

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Universite Abou Bekr Belkaid-Tlemcen



Faculté des Science de la Nature et de la Vie et des Sciences
de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie



Laboratoire des Produits Naturels « LAPRONA »

Mémoire en Vue l'obtention

Du diplôme de Master en Biologie

Spécialité : Sciences Alimentaires

Option : Agroalimentaire et Contrôle de Qualité

Thème

**Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydantes des
graines de chia *Salvia hispanica L.***

Présenté par :

Bencheikh Fatima Zohra

Faradji Meriem

Soutenu le 27/06/2020, devant le jury composé de:

Melle GHANEMI Fatima Zohra

MCB à l'université de Tlemcen

Président

Mme SELADJI Meryem

MCB à l'université d'Oran 1

Examineur

Mme DIB Hanane

MCB à l'université de Tlemcen

Encadreur

Année universitaire : 2019/2020.



﴿سُنُّهُمْ آيَاتِنَا فِي الْأَفَاقِ وَفِي أَنْفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَبَيِّنَ لَهُمُ أَنَّهُ الْحَقُّ﴾

﴿أَوَلَمْ يَكْفِ بِرَبِّكَ أَنَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ شَهِيدٌ﴾

بِسْمِ اللَّهِ
الْعَظِيمِ

Remerciements

Au nom de Dieu le Clément et Miséricordieux, le grand merci lui revient, pour l' aide, la volonté qu'il nous a donné pour surmonter tous les obstacles durant nos années d'études et de nous avoir éclairé notre chemin afin de réaliser ce modeste travail.

*Nos profonds remerciements vont à **Mme DIB BENAMAR Hanane** maître de conférences classe B au Département de Biologie de l'université de Tlemcen « Laboratoire des Produits Naturels », pour nous avoir encadrés pendant la réalisation de ce mémoire de Master. Nous la remercions pour son soutien, sa confiance, ses enseignements, sa passion pour la recherche ainsi que toutes les opportunités qu'elle nous a offertes afin d'accomplir ce projet.*

*Nos sincères remerciements vont également à **Mlle GHANEMI FATIMA ZOHRRA** maître de conférences classe B au Département de Biologie de l'université de Tlemcen « Laboratoire des Produits Naturels », de nous avoir fait l'honneur d'être le président de jury de notre soutenance de mémoire de master en dépit de son précieux temps. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profonde gratitude.*

*Nous tenons fortement à remercier **Mme SELADJI MERYEM** MCB à l'université d'ORAN1 au département de Biologie pour le temps qu'elle a consacré afin d'examiner notre travail. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profond respect.*

*On adresse aussi nos sincères remerciements aux responsables du laboratoire des produits naturels du département de Biologie, et particulièrement à l'Ingénieur **AMICHE Fatima** pour sa disponibilité et son aide précieuse.*

Nous remercions vivement nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie et particulièrement les enseignants du département de Biologie, Université Abou bekɣ Belkaid. Tlemcen, pour leurs conseils, leurs compétences et leurs expertises.

Enfin nous remercions chaleureusement tous ceux, qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de notre travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à

Ma mère Djamila pour son amour inestimable, sa confiance, son soutien, ses sacrifices et toutes les valeurs qu'elle m'a inculqué.

À mon père, qui m'aimait, m'a encouragé et m'a protégé du premier jour de ma vie jusqu'aux derniers jours où j'ai assisté à ce travail.

Malheureusement, je l'ai perdu ces jours-ci, Je prie Dieu d'avoir pitié de lui et d'habiter dans son grand paradis. Merci papa, pour tout l'amour, l'affection et le soutien que tu m'as apporté

Je ne t'oublierai jamais.

A mes chers frères :

Khiredine et son épouse Nadjat et ses filles

Ismail et sa femme Imane et son fils Mohammed

Mes frères Amin et Bilal

A mon Cher oncle Sidi Mohammed et son épouse Karima

A mes chères tantes : Salima et Assia et à leurs famille

A ma grand-mère : fatima que dieu la garde pour nous

*A ma cher cousine Amina et tout ma famille **Bencheikh***

A ma tante Fares Karima qui m'a soutenu et s'est tenue à mes côtés

A toutes mes copines : Marwa, Khawla, Hadjar et Fadia

A mon binôme Meriem et l'ensemble des étudiants du Master 2 contrôle de qualité agro-alimentaire.

Merci d'être toujours là pour moi.

Fatima zohra

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

Papa et maman je vous aime

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur et à ma belle-famille ben Mehdi

A mon fils Sohaib ma bouffée d'oxygène.

A mes frères Amine et Zakaria et à ma sœur Nesrine et mes grands-parents.

Je le dédie également à mes oncles et tantes ainsi qu'au reste de ma famille Faradji et Nedjadi.

Et à mes chères copines Chahra, Souad et Lila. Merci pour tous les magnifiques moments qu'on a passé ensemble.

A mon binôme Fatima Zahra avec qui j'ai eu le plaisir d'élaborer ce travail et à qui je souhaite beaucoup de succès.

Enfin grosse dédicaces à mes camarades de la promotion "Agro-^{نظري}alimentaire et control de qualité"

Meriem

Résumé

Il a été prouvé au cours des dernières années que les aliments fonctionnels jouent un rôle important dans la promotion de la santé humaine et la réduction de diverses maladies, grâce aux nutriments de base et aux phytonutriments qu'ils contiennent. Les graines de Chia ne sont pas nouvelles dans l'alimentation. Elles ont été utilisées même à l'époque précolombienne par les Aztèques comme denrées alimentaires. Ces graines sont considérées comme un aliment fonctionnel car elles apparaissent comme une source importante de fibres alimentaires (solubles et insolubles), d'acides gras (oméga-3), de protéines, de composés biologiquement actifs et polyphénoliques.

Le premier volet de notre étude sur les graines de Chia a pour but la détermination quantitative des métabolites primaires via le dosage des sucres totaux avec des techniques colorimétriques, la détermination de la teneur en matière grasse qui a été réalisée dans un appareil approprié de type soxhlet avec un solvant organique, et enfin la détermination de la teneur en cendres basé sur l'incinération dans un four à moufle. Le deuxième volet basé sur l'extraction et le dosage des phénols totaux, des flavonoïdes, des flavonols et des tanins condensés et hydrolysables par le réactif de Folin-ciocalteu, le trichlorure d'aluminium, par le test de vanilline et par le chlorure ferrique respectivement. La dernière partie est l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des graines de *Salvia hispanica L* qui est déterminée *in vitro* en utilisant la capacité antioxydante totale.

Les résultats obtenus, ont montré la présence des sucres totaux à raison de 40.15%, une teneur en matière grasse de 32.29% ainsi que 6,56% en cendres. La détermination des teneurs en polyphénols a révélé une teneur élevée en polyphénols totaux avec 19.06 mg EAG/g MS, suivi des flavonols avec 12.30 mg EC/g MS, et des tanins condensés 10.87 mg EC/g MS, des flavonoïdes avec 8.32 mg EC/g MS, alors que la plus faible teneur est marquée par les tanins hydrolysables avec 0.13 mg EC/g MS. L'évaluation du pouvoir antioxydant par la CAT a révélé que les extraits de l'espèce végétale étudiée présentent des propriétés antioxydantes à différentes concentrations. Les extraits les plus efficaces sont : la fraction éther diéthylique et l'extrait polyphénoliques avec des capacités de 22.62 mg EAA/g, et 18.88 mg EAA/g respectivement, suivi par la fraction n-butanolique, la phase aqueuse, la fraction d'acétate d'éther, et l'extrait tannique. En conclusion, il est probable que les graines de *Salvia hispanica L* peuvent être considérées comme aliment fonctionnel ou un nutraceutique efficace, capable de prévenir ou de ralentir le développement de maladies chroniques et de promouvoir une meilleure santé, une meilleure qualité de vie et une plus grande longévité.

Mots clés : *Salvia hispanica L*, graines de Chia, composés phénoliques, activité antioxydante, CAT.

Abstract:

Functional foods have been proven in recent years to play an important role in promoting human health and reducing various diseases, thanks to the basic nutrients and phytonutrients they contain. Chia seeds are not new to food. They were used even in pre-Columbian times by the Aztecs as food. These seeds are considered a functional food because they appear as an important source of dietary fiber (soluble and insoluble), fatty acids (omega-3), proteins, biologically active and polyphenolic compounds.

The first part of our study on Chia seeds aims at the quantitative determination of primary metabolites via the determination of total sugars with colorimetric techniques, the determination of the fat content which was carried out in an appropriate device of the soxhlet type with an organic solvent, and finally the determination of the ash content based on the incineration in a muffle furnace. The second component based on the extraction and determination of total phenols, flavonoids, flavonols and tannins condensed and hydrolyzable by the Folin-ciocalteu reagent, aluminum trichloride, by the vanillin test and by ferric chloride respectively.

The last part is the evaluation of the antioxidant activity of the extracts of the seeds of *Salvia hispanica* L which is determined in vitro using the total antioxidant capacity.

The results obtained showed the presence of total sugars at 40.15%, a fat content of 32.29% and 6.56% in ashes. The determination of polyphenol contents revealed a high content of total polyphenols with 19.06 mg EAG / g DM, followed by flavonols with 12.30 mg EC / g DM, and condensed tannins 10.87 mg EC / g DM, flavonoids with 8.32 mg EC / g DM, while the lowest content is marked by hydrolyzable tannins with 0.13 mg EC / g DM. The evaluation of antioxidant power by the CAT revealed that the extracts of the plant species studied have antioxidant properties at different concentrations. The most effective extracts are: the diethyl ether fraction and the polyphenolic extract with capacities of 22.62 mg EAA / g, and 18.88 mg EAA / g respectively, followed by the n-butanolic fraction, the aqueous phase, the fraction ether acetate, and tannic extract. In conclusion, it is likely that the seeds of *Salvia hispanica* L. can be represented as an effective functional or non-nutraceutical food, capable of preventing or slowing the development of chronic diseases and promoting better health, a better quality of life and a greater longevity.

