

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Réf : .....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

**Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie végétale

**Thème**

**Etude de quelques activités  
biologiques des graines de l'orge  
(*Hordeum vulgare L.*)**

Préparé par :

- KOUIDER Khadra
- KENOUCHE Nedjla

Le : 30/06/2024

Devant le jury composé de :

Présidente : BELATTAR Hakima

Examinatrice : BENKOUACHI Nour Elhouda

Promotrice : BENMAKHOLOUF Zoubida

Grade

MCA

MCB

MCA

Centre Universitaire de Mila

Centre Universitaire de Mila

Centre Universitaire de Mila

Année Universitaire : 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

1438

## **Remerciements**

Avec la grâce de Dieu, nous avons pu accomplir ce modeste travail. Nous remercions tous les membres du comité d'évaluation pour avoir accepté de participer à l'évaluation et d'exprimer leurs opinions sur ce travail. Nous remercions le Dr. **BELATTAR Hakima** d'avoir accepté de présider le comité. Nous remercions le Dr. **BENKOUACHI Nour Elhouda** d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail. Nous exprimons également notre profonde gratitude à notre superviseuse,

**Dr. BEN MEKHLOUF Zoubida**, docteure à l'Université Abdelhafid Boussouf de Mila, pour sa patience, son encouragement et ses précieux conseils.

Nous tenons également à remercier spécialement **Dr. BENSERRADJ Ouafa**, docteure à l'Université de Constantine-1, pour ses efforts et son précieux soutien, ainsi que le personnel technique du laboratoire de l'Université de Constantine "**Samira**" pour leur assistance et leur réponse à nos demandes, ainsi que pour avoir fourni des conditions de travail adéquates.

Nous remercions tous nos collègues, amis et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, tant sur le plan financier que moral.

## DEDICACE

*Je dédie ce travail tout d'abord à ma chère mère. Merci de m'avoir soutenu tant moralement que matériellement pour que je puisse atteindre mon but, et de vos prières pour moi.*

*A mon cher père qui ont toujours souhaité notre réussite et qui m'ont permis d'atteindre mes objectifs dans mes études et dans ma vie.*

*A l'esprit De Mes Belles Sœurs: Samia, Hafidha, Leila et Sabah*

*A Mes beaux Frère: Halim et Hassen.*

*Toutes mes nièces et Mes neveux.*

*A Toute Famille "kouider"*

*A Mes Amies Que j'ai Vécues Avec Elles Des Beaux Moments que ce soit de primaire, du moyen, du secondaire, ou de l'enseignement supérieure.*

*A Tous Mes Amies De La Promotion De Master En Biologie.*

*A Tous Ceux Qui Ont Pris Place Dans Mon Cœur Et A Tous Ceux Qui m'ont Aidé De Près Ou De Loin.*

**KHADRA**

## DEDICACE

*Je dédie ce modeste travail à:*

*A Ma chère Mère Qui m'a soutenu moralement et matériellement pour que je puisse atteindre mon but.*

*Mon père que Dieu vous garde et vous protège J'espère que ce thème sera à la hauteur de vos attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous vos efforts.*

*Mes frères: Koussay et Mohammed Amine*

*ma sœur: Nour Elhouda que la solidarité que nous cultivons ne s'estompe jamais.*

*A Mes Amies Que j'ai vécues Avec Elles Des Beaux Moments Au Cours De Mon Coursus scolaire et universitaire.*

*A toute ma famille « Kenouche » et « Rezaiki »*

*A Tous Mes Amies De La Promotion De Master En Biologie.*

*A Tous Ceux Qui Ont Pris Place Dans Mon Cœur Et A Tous Ceux Qui m'ont Aidé De Près Ou De Loin.*

**NEDJLA**

### Résumé

Le but de cette étude est de mettre en valeur la composition biochimique et d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique des extraits hydro-méthanoliques de différentes parties de grain d'orge (*Hordeum vulgare L.*) de la variété Saida.

L'étude phétochimique qualitatif indique la présence de différents composés phénoliques comme l'acide phénolique, les quinones libres, les alcaloïdes, les glucosides, les tanins et les tèrenoïdes avec l'absence des Antraquinones et des saponines.

Pour l'activité antibactérienne des trois extraits (Graine nue, Péricarpes et Graine avec péricarpes) effectué par la méthode de diffusion en disques et en puits en milieu Mueller Hinton, la méthode des disques, montre que l'extrait hydro- methanolique des Péricarpes a exercer la meilleur activité inhibitrice sur les deux souches pathogènes testées, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Bacillus spizizini* (ATCC 6633) avec des diamètres d'inhibitions de 11mm et 14mm successivement. Pour les deux autres souches, *Escherichia coli* (ATCC 11303) et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), l'effet inhibiteur des trois extraits demeure faible.

Concernant la méthode des puits et d'après les resultats obtenues, la meilleure activité inhibitrice est exercée par l'extrait hydro-méthanolique des Péricarpes sur la souche *Staphelococcus aureus* (ATCC 25923) et la souche *Sallmonella typhimurium* (ATCC 14028) dont les diamètres d'inhibitions sont de 23mm.

Quant à l'activité antifongique, nos résultats indiquent que les extraits testés ont un effet faible sur les souches fongiques testées (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp.*). Tandis que les trois extrais testés exercent un effet inhibiteur sur la croissance de la levure *Candida albicans* dont l'activité la plus forte a été enregistrée avec des graines avec péricarpes avec un diamètre d'inhibition de 20mm

**Mots clés :** orge, composés biochimiques, activité antibactérienne, activité antifongique.

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تسليط الضوء على التركيب الكيميائي الحيوي وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات لمستخلصات الميثانوليك المائي لأجزاء مختلفة من حبوب الشعير (*Hordeum vulgare L.*) من مجموعة سعيدة .

تشير الدراسة الفيتوكيميائية النوعية إلى وجود مركبات فينولية مختلفة مثل حمض الفينوليك والكينونات الحرة والقلويدات والجلوكوزيدات والعفص والتيربينويد مع عدم وجود أنتراكينونات وصابونينات.

لنشاط المضاد للبكتيريا في المستخلصات الثلاثة (البذور العارية و القشور والبذور مع القشور) التي تنفذها طريقة الانتشار في الأقراص وفي الأقراص المتوسطة، تظهر طريقة Mueller Hinton، طريقة الأقراص، أن القشور الهيدروميثانوليكي لممارسة أفضل نشاط مثبط على السلالتين المرضيتين المختبرتين،

*Bacillus spizizini* (ATCC 6633) و *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) بمقطار تثبيط 11 مم و 14 مم على التوالي. بالنسبة للسلالتين الأخريين، *Escherichia coli* (ATCC 11303) و *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603)، لا يزال التأثير المثبط للمستخلصات الثلاثة منخفضًا.

فيما يتعلق بطريقة البئر والنتائج التي تم الحصول عليها، يتم ممارسة أفضل نشاط مثبط من خلال مستخلص الميثانوليك المائي من القشور على سلالة *Staphelocus aureus* (ATCC 25923) وسلالة

*Sallmonella typhimurium* (ATCC 14028) مع أقطار تثبيط تبلغ 23 ملم.

بالنسبة للنشاط المضاد للفطريات، تشير نتائجنا إلى أن المستخلصات المختبرة لها تأثير ضعيف على السلالات الفطرية التي تم اختبارها (*Fusarium oxysporum* و *Aspergillus niger* و *Aspergillus fumigatus* و *Penicillium sp*). بينما تمارس المواد الاستثنائية الثلاثة التي تم اختبارها تأثيرًا مثبطًا على نمو الخميرة

المبيضات البيضاء التي تم تسجيل أقوى نشاطها بالبذور ذات التجويف بقطر تثبيط يبلغ 20 ملم

**الكلمات الرئيسية:** الشعير، المركبات الكيميائية الحيوية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات.

### Abstract

The aim of this study is to highlight the biochemical composition and to evaluate the antibacterial and antifungal activity of hydro-methanolic extracts of different parts of barley grain (*Hordeum vulgare L.*) of the Saida variety.

The qualitative phetochemical study indicates the presence of different phenolic compounds such as phenolic acid, free quinones, alkaloids, glucosides, tannins and tèrpenoids with the absence of Antraquinones and saponins.

For the antibacterial activity of the three extracts (Bare seed, Pericarp and Seed with pericarp) carried out by the diffusion method in discs and well in medium Mueller Hinton, the method of the discs, shows that the hydro- methanolic Pericarpus to exert the best inhibitory activity on the two tested pathogenic strains, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Bacillus spizizini* (ATCC 6633) with inhibition diameters of 11mm and 14mm successively. For the other two strains, *Escherichia coli* (ATCC 11303) and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), the inhibitory effect of the three extracts remains low.

Regarding the well method and the results obtained, the best inhibitory activity is exerted by the hydro-methanolic extract of Pericarpus on the strain *Staphelococus aureus* (ATCC 25923) and the strain *Sallmonella typhimurium* (ATCC 14028) with inhibition diameters of 23mm.

As for antifungal activity, our results indicate that the tested extracts have a weak effect on the tested fungal strains (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* and *Penicillium sp.*). While the three extrais tested exert an inhibitory effect on the growth of the yeast *Candida albicans* whose strongest activity was recorded with seeds with pericarps with an inhibition diameter of 20mm

**Keywords:** barley, biochemical compounds, antibacterial activity, antifungal activity.



## Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

### Partie 01 : Synthèse bibliographique.

I-Généralités sur l'orge.....	4
I-1- Origine géographique.....	4
I-2-Origine génétique.....	5
I-3- Classification taxonomique.....	5
I-4- Description botanique.....	6
I-4.1. Appareil végétatif.....	6
I-4.1.1. Système racinaire.....	6
I-4.1.2. Système aérien.....	7
I-4.1.3. Système reproducteur .....	7
I-5- Cycle de développement.....	8
I-5-1-Période vegetative.....	8
I-5-2-Période reproductive.....	9
I-6. Zones de production de l'orge.....	9
I-6.1. Dans le monde.....	9
I-6.2. En Algérie.....	10
I-7-Importance thérapeutique de l'orge.....	10
II. Métabolisme secondaire.....	11

II-1- Définition de metabolism.....	11
II-2 -Types de métabolisme.....	11
II-2.1. Métabolisme primaire.....	12
II-2.2. Métabolisme secondaire.....	12
II-2.2.1. Composés phénoliques.....	12
II-2.2.2. Alcaloïdes.....	14
II-2.2.3. Terpénoïdes.....	14
III-Activities biologiques.....	15
III-1. Activité antioxydante.....	15
III-1.1. Stress oxydatif.....	15
III-1.1.1. Definition .....	15
III-1.1.2. Radicaux libres.....	15
III-1.1.2.1. Définition.....	15
III-1.1.2.2. Production des radicaux libres .....	16
III-1.1.3. Conséquences du stress oxydatif .....	16
III-1.2. Systèmes antioxydants.....	17
III-1.2.1. Définition.....	17
III-1.2.1.1. Systèmes de défenses antioxydants.....	17
III-1.3. Méthodes d'études de l'activité antioxydante.....	18
III-2. Activité Antibactérienne.....	18
III-2.1. Principe.....	18
III-2.2. Éléments nécessaires pour réaliser l'activité.....	19
III-3. Activéte antifongique.....	20
III-3.1. Définition des antifongiques.....	20

III-3.2. Définition des champignons.....	20
III-3.3. Caractères généraux.....	20
III-3.4. Facteur de développement.....	20
III-3.4.1. Activité de l'eau (Aw) .....	20
III-3.4.2. Température.....	21
III-3.4.3. PH.....	21
III-3.4.4. Composition gazeuse (Oxygénation) .....	21

## Partie 02: partie expérimentale

I. Matériel et méthodes.....	23
I.1. Objectifs de l'expérimentation.....	23
I.2. Matériel.....	23
I.2.1. Matériel végétal.....	23
I.2.2. Matériel biologique.....	23
I.3. Méthodes.....	23
I.3.1. Analyses qualitatives.....	25
I-3.1.1. Screening phytochimique.....	25
I-3.2. Analyses quantitatives.....	26
I-3.2.1. Rendement en extrait sec.....	27
I-4. Etudes des activités biologiques.....	27
I-4.1. Activité antibactérienne.....	28
I-4.2. Activité antifongique.....	29
II-Résultats et discussion.....	31
II-1. Analyses qualitatives (Screening phytochimique) .....	31
II-2. Rendement.....	36

II-3. Activités biologiques.....	37
II-3.1. Activité antibactérienne.....	37
II-3.1.1. Méthode des disques .....	37
II-3.1.2. Méthode des puits.....	41
II-3.2. Activité antifongique.....	46
II-3.2.1. Champignons filamenteux..... :::	46
II-3.2.2. Levure <i>Candida albicans</i> ..... ::	50
Conclusion.....	53
Références bibliographiques..... :::::	56
Annexes	

Liste des abréviations

Absence : (-)

Petite quantité :(+)

Moyenne quantité : (++)

Grande quantité : (+++)

Pourcentage : %

Ans : Années

C : Carbone.

Cm : Centimètre.

H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> : Peroxydes d'hydrogène

DMOS : Diméthyl sulfoxyde.

*E. coli* : *Escherichia coli*.

FeCl<sub>3</sub> : Chlorure ferrique.

g : Gramme.

g/l : Gramme par litre.

G- : Gram négatif.

HCl : Acide chlorhydrique.

*K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae*.

*B. spizizini* : *Bacillus spizizini*.

*S. aureus* : *Staphylococcus aureus*

L. : Classification de Linné.

M : million.

mg /g : Milligramme par gramme.

mg/ 100g : Milligramme par 100 gramme.

mg /ml : Milligramme par millilitre.

min : Minutes.

ml : Millilitre.

**mm** : Milli mètre.

**N°** : Numéro.

**NaCl** : Chlorure de sodium.

**NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

**NaOH** : Hydroxyde de sodium.

**NH<sub>4</sub>OH** : Hydroxyde d'ammonium.

**pH** : Potentiel Hydrogène.

*S. typhimurium* : *Salmonella typhimurium*.

**MH** : milieu Muller Hinton

**µl** : Microlitre.

**GN** : Gélose nutritive.

**BN** : Bouillon nutritif.

*CD* : *Candida albicans*

*NIG*: *Aspergillus niger*

*FUS*: *Fusarium oxysporum*

*FAM* : *Aspergillus flavus*

*PN* : *Penicillium sp*

## Liste des figures

<b>Figure n°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Orge commune ( <i>Hordeum vulgare L.</i> )	<b>4</b>
<b>02</b>	Description morphologique d'orge	<b>6</b>
<b>03</b>	Coupe longitudinale d'un grain d'orge à gauche et les grains à droite	<b>8</b>
<b>04</b>	Le cycle de développement de l'orge	<b>9</b>
<b>05</b>	Zones de production des céréales en Algérie	<b>10</b>
<b>06</b>	Structure de base des flavonoïdes	<b>13</b>
<b>07</b>	Squelette de base des coumarines	<b>14</b>
<b>08</b>	Exemples de structures des alcaloïdes	<b>14</b>
<b>09</b>	Schéma des différentes forms de radicaux libres	<b>16</b>
<b>10</b>	Pyramide des systèmes de défenses antioxydants	<b>17</b>
<b>11</b>	Rendement des trois extraits	<b>37</b>
<b>12</b>	Aromatogrammes de l'extrait 01 à différentes concentration	<b>39</b>
<b>13</b>	Aromatogrammes de l'extrait 02 à différentes concentration	<b>40</b>
<b>14</b>	Aromatogrammes de l'extrait 03 à différentes concentration	<b>41</b>
<b>15</b>	Aromatogrammes de l'extrait 01 à différentes concentration	<b>43</b>
<b>16</b>	Aromatogrammes de l'extrait 02 à différentes concentration	<b>44</b>
<b>17</b>	Aromatogrammes de l'extrait 03 à différentes concentration	<b>45</b>
<b>18</b>	Aromatogrammes de l'extrait 01 à différentes concentration	<b>47</b>
<b>19</b>	Aromatogrammes de l'extrait 02 à différentes concentration	<b>48</b>
<b>20</b>	Aromatogrammes de l'extrait 03 à différentes concentration	<b>49</b>
<b>21</b>	Aromatogrammes des trois extraits à différentes concentration	<b>51</b>

Liste des photos

Photo n°	Titre	Page
01	protocole de preparation de materiel vegetal	24
02	protocole de preparation de l'extrait hydro-méthanolique	25
03	protocole de préparation de l'extrait hydro-méthanolique sec	27
04	Résultats de test des tanins chez les trois extraits .	32
05	Résultats des tests des alcaloïdes chez les trois extraits.	32
06	Résultats des tests des Polyphénole chez les trois extraits.	33
07	Résultats de test des quinones libres chez les trois extraits	33
08	Résultats de test d'anthraquinones chez les trois extraits	33
09	Résultats de test des saponines chez les trois extraits	34
10	Résultats des tests des terpénoïdes chez les trois extraits	34
11	Résultats des tests des glucosides chez les trois extraits	35
12	Résultats de test des flavonoides chez les trois extraits	35
13	Résultats de test d'anthocyanes chez les trois extraits	36



## Liste des tableaux

<b>Tableau n°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Classification taxonomique de l'orge cultivé	<b>5</b>
<b>02</b>	Les souches bactériennes testées	<b>23</b>
<b>03</b>	Sensibilité des souches bactériennes en fonction des zones d'inhibition	<b>29</b>
<b>04</b>	Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les différents extraits hydro-méthanolique de les graines d'orge.	<b>31</b>
<b>05</b>	Diamètres des zones d'inhibitions des trois extraits étudiés avec des différentes dilutions (méthode des disques)	<b>38</b>
<b>06</b>	Les diametres des zones d'inhibition des trois extraits étudiés avec des différentes dilutions (méthode des puits)	<b>42</b>
<b>07</b>	Les diametres des zones d'inhibition des trois extraits secs contre les souches fongiques testées par la technique des puits	<b>50</b>

# **Introduction**

### Introduction

Les céréales jouent un rôle crucial dans la santé humaine en fournissant des glucides complexes, des fibres, des protéines, des vitamines et des minéraux essentiels. Elles sont une source d'énergie durable et contribuent à la régulation du taux de glucose dans le sang, ce qui est vital pour le fonctionnement optimal du cerveau et des muscles. De plus, les fibres présentes dans les céréales favorisent la santé digestive, réduisent le risque de maladies cardiovasculaires.

L'orge (*Hordeum vulgare L.*) se situe à côté du blé, du maïs et du riz, étant l'une des céréales les plus importantes dans le monde, se classant au quatrième rang des céréales pour la production des grains avec 38% maïs, 29% blé, 20% riz et 6% d'orge (Usda, 2010/2011).

Elle est probablement la plus ancienne espèce cultivée par l'homme, dont la culture remonte aux périodes de 5000 à 7000 ans avant J.C. (Poehlman,1985). Initialement destinée à l'alimentation humaine, elle a évolué principalement vers l'alimentation pour bétail, le maltage et le brassage, en partie à cause de l'accentuation de l'importance du blé et du riz (SHarma et Gujral,2010).

L'importance de l'orge découle de sa capacité à croître et à produire dans des environnements marginaux, caractérisés par la sécheresse, des températures élevées et la salinité (Hopkins,2003). Historiquement, l'orge constituait une source importante de nourriture dans plusieurs régions du monde, incluant le Moyen-Orient, l'Afrique du Nord, l'Europe du Nord et de l'Est, ainsi que l'Asie (Grando et MacphEerson, 2005). Dans d'autres régions, le grain d'orge est intégré au processus de production du mal (Poehlman,1985).

En Algérie, l'orge a toujours occupé une place importante parmi les autres céréales. Elle dominait les cultures et était destinée à l'autoconsommation humaine. Son rôle dans l'alimentation animale a toujours été et reste fondamental. La rusticité de l'espèce, sa capacité à s'adapter aux irrégularités du climat algérien, ses qualités nutritionnelles et même ses bienfaits pour la santé humaine en font une culture qui mérite une attention particulière (Rahal-Bouziane, 2015).

Ces dernières années, l'intérêt pour l'étude des activités biologiques des grains d'orge a considérablement augmenté en raison de leur potentiel pharmacologique, notamment leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antidiabétiques et anticancéreuses.

Ainsi, notre étude s'est focalisée sur l'identification des principaux composés biochimiques et l'évaluation des activités antibactérienne et antifongique de l'extrait méthanolique d'une variété d'orge (*Hordeum vulgare L.*) nommée Saïda.

**Notre travail est basé sur deux parties :**

### **La première partie :**

Concerne une synthèse bibliographique sur la plante étudiée (*Hordeum vulgare L.*), les composés biochimique et les activités antioxydante antibactérienne et antifongique.

### **La deuxième partie :**

Comprend le matériel biologique, la méthode, les résultats obtenues, puis les discussions. Enfin une conclusion et perspectives sur notre travail.

**Partie 01 :**  
**Synthèse Bibliographique**

## I-Généralités sur l'orge

L'orge (*Hordeum vulgare L.*), plante modèle d'intérêt agronomique est l'une des céréales les plus importantes du monde. Elle fut l'une des premières cultures domestiquées et servit pendant des siècles pour l'alimentation humaine (Badr et al., 2000). Actuellement, cette plante se classe au quatrième rang dans la production céréalière mondiale. Elle est employée pour l'alimentation animale, les malts de brassage et l'alimentation humaine (Akar et al., 2004). L'orge s'adapte également bien à des environnements différents, il est cultivé à partir de 330 mètres en dessous du niveau de la mer près de la Mer Morte et à 4200 m sur les Andes Boliviennes (FAO, 2009). De plus, l'orge est une plante bien connue et utilisée pour développer des méthodologies de sélection végétale, génétique, cytogénétique (Heneen, 2010).



Figure 01 : Orge commune (*Hordeum vulgare L.*). (Anonyme, 2009)

### I-1- Origine géographique

La domestication des orges précédait celle du blé, car les études archéologiques en Syrie et en Iraq ont révélé la présence de caryopses d'orge datant d'environ 10 000 ans avant Jésus-Christ. Ainsi, durant l'Antiquité et jusqu'au deuxième siècle avant Jésus-Christ, l'orge dominait comme céréale principale dans l'alimentation humaine des régions du croissant fertile, d'Europe et du bassin méditerranéen. Quant au Maghreb, elle fut introduite depuis le croissant fertile en passant par l'Égypte (Boulal et al., 2007). *Hordeum spontaneum L.*, ou l'orge sauvage à deux rangs, largement répandue de la Grèce et la Libye jusqu'au Nord-Est de l'Inde, est généralement reconnue comme l'ancêtre de l'orge cultivée *Hordeum vulgare L* (Jestin, 1992). Les variétés d'orge à six rangs, à rachis fragile, présentes en Asie centrale et auparavant désignées sous le nom de *Hordeum agriocrithon L*, sont désormais les descendants subspontanés d'hybrides entre les types cultivés à

six rangs et *Hordeum spontaneum* sont maintenant considérés comme tels (**Von Bothmer et al., 1990 in Jestin, 1992**).

