

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Sciences Alimentaires  
Filière : Sciences Alimentaires  
Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire



Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

***Thème***

**Etude de la composition phénolique et des propriétés  
antioxydantes d'extraits des feuilles d'orge  
(*Hordeum vulgare L.*)**

Présenté par :

*BENNACER Nadjet & DENNOUN Lotfi*

Soutenu le : **04/07/2024**

Devant le jury composé de :

Mme YAHIA CHERIF Lamia	MCB	Présidente
Mme SIDANE Djahida	MCB	Examinatrice
Mme FELLA-TEMZI Samira	MCB	Promotrice

**Année universitaire : 2023/2024**

## **REMERCIEMENT**

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements. Nous remercions le dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, la volonté de donner le meilleur de nous-même et le courage de mener ce travail. Nous tenons en premier lieu à exprimer notre profonde reconnaissance à notre encadreur Mme **FELLA Samira**, pour son encadrement, puis pour nous avoir fait confiance, encouragé et conseillé au cours de notre cursus .*

*Nos sincères remerciements pour tout le personnel du **laboratoire d'analyse instrumentale***

*Nous tenons également à remercier les membres du jury d'avoir consacré leurs temps à la lecture et à la correction de ce mémoire. Nous remercions les plus particuliers à nos parents, en qui nous avons puisé tout le courage, la volonté et la confiance, nous leur serons éternellement reconnaissants.*

*Nous tenons à remercier également madame **AZI Amina**, doctorante au laboratoire 3BS pour Son aide.*

*Enfin, Nous n'omettrons jamais d'exprimer toute notre gratitude à tous les membres du département Biologie de l'Université de Béjaia, que ce soit enseignants ou cadres administratifs, qui de près ou de loin n'ont épargné aucun effort pour que notre formation et nos travaux se terminent dans de bonnes conditions.*

## DÉDICACE

*A ma chère mère ISSADOUNANE Karima tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Je te dédie ce travail pour t'exprimer ma reconnaissance pour tous les sacrifices que ta mené depuis ma naissance.*

*A mon chère père Louanas symbole de sacrifice, de tendresse, et qui m'a donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. A mes chères frères et sœurs : Lyas , Azdine, Souad et Yasmina pour leur soutien et encouragement*

*A mes chères nièces Emilie, Malak, Farah et Lyanna ma source de tendresse et à mon chère neveu Yani. A mes chères beau-frère BAGHEZOUZ Lyakin et MEHLEB Sofiane et A ma chère belle-sœur HARATI Besma. Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à toute ma famille, mes amies et toutes celles et ceux qui ont participé du pré ou du loin à la réalisation de ce travail.*

*Nadjet*

## DÉDICACE

*Je dédie ce travail*

*A mes très chers parents*

*A mon frère*

*A tous mes proches*

*A tous les enseignants*

*A tous mes amis*

*A tous mes proches qui ne sont plus de ce  
monde*

*Lotfi*

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Représentation Schématique de l'Orge avec ses Bienfaits.....	<b>05</b>
<b>Figure 02</b> : Section Transversale d'un Grain d'Orge Mature.....	<b>06</b>
<b>Figure 03</b> : Photographie de l'herbe d'orge Hordeum vulgare. L.....	<b>07</b>
<b>Figure 04</b> : Composition nutritionnel d'herbe d'orge.....	<b>10</b>
<b>Figure 05</b> : Représentation des déférentes source des Radicaux libre.....	<b>13</b>
<b>Figure 06</b> : Sites d'action des nutriment antioxydants et des Enzymes antioxydantes.....	<b>14</b>
<b>Figure 07</b> : Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux adoptés.....	<b>15</b>
<b>Figure 08</b> : Représentation géographique du site de prélèvement de l'échantillons.....	<b>16</b>
<b>Figure 09</b> : Photographie des échantillons d'herbe d'orge (Hordeum vulgare L) .....	<b>17</b>
<b>Figure10</b> : Photographiede l'herbe d'orge (a : herbe d'orge après séchage : herbe d'orge après broyage) .....	<b>17</b>
<b>Figure 11</b> :Schéma représentatif des étapes de l'extraction par macération.....	<b>18</b>
<b>Figure 12</b> :Réaction des polyphénols avec le réactif de Folin-Ciocalteu pour Produire un composé bleu.....	<b>19</b>
<b>Figure 13</b> : Schéma représentative de Protocol de dosage des polyphénols totaux.....	<b>20</b>
<b>Figure 14</b> : Réaction de formation de complex jaunatre entre les flavonoides et le chlorure d'alumunium.....	<b>20</b>
<b>Figure 15</b> : Etapes de Protocol de dosage des flavonoïde(LamaisonetCarnat,1990) .....	<b>21</b>
<b>Figure16</b> : Réaction d'acide ascorbique avec le DCPIP.....	<b>22</b>
<b>Figure 17</b> : Protocole de dosage de la vitamine C .....	<b>22</b>
<b>Figure 18</b> : Protocole de dosage de la chlorophylle .....	<b>23</b>
<b>Figure 19</b> : Réduction du radical DPPH• en DPPH-H.....	<b>24</b>
<b>Figure 20</b> : Protocol de detrmination de l'activité anti-oxydant de l'herbe d'orge.....	<b>25</b>
<b>Figure 21</b> : Schéma réactionnel impliqué dans le test d'activité de capture du cation radical ABTS radical ABTS.....	<b>26</b>
<b>Figure22</b> : Protocole d'étude d'activité antioxydant pare teste ABTS .....	<b>26</b>
<b>Figure 23</b> : Rendements d'extraction des différents échantillons de d'herbe d'orge .....	<b>28</b>
<b>Figure 24</b> : le taux d'humidité des différents échantillons de l'herbe d'orge. ....	<b>29</b>
<b>Figure 25</b> : Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits de l'herbe d'orge.....	<b>30</b>
<b>Figure 26</b> : Teneurs en flavonoïdes des différents extraits de l'herbe d'orge. ....	<b>32</b>
<b>Figure 27</b> : les concentrations de vitamine C dans les extraits d'herbe d'orge.....	<b>33</b>
<b>Figure 28</b> : Teneurs en chlorophylle des différents extraits de l'herbe d'orge. ....	<b>34</b>
<b>Figure 29</b> : Concentrations des extraits de l'herbe d'orge réductrices de 50% du radical DPPH•.....	<b>36</b>
<b>Figure 30</b> : Concentrations des extraits de l'herbe d'orge réductrices de 50% du radical ABTS•.....	<b>37</b>

# SOMMAIRE

*remerciements*

*dédicaces*

*Liste des abréviations*

*Liste des figures*

Introduction Générale..... 01

## Chapitre I : Généralité sur l'orge

### I.L'orge

1. Définition.....	03
2. Histoire de l'orge.....	03
3. Classification .....	03
4. Bienfaits de l'orge.....	04
5. Description .....	05
5.1. Les graines d'orge .....	05
5.1.1. Définition.....	05
5.1.2. Composition chimique des grains d'orge.....	06
5.2. L'herbe d'orge (feuilles d'orge) .....	06
5.2.1. Composition.....	07
5.2.2. Importance de l'herbe d'orge.....	09
1. Détoxification et purification.....	10
2. Renforcement du système immunitaire.....	10
3. Amélioration de la digestion.....	11
4. Protection contre le cancer.....	11
5. Antidiabétique.....	11
6. Régulation de la tension artérielle.....	11
7. Activité anti-inflammatoire.....	12
8. Propriétés anti-oxydante.....	12
1.Définition .....	12
2. Activité antioxydants de l'herbe d'orge.....	12
2.1. Stresse oxydative.....	13
2.2. Radicaux libres.....	13

## Chapitre II : Matériels et méthodes

### II.Matériels et méthodes

1. Description de matériel végétale.....	16
2. Préparation de la poudre de l'herbe d'orge.....	17
2.1. Taux d'humidité .....	18
3. Extraction des substances bioactive.....	18

3.1	Protocol d'extraction par macération.....	18
3.2	Rendement.....	19
4.	Dosage des composés bioactives.....	19
4.1.	Dosage des polyphénols totaux.....	19
4.2.	Dosages des flavonoïdes.....	20
4.3.	Dosage de la vitamine C.....	21
4.4.	Dosage de la chlorophylle.....	23
5.	Évaluation de l'activité antioxydants.....	24
5.1.	Test au radical DPPH.....	24
5.2	Test ABTS (TEAC) .....	25
6.	Analyse statistiques .....	27

### Chapitre III : Résultats et discussion

#### III. Résultats et discussion

1.	Rendement.....	28
2.	Taux d'humidité.....	29
3.	Composés phytochimiques.....	29
3.1.	Dosage des polyphénols totaux.....	29
3.2.	Dosage des flavonoïdes.....	31
3.3.	Dosage de la vitamine C.....	33
3.4.	Dosage de la chlorophylle.....	34
4.	Activité antioxydante.....	35
4.1.	Activité antioxydante par la méthode du DPPH.....	35
4.2.	Activité antioxydante par la méthode ABTS.....	36
	Conclusion générale.....	39
	Références Bibliographiques	

*Annexes*

*Résumé*

## Liste des abréviations

**%** : Pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**µl** : Microliter

**Abs** : Absorbance

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium

**ABTS** : 2,2'-Azinobis(3-Ethylbenzthiazoline-6-Sulfonique)

**BG** : barley grass

**Ca<sup>++</sup>** : Calcium

**CEC** : Capacité d'Echange Cationique

**DMSO** : Diméthyl Sulfoxyde

**DO** : Densité Optique

**DPPH** : 2,2-Diphényl-1-Picrylhydrazyle

**EAG / g ES** : Equivalent Acide Gallique par Gramme d'Extrait Sec

**EQ** : Equivalent Quercétine

**ER / g ES** : Equivalent Rutine par Gramme d'Extrait Sec

**Fe<sup>++</sup>** : Fer

**FCR** : folin ciocalcu

**g** : Gramme

**Gaba** : L'acide  $\gamma$ -aminobutyrique

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène

**I %** : Pourcentages d'Inhibition

**LPO** : peroxydation des lipides

**IC<sub>50</sub>** : Concentration Inhibitrice 50 % des Radicaux Libres

**ROS** : Espèces Réactives de l'Oxygène

**RNS** : Espèces Réactives de l'Azote





Introduction  
Générale

Les plantes médicinales et leurs composés bioactifs suscitent un intérêt croissant dans le domaine de la nutrition et de la santé en raison de leurs nombreux bienfaits. Les plantes sont également une forme de médecine alternative peu coûteuse et avec peu d'effets secondaires (**Lahouar et al., 2015**). Parmi ces plantes, l'herbe d'orge (*Hordeum vulgare* L.) attire particulièrement l'attention pour ses propriétés antioxydantes.

L'orge qui est l'une des céréales les plus anciennement cultivées occupe la quatrième place après le blé, le riz et le maïs (**Rosemary.K et al., 2008**), des études pharmacologiques modernes ont démontré que l'orge présente une variété d'activités bioactives et de fonctions bénéfiques pour la santé, telles que des activités immunomodulatrices, antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-obésité, anticancéreuses et cardiovasculaires. Les principaux ingrédients physiologiquement actifs extraits de l'orge sont les phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, le  $\beta$ -glucane et les fibres alimentaires. De plus, l'orge est un bon complément alimentaire qui est couramment utilisé dans les produits alimentaires à base de céréales, notamment le thé d'orge, les nouilles d'orge, le pain de farine d'orge et les biscuits d'orge des hauts plateaux, présentant ainsi une valeur d'application prometteuse dans l'industrie alimentaire (**Yan et al., 2022**).

L'idée d'utiliser les herbes comme aliment avec des avantages incontestables pour la santé n'est pas nouvelle. Les herbes vertes peuvent inclure les herbes de blé, d'orge, de seigle, de citron et d'avoine, qui sont considérées comme les plus précieuses. Les graminées céréalières jouent un rôle essentiel dans l'alimentation humaine. La plupart des animaux et des humains utilisent les herbes vertes comme aliment, mais dans des cas cruciaux, elles peuvent être consommées sous forme de jus. Les graminées céréalières sont une source d'énergie alternative. Ceux-ci sont présentés comme une source d'antioxydants (**Qamar et al., 2018**).

L'herbe d'orge (BG) est considérée comme l'une des herbes céréalières vertes les plus nutritives avec les contenus en nutriments les plus élevés aux premiers stades de croissance de l'orge. La BG est riche en flavonoïdes, polyphénols, chlorophylles, vitamines, minéraux, protéines, acides aminés et polysaccharides (**Yan et al., 2022**). Elle offre des bienfaits significatifs pour la santé, incluant des propriétés antioxydantes, un soutien au système immunitaire, une amélioration de la digestion, et des effets bénéfiques sur la détoxification et la réduction du cholestérol. Ces qualités font de l'herbe d'orge un complément précieux pour la santé globale et le bien-être (**Singh et Kumar., 2018; Hagiwara et Takeuchi.,2001**).

L'objectif principal de ce travail sera d'évaluer le potentiel antioxydant de l'herbe d'orge à deux différents stades de maturation, en étudiant ses composés bioactifs et en mesurant ses effets *in vitro*. Dans un premier temps, un chapitre introductif présentera des généralités sur la plante d'orge, son importance alimentaire, ses composés phytochimiques clés.

Ensuite, une revue détaillée de la littérature scientifique explorera les preuves actuelles des activités antioxydantes et anti-inflammatoires attribuées à l'herbe d'orge, ainsi que les mécanismes d'action sous-jacents proposés.

La partie expérimentale décrira les matériaux et méthodes utilisés pour caractériser la composition phytochimique, évaluer les propriétés antioxydantes par différents tests *in vitro*. Les résultats obtenus seront ensuite présentés et discutés en regard des connaissances actuelles.

En conclusion, cette étude met en lumière les contributions majeures de nos recherches et propose des perspectives et applications potentielles dans les domaines de la nutrition, de la santé et de l'industrie agroalimentaire.



# Chapitre 1

## Généralité sur l'orge

## **I. L'orge**

### **1. Définition**

L'orge est une plante annuelle de la classe des monocotylédones, qui appartient à la famille des Poaceae et au genre *Hordeum* qui comprend 31 espèces, mais seule *Hordeum vulgare* est couramment cultivée. *Hordeum vulgare* est une espèce diploïde ( $2n=14$ ). Elle a été l'une des premières cultures domestiquées, il y a 10 000 ans dans le croissant fertile du moyen-orient (**Baik et Ulrich, 2008**)

### **2. Histoire de l'orge**

L'orge (*Hordeum vulgare*. L) fait partie de l'alimentation humaine depuis plusieurs milliers d'années, bien qu'elle soit relativement peu consommée dans notre quotidien. Recueillie un peu partout à l'état sauvage, l'orge semble avoir été cultivée d'abord dans le Turkestan, l'Éthiopie, le Tibet, le Népal et la Chine. Des fouilles effectuées en Égypte, à 100 km du Caire, ont établi qu'on cultivait cette céréale il y a plus de 5 000 ans. Les Égyptiens, gladiateurs romains et les Vikings attribuaient à cette céréale un symbole de puissance et une valeur guerrière. En Amérique, les premières cultures remontent à Christophe Colomb qui, en 1493, avait embarqué des grains au départ d'Europe (**Jessica et al., 2017**).

### **3. Classification :**

L'orge est classée selon les types printemps ou hiver (sensible au gel ou au contraire résistant au froid environ jusqu'à  $-15^{\circ}\text{C}$ ), sa classification est basée sur la fertilité des épillets latéraux, la densité de l'épi et la présence ou l'absence des barbes (**Rasmusson, 1992**).

On y distingue deux types selon la forme de leur épi :

- L'orge à 2 rangs ou l'orge distique : à un épi aplati composé de 2 rangées d'épillets fertiles, un sur chaque axe du rachis, entouré de 4 épillets stériles. Dans ce type existent surtout des variétés de printemps.
- L'orge à 6 rangs ou orge hexastique : encore appelé exourgeon, à une section rectangulaire, sur chaque axe du rachis, les 3 épillets sont fertiles. Dans ce type n'existent pratiquement que des variétés d'hivers (**Soltner, 2005**).