Key words: *Salvia hispanica* L, Chia seeds, phenolic compounds, antioxidant activity, CAT.

ملخص

أثبتت الأغذية الوظيفية في السنوات الأخيرة أنها تلعب دورًا مهمًا في تعزيز صحة الإنسان وتقليل الأمراض المختلفة، وذلك بفضل العناصر الغذائية الأساسية والمغذيات النباتية التي تحتوي عليها. بذور الشيا ليست جديدة على النظام الغذائي. تم استخدامها حتى في العصر ما قبل كولومبوس من قبل الأزتيك كغذاء. تعتبر هذه البذور غذاء وظيفيًا لأنها تبدو كمصدر مهم للألياف الغذائية (القابلة للذوبان وغير القابلة للذوبان) والأحماض الدهنية (أوميغا 3) والبروتينات والمركبات النشطة بيولوجيًا والمركبات متعددة الفينول.

يهدف الجزء الأول من دراستنا حول بذور الشيا إلى التحديد الكمي للمستقلبات الأولية من خلال تحديد السكريات الكلية بتقنيات قياس الألوان، وتحديد محتوى الدهون الذي تم إجراؤه في جهاز مناسب من نوع سوكسليت مع مذيب عضوي، وأخيرًا تحديد محتوى الرماد على أساس الترميد في فرن دثر. يعتمد الجزء الثاني على استخلاص وتقدير إجمالي الفينولات والفلافونيدات والفلافونول والتانينات المكثفة والمحللة بواسطة كاشف فولين سيوكالتيو، ثلاثي كلوريد الألومنيوم، عن طريق اختبار الفانيلين وكلوريد الحديدك الجزء الأخير هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات بذور سالفيا هيسبانيكا L والتي يتم تحديدها في المختبر باستخدام السعة الإجمالية لمضادات الأكسدة.

أوضحت النتائج وجود سكريات إجمالية بنسبة 40.15% ومحتوى دهني 32.29% و6.56% رماد. كشف تحديد محتويات البوليفينول عن محتوى عالي من البوليفينول الكلي مع 19.06 مجم EAG / جم SM، يليه الفلافونول مع 12.30 مجم EC / جم SM، والتانينات المكثفة 10.87 مجم EC / جم SM، والفلافونيدات مع 8.32 مجم EC / جم SM، بينما يتم تمييز المحتوى السفلي بالتانينات القابلة للتحلل بالماء مع 0.13 مجم EC / جم SM. كشف تقييم CAT المضاد للأكسدة أن المستخلصات من الأنواع النباتية التي تمت دراستها تظهر خصائص مضادة للأكسدة بتركيزات مختلفة. وأكثر المستخلصات فعالية هي: جزء إيثيل ثنائي إيثيل ومستخلص بوليفينوليك بسعات 22.62 مجم EAA / جم، و18.88 مجم EAA / جم على التوالي، يليه جزء n-بيبتانول، المرحلة المائية، جزء مائي خلات الأثير، وخلاصة التانينك. في الختام، من المحتمل أن بذور سالفيا هيسبانيكا إل يمكن اعتبارها غذاء وظيفيًا أو مغذيًا فعالًا قادرًا على منع أو إبطاء تطور الأمراض المزمنة وتعزيز صحة أفضل ونوعية حياة أفضل وطول العمر أكبر.

الكلمات المفتاحية: *Salvia hispanica* L، بذور الشيا، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، CAT.

Table des matières

Remerciements	i
Résumés	iv
Table des matière	vii
Liste des tableaux.....	x
Liste des figures.....	xi
Liste des abréviations	xiii
Introduction générale	1

Partie I : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : la Nutrition

I.1. Nutrition	4
I.2. Aliment fonctionnels.....	5
I.2.1. Rôle et importance des aliments fonctionnels.....	5
I.2.2. Source des aliments fonctionnels.....	5
I.3. Plante sélectionnée	6
I.3.1. Présentation et description de la plante étudiée	6
I.3.2. Description botanique et systématique de la plante.....	7
I.3.3. Utilisation et consommation de la plante.....	9
I.3.4. Effets thérapeutiques des graines de chia.....	9
I.3.4.1. Effet antioxydant	9
I.3.4.2. Effet antiinflammatoire.....	9
I.3.4.3. Effet antidiabétique.....	10
I.3.4.4. Effet anti cholestérolémie.....	10
I.3.4.5. Effet anti obésité.....	10
I.3.4.6. Effet hypotenseur.....	10
I.3.4.7. Effet anticancéreux	11
I.3.4.8. Effet anti constipation	11

Chapitre II. Les métabolites secondaires

II.1. Introduction.....	12
II.2. Définition et fonctions des métabolites secondaires.....	12
II.3. Classification des métabolites secondaires.....	12
II.3.1. Composés phénoliques.....	12
II.3.1.1. Acides phénoliques.....	13
II.3.1.2. Les tanins.....	15
II.3.1.2.1. Les tanins hydrolysables.....	15
II.3.1.2.2. Les tanins condensés.....	16
II.3.1.3. Les flavonoïdes.....	16
II.2.1.3.1. Les flavonols.....	17
II.2.1.3.2. Classification des flavonoïdes.....	18

Chapitre III : le stress oxydatif.....19

III.1. Définition.....	19
III.2. Les espèces réactives de l'oxygène ERO.....	20
III.2.1. Les radicaux libres.....	20
III.2.2. Principaux radicaux libres.....	20
III.2.3. Sources de production des radicaux libres.....	21
III.2.4 Cibles des ERO.....	22
III.3. Défense antioxydante.....	22
III.3.1. Antioxydants enzymatiques endogènes	23
III.3.2. antioxydant non enzymatique endogène.....	25
III.3.3. Antioxydants non enzymatiques exogènes	25

Partie II : Matériel et méthodes

I. Origine et préparation du matériel biologique végétal.....	27
II.1 Détermination du taux d'humidité.....	27
II. Détermination quantitative des métabolites primaires.....	28

II.1. Dosage des sucres totaux.....	28
II.2. Détermination de la teneur en matière grasse.....	30
II.3. Détermination de la teneur en cendres.....	31
III. Détermination des métabolites secondaire.....	33
III.1. Extraction des polyphénols.....	33
III.2. Dosage des composés phénoliques.....	34
III.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	34
III.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	35
III.2.3. Dosage des flavonols totaux.....	35
III.2.4. Dosage des tanins hydrolysables.....	35
III.2.5. Dosage des tanins condensés.....	36
III.3. Extraction des flavonoïdes et des tanins.....	37
III.3.1. Extraction des fractions Ether d'éthylique, acétate, phase aqueuse et n-butanolique des flavonoïdes.....	37
III.3.2. Extraction des tanins.....	39
IV. Evaluation de l'activité antioxydante.....	40
IV.1. la Capacité Antioxydante Totale (CAT).....	40

Partie III : Résultats et discussion

I. Détermination de la matière sèche.....	42
II. Détermination des métabolites primaire des graines de Chia.....	42
III. Teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes, en flavonols, en tanins hydrolysables et condensés.....	43
IV. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits.....	44
Conclusion.....	50
Références bibliographiques.....	52
Annexes.....	62

Liste des abréviations

[C] : Concentration

AcOEt : Acétate d'éthyle

AG : Acide galique

ALCL₃ : Trichlorure d'aluminium

BHA : Hydroxy anisolebutylé

CaCO₃ : Carbonate de calcium

Cm : centimètre

Fe³⁺ : Ion ferriques

FeCl₃: Chlorure de fer

H₂O₂ : Peroxyde d'oxygène

HCl : Acide chlorhydrique

Hcl : Chlorure d'hydrogène

IC : concentration inhibitrice

L : litre

M :Masse volumétrique

m/v : masse volumique

m: masse

MeOH: Méthanol

Mg : Milligramme

Mg EAA/g MS :milligramme équivalent Acide ascorbique par gramme de la matière végétale sèche

ml : Millilitre

mn : Minute

N : Normalité

Mg EAA/g MS : milligramme équivalent Acide ascorbique par gramme de la matière végétale sèche

ml : Millilitre

mn : Minute

N : Normalité

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

NaCl : Chlorure de sodium

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NaOH : Soude

n-BuOH : n-butanol

nm : Nanomètre

NO : Oxyde d'azote

NO₂ : Dioxyde d'azote

O₂ : Oxygène

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Ph : Potentiel hydrogène

PI % : Pourcentage d'inhibition

RDT : Rendements

SOD : Super oxyde desmutase

V/V : Volume/volume

µg : Microgramme

µl : Microlitre

Liste des tableaux

Tableau N°1 : Les sources naturelles des aliments fonctionnel.....	6
Tableau N°2 : Classification des flavonoïdes.....	18
Tableau N°3 : Les espèces réactives d'oxygène et de nitrogène.....	21
Tableau N°4 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées.....	25
Tableau N°5 : Les teneurs en sucre totaux, en matière grasse et en cendre des graines de <i>Salvia hispanica L</i> exprimées en pourcentage de matière sèche.....	42
Tableau N°6 : Les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, flavonols, en tanins hydrolysables et condensés des graines de <i>Salvia hispanica L</i>	43