Une diversification morphologique et une adaptation très étendue accompagnent la distribution très large des orges cultivées. Des types à deux rangs, remontant au Néolithique (7000 avant Jésus-Christ), découverts dans le croissant fertile du Moyen-Orient, semblent être les plus anciens restes de l'orge cultivée, bien antérieurs aux orges à deux et à six rangs trouvés en Extrême-Orient et en Égypte (**Zohary, 1973 ; Jestin, 1992 ; Boulal et al., 2007**).

### I-2-Origine génétique

L'orge cultivée (*H. vulgare L.*), de constitution génomique diploïde ( $2n=14$ ), représente une espèce très ancienne et son exploitation par l'homme en tant qu'aliment remonte, selon (**Harlan, 1975**), au néolithique, soit il y a 12000 ans. Les découvertes de graines lors des fouilles menées dans le croissant fertile fournissent des preuves de son origine géographique. Des débats scientifiques ont récemment éclaté concernant l'origine géographique de la domestication de l'orge.

### I-3- Classification taxonomique

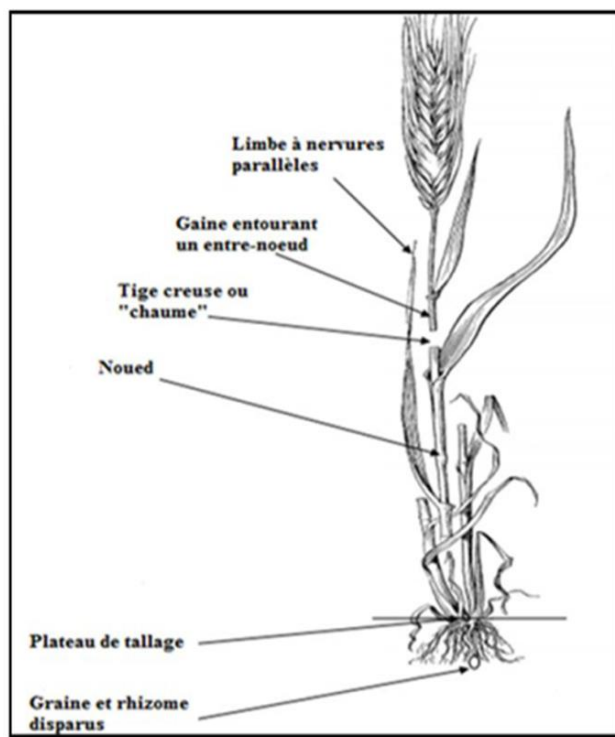
Depuis plus d'un siècle, certains botanistes se confrontent au problème de la variabilité du genre *Hordeum*. Plus de quarante taxons ont été identifiés. La délimitation taxonomique du genre demeure encore à résoudre de manière satisfaisante. La section *Hordeum* se compose d'espèces vivaces et annuelles, avec une distribution eurasiennne s'étendant de la Méditerranée à l'Ouest et à l'Asie centrale. Cette section comprend principalement trois espèces : *Hordeum vulgare L.*, *Hordeum bulbosum L.* et *Hordeum murinum L.* (**Bothmer et Jacobsen, 1985 ; Bothmer, 1992 ; Kochieva et al., 2001**).

**Tableau 01** : Classification taxonomique de l'orge cultivé (**Egbert, 2008**).

<b>Règne</b>	<b>Plantae (Règne végétale)</b>
<b>Embranchement</b>	<b>Magnoliophyta (Angiospermes)</b>
<b>Classe</b>	<b>Liliopsida ( Monocotylédones)</b>
<b>Sous-classe</b>	<b>Commelinidae</b>
<b>Ordre</b>	<b>Poales (cyperales)</b>
<b>Famille</b>	<b>Poaceae (Graminées)</b>
<b>Genre</b>	<b>Hordeum</b>
<b>Espèce</b>	<b><i>Hordeum vulgare L.</i></b>

#### I-4- Description botanique

L'orge pousse en tant que plante annuelle répertoriée parmi les monocotylédones, faisant partie de la famille des Poacées (Graminées) et du genre *Hordeum* (tableau 01), comprenant 32 espèces (**Baik et Ulrich, 2008**). Ces plantes herbacées ont un cycle végétatif court d'environ 130 à 150 jours, voire moins (**Soultner, 1979**), se fragmentant en trois phases principales (période végétative, période de reproduction et période de maturation) (**Slafer et al., 2002**). Elles croissent en touffes formées par les racines, les feuilles, la tige et l'épi contenant les graines. En raison de sa précocité et de son potentiel de productivité dans les zones arides et tropicales, l'orge est la céréale avec la distribution géographique la plus étendue (**Bonjean et Picard, 1990 ; Ceccarelli et al., 1995**).



**Figure 02** : Description morphologique d'orge (**Soultner, 2005**).

##### I-4.1. Appareil végétatif

Les graminées deviennent des plantes herbacées de petite taille, la plante se développe en générant un certain nombre d'unités : Les talles.

##### I-4.1.1. Système racinaire

Le système racinaire accomplit deux fonctions : il assure l'ancrage de la plante au sol et assure son approvisionnement en eau et en éléments minéraux (**Boulal et al., 2007**)

Les céréales sont dotées de deux systèmes radiculaires successifs:



- Le système racinaire primaire ou seminal, opérationnel dès la germination. On observe 5 à 8 racines séminales chez le blé tendre, 7 chez l'orge et 6 chez le blé dur (**Monneveux, 1992 ; Hamadache, 2001 ; Boulal et al., 2007**).
- Le système racinaire secondaire ou racine adventive, de type fascicule, émerge lors du tallage. Le nombre de racines augmente d'autant plus que le tallage est plus développé et que la phase de tallage est plus prolongée (**Belaid, 1996 ; Boulal et al., 2007**).

#### I-4.1.2. Système aérien

**Tige :** Sur la partie aérienne des céréales, on identifie une tige principale connue sous le nom de maître brin et des tiges secondaires appelées talles qui émergent à la base de la plante (**Gondé et Jussiaux, 1980 ; Boulal et al., 2007**). Les nœuds représentent des zones méristématiques d'où se développent les entre-nœuds. Chaque nœud constitue le point d'attache d'une feuille (**Belaid, 1996 ; Hamadache, 2001**). Les entre-nœuds désignent les parties de la tige situées entre les nœuds ; généralement, ils sont creux chez les blés tendres, l'orge et l'avoine, tandis qu'ils sont pleins chez les blés durs (**Belaid, 1996**).

**Feuilles :** Concernant les feuilles, comme chez toutes les graminées, la présence et la forme des oreillettes ou stipules ainsi que de la ligule, au point d'insertion de la feuille autour de la graine, permettent de déterminer l'espèce de la plante examinée, avant l'apparition de l'épi (**Soltner, 1999**). Les feuilles sont caractérisées par des nervures parallèles et se composent de deux parties : la partie inférieure entourant la jeune pousse ou la tige (la gaine), et la partie supérieure en forme de lame (le limbe) (**Belaid, 1996**). La gaine de chaque feuille prend naissance à partir du nœud. Les stipules ou oreillettes se situent à l'intersection entre le limbe et la gaine. Chez le blé, les oreillettes sont longues, non embarrassantes et généralement ciliées, mais parfois glabres. En revanche, l'orge présente des oreillettes longues, embarrassantes et toujours glabres (**Boulal et al., 2007**).

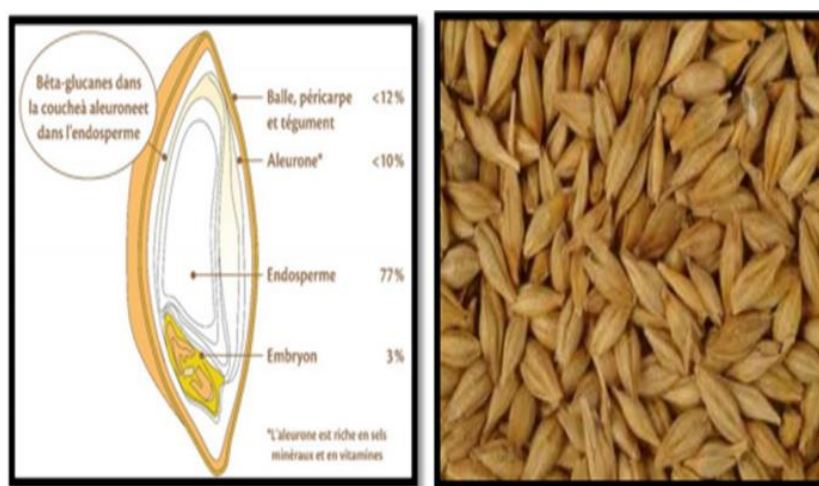
#### I-4.1.3. Système reproducteur

Chez le blé et l'orge, l'inflorescence prend la forme d'un épi, composé d'un ensemble d'unités nommées épillets. Chaque épillet contient une petite grappe d'une à cinq fleurs, qui sont enveloppées individuellement par deux glumelles (inférieure et supérieure). Les fleurs sont fixées sur le rachillet (branche issue de l'axe principal de l'inflorescence) (**Boulal et al., 2007**). Le blé se reproduit de manière autogame ou par autofécondation, ce qui signifie que la fécondation se produit à l'intérieur des glumelles avant que les étamines n'apparaissent à l'extérieur (**Soltner, 1999**).

## La graine

Fruit sec (caryopse) : D'après **Soltner (1999)**, le caryopse des céréales se présente nu ou vêtu, en fonction de l'adhérence des glumelles au caryopse : Le blé et le seigle sont des céréales à caryopse nu, tandis que l'orge est une céréale à caryopse vêtu par des glumelles adhérentes. Selon **Maciejewski (1991)**, le caryopse nu, dépourvu de glumelle, comprend :

- L'enveloppe du fruit, fusionnée avec le tégument de la graine ;
- L'albumen, riche en amidon, constituant la source de farine ;
- L'embryon comprenant la coléoptile (gaine protectrice de la tige de la plantule), les prémices des feuilles, la radicule et la coléorhize (gaine protectrice des racines) ;
- Le scutellum ou cotylédon, en contact avec l'albumen, absorbant les éléments nutritifs lors de la germination.



**Figure 03** : Coupe longitudinale d'un grain d'orge à gauche et les grains à droite (FAO, 2017).

## I-5- Cycle de développement

### I-5-1-Période végétative

**La germination** : correspond à l'activation de la semence et au début de la croissance de l'embryon.

**La levée** : cette phase se caractérise par le nombre de feuilles de la jeune plante et leur stade de développement (**Giban et al., 2003**).

**Le tallage** : le début du tallage se manifeste par l'apparition de l'extrémité de la première feuille de la talle latérale, suivie de l'émergence de nouvelles talles successives, formant un plateau de tallage au niveau du sol. La fin du tallage marque la fin de la période végétative et le début de la phase reproductive (**Hadria, 2006**).

### I-5-2-Période reproductive

La période reproductive commence par la montaison, qui est identifiable lorsque l'ébauche de l'épi du brin maître atteint 1 cm de hauteur. Ce stade se termine lorsque l'épi prend sa forme définitive à l'intérieur de la gaine de la feuille étendard, qui se dilate (stade de gonflement) (Giban *et al.*, 2003).

**L'épiaison** : marque la période depuis l'émergence des premiers épis jusqu'à la complète sortie de tous les épis hors de la gaine de la dernière feuille (Giban *et al.*, 2003).

**La floraison** : se caractérise par l'émergence des premières étamines hors des épillets au milieu de l'épi. Sur 50% des épis, la formation du grain se réalise lorsque les grains du tiers médian de l'épi atteignent la moitié de leur croissance. Ces grains passent par deux stades de développement.

- Le stade laiteux où le grain vert -clair, contenant un contenu laiteux, atteint sa dimension finale ; (le grain retient encore 50% d'humidité et la formation des protéines se termine)
- Le stade pâteux où le grain,- devenu jaune, se comprime facilement. (L'humidité du grain .(s'est évaporée et l'amidon s'est formé

**La maturité complète** : l'humidité atteint environ 20% ; le grain est mûr et prêt à être récolté, c'est alors la période des moissons.

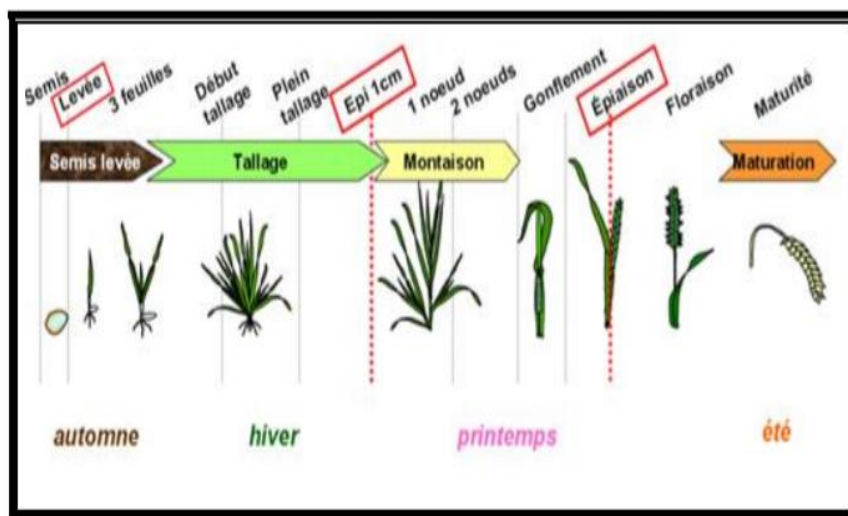


Figure 04 : Le cycle de développement de l'orge. (INRAE, 2015).

## I-6. Zones de production de l'orge

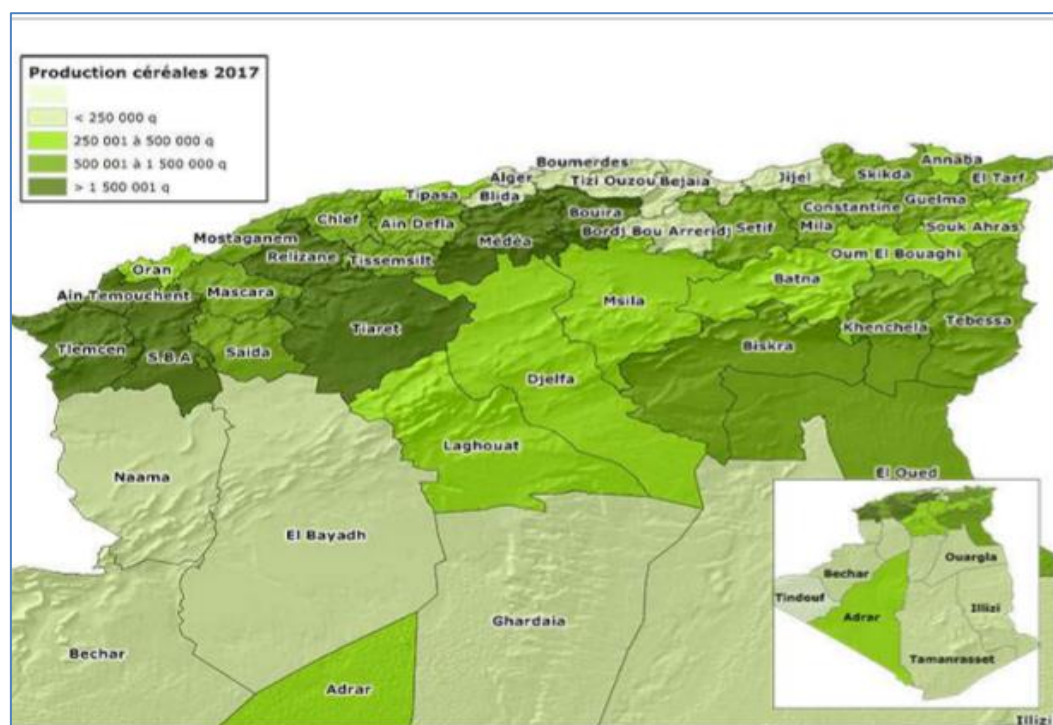
### I-6.1. Dans le monde

L'orge pousse dans les régions tempérées du globe, où elle est cultivée sur des sols calcaires avec des labours profonds. Elle trouve sa place dans diverses parties du monde comme l'Afrique du Nord, le Sud de l'Europe et l'Asie (Clerget, 2011). Dans les zones de hautes latitudes et les régions montagneuses, les agriculteurs choisissent de semer l'orge au printemps pour éviter les gelées. Par

conséquent, ces régions requièrent des variétés de printemps pour leur croissance. En revanche, dans les régions de basses latitudes, les variétés d'orge d'hiver sont privilégiées. Dans les régions de latitudes moyennes, notamment en Afrique du Nord, en Europe du Sud, au Népal, en Chine et au Japon, on cultive généralement les variétés d'orge de printemps et d'hiver en automne (VON BOTHMER *et al.*, 2003).

### I-6.2. En Algérie

L'orge s'étend sur les zones marginales des plaines intérieures et des hauts plateaux. (Hakimi,1993) localise la culture de l'orge en Algérie et son mode d'exploitation sur plusieurs régions bioclimatiques, à savoir la région subhumide, la région semi-aride, la région aride et la région du Sahara supérieur. Selon Malki et Hamadache (2002), les régions agro-pastorales telles que Batna, Khenchela, Tebessa et M'Sila dominent la production d'orge en Algérie.



**Figure 05 :** Zones de production des céréales en Algérie, (MADR, 2017).

### I-7. Importance thérapeutique de l'orge

Des études effectuées sur les jeunes feuilles d'orge a révélé la présence d'un niveau élevé de composés antioxydants : la saponarine et la lutonarine, qui sont des flavonoïdes (Holtekjflen *et al.*, 2006). Ces flavonoïdes (Polyphénols) possèdent une propriété préventive de certaines maladies, et diverses études sur des animaux ont mis en évidence que les feuilles d'orge présentent des propriétés chimiques bioactives très bénéfiques pour la santé : elles agissent comme antiulcéreuses, antioxydantes, hypolipidémiques, antidépressives et antidiabétique.

Comme elles constituent une source alimentaire riche en différentes molécules bénéfiques pour les gens anémiques et ceux qui souffrent d'une déficience immunitaire (**Besançon, 2000**).

**Anémie :** L'herbe d'orge possède une richesse en chlorophylle, une fibre alimentaire très importante. La chlorophylle exerce la propriété de détruire les germes, constitue une source essentielle de magnésium et agit sur l'anémie aussi rapidement que le fer. De plus, la formation du sang est tributaire de la chlorophylle et requiert également des vitamines K, C, B12, de l'acide folique et de la pyridoxine, toutes présentes dans l'herbe d'orge. (**De Vogel J et al, 2005**).

**Diabète :** La consommation régulière de compléments alimentaires normalise le niveau de sucre dans le sang, en particulier grâce au manganèse, au zinc, et surtout au chrome qu'ils renferment. En outre, les enzymes de l'herbe d'orge encouragent l'activité du pancréas (**Barbara, 1999**).

**Immunité :** À travers ses enzymes et ses vitamines, l'herbe d'orge renforce le système immunitaire. Ses enzymes anti-oxydantes combattent les radicaux libres tandis que le Bêta carotène, également abondant, active le lysozyme qui élimine de nombreuses bactéries. D'autres vitamines, telles que la B1, la B2 et la B6, stimulent respectivement le système lymphatique, les anticorps et le système immunitaire dans son ensemble. La choline renforce la production d'hormones. Enfin, la vitamine C améliore l'efficacité de la phagocytose (**Barbara, 1999**).

**Stress :** La forte concentration de nutriments dont bénéficie l'herbe d'orge diminue les névroses et autres réactions psychologiques excessives. En conséquence, les vitamines B qu'elle renferme favorisent un regain de calme relatif et préviennent les décharges d'adrénaline (**Paradis, 2017**).

## II. Métabolisme secondaire

### II-1- Définition de metabolism

Le métabolisme, issu du grec "métabole" signifiant changement, représente un processus très dynamique. Les molécules subissent un renouvellement continu, et la composition d'une cellule à un instant donné se trouve en équilibre entre synthèse et dégradation. La majorité des synthèses vise à produire des molécules essentielles pour la structure et le fonctionnement de la cellule. Le métabolisme des plantes vertes émerge avec l'autotrophie. Contrairement à la plupart des autres organismes, les plantes vertes, sous l'effet de la lumière, fabriquent leurs propres substrats organiques nécessaires à leur métabolisme : elles métabolisent le dioxyde de carbone, l'eau et les sels minéraux, tandis qu'elles rejettent de l'oxygène (**Reymond, 1993**).

### II-2 -Types de métabolisme

Deux types de métabolisme peuvent être distingués, à savoir le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire.

## II-2.1. Métabolisme primaire

- **Définition**

Les métabolismes primaires consistent en des molécules présentes dans toutes les cellules végétales et nécessaires à la survie de la plante. Ils forment la base de la machinerie moléculaire de la cellule. Les glucides, les lipides et les acides aminés constituent d'importants exemples de métabolismes primaires (**Hopkins, 2003**).

## II-2.2. Métabolisme secondaire

- **Définition**

Le terme "métabolite secondaire" est employé pour décrire les composés chimiques présents dans les plantes, qui sont responsables de fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire et la défense (**Guillaume, 2008**).

- **Classification des métabolites secondaires**

Les métabolismes secondaires se répartissent en deux classes chimiques : les composés azotés, comprenant les alcaloïdes et les glycosides, qui sont synthétisés à partir d'acides aminés, et les composés phénoliques, qui possèdent un groupe hydroxyle sur un cycle aromatique. Parmi ces derniers, on trouve la lignine, les flavonoïdes et les tanins, ainsi que les terpenoïdes et les huiles essentielles. En général, on distingue trois groupes essentiels:

- les terpenoïdes
- les alcaloïdes
- les composés phénoliques (**Nultsch, 1995**).

### II-2.2.1. Composés phénoliques

➤ **Acide phénolique**

Les acides phénoliques se retrouvent en abondance dans les aliments et sont divisés en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Les acides hydroxycinnamiques sont plus courants que les acides hydroxybenzoïques, notamment l'acide p-coumarique, caféique, férulique et sinapique (2009).

❖ **Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (Brianceau 2015) :**

- Dérivent de l'acide benzoïque.
- Présentent généralement une structure de base de type (C6-C1).
- Sont souvent présents sous forme d'esters ou de glycosides.

❖ **Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (Brianceau 2015) :**

- ✓ Dérivent de l'acide cinnamique.
- ✓ Présentent généralement une structure de base de type (C6-C3).
- ✓ Sont souvent présents sous forme combinée avec des molécules organiques.