D'après la classification de Feillet (2000), l'orge est classée comme suit

**Règne :** Plantae

**Division :** Magnoliophyta

**Classe :** Liliopsida

**S/Classe :** Commelinidae

**Ordre :** Poale

**Famille :** Poaceae

**S/Famille :** Hordeoideae

**Tribu :** Hordeae (Hordées)

**S/Tribu :** Hordeinae

**Genre :** Hordeum

**Espèce :** *Hordeum vulgare* L.

#### **4. Bienfaits de l'orge**

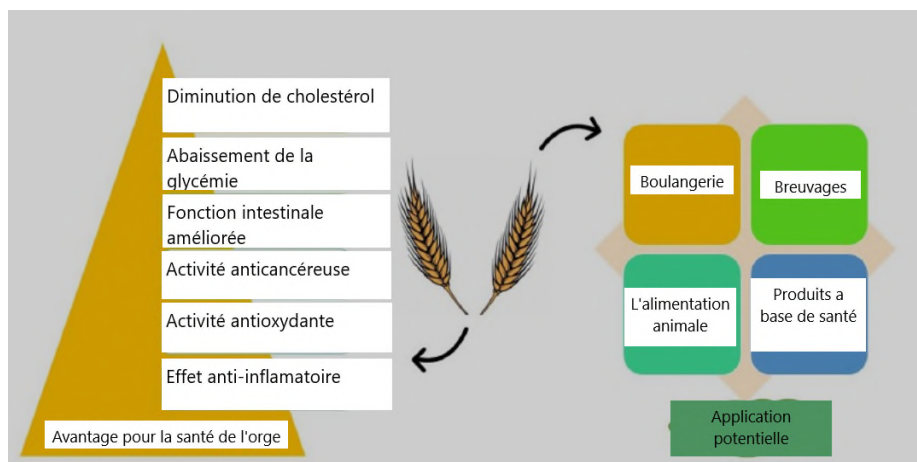
Selon **Raj et al. (2023)**, L'orge contient une grande variété d'éléments, y compris des protéines, des vitamines, des minéraux, de la chlorophylle, des polyphénols et plus encore. Des composés bénéfiques tels que le  $\beta$ -glucane, les tocots et l'amidon résistant sont abondants dans les grains d'orge. La **figure 01** montre que :

- Le glucane d'orge peut améliorer la santé intestinale, abaisser le cholestérol et stabiliser la glycémie. Les protocoles d'entraînement à la résistance ont montré qu'ils réduisaient les taux de cholestérol sanguin.
- L'amidon a été démontré pour améliorer la santé intestinale et réduire les taux de sucre dans le sang. L'orge est un aliment précieux car il contient plusieurs éléments utiles, y compris des fibres, des vitamines et des minéraux. Des minéraux tels que le fer, le zinc, le magnésium et le phosphore sont présents, tout comme les vitamines du complexe B et la vitamine E. Le bêta-glucane, une forme de fibre soluble trouvée en abondance dans l'orge, a été lié à une diminution du cholestérol et à un risque réduit de maladies cardiaques.
- Les fibres de l'orge peuvent aider à réguler les taux de sucre dans le sang, en faisant un bon choix pour les personnes diabétiques. La teneur élevée en fibres de l'orge peut également soulager la constipation et favoriser des mouvements intestinaux réguliers.
- Les antioxydants présents dans l'orge ont été démontrés pour améliorer l'immunité et offrir une protection contre les dommages des radicaux libres. En outre, Les

antioxydants de l'orge ont été liés dans certaines recherches à un risque plus faible de cancers, y compris le cancer du côlon.

- L'orge est une excellente option pour ceux qui essaient de perdre du poids car elle est faible en calories et en matières grasses, riche en fibres et peut vous aider à vous sentir rassasié plus longtemps.

Tout bien considéré, consommer de l'orge peut vous aider à maintenir une bonne santé et à manger plus sainement.



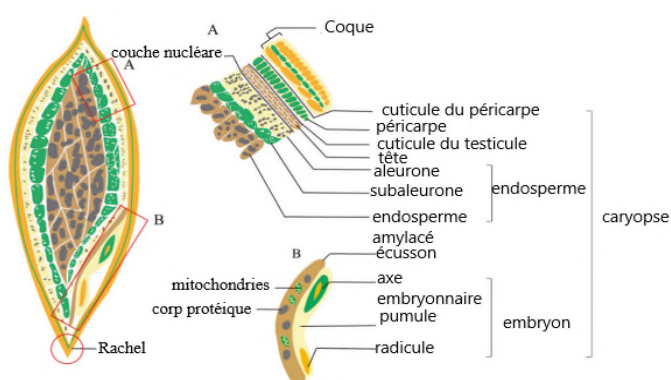
**Figure 01** : Représentation Schématique de l'Orge avec ses Bienfaits Pour la Santé et ses Applications (Raj et al., 2023).

## 5. Description

### 5.1. Graines d'orge

#### 5.1.1. Définition

Les graines d'orge désignent le fruit de l'orge commune, servent à l'alimentation animale, brasserie et alimentation humaine. Elles sont composées de plusieurs parties : les enveloppes organisées en plusieurs assises (testa, péricarpe, glumelles), l'embryon, la couche à aleurone et l'album en amylicé (**Figure 02**)



**Figure 02** : Section Transversale d'un Grain d'Orge Mature (A : Description détaillée du grain entier de l'extérieur vers l'intérieur) (B : La structure de l'embryon et du scutellum attaché) (Geng et al., 2022).

### 5.1.2. Composition chimique des grains d'orge

La composition chimique des grains d'orge est directement liée à son utilisation finale. L'orge avec une teneur élevée en protéines est utilisée de manière appropriée pour l'alimentation humaine et l'alimentation animale, tandis qu'une faible teneur en protéines est attendue pour l'orge utilisée pour le maltage ou le brassage. Dans l'ensemble, les principaux constituants des grains d'orge sont les glucides, les protéines, les lipides et les minéraux, en plus de divers métabolites secondaires, tels que les vitamines et les composés phénoliques (Geng et al., 2022).

## 5.2. Herbe d'orge (feuilles d'orge)

L'herbe d'orge (**Figure 03**) est considérée comme l'une des graminées céréalières vertes les plus nutritives, avec les teneurs en nutriments les plus élevées aux premiers stades de croissance de l'orge. BG est riche en flavonoïdes, polyphénols, chlorophylles, vitamines, minéraux, protéines, acides aminés et polysaccharides. La principale fonction pharmacologique de BG est de traiter diverses maladies chroniques, notamment l'obésité, le diabète et l'athérosclérose, jouant ainsi un rôle important dans la régulation de la santé humaine. De plus, les constituants phytochimiques, les activités biologiques ainsi que la qualité des produits à base de BG dépendent largement de ses différents stades de développement (Yan et al., 2022).





**Figure 03 :** Photographie de l'herbe d'orge *Hordeum vulgare. L*

### 5.2.1. Composition

La composition de l'herbe d'orge peut varier en fonction de sa variété, de son mode de culture et de sa transformation. L'herbe d'orge est une véritable mine de nutriments, offrant une composition riche et variée (Zeng et al., 2018) . Elle contient principalement :

#### ➤ Gaba et Acides Aminés

La teneur en GABA dans l'herbe d'orge est de 125 à 151 mg/100 g. Cette plante contient 20 acides aminés pour la production d'énergie, la construction cellulaire et la régénération, en particulier, 8 acides aminés essentiels que le corps humain ne peut pas synthétiser et doit les obtenir à partir de l'alimentation à savoir leucine, isoleucine, valine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine et tryptophane(Zeng et al., 2018).

#### ➤ Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des constituants importants des fruits, des légumes et de beaucoup de préparation de fines d'herbes (Mc Nulty et al., 2009). Selon Zeng et al.(2018), la teneur totale en flavonoïdes dans BG sont passées de 273,1 à 515,3 mg/100 g entre 13 et 56 jours après la germination. De plus, Ces flavonoïdes présentent des activités biologiques comprenant des actions anti allergéniques, antivirales, anti-inflammatoires, vasodilatatrice, et antioxydants reflétant ainsi l'effet bénéfique d'herbes étudiés (David et al., 2016).

#### ➤ Enzymes

Plusieurs études ont montré que l'herbe de l'orge contient une multitude d'enzymes. Ces dernières sont essentielles pour les milliers de réactions chimiques qui se produisent dans tout le corps, y compris la production d'énergie au niveau cellulaire, la facilitation de la

digestion, l'absorption des nutriments digérés, la reconstitution de tout ce dont l'organisme a besoin pour que le métabolisme se produise, et parmi ces réactions celles qui luttent contre le stress oxydant (**Lahouar et al., 2015**). Au sein de ces enzymes, on trouve principalement la super oxyde dismutase (SOD) et la catalase. Mais également la cytochrome oxydase et la peroxydase (**Ehrenbergerova et al., 2009**), la peroxydase de guaiacol (POD), la peroxydase d'ascorbate (APX) (**zeng et al., 2018**).

### ➤ **Minéraux**

Les feuilles d'orge contiennent la plus grande teneur en minéraux, notamment du potassium, du calcium, du fer et du soufre dont la teneur est de 305,5 mg/100 g selon (**Zeng et al., 2018**). Par ailleurs, **Qamar et al., (2018)**, rapportent que, la teneur en calcium est de 57,573 et 49,890 mg/100, la teneur en fer et en potassium est de 14,333 mg/100 g et 365,54 mg/100 g respectivement. En outre, toutes les enzymes antioxydants requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la super oxydedismutase mitochondriale a besoin de manganèse.

### ➤ **Chlorophylle**

Des études ont montré que la chlorophylle peut offrir divers avantages pour la santé. Par exemple, elle a des propriétés antioxydantes puissantes, ce qui aide à neutraliser les radicaux libres dans le corps et à réduire le stress oxydatif. La chlorophylle peut également jouer un rôle dans la détoxification, en particulier en se liant aux substances toxiques et en facilitant leur élimination du corps. Une étude réalisée par Ferruzzi et Blakeslee (2007) a révélé que la chlorophylle et ses dérivés pouvaient se lier aux carcinogènes alimentaires et réduire ainsi leur absorption dans le tractus gastro-intestinal. De plus, la chlorophylle peut avoir des effets anti-inflammatoires et cicatrisants, favorisant la santé générale.

### ➤ **Vitamines**

L'herbe d'orge est une source exceptionnelle de vitamines essentielles, contribuant de manière significative à ses nombreux bienfaits pour la santé. Elle est particulièrement riche en vitamines A, C, E et K, ainsi qu'en vitamines du complexe B. La vitamine A, sous forme de bêta-carotène, joue un rôle crucial dans la santé visuelle et le maintien d'une peau saine. La vitamine C, un puissant antioxydant, renforce le système immunitaire et améliore l'absorption

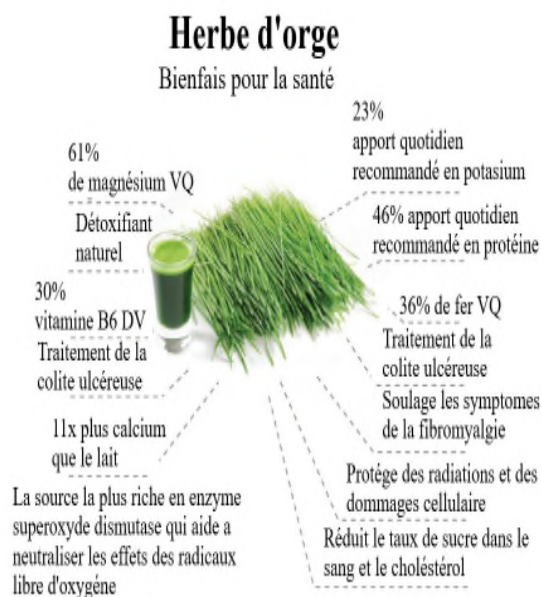
du fer. La vitamine E protège les cellules contre les dommages oxydatifs, tandis que la vitamine K est essentielle pour la coagulation sanguine et la santé osseuse. Les vitamines du complexe B, notamment B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B3 (niacine), B5 (acide pantothénique), B6 (pyridoxine), B9 (folate) et B12 (cobalamine), sont vitales pour le métabolisme énergétique, la fonction cérébrale et la formation des cellules sanguines (**Johnson et Lee, 2022**).

### ➤ Polyphénols

Les polyphénols sont des molécules bénéfiques pour la santé (Brat et al., 2006). Des aliments riches en composés phénolique ont reçu une attention croissante à cause des récentes conclusions sur leur association avec la prévention des maladies. Ces composés sont des antioxydants les plus abondants dans notre régime alimentaire. Ils font parti des constituants des fruits, des légumes, des céréales et des olives (D'archivio et al., 2009). Zeng et ses collaborateurs (2018) dans leur étude, ont trouvé une teneur en polyphénols de 776,6 à 1060,1 mg GAE/100 g entre 13 et 40 jours après la germination de l'herbe d'orge.

### 5.2.2. Importance de l'herbe d'orge

La principale fonction pharmacologique de BG est de traiter diverses maladies chroniques, y compris l'obésité, le diabète et l'athérosclérose, jouant ainsi un rôle important dans la régulation de la santé (**Figure04**). De plus, les constituants phytochimiques et les activités biologiques ainsi que la qualité des produits de BG dépendent largement de ses différents stades de développement (**Yan et al., 2022**).



**Figure 04 :** Composition nutritionnel d'herbe d'orge

Plusieurs études ont montré que l'herbe d'orge présente de nombreux avantages pour la santé à savoir la détoxification et la purification, le renforcement du système immunitaire, l'Amélioration de la digestion, la Protection contre le cancer, l'effet anti diabétique et la Régulation de la tension artérielle (Zeng et al., 2018 ; Lahouar et al., 2015 ; Yan et al., 2022 ; Raj et al., 2023).

### 1. Détoxification et purification

L'herbe d'orge est souvent utilisée comme agent détoxifiant pour aider à éliminer les toxines du corps, favorisant ainsi la santé du foie et des reins. Extrêmement alcalinisant et riche en vitamines et minéraux essentiels, l'herbe d'orge est une source inépuisable de chlorophylle - un composé qui se transforme en énergie à la lumière du jour à l'intérieur de la plante. Lorsque la chlorophylle est absorbée, elle libère un flux d'oxygène dans le système sanguin, détoxifiant le corps des toxines et des impuretés nocives, elle peut se lier et éliminer les produits chimiques dangereux et les métaux lourds (Smith et Taylor, 2024).

### 2. Renforcement du système immunitaire

L'herbe d'orge est naturellement riche en nutriments qui aident à soutenir le système immunitaire, tels que les vitamines, les minéraux, les acides aminés, les antioxydants et les enzymes. Elle est extrêmement riche en vitamine C, qui est essentielle à la santé générale du corps dans ses efforts pour lutter contre les infections - bactériennes et virales. Les globules

blancs contiennent plusieurs fois la quantité de vitamine C que les autres cellules et nécessitent un approvisionnement constant pour maintenir le système immunitaire fonctionnant à sa capacité optimale (Zeng et al., 2018).

### **3. Amélioration de la digestion**

La poudre de jeune feuille d'orge avec la fibre alimentaire insoluble dans l'eau peut augmenter le volume des selles et l'action laxative en stimulant le tractus intestinal en abaissant le pH. BG est très efficace dans le traitement de la colite ulcéreuse, la pancréatite et les troubles du tractus gastro-intestinal. Un aliment à base d'orge germée est utile pour réduire la colite ulcéreuse et améliore les symptômes en favorisant la croissance des probiotiques. L'herbe d'orge enrichie en sélénium a un effet mélioratif significatif sur l'ulcère gastrique induit par l'éthanol chez les souris (Raj et al., 2023).

### **4. Protection contre le cancer**

De nombreuses études ont montré que l'herbe d'orge (BG) pourrait potentiellement protéger les cellules humaines contre les éléments cancérigènes. La recherche indique que la chlorophylle dans l'herbe d'orge interagit avec les agents cancérigènes et inhibe leurs effets de manière dose-dépendante. L'herbe d'orge contient également des substances antioxydants, qui aident à lutter contre le cancer en prévenant les dommages causés à l'ADN du corps par les radicaux libres (Lahouar et al., 2015).

### **5. Antidiabétique**

La saponarine dans le BG peut contrôler la glycémie post-prandiale du diabète. La poudre d'herbe d'orge (1,2 g/jour) en deux mois peut réduire significativement la glycémie à jeun, l'hémoglobine glyquée, le cholestérol total et le cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL), mais augmenter significativement les niveaux de cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL)(Zeng et al., 2018).

### **6. Régulation de la tension artérielle**

Certains composés présents dans l'herbe d'orge, tels que les flavonoïdes, peuvent aider à abaisser le taux de cholestérol et à réduire le risque de maladies cardiovasculaires. La poudre d'herbe d'orge a des propriétés d'abaissement de l'hypertension, avec des niveaux plus élevés de certains minéraux (potassium et calcium), de GABA (acide gamma-aminobutyrique) et une teneur plus faible en sodium (Zeng et al., 2018 ; Yan et al., 2022 ).

## **7. Activité anti-inflammatoire**

L'OG a des propriétés anti-inflammatoires et guérit la muqueuse intestinale, qui est utilisée pour les troubles du tractus gastro-intestinal, la pancréatite, la convalescence et le traitement de la colite ulcéreuse. La saponarine des pousses d'orge est un ingrédient fonctionnel très important de l'anti-inflammation naturelle. L'extrait d'herbe d'orge est très efficace dans le traitement de l'arthrite rhumatoïde par rapport à la consommation de SOD, ce qui peut être utilisé comme complément dans le traitement des troubles urologiques et gynécologiques ainsi que des infections des voies respiratoires. L'extrait BG avec des antioxydants et anti-inflammatoires peut être utilisé comme médicament naturel pour le traitement des patients atteints d'arthrite rhumatoïde en éliminant les ROS et en régulant à la baisse la production de TNF- $\alpha$  du sang périphérique et du liquide synovial des patients (Zeng et al., 2018).