Liste des figures

Figure N°1 : photo de <i>Salvia hispanica</i> L.....	7
Figure N°2 : les gaines de <i>Salvia hispanica</i> L.....	8
Figure N°3 : Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques.....	13
Figure N°4 : les composés phénoliques.....	14
Figure N°5 : Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B).....	15
Figure N°6 : Structure chimique des tanins condensés.....	16
Figure N°7 : Structure chimique de base des flavonoïdes.....	17
Figure N°8 : Structure chimique de flavonols.....	17
Figure N°9 : Facteurs responsables du stress oxydatif.....	20
Figure N° 10 : Source de production des ERO.....	22
Figure N°11 : Systèmes antioxydants d'enzymes.....	24
Figure N° 12 : photo des graines.....	27
Figure N° 13 : photo des graines.....	27
Figure N°14 : dosage des sucres des graines de chia a.....	28
Figure N°15 : dosage des sucres des graines de chia b.....	29
Figure N°16 : montage du Soxhlet.....	30
Figure N°17 : avant introduction dans le four à moufle.....	32
Figure N°18 : le dessiccateur.....	32
Figure N°19 : après l'introduction dans le four à moufle.....	32
Figure N°20 : l'évaporateur rotatif.....	33
Figure N°21 : Extraction des polyphénols.....	33
Figure N°22 : spectrophotométrie.....	36
Figure N°23 : le réfrigérant à reflux.....	37

Figure N°24 : la filtration.....	37
Figure N°25 : la décantation.....	37
Figure N°26 : Extraction des flavonoïdes.....	38
Figure N°27 : Extraction des tanins.....	39
Figure N°28 : évaluation de la Capacité Antioxydant Totale (CAT) des extraits.....	40
Figure N°29 : la composition des graines de <i>Salvia hispanica</i> L.....	43
Figure N°30 : les dosages des composés phénoliques.....	44
Figure N°31 : La capacité antioxydante totale des extraits des graines de <i>Salvia hispanica</i>	45

Introduction générale

INTRODUCTION

Ces dernières années, les consommateurs sont à la recherche non seulement d'une bonne alimentation mais aussi de ses avantages pour la santé pour diverses raisons comme le désir accru de maintenir un mode de vie sain et le développement d'une prise de conscience des bienfaits d'une alimentation saine. Bien que la plupart des aliments soient fonctionnels avec certaines propriétés, ces derniers sont devenus l'un des secteurs de l'industrie alimentaire qui connaît le développement le plus rapide avec la peur croissante de la population des maladies mortelles comme le cancer, le diabète et les maladies cardiaques. **(Dincoglu et yasildemir, 2019).**

Par définition, un aliment fonctionnel est «un aliment ou des composants efficaces dans la protection contre les maladies et qui confèrent une vie plus saine en offrant des avantages supplémentaires à l'homme au-delà de la nutrition de base améliorant et répondant aux exigences du corps » **(Hasler et Brown, 2009).**

Le chia peut être considéré comme un «aliment fonctionnel» car en plus de contribuer à la nutrition humaine, le chia contribue à augmenter l'indice de satiété, à prévenir les maladies cardiovasculaires, les troubles inflammatoires et du système nerveux et le diabète, entre autres. Aujourd'hui, les graines de chia offrent un énorme potentiel dans les secteurs de la santé, de l'alimentation, de l'alimentation animale, des produits pharmaceutiques et des nutraceutiques, entre autres, en raison de ses composants fonctionnels **(Muñoz et al., 2013).**

Le mot chia est dérivé d'un mot espagnol chian qui signifie huileux, il est oléagineux, avec une centrale de puissance d'acides gras oméga-3, des protéines de qualité supérieure, une plus grande quantité de fibres alimentaires, de vitamines, de minéraux et une large gamme d'antioxydants polyphénoliques qui agissent comme antioxydant et protègent les graines de la dégradation chimique et microbienne. **(Ullah et al., 2016).**

Actuellement, les avantages nutritionnels de la graine de chia ont été appréciés et ses bienfaits pour la santé reconnus, à partir de preuves scientifiques bien étayées **(Valdivia et Tecante, 2015).** En effet, au cours de la dernière décennie, les graines de chia ont été au centre des recherches, en raison de la présence de ces composés actifs pour l'identification et l'amélioration de leurs propriétés, en particulier leurs potentiels antihypertenseurs et antioxydants. Les progrès des nouvelles technologies moléculaires, telles que l'édition de l'ADN et les nouvelles technologies omiques, peuvent être utilisés pour développer de nouveaux cultivars de chia avec de meilleurs attributs nutraceutiques et des utilisations

intelligentes et rationnelles dans l'industrie alimentaire. Ainsi, le chia pourrait devenir la graine dorée de ce siècle (**Orona-Tamayo et al., 2017**).

La recherche de nouvelles molécules pharmacologiques actives via le screening de sources naturelles a permis la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines (**GURIB-FAKIM, 2006**).

Pour cela notre laboratoire et principalement notre équipe de recherche s'intéresse de très près à l'étude des propriétés nutritionnelles dans le but d'élargir les perspectives de valorisation des produits naturels.

Dans le but d'apporter une contribution à la connaissance de l'espèce *Salvia hispanica* L. (graine de Chia) notre travail, a été réalisé en trois parties :

Dans la première partie, une synthèse bibliographique menée sur l'espèce sélectionnée appartenant à la famille des lamiacées, *Salvia hispanica* ainsi sur les métabolites primaires, sur les métabolites secondaires de la plante et leurs activités biologiques.

Dans la deuxième partie le travail est expérimental, qui consiste en :

- ✓ Préparation des extraits méthanolique, acétonique et méthanolique-aqueux.
- ✓ Extractions sélectives des familles prépondérantes notamment les composés phénoliques, les flavonides et les tanins.
- ✓ Dosage des principales classes phénoliques, les phénols totaux, les flavonoïdes, les falvonols et les tanins.
- ✓ Extraction des fractions flavonoïdiques, d'acétate d'éthyle, éther diéthyle et n-butanol.
- ✓ Extraction des tanins.
- ✓ L'évaluation *in vitro* de l'effet antioxydant des extraits, méthanolique, acétatique, butanolique, et tannique selon la technique de la capacité antioxydante totale.

La troisième partie sera consacrée à la discussion des résultats obtenus lors de cette étude et notre travail est achevé par une conclusion et des perspectives envisagées.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : La Nutrition

I.1. La nutrition

La nutrition est une science qui étudie les liens entre l'alimentation et la santé. Dans le cadre médical, la nutrition correspond au processus de transformation des aliments en nutriments. Ce sont eux qui permettent à un organisme vivant de fonctionner normalement. Il est important de distinguer les deux grandes familles de nutriments. Les macronutriments regroupent les lipides, protides et glucides, c'est-à-dire des nutriments énergétiques. De leur côté, les micronutriments sont composés par les minéraux, les vitamines ou encore les antioxydants. Lorsqu'un être humain consomme des nutriments en quantité insuffisante ou, au contraire, trop importante, on entre dans le cadre de la malnutrition (**Jean, 2013**).

Une mauvaise alimentation constitue l'un des principaux facteurs de risque d'un éventail de maladies chroniques, notamment les maladies cardio-vasculaires, le cancer, le diabète et d'autres affections liées à l'obésité. Parmi les recommandations spécifiques pour une alimentation saine figurent : consommer davantage de fruits, de légumes, de légumineuses, de noix et de céréales ; réduire la consommation de sel, de sucre et de graisses. Il est également conseillé de choisir les acides gras insaturés plutôt que les graisses saturées (**OMS**).

L'amélioration des habitudes alimentaires n'est pas uniquement un problème individuel, il s'agit en effet d'un problème de société qui par conséquent nécessitera l'adoption d'une approche fondée sur la population, qui soit multisectorielle, multidisciplinaire et culturellement adaptée (**OMS**).

I.2 Aliments fonctionnels

Un aliment fonctionnel est un aliment qui affecte les fonctions du corps d'une manière ciblée, de façon à en obtenir des effets positifs sur des fonctions physiologiques, par le fait qu'il contient des ingrédients qui améliorent la santé et qui pourront en temps utiles, justifier des revendications de santé (**Roberfroid, 1998**).

Il y a eu de nombreuses définitions du terme « aliment fonctionnel »; cependant l'une d'entre elles a récemment fait l'unanimité dans le milieu scientifique : on dit d'un aliment qu'il est « fonctionnel » lorsqu'il a été clairement démontré qu'il affecte avantageusement une ou plusieurs fonctions cibles de l'organisme indépendamment des effets nutritionnels adéquats une amélioration de l'état de santé et du bien-être et/ou une réduction des risques d'apparition de maladies. Les aliments fonctionnels sont, comme leur nom l'indique, des aliments, et leurs effets

doivent être perceptibles après ingestion de quantités normales. Il ne s'agit en aucun cas de capsules/gélules ou de comprimés mais d'aliments tout à fait normaux (Ashwell, 2001).

I.2.1 Rôle et importance des aliments fonctionnels

Aujourd'hui, nombreuses personnes pensent que les aliments fonctionnels ont un rôle particulier à jouer à différents moments de la vie, convaincus qu'ils contribuent à la réduction du risque de certaines maladies chroniques, le risque d'ostéoporose chez les femmes ménopausées, ou le risque de maladies cardio-vasculaires chez les hommes d'âge mûr (Bellisle et al., 1998). Ces avantages peuvent être attribués à un nombre de phytonutriments qui exerceraient une ample gamme d'activités biologiques. Cette vaste classe de milliers de composés comprenant des glucosinolates, des caroténoïdes et des flavonoïdes, agissent en synergie pour réduire l'inflammation et l'oxydation, assurant une protection contre l'initiation et la progression de la maladie (Clemens et al., 2012). En effet, comme ils sont ingérés régulièrement et en quantités importantes dans le cadre du régime alimentaire, ils peuvent avoir un effet physiologique notable à long terme (Thomas-Barberan, 2007).

