blé tendre.

Variété	S1			S2			S3		
	Rf	Fluo	Type de flavonoïdes selon Lahouel,2005	Rf	Fluo	T.F. Lahouel,2005	Rf	Fluo	T.F. Lahouel,2005
Montaison	J 0,7 5	Jaune vert brillant	5-OH libres ou 5-OH substitué	0,8 4	Jaune orange	Flavonols 3-OH libres avec ou sans 5-OH substitué			
	R 0,7 3	Marron	3.OH absent ou 3-OH substitué	0,7 6	Brun-noir	3-OH absent ou 3-OH substitué			
	S 0,6 1	Marron --		0,7 7	Marro n rouge				
Floraison	J 0,4 2	Jaune vert brillant	5-OH libres ou 5-OH substitué	0,5 1	Jaune orange	Flavonols 3-OH libres avec ou sans 5-OH substitué			
	R 0,6 8	Jaune fluorescent	Flavonols 3-OH libres avec ou sans 5-OH substitué	0,7 0	Jaune vert brillant	5-OH libres ou 5-OH substitué	0,7 3	Jaune orangé	Flavonols 3-OH libres avec ou sans 5-OH substitué
	S 0,4 1	Jaune vert brillant	5-OH libres ou 5-OH substitué						

Tableau 8 : Rf, fluorescence et type de flavonoïdes de la phase H2O de l'orge.

Variétés	S1			S2			S3		
	Rf	Fluo	T.F. Lahouel,2005	Rf	Fluo	T.F. Lahouel,2005	Rf	Fluo	T.F. Lahouel,2005
Montaison	J 0,58	Bleu	Flavones sans 5-OH libres Flavones sans 5-OH libres avec 3-OH substitué	0,68	Bleu	Flavones sans 5-OH libres Flavones sans 5-OH libres avec 3-OH substitué	0,74	Jaune pale	Dihydroflavonols
	R 0,70	Bleu clair	Flavones sans 5-OH libres. Flavonols sans 5-OH libres avec 3-OH substitué.	0,76	Jaune vert brillant	5-OH libres ou 5-OH substitué	0,78	Marron	3.OH absent ou 3-OH substitué
	S 0,56	Jaune vert brillant	5-OH libres ou 5-OH substitué	0,76	Bleu +++				
Floraison	J 0,53	Bleu	Flavones sans 5-OH libres Flavones sans 5-OH libres avec 3-	0,76	Jaune vert brillant	5-OH libres ou 5-OH substitué			

			OH substitué						
R	0,70	Jaune terne	Flavonols 3-OH libres avec ou sans 5-OH substitué	0,74	Jaune vert brillant	5-OH libres ou 5-OH substitué			
S	0,61	Jaune terne	Flavonols 3-OH libres avec ou sans 5-OH substitué	0,76	Jaune orangé	Flavonols 3-OH libres avec ou sans 5-OH substitué	0,79	Jaune pale	Dihydroflavonols

Tableau 9: Les intervalles du Rf pour les quatre phases.

		Montaison	Floraison
Blé tendre	Phase ED	0,60-0,70	0,46-0,70
	Phase ADE	0,30-0,80	0,33-0,85
	Phase MEC	0,07-0,80	0,35-0,62
	Phase H ₂ O	0,61-0,84	0,41-0,70
Orge	Phase ED	0,38-0,83	0,63-0,76
	Phase ADE	0,38-0,92	0,51-0,81
	Phase MEC	0,20-0,83	0,43-0,70
	Phase H ₂ O	0,58-0,76	0,53-0,79

Les Rf enregistrés chez les deux céréales pour les quatre phases sont:

- de 0,3-0,5 correspondant aux oligohydroxy et aux oligométhoxyflavones ;
- de 0,5-0,75 correspondant aux flavanones, flavonols et méthoxyflavones.

Ces résultats concordent avec ceux de Bandyukova et al. (1973).

Malgré la viabilité de nos résultats, l'identification des composés flavoniques doit être renforcé par d'autres méthodes comme la chromatographie sur colonne et HPLC pour avoir plus de précision .

Malgré que la lampe UV 254 nm est faible, elle a permis d'observer de différentes migrations entre les différentes phases. Les composés phénoliques sont hétérogènes d'un stade à l'autre. Ces composés sont présents dans le stade montaison et plus développés au stade floraison.