## **8. Propriétés anti-oxydante**

### **1. Définition**

Les antioxydants sont des substances naturelles ou synthétiques qui peuvent prévenir ou retarder les dommages des cellules causés par les oxydants (ROS, RNS, radicaux libres, autres molécules instables). Halliwell et Gutteridge, 2019 ont défini un antioxydant comme toute substance qui retarde, prévient ou élimine les dommages oxydatifs sur une molécule cible. Pour qu'une substance soit considérée comme un antioxydant, elle doit être active à faible concentration (les antioxydants phénoliques perdent souvent leur activité à forte concentration et agissent comme des pro-oxydants), sa quantité doit être suffisamment élevée pour désactiver la molécule cible, elle doit réagir avec les radicaux libres d'oxygène ou d'azote, et le produit final de la réaction doit être moins toxique que le radical éliminé (Bedlovičová et al., 2020)

### **2. Activité antioxydants de l'herbe d'orge**

L'herbe d'orge, attire beaucoup l'attention pour ses propriétés antioxydants. Ces qualités viennent des nombreux composés bénéfiques qu'elle renferme, comme les polyphénols et les flavonoïdes, la vitamine C et E qui aident à protéger nos cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. Ces derniers sont créés naturellement dans notre

corps et par des facteurs externes comme la pollution, contribuant au stress oxydatif et à des maladies comme les maladies cardiaques et le cancer. Des études récentes montrent que la consommation régulière de jus d'herbe d'orge peut renforcer nos défenses antioxydantes naturelles, ce qui pourrait avoir des effets bénéfiques sur notre santé en général. Bien que plus de recherches soient nécessaires pour confirmer tous ses effets (Smith et al., 2022).

### 1.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est la perturbation de l'équilibre entre la production de espèces réactives de l'oxygène, ROS (radicaux libres) et les défenses antioxydantes. Les ROS pourraient être impliqués en tant qu'initiateurs et médiateurs dans plusieurs maladies telles que les maladies cardiaques, la dysfonction endothéliale, l'athérosclérose et d'autres troubles cardiovasculaires, l'inflammation, les troubles dégénératifs cérébraux, le diabète et les maladies oculaires. Les humains sont continuellement exposés aux radicaux libres produits par l'exposition à la cigarette, à l'alcool, aux radiations ou aux toxines environnementales (Figure05). Un antioxydant biologique a été défini comme toute substance présente à faibles concentrations par rapport à un substrat oxydable et retardant significativement ou prévenant l'oxydation de ce substrat (Panthi et al., 2020)

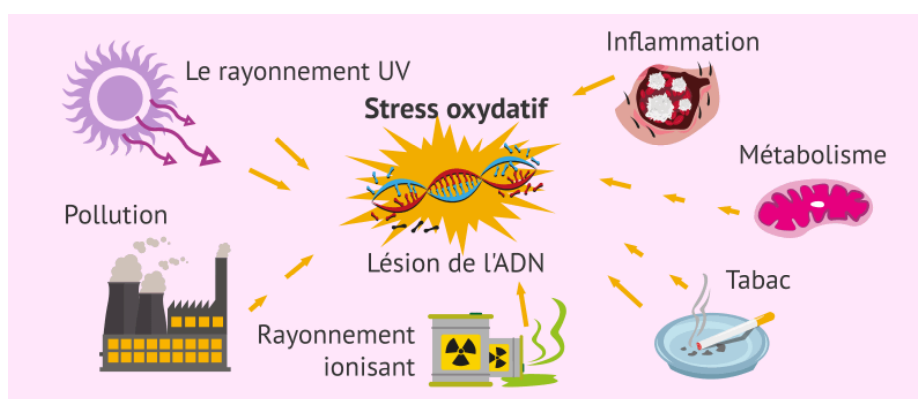
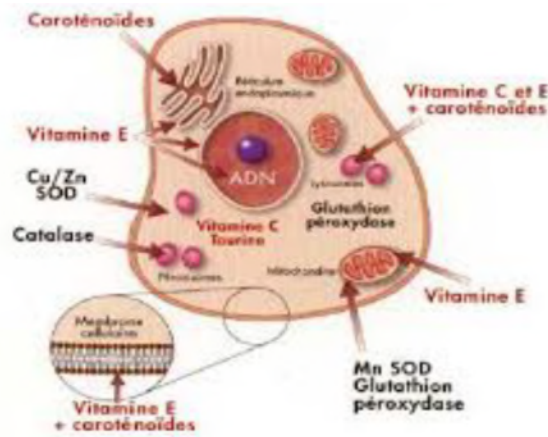


Figure 05 : Représentation des différentes sources des Radicaux libre

### 1.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules qui ont des électrons non appariés et sont généralement instables et hautement réactifs. Il existe deux types de radicaux libres en biologie : les radicaux dérivés de l'oxygène, également appelés espèces réactives de l'oxygène (ROS), et les radicaux à base d'azote, également appelés espèces réactives de l'azote (RNS). Les ROS peuvent être divisés en radicaux centrés sur l'oxygène, comprenant l'anion

superoxyde ( $O_2 \bullet-$ ), le radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ), le radical alcoxyle ( $RO\bullet$ ) et le radical peroxy ( $ROO\bullet$ ), et les non-radicaux centrés sur l'oxygène, tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et l'oxygène singulet ( $^1 O_2$ ). Les radicaux libres peuvent induire la peroxydation des lipides (LPO), causer des cassures de brins d'ADN et oxyder de manière indiscriminée les protéines et d'autres molécules importantes, entraînant des lésions. Cependant, les cellules sont capables de neutraliser ces radicaux dans une certaine mesure en utilisant des antioxydants endogènes et des systèmes spécifiquement conçus pour contrer ces molécules réactives nocives (Ramos-Tovar et Muriel., 2020).



**Figure 06 :** Sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des Enzymes antioxydantes(en noir) (Opara, 2002).



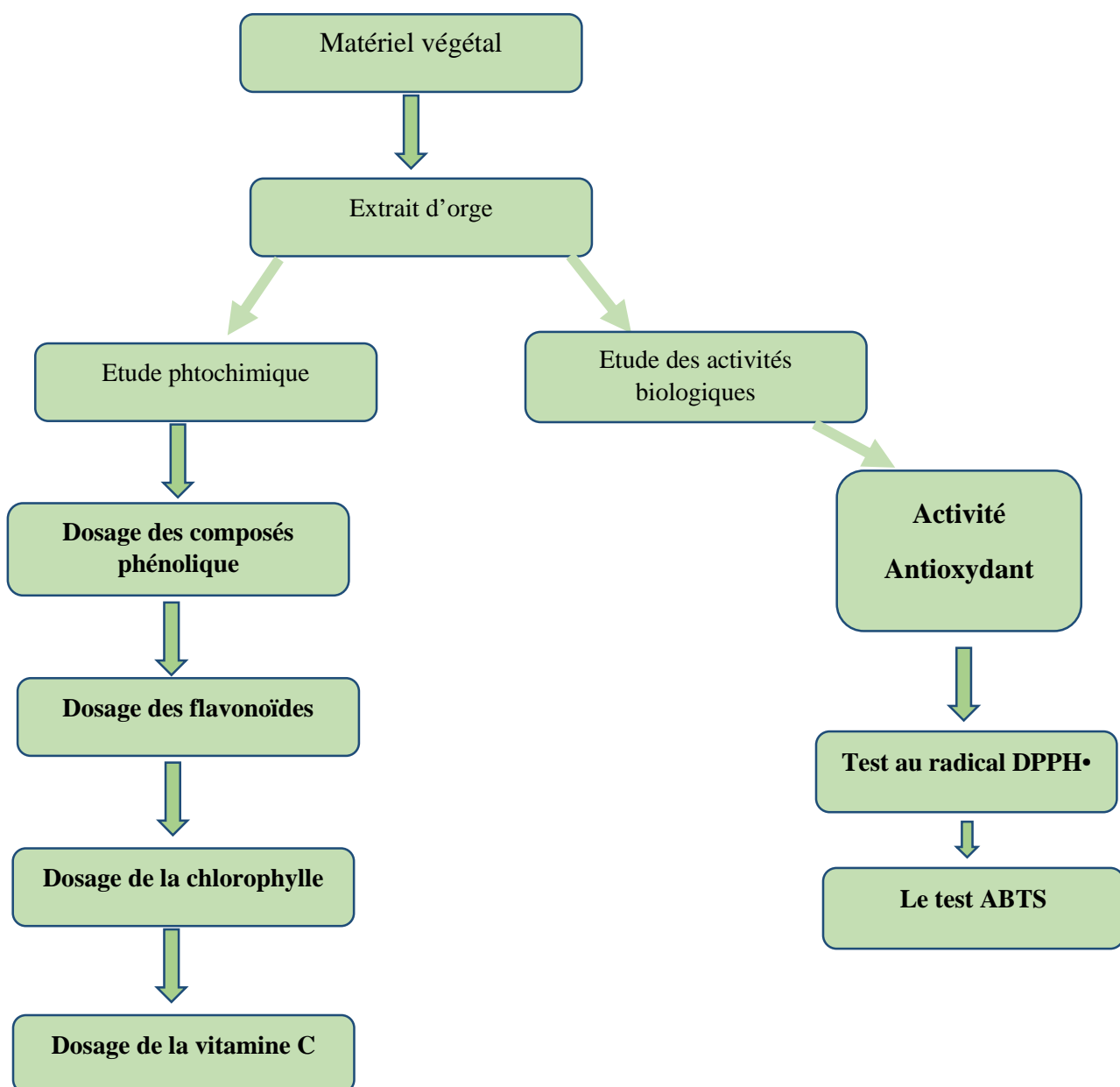
# Chapitre II

Matériels et méthodes

## II. Matériel et méthodes

Nous avons réalisé ce travail au niveau du laboratoire d'analyse instrumentale au niveau de l'université Abderrahmane Mira Bejaïa faculté des sciences de la nature et de la vie.

Au cours de cette étude, nous intéressés aux effets antioxydants des feuilles d'orge à deux différents stades de maturation ainsi que leurs composition phytochimique (**Figure07**).



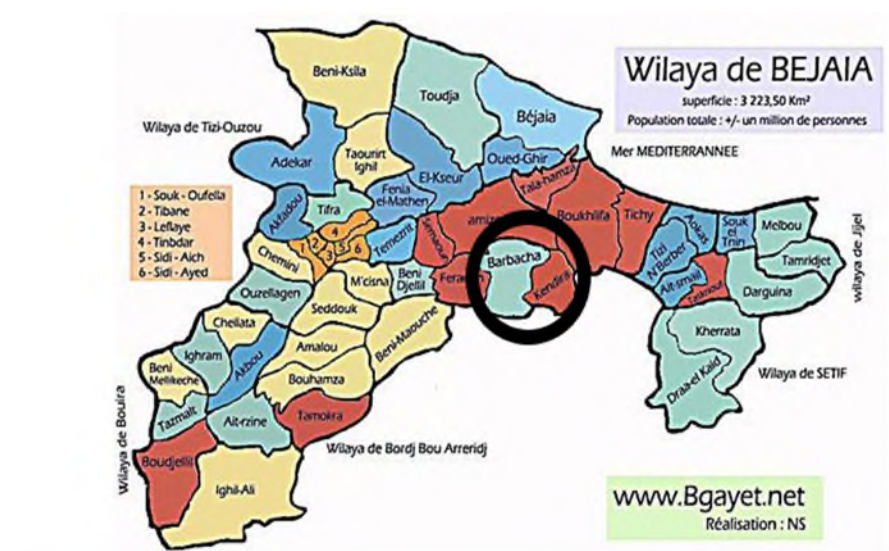
**Figure 07** : Schéma récapitulatif des protocoles expérimentaux adoptés

## 1. Description de matériel végétal

Dans cette étude, nous avons utilisé deux échantillons distincts d'herbe d'orge (*Hordeum vulgare*) afin de comparer leur composition chimique et leurs activités biologiques, notamment antioxydants. Les échantillons ont été obtenus par deux méthodes de culture différentes, décrites comme suit :

- **Échantillon de 20 cm**

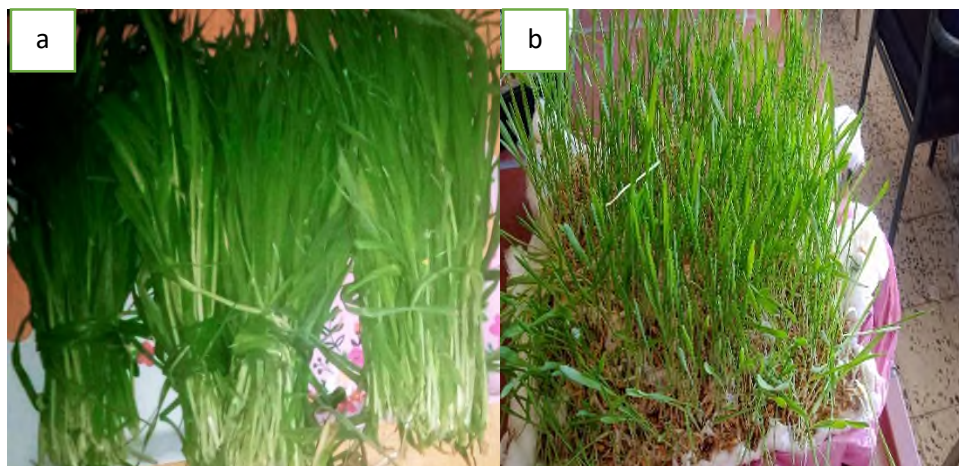
Les graines d'orge ont été cultivées dans la région de Barbacha, Wilaya, Bejaia, Algérie (**figure08**) le 25 décembre de l'année précédente dans des conditions contrôlées pour assurer une croissance optimale. Ils ont été cultivés avec soin jusqu'à la date de récolte, le 26 mars



**Figure 08** : Représentation géographique du site de prélèvement de l'échantillons

- **Echantillon de 10 cm**

La germination des graines a été effectuée à domicile afin de produire des pousses de 10 cm de hauteur sur une période de 8 jours. A la récolte, les plants d'orge étaient forts et sains, Les tiges étaient droites et bien développées, présentant la couleur vert vif caractéristique d'une croissance saine. Les feuilles sont également bien formées et de couleur vert foncé, indiquant une bonne photosynthèse (**Figure 09**).

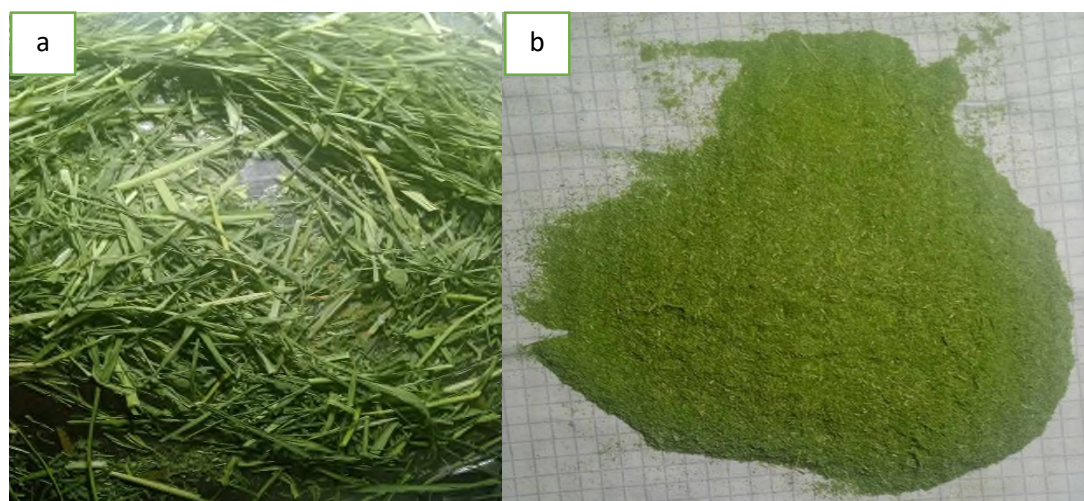


**Figure 09 :** Photographie des échantillons d'herbe d'orge (*Hordeum vulgare* L)

(a : 20 cm , b : 10cm)

## 2. Préparation de la poudre d'herbe d'orge

Dans cette étude, des feuilles d'orge (*Hordeum vulgare* L.) ont été utilisées pour préparer de la poudre d'herbe d'orge. Les feuilles fraîches ont été soumises à un processus de séchage pendant 48 heures à 40°C dans une étuve ventilée afin de réduire la teneur en humidité. Ce séchage a été réalisé dans des conditions aseptiques pour éviter toute contamination externe. Une fois les feuilles sèches, elles ont été broyées à l'aide d'un moulin à épices stérile. Cette méthode de préparation a été choisie pour garantir la pureté et l'intégrité des échantillons d'herbe d'orge utilisés dans les analyses ultérieures (**figure 10**).