Cela dit, un aliment fonctionnel n'est pas un remède universel. Il permet plutôt de bien manger et d'améliorer sa qualité de vie (Université Montréal, 2014).

I.2.2 Source des aliments fonctionnels

Un certain nombre d'aliments fonctionnels ont été trouvés dans des sources naturelles telles que l'avoine, le soja, les tomates, l'ail, le brocoli, les agrumes, la canneberge, la gelée royale, le thé, le poisson et le bœuf, entre autres (Ramadan et Al-Ghamdi, 2012; Zhang et al., 2012). La liste des végétaux ayant des effets fonctionnels est plutôt longue. Voici donc quelques exemples résumés dans le tableau 1.

Tableau 01 : Les sources naturelles des aliments fonctionnels (Université Montréal, 2014)

Composants fonctionnels	Sources	Avantages éventuels
Caroténoïdes Alpha-carotène Béta-carotène Lycopène	Fruits et légumes, comme la tomate et les carottes	Neutralise les radicaux libres Réduirait probablement les risques de cancer de la prostate
Acides gras Acide gras oméga-3	Poissons gras et leur huile	Réduirait les risques de maladies cardiovasculaires
Flavonoïdes Anthocyanidines Catéchines Flavonones Flavone	Fruits Thé Agrumes Fruits et légumes	Neutralisent les radicaux libres
Phytoestrogènes Isoflavones	Soya	Contribueraient à prévenir les maladies cardiovasculaires et l'ostéoporose

I.3 Plante sélectionnée

Ces dernières années, l'utilisation des plantes a suscité un intérêt croissant en vue de leurs propriétés bénéfiques. Destinées à réduire ou à traiter certains troubles fonctionnels mineurs ou certains états malades au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées par voie externe, les plantes ont toujours été utilisées par l'homme pour lui-même et pour ses propriétés génétiques, nutritionnelles et organoleptiques et en médecine traditionnelle (Carillon, 2009).

I.3.1 Présentation et description de la plante étudiée : *Salvia hispanica L.*

Salvia hispanica L. communément appelé Chia, sauge espagnole, Chia mexicaine et Chia noir est originaire du centre du Mexique et le nord du Guatemala. Elle a été utilisée dans l'alimentation humaine vers 3500 av. Entre 1500 et 900 avant JC, Aztèques, Mayas et Incas

utilisaient les graines de Chia pour la préparation de divers médicaments, aliments et peintures. De plus, les graines de chia sont une source de vigueur énergétique, elles étaient l'une des principales cultures des sociétés précolombiennes (**Orona-Tamayo et al., 2017**). La conquête espagnole a supprimé cette culture traditionnelle en raison de ses croyances religieuses alors que dans les années 1990, un groupe de scientifiques sud-américains a soutenu la production commerciale de Chia en Argentine, dans l'espoir de redécouvrir les plantes perdues et oubliées de la tradition et la civilisation des aztèques (**Dincoglu et yasildemir, 2019**). Au jour d'aujourd'hui le Chia est largement cultivé en Australie, Bolivie, Colombie, Pérou, Argentine, Amérique et Europe. Le Mexique est reconnu premier producteur mondial de Chia (**Knez Hrnčić et al., 2020**).



Figure 01 : la plante *Salvia hispanica* L. (<https://www.ebay.fr/itm/Chia-Mexican-Sage-Salvia-hispanica-50-Seeds-/183539734734>).

I.3.2 Description botanique et systématique de la plante

Salvia hispanica L. ou Chia appartient à la famille des Lamiacées qui comprends environ 900 espèces. La plante est annuelle et fleurit en été, avec une hauteur d'environ un mètre à feuilles pétiolées inversées et dentelées (4–8 cm de long; 3–5 cm de large) avec des fleurs hermaphrodites (figure 1). Cette plante peut pousser dans une large gamme de sols argileux et sableux bien drainés avec une tolérance raisonnable au sel et à l'acide. Elle peut produire 500–600 kg de graines / acre mais dans des conditions agronomiques appropriées un rendement de 2500 kg / acre a également été signalé (**Ullah et al., 2016**).

- **Règne** : plante
- **Sous-règne** : Trachéophytes
- **Division** : Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédone
- **Ordre** : Lamiales
- **Famille** : Lamiacées
- **Genre** : Salvia
- **Espèce** : Salvia hispanica L
- **Noms vernaculaires** : français, anglais, arabe, en Algérie : Chia

Les graines de chia sont généralement petites, plates et ovales avec une longueur de 2,0 à 2,5 mm, une largeur de 1,2 à 1,5 mm et une épaisseur de 0,8 à 1,0 mm (figure 2), hétéroclites de couleur marron, grise, noire et blanche. Les graines de chia de couleur noire sont plus courantes. Les graines de couleur noir et blanc sont légèrement différentes les unes des autres (figure 2). Les graines blanches sont plus grosses, plus épaisses et plus larges que les graines noires (**Suri et al., 2016**). Les graines sont hydrophiles et absorbent jusqu'à douze fois leur poids en liquides lorsqu'elles sont trempées. Pendant le trempage, les graines développent un revêtement épais et collant (mucilagineux) qui donne aux boissons à base de chia une texture gélatineuse distinctive (**Berman, 2019**).



Figure 02 : les graines de Salvia hispanica L (photo 2020).

I.3.3 Utilisation et consommation de la plante

Les graines de Chia peuvent être consommées crues ou préparées dans plusieurs plats. Saupoudrer de graines de chia moulues ou entières sur les céréales, le riz, le yogourt ou les légumes. Leur saveur douce de noisette les rend faciles à ajouter aux aliments et aux boissons (**Zelman, 2010**). Au Mexique, un plat appelé chia fresco est préparé en trempant les graines de chia dans du jus de fruits ou de l'eau. Les graines de Chia sont très absorbantes et développent une texture gélatineuse lorsqu'elles sont trempées dans l'eau, ce qui facilite leur mélange dans des céréales cuites ou d'autres plats (**Wolfram, 2018**).

De plus, dans son article "35 Fun Ways to Eat Chia Seeds" **Helen West** a décrit diverses recettes pour ajouter ces graines saines et nutritives à nos repas quotidiens. Parmi ces recettes : pudding au chia, chia en smoothies, garnitures de chia crues, cuits dans du pain, enrobage croustillant pour la viande ou le poisson...etc (**West, 2019**).

Aussi, Chia est un matériau de départ dans l'industrie alimentaire pour sa teneur en fibres alimentaires. La gomme peut être extraite des fractions de fibres alimentaires de Chia par traitement des graines avec de l'eau comme additif pour contrôler la viscosité, la stabilité, la texture et la consistance des systèmes alimentaires (**Marianela et al., 2013**). En outre, **Srujana et al., (2019)** ont mentionné que les graines de Chia sont utilisées comme supplément d'huile saine pour les humains et les animaux.

I.3.4 Effets thérapeutiques des graines de Chia

I.3.4.1. Effet antioxydant

Les graines de chia contiennent de nombreux composés antioxydants, tels que des vitamines et des polyphénols qui peuvent inhiber l'activation du facteur de transcription NF- κ B in vitro, réduisant ainsi les processus inflammatoires et cancérogènes et protégeant contre l'attaque des espèces réactives de l'oxygène ou de l'azote (ERO et ERN). Ces actions antioxydantes peuvent protéger l'organisme contre les pathologies, comme les maladies neurologiques, l'inflammation, l'immunodéficience, la cardiopathie ischémique, les accidents vasculaires cérébraux, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson et le cancer (**Gracieri et al., 2019**).

I.3.4.2. Effet antiinflammatoire

À la suite de l'étude réalisée par **Cardenas et al., (2017)** avec des protéine de Chia concentrée à pH 3,0 avec une valeur de production de 25,53% en utilisant de l'eau comme solvant et un rendement de 38,13% , utilisation de NaCl 1M comme solvant. Tous les concentrés de protéines

de Chia présentait une activité anti-inflammatoire *in vitro* élevée et un pouvoir d'inhibition de peroxydation. Le concentré de protéines de Chia à pH 3,0 présentait une activité anti-inflammatoire avec des valeurs allant de 56,32% à 103,00% sous une forme dépendante des doses. Protéine de Chia concentré à pH 6,0 présentait une plage de valeurs de 92,80–95,98% de l'inhibition de l'oxydation lipidique (**Cardenas et al., 2017**).

I.3.4.3. Effet antidiabétique

Des études démontrent que les graines de Chia réduisent la résistance à l'insuline et améliorent le contrôle de la glycémie, qui sont des facteurs de risque importants pour le syndrome métabolique, le diabète de type 2 et les maladies cardiaques. D'autres essais montrent que le pain à base de graines de Chia provoque une réponse glycémique réduite par rapport aux pains plus traditionnels (**Bjarnadottir, 2019**).

I.3.4.4. Effet anti cholestérolémie

La consommation des graines de Chia s'est révélée prometteuse pour réduire les niveaux de cholestérol sérique, car elles ont des concentrations élevées en acides gras insaturés oméga-3. Plus récemment, il a été démontré que les protéines et les peptides bioactifs contenu dans le Chia peuvent bloquer les marqueurs clés de la synthèse du cholestérol, comme la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase (HMG-CoA réductase) (**Grancieri et al., 2019**).