### ➤ Flavonoïdes

Produits quasi universels des végétaux, souvent à l'origine de la coloration des feuilles et des fruits, ils sont responsables de la coloration de nombreux végétaux (Vania et al., 2014). Tous les flavonoïdes partagent la même structure de base (fig.04) : le noyau flavane composé de 15 atomes de carbone (C6C3C6) assemblés en 3 cycles A, B et C (A et B étant des noyaux aromatiques et C un hétérocycle oxygéné central), et comprenant 3 familles : les flavanols, les anthocyanes et les flavanones (Kim et al., 2004).

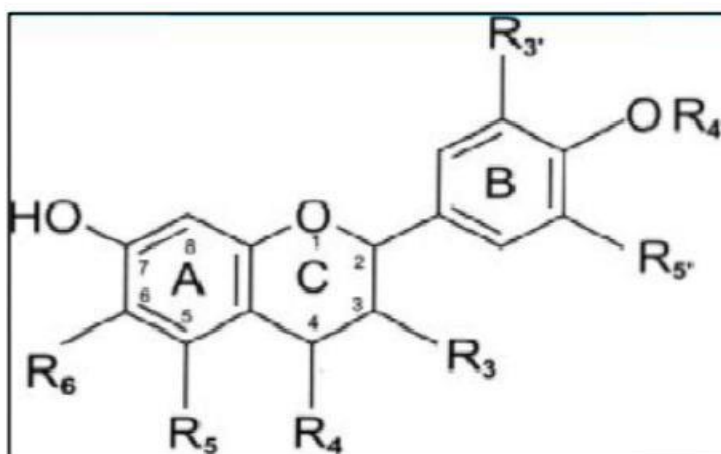


Figure 06 : Structure de base des flavonoïdes (Vania et al., 2014).

### ➤ Tanins

Composés phénoliques solubles dans l'eau, avec un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da, ils ont un pouvoir tannant. Les tanins hydrolysables, caractérisés par l'absence de sucre, sont des molécules hydrolysables dont la structure est proche de celle des flavonoïdes (Frutos et al., 2004).

### ➤ Coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », le nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae), qui contient 1 à 3 % de coumarine, isolée pour la première fois en 1982 (Bruneton, 1993).

Présentes dans de nombreuses espèces végétales et dotées de diverses propriétés, elles préviennent la peroxydation lipidique et captent les radicaux. Capables de prévenir la peroxydation lipidique et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes, les coumarines possèdent un squelette de base constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Frod et al., 2001).

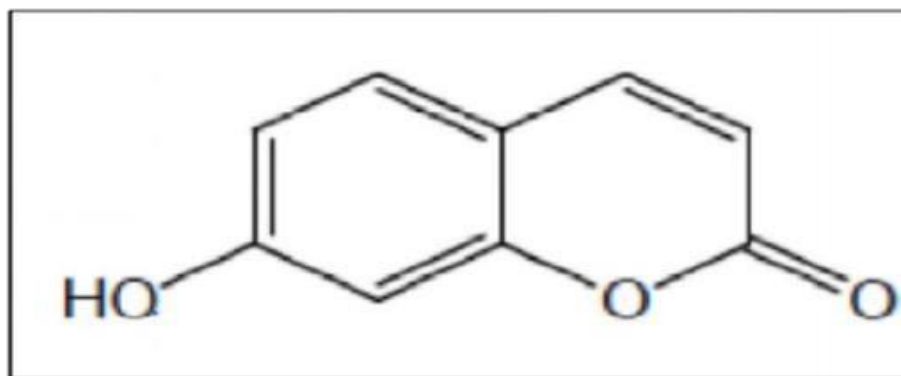


Figure 07 : Squelette de base des coumarines (Venugopala, 2013)

### II-2.2.2. Alcaloïdes

Composés organiques naturels, le plus souvent d'origine végétale, ils sont hétérocycliques avec l'azote comme hétéroatome, et leur structure moléculaire est complexe, plus ou moins basique, dotée de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (Bruneton, 1999; Zenk et Juenger, 2007). Constituant un groupe fascinant de produits naturels, ils représentent l'un des plus grands groupes de métabolites secondaires, avec près de 10 000 à 12 000 structures différentes (Roberts et Wink, 1999 ; Stöckigt et al., 2002). La figure 03 illustre les molécules d'alcaloïdes les plus courantes.

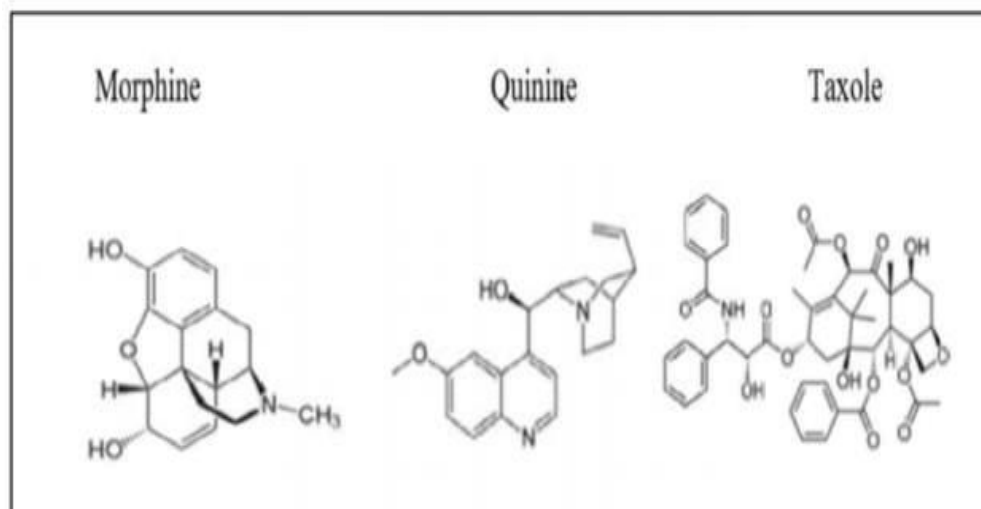


Figure 08 : Exemples de structures des alcaloïdes (Badiaga, 2011).

### II-2.2.3. Terpénoïdes

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite à partir d'un monomère à 5 carbones appelé hydrocarbures naturels. Leur structure peut être cyclique ou à chaîne ouverte : leur formule brute est  $(C_5H_x)_n$ , où x varie en fonction du degré d'insaturation de la molécule et où n peut prendre des valeurs de 1 à 8 (Sun et al., 2016).



### III-Activités biologiques

#### III-1. Activité antioxydante

##### III-1.1. Stress oxydatif

###### III-1.1.1. Définition

Le stress oxydant résulte de l'asymétrie entre la génération des espèces réactives d'oxygène et l'aptitude des organes à contrecarrer et à restaurer le préjudice oxydatif.

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont constamment générés en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement régulée par des systèmes de défense, adaptés au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on indique que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est nommé « stress oxydant » (**Pincemail et al., 2009**).

###### III-1.1.2. Radicaux libres

###### III-1.1.2.1. Définition

Un radical libre devient un atome ou une molécule dont la structure chimique s'identifie par la présence d'un électron libre dans sa couche extérieure, ce qui le rend beaucoup plus réactif et de courte durée que l'atome ou la molécule d'origine. En raison de leur grande réactivité, ils peuvent extraire les électrons d'autres composés pour atteindre la stabilité (**Pincemail et al., 2001 ; Defraigne et al., 2008 ; Kabel et al., 2014 ; Phaniendra et al., 2015**).

Les espèces oxygénées réactives peuvent se classer en radicaux centrés ou non sur l'oxygène. Les radicaux centrés sur l'oxygène comprennent le radical superoxyde, le radical hydroxyle, le radical alcoxyle et le radical peroxyde. Les non-radicaux oxygénés (qui ne possèdent pas d'électron célibataire) incluent le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet, l'acide hypochloreux et l'ozone (**Sisein et al., 2014**).

Les autres espèces réactives qui dérivent d'autres éléments que l'oxygène incluent les espèces réactives d'azote, comme l'oxyde nitrique, le dioxyde nitrique et le peroxyde nitrite (**Sisein, 2014**).

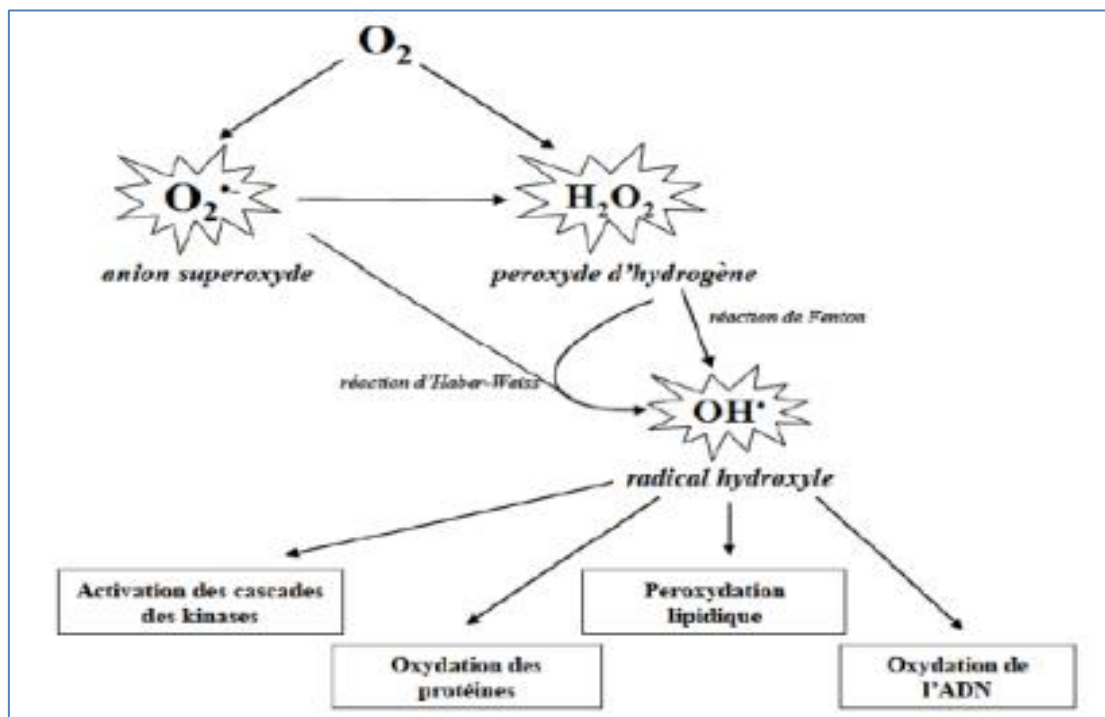


Figure 09 : Schéma des différentes formes de radicaux libres (Garait, 2006).

### III-1.1.2.2. Production des radicaux libres

Deux types de production des radicaux libres sont distingués :

#### ❖ Production endogène

La production des espèces antioxydantes découle inévitablement du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme utilise de l' $O_2$  pour générer de l'énergie lors des réactions de respiration oxydative. Toutefois, une fraction réduite de l'oxygène n'est pas convertie en eau au niveau de la mitochondrie, ce qui peut entraîner la production de radicaux libres oxygénés (RLO) (Chu *et al.*, 2010).

#### ❖ Production exogène

Les autres sources de production de radicaux libres se divisent en deux catégories : les sources endogènes, où les RL sont des produits des réactions de l'organisme, et les sources exogènes telles que le tabagisme, les radiations UV, les médicaments, les réactifs chimiques, les solvants industriels et la pollution (Pastre, 2005).

### III-1.1.3. Conséquences du stress oxydatif

La surproduction des radicaux libres entraîne des dommages directs aux molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides, ainsi que des dommages secondaires causés par la cytotoxicité et le caractère mutagène des métabolites libérés, notamment lors de l'oxydation des lipides.

Une augmentation du stress oxydant pourrait occasionner des dégradations tissulaires et induire des lésions au niveau des structures cellulaires. Ce déséquilibre peut être causé par divers facteurs, comme l'exposition aux radiations ionisantes (exposition prolongée au soleil, radioactivité naturelle ou artificielle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, La consommation de tabac et d'alcool, une alimentation déséquilibrée, des processus inflammatoires chroniques ou aigus, la prise de contraceptifs oraux et de certains médicaments, ainsi que la pratique d'un sport intense ou mal régulé, peuvent contribuer au stress oxydatif. Ce dernier est potentiellement lié au vieillissement et au développement de pathologies associées telles que les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et le cancer (Haleng et al., 2007).

### III-1.2. Systèmes antioxydants

#### III-1.2.1. Définition

Les antioxydants agissent en toute sécurité avec les radicaux libres pour stopper la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne subissent des dommages. Chaque molécule antioxydante interagit uniquement avec un radical libre, donc il est nécessaire de renouveler constamment les ressources antioxydantes (Kristina P. et Marika., 2003).

##### III-1.2.1.1. Systèmes de défenses antioxydants

En fonction du mode d'action des systèmes de défense antioxydants, deux catégories d'antioxydants, enzymatiques et non enzymatiques, sont distinguées (Scheibmeir, 2005).

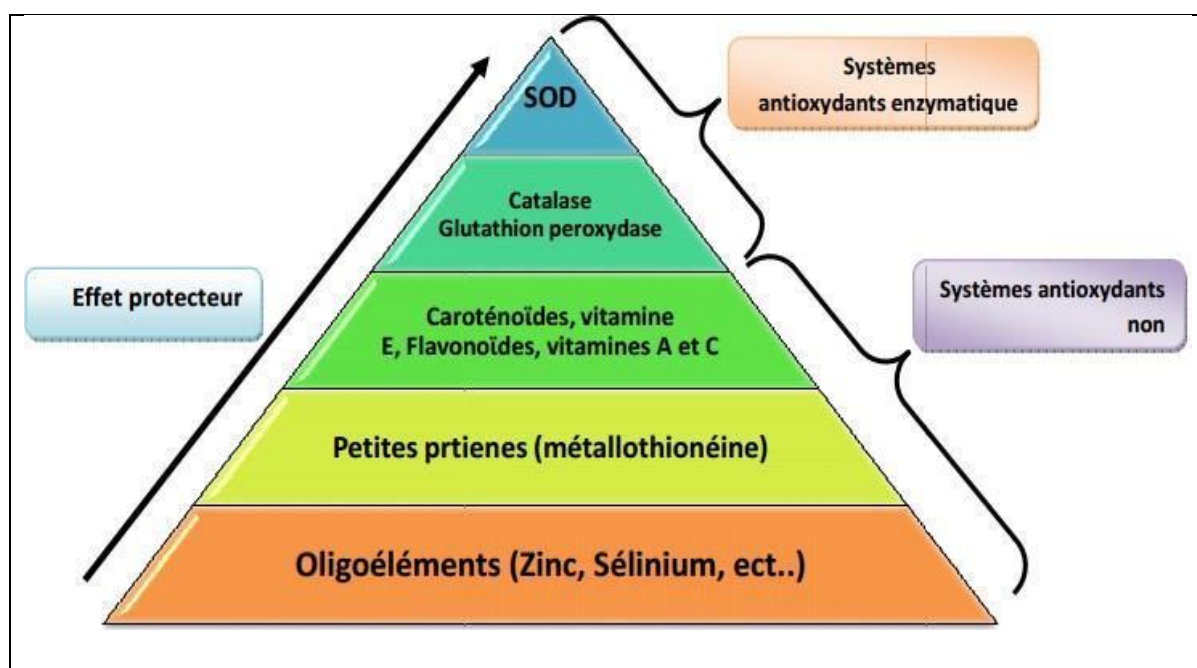


Figure 10 : Pyramide des systèmes de défenses antioxydants (Droge W., 2002)

### ❖ Système antioxydant enzymatique

Trois enzymes sont principalement impliquées : le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Elles agissent de manière complémentaire sur la cascade radicalaire impliquant O<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, aboutissant ultimement à la production d'eau et d'oxygène moléculaire (Lehucher *et al.*, 2001).

### ❖ Système antioxydant non enzymatique

Ce groupe d'antioxydants se compose de plusieurs composés capables de réagir directement ou indirectement avec les ERO. Le mécanisme indirect implique la chélation des métaux de transition, ce qui prévient la production du radical hydroxyle, hautement toxique. Les meilleurs antioxydants exogènes sont la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et les polyphénols (N'Guessan *et al.*, 2009).

### III-1.3. Méthodes d'études de l'activité antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro*, diverses méthodes ont été élaborées. Ces méthodes consistent à mélanger des espèces oxydantes, telles que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon contenant des antioxydants capables d'inhiber la génération de radicaux. Parmi celles-ci figurent le test du DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), le test de l'activité chélatrice des ions de Fe<sup>2+</sup>, le test ABTS (Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)), le test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), l'activité réductrice sur le ferricyanure de potassium, le test de piégeage du radical hydroxyle•OH, le test de la capacité d'inhibition du radical anion superoxyde K<sub>2</sub>•<sup>-</sup> et le test du phosphomolybdate (PPM) en utilisant une technique d'analyse spectrale (notamment la spectroscopie d'absorption UV-Vis)(Boubakeur, 2019).

### III-2. Activité Antibactérienne

L'activité antibactérienne implique l'action d'une molécule présente dans un végétal avec une concentration très faible, qui inhibe ou élimine complètement le développement d'une bactérie. La sensibilité d'une bactérie à un agent antibactérien varie en fonction de la nature de cet agent (Nicola *et Daniel.*, 1998).

#### III-2.1. Principe

Le principe de la méthode consiste à diffuser le composé antimicrobien dans un milieu solide dans une boîte de Pétri, créant ainsi un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est évalué en mesurant une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche est classée comme sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (Saidi, 2019).

### III-2.2. Éléments nécessaires pour réaliser l'activité

#### a. Antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes est réalisée au moyen de substances appelées antibiotiques. Ces dernières sont produites par des microorganismes, généralement des champignons. Elles sont capables soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), soit d'entraver leur croissance (effet bactériostatique) (**Elghozi et Duval., 1992**).

L'utilisation des antibiotiques entraîne généralement la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance résulte de mutations chromosomiques ou de l'acquisition de gènes de résistance transportés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont incité à rechercher de nouveaux agents antimicrobiens possédant une efficacité supérieure à celle des médicaments synthétiques et bien tolérés par l'organisme, sans causer d'effets néfastes sur la santé humaine (**García-Ruiz et al., 2008 ; Kempf et Zeitouni, 2009**).

#### b. Bactéries

Les bactéries, des organismes vivants unicellulaires procaryotes, se distinguent par l'absence de noyau et d'organites. La majorité des bactéries présentent une paroi glucidique, appelée peptidoglycane. Néanmoins, de nombreuses espèces pathogènes causent de nombreuses maladies infectieuses telles que le choléra, la syphilis et la tuberculose. Ces microorganismes se divisent en deux groupes (gram positif et gram négatif) selon la différence dans la structure de la composition chimique de la paroi cellulaire (**Nauciel, 2000**).

##### ❖ Bactéries à Gram positif

Se compose de trois couches : membrane plasmique, l'espace periplasmique et peptidoglycane considéré comme une paroi cellulaire, cette paroi contient un feutrage pour les acides teichoïques. Les bactéries positives n'abritent pas beaucoup de protéines (**Russell, 1997 ; Hancock, 1998**).

##### ❖ Bactéries à Gram négatif

Les bactéries à gram négatif présentent une épaisseur de paroi de 15 à 20 nm (**Russell, 1997 ; Hancock, 1998**), comprenant une couche de peptidoglycane située entre la membrane cytoplasmique, elle-même composée d'une double couche de phospholipides qui subissent des modifications par des molécules croissantes appelées polysaccharides, constituant un antigène pour les bactéries gram négatives.

### III-3. Activité antifongique

#### III-3.1. Définition des antifongiques

Les antifongiques possèdent la capacité de soigner les infections fongiques, en traitant les infections causées par des champignons et des levures microscopiques. Lorsque l'infection est systémique ou muqueuse, ces médicaments se présentent sous forme de comprimés, de gélules ou d'ovules vaginaux. En cas d'administration intraveineuse, les antifongiques sont injectés, tandis que sous forme topique, ils sont appliqués sous forme de pomades (Mesbah, 2018).

#### III-3.2. Définition des champignons

Les champignons forment un groupe diversifié d'organismes, étant eucaryotes, leur métabolisme interagit avec celui des cellules humaines (Hawksworth, 2001). Ils présentent plusieurs caractéristiques structurelles qui peuvent servir de cible aux agents antifongiques, notamment (Redecker, 2002) :

- ✓ La membrane cellulaire contenant l'ergostérol.
- ✓ Une paroi très rigide, principalement constituée de chitine.

#### III-3.3. Caractères généraux

Les champignons microscopiques, filamenteux et ubiquitaires sont les moisissures (Pitt et al., 2000). Un appareil végétatif constitué par un thalle filamenteux, le mycélium, est possédé par eux, dont les filaments s'appellent des hyphes. Leur classification repose sur les caractères morphologiques et le mode de reproduction. Des organes de reproduction, appelés de façon générale spores et pouvant avoir une origine sexuelle ou végétative, sont produits par les moisissures (Dendouga, 2006). Le nombre d'espèces varie de 60 000 à 100 000 (Reboux et al., 2010). Naturellement omniprésentes, ces moisissures comprennent les *Penicillium* et les *Aspergillus* comme les plus répandues. Elles sont aérobies strictes, capables de se développer sur toutes sortes de nourriture : céréales, viande, lait, fruits, légumes, ..., peu exigeantes et possèdent un potentiel élevé de sécrétion d'enzymes exo-cellulaires (Belyagoubi, 2005).

#### III-3.4. Facteur de développement

Les moisissures interagissent entre elles pour occuper l'environnement intérieur (compétition, cohabitation, symbiose). Leur développement dépend de la nature des substrats disponibles (cellulose, lignine) et des conditions physiques (température, activité de l'eau  $A_w$  : disponibilité en eau, pH, oxygène) (Reboux et al., 2010).

##### III-3.4.1 Activité de l'eau ( $A_w$ )

L'activité de l'eau, définie comme le rapport de la pression de vapeur d'eau d'un produit ( $p$ ) sur la pression de vapeur d'eau pure ( $p_0$ ) à une température donnée (Alban, 2016), est un indicateur crucial. Aucun microorganisme ne peut proliférer lorsque l' $A_w$  est inférieur à 0,6, donc les produits

alimentaires avec une Aw inférieure ou égale à 0,6 restent généralement non altérés (**El Houry, 2007**).

#### **III-3.4.2. Température**

La croissance et la physiologie des moisissures sont grandement influencées par la température, ainsi que la compétition entre les espèces. La plupart des champignons préfèrent les conditions mésophiles, avec des plages de température optimales allant de 25 °C à 35°C. D'autres, en revanche, sont adaptés au froid, capables de se développer à des températures relativement basses, comme les champignons du genre *Penicillium*, dont la plage de température va de 4°C à 31°C, avec un optimum autour de 12°C (**El Houry, 2007**).