**Figure 10 :** Photographie de l'herbe d'orge

(a : herbe d'orge après séchage ; b : herbe d'orge après broyage ).

## 2.1 Taux d'humidité

Après le séchage et avant le séchage la masse de l'échantillon a été mesurer à l'aide d'une balance pour calculer le taux d'humidité défini par la loi suivante :

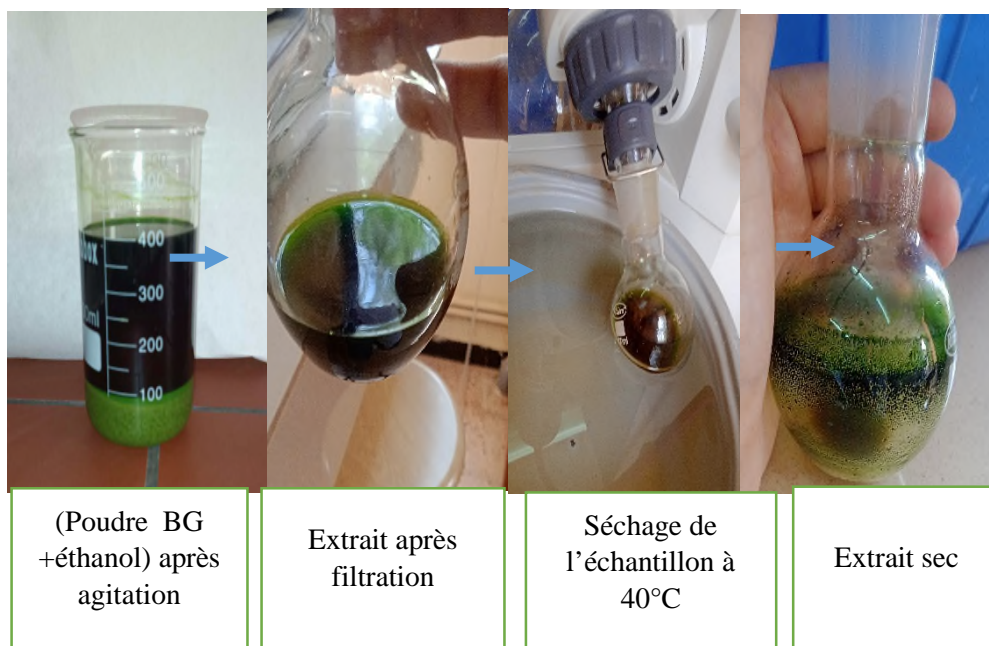
$$H\% = \frac{P_0}{P_s} \times 100$$

- H% : Humidité
- P<sub>0</sub> : Le poids initial de l'échantillon
- P<sub>s</sub> : Le poids sec de l'échantillon

## 3. Extraction des substances bioactive

### 3.1 Protocole d'extraction par macération

La poudre de feuilles (25 g) a été dégraissée en agitant avec 600 mL de n-hexane (température ambiante, 130 tr/min, 3 h), puis séchée (température ambiante, 2 h) et ensuite extraite avec 400 mL d'éthanol (température ambiante, 130 tr/min, 24 h). L'extrait brut a été filtré sur cellulose, concentré avec un évaporateur rotatif sous vide (40 °C)(**figure11**), lyophilisé et conservé à l'abri de la lumière à +4 °C jusqu'à son test (max. 90 jours) (**Brahmi et al., 2015**).



**Figure 11** : Schéma représentatif des étapes de l'extraction par macération



### 3.3 Rendement

Le rendement (R) d'extraction définis comme étant le rapport entre la masse obtenue de l'extrait sec et la masse du matériel végétal traité (**Kanfonet al., 2018**). Le pourcentage de rendement pour chaque extrait a été calculé selon **Deguenonet al., (2017)** par la formule suivante :

$$R(\%) = Me / Mv \times 100$$

(%) : Rendement exprimé en %.

**Me** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

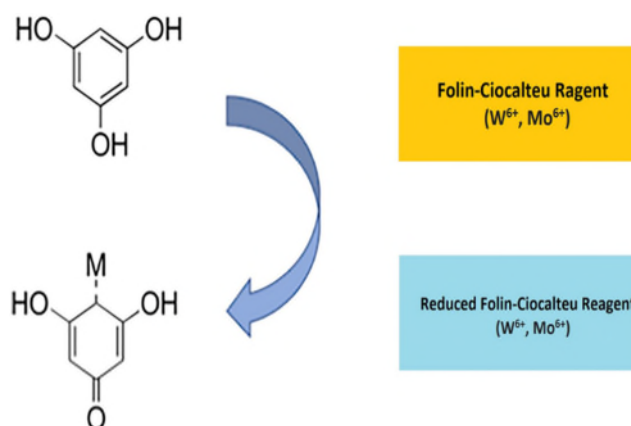
**Mv** : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

## 4. Dosage des composés bioactif

### 4.1 Dosage des polyphénols totaux

#### ❖ Principes

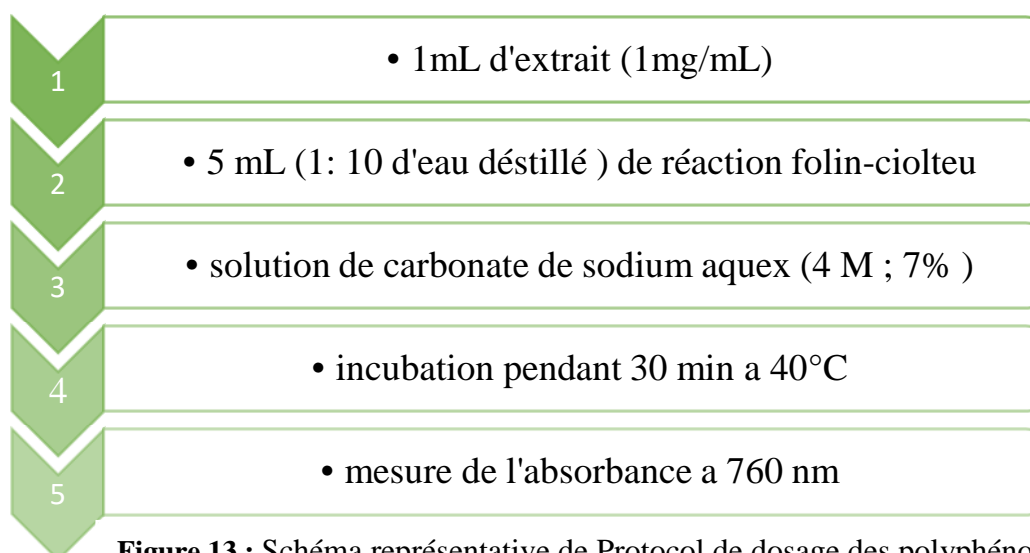
Les polyphénols totaux sont déterminés selon la méthode de **Singleton et Rosi (1965)**. Le réactif utilisé est un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Le principe de cette méthode repose sur l'oxydation de composés phénoliques par ce réactif, conduisant à la formation d'un nouveau complexe d'oxydes métalliques de tungstène bleu et de molybdène (**figure 12**). L'intensité de la couleur bleue produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait.



**Figure 12** : Réaction des polyphénols avec le réactif de Folin-Ciocalteu pour Produire un composé bleu (**Ford et al., 2019**)

### ❖ Protocole

Selon **Panthi et al (2020)** la teneur en polyphénols est déterminé à partir de différents extraits (1 mg/ml) a été mélangé avec du FCR (5 ml, 1 :10 v/v d'eau distillée) et une solution de carbonate de sodium aqueux (4 ml, 7%). Le mélange a ensuite été incubé pendant 30 minutes à 40 °C dans un bain-marie avant de mesurer l'absorbance à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis à microprocesseur-2371 (Electronics India, HimachalPradesh, Inde)(**figure13**). Les teneurs phénoliques ont été calculées en utilisant une courbe d'étalonnage pour l'acide gallique (GA) (10-200 µg/ml), et le résultat a été exprimé en mg d'EGC par gramme de poids sec de fraction (mg EAC/gES).



**Figure 13** : Schéma représentative de Protocol de dosage des polyphénols totaux (**panthi et al.,2020**)

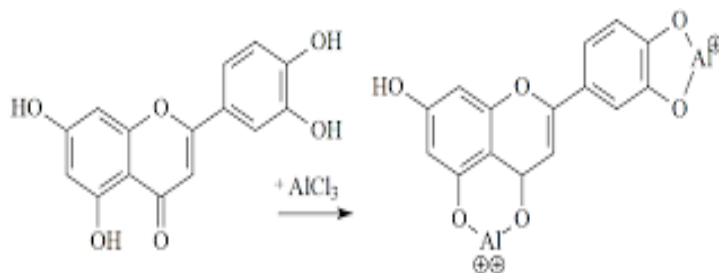
## 4.2 Dosages des flavonoïdes

### ❖ Principes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée Selon la méthode colorimétrique de **Lamaisonet Carnat (1991)**. La méthode est basée sur la formation d'un complexe jaunâtre après chélation des ions  $Al^{3+}$ , utilisés sous forme de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), avec les groupements OH des flavonoïdes (**figure 14**).

Ce complexe jaunâtre absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 430nm.

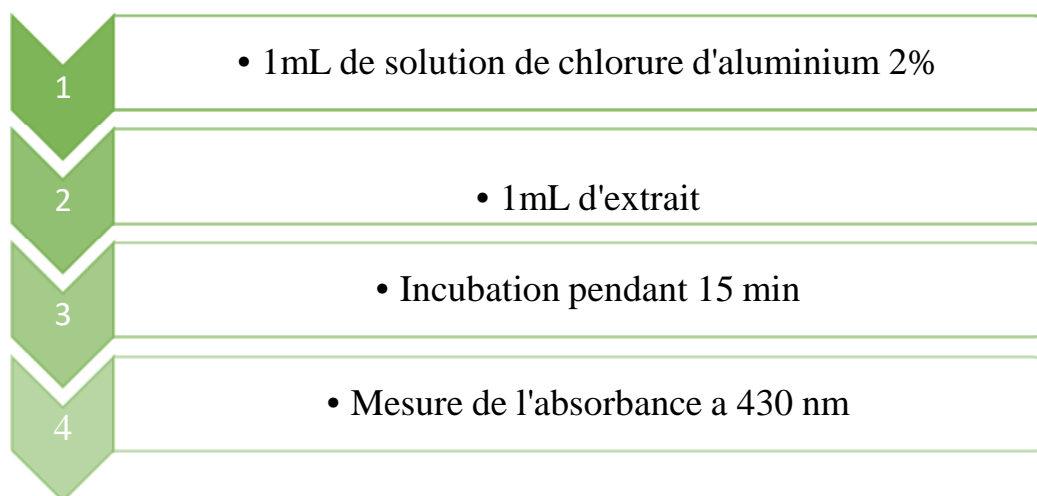
La couleur ainsi formée est proportionnelle à la teneur en flavonoïdes du mélange (Ribereau-Gayon,1968).



**Figure 14** : Réaction de formation de complex jaunatre entre les flavonoides et le chlorure d'aluminium

### ❖ Protocol

Selon la méthode  $\text{AlCl}_3$  de **Lamaison et Carnat (1990)** (figure 15), la teneur en flavonoïdes est déterminée comme suit : 1ml de solution de chlorure d'aluminium (2%) a été ajouté à 1ml de chaque extrait. Ces mélanges ont ensuite été incubés à l'obscurité après 15 minutes d'incubation, mesurer l'absorbance à 430 nm (Figure 15).



**Figure 15** : Etapes de Protocol de dosage des flavonoïde (Lamaison et Carnat,1990)

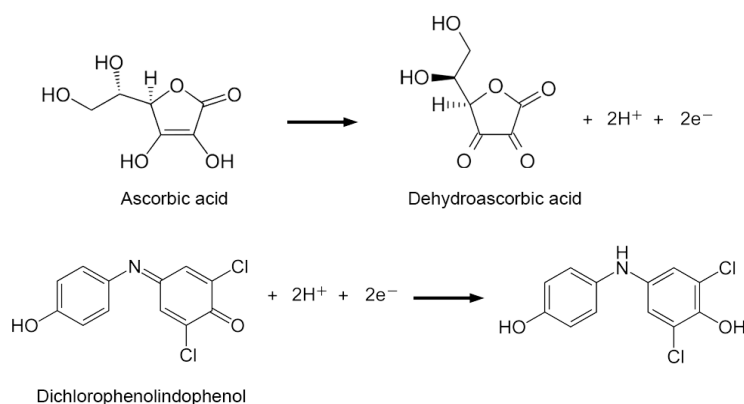
## 4.3 Dosage de la vitamine C

### ❖ Principe

Le principe de cette méthode est une titration avec le dichlorophénolindophénol également connu sous le nom de DCPIP. L'acide ascorbique réagit avec le DCPIP, changeant la couleur de bleu à incolore. Ils réagissent de manière 1 :1, donc si une quantité connue de solution de



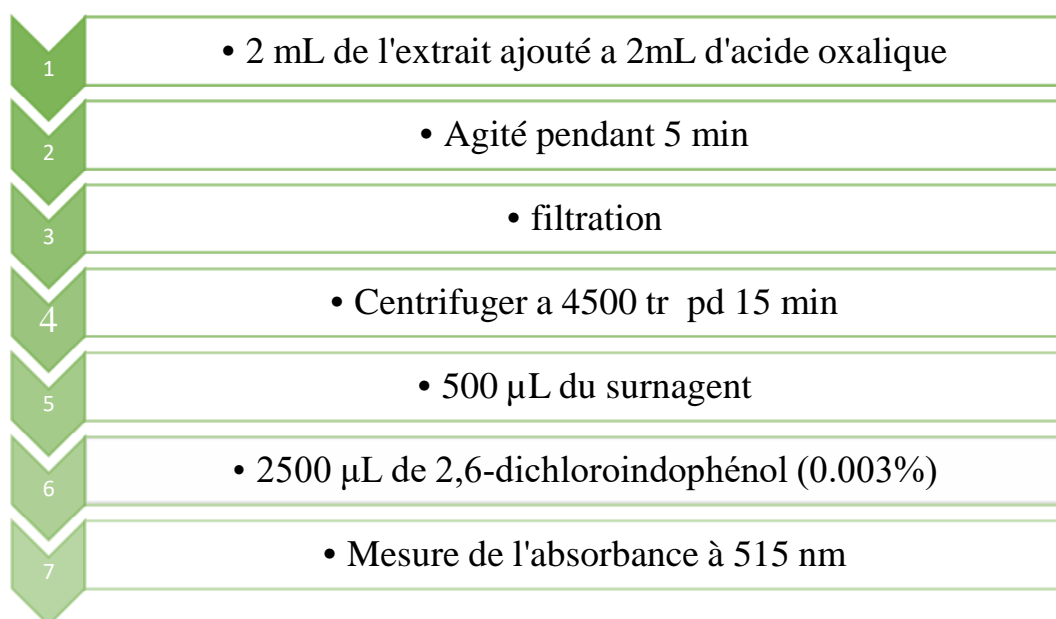
DCPIP réagit avec l'extrait de tissu végétal (**figure 16**), la quantité de DCPIP utilisée donne une mesure directe de la quantité d'acide ascorbique présente (**Patrick et al., 2016**).



**Figure16** : Réaction d'acide ascorbique avec le DCPIP

### ❖ Protocol

Selon **Mau et al. (2005)**, 2mL de l'extrait sont agités à 2 mL d'acide oxalique (0.4%)Après agitation pendant 5 min, le mélange est filtré à l'aide d'unpapier filtre.Suite à une centrifugation à à 4500 tr pendant 15 min, 500 µL du surnageant sont ajoutés à 2500 µL de 2,6-dichloroindophénol (0.003%). L'absorbance est mesurée à 515 nm (**figure 17**).