I.3.4.5. Effet anti obésité

Les graines de Chia sont riches en protéines et en fibres, qui ont toutes deux démontré qu'elles aident à perdre du poids. Cependant, les études sur les graines de Chia ont donné des résultats mitigés (**Gunnars, 2018**). D'autre part, les résultats des études de **Vuskan et al., (2017)** confirment le rôle bénéfique des graines de Chia dans la promotion de la perte de poids et l'amélioration des facteurs de risque liés à l'obésité, tout en maintenant un bon contrôle glycémique.

I.3.4.6. Effet hypotenseur

Les résultats d'une étude menée par **Toscano et al., (2014)** montrent que la consommation de farine de Chia est toujours en mesure de réduire la pression artérielle chez les individus hypertendus. Ce phénomène s'est accompagné d'une réduction de la peroxydation lipidique mais pas par de modifications des marqueurs inflammatoires.

I.3.4.7. Effet anticancéreux

Olivier Cloutier, étudiant Québécois de 18 ans aurait découvert que certains extraits de graines de Chia possèdent des caractéristiques anticancéreuses, permettant d'inhiber la prolifération des cellules cancéreuses, et même de favoriser leur mort, particulièrement les cellules du cancer du côlon : le cancer colorectal HCT116. ([https://www.rcinet.ca/fr/2015/05/11/un-etudiant-quebecois-de-18-ans-aurait-il-decouvert-le-remede-a-un-cancer-des-plus-meurtrier/.](https://www.rcinet.ca/fr/2015/05/11/un-etudiant-quebecois-de-18-ans-aurait-il-decouvert-le-remede-a-un-cancer-des-plus-meurtrier/))

I.3.4.8. Effet anti constipation

Puis que les graines de Chia contiennent un pourcentage élevé en fibres, elles soutiennent la santé intestinale et favorisent la bonne régulation des déchets hors du corps, aussi aide les gens à se sentir rassasiés rapidement en raison de l'absorption d'une grande quantité d'eau par les fibres, qui se dilatent dans l'estomac et donnent une sensation de satiété lorsqu'elle est consommée, ce qui explique pourquoi les études cliniques ont adopté les graines de Chia comme coupe-faim et pour freiner la faim, entraînant ainsi une perte de poids.

De plus, lors de la consommation de graines de Chia, elles forment une couche gélatineuse dans l'estomac, car elles sont riches en fibres qui jouent un rôle dans le soutien des bactéries naturelles de l'intestin (Youssef, 2020).

Chapitre 2 : les métabolites secondaires

Introduction

Les métabolites sont les produits intermédiaires du métabolisme. Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules. Les métabolites ont diverses fonctions, y compris la signalisation, la structure, stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes (**Boizot et charpentier, 2006**)

Chez les plantes, les métabolites secondaires sont importants à la survie et à la propagation de l'espèce. Ils jouent chez celles-ci différents rôles, comme des phéromones ou des signaux chimiques permettant à la plante de s'adapter à l'environnement (**Boizot et al., 2006; Beta et al., 2005**).

II.1. Définition et fonction des métabolites secondaires

Ces substances, à structure chimique souvent complexe sont très dispersées et très différentes selon les espèces. Elles assurent un rôle très important dans de nombreuses fonctions biologiques. Elles sont connues non seulement pour leur rôle protecteur contre les effets néfastes de la lumière UV ou d'autres facteurs abiotiques, mais également en tant que défenseurs contre les herbivores et les microorganismes pathogènes. De plus, elles sont reconnues pour collaborer au processus de pollinisation et comme des signaux chimiques permettant à la plante de s'adapter à l'environnement (**King et Young, 1999 ; Bahorum, 1997**).

Parmi ces substances on trouve les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les huiles essentielles et les alcaloïdes qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Graliga et al., 2001**).

II.2. Classification des métabolites secondaires

II.2.1. les composés phénoliques

Les composants phénoliques sont des métabolismes secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, grains et bois) (**Psotova et al., 2003**).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidins) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes ; ce sont des molécules biologiquement actives (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006 ; Lugasi, et al.,**

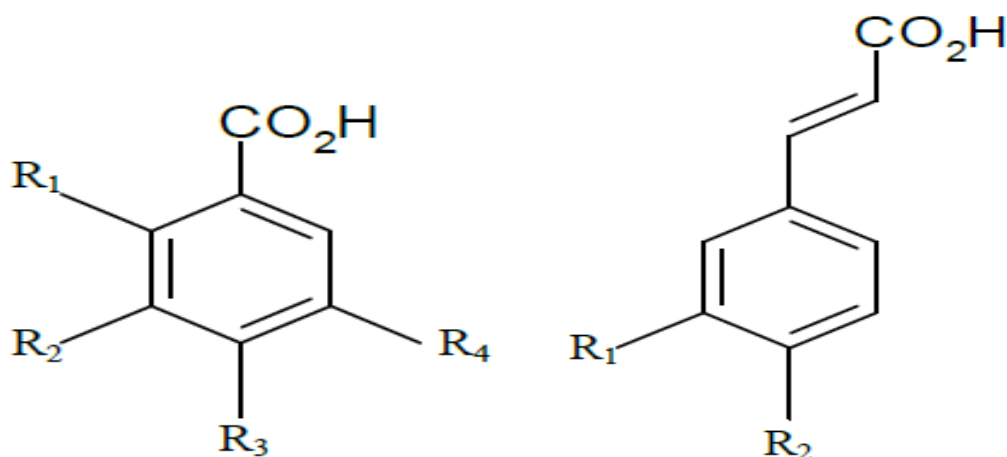
2003). Ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires, antimicrobiens (Wang et Mazza, 2002; Sharma et al., 2008).

Les différentes classes des composés phénoliques sont regroupées dans la figure 04.

II.2.1.1. acides phénoliques

Ce sont des composés phénoliques possédant une fonction acide en plus de la fonction phénol (Richter et al., 1993) Ils sont solubles dans les solvants organiques (Guignarg, 2000).

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts que sont les acides hydroxybenzoïques (C6-C1) et les acides hydroxycinnamiques (C6-C3) : • les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide cinnamique, l'acide salicylique, l'acide gallique et l'acide vanillique (figure 3), base de médicaments connus. • les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide ρ -coumarique, l'acide caféique et l'acide férulique (Macheix et al., 2005).



Acides hydroxybenzoïques

R₁=R₄=H, R₂=OCH₃, R₃=OH Acide vanillique

H, R₂=R₃=R₄=OH Acide gallique

R₁=OH, R₂=R₃=R₄=H Acide salicylique R₁=OCH₃,

Acides hydroxycinnamiques

R₁=R₃=H, R₂=OH Acide ρ -coumarique R₁=

R₁= R₂=OH, R₃=H Acide caféique

R₂=OH, R₃=H Acide férulique

Figure 03 : Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques (Macheix et al., 2005)

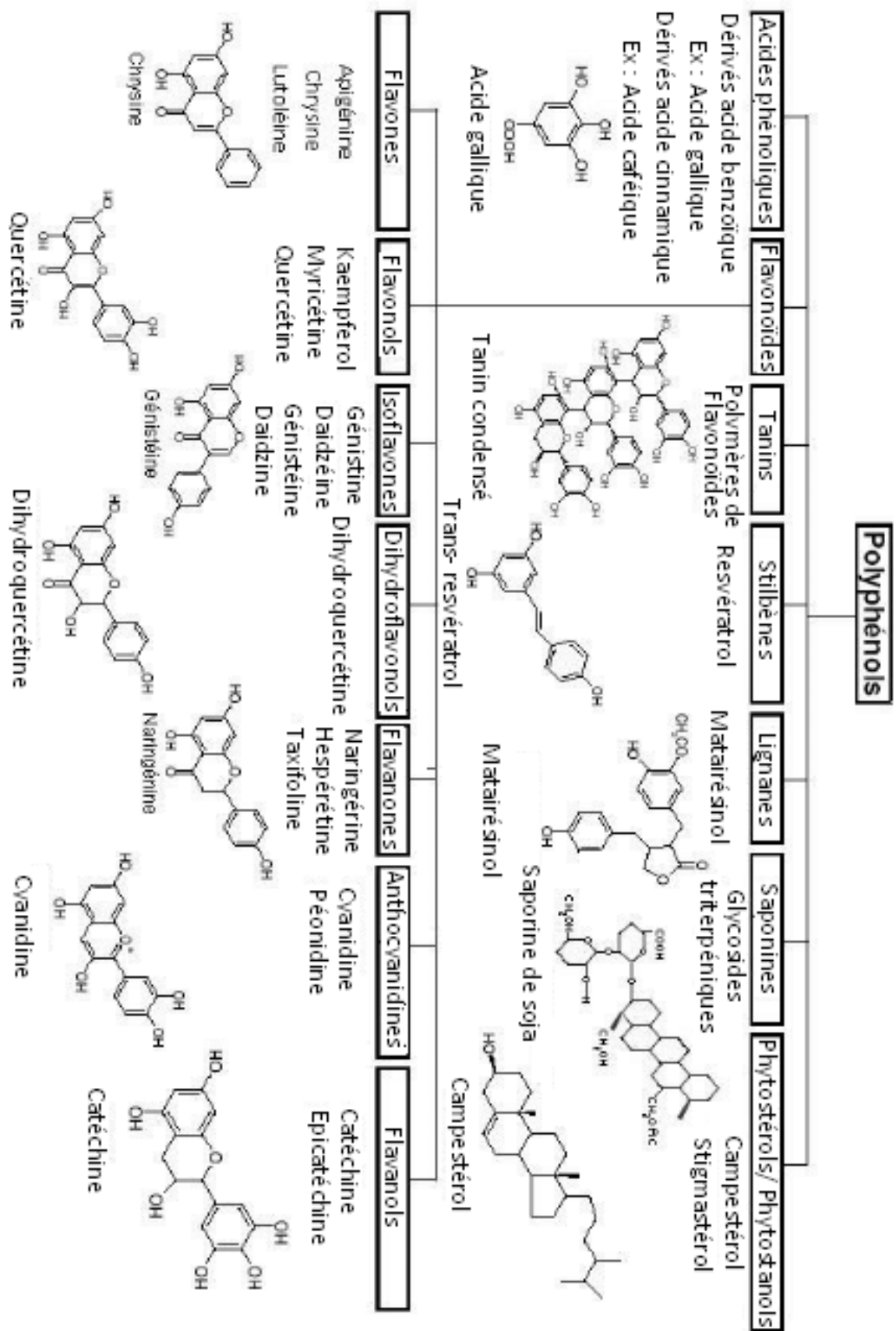


Figure 04 : Classification de quelques métabolites secondaires (Muand, 2010).