#### **III-3.4.3. PH**

Le potentiel hydrogène ou PH manifeste l'activité chimique des ions hydrogènes (protons) en solution. Les moisissures peuvent se développer dans une gamme de PH allant de 3 à 8, leur PH optimal de développement se trouvant plutôt entre 5 à 6 (**Alban, 2016**). Cependant, la croissance maximale des moisissures sur les céréales se produit entre les pH allant de 6 à 8 (**Reboux, 2006**).

#### **III-3.4.4. Composition gazeuse (Oxygénation)**

La plupart des moisissures fonctionnent en aérobiose. Diminuer la pression partielle en oxygène, et surtout augmenter la teneur en CO<sub>2</sub>, inhibe significativement la production de toxines. Une augmentation de la teneur en CO<sub>2</sub> (20 %), en particulier lorsqu'elle est combinée à une diminution de l'oxygène, entraîne une forte baisse de la production d'aflatoxines. Après avoir été conservées dans un environnement confiné qui permet le développement plus ou moins des moisissures, leur exposition à l'air libre ou leur ventilation entraîne rapidement une intense production de toxines (**Nguyen Minh Tri, 2007**).

# **Partie 02: Partie Expérimentale**



## I. Matériel et méthodes

### I.1. Objectifs de l'expérimentation

Notre étude est basée sur les tests phytochimiques qualitatifs et l'évaluation de quelques activités biologiques (activité antibactérienne et antifongique) des graines d'orge. Nos tests ont été menés au sein des laboratoires pédagogiques du centre universitaire Abdelhafid Boussouf Mila et au laboratoire de Mycologie, de Biotechnologies et de l'activité Microbienne (La My BAM) de la faculté des sciences de la nature et de la vie -université des frères Mentouri-Constantine 1.

### I.2. Matériel

#### I.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal employé dans notre étude comprend une variété d'orge (Saida) récoltée à Chigara wilaya de Mila.

##### ➤ Description de variété Saida

Saida183 se distingue en tant qu'orge à 6 rangs, de type printemps, à paille haute, présentant une sensibilité à l'helminthosporiose. Elle trouve sa culture dans une variété d'environnements et représente 74% de la superficie allouée à la production de semences à l'échelle nationale (Boufenar et Zaghouna, 2004).

#### I.2.2. Matériel biologique

**Tableau 02** : Les souches bactériennes testées.

La souche	Gram	Référence
<i>Bacillus spizizini</i>	Positif	ATCC 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 25923
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 11303
<i>Salmonella typhimurium</i>	Négatif	ATCC 14028
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Négatif	ATCC 700603

- ✓ Les souches fongiques: *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp et une levure (*Candida albicans*).

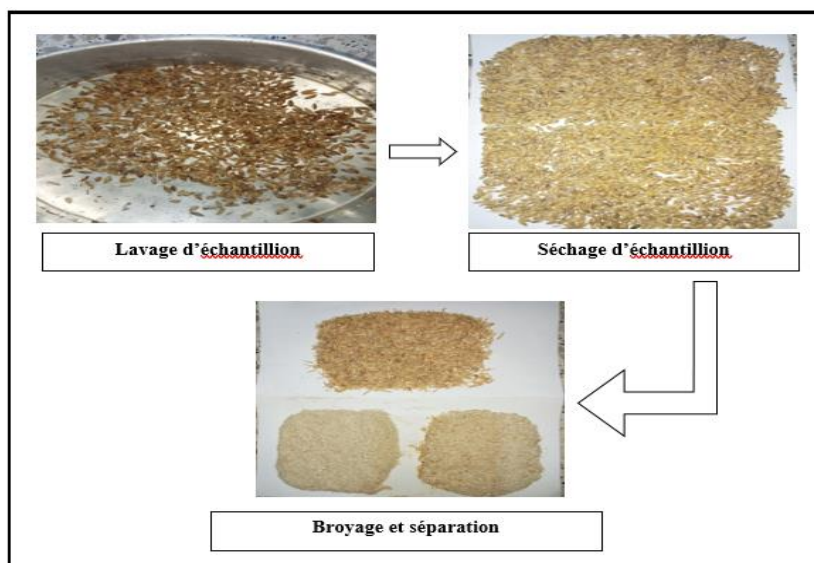
### I.3. Méthodes

#### ➤ Préparation de matériel végétal

La préparation des échantillons revêt une importance cruciale pour toute analyse fiable. Dans notre étude, les graines d'orge sont rincées à l'eau de robinet pour éliminer la poussière et toute matière collée sur ces derniers. Ensuite, elles sont étalées sur un morceau de tissu propre dans une chambre aérée à l'ombre à température ambiante pendant trois à quatre jours jusqu'au séchage

complet. A l'aide d'un moulin on a effectué un concassage qui nous a permit la separation les pericarpes de la poudre. Enfin on obtenue trois types de broyats :

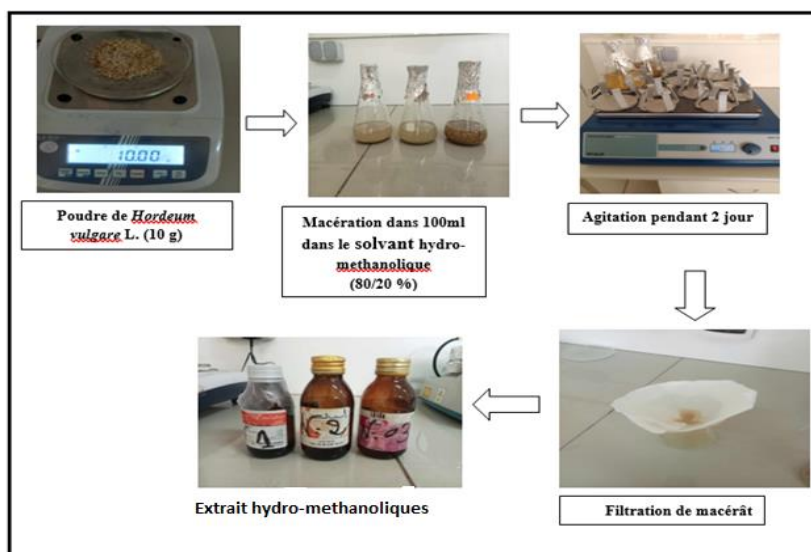
N°1- Poudre de graine nue      N°2-Péricarpes      N°3-Le mélange (graine avec péricarpes).



**Photo 01** : Protocole de preparation de materiel vegetal.

### ➤ Préparation des l'extraits hydro-méthanoliques

Pour l'extraction, 10 g de chaque partie de matériel végétal sec sont macérés dans des Erlenmeyers contenant un mélange de 100 ml de méthanol et d'eau (80/20 %) à l'obscurité, à température ambiante, et agités pendant 2 jours. Ensuite, le mélange est filtré à travers du papier filtre de type Whatman pour éviter toute dégradation des polyphénols et autres biomolécules sensibles à la lumière. Le filtrat est conservé dans un flacon opaque jusqu'à utilisation on a obtenu 3 extraits, (Extrait 1 : graine nue, Extrait 2 : péricarpes, Extrait 3 : graine avec péricarpes)



**Photo 02** : Protocole de preparation des extraits hydro-méthanoliques.

### I.3.1. Analyses qualitatives

L'analyse qualitative a été effectuée au niveau des laboratoires pédagogiques du centre universitaire Abdelhafid Boussouf Mila.

#### I.3.1.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique consiste à utiliser diverses techniques qualitatives pour repérer les différents groupes de substances chimiques présentes dans les organes végétaux. Ces méthodes déterminent la présence de substances chimiques par des réactions physico-chimiques. Plusieurs groupes de composés phytochimiques existent, mais le groupe principal inclut les polyphénols totaux, comme les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, les stérols, les terpènes, etc. (Lendvaiet *al.*, 2002).

##### ➤ Recherche des polyphénoliques

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure Ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ), à 2 ml de l'extrait, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% est ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols (Benmakhlouf *et al.*, 2022).

##### ➤ Recherche des tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant 1 ml de l'extrait méthanolique, 1ml d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de solution de  $\text{FeCl}_3$  diluée. L'apparition d'une coloration vert foncé ou bleu-vert indique la présence des tanins (Trease et Evans, 1987).

##### ➤ Recherche des flavonoïdes

On dissout 0.5g de NaOH dans 5ml d'eau (NaOH diluée), puis on dissout 1ml d'Hcl dans 2ml d'eau (Hcl diluée).

Le test d'hydroxyde de sodium pour les flavonoïdes : 2ml de l'extrait+0.5ml de NaOH diluée suivi par l'addition de 0.5 d'Hcl diluée. La formation d'une solution jaune avec le NaOH diluée qui se décolore avec l'Hcl diluée et une indication de la présence de flavonoids (Usman *et al.*, 2009)

##### ➤ Recherche des alcaloïdes

Test de précipitation du réactif de Wagner. On met 1 ml de l'extrait dans un tube à essai, puis on ajoute quelques gouttes de réactif de Wagner. La présence d'un précipité rouge orangé ou brun rougeâtre indique un test positif (Vijay *et al.*, 2013).

##### ➤ Recherche des terpénoïdes

Dans un tube à essai, 2,5 ml d'extrait de méthanol dans 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés. La formation d'un anneau brun rougeâtre en interphase indique la présence de terpénoïdes (Trease et Evans, 1987).

➤ **Recherche des anthraquinones**

Pour la détection des anthraquinones, à 10 ml d'extrait sont ajoutés 5 ml de NH<sub>4</sub>OH à (10%). Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones (**Oloyede, 2005**).

➤ **Recherche des glycosides**

Pour détecter ces molécules, un mélange constitué de 1 ml d'extrait, 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling est chauffé à 90°C dans un bain marie, un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

➤ **Recherche des quinones libres**

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (**Oloyde, 2005**).

➤ **Recherche des saponines**

La présence des saponines est mise en évidence par l'addition à 1ml de l'extrait plus 2ml d'eau distillé chaude et agité pendant 15 secondes le mélange est laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1 cm indique la présence de saponines (**N'Guessan et al., 2009**).

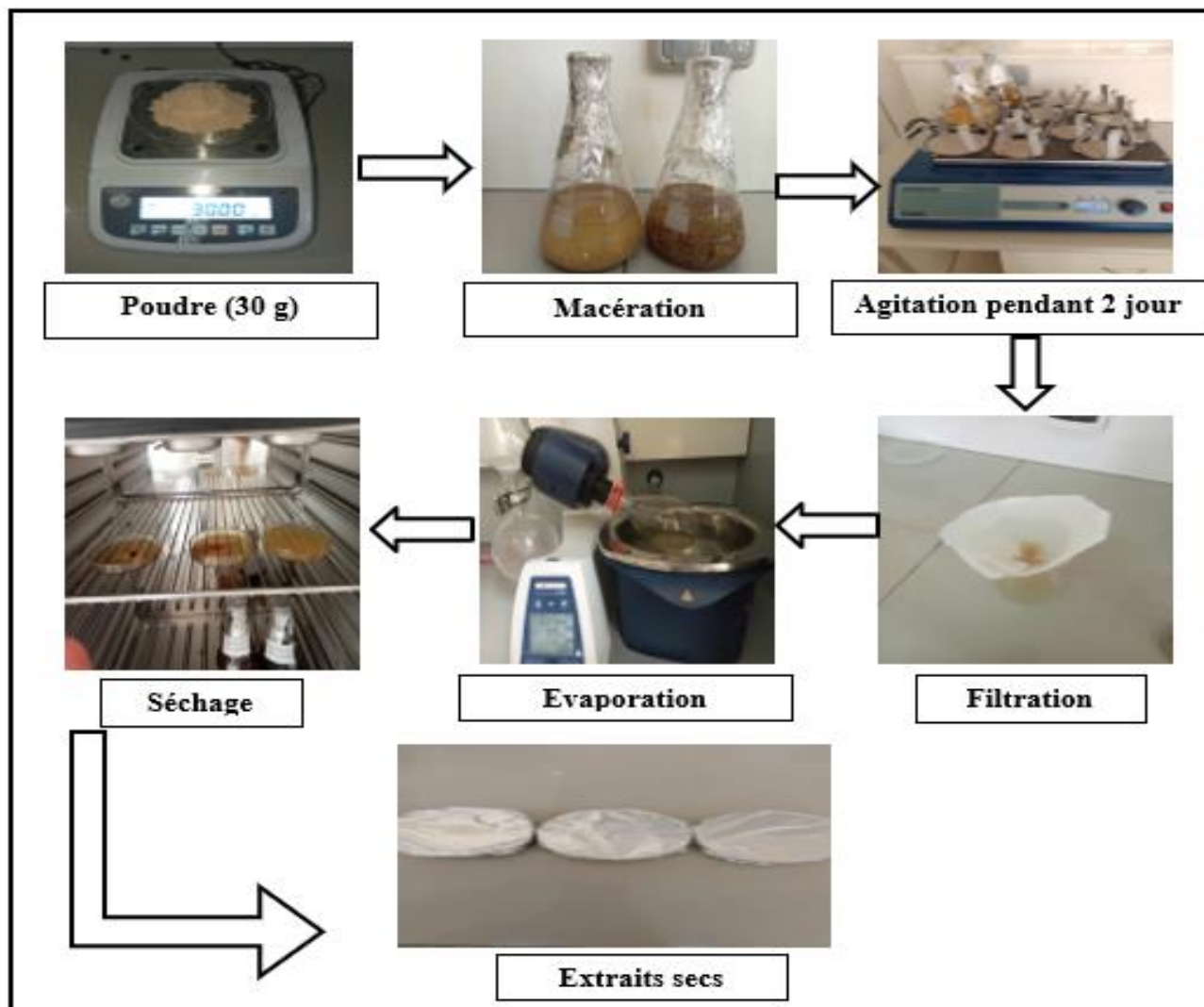
➤ **Recherche des anthocyanes**

La présence des anthocyanes dans un décocté ou un infusé est indiquée par une coloration rouge qui s'accroît par l'addition de HCl dilué et vire au bleu-violacé-verdâtre par l'ajout d'ammoniaque (**Wagner et Bladt, 1984**).

### **I.3.2. Analyses quantitatives**

➤ **Préparation des l'extrait hydro-méthanoliques secs**

Pour préparer l'extrait méthanolique, 30g de chaque partie de matière végétale est placée dans des erlenmeyers contenant un volume de 300ml de méthanol/eau (80/20%). Le mélange est macéré et agité continuellement à température ambiante pendant 2 jours. Ensuite, le produit obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre. L'extrait ainsi obtenu est évaporé à l'aide d'un rotavap, permettant ainsi l'élimination du solvant sous vide. Enfin, l'extrait est récupéré dans des boîtes de Petri en verre, puis séché dans l'étuve et conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation, on a obtenu 3 extraits (Extrait 1 : graine nue, Extrait 2 : péricarpes, Extrait 3 : graine avec péricarpes)



**Photo 03** : Protocole de préparation des l'extraits hydro- méthanoliques secs.

### I.3.2.1. Rendement en extrait sec

Le rendement de l'extrait sec se calcule en divisant la masse de l'extrait sec obtenue par la masse du matériel végétal séché utilisé. Selon l'équation suivante, on peut effectuer le calcul :

$$R(\%) = [(P1 - P0) / Pm] 100$$

**R%** : Rendement en %.

**P0** : poids de la boîte petri vide (g).

**P1** : poids de la boîte petri après évaporation du solvant (g).

**Pm** : poids de matériel végétale séché utilisé pour l'extraction (g).

### I.4. Etudes des activités biologiques

Cette partie l'expérimentale est effectuée au niveau de laboratoire de Mycologie, de Biotechnologies et de l'activité Microbienne (La My BAM) de la facultée des sciences de la nature et de la vie -université des frères Mentouri-Constantine 1.

### I.4.1. Activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne est réalisée sur des souches de références, (*Bacillus spizizini*) (ATCC 6633) ; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 11303) ; *Salmonella typhimurium* (ATCC14028) et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603).

Pour évaluer cette activité on a appliqué deux Techniques :

- ✓ Technique des disques.
- ✓ Technique des puits.
- **Préparation des Bactéries testées**

Les souches sélectionnées ont été revivifiées dans des tubes contenant 9 ml de bouillon nutritif « Nutrient broth » à l'aide d'une pipette Pasteur flambée et incubées à 37°C avant d'être utilisées dans les tests de l'activité.

A partir de chaque tube de BN mentionnant un trouble, nous avons ensemencé par stries une boîte de Pétri contenant la gélose nutritive (GN) puis incubées à 37°C pendant 18 heures.

- **Préparation des suspensions bactériennes**

Après incubation nous avons raclé à l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, puis nous avons déchargé la pipette dans des tubes à essai contenant 10ml d'eau physiologique stérile (0.9 % NaCl). La turbidité est ajustée à 0.5 Mac Farland.

- **Ensemencement**

La suspension bactérienne a été ensemencée à l'aide d'un écouvillon stérile sur des boîtes de Pétri contenant le milieu Muller Hinton (MH). L'écouvillon a été trempé dans la suspension bactérienne, puis il est essoré on le faire tournant sur la paroi interne de tube afin de le décharger au maximum. Le milieu MH a été frotté sur la totalité de leur surface gélosée de haut en bas, en stries serrés.

- **Technique des disques**

Avant de commencer la technique, des disques de 6 mm de diamètre sont préparés à partir du papier Wattman N°1, et stérilisés. Les boîtes contenant le milieu Muller-Hinton ont été ensemencées par les bactéries à l'aide d'un écouvillon à partir d'une suspension bactérienne équivalente à 0.5 Mac Farland. Ensuite, les disques en papier sont chargés par 10µl des différents extraits et séchés devant le bec, puis déposés sur la gélose. Les boîtes sont ensuite mises au réfrigérateur pendant 4h pour permettre la pré-diffusion des substances bioactives Tortorano et al., 1979) ; puis incubées à 37°C pendant 24 heures, les zones d'inhibitions sont mesurées, même s'ils sont de faible diamètre sont considéré comme résultat positif.

- **Technique des puits**

Cette technique consiste à perforer la gélose Muller-Hinton ensemencée avec la bactérie test de façon à obtenir des puits.

Des boîtes de pétri contenant une couche de gélose Mueller-Hinton sont préparées avec les bactéries tests. Après un séchage de 5 min, la gélose est perforée avec un cylindre en verre de 6 mm de diamètre stérile. Les puits préparés sont prêts pour recevoir un volume de 40µl du filtrat.

Les boîtes sont ensuite laissées à température ambiante pendant 30 minutes, puis incubées à 37 °C (Tortorano et al., 1979). La mesure des zones d'inhibition autour des puits est effectuée après 18 h à 24 h d'incubation.

**Tableau 03** : Sensibilité des souches bactériennes en fonction des zones d'inhibition (Benmakhlouf et al., 2022).

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	Diamètre < 8 mm
Sensible (+)	Diamètre compris entre 9 à 14mm
Très sensible (++)	Diamètre compris entre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible (+++)	Diamètre > 20 mm

#### 1.4.2. Activité antifongique

Ce test est effectué pour vérifier l'existence d'une éventuelle action inhibitrice des différents extraits de la plante (*Hordeum vulgare L.*) vis-à-vis de quatre champignons : *Fusariumoxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp* (Cattelan et al., 1999 ; Hariprasad et al., 2009 ; Sgroy et al., 2009) et une levure (*Candida albicans*).

L'activité antifongique des trois extraits testés à l'égard des souches fongiques citées ci-dessus a été réalisée in vitro par la technique des puits et par applications de différentes concentrations des extraits qui consiste à une diffusion des extraits dans le milieu de culture inoculé par les champignons étudiés à travers des puits.

L'inoculum est ajusté par numération des spores fongiques sur cellule de Malassez pour avoir une concentration cellulaire de 0.4 à 5 x 10<sup>6</sup> spore/ml. Après ensemencement des boîtes de pétri contenant de la gélose Sabouraud par écouvillonnage, les boîtes sont ensuite séchées à proximité du bec bunsen. Des puits de 6 mm de diamètre sont créés à l'aide d'une pipette pasteur sur la gélose préalablement ensemencée avec le champignon à tester. Ces derniers, sont ensuite remplis de 40µl des différentes concentrations de différents extraits. Ensuite, les boîtes sont laissées

pendant 15 à 20 minutes sous la haute à la température ambiante avant d'être mises à incuber dans une étuve à 27°C pendant cinq jours.

La lecture des résultats est assurée par la mesure de la zone d'inhibition (halo clair) au tour des puits de différentes concentrations (**Hayes et Ward, 1986**). Un control négatif a été lancé en parallèle à l'eau distillée. Dans la présente étude, tous les biotestes ont été répétés deux fois.



## II. Résultats et discussion

### II.1. Analyses qualitatives (Screening phytochimique)

- **Résultats**

L'analyse phytochimique a révélé la présence de métabolites secondaires dans les trois échantillons étudiés. La détection de ces composés repose sur des tests de solubilité, des réactions de précipitation et de turbidité, ainsi que sur un changement de couleur spécifique.

Les résultats des tests phytochimiques sont mentionnés dans le tableau 03 et les photos 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et 13.

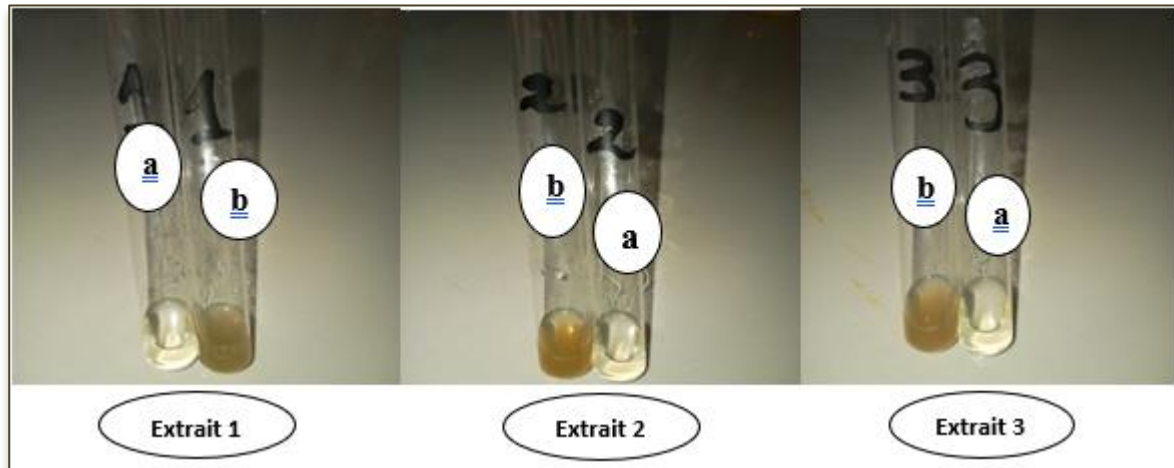
**Tableau04** : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les différents extraits hydro-méthanolique.