**Figure 17** : Protocole de dosage de la vitamine C (**Mau et al., 2005**)

### 4.3 Dosage de la chlorophylle

#### ❖ Protocol

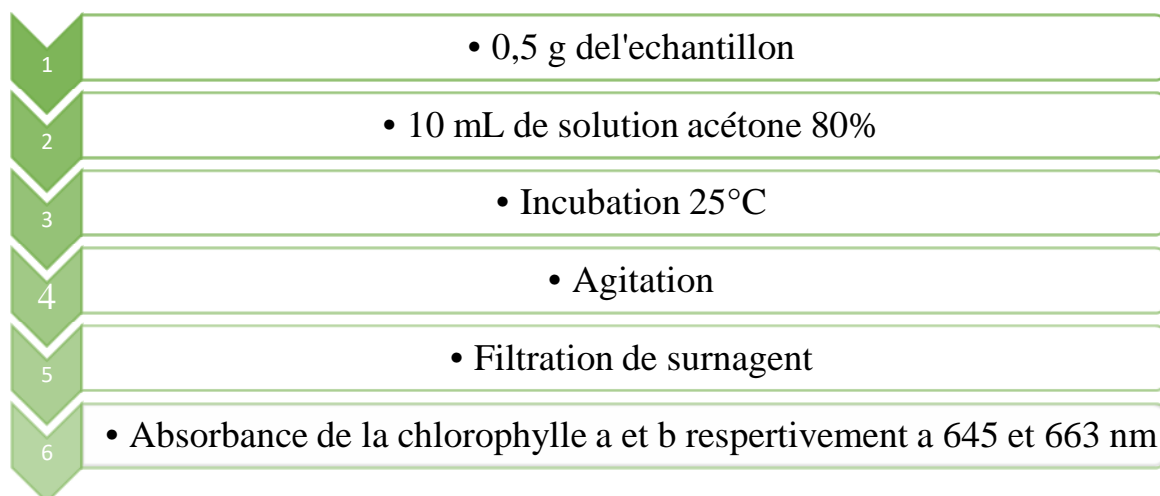
Selon Liu et al. (2022), la teneur en chlorophylle est déterminée comme suit : 0,5 g de l'échantillon a été ajouté à 10 mL de solution d'acétone à 80 %. Le mélange a été placé à l'abri de la lumière à 25 °C pendant 5 heures et agité toutes les heures. Le surnageant a été filtré dans un ballon volumétrique brun de 25 mL, et le résidu a été lavé jusqu'à ce qu'il soit incolore avec une solution d'acétone à 80 %. L'absorbance de l'extrait a été déterminée à 645 et 663 nm en utilisant la spectrophotométrie ultraviolette (**figure 18**). Les teneurs en chlorophylle a et chlorophylle b ont été calculées selon les équations suivantes :

$$w_a = \frac{(12.21 \times A_{663\text{nm}} - 2.81 \times A_{645\text{nm}}) \times N \times V}{1000 \times m}$$

$$w_b = \frac{(20.13 \times A_{645\text{nm}} - 5.03 \times A_{663\text{nm}}) \times N \times V}{1000 \times m}$$

$$w_T = w_a + w_b$$

- **w<sub>a</sub>** : Concentration de la chlorophylle a (en mg/L).
- **w<sub>b</sub>** : Concentration de la chlorophylle b (en mg/L).
- **w<sub>T</sub>** : Concentration totale de chlorophylle (a + b) (en mg/L).
- **A<sub>663nm</sub>** : Absorbance mesurée à 663 nm (absorbance maximale de la chlorophylle a).
- **A<sub>645nm</sub>** : Absorbance mesurée à 645 nm (absorbance maximale de la chlorophylle b).
- **N** : Facteur de dilution (sans unité).
- **V** : Volume de l'échantillon utilisé pour la mesure (en mL ou L, selon le contexte).
- **m** : Masse de l'échantillon (en g ou mg).



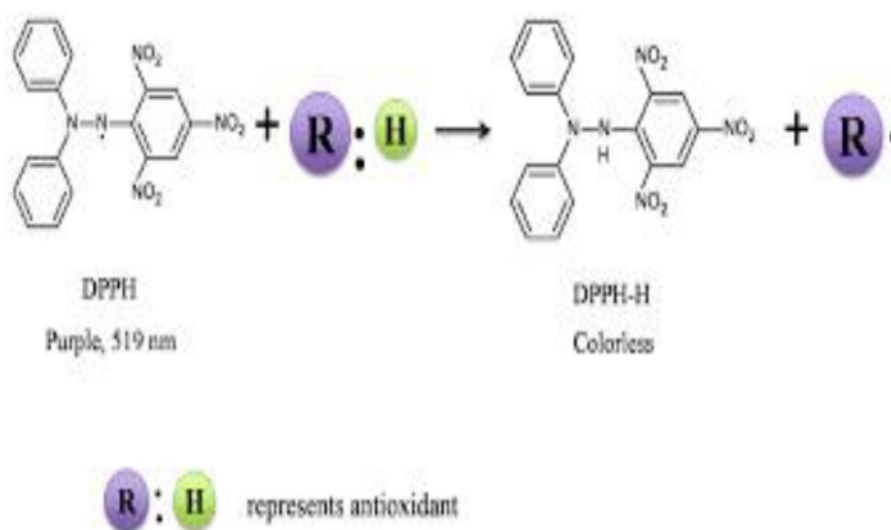
**Figure 18** : Protocole de dosage de la chlorophylle (Liu et al., 2022)

## 5. Évaluation de l'activité antioxydants

### 5.1 Test au radical DPPH•

#### ❖ Principe

DPPH• (2,2-diphényl-1-1-picrylhydrazyl) est un radical violet libre et moins stable qui absorbe à 517 nm. En présence de composés antioxydants, ce radical est réduit (**Figure19**) et change de couleur. La formation de produits de réaction affaiblit l'absorption après 30 min de temps de réaction (**Tangara et al., 2022**).



**Figure 19** : Réduction du radical DPPH• en DPPH-H (**Guimarães et al., 2010**).

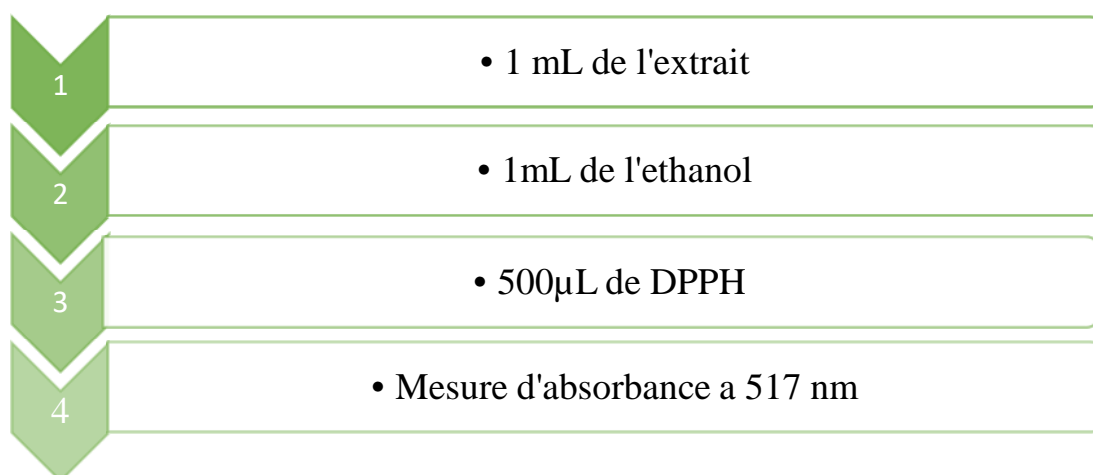
#### ❖ Mode opératoire

L'activité de piégeage des radicaux DPPH• a été déterminée en utilisant la méthode proposée par **Blois (1958)**. Une solution stock de DPPH• ( $1,10^{-3}$  M) dans de l'éthanol pur (96 %) a été préparée fraîchement chaque jour. Un millilitre des extraits (10 à 80  $\mu\text{g/mL}$ ) a été ajouté à 1,0 mL d'éthanol et 500  $\mu\text{L}$  de solution de DPPH•, maintenu dans l'obscurité à température ambiante pendant 1 heure, et l'absorbance a été mesurée à 517 nm par rapport à un blanc préparé sans extrait (**figure20**). Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH• par les échantillons a été calculé selon la formule suivante :

$$I\% = \left[ \frac{A_c - A_s}{A_c} \right] \times 100$$

Dans A c'est l'absorption de control et As est l'absorption de solution testé.

La concentration d'extrait fournissant 50% d'inhibition (IC50) a été obtenue en traçant le pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de la solution d'extrait. Toutes les déterminations ont été effectuées en triple (**Brahmi et al., 2015**).



**Figure 20** : Protocol de detrmination de l'activité anti-oxydant de l'herbe d'orge (**Brahmi et al., 2015**)

## 5.2 Test ABTS (TEAC)

### ❖ Principe

Le test TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) a été développé pour la première fois par **Miller et son équipe (1993)**, comme une méthode simple et pratique utilisée pour mesurer la capacité antioxydante totale (TAC). Le test mesure la capacité des antioxydants à neutraliser le cation radicalaire stable 2,2'-azinobis(3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique) (ABTS•+), un chromophore bleu-vert d'absorption maximale à 734 nm, dont l'intensité diminue en présence d'antioxydants (**Figure21**). ABTS•+ peut être généré à partir de l'ABTS en présence d'agents antioxydants puissants. Le degré de décoloration de la couleur bleu-vert, quantifié comme une chute soudaine de l'absorbance à 734 nm, dépend de la durée de la réaction, de l'activité antioxydante intrinsèque et de la concentration de l'échantillon (**Munteanu et Apetrei, 2021**)



## **6. Analyse statistique**

Toutes les déterminations ont été effectuées en triplicata. Les moyennes et écarts types des tests ont été calculés à l'aide de Microsoft Excel 2016 pour l'analyse statistique. Par ailleurs, le logiciel JMP a été utilisé pour effectuer l'analyse de variance (ANOVA) afin de comparer certains résultats.

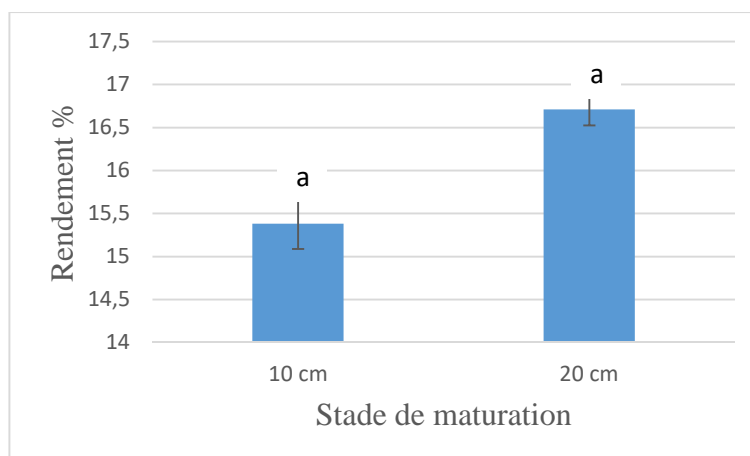
# Chapitre III

Résultats et discussion

### III. Résultats et discussion

#### 1. Rendement

L'extraction des composés phytochimiques est une étape cruciale pour la récupération et l'isolation de ces composés à partir des matières végétales. Les rendements en extraits éthanolique d'orge à différents stades de croissance ont été calculés et sont présentés dans la **figure 23**.



**Figure 23 :** Rendements d'extraction des différents échantillons de d'herbe d'orge.  
(La lettres a Indique l'absence de la différence significative)

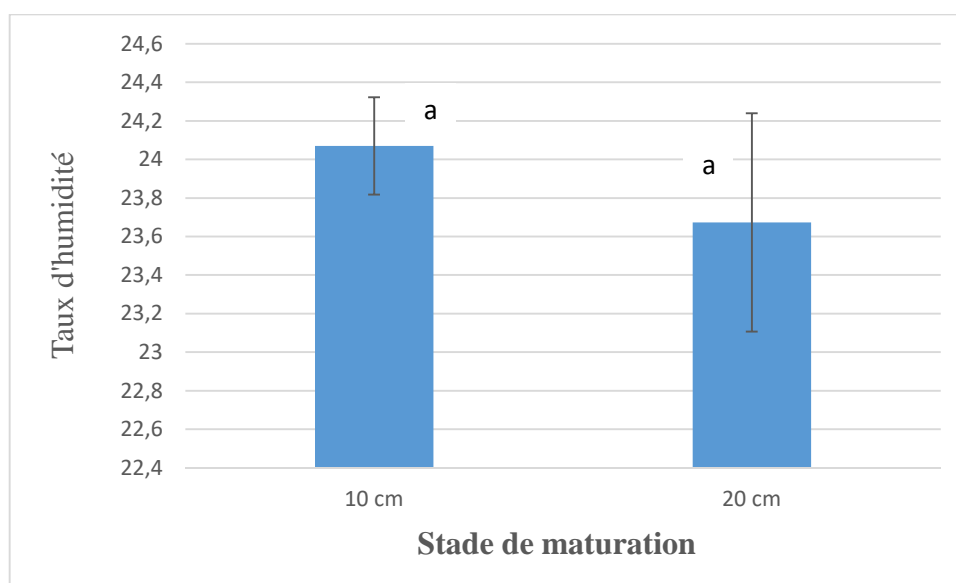
Cette figure présente les rendements d'extraction des échantillons d'orge à deux stades de croissance différents (10 cm et 20 cm) obtenus par macération. Les barres illustrent le pourcentage moyen de rendement d'extraction, tandis que les lignes d'erreur représentent les écarts-types des mesures. Quelque soit la longueur d'herbe, nous n'avons pas relevé des différences de rendement d'extraction significatives à  $P < 0,05$ , qui est de  $15,5 \pm 0,29$  % pour l'extrait à 10 cm et  $16,7 \pm 0,18$  % pour l'extrait à 20 cm.

Néanmoins, la variation du rendement d'extraction en fonction du stade de croissance est bien documentée dans la littérature scientifique. Les plantes à des stades de croissance plus avancés, comme celles récoltées à 20 cm, ont tendance à accumuler des quantités plus importantes de métabolites secondaires, tels que les polyphénols, les flavonoïdes et d'autres composés bioactifs. Ces composés sont souvent plus solubles dans des solvants polaires comme l'éthanol (**Carocho et Ferreira, 2013**). Dans notre cas, le rendement d'extraction est presque identique, Ceci peut être lié à la nature de variété utilisée, la région et la période de la récolte de l'échantillon ainsi les conditions de préparation de l'échantillon (**Naczk et Shahidi, 2006 ; Harnafi et al., 2007**).



## 2. Taux d'humidité

Le séchage est une technique de conservation des produits alimentaires qui vise à réduire leur teneur en eau afin d'inhiber la croissance microbienne et prolonger leur durée de conservation. Le taux d'humidité final du produit est un facteur crucial pour sa qualité et sa stabilité. Il est influencé par plusieurs paramètres, dont le type de matrice végétale et la technique de séchage employée. Le taux d'humidité des feuilles d'orge est présenté dans la **figure 24**.



**Figure 24 :** Taux d'humidité des différents échantillons de l'herbe d'orge.  
(La lettres a Indique l'absence de la différence significative)

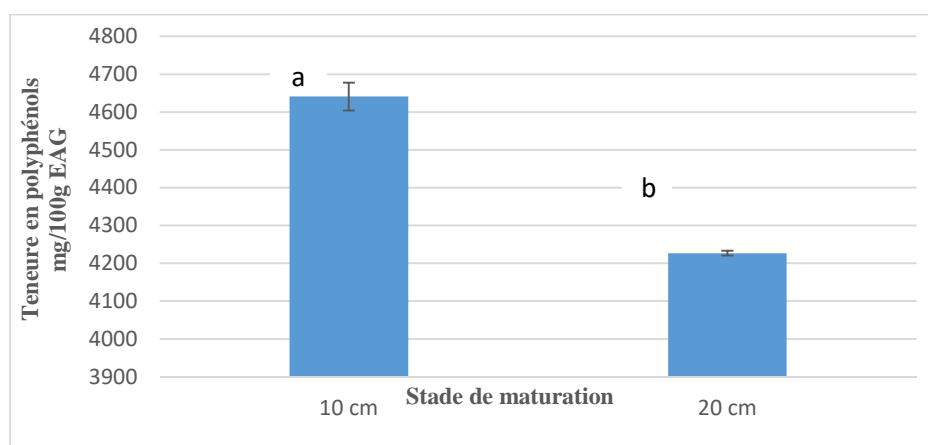
Cette figure montre les taux d'humidité des échantillons d'orge à deux stades de croissance différents (10 cm et 20 cm) après séchage dans une étuve ventilée à 40°C. On remarque que l'échantillon à 10 cm a le taux d'humidité moyen est d'environ 24± %, par contre pour l'échantillon à 20 cm, Le taux d'humidité moyen est presque pareil, se situant autour de 23,8± 0,56%.

## 3. Composés phytochimiques

### 3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les concentrations en polyphénols des extraits ont été quantifiées par spectrophotométrie, en utilisant une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique comme standard de référence (**Annexe 01**).

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux des deux échantillons sont exprimés en mg équivalent acide gallique/100g d'extrait sec sont représentés dans la **figure 25**.



**Figure 25 :** Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits de l'herbe d'orge (Les lettres a et b indiquent des différences significatives ( $p < 0,05$ )).