L'observation des différentes plaques confirme que les feuilles contiennent principalement des aglycones qui se trouvent en haut des plaques et des hétérosides qui se situent à la base des plaques. Ce phénomène est la cause de la polarité du système solvant utilisé. Nos résultats concordent avec celle de Lahouel.(2005). Quand le Rf diminue dans un solvant alcoolique, les molécules sont des hétérosides et quand le Rf augmente, les molécules sont des aglycones.

La phase Ether diéthylique contient des aglycones et les phases acétate et MEC contiennent des hétérosides et aglycones. On conclut que les composés flavoniques sont présent dans les feuilles du blé tendre et l'orge durant les deux stades de cycle de vie de la plante. Ce qui coïncide avec les résultats de Adom et al. (2005).

L'activité biologique

Activité antibactérienne

Les variétés du blé tendre et d'orge ont montré un pouvoir inhibiteur contre *E.coli* (Gram-). Les extraits de Rihane, Jaidore et MD ont l'activité la plus forte contre le développement et la croissance d'*E.coli* successivement de diamètre des zones d'inhibition de moyenne $6,45 \pm 0,49$ mm, $6,4 \pm 0,42$ mm et $6,13 \pm 0,24$ mm. MP, FA et Saida enregistrent presque le même diamètre des zones d'inhibitions. La variété MP présente un diamètre de $3,37 \pm 4,76$ mm suivi par FA de $3,14 \pm 4,43$ mm. Cependant, Saida marque un effet plus faible que les autres extraits avec un diamètre de zone d'inhibition de $3,01 \pm 4,31$ mm.

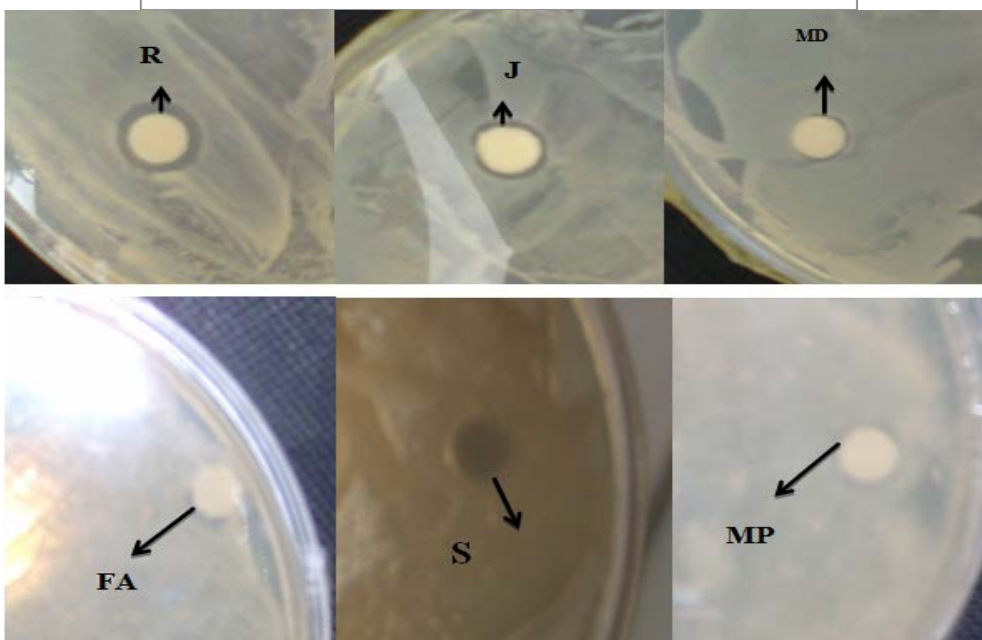
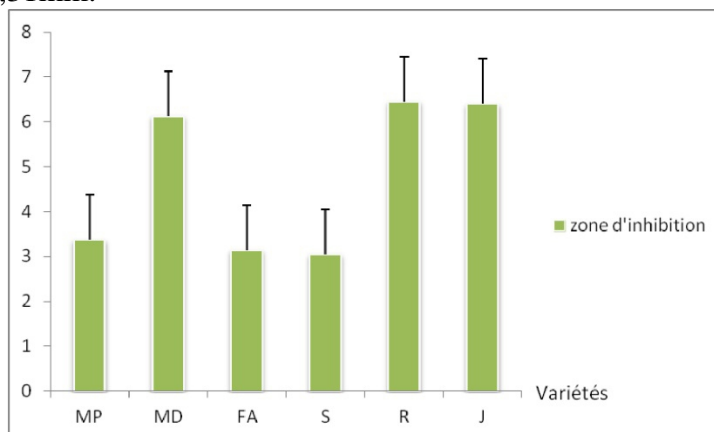


Fig .9. Zones d'inhibition d'extraits phénoliques de six variétés (blé tendre et de l'orge) au stade floraison de *Escherichia coli* Gram –

L'analyse de variance ne relève aucune différence significative entre les variétés. Le test SNK les classe en un seul groupe. On conclut que la petite différence marquée biologiquement entre les différentes variétés n'est pas fiable statistiquement.