Test \ Extrait	Graine nue	Péricarpes	Mélange (Graine avec péricarpes)
Tannins	+	++	+
Alcaloïdes	+	+	+
Polyphénols	++	++	++
Quinones libres	+	++	+
Anthraquinone	-	-	-
Saponines	-	-	-
Tèrpenoïdes	++	+	++
Glucosides	+++	+++	+++
flavonoïdes	++	++	++
anthocyanes	-	-	-

(+++): Grande quantité ;(++) : Moyenne quantité ; (+) : Petite quantité ; (-) : Absence

#### ➤ **Tannins**

Les testes phétochimiques montrent que l'extrait 02 est plus riche en tanins que les deux autres extraits (01 et 03).



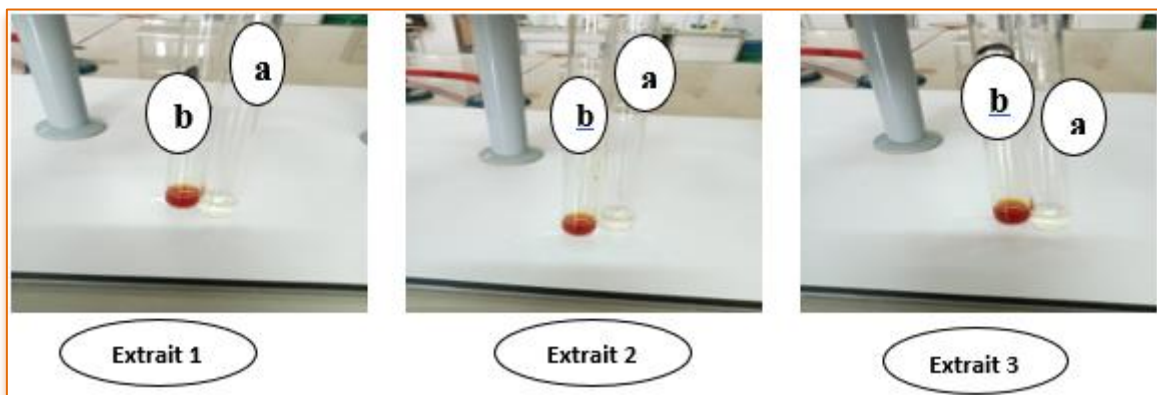
**Photo 04 :** Résultats des tests des tanins chez les trois extraits

**a : témoin; b: Extrait**

**Extrait 1 : graine nue, Extrait 2 : péricarpes, Extrait 3 : mélange (graine avec péricarpes)**

➤ **Alcaloïdes**

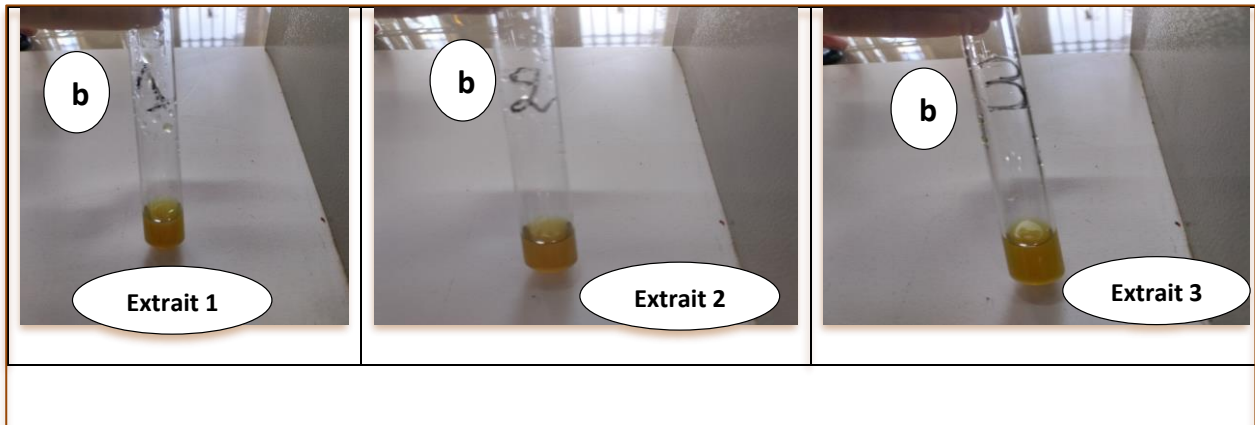
Concernant les tests phytochimiques des alcaloïdes réalisés pour les trois extraits, une coloration rouge orangé indique la présence des alcaloïdes.



**Photo 05 :** Résultats des tests des alcaloïdes chez les trois extraits

➤ **Polyphénols**

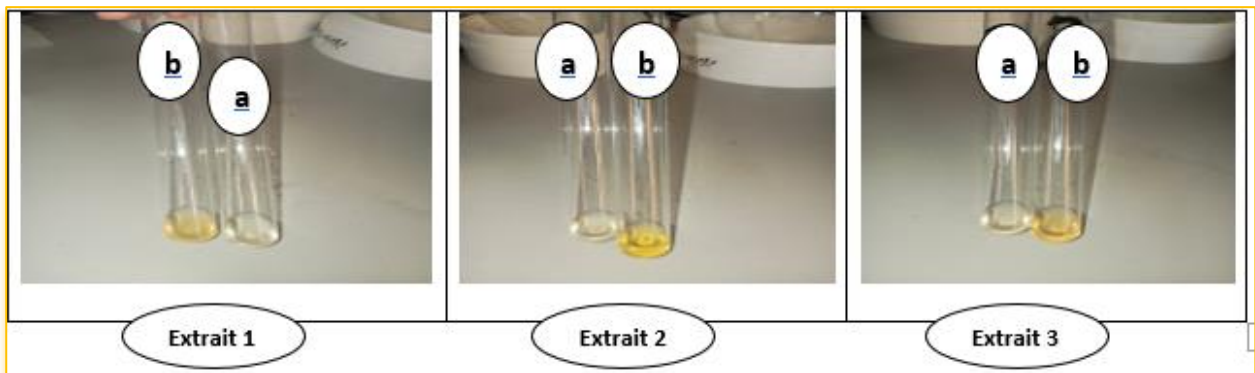
Les tests phytochimiques de polyphénole effectués pour les trois extraits d'orge, montrent une coloration verte qui indique la présence des polyphénols.



**Photo 06 :** Résultats des tests des Polyphénoles chez les trois extraits.

➤ **Quinones libres**

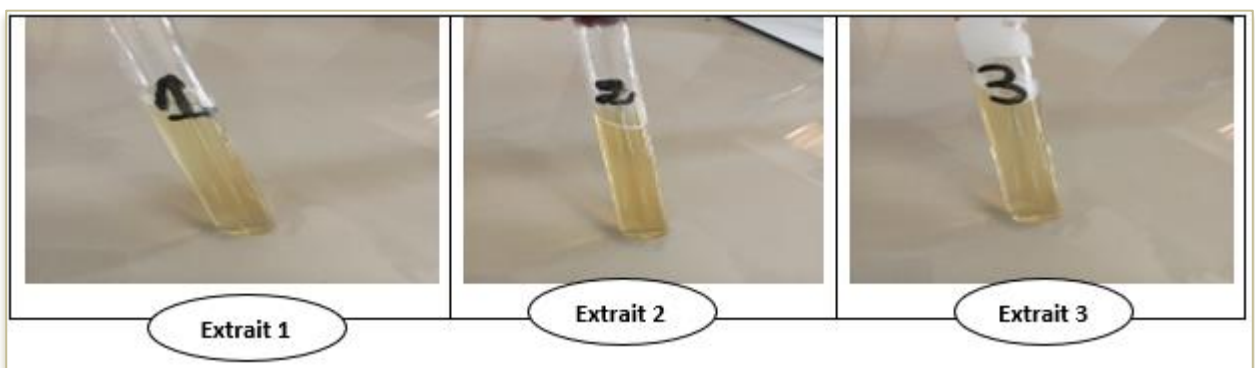
Les tests phytochimiques des quinones libres montrent que l'extrait 2 (pericarpe) est plus riche en quinones libres que les deux autres extraits 01 (graine nue) et 03 (mélange).



**Photo 07 :** Résultats des tests des quinones libres chez les trois extraits.

➤ **Anthraquinone**

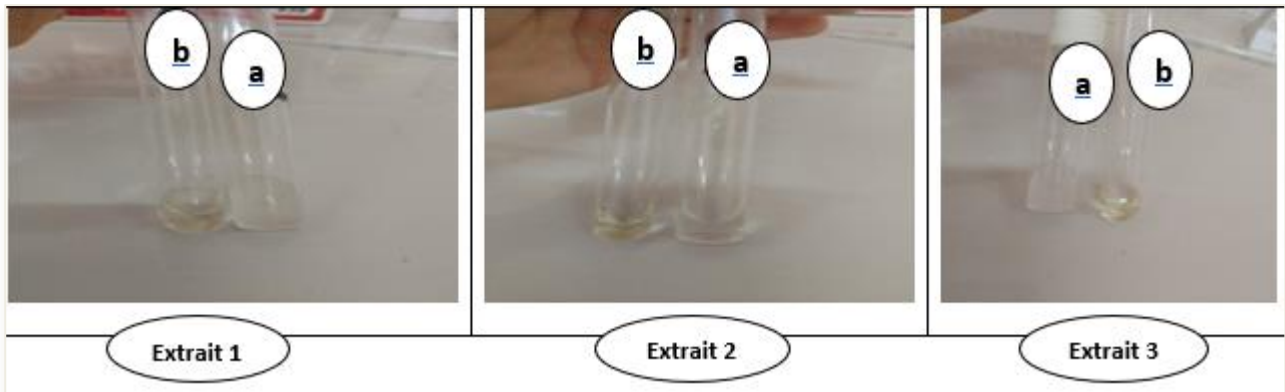
En ce qui concerne les tests phytochimiques d'anthraquinones l'absence d'un anneau rouge indique l'absence d'anthraquinones.



**Photo 08 :** Résultats des tests d'anthraquinones chez les trois extraits.

➤ **Saponines**

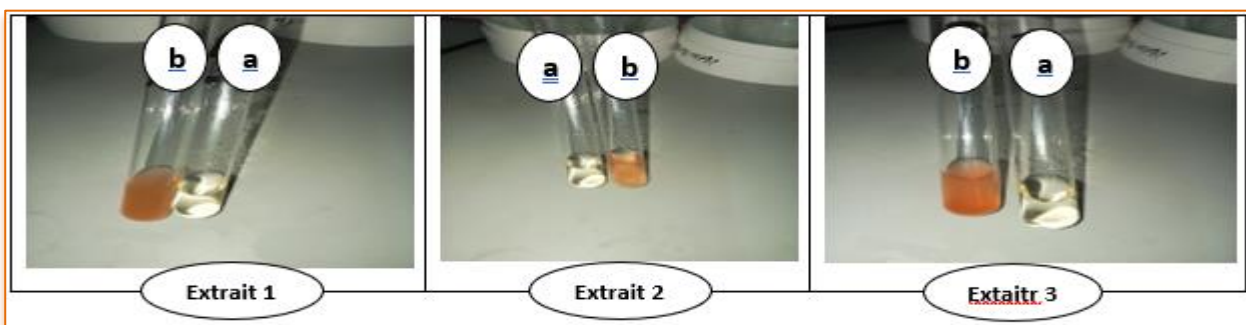
Pour les saponines on remarque l'absence des saponines dans les trois extraits.



**Photo 09 : Résultats des tests des saponines chez les trois extraits.**

➤ **Tèrpenoïdes**

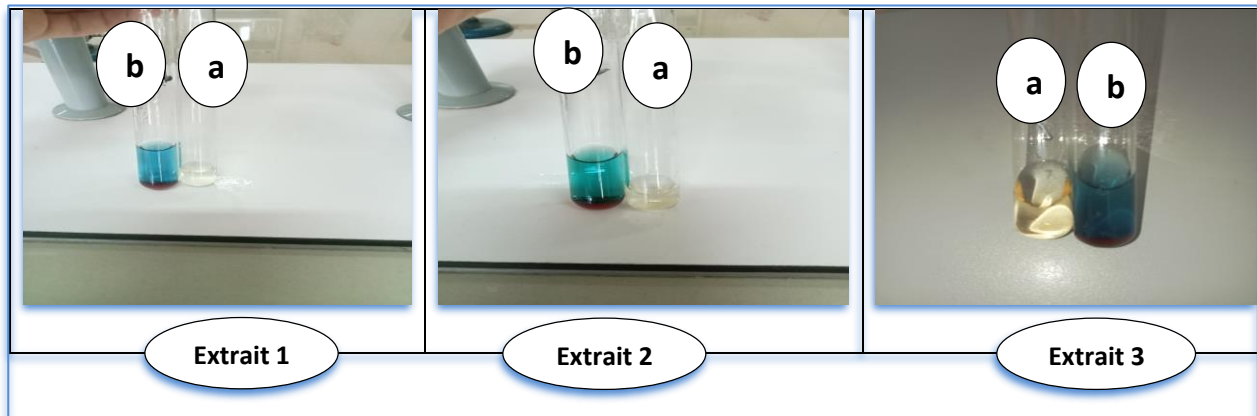
Concernant les tests des tèrpenoïdes on remarque que les extraits 03 (mélange) et 01 (graine nue) sont plus riche en tèrpenoïdes que l'autre extrait 02 (pericarpe).



**Photo 10 : Résultats des tests des tèrpenoïdes chez les trois extraits.**

➤ **Glucosides**

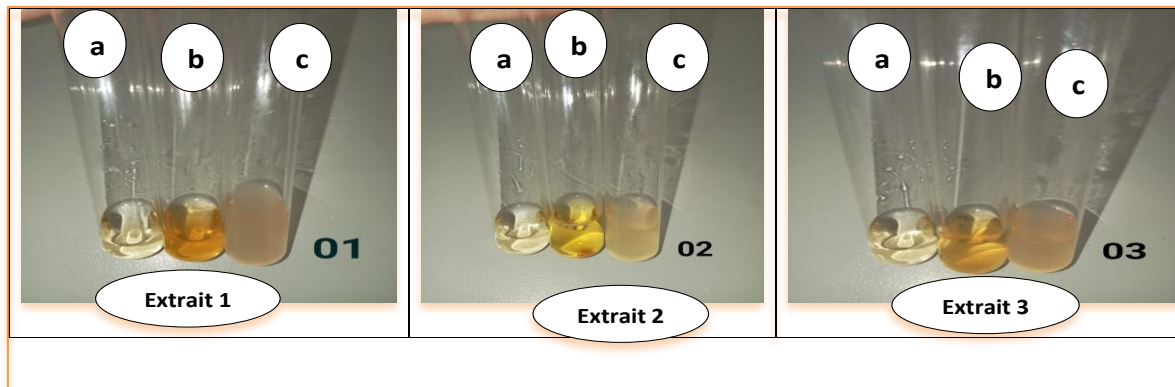
Concernant les tests des glucosides la formation d'un précipité rouge brique indique la présence des glucosides.



**Photo 11** : Résultats des tests des glucosides chez les trois extraits.

➤ **Flavonoïdes**

Les tests phytochimiques des flavonoïdes montrent que les trois extraits sont riches en flavonoïdes.

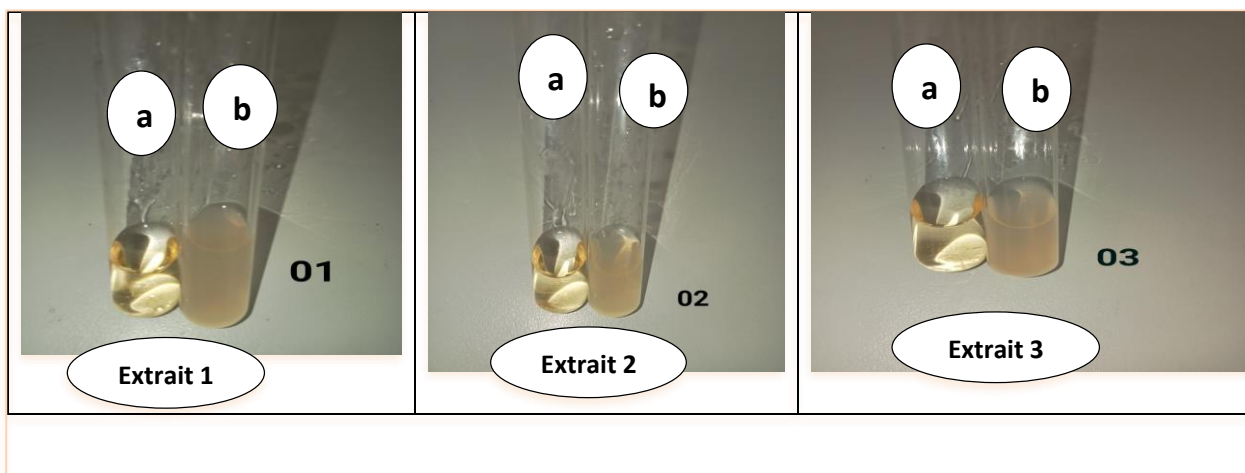


**a** : tube témoin ; **b**: tube avant l'ajout (Hcl) ; **c**: tube après l'ajout (Hcl)

**Photo 12** : Résultats des tests des flavonoïdes chez les trois extraits.

➤ **Anthocyanes**

Les résultats phytochimiques de ces tests montrent l'absence des anthocyanes pour les trois extraits.



**Photo 13** : Résultats des tests d'anthocyanes chez les trois extraits.

- **Discussion**

Les graines de *Hordeum vulgare L* possèdent une grande valeur nutritive grâce à leur richesse en composés bioactifs tels que les bêta-glucanes, les composés phénoliques, les antioxydants, les vitamines du complexe B, ainsi que les tocotriénols et les tocophérols (Ulfat et al., 2015).

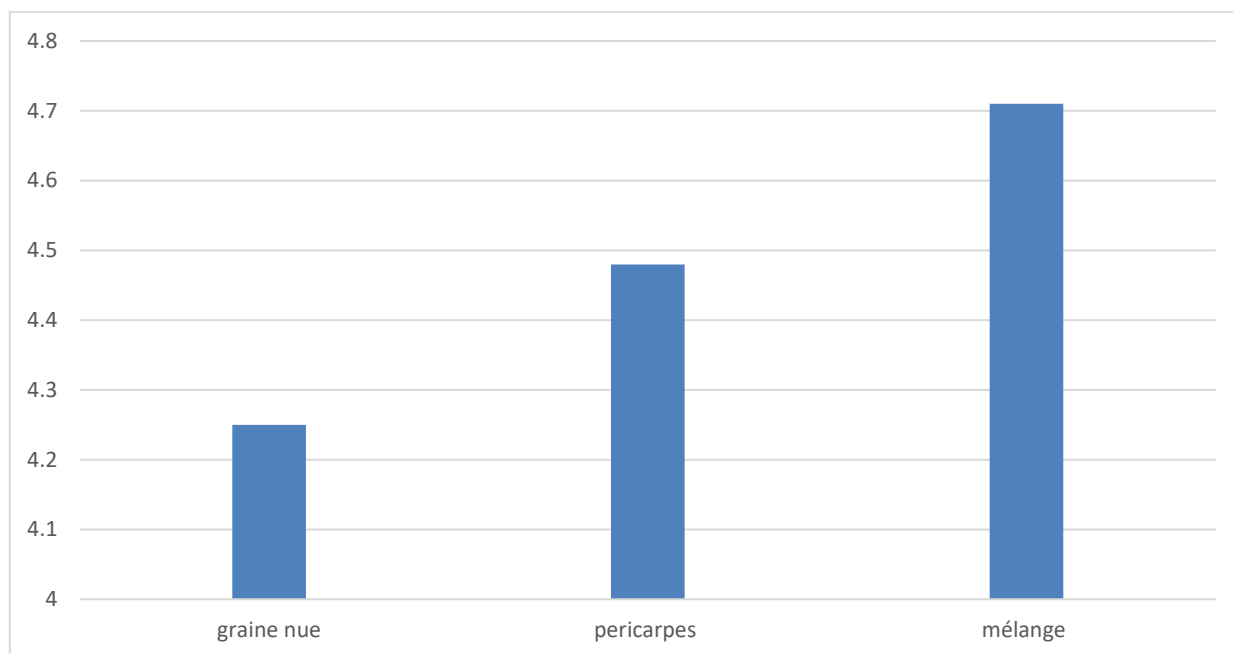
les résultats d'analyses phétochimiques réalisés dans notre étude montrent la présence des polyphénols, les quinones libres, les flavonoïdes, les glucosides, les alcaloïdes, les tanins, et les tèreptoïdes, et l'absence des saponines, des anthraquinons et des anthocyanes dans les différents extraits étudiés.

Les anthocyanes, des molécules instables, voient leur présence déterminée par l'acidité du milieu et les stades phénologiques de la plante. Ces composés sont rarement observés dans les tissus des végétaux à pleine maturité (Kyungmi et al., 2008).

Selon Kossar et al., (2022), les résultats de l'analyse phytochimique qualitative de la poudre brute de graines de *H. vulgare L*. ont été montré la présence d'alcaloïdes, de glycosides, de flavonoïdes, de stéroïdes, et de glucides, et l'absence des saponines.

## II-2. Rendement

Les résultats du rendement d'extraction des trois extraits d'orge obtenus après évaporation ont été déterminés par rapport au matériel végétal sec par le diagramme ci-dessous :



**Figure 11** : Rendement des trois extraits.

Nos résultats montrent que le meilleur rendement d'extraction est enregistré chez la graine avec pericarpes (extrait 3) dont le pourcentage atteint 4.71% tandis que le pourcentage le plus faible est noté chez la graine nue (extrait 1) avec un pourcentage de 4.25%.

Les études quantitatives et qualitatives sur les composés bioactifs d'extraits végétaux se basent essentiellement sur le choix d'une méthode d'extraction adéquate (Stalikas, 2007 ; Azmir et al., 2013 ; Do et al., 2014). L'efficacité de l'extraction est influencée par la nature chimique des composés phytochimiques, la méthode d'extraction employée, la taille des particules de l'échantillon, le solvant utilisé, ainsi que la présence de substances interférentes, avec des variations de polarité, de pH, de température, de durée d'extraction, la composition de l'échantillon (Do et al., 2014) et le nombre d'extractions répétées de l'échantillon (Brglez Mojzer et al., 2016).