D'après les résultats obtenus, l'analyse statistique révèle l'existence d'une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les deux extraits, la plus grande quantité en de polyphénols totaux a été détectée dans l'herbe d'orge à 10 cm ( $4640,84 \pm 37,17$  mg EAG/100 g), suivi de l'herbe d'orge à 20 cm ( $4226,90 \pm 6,74$  mg EAG /100 g)

**Lee et al. (2016)**, ont trouvé dans leur étude sur les cultivars d'orge coréens une diminution des polyphénols totaux dans les herbes en fonction du stade de développement de la plante. Les récoltes ont été effectuées à différents stades : au stade de tallage (13 jours), au stade de tallage avancé (23 jours), au stade de levée complète de la feuille étendard (41 jours), et au stade d'émergence (56 jours). Les teneurs phénoliques correspondantes étaient respectivement de 2457,1 mg, 2671,8 mg, 2137,1 mg, et 1400,8 mg pour 100 g d'herbe.

**Par ailleurs, Ravikumar et al. (2015)** ont observé dans des extraits méthanoliques d'herbe d'orge de 3, 5 et 7 jours, des teneurs en polyphénols respectivement de  $8,46 \pm 0,07$ ,  $10,62 \pm 0,09$  et  $6,19 \pm 0,05$  mg/g d'extrait. Ces résultats suggèrent qu'il existe un stade optimal pour l'accumulation des polyphénols, suivi d'une diminution de ces teneurs par la suite.

Dans le même sens, des chercheurs ont analysé les composés phytochimiques et les enzymes antioxydantes de différentes variétés d'herbe d'orge à différentes étapes de leur croissance en 2019. Ils ont découvert que le stade de développement influence grandement la teneur en polyphénols et autres composés bioactifs. En effet, la quantité totale de phénols

variait considérablement selon la phase de croissance, les niveaux les plus élevés étant observés aux stades précoces (**Deng et al., 2019**).

Selon des études récentes, les plantes jeunes produisent une grande quantité de composés phytochimiques, tels que les polyphénols, pour se protéger des agressions environnementales. Les polyphénols des jeunes pousses de plantes ont montré des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Dini et al., 2022**).

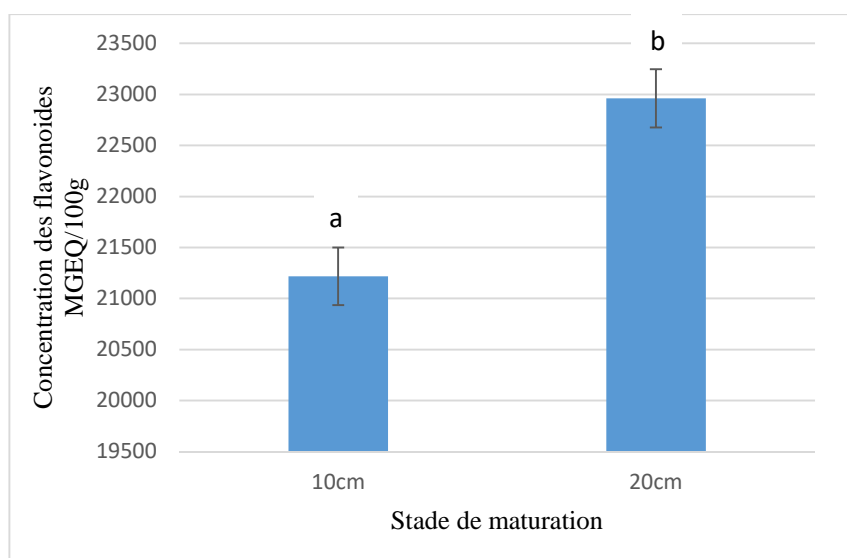
Des chercheurs ont étudié l'impact de la température sur les composés bioactifs et le pouvoir antioxydant de l'herbe d'orge. Ils ont découvert que cultiver l'herbe d'orge à des températures plus basses augmente la teneur en composés bioactive, tels que les polyphénols (**Islam et al., 2021**).

La teneur en polyphénols de l'orge varie selon les études. Cette variation dépend de plusieurs facteurs tels que les variétés d'orge étudiées, le stade de développement (**Triki et al., 2018**), le moment de la récolte (**Lee et al., 2016**), l'origine botanique, et les conditions environnementales (qualité du sol, engrais, climat, etc.) (**Qamar et al., 2018**). De plus, la méthode d'extraction et les conditions de conservation de l'herbe jouent également un rôle important dans ces variations (**Paulíčková et al., 2007**).

### **3.2. Dosage des flavonoïdes**

La teneur en flavonoïdes des extraits de l'herbe d'orge, exprimée en mg équivalent de quercitrine par gramme de matière sèche (mg E.Q/g ES), a été mesurée en se basant sur une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions opératoires (**Annexe 01**).

Les proportions de flavonoïdes dans les extraits des herbes d'orge aux deux stades de maturation étudiés sont présentées dans la **figure 26**.



**Figure 26 :** Teneurs en flavonoïdes des différents extraits de l'herbe d'orge. (Les lettres a et b indiquent des différences significatives ( $p < 0,05$ )).

La teneur en flavonoïdes des extraits étudiés, révèle des différences significatives, qui varie de  $21218 \pm 28$  à  $22960 \pm 285$  mg d'EQ/100g de poudre. La présente étude montre que la teneur en flavonoïdes des feuilles d'orge de 20 cm ( $22960$  mg d'EQ/100g de poudre) est largement plus élevée que celle de 10 cm ( $21218$  mg d'EQ/100g de poudre).

Il a été observé dans la littérature que, les teneurs de l'herbe de l'orge en flavonoïdes, a été estimée à  $5.695 \pm 0.145$  mg/g ES et de  $28.54 \pm 0.05$  mg EQ/100g de matière fraîche enregistrées dans les études de **Meng et al. (2017)** et **Salanta et al., (2016)** respectivement. Ces résultats appartiennent inférieurs à nos concentrations.

**Qamar et al. (2018)** a montré que les conditions environnementales telles que la qualité du sol, les engrais et le climat jouent un rôle crucial dans la variation de la teneur en polyphénols et autres composés bioactifs dans les plantes. Ces facteurs peuvent donc expliquer les différences observées dans les teneurs en flavonoïdes dans différentes études.

Les variations observées dans différentes études peuvent être attribuées à divers facteurs, y compris les variétés d'orge étudiées, les conditions environnementales (qualité du sol, engrais, climat, etc.), et les méthodes d'extraction et de conservation utilisées (**Li et al., 2024**)

**Deng et al. (2020)** ont constaté que les différentes étapes de développement des herbes d'orge influencent significativement leur profil phytochimique et leurs activités enzymatiques antioxydantes. Ils ont observé des variations importantes dans les teneurs en chlorophylle, caroténoïdes et protéines solubles totales, ainsi que dans les activités de superoxyde dismutase

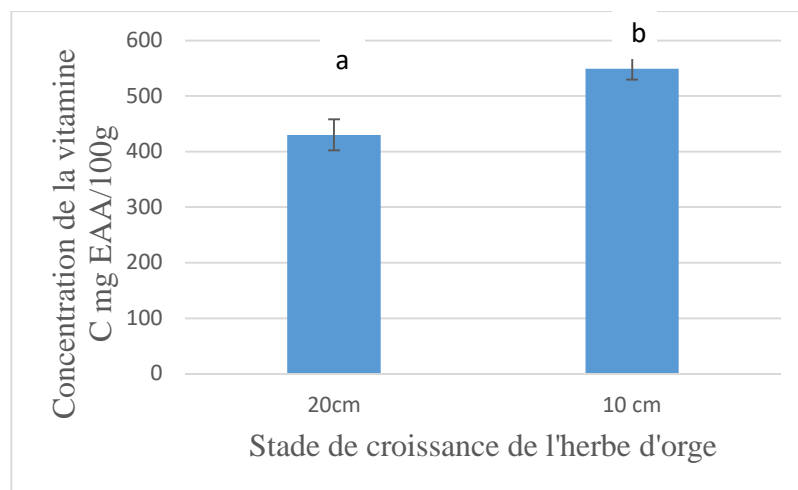
et de peroxydase en fonction du stade de développement, avec des concentrations maximales observées à des stades spécifiques.

Dans leur étude sur l'herbe d'orge, Xiang et al. (2021), ont trouvé une teneur en flavonoïdes de 23 043 mg E.Q/100 g de matière sèche et selon Zeng et al. (2018), les teneurs totales en flavonoïdes dans l'herbe d'orge sont passées de 273,1 à 515,3 mg CE/100 g entre 13 et 56 jours après la germination Cette variation dans les résultats de teneur en flavonoïdes, peut-être dû à plusieurs facteurs, y compris les conditions de croissance, les méthodes d'extraction et d'analyse utilisées dans les différentes études.

Ces comparaisons mettent en évidence l'importance des conditions d'extraction et du stade de croissance de la plante sur les concentrations en flavonoïdes et polyphénols, soulignant la nécessité d'optimiser ces paramètres pour obtenir les rendements les plus élevés en composés bioactifs.

### 3.3. Dosage de la vitamine C

La figure 27 montre les concentrations de vitamine C dans les extraits d'herbe d'orge, exprimées en mg équivalent acide ascorbique par 100 grammes de matière sèche (Annex01).



**Figure 27** : Concentrations de vitamine C dans les extraits d'herbe d'orge

(Les lettres a et b Indiquent des différences significatives ( $p < 0,05$ )).

D'après les résultats obtenus (Figure 27), la teneur en vitamine C de l'échantillon diminue avec la croissance de la plante. De ce fait, l'échantillon à 10cm présente le taux de vitamine C le plus élevé, soit  $548,98 \pm 19$  mg EAA/100g MS que celle des feuilles de 20 cm qui sont de  $429,98 \pm 27$ mg EAA/100g MS.

L'étude statistique a montré qu'il y a une différence significative des teneurs en acide ascorbique entre les deux échantillons ( $P < 0,05$ ).

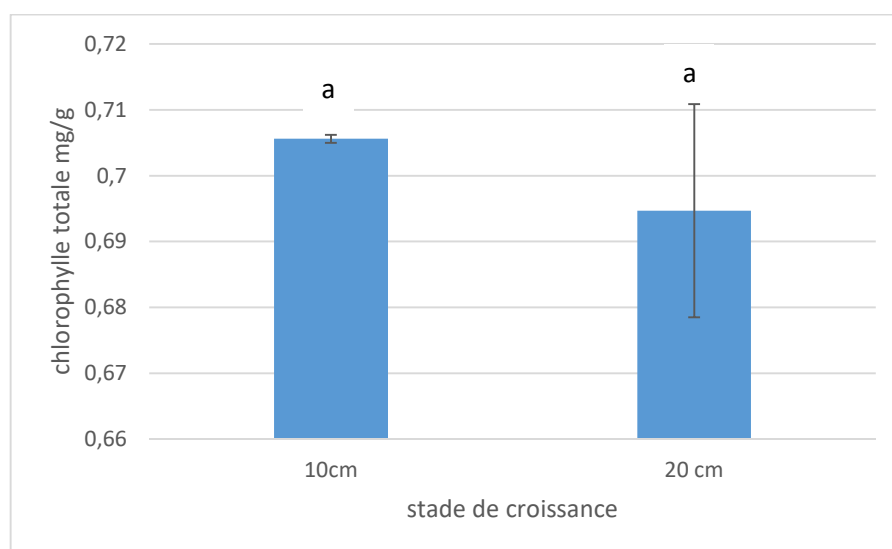
Selon la littérature, il a été constaté que la teneur en vitamine C dans l'herbe d'orge est plus élevée comparativement à l'orange (Qamar et al., 2018).

En revanche, les travaux de Islam et al. (2021), ont trouvé une teneur en vitamine C dans l'herbe d'orge, qui est égale à 558mg/100g, valeur qui est proche de nos résultats. Dans une autre étude, toujours sur l'herbe d'orge, la teneur en vitamine C trouvée est de 251,239 mg/100g (Zeng et al., 2018). D'autres études également, ont montré que les jeunes pousses d'orge peuvent contenir jusqu'à 300 mg de vitamine C pour 100 grammes de poids frais (Zeng et al., 2018 et Liu et al., 2022). Au fur et à mesure que l'herbe d'orge mûrit, sa concentration en vitamine C diminue. Les plants d'orge matures peuvent contenir 5 à 10 fois moins de vitamine C que les jeunes pousses (Islam et al., 2021).

La concentration en vitamine C de l'herbe d'orge est influencée par un ensemble de facteurs, allant du stade de maturation aux conditions environnementales, en passant par les pratiques de récolte et de traitement.

### 3.4. Dosage de la chlorophylle

Les résultats de la teneur en chlorophylle total des extraits de l'herbe d'orge, exprimée en mg/g sont portés dans la **Figure 28**.



**Figure 28** : Teneurs en chlorophylle des différents extraits de l'herbe d'orge. (Les lettres à l'indiquent l'absence d'une différence significative).

D'après ces résultats, il a été constaté, que la teneur en chlorophylle dans l'herbe d'orge à 10 cm, soit une valeur de  $0,7056 \pm 0,0006 \text{ mg/g}$ , ne diffère pas significativement avec la teneur en chlorophylle dans l'herbe d'orge à 20cm, soit une valeur de  $0,694 \pm 0,016 \text{ mg/g}$

Pendant la photosynthèse, la chlorophylle a est responsable de la réaction photochimique, où elle passe d'un état stable à un état excité, entraînant une réaction d'oxydo-réduction. Elle absorbe principalement la lumière à une longueur d'onde de 700 nm. Les caroténoïdes et la chlorophylle b, appelés pigments accessoires, transfèrent l'énergie lumineuse par résonance. La chlorophylle b transfère presque toute l'énergie absorbée à la chlorophylle a, tandis que les caroténoïdes transfèrent jusqu'à 90 % de l'énergie absorbée aux chlorophylles a et b (**Dutton, 1997**).

Lorsque la feuille atteint la maturité, elle commence à fournir les éléments nécessaires à la croissance de la plante. L'appareil pigmentaire contrôle ses propriétés optiques dans le domaine visible en raison de la forte concentration en chlorophylle et caroténoïdes, et il concentre également la majorité des protéines de la feuille. Une fois cette phase de maturité passée, la feuille entre en sénescence et une partie de ses éléments est mobilisée vers les organes de stockage, ce qui explique la couleur jaune des feuilles sénescentes (**Matile, 2000 ; Hörtensteiner et Feller, 2002**).

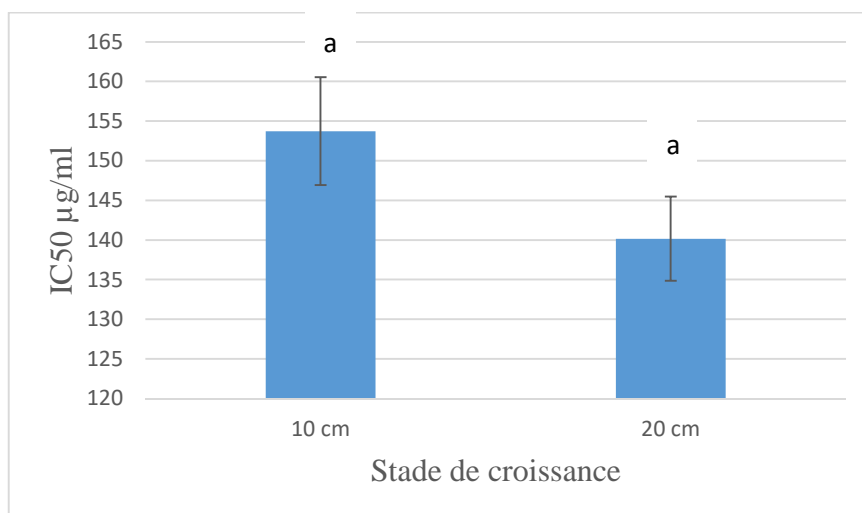
L'augmentation des teneurs en chlorophylle totale est due à la réduction de la taille des cellules foliaires sous l'effet du stress hydrique, ce qui entraîne une plus grande concentration (**Siakhène, 1984**). En revanche, la diminution des teneurs en chlorophylle est causée par la réduction de l'ouverture des stomates visant à limiter les pertes en eau par évapotranspiration et par l'augmentation de la résistance à l'entrée du  $\text{CO}_2$  atmosphérique nécessaire à la photosynthèse (**Bousba et al., 2009**).

La quantité de chlorophylle des feuilles peut être influencée par divers facteurs tels que l'âge des feuilles, leur position, ainsi que des facteurs environnementaux comme la lumière, la température et la disponibilité en eau (**Hikosaka et al., 2006**).

## 4. Activité antioxydante

### 4.1. Activité antioxydante par la méthode du DPPH

Les données de l'activité anti-radicalaire des échantillons de l'herbe d'orge, qu'ils soient 10cm ou 20 cm selon le stade de croissance sont exprimés par les IC<sub>50</sub> (concentration en extrait qui inhibe 50% du radical DPPH•) et sont présentées dans la **Figure 29**.