$R \approx J \approx MD \approx MP \approx FA \approx S \Leftrightarrow 6,45 \approx 6,4 \approx 6,13 \approx 3,37 = 3,37 \approx 3,14 \approx 3,01$

Nos résultats concordent avec ceux de Katarrzyna et ces collaborateurs (2007) et Harikrishna et al. (2004) qui ont démontré l'activité antibactérienne d'un flavonoïde glycoside (prunin 6'-O-p coumarate) contre deux souches de bactéries Gram positif (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus albus*) et deux bactéries Gram négatif (*Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*).

L'activité antifongique

L'observation macroscopique de mycètes des genres *Aspergillus niger* et *Penicillium sp* sur différents milieux de culture de PDA avec les extraits polyphénoliques des deux céréales ont une croissance importante chez *Aspergillus niger* que chez *Penicillium sp*.

Les vitesses de croissance de *Penicillium sp* sur les extraits phénoliques des six variétés de deux espèces blé tendre et orge se rapprochent à leur homologue témoin. La différence n'est pas importante.

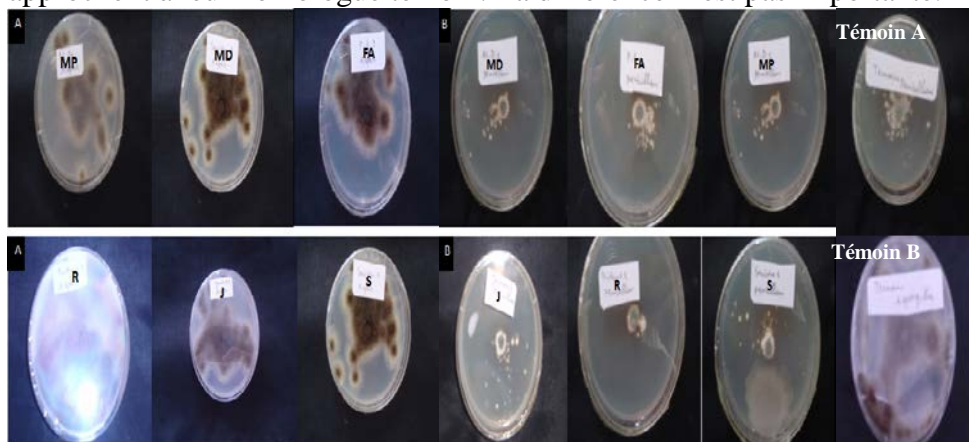


Fig.10. Développement d'*Aspergillus niger* (A) et *Penicillium sp* (B) sur les extraits phénoliques des six variétés :blé dur et orge.

Conclusion

L'étude phytochimique est menée sur deux espèces de céréales (blé tendre et orge) à différents stades phénologiques de cycle de la vie de la plante. Les polyphénols totaux sont quantifiés par le dosage de Folin-ciocalteu. Les résultats obtenus nous ont montré la richesse des céréales en composés phénoliques et l'existence d'une variabilité inter et intra variétale.

La variété FA et MD contiennent une grande teneur de polyphénols totaux, suivi par Mexipak et Jaidore qui enregistrent une teneur intermédiaire, finalement Jaidore et Saida ont une faible quantité.

Les partitions entre solvants et le diagnostic chromatographique sur couche mince, nous a permet de visualiser des empreintes flavoniques de nos extraits au cours des deux stades montaison et floraison. Le stade floraison présente une forte teneur des polyphénols totaux chez toutes les variétés estimée par le double par rapport au stade montaison. Cette teneur est aussi le double chez le blé vis-à-vis à l'orge

L'activité antibactérienne d'extrait a montré l'efficacité vis-à-vis à la souche bactérienne *Escherichia coli*. Les polyphenols n'ont aucun effet sur l'activité fongique concernant les deux espèces *Aspergillus niger* et *Penicillium sp.*

Enfin, au lieu de classifier le blé dur comme étant une plante purement alimentaire, on pourrait l'exploiter autant qu'une plante médicinale.