### II-3. Activités biologiques

#### II-3.1. Activité antibactérienne

##### II-3.1.1. Méthode des disques

- Résultats

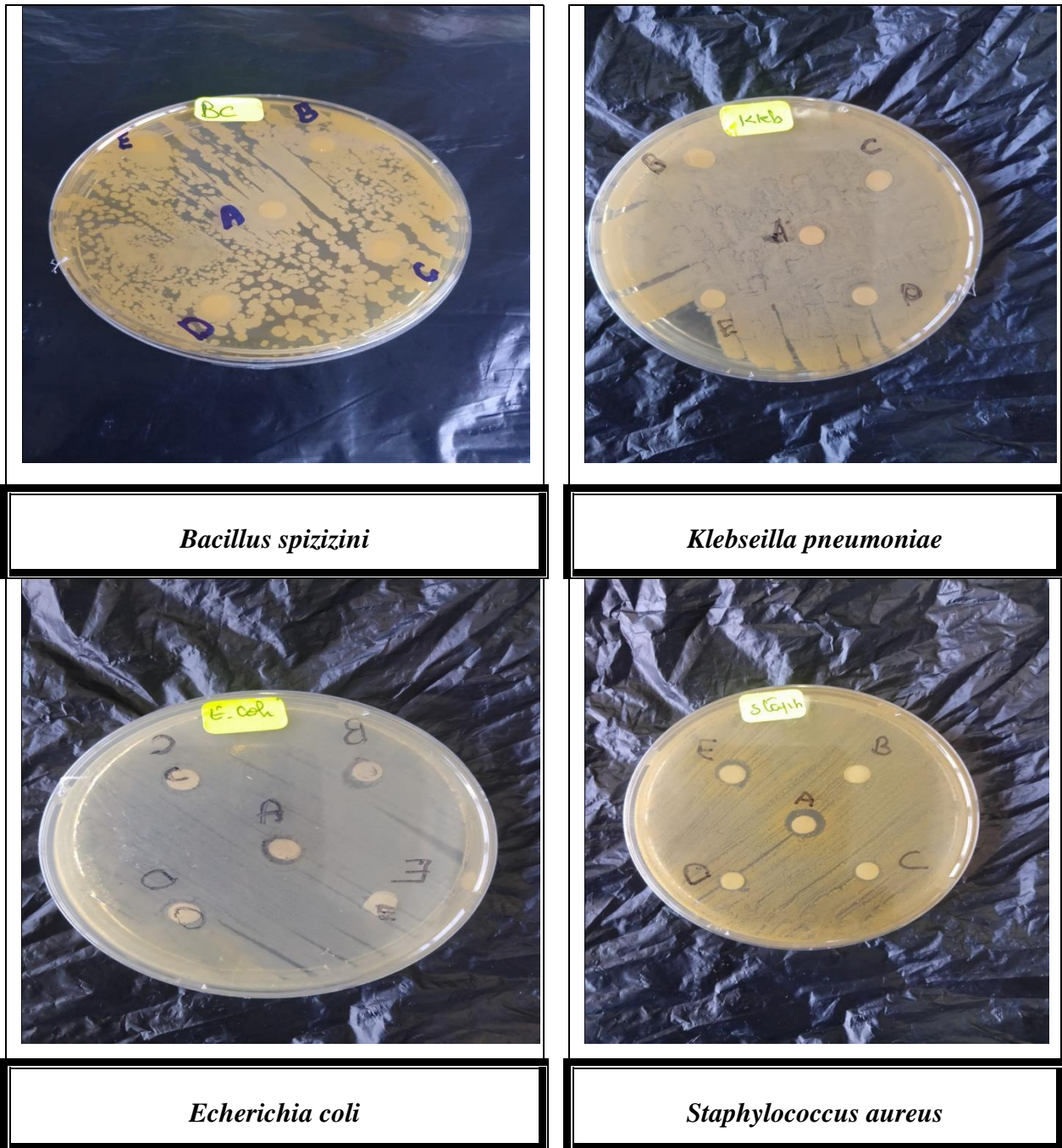
L'effet inhibiteur des extraits étudiés sur les différentes souches testées est déterminé par les zones d'inhibition. Les diamètres de ces zones sont enregistrés dans le tableau 04 et les figures 12, 13, 14.

**Tableau 05 :** Diamètres des zones d'inhibitions des trois extraits étudiés avec des différentes dilutions (methode des disques).

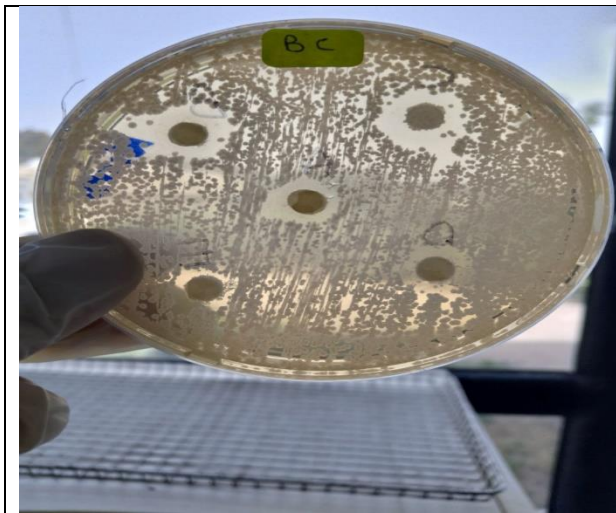
	La souche	Zones d'inhibitions en mm					
		100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml	12,5mg/ml	6.25mg/ml	La sensibilité
Graine nue	<i>E. coli</i>	8 ± 0	8 ± 0.35	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>K. pneumonia</i>	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>B. spizizini</i>	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>S. aureus</i>	11 ± 0.70	6 ± 0	6.5 ± 0.28	6.5 ± 0.14	8 ± 0.7	-
Péricarpes	<i>E. coli</i>	9 ± 0.91	6.5 ± 0.35	7 ± 0.7	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>K. pneumonia</i>	7 ± 0.7	6.5 ± 0.35	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>B. spizizini</i>	12 ± 0	14 ± 1.55	10 ± 0.07	14 ± 0.70	12 ± 0.35	+
	<i>S. aureus</i>	10 ± 0.07	11 ± 0.7	9 ± 0.14	8 ± 0	6 ± 0	+
Mélange (Graine)	<i>E. coli</i>	6.5 ± 0.35	6 ± 0	6.6 ± 0.28	6.3 ± 0.21	6 ± 0	-
	<i>K. pneumonia</i>	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>B. spizizini</i>	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>S. aureus</i>	10 ± 1.41	9 ± 0	7 ± 0.14	6,4 ± 0.28	8 ± 1.41	+

Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent que *B. spizizini* est la souche la plus sensible à l'extrait 2 (Péricarpes) avec les concentrations 50 mg /ml, 12.5 mg/ml, 100 mg/ml, 6.25 mg/ml et 25 mg/ml dont les valeurs du diamètre d'inhibition atteints (14, 14, 12, 12, 12 et 10) mm respectivement. *S. aureus* montre aussi une sensibilité au même extrait avec la concentration 50mg/ml et 100 mg/ml dont le diamètre d'inhibition est de (11 et 10) mm respectivement. Tandis que les trois extraits n'exercent aucun effet inhibiteur sur les autres souches testées.





**Figure 12 :** Aromatogrammes de l'extrait 01 (graine nue) à différentes concentration :  
A=100mg/ml, B=50mg/ml, C=25mg/ml, D=12.5mg/ml, E=6.25mg/ml.



*Bacillus spizizini*



*Klebsiella pneumoniae*

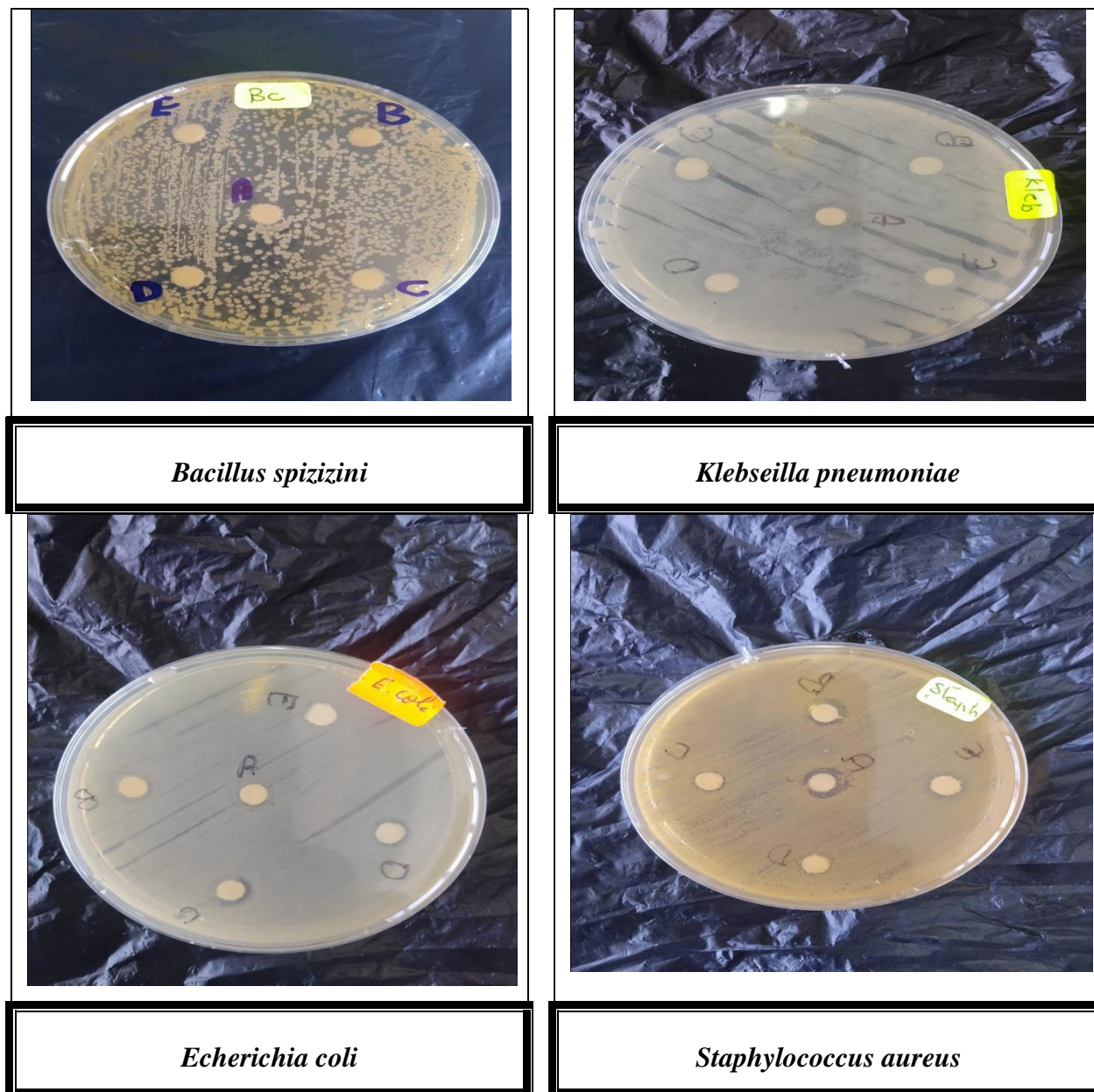


*Echerichia coli*



*Staphylococcus aureus*

**Figure 13 :** Aromatogrammes de l'extrait 02 (péricarpes) à différentes concentrations :  
 A=100mg/ml, B=50mg/ml, C=25mg/ml, D=12.5mg/ml, E=6.25mg/ml.



**Figure 14 :** Aromatogrammes de l'extrait 03 (mélange) à différentes concentration :  
 A=100mg/ml, B=50mg/ml, C=25mg/ml, D=12.5mg/ml, E=6.25mg/ml.

### II-3.1.2. Méthode des puits

- **Résultats**

En mesurant le périmètre de la zone d'inhibition la technique des puits nous permet d'enregistrer les résultats présentés dans le tableau (05) et les Figures 15, 16, 17.

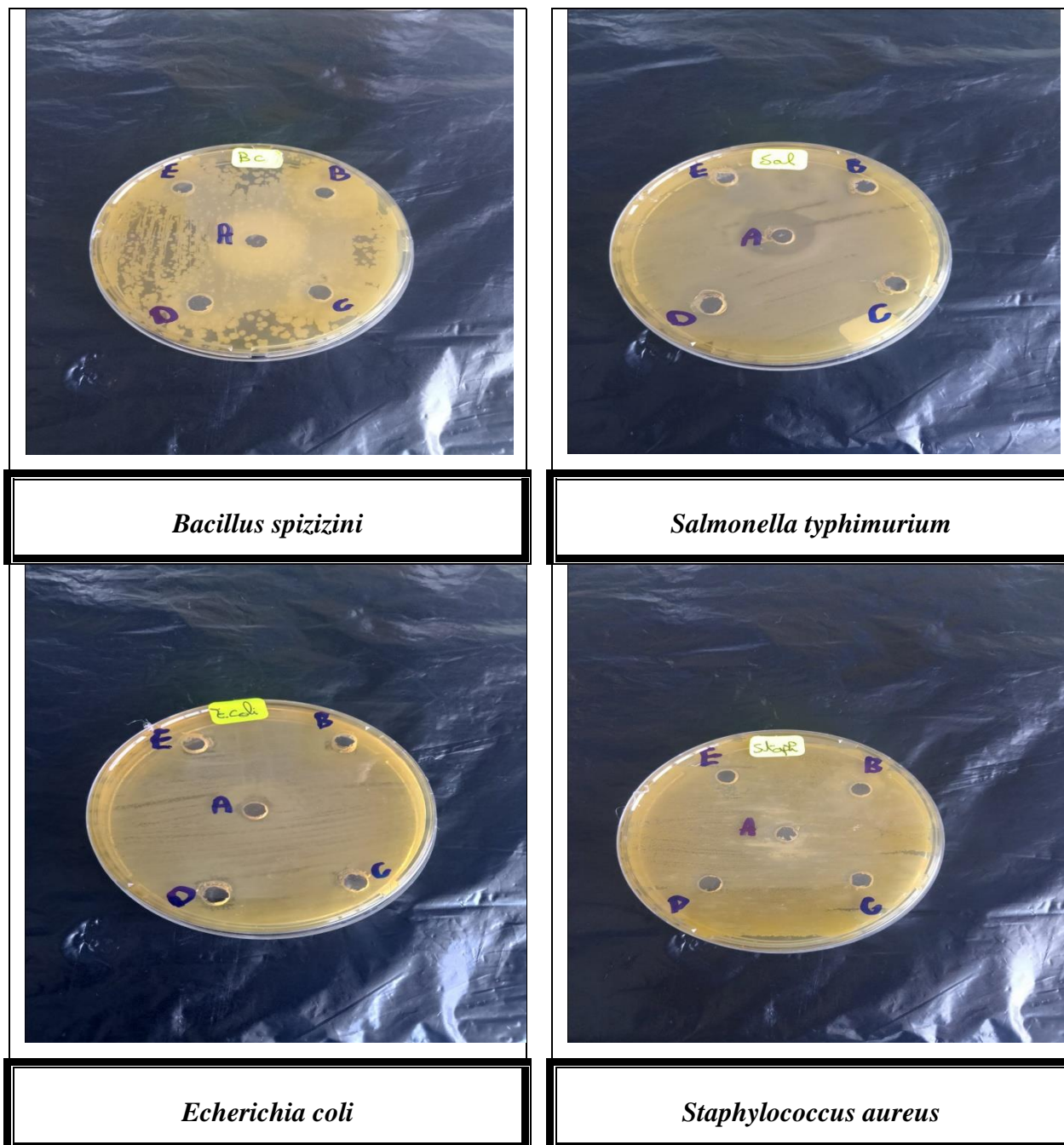
**Tableau 06** : Diamètres des zones d'inhibitions des trois extraits étudiés avec des différentes dilutions (méthode des puits)

	La souche	Zone d'inhibition en mm					
		100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml	12,5mg/ml	6,25mg/ml	La sensibilité
graine nue	<i>E. coli</i>	7 ± 0.70	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>B. spizizini</i>	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>S. aureus</i>	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>S. typhimurium</i>	19 ± 0.49	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	+
péricarpes	<i>E. coli</i>	6 ± 0	7 ± 0.63	8 ± 0.91	8.4 ± 1.48	7 ± 0.28	-
	<i>B. spizizini</i>	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>S. aureus</i>	23 ± 1.76	16 ± 0.98	16 ± 0.56	24 ± 1.41	12 ± 1.62	+
	<i>S. typhimurium</i>	21 ± 0.63	23 ± 2.12	19 ± 0.56	19 ± 0.42	6 ± 0	+
mélange	<i>E. coli</i>	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>B. spizizini</i>	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>S. aureus</i>	15 ± 0.7	11 ± 2.12	8 ± 0	10 ± 0.7	6 ± 0	+
	<i>S. typhimurium</i>	23 ± 0.7	13 ± 0.49	18 ± 0.91	17 ± 1.13	13 ± 1.48	+

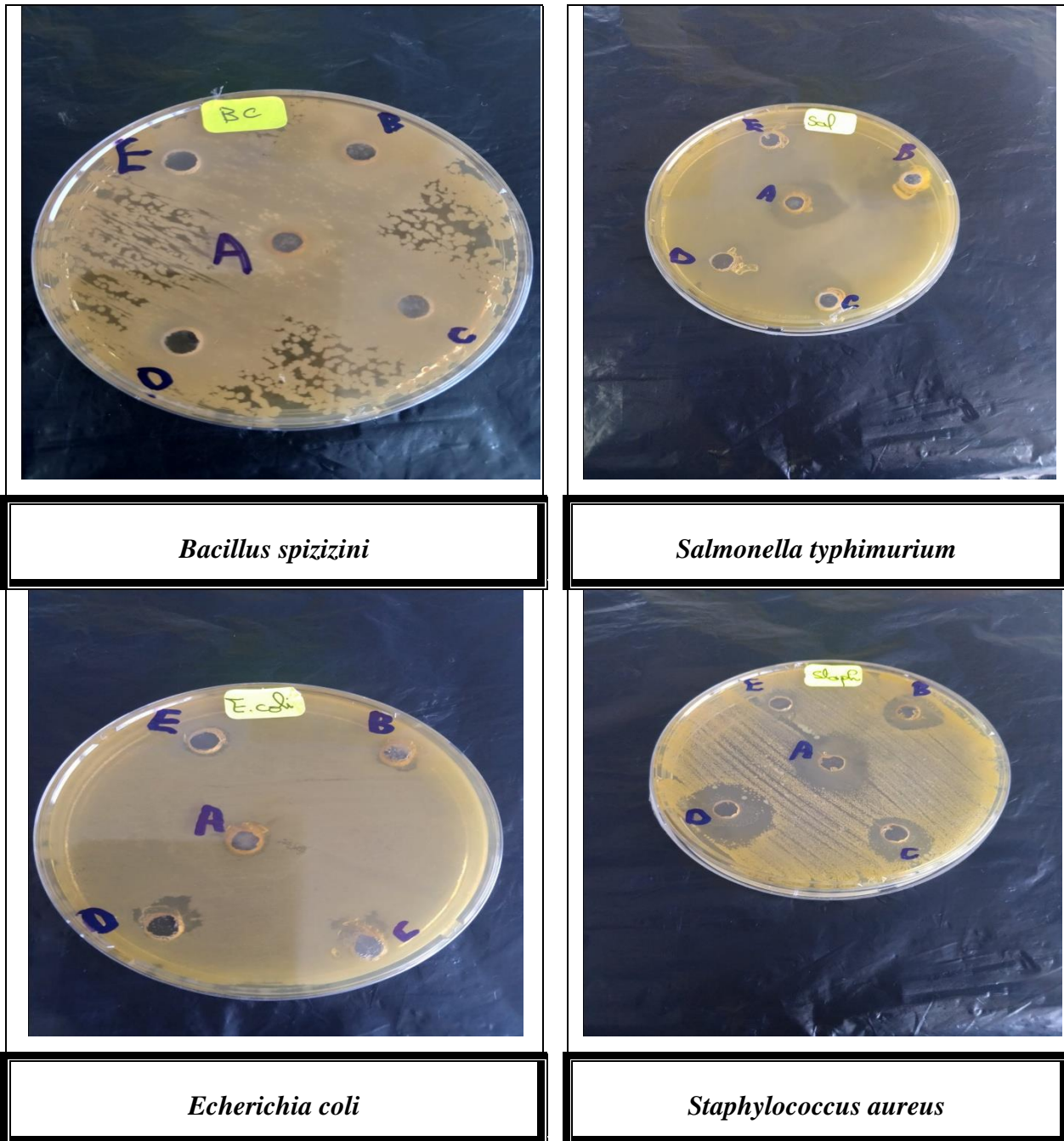
Avec la méthode des puits, on a constaté que la souche *S. aureus* montre une sensibilité extrême à l'extrait 2 (Péricarpes) dont les diamètres d'inhibitions atteints 24 mm et 23 mm pour les concentrations 12.5 mg/ml et 100 mg/ml respectivement. La même souche avec le même extrait enregistre une très grande sensibilité avec des zones d'inhibitions de 16 mm pour les deux concentrations 50 et 25 mg/ml d'extrait. Cette dernière montre aussi une très grande sensibilité à l'extrait 3 (graine + péricarpes) dont les diamètres sont de 15 mm avec la concentration 100 mg/ml d'extrait et elle demeure sensible avec la concentration 50 mg/ml ou le diamètre est de 11 mm. Pour l'extrait 1 (graine nue) la sensibilité de cette souche est nulle. Pour les deux souches, *E. coli* et *B. spizizini* les trois extraits avec leur différentes concentrations ne montrent aucun effet inhibiteur.

Pour la souche, *S. typhimurium* l'effet inhibiteur est exercé par les trois extraits avec des proportions différentes. La sensibilité extrême de cette bactérie est marquée pour l'extrait 2 avec les concentrations (100, 50, 25 et 12.5) mg/ml dont les diamètres atteints (21, 23, 19, 19) mm

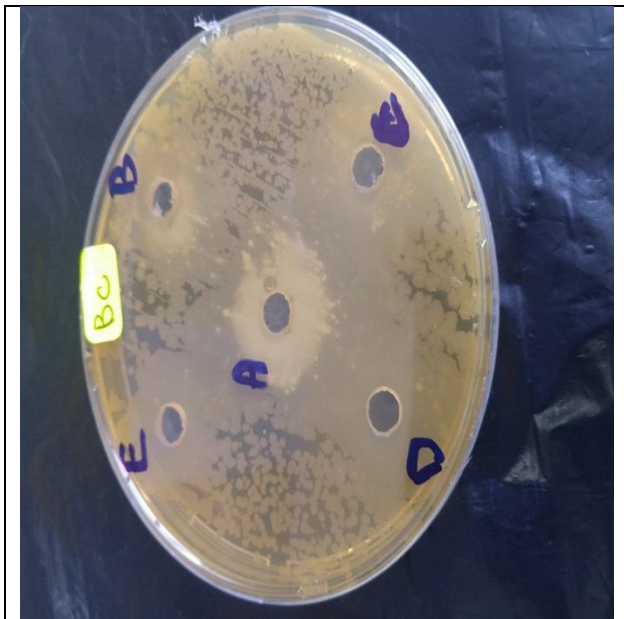
respectivement. Alors que la sensibilité extrême est notée pour la concentration 100 mg/ ml des deux l'extraits 3 et 1 dont les diametres d'inhibitions sont (23 et 19) mm respectivement. Cette dernnière demeure très sensible à l'extrait 3 avec les concentrations (25 et 12.5) mg/ml d'extrait avec des diametres de (18 et 17) mm respectivement et elle reste sensible au meme extrait avec les concentrations (50 et 6.25) mg/ml avec des dimetres de 13 mm.