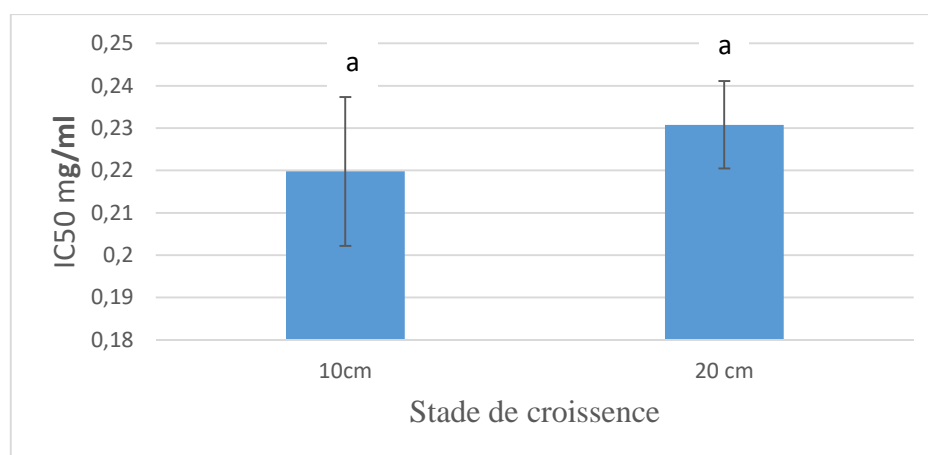
**Figure 29** : Concentrations des extraits de l'herbe d'orge réductrices de 50% du radical DPPH•. (La lettres a Indique l'absence d'une différence significative)

Les résultats de la figure 29, montre que les extraits de l'herbe d'orge de 20 cm et de 10 cm présentent des valeurs IC<sub>50</sub> qui ne diffèrent pas significativement (140,15±5,31µg/100g ; 153,72±6,80, respectivement).

### 4.2. Activité antioxydante par la méthode ABTS

Les données sur l'activité anti-radicalaire des extraits d'herbe d'orge, à différents stades de croissance (10 cm et 20 cm), sont exprimées par les valeurs d'IC<sub>50</sub>, représentant la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber 50% du radical ABTS•. D'après les résultats de la figure 28, les extraits d'herbe d'orge de 20 cm et de 10 cm affichent des IC<sub>50</sub> respectivement de 0,2307 ± 0,0103 mg/ml et 0,2197 ± 0,0175 mg/ml.





**Figure 30 :** Concentrations des extraits de l'herbe d'orge réductrices de 50% du radical ABTS. (La lettres a Indique l'absence d'une différence significative)

L'extrait d'herbe d'orge de 20 cm présente la plus grande valeur d'IC50, indiquant une activité antioxydante plus faible. En revanche, l'extrait d'herbe d'orge de 10 cm montre la plus petite valeur d'IC50, révélant une activité antioxydante plus élevée.


Les herbes, membres de la famille des Poacées (anciennement Graminées), représentent le groupe végétal le plus significatif en termes d'utilité. Certaines espèces de ces herbes sont reconnues pour leurs effets thérapeutiques et leurs fortes propriétés antioxydantes, comme démontré par plusieurs études (**Balcerek et al., 2009**). Parmi celles-ci, l'herbe de blé a été étudiée pour ses effets bénéfiques (**Jaya et Gayathri, 2009 ; Lakshmi et al., 2014 ; Zendeabad et al., 2014 ; Abed et al., 2017 ; Johri et Khan, 2017**), de même que l'herbe d'orge (**Kiewlicz, 2016 ; Kawka et al., 2019**).

**Les travaux de Youngju Lee et al. (2009)**, ont rapporté un IC50 de 142,9  $\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait méthanolique de jeunes pousses d'herbe d'orge (10-14 jours), une valeur qui est très proche de celle trouvée pour l'extrait de l'herbe d'orge de 20 cm (140,15  $\mu\text{g/ml}$ ) dans notre étude. Cette similarité suggère que les composés antioxydants présents dans l'herbe d'orge atteignent une efficacité optimale au fur et à mesure de la croissance, bien que les conditions de culture et les méthodes d'extraction puissent influencer les résultats finaux. De même, **Chen et al. (2013)** ont rapporté des valeurs d'IC50 variant entre 100 et 180  $\mu\text{g/ml}$  pour divers extraits d'herbe d'orge, dépendant des conditions d'extraction et des solvants utilisés.

Comme évoqué précédemment, l'activité antioxydante de l'herbe d'orge est due à la présence de composés ayant des propriétés antioxydantes, qui sont essentiels pour neutraliser les radicaux libres responsables du stress oxydatif dans l'organisme. Ces composés agissent en

protégeant les cellules des dommages causés par les radicaux libres dans la chlorophylle qui possède des propriétés antioxydantes en neutralisant les radicaux libres et en réduisant le stress oxydatif dans les cellules. Cependant, certaines études suggèrent que la réduction de la teneur en chlorophylle peut augmenter les activités antioxydantes enzymatiques, permettant ainsi une meilleure protection contre le stress oxydatif (**Reddy et Lokesh., 1994**).

De ce fait, la composition de l'herbe d'orge change en fonction de plusieurs paramètres, notamment la température, la classe de l'orge, le genre de l'orge et le temps de récolte. Ces facteurs influencent la concentration et la nature des composés antioxydants présents dans l'herbe d'orge, ce qui impacte directement son activité antioxydante.



Conclusion  
générale

Le travail réalisé avait pour objectif le dosage des composés phénoliques et l'étude de l'activité oxydante de deux extraits éthanolique (80%) de l'herbe d'orge (*Hordeum vulgare* L.) à deux stades de maturation (herbes d'orge de stade 10 cm et 20 cm).

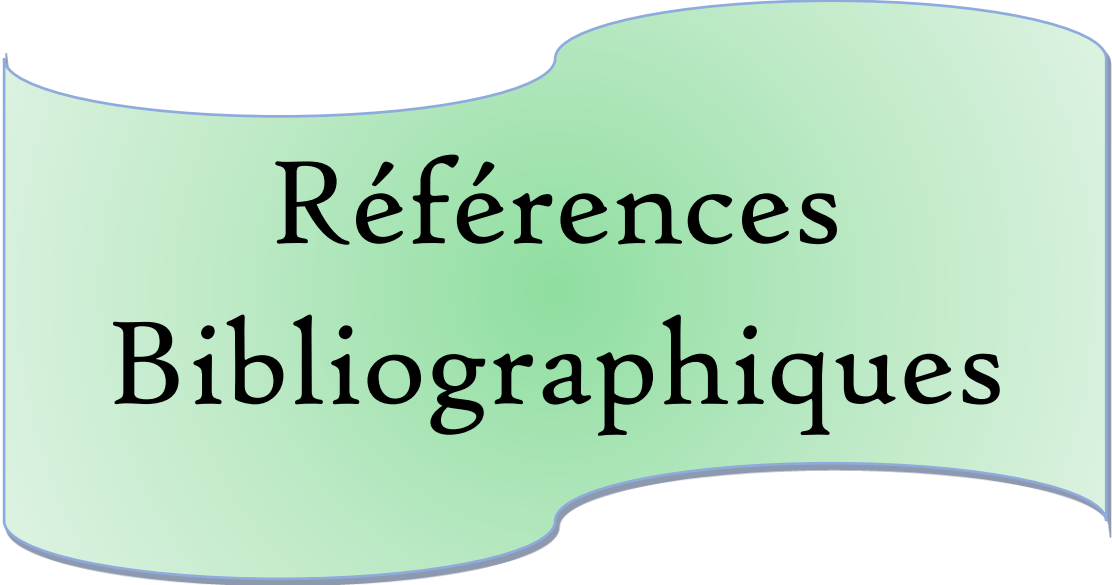
A la lumière de nos résultats, le taux d'extraction trouvé est presque pareil dans les deux extraits ( $15,5 \pm 0,29$  % et  $16,7 \pm 0,18$  %). De même, pour la teneur en chlorophylle ( $0,7056 \pm 0,0006$  et  $0,694 \pm 0,016$  mg/g). En revanche, pour le dosage de la vitamine C, la valeur la plus élevée a été trouvée pour l'extrait d'herbe d'orge de 10 cm, avec une valeur de  $548,98 \pm 19$  mg équivalent d'acide ascorbique/100g de poudre.

Les résultats du dosage des composés phénoliques montrent que la valeur la plus élevée a été trouvée pour l'extrait de 10 cm ( $4640 \pm 37$  mg d'équivalent d'acide gallique/100 g de matière sèche) en **polyphénols totaux**, et pour l'extrait de 20 cm ( $22960$  mg d'équivalent de quercitrine /100g de poudre sèche) en **flavonoïdes**.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le teste DPPH et ABTS, révèle que les deux extraits 10 et 20 cm, possèdent une activité antiradicalaire similaire, avec un IC50 pour le DPPH de  $153,72 \pm 6,80$  et  $140,15 \pm 5,31$   $\mu$ g/100g respectivement, et avec un IC50 pour le test ABTS de  $0,2197 \pm 0,0175$  et  $0,2307 \pm 0,0103$  mg/ml respectivement.

Les résultats de la présente étude restent préliminaires. Il serait donc intéressant d'approfondir cette étude en faisant des recherches plus poussées. Il est souhaitable de compléter le présent travail par :

- L'étude d'autres périodes de croissance.
- La détermination d'autres activités biologiques (immuno-modulatrice, Anticancéreuse, anti-inflammatoire, anticoagulante, antimicrobienne et antidiabétique).
- Le dosage d'autres composés biochimiques tels que les autres vitamines surtout la vitamine B, les enzymes comme le superoxydedismutase, les phytohormones et les Protéines
- L'étude *in vivo* de l'effet du jus de l'herbe de l'orge sur l'état physiologique de l'organisme, notamment l'effet anti-anémique.



Références  
Bibliographiques

### A

**Abed KAK., Yaqoob K., Abdoh AOO., Mohammed SM., Pankaj T., Hakeem SMA., Mamoon HS., 2017.** Investigation of Antigenotoxic Potential of Wheatgrass (*Triticumaestivum*) Powder on Cyclophosphamide Induced Genotoxicity and Oxidative Stress in Mice. *Austin J Pharmacol Ther*, 5(3).1098.

### B

**Bailey-Shaw, Y. A., Williams, L. A., Green, C. E., Rodney, S., & Smith, A. M. (2017).** In-vitro evaluation of the anti-inflammatory potential of selected Jamaican plant extracts using the bovine serum albumin protein denaturation assay. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 47(1), 145-153.

**Balcerek M., Rąk I., Majtkowska G. and Majtkowski W., 2009.** Antioxidant activity and total phenolic compounds in extracts of selected grasses (Poaceae). *Herba Polonica*, 55(3) : 214-221. **Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M., & Salayová, A. (2020).** A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. *Molecules*, 25(14), 3191.

**Bousba R. Ykhlef N. Djekoun A, 2009.** Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum Desf*). *World Journal of Agricultural Sciences* 5. 5. 609 -616p.

**Brand-Williams W., Cuvelier M. & Berset C., 1995 :** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25-30.

**Brat P., Georges S., Bellamy A., Chauffaut L., Scalbert A., Mennen L., Arnault N. & Amiot M. (2006).** Santé : les polyphénols passent à table « Daily polyphenol intake in France from fruits and vegetables ». *Journal of nutrition*, 163 : 2368-2373.

**Byung-Kee Baik et Steven E. Ullrich. (2008).** Orge pour l'alimentation : Caractéristiques, amélioration et intérêt renouvelé. *Journal de la science des céréales*. 48, 233-242.

**C**

**Carocho, M., & Ferreira, I. C. F. R. (2013).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.

**Chomchan R., Siripongvutikorn S., Puttarak P., Rattanapon R., 2016.** Investigation of phytochemical constituents, phenolic profiles and antioxidant activities of ricegrass juice compared to wheatgrass juice. *Functional Foods in Health and Disease*, 6(12) : 822-835.

**D**

**D Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.

**Deguenon E., Dougnon T.V., Senou M., Hounmanou Y.G., Bankole H.S., Dokpomiwa H.A.T., & Baba-Moussa L., &Agbankpe J., 2017.** Biological and chemical activities of somebenineseplant'sextracts. *International Journal of BiologyPharmacy and Allied Sciences*. 6 : 2333-2358.

**Deng, L. N., Feng, G. N., Gao, Y., Shen, Y. X., Li, H. S., Gu, Y., & Luan, H. Y. (2019).** Phytochemical constituents and antioxidant enzyme activity profiles of different barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars at different developmental stages. *Agronomy*, 10(1), 37

**Dini, I., & Grumetto, L. (2022).** Recent advances in natural polyphenol research *Molecules*, 27(24), 8777.

**F**

**Fatiha, B., Didier, H., Naima, G., Khodir, M., Martin, K., Léocadie, K., ... & Pierre, D. (2015).** Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian Menthaspecies: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Industrialcrops and products*, 74, 722-730.

**Ferruzzi, M. G., & Blakeslee, J. (2007).** "Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives." *Nutrition Research*, 27(1), 1-12.

### G

**Geng, L., Li, M., Zhang, G., & Ye, L. (2022).** Barley: a potential cereal for producing healthy and functional foods. *Food Quality and Safety*, 6, fya012.

### H

**Harnafi, H., el Houda Bouanani, N., Aziz, M., Caid, H. S., Ghalim, N., & Amrani, S. (2007).** The hypolipidaemic activity of aqueous *Erica multiflora* flowers extract in Triton WR-1339 induced hyperlipidaemic rats: a comparison with fenofibrate. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(1), 156-160.

### I

**Islam, M. Z., Park, B. J., & Lee, Y. T. (2021).** Influence of temperature conditions during growth on bioactive compounds and antioxidant potential of wheat and barley grasses *Foods*, 10 (11), 2742 **Ravikumar P., Shalini G., et Jeyam M., 2015.** Wheat Seedlings as Food Supplement to Combat Free Radicals: An In Vitro Approach. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77(5) : 592-598.

### J

**Jaya M. S., Gayathri S., 2009.** Antioxidant activity of wheat grass and impact of supplementing grass extract on anaemics. *Biomed*, 4(3) : 262-268.

**Jessica G., Shepherd., Wolfram B., Saran P., Sohi., Kate V. H., 2017** :Bioavailability of phosphorus, other nutrients and potentially toxic elements from marginal biomass-derived



biochar assessed in barley (*Hordeum vulgare*) growth experiments, *Science of The Total Environment*, Volumes 584–585, Pages 448-457.

**Johri S. et Khan N., 2017.** In Vitro Antioxidant and Antihaemolitic Potential of *Triticum aestivum* Grass. *International Journal of Complementary & Alternative Medicine*, 9(5) : 1-5.

**Johnson, M., & Lee, H. (2022).** "Vitamin Composition and Health Benefits of Barley Grass." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(15), 4453-4460.

### K

**Kawka K., Lemieszek M., Rzeski W., 2019.** Chemopreventive properties of young green barley extracts in in vitro model of colon cancer. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*.

**Kanfou R.E., Gnawe M., Agbangnan-Dossa C.P., Yedomonhan H., Wotto D.V., et Sohounhlou C.K.D., 2018.** Caractérisation physico-chimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de sept morphotypes de gombo (*Abelmoschus* spp.) cultivés au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 12(3) : 1447-1458.

**Kiewlicz J., 2016.** Evaluation of Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of the Water Extract of the Powdered Barley Grass (*Hordeum vulgare* L.). *Polish Journal of Commodity Science*, 2 : 29-37.

### L

**Lahouar, L., El-Bok, S., & Achour, L. (2015).** Therapeutic potential of young green barley leaves in prevention and treatment of chronic diseases: an overview. *The American journal of Chinese medicine*, 43(07), 1311-1329.

**Lahoura L., Pochart P., Ben Salem H., El Felah M., Mokni M., Magne F., Mangin I., Suau, A. Pereira E., Hammami M et Achour I. (2012).** Effet des fibres alimentaires de la variété d'orge "Rihane" sur le développement de foyers aberrants de cryptes induits par

l'azoxyméthane et sur la diversité du microbiote colique chez le rat. *Fr. J.Nut.* 14 : 1-9.

**Lakshmi B.V. S., Sudhakar M., Kranth P., 2014.** Antitumor and antioxidant activity of *Triticum Aestivum* against CACO-2 cell line induced colon cancer. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(7): 611-621

**Lamaison, J. L., & Carnat, A. (1991).** Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs et des feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq. et de *Crataegus laevigata* (Poiret) DC. en fonction de la période de végétation. *Plantes médicinales et phytothérapie*, 25.

**Lamaison J.L. and Carnat A. (1990).** Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs et des feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq. et de *Crataegus laevigata* (Poiret) DC en fonction de la végétation. *Pl. Med. Phytother.* 25: 12-16.