II.2.1.2. Les tanins

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Haslam, 1996 ; Cowan, 1999). Les tanins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toute les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (Scalbert, 1991).

On distingue deux groupes de tanins différents par leur structure et par leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

II.2.1.2.1. Les tanins hydrolysables

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tanins classiquement dénommés ellagitannins (Bruneton, 1999 ; Cowan, 1999).

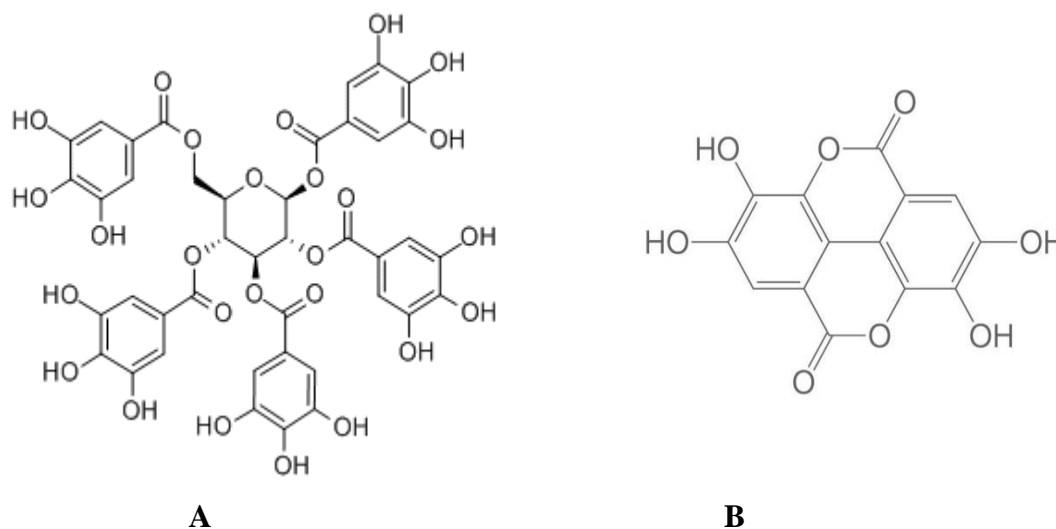


Figure 05 : Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B)

[https://www.researchgate.net/figure/Structure-de-lacide-gallique-a-gauche-et-dun-tannin-gallique-le_fig4_283816508\(A\)](https://www.researchgate.net/figure/Structure-de-lacide-gallique-a-gauche-et-dun-tannin-gallique-le_fig4_283816508(A))

[https://www.carlroth.com/fr/fr/a-a-z/acide-ellagique/p/7263.1\(B\)](https://www.carlroth.com/fr/fr/a-a-z/acide-ellagique/p/7263.1(B))

II.2.1.2.2. Les tanins condensés

Tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères (**Bruneton, 1999**).

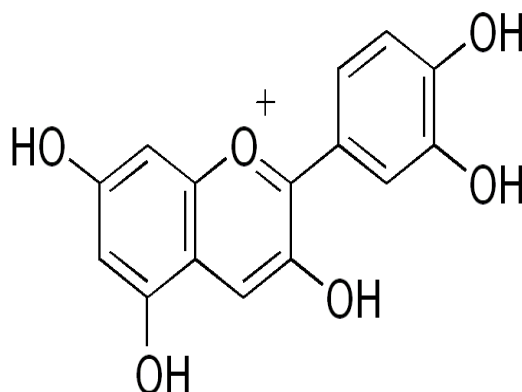


Figure 06: Structure chimique des tanins condensés https://fracademic.com/pictures/frwiki/67/Cyanidin_structure.png

II.2.1.3. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels poly-phénoliques. Ce sont des pigments responsables de la coloration orange jaune et rouge de différents organes végétaux (**Milane, 2004 ; Lhuilier, 2007**).

On distingue différents types de noyaux : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, flavylum, chalcones, aures, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes, ptérocarpanes, coumaronochromones, 3-arylcoumarines, coumestanes, roténoïdes etc (**Heller et Forkmann, 1993**).

Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3. (**Mercader et al., 2008**).

On les regroupe en 5 grands groupes de flavonoïdes chez les plantes : les flavones, les flavonols (réputés les plus antioxydants) et les procyanidines, les anthocyanines, les hydroxycinnamates (abondants dans les fruits) et les flavanones. (**Larkins et Wynn, 2004**).

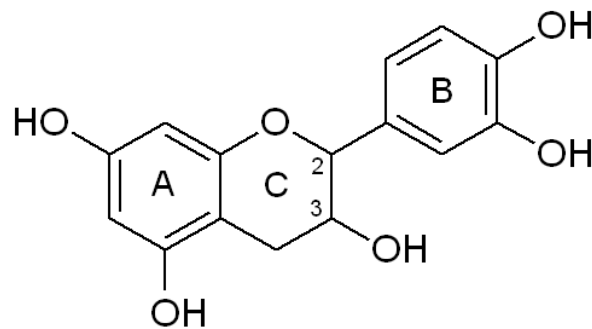


Figure 07 : Structure chimique de base des flavonoïdes (Lhuiler, 2007)

II.2.1.3.1. Les flavonols

Les flavonols sont les constituants flavoniques les plus abondants dans les aliments. Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le kaempferol et la quercétine. Ces dernières possèdent un très fort pouvoir antioxydant en raison de leur structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres (Liu *et al.*, 2012).

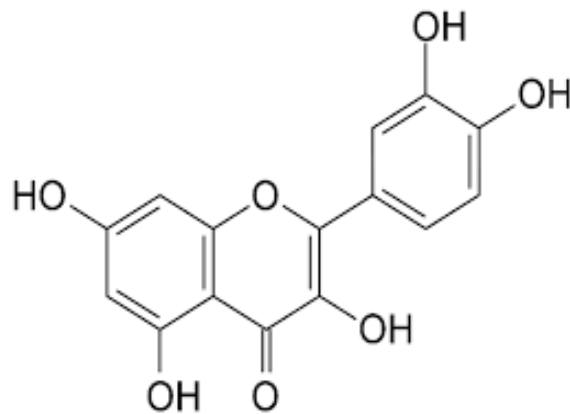
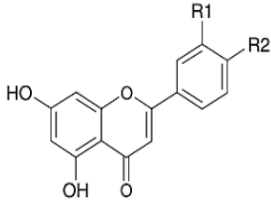
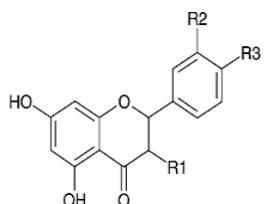
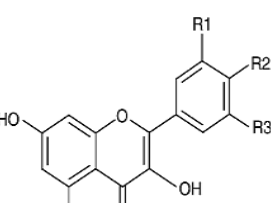
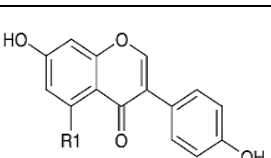
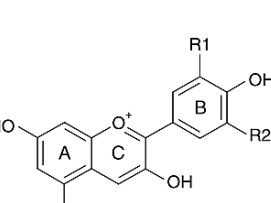
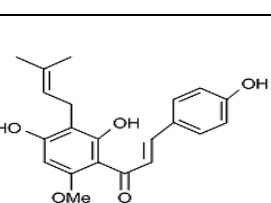


Figure 08 : Structure chimique de flavonols (Kandel, 2016).

II.2.1.3.2. Classification des flavonoïdes

Tableau 02 : Classification des flavonoïdes (Hocini, 2019)

Flavonoïdes	Remarque	Structure	Exemple
Flavones	Présente des substitutions en positions C5, C7, C3' et C4', et une liaison C2-C3 Insaturée		R1=H; R2=OH: Apigenol R1=OH; R2=OH: Luteolol
Flavonones	Ont une liaison C2-C3 de moins que les Flavones (Richter, 1993)		R1 H; R2 H; R3 OH: Naringenol R1 OH; R2 OH; R3 OMe: Hesperetol
Flavanols	Dérivent des Flavonones par addition de OH en position 3 (Richter, 1993)		R1=H; R2=OH; R3=H: Kaempferol R1=OH; R2=OH; R3=H: Quercetol
Isoflavones	en présentant une substitution du noyau benzénique en position 3 (Ghedira, 2005)		R1=H: Daidzeol R1=OH: Genisteol
Anthocyanidines	Sont des aglycones qui se distinguent des autres par des substitutions sur le cycle B (Richter, 1993)		R1=H; R2=H: Pelargonidol R1=OH; R2=H: Cyanidol
Chalcones	Dépourvues de l'hétérocycle central et caractérisées par la présence d'un chaînon carboné		Xanthohumol

Chapitre 3 : le stress oxydatif

III.1.Définition

Par définition dans un système biologique, le stress oxydatif est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses antioxydantes. L'oxydation est générée par des radicaux libres. Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acide nucléiques. C'est une forme particulière d'espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou non apparié) (Wolin et al., 2005), qu'ils soient neutres ou chargés instables ils ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état plus stable. Ces deux propriétés font que les réactions d'oxydation sont très rapides et se propagent en cascade (Benourad, 2018).