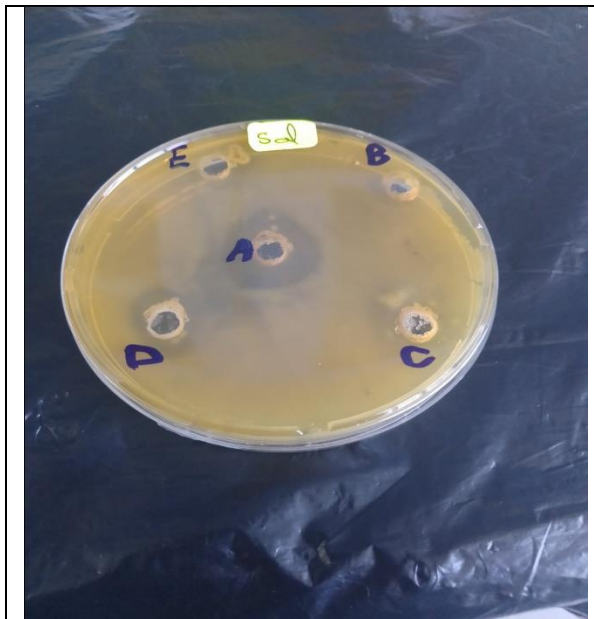
**Figure 15 :** Aromatogrammes de l'extrait 01 (graine nue) à différentes concentration :  
A=100mg/ml, B=50mg/ml, C=25mg/ml, D=12.5mg/ml, E=6.25mg/ml.



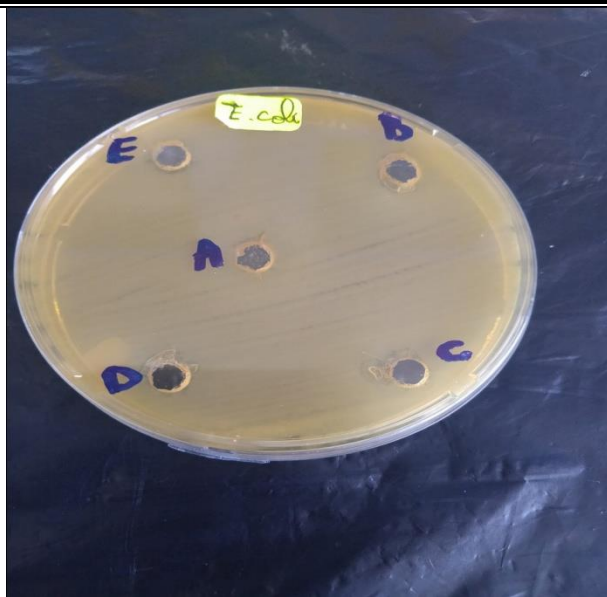
**Figure 16** : Aromatogrammes de l'extrait 02 (Péricarpes) à différentes concentration :  
A=100mg/ml, B=50mg/ml, C=25mg/ml, D=12.5mg/ml, E=6.25mg/ml.



*Bacillus spizizini*



*Salmonella typhimurium*



*Echerichia coli*



*Staphylococcus aureus*

**Figure 17 :** Aromatogrammes de l'extrait 03 (mélange) à différentes concentration :  
 A=100mg/ml, B=50mg/ml, C=25mg/ml, D=12.5mg/ml, E=6.25mg/ml.

- **Discussion**

À partir de nos résultats, il semble que les extraits des différentes parties de graines d'orge ont une certaine efficacité antibactérienne, mais cette efficacité varie en fonction de la partie de graine, de la concentration de l'extrait et de la souche bactérienne testée.

Nos résultats sont analogues à ceux menés par Nepal et ses collègues (2018) qui ont rapporté que l'effet antimicrobien de l'orge à enregistré, des zones d'inhibition de 20.5 mm contre *S. typhi* de 24.45 mm contre *S. aureus* et de 22.5 mm contre *E. coli*. Cet effet est attribué à la richesse de l'orge en molécules bioactives.

Selon les résultats de **Katarrzyna et ses collaborateurs (2007)** ainsi que celles de **Harikrishna et al. (2004)**, l'activité antibactérienne d'un flavonoïde glycoside (prunin 6'-O-p coumarate) a été mise en évidence contre deux souches de bactéries Gram positif (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus albus*) et deux bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*).

### **II-3. 2. Activité antifongique**

- **Résultats**

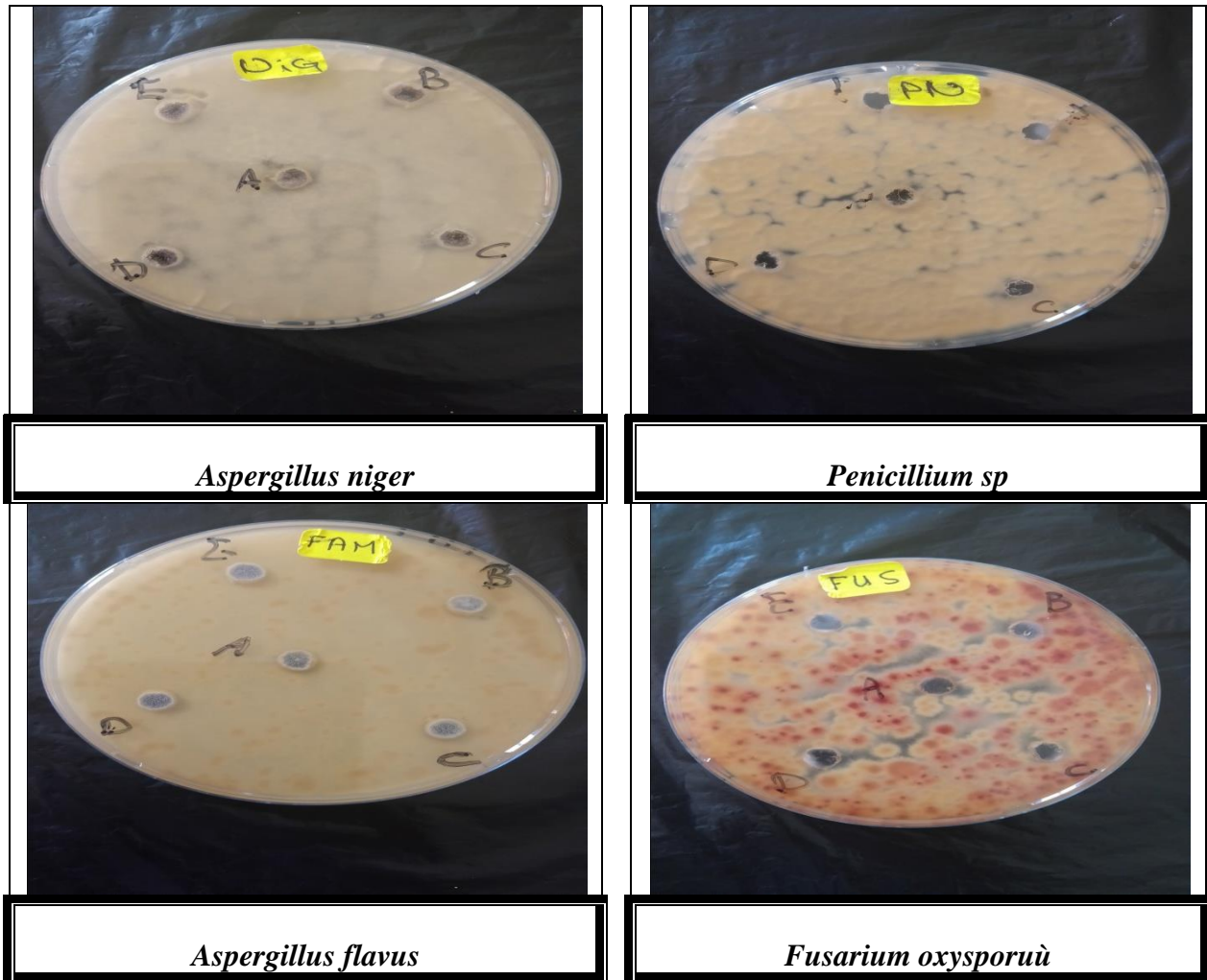
#### **II-3.2.1. Champignons filamenteux**

L'activité antifongique des 3 extraits de graines d'*Hordeum vulgare L* a été évaluée par la méthode de diffusion en puits en milieu gélose. Les souches fongiques testées incluaient *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* *Penicillium sp.* Une dose standardisée de 40 µl de chaque extrait a été appliquée.

Les résultats de notre étude indiquent que les extraits testés ont un effet faible sur les souches fongiques testées (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp.*).

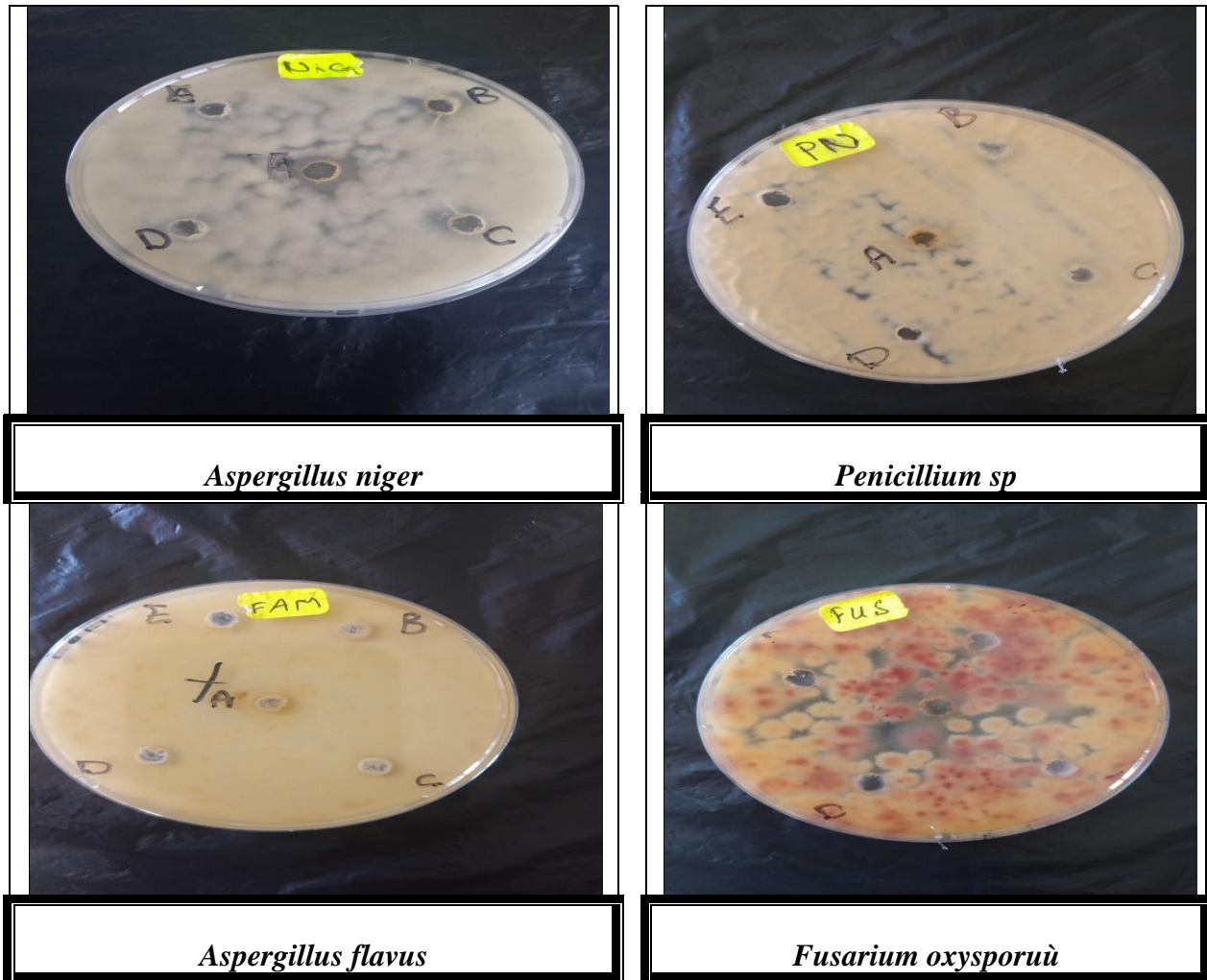
La présence d'une zone inhibitrice autour des souches testées reflète la sensibilité du champignon cible (Figures 18,19,20). Les diamètres des zones d'inhibition sont présentés sur le tableau 06.





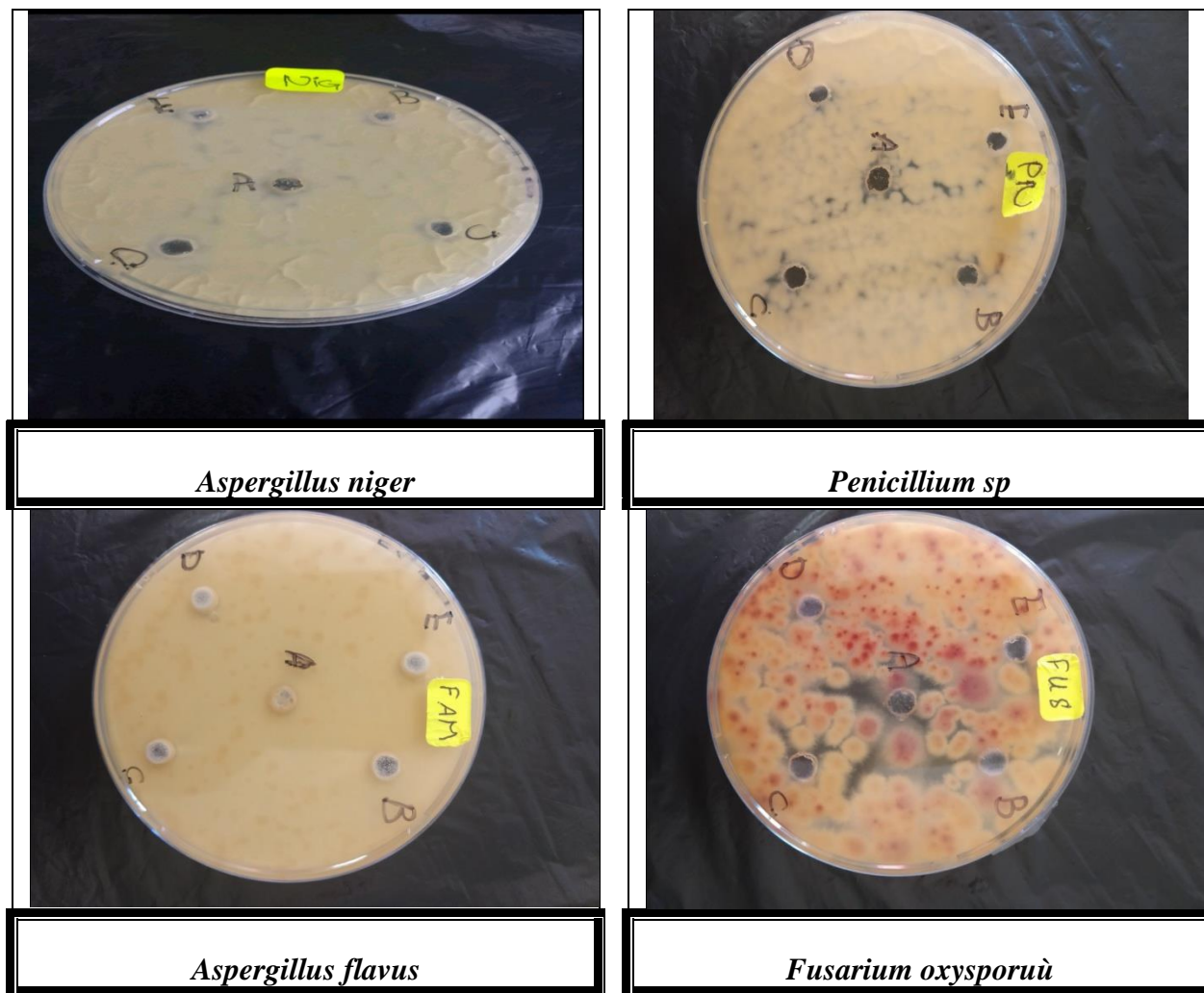
**Figure 18 :** Aromatogrammes de l'extrait 01 (graine nue) à différentes concentration :

A=100mg/ml, B=50mg/ml, C=25mg/ml, D=12.5mg/ml, E=6.25mg/ml.



**Figure 19 :** Aromatogrammes de l'extrait 02 (Péricarpes) à différentes concentration :

A=100mg/ml, B=50mg/ml, C=25mg/ml, D=12.5mg/ml, E=6.25mg/ml.



**Figure 20 :** Aromatogrammes de l'extrait 03 (mélange) à différentes concentrations :

A=100mg/ml, B=50mg/ml, C=25mg/ml, D=12.5mg/ml, E=6.25mg/ml.

D'après ces résultats illustrés sur les figures 18,19,20, seul le champignon *Fusarium oxysporum* était sensible et uniquement à l'extrait 1. Ce dernier a montré une action anti-*Fusarium* moyenne, avec une zone d'inhibition mesurant 12 mm de diamètre. Par ailleurs, aucune activité n'a été observée contre les 3 champignons *Aspergillus niger* ; *Aspergillus flavus* et *Penicillium sp.* L'absence d'une zone claire autour des puits révèle la résistance de ces moisissures vis-à-vis les extraits testés.

Un effet antifongique modéré de l'extrait 2 est observé contre *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger* avec un diamètre de 12 et 15mm respectivement. Par ailleurs, aucune activité n'a été observée contre les 2 champignons ; *Aspergillus flavus* et *Penicillium sp.*

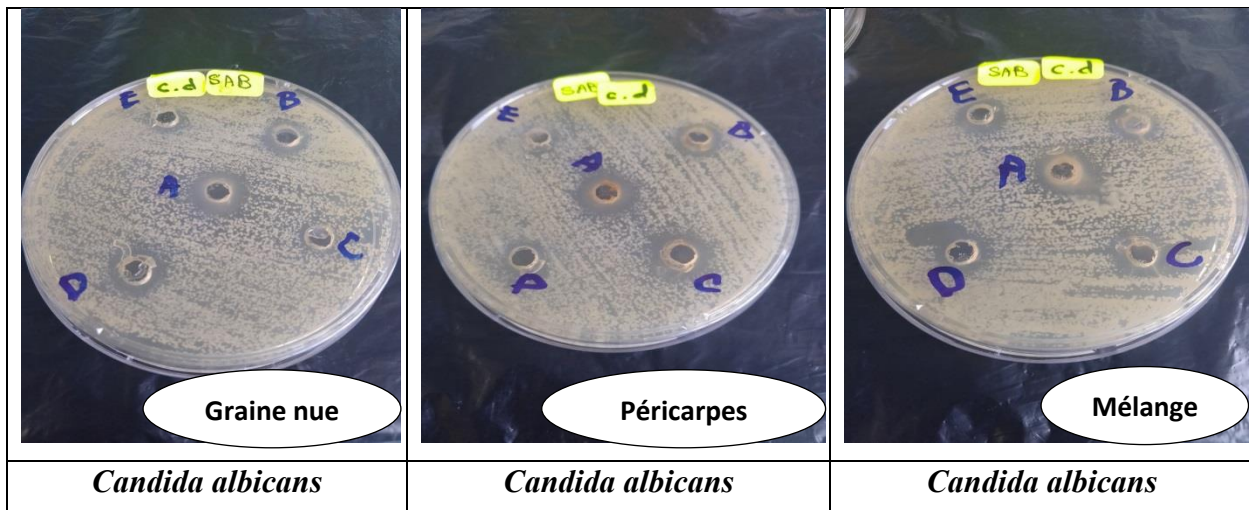
Le test de l'effet antifongique a montré que l'extrait 3 a inhibé la croissance de *Fusarium oxysporum* et *Penicillium sp.* L'activité de l'extrait 3 contre *F. oxysporum* a manifesté une zone d'inhibition de 12mm de diamètre suivi par *Penicillium sp* avec un diamètre de 13mm.

### II-3.2.2. Levure *Candida albicans*

Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent que les trois extraits testés exercent un effet inhibiteur sur la croissance de la levure *Candida albicans* (Figure 21) dont l'activité la plus forte a été enregistrée avec l'extrait 3 avec un diamètre d'inhibition de 20mm (tableau 06).

**Tableau 07 :** Diamètres de la zone d'inhibition des trois extraits des graines d'*Hordeum vulgare* L vis-à-vis les champignons testés.

	Souche	Zone d'inhibition en mm					
		100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml	12,5mg/ml	6,25mg/ml	La sensibilité
Graine nue	<i>NIG</i>	10± 0.14	7 ±0.07	8 ± 0.14	9 ±0.28	6 ± 0	+
	<i>PN</i>	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>FAM</i>	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0	-
	<i>FUS</i>	10± 0.21	10± 0.28	12±0.35	10±0.21	9±0.21	+
	<i>CD</i>	14±0	15±0.21	11±0.35	14±0.21	10±0	+
Péricarpes	<i>NIG</i>	15±0.35	12±0.42	15±0.14	10±0	12±0.14	+
	<i>PN</i>	6±0	6±0	6±0	6±0	6±0	-
	<i>FAM</i>	6± 0	6±0	6.5±0.35	6±0	6±0	-
	<i>FUS</i>	12±0	10±0	9±0.21	10±0.14	11±0.35	+
	<i>CD</i>	17±0.28	16±0.35	16±0.07	17±0.77	15±0.21	+
Mélange	<i>NIG</i>	7±0.07	6±0	6±0	6±0	8±0.14	-
	<i>PN</i>	10±0	7±0.07	8±0.14	13±0.56	6±0	+
	<i>FAM</i>	6±0	6±0	6±0	6±0	6±0	-
	<i>FUS</i>	12±0.12	6±0	8±0	8±0.07	6.5±0.35	+
	<i>CD</i>	20±0.35	16±0.21	14±0	20±0.49	15±0.14	+



**Figure 21** : Ar : omatogrammes des trois extraits à défférentes concentration : A=100mg/ml, B=50mg/ml, C=25mg/ml, D=12.5mg/ml, E=6.25mg/ml.