**Lee J.H., Park M.J., Ryu H.W., Yuk H.J., Choi S.W., Lee K.S., Kim S.L. and Seo W.D., 2016.** Elucidation of phenolic antioxidants in barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.) by UPLC-PDA-ESI/MS and screening for their contents at different harvest times. *Journal of functional foods*, 26 : 667-680.

**Li, Y., Shen, Y., Shi, R., Yang, Z., Chen, Y., Luo, W., ... & Chou, M. (2024).** The synthesis and secretion of key substances in the flavonoid metabolic pathway responding to different nitrogen sources during early growth stages in *Robinia pseudoacacia*. *Plant and Soil*, 494(1), 373-393.

**Liu, W., Li, Y., Tomasetto, F., Yan, W., Tan, Z., Liu, J., & Jiang, J. (2022).** Non-destructive measurements of toonasinensis chlorophyll and nitrogen content under drought stress using near-infrared spectroscopy. *Frontiers in Plant Science*, 12, 809828.

## M

**M. A. (2022).** Anti-inflammatory medicinal plants of Bangladesh—a pharmacological evaluation. *Frontiers in pharmacology*, 13, 809324.

**Mau, W., Listing, J., Huscher, D., Zeidler, H., & Zink, A. (2005).** Employment across chronic inflammatory rheumatic diseases and comparison with the general population. *The Journal of rheumatology*, 32(4), 721-728.

**McNulty, M. S., Allan, G. M., Todd, D., McFerran, J. B., & McCracken, R. M. (1981).** Isolation from chickens of a rotavirus lacking the rotavirus group antigen. *Journal of General Virology*, 55(2), 405-413.

**Meng F., Xv Y., Hu J., He D. and Jiang J., 2017.** Optimization of combined drying process by hot-air and microwave for barley seedling powder. *Journal of Food Safety and Quality*, 8(5) : 1651-1658.

**Muanda N.F., Kone D., Dicko A., Soulimani R., Younos C. 2009.** Phytochemical composition and antioxidant capacity of three Malian Medicinal plant parts, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 109 : 1 - 8.

**Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021).** . *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3380.

### N

**Nacz, M., & Shahidi, F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5), 1523-1542.

### P

**Panthi, M., Subba, R. K., Raut, B., Khanal, D. P., & Koirala, N. (2020).** Bioactivity evaluations of leaf extract fractions from young barley grass and correlation with their phytochemical profiles. *BMC complementary medicine and therapies*, 20, 1-9.

**Patrick, A. O., Fabian, U. A., Peace, I. C., & Fred, O. O. (2016).** Determination of variation of vitamin "C" content of some fruits and vegetables consumed in Ugbokolo after prolonged storage. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 10(7), 17-19.

**Paulíčková I., Ehrenbergerová J., Fiedlerová V., Gabrovská D., Havlova P., Holasova M., Kopáček J., Ouhrabková J., Pinkrová J., Rysová J. and Vaculová K., 2007.**

Evaluation of barley grass as a potential source of some nutritional substances. *Czech journal of food sciences*, 25 : 65-72.

### Q

**Qamar A., Saeed, F., Tahir-Nadeem M., Hussain A. I., Niaz, B., Ullah Khan A., Afzaal M., Ul Ain H.B., Imran M., 2018.** Exploring the phytochemical profile of green grasses with special reference to antioxidant properties. *International Journal of Food Properties*, 21(1) : 2566–2577.

### R

**Raj, R., Shams, R., Pandey, V. K., Dash, K. K., Singh, P., & Bashir, O. (2023).** Barley phytochemicals and health promoting benefits: A comprehensive review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 100677.

**Ramos-Tovar, E., & Muriel, P. (2020).** Free radicals, antioxidants, nuclear factor-E2-related factor-2 and liver damage. *Journal of Applied Toxicology*, 40(1), 151-168.

**Rasmusson DC. (1992).** Barley breeding at present and in the future. In Munck L (ed.): *Barley Genetics VI*, vol. II., Munksgaard Int. Publ. Ltd., Copenhagen. 865-877.

**Reddy, M.C., & Lokesh, B.R. (1994).** Studies on anti-inflammatory activity of chlorophyll-a and its derivatives. *Fitoterapia*, 65, 207-210.

**Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Les tannins, les composés phénoliques des végétaux. Paris. Ed Dunod. 173-201.

**Rudrapal, M., Rakshit, G., Singh, R. P., Garse, S., Khan, J., & Chakraborty, S. (2024).** Dietary Polyphenols: Review on Chemistry/Sources, Bioavailability/Metabolism, Antioxidant Effects, and Their Role in Disease Management. *Antioxidants*, 13(4), 429.

*S*

**Salanta L. C., Tofana M., Domokos B., Socaci, S. A., Pop C. R., & Farcas A. C. 2016.**

Development of functional beverage from wheat grass juice. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology, 73(2), 155-70.

**Shah, P., & Modi, H. A. (2015).** Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *Int. J. Res. Appl. Sci. Eng. Technol*, 3(6), 636-641.

**Silici, S., Sagdic, O., & Ekici, L. (2010).** Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of Rhododendron honeys. *Food chemistry*, 121(1), 238-243.

**Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

**Soltner, D. 2005.** les grandes productions végétales. 20ème Ed. CCTA . Pp20-140

*T*

**Triki T., Guasmi F., Boussora F., Ben Mohamed M., Ben Ali., Guasmi A., Yahia H., Nagaz K., 2018.** Etude de la composition phénolique et des propriétés antioxydantes d'extraits des feuilles de cinq variétés d'orge (*Hordeum vulgare* L.) soumis à un stress hydrique (PEG 6000). *Revue des Régions Arides*, 43 : 653-659.

**Tangara, D., Diop, A., Tirera, H., Koumare, B. Y., Naco, M. E. B., Fall, D., ... & Diop, Y. M. (2022).** Borreria verticillata plante médicinale sénégalaise : Étude de l'activité antioxydante d'extraits méthanoliques, chloroformiques, aqueux et acétates de la plante entière (racine, tige, feuille, fleurs). *Journal of Applied Biosciences*, 171(1), 17812-17820.

*X*

**Xiang, Z., Deng, J., Yang, K., Zhu, Y., Xia, C., Chen, J., & Liu, T. (2021).** Effect of processing on the release of phenolic compounds and antioxidant activity during in vitro digestion of hullless barley. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(12), 103447.

*Y*

**Yan, J. K., Chen, T. T., Wang, Z. W., Wang, C., Liu, C., & Li, L. (2022).** Comparison of physicochemical characteristics and biological activities of polysaccharides from barley (*Hordeum vulgare* L.) grass at different growth stages. *Food Chem*, 389, 133083. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133083>

*Z*

**Zeng, Y., Pu, X., Yang, J., Du, J., Yang, X., Li, X., ... & Yang, T. (2018).** Preventive and therapeutic role of functional ingredients of barley grass for chronic diseases in human beings. *Oxid Med Cell Longev*. 2018. Article ID 3232080.

**Zeng, Y., Pu, X., Yang, J., Du, J., Yang, X., Li, X., Li, L., Zhou, Y., & Yang, T. (2018).** Preventive and therapeutic role of functional ingredients of barley grass for chronic diseases in human beings. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.



# Annexes

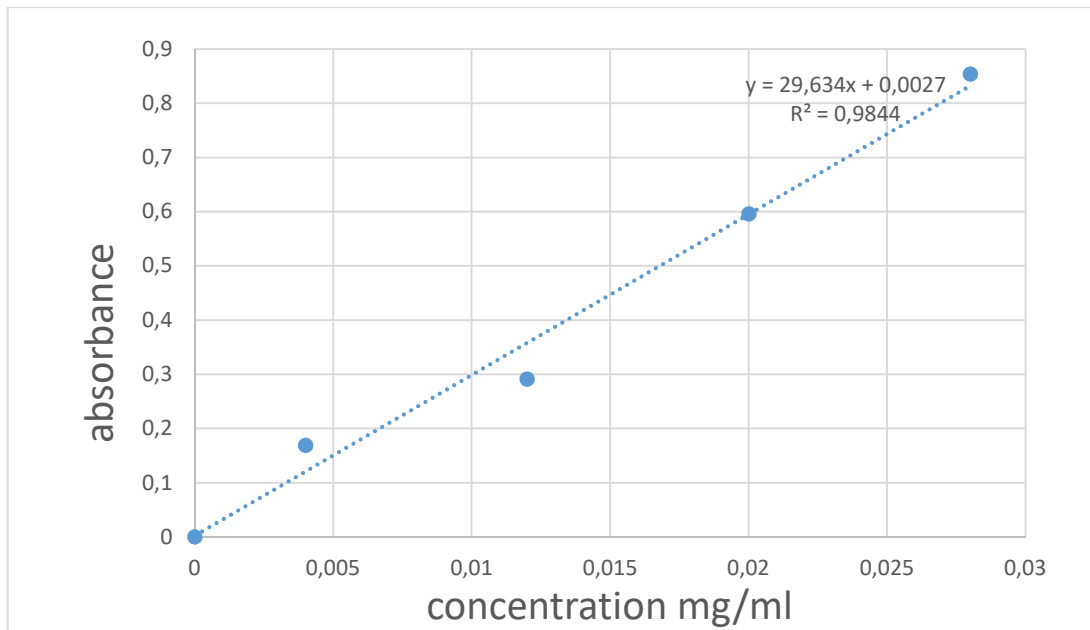


Figure N°1 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux réalisée avec l'acide gallique.

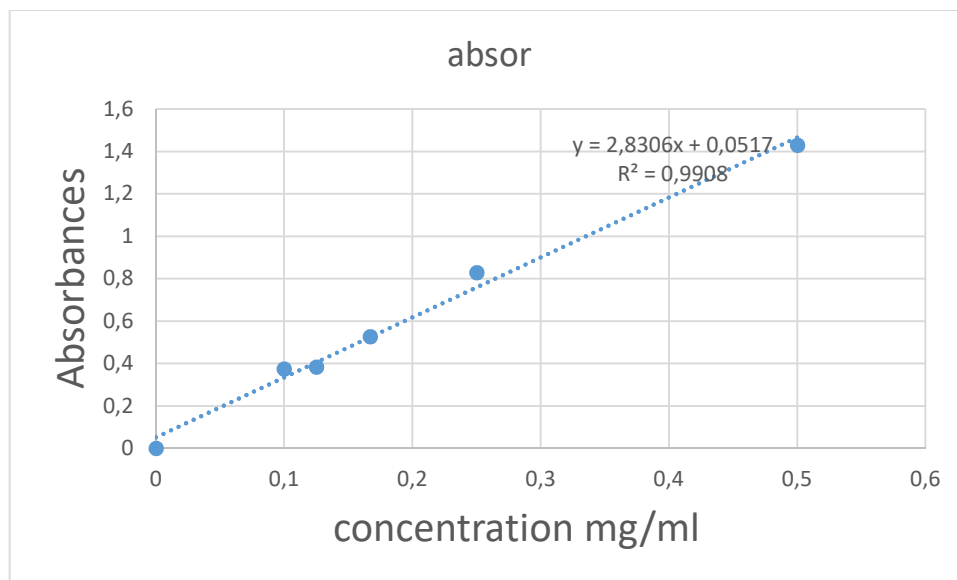


Figure N°2 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée avec la quercétine



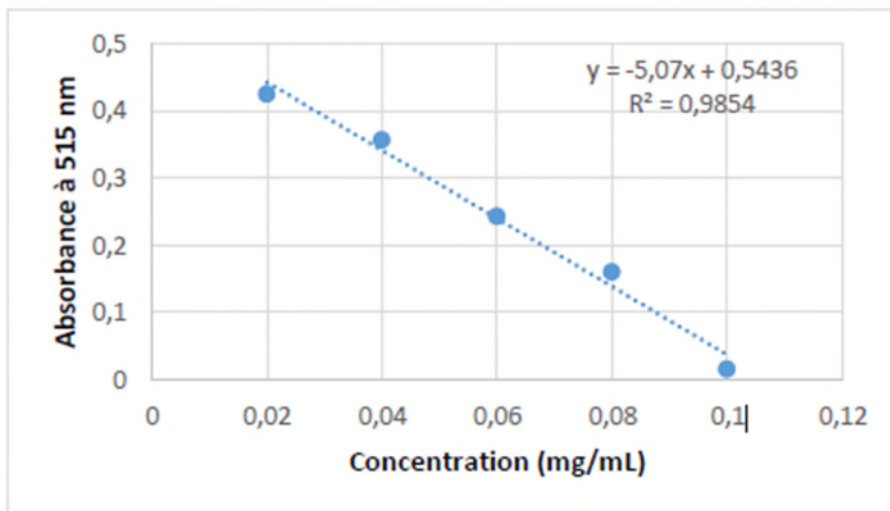


Figure N°3 : Courbe d'étalonnage de la vitamine C réalisée avec l'acide ascorbique.

## Résumé

Dans cette étude des échantillons de l'herbe d'orge à deux différentes stades de maturation on était étudié pour la comparaison de leurs composition phytochimique et leur pouvoir antioxydants. D'après l'étude nous avons constaté que le stade de maturation 10 cm et plus riche en polyphénols ( $4640,84 \pm 37.17 \text{mgEAG}/100\text{g}$ ) la vitamine C ( $548,98 \pm 19 \text{mgEAA}/100\text{g}$ ) la chlorop

hyllé ( $0,7056 \pm 0,0006 \text{mg}/\text{g}$ ) par contre l'échantillon de 20 cm et plus riche en flavonoïdes ( $22960 \pm 28.55 \text{mgEAE}/100\text{g}$ ). L'évaluation de l'activité antioxydante pour le teste DPPH et ABTS, révèle que les deux extraits 10 et 20 cm, possèdent une activité antiradicalaire similaire, avec un IC<sub>50</sub> pour le DPPH de  $153,72 \pm 6,80$  et  $140,15 \pm 5,31 \mu\text{g}/100\text{g}$  respectivement, et avec un IC<sub>50</sub> pour le test ABTS de  $0,2197 \pm 0,0175$  et  $0,2307 \pm 0,0103 \text{mg}/\text{ml}$  respectivement.

**Mots clés :** l'herbe d'orge, l'activité antioxydante, DPPH, ABTS

## Abstrats

In this study, samples of barley grass at two different stages of maturation were studied for the comparison of their phytochemical composition and their antioxidant power. According to the study we noted that the stage of maturation 10 cm and richer in polyphenols ( $4640.84 \pm 37.17 \text{mgEAG}/100\text{g}$ ) vitamin C ( $548.98 \pm 19 \text{mgEAA}/100\text{g}$ ) chlorophyll ( $0.7056 \pm 0.0006 \text{mg}/\text{g}$ ) on the other hand the 20 cm sample is richer in flavonoids ( $22960 \pm 28.55 \text{mgEAE}/100\text{g}$ ). The evaluation of the antioxidant activity for the DPPH and ABTS tests reveals that the two 10 and 20 cm extracts have similar anti-radical activity, with an IC<sub>50</sub> for DPPH of  $153.72 \pm 6.80$  and  $140.15 \pm 5.31 \mu\text{g}/100\text{g}$  respectively, and with an IC<sub>50</sub> for the ABTS test of  $0.2197 \pm 0.0175$  and  $0.2307 \pm 0.0103 \text{mg}/\text{ml}$  respectively.

**Keywords:** barley grass, antioxidant activity, DPPH, ABTS

## ملخص

في هذه الدراسة تمت دراسة عينات من عشبة الشعير في مرحلتين مختلفتين من النضج لمقارنة تركيبها الكيميائي النباتي وقوتها المضادة للأوكسدة. وبحسب الدراسة لاحظنا أن مرحلة النضج 10 سم وأكثر ثراءً بالبوليفينول ( $4640.84 \pm 37.17 \text{mgEAG}/100$ ). فيتامين C ( $548.98 \pm 19$  فيتامين  $\text{mgEAG}/100$  جم) الكلوروفيل ( $0.7056 \pm 0.0006$  ملجم/جم) من ناحية أخرى فإن العينة ذات الـ 20 سم تكون أكثر ثراءً بالفلافونويدات ( $22960 \pm 28.55$  ملجم/100 جم). يكشف تقييم نشاط مضادات الأوكسدة لاختبارات DPPH و ABTS أن المستخلصين 10 و 20 سم لهما نشاط مضاد للجذور مماثل، مع IC<sub>50</sub> لـ DPPH يبلغ  $153.72 \pm 6.80$  و  $140.15 \pm 5.31$  ميكروجرام/100 جم على التوالي، ومع IC<sub>50</sub> لاختبار ABTS  $0.2197 \pm 0.0175$  و  $0.2307 \pm 0.0103$  ملغم / مل على التوالي.

**الكلمات المفتاحية:** عشبة الشعير، النشاط المضاد للأوكسدة، DPPH، ABTS