La pollution, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool, la prise de pilule contraceptive, l'exposition excessive au soleil, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique sont, par exemple des sources de production d'Espèces Réactive de l'Oxygène ERO ou radicaux libres. Ainsi une alimentation pauvre en fruits et légumes où se trouve la majeure partie des antioxydants nécessaires (vitamines C et E, caroténoïdes, polyphénols) favorise une baisse de la capacité antioxydante dans l'organisme (Magder, 2006).

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Favier, 2003).

Le stress oxydant n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologique. Un excès d'espèces réactives mal maîtrisé qui peut favoriser une maladie ou un vieillissement accéléré. Un stress oxydant dit «pathologique» est potentiellement impliqué dans de nombreuses affections ou dans le développement de complications associées à celles-ci. Comme par exemple, l'oxydation des lipides est un facteur favorisant la survenue de maladies cardiovasculaires, celle de l'ADN se retrouve dans diverses étapes qui conduisent au développement de cancers (Mercan, 2010).

Chapitre 3 : le Stress oxydatif

L'oxygène est nécessaire à tous les animaux, plantes et bactéries pour produire de l'énergie par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons telles que celle existant dans les mitochondries des cellules eucaryotes. Lors du métabolisme normal, la réduction tétravalente de l'oxygène en eau se fait en plusieurs étapes constantes qui donnent naissance à des intermédiaires potentiellement réduits appelés espèces réactives de l'oxygène ERO (Migdal et Serres, 2011).

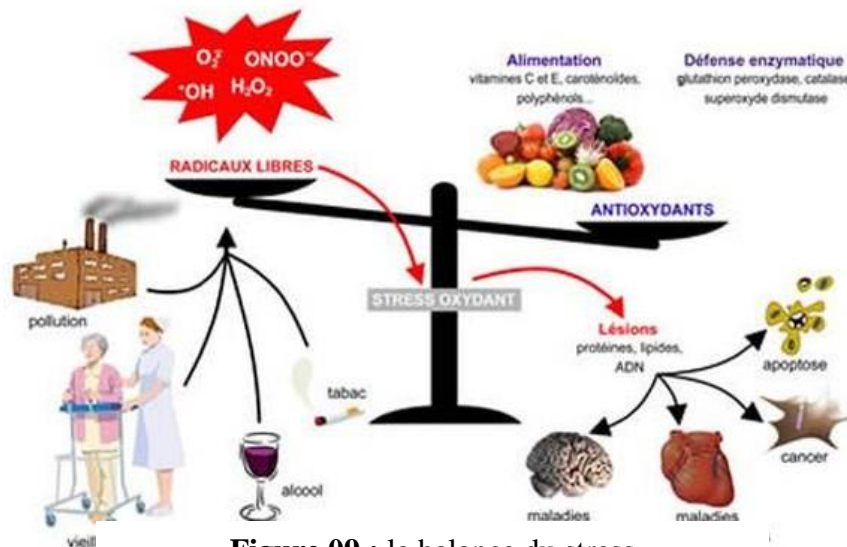


Figure 09 : la balance du stress

oxydatif <http://www.ddiffusion.com/stress-oxydatif.html>

III.2. Les espèces réactives de l'oxygène ERO

III.2.1 Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié (Bouhadjra, 2011). En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Goudable et Favier, 1997). Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radicalperoxyde ROO•, radical alkoxyde RO•), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Novelli, 1997).

III.2.2. Principaux radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène, ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote, ERN) tableau 02 (Delattre *et al.*, 2005). Ces radicaux libres peuvent être convertis en d'autres espèces réactives non-radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), acide hypochloreux (HOCl) (Favier, 2003).

Tableau N°2 : Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Devasagayam *et al.*, 2004).

L'espèce réactive	symbole	Demi-vie (seconde)	biologique
Les espèces réactives de l'oxygène			
Anion superoxyde	O ₂ ⁻	10 ⁻⁶ s	
Radical hydroxyle	OH*	10 ⁻⁹ s	
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂	Stable	
Radical peroxyde	ROO*	Seconde	
hydroperoxyde	ROOH	Stable	
Oxygène singlet	¹ O ₃	10 ⁻⁶	
Ozone	O ₃	Seconde	
Oxyde nitrique	NO*	seconde	
peroxynitrite	ONOO-	10 ⁻³ s	
Acide peroxynitrique	ONOOH	stable	
Dioxyde de nitrogène	NO ₂	Seconde	

III.2.3. Sources de production des ERO

Les ERO peuvent avoir différentes sources cellulaires, mais la mitochondrie représente la source la plus importante (Rigoulet *et al.*, 2011). En effet, les sources de radicaux libres sont variées : la pollution atmosphérique, la cigarette, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, les radiations cosmiques, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), l'inflammation et les métaux toxiques (Favier, 2006).

Tout d'abord le (O₂⁻) est d'une importance capitale car il est la première espèce réactive d'oxygène à être formée (Adam-Vizi, 2005), il participe à l'inhibition de la production d'ATP cellulaire. Le H₂O₂ peut diffuser à travers la membrane cellulaire (Afonso *et al.*, 2007), enfin le (OH[°]) n'est pas spécifique et est l'espèce réactive d'oxygène la plus dangereuse et la plus

réactive (Shi *et al.*, 2006) en comparaison, le (O_2^-) et le H_2O_2 sont beaucoup plus stables (Bossé *et al.*, 2003).



Figure 10 : Source de production des ERO

(<https://www.drplasqui.fr/anti-age/stress-oxydant/>)

III.2.4 Cibles des ERO

A des faibles quantités les ERO jouent un rôle physiologique à divers niveaux du fonctionnement de l'organisme : régulation le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription, la neurotransmission et le fonctionnement rénal,...) (Hare, 2004). Mais, s'ils sont formés en grande quantité elles deviennent pathologiques. Du fait de leur nature instable, elles sont très réactives vis-à-vis de substrats biologique tels que les protéines, les acides nucléique, les lipides et lipoprotéines (Djohan, 2017).

III.3. Défense antioxydante

Pour faire face et détruire les radicaux libres produits en excès, les cellules possèdent des défenses antioxydantes de différentes natures. Ces protections sont assurées à la fois par des composés naturels endogènes ou apportés par l'alimentation, et par des enzymes spécifiques se comportant comme des piègeurs de radicaux libres (Belanger *et al.*, 2006).

Un antioxydant est une substance qui retarde ou empêche l'oxydation des substrats oxydables à faible concentrations.

Pour prévenir le stress oxydatif, les antioxydants peuvent jouer un rôle important et bénéfique pour la santé. Un apport supplémentaire ou diététique d'antioxydants peut considérablement réduire le risque de plusieurs maladies chroniques, les maladies de presque tous les systèmes d'organes, y compris le cancer (**Sachdeva et al., 2014**).

III.3.1. Antioxydants enzymatiques endogènes

Les antioxydants enzymatiques (le superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les radicaux libres (**Chavan et Melinkeri, 2013**).

- **La Superoxyde dismutase (SOD)**

Ce sont des métallo-enzymes à manganèse ou à cuivre et zinc présentes dans la mitochondrie. L'enzyme catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase (**Baudin 2006**).

- **La Catalase (CAT)**

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges. Parmi les enzymes connues, c'est une des plus efficaces (**Mates et al., 1999**). Les catalases permettent de transformer le peroxyde d'hydrogène en oxygène moléculaire et en eau (**Souchard et al., 2002**). C'est une enzyme tétramérique, chaque sous unité comporte un groupement ferriprotoporphyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe^{3+} et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH par la catalase lui confère une protection contre l'attaque de H_2O_2 (**Delattre et al., 2005**).

- **La Glutathion peroxydase (GPx)**

La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG) (**Srinivason et al., 2012**).

Chapitre 3 : le Stress oxydatif

- **La glutathion réductase (GPr)**

Elle a pour rôle de régénérer le Glutathion réduit à partir du Glutathion disulfure ou oxydé grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction (Srinivason *et al.*, 2012).

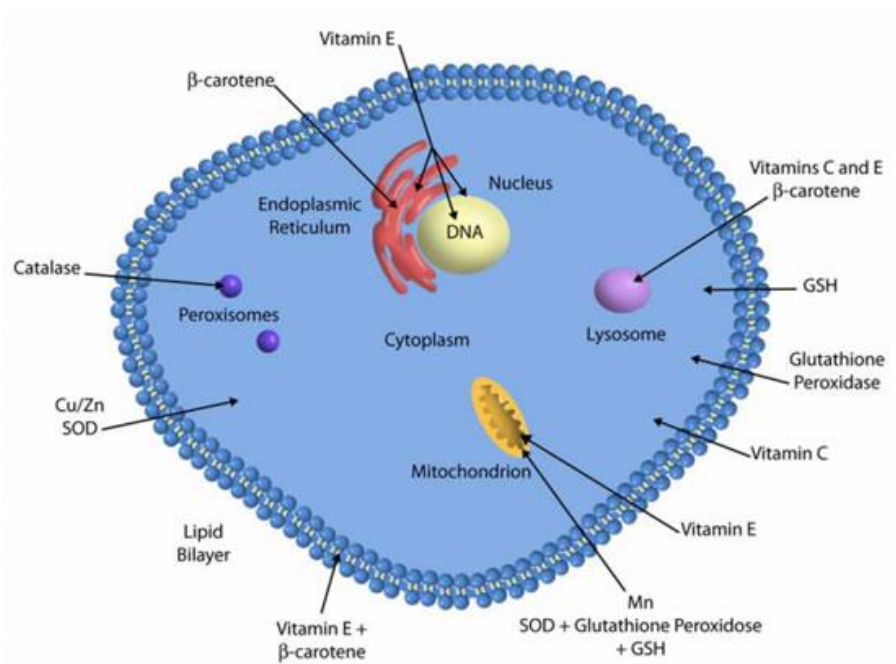


Figure 11 : Systèmes antioxydants d'enzymes (Mandal, 2019).