- **Discussion**

Selon les études de (Chaib et al., 2015) l'examen macroscopique des mycètes des genres *Aspergillus niger* et *Penicillium sp* sur différents milieux de culture de PDA avec les extraits polyphénoliques des deux céréales montre une croissance plus importante chez *Aspergillus niger* que chez *Penicillium sp*. Les vitesses de croissance de *Penicillium sp* sur les extraits phénoliques des six variétés de blé tendre et d'orge se rapprochent de celles de leur homologue témoin. La différence n'est pas significative.

# **Conclusion**

### Conclusion et perspectives

Les céréales ont été essentielles dans l'alimentation humaine et animale depuis l'Antiquité, fournissant des nutriments vitaux et soutenant l'économie agricole des anciennes civilisations. Plus récemment, des céréales comme l'orge et le blé ont révélé des propriétés médicinales grâce à des composés comme les vitamines et les minéraux, montrant des effets antibactériens et antifongiques. Ces découvertes ouvrent de nouvelles perspectives pour le développement de traitements médicaux et d'antibiotiques naturels.

L'étude phytochimique réalisée sur les différentes parties de graines d'orge montrent une richesse en molécules bioactives qui sont les composés phénoliques tels que l'acide phénolique, les flavonoïdes, les quinones libres, les alcaloïdes, les glucosides, les tanins et les terpénoïdes, et l'absence des antraquinones et des saponines et des anthocyanes.

Ces dernières années, l'intérêt pour l'étude des activités biologiques comme l'activité antibactérienne et antifongique des grains d'orge a considérablement augmenté en raison de leur potentiel pharmacologique.

Pour notre travail, l'évaluation qualitative de l'effet antibactérien montre que l'extrait hydro-méthanolique 2 (péricarpes) et l'extrait 3 (graine avec péricarpes) exercent une meilleure activité inhibitrice sur les deux souches bactériennes testées (*S. aureus* et *S. typhimurium*) avec des zones d'inhibition variables. Cependant, l'effet inhibiteur observé sur ces deux souches avec des diamètres entre (12 et 23) mm des trois extraits serait d'un grand intérêt car ces deux souches sont naturellement résistantes aux antibiotiques et aux extraits végétaux.

Nos tests sur les souches fongiques montrent des variations intéressantes en fonction de la souche fongique, de la nature et la concentration des extraits hydro-méthanoliques testés. Les résultats indiquent que les extraits testés ont un effet faible sur les souches fongiques testées (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp.*). Alors que les trois extraits exercent un effet inhibiteur sur la croissance de la levure *Candida albicans* dont l'activité la plus forte a été enregistrée avec l'extrait 3 avec un diamètre d'inhibition de 20mm.

En fin de compte, on peut classer l'orge non seulement comme une plante utilisée comme alimentation, mais aussi comme une plante médicinale.

Les résultats de cette étude ne représentent qu'un point de départ pour des recherches plus poussées à l'avenir, peut :

- Explorer d'autres activités biologiques.
- Comparer les conclusions de cette étude à celles d'autres céréales ainsi qu'à celles de plantes médicinales.

- Explorer des applications cliniques potentielles des extraits d'orge dans le domaine médicinal.
- Optimiser des méthodes d'extractions.



# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

### A

1. **Alban, G .2016.** Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Thèse de doctorat. Univ.Bordeaux.15-17p.
2. **Atlas, R. M. (2010).** Handbook of Microbiological Media (4th ed.). CRC Press.Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). Microbiology: A Laboratory Manual (10th ed.). Pearson.
3. **Al-Dakheel, A. J., Fraj, M. B., Shabbir, G. M., & Al Gailani, A. Q. M. (2012).** <Evaluation of Batini barley landraces from Oman and breeding lines under various irrigation salinity levels. Agricultural Science Research Journal.2(1), Pp 42-50.

### B

4. **Badiaga, M. (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali (Doctoral dissertation).
5. **Baik, B.-k., & Ulrich, S. E. (2008).** Barley for food: characteristics, improvement and renewed interest. Journal of cereal science. 48: 233-242.
6. **Benmakhlouf, Z., Bouassaba, K., Kellab, R. (2022).** Phytochemical Constituents and Anticoagulant Activities of *Trigonella Foenum Graecum* L. and *Cinnamomum Cassia* L. Extracts. South Asian J Exp Biol. 12 (3): 285-289.
7. **Benmakhlouf, Z., Benserradj, O., Kellab, R. (2022).** Short Communication: Identification of phytochemical constituents of *Syzygium aromaticum* L. using gas chromatography coupled with mass spectrometry and evaluation of antimicrobial activity BIODIVERSITAS Volume 23, Number 5, May 2022. Pages: 2586-2593
8. **Békro, Y. A., Békroj, A. M., Bouab, B., Trab, F. H and Ehilé, E. E. (2007).** Etude ethnobotanique et Screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana*. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpinaceae). Rev. Sci. Nat. 4 (2) : P 217-225.
9. **Belaid, D. (1996).** Aspects de la céréaliculture Algérienne. Edition office des publications universitaires, Ben Aknoun. Alger. P 206.

10. **Belyagoubi, L.2005.** Effet de quelque essence végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Mém.Magis. Univ.Abou Baker Belkaid.12p.
11. **Bonjean, A., et Piccard, E. (1990).** Les cereals à paille. Origine, Histoire, Economie et sélection. Edition Nathan.
12. **Bothmer, R. (1992).** The wild species of Hordeum: Relationships and potential use for improvement of cultivated barley. Chapter 1. In: RP Shewry. Ed. Barley: Genetics, Biochemistry, molecular biology and Biotechnology. C.A.B. International, Wallingford, Oxon. PP 3-18.
13. **Boulal, H., Zaghouane, O., EL Mourid, M., Rezgui, S. (2007).** Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Edition. TIGC, INRA, ICARDA, Algérie. 176.
14. **Bouzerzour, H., Benmahammed, A., & Hassous, K.L. (1997).** <Variabilité génétique, héritabilité et corrélation entre caractères mesurés sur orge en milieu semi- aride. Céréaliculture. (30) : Pp 11 - 15.
15. **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 1999:400.

## C

16. **Ceccarelli, S., Grando, S., Van Leur, J.A.G. (1995).** Barley landraces of the Fertile Crescent offer new breeding options for stress environments.Diversity. (11) 1-2: 112-113 p.
17. **Chu, W. L., Lim, Y.W., Radhakrishnan, A. K. et Lim, P. E. (2010).** Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals.BMC Complementar and alternative Medicine, 10 (59): 2-8.
18. **CLERGET, Y. (2011).** "Biodiversité des céréales Origine et évolution", Montbéliard,17p.

## D

19. **Defraigne, J. O., Pincemail, J. (2008).** Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. Rev Med Liège. (63): 10-19.

20. **Dendouga, M. (2006).** Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes. Extraction et étude des propriétés de la protéase produite. Mém.Magis. Univ.Constantine. (Algérie).4p.

## E

21. **Egbert, G. (2008).** Barley. in College Seminar 235 Food for Thought: The Science, Culture, & Politics of Food Spring 2008, p1.
22. **El khoury, A. (2007).** Champignons Mycotoxinogènes et Ochratoxine A (OTA) et Aflatoxine B1 dans les vignobles libanais : Occurrence et Origine. Diplôme de Docteur en science de la vie. Institut national polytechnique de Toulouse, France.200p.
23. **Elghozi, J.L., Duval, D. (1992).** Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris. 289p.

## F

24. **Ford, R.A., Hawkins, D.R., Mayo, B.C., Api, A.M. (2001).** The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. Food and Chemical Toxicology. (39): p153-162.

## G

25. **Garait, B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin. Biologie cellulaire. Université JosephFourier - Grenoble I. Français, P 23.
26. **Garcia-Ruiz, A., Bartolomé, B., Martínez-Rodriguez, A.J., Pueyo, E., Martín-Alvarez, P.J., and Moreno-Arribas, M.V. (2008).** Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. Food Control. (19): 835-841.
27. **Giban, M., Minier, B., et Malvosi, R. (2003).** Stades du blé ITCF.ARVALLIS. Institut du végétale. 68 p.
28. **Gondé, R., Jussiaux, M. (1980).** Cours d'agriculture moderne. 9ème édition, Ed. Maison Rustique, Paris. p 628.
29. **Grando, S., & Macpherson, H.G., (Eds). (2002).** Food Barley: Importance, Uses and Local Knowledge, Proceedings of the International Workshop on Food Barley Improvement. 14(17) : January. ICARDA, Aleppo, Syria (2005).

30. **Guillaume, J. (2008)**. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Biochimie et moléculaire ; Thème, Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : Euphorbiacharacias L. NULTSCH.W, 1995. Botanique générale, 11<sup>ème</sup> édition 1995.

## H

31. **Hadria, R. (2006)**. Adaptation et spatialisation des modèles strics pour la gestion d'un périmètre céréalier irriguée en milieu semi-aride. Thèse de doctorat. Université Cadi AYYAD Samlalia- Marrakech.
32. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O, Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007)**. Le stress oxydant. Rev Med Liege. 62(10): 628-638.
33. **Hamadache, A. (2001)**. Stades et variétés de blé. Ed. ITGC. p 22.
34. **Hancock, R. E. W. (1998)** resistance mechanisms in Pseudomonas aeruginosa and other nonfermentative gram-negative bacteria. Clinical Infectious Diseases. (27): 93-99.
35. **Harikrishna, D., AppaRao, 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.
36. **Harlan, J.R. (1975)**: Our vanishing genetic resources. Science, 188: 618–621.
37. **Himour, S. (2018)**. Comportements biologique, physiologique, biochimique et l'activité biologique de quatre variétés d'olivier (*Olea europeae* L.) dans l'Est Algérien. Thèse de Doctorat recherche : Biodiversité et production végétale. Constantine : Université des Frères Mentouri-Constantine I, 222p.
38. **Hopkins, W.G. (2003)**. Physiologie végétale. Edition de boeck université-Bruscelles.

## J

39. **Jestin, L. (1992)**. L'orge. In : Gallais A.et Bannerot H. (Eds.), Amélioration des espèces végétales cultivées : objectifs et critères de sélection, INRA, Paris. 55-74.

## K

40. **Kabel, A. M. (2014)**. Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition. World Journal of Nutrition and Health, vol. 2(3): 35-38.

41. **Katarzyna, U., Anna, M., Marta, M., Joanna, J.B., Grzegorz, W. (2007).** Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures *biologia*. 62(2) p: 135.- 135.
42. **Kempf, S., Zeitouni. (2009).** Coût biologique de la résistance aux antibiotiques : analyse et conséquences *Pathologie Biologie* : article in press.
43. **Kim, H.P., Son, K.H., Chang, H. W and Kong, S. S. (2004).** Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanism. *Journal of Pharmacology. Science*. 96: 229-254.
44. **Kochieva, E., Goryunova, S., et Pomortsev, A. A. (2001).** RAPD analysis of the genome in species of genus *Hordeum*. *Russian journal of genetic*. (377): 905-910.

## L

45. **Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J.F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., et Prost, M. (2001).** Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse médicale*. (30): 1076-1081.
46. **Lendvai, B., Zelles, T., Rozsa, B., Vizi, E.S. (2002).** Vinca alkaloid enhances morphological dynamics of dentric neocortical Layer 2/3 pyramidal cells. *Brain Research Bulletin*. 59 (4): 257-260.
47. **Hawksworth, D. L. (2001).** The magnitude of fungal diversity *Ligands Bases de Schiff et Leurs Complexes métalliques*, PhD Thèse: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycoll Res*. 105: 1422-1432.

## M

48. **MacFarland, J. (1907).** "Nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines." *The Journal of the American Medical Association*. 49(14): 1176-1178.
49. **Maciejewski, J. (1991).** Semences et plants. Edition Lavoisier Technique et Documentaires, Paris. p 233.
50. **Malki, M., & HA Hamadache, A. (2002).** < Pratique céréalière et savoir traditionnel en Algérie : analyse du proverbe populaire relatif à la pratique céréalière à la lumière des sciences agronomiques modernes=. *I.T.G.C*. 65 p.

51. **Mesbah, M. (2018).** Synthèse Caractérisation et Application Biologique de Nouveaux
52. **Monneveux, Ph., Chaballier, C., Lewicki, S., Lafarga, A., Sombrero, A., Ontanon, R., Romagosa, I., (1992).** Etude du comportement de lignées d'orge dans différentes conditions de sécheresse en Espagne. Estimation du rôle de la capacité d'ajustement osmotique dans l'adaptation à la variabilité environnementale. INRA.

## N

53. **N'Guessan, K., Kadja, B., et al. (2009).** "Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire)." Sciences & Nature 6(1).
54. **Nauciel, C. (2000).** **Bactériologie** medicale, Masson (Ed). Paris, 275p.
55. **Nepal, P., Singh, M., Baniya, A., Singh, S., Sainju, H.K. and Shrestha, R. (2018).** Comparative Antioxidant, Antimicrobial and Phytochemical Assesments of Leaves of *Desmostachya bipinnata* L. Stapf, *Hordeum vulgare* L. and *Drepanostachyum falcatum*. (Nees) Keng f. Nepal Journal of Biotechnology. 6(1) : 1-10
56. **N'Guessan, J.D., Boni, A.R., Zirihi, G.N., et Djaman, A.J. (2009).** Relation entre les activitésantioxydantes et les teneurs en polyphénols de six plantes de la pharmacopée ivoirienne. Laboratoire de pharmacodynamie biochimique, UFR biosciences, Université de Cocody-Abidjan, Abidjan, Côte d'Ivoire.
57. **Nguyen Minh, Tri. (2017).** **Identification des espèces de moisissure**, potentiellement productrices des mycotoxines dans le riz commercialise dans cinq provinces de la région centrale de Vietnam-Etudes des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines. Thèse de doctorat. Ecole doctorale : Transferts, Dynamique des Fluides, Energétique et Procédés .13-14p.P. P 267-28.

## P

58. **Pandey, K. B. et Rizvi, S. I.** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and pharmaceutical antioxidants. Adv. Drug. Res. (28): pp 65-180.
59. **Pastre, J.O.C. (2005).** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.120p.

60. **Paulíčková, I., Ehrenbergerová, J., Fiedlerová, V., Gabrovská, D., Havlova, P., Holasova, M., Kopáček, J., Ouhřabková, 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.

59. **Phaniendra, A., Jestadi, D.B., Periyasamy, L. (2015).** Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. Ind J Clin Biochem. 30(1): 11-26.

60. **Pincemail, J., Le Goff, C. Charlier, P., Gillion, J. P., Cheramy-Bien, E., Van Honacker, J. P., Chapelle, J. & Defraigne, J. O. (2009).** Evaluation biologique du stress oxydant. Nutrition et Endocrinologie Rev Med Liege Special antioxydant 16-31.

61. **Pitte, J.I., Basilico, J.C., Abarca, M.L., et Lopez, C. (2000).** Mycotoxins and toxigenic fungi. Medical Mycology. 38: 41-46.

62. **Poehlman, J. M. (1985).** <Adaptation and distribution. Barley 26: Pp 1-17.

## R

63. **Rahal-Bouziane, H. (2015).** <L'orge en Algérie : passé, présent et importance pour la sécurité alimentaire face aux nouveaux défis. Recherche agronomique.1(27) : Pp 7-24

64. **Reboux, G. (2006).** Mycotoxines : effet sur la santé et interaction avec d'autres composants organiques. Revue Française d'allergologie et d'immunologie clinique 46: 208-212.

65. **Reboux, G., Bellanger, A., Roussel, S., Grenouillet, F., et Million, L. (2010).** Pollution atmosphérique, Moisissures et habitat : risques pour la santé et espèces impliquées. Revue française d'allergologie 50: 611–620.

66. **Russel, A. D. (1991).** Mechanisms of bacterial resistance to non - antibiotics: food additives and pharmaceutical preservatives. Journal of Applied Bacteriology, 71 (3): 191-20.

## S

67. **Slafer, G. A., Molina-Cano, J. L., Savim, R., Araus, J. L., et Romagosa, I. (2002).** Barley science. Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of yield and Quality. 665p.



68. **Saidi, I., (2019).** Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives. Thèse Doctorat : Sciences Biologiques. Sidi Bel Abbés : Université Djillali Liabès. p152.
69. **Scheibmeir. (2005).** Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed. EDAS, Alger. Algérie.368p.
70. Sharma, P., and Gujral, H.S. (2010). <**Milling behavior of hulled barley and its thermal and pasting properties. Journal of Food Engineering.97(3) : Pp 329-334.**
71. **Sisein, E. A. (2014).** Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants. Scholars Academic Journal of Biosciences. 2(2): 110-118.
72. **Slafer, G. A., Molina-Cano J. L., Savim, R., Araus, J. L. et Romagosa, I. (2002).**
73. **Soltner, D. (1999).** Les grandes productions végétales.19ème édition, Ed. Collection scienceset techniques agricoles, France. p 464.
74. **Soltner, D. (1979).** Les grandes productions végétales : céréales-plantes sarckées-prairies : Ed Collection scienceset techniques agricoles, France. 19p.
75. **Sun, Y. Y., Wang, H., Guo, G. L., Pu, Y. F., Yan, B. L., & Wang, C. H. (2016).** Isolation, purification, and identification of antialgal substances in green alga *Ulva prolifera* for antialgal activity against the common harmful red tide microalgae. Environmental Science and Pollution Research. 23(2): 1449-1459.

## T

76. **Trease, E. et Evans, W.C., (1987).** Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13th ed. Oloyede, OI (2005). Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. Pak J Nutr. (4): p379– 381.

## U

77. **Usman, H., Abdulrahman, F. I., & Usman, A. (2009).** Qualitative phytochemical screening and in vitro antimicrobial effects of methanol stem bark extract of *Ficus thonningii* (Moraceae). African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. 6(3): 112.

## V

78. **Vania, M., nakajima, G., abriela, A., julianaalves, m. (2014).** Citrus bioactive phenolic: role in the obesity treatment volume. 59(2): 2p.
79. **Vijay, P., Nivedita, B., ET Bellundagi, A. (2013).** Ethanobotany and Qualitative Phytochemical Analysis of Some Indian Medicinal Plants. International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences. Four: 59-63.
80. **Von Bothmer, R. (1992).** The wild species of Hordeum: Relationships and potential use for improvement of cultivated barley. Chapter 1. In: RP Shewry. Ed. Barley: Genetics, Biochemistry, molecular biology and Biotechnology. C.A.B. International, Wallingford, Oxon. PP 3-18.
81. **Vonbothmer, R., Van Hintum, T. H., Knupffer, H., & Sato, K. (2003).** Diversity in Barley. In: von Bothmer R., van Hintum, T.h., Knüpffer, H., Sato> K, The domestication of Cultivated Barley=, Amsterdam: Elsevier Science B.V. Pp 27.

## Z

82. **Zenk, M. H., & Juenger, M. (2007).** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. Phytochemistry. 68: (22-24). 2757-2772.
83. **Zohary, D. (1973).** Geobotanical foundation of the Middle East: vol.1, custav fisher verlag, stuttgart, Germany.

# **Annexes**

## Annexes 01

Tableau : le matériel de laboratoire

Les verreries	Les solvants	Réactifs
- Pipettes - Micro pipette - Boîtes de pétries - Tubes à visse - Flacons (250 ml) - Erlenmeyers - Bécher - Spatule - Pipettes pasteur - Entonnoir - Papier filtre - Fioles - Eprouvette	- Méthanol - L'eau distillée - Acide chlorhydrique (HCl) - Hydroxyde de sodium (NaOH) - Chlorure de fer (FeCl <sub>3</sub> ) - Hydroxyde l'ammonium (NH <sub>4</sub> OH) - Acide sulfurique (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	- Réactif de Wagner

Annexes 02



Lavage d'échantillon



Séchage d'échantillon



Broyage et séparation

Protocole de préparation de matériel végétal



Pesage de poudre  
*d'Ordeum Vulgare* 10g



Macération dans 100  
ml de méthanol



Extrait méthanolique sous  
l'agitation pendant 02 jours



Filtration de l'extrait



L'extrait méthanolique

Protocole de préparation de l'extrait méthanolique



**Pesage de poudre  
*d'Ordeum Vulgare* 10g**



**Macération dans  
300 ml de méthanol**



**Extrait méthanolique sous  
l'agitation pendant 02 jours**



**Filtration de macérât**



**Rotation d'extrait**



**Séchage dans l'étuve**



**L'extrait sec**

**Protocole de préparation de l'extrait méthanolique sec**

Annexes 03

Appareillage



Balance



Balance de précision



Bain marie



Etuve



Rota vapeur rotatif



Autoclave



**Plaque chauffante**



**Vortex**



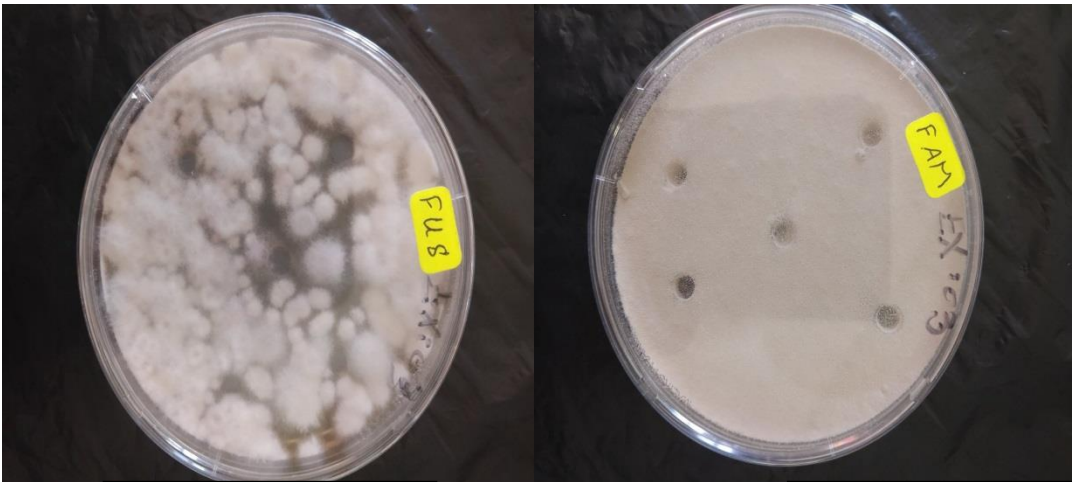
**Frigidaire**



**Micropipette**



Annexes 04



*Fusarium oxysporum*

*Aspergillus flavus*



*Aspergillus niger*

*Penicillium Sp*

*Les souches fongiques*