References:

- Adesegun S. A., Fajana A., Orabueze C. I. et Coker H. A. B. 2007. Evaluation of antioxidant properties of *Phaulopsis fascisepala* C B Cl (Acanthaceae). *Evidence based complementary and alternative medicine.*, 6 (2) : 227-231.
- Adom KK., Sorrells ME. , Liu RH. Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. *J Agris Food Chem* 2005 March 23 ; 53 (6) : 2297-306.
- Atefeibu E., Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'*Acacia Nilotica* Var *Andesonii* .Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar., 2002, P: 33.
- Bandyukova V., Shinkareako., 1973. The thin layer chromatography of Flavonoids, *Chemistry of natural compounds*.p:1-17-21.
- Bousmid A., 2011. Etude des polyphénols chez le blé et l'orge: évolution au cours des stades phénologiques. Thèse de Master UMC., P: 50-75.
- Clement M. , Grandcourt J.Prats., *Les céréales*.Ed. 1971: 2eme Edition revue et augmentée J.B. Bailliére et fils, Editeurs.
- Dorais M., *Agronomy and the nutritional quality of fruit*. 2008. In: Tomas-Barberan FA, Gil MI eds. *Improving the Health-promoting Properties of Fruit and vegetable Products*. Taylor & Francis.
- Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D. La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. 2007, Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.

- Feldman M.,2001. Origine of cultivate wheat .Dans Bonjean A.P et W.J.Angus Ed The world wheat book :a history of wheat breeding .Intercept Limited , Andover , Angleterre .,p:3-58.
- Hans W. K., 1000 plantes aromatiques et médicinales. 2007, Terre Ed., P: 6-7.
- Harikrishna D., Appa Rao A.V.N., Prabhakar M .C., 2004. Pharmacological investigation of -6' O-p- coumarate: A flavnoid glycoside, Indian J pharmacol. 36(4), p: 244-250.
- Lahouel M., 2005. Interaction flavonoïdes mitochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine.
- Liyana-Pathirana, C. M., Shahidi F., Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 2006.54: 1256-1264.
- Karaali A., Boyacioğlu D., Günez G. et Özçelik B.,. Flavonoids in fruit and vegetables: their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. European commission's the 6th framework programme for research. 2004 , Istanbul technical university. Turkey.
- Katarzyna U., Anna M., Marta M., Joanna J .B., Grzegorz W.,.Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures *biologia*; 2007. 62(2) p: 135- 135.
- Malešev, J D., Kuntić V.,. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoïds via metal-flavonoïd complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society.*, 2007 , 72 (10)., P: 921-939.
- Marston A., Hostettmann K.,. Separation and quantification of flavonoids. In Oyvind Markham MA., Chemistry KR, biochemistry and application. Ed. CRC Press Taylor and Francis group., 2006 .,P: 2-20.
- Merghem R.,. *Eléments de biochimie végétale*. Ed. Bahaeddine éditions., 2009.
- Morales S.,. Phenolic compound extraction systems for fruit and vegetable samples., 2010, p. 8813-8826.
- Nathan F., *La phytothérapie*. Edition Librairie Maloine,Paris 2002:P 91-93.
- Noars R., *Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'Elaeagnus angustifolia* L1999.
- Parry k., *Etude de l'effet de composés du grain de blé dur sur la régulation de la voie de biosynthèse des trichothécènes B:purification de composés inhibiteurs, analyse des mécanismes impliqués*. 1995. Thèse Doctorat d'état. Ecole doctorale de Sciences du vivant, géosciences, sciences de L'environnement .Université Bordeaux 1.
- Violet G., *Le monde des végétaux* .2005, Science direct .net.

Lagnika L ., Etude Phytochimique et Activité Antipaludique de Substances Naturelles issues de Plantes Béninoises. 2005, Thèse de Doctorat Université. Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-calavi, Bénin.

Miliauskas G., Venskutonis R., Van Beek T.A., Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. Food chemistry; 2004,85: 231-237.

Zhou K.,YinJJ., Yu LL., phenolic acid, tocopherol and carotenoid compositions and antioxidant functions of hard red winter wheat bran.j Agric, Food chem. 2005 May 18;53(10):3916-22.