III.3.2. antioxydant non enzymatique endogène

Le glutathion réduit (GSH) est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Le glutathion (GSH) joue un rôle unique et essentiel dans la préservation des formes actives de divers antioxydants (vitamines C, E, polyphénols...). La GSH constitue l'antioxydant principal de l'organisme (Dfraise et Pinmail, 2008).

III.3.3. Antioxydants non enzymatiques exogènes

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, les vitamines E, C, A et les polyphénols (**Kanoun, 2011**).

Tableau N°3 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées
(**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

Principaux nutriments Antioxydants	Sources alimentaires	Principaux nutriments Antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron	Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix	Tanins	Lentilles, thé, raisins.
β-carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés	Métabolisme decystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou OEufs, poissons, viandes
Sélénium	Poisson, œufs viandes, céréales, volaille	Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers		

Matériels et méthodes

Afin de trouver des aliments nutritifs naturels utiles pour la santé humaine, nous nous intéressons aux graines de Chia de l'espèce *Salvia hispanica L*, il est donc important de déterminer leur identité, de connaître leur composition chimique et d'évaluer leurs activités biologiques.

I. Origine et préparation du matériel biologique végétal

L'espèce étudiée a été achetée chez un herboriste reconnue de la ville de Tlemcen, région Ouest de l'Algérie. Par la suite, les graines sont triées et vérifiées pour être nettoyées puis broyées à l'aide d'un mixeur. La poudre obtenue est ensuite conservée dans des flacons en verre, hermétiquement fermés à basses températures -18°C en vue de procéder aux différentes analyses.



Figure 13 : photo des graines
(a)



Figure 13 : photo des graines
(b)

II.1 Détermination du taux d'humidité : (Audigié et al., 1980)

La détermination du taux d'humidité est réalisée sur les échantillons frais.

✚ Principe

La détermination de la teneur en eau est effectuée par une dessiccation de l'échantillon dans une étuve isotherme de 103 à 105°C jusqu'à une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placées dans un dessiccateur.

✚ Mode opératoire

- Les vases de tare ont été séchés à l'étuve pendant 30 min à 103°C avec couvercles inclinés ;
- Après refroidissement dans un dessiccateur durant 20 à 30 min, les vases de tare ont été pesés avec les couvercles (**P1**);

- Dans chaque vase, 2 g de l'échantillon moulu ont été introduit, l'ensemble a été pesé avec les couvercles fermés (**P2**) ;
- Après un étuvage de 3 h à 105°C avec couvercles inclinés puis refroidissement dans un dessiccateur pendant 15 min, les vases de tare sont pesés, ensuite ils sont remis à couvercles inclinés dans l'étuve durant 1 h à 105°C ;
- Après refroidissement comme précédemment, les vases de tare sont pesés (**P3**) ;
- La différence entre deux pesées doit être inférieure à 2 mg, si non l'opération est renouvelée jusqu'à poids constant.

✚ Expression des résultats

Le taux d'humidité exprimé en pourcentage est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = [(P_2 - P_3) / (P_2 - P_1)] \times 100$$

P1 : masse en g du vase de tare.

P2 : masse en g de la prise d'essai avant séchage.

P3 : masse en g de la prise d'essai après séchage

II. Détermination quantitative des métabolites primaires

II.1. Dosage des sucres totaux par la méthode de Dubois et al. (1956)

✚ Principe

Le dosage des monosaccharides constitutifs des polysaccharides nécessite la rupture de toutes les liaisons glycosidiques par hydrolyse acide (l'acide sulfurique). L'analyse repose sur des techniques colorimétriques, dont le principe est basé sur la condensation par estérification d'un chromogène (Phénol, Orcinol, Anthrone) avec les produits de déshydratation des pentoses, hexoses et acides uroniques. En milieu acide fort et à chaud, ces oses se déshydratent respectivement en des dérivés du furfural, 5-hydroxy-méthyl-furfural et de l'acide 5-formylfuroïque.



Figure 14 : dosage des sucres des graines de chia (a)

Les chromophores ainsi formés de couleurs jaunes-orange absorbent dans le domaine du visible proportionnellement avec la quantité des sucres présents (**Ruiz, 2005**).

✚ Mode opératoire

- A 0.5 g d'échantillon, 20 mL d'acide sulfurique (0.5 M) sont ajoutés, puis l'ensemble est placé dans une étuve à 105°C pendant 3 h;
- Le mélange est transvasé quantitativement dans une fiole. Le volume est ajusté par la suite à 500 mL avec de l'eau distillée. La solution obtenue est filtrée puis conservée à 4°C ;
- Des dilutions de 1/3 sont réalisées à partir de ce filtrat (3 essais);
- Dans des tubes en pyrex (Ø 2 cm), déposer avec précaution 1 mL de chaque essai, 1 mL de phénol à 5% et 5 mL d'acide sulfurique (H₂SO₄) à 96% ;
- Après agitation (vortex), les tubes sont maintenus dans l'étuve pendant 5 min à 100°C, puis laissés dans l'obscurité pendant 30 min ;
- La densité optique est lue à une longueur d'onde $\lambda = 490 \text{ nm}$



Figure 15 : dosage des sucres des graines de chia (b)

✚ Expression des résultats

La teneur en sucres totaux est exprimée en $\mu\text{g/mL}$ (converti en g/L) de $\alpha \text{ D+ Glucose}$ à partir d'une courbe d'étalonnage (**Annexe**).

II.2. Détermination de la teneur en matière grasse (ISO 659, 1988).

✚ Principe

L'extraction de la matière grasse des graines de chia est réalisée dans un appareil approprié de type Soxhlet avec un solvant organique. Après l'élimination du solvant d'extraction, l'extrait obtenu représente la matière grasse contenue dans la prise d'essai.

✚ Mode opératoire

- 5 g de l'échantillon à analyser sont placés dans une cartouche à extraction, c'est **m_e**;
- Un ballon préalablement séché dans une étuve puis refroidi dans un dessiccateur est pesé à 1 g; c'est **m_i**;
- La cartouche contenant la prise d'essai est placée dans l'appareil à extraction, puis la quantité nécessaire du solvant (300 ml d'hexane) est versée dans le ballon ;
- Le ballon est adapté à l'appareil à extraction sur une plaque chauffante et le chauffage est conduit dans des conditions telles que le débit du reflux soit d'au moins 3 gouttes par seconde (ébullition modérée, non tumultueuse).
- Ce processus dure huit heures, à partir du point d'ébullition, répartie en 4h + 2h + 2h.
- Elimination du solvant et pesée de l'extrait :



Figure 16: montage du Soxhlet

Par distillation sur évaporateur rotatif, la majeure partie du solvant contenu dans le ballon est éliminée. Les dernières traces du solvant sont chassées en chauffant le ballon durant environ 30min à 60 min dans l'étuve réglée à (60 ± 2) °C à la pression atmosphérique.

Après refroidissement du ballon durant au moins 1 h, dans le dessiccateur jusqu'à température ambiante, il est pesé à 1 mg près.

La différence entre les deux pesées ne doit pas dépasser 5 mg, si ce n'est pas le cas, les opérations de chauffage, de refroidissement et de pesée sont répétées jusqu'à ce que la différence entre deux pesées successives ne dépasse pas 5 mg. La masse finale du ballon, c'est; **m_f**.

✚ Expression des résultats

La teneur en matière grasse, exprimée en pourcentage de masse du produit est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en matière grasse (\%)} = [(m_f - m_i) / m_e] \times 100$$

m_f : la masse finale du ballon

m_i : la masse du ballon vide

m_e: la masse initiale de l'échantillon à analyser.

II.3. Détermination de la teneur en cendres (ISO 2171, 2007)

✚ Principe

Les cendres totales sont le résidu de composés minéraux qui reste après incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique. Il consiste en une incinération dans un four à moufle, dans des creusets en porcelaine, à une température de 550°C jusqu'à ce que les résidus deviennent blancs après refroidissement.

✚ Mode opératoire

- Une pré-incinération des creusets en porcelaine est effectuée avec quelques gouttes d'éthanol pour les enflammer;
- Après refroidissement, les creusets sont pesés vides puis ajouter 2g de l'échantillon;
- L'ensemble est introduit dans un four à moufle réglé à 550°C, et on attend la combustion complète de la totalité du produit qui dure au minimum 4 heures.
- Il faut effectuer au moins deux déterminations pour le même échantillon.



Figure 17 : avant introduction dans le four à moufle



Figure 18 : le dessiccateur



Figure 19 : après l'introduction dans le four à moufle

✚ Expression des résultats

Le taux de cendre (TC) est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche.

$$TC(\%) = (m_2 - m_1) \times 100 / m_0 \times 100 / 100 - H$$

m_0 : masse en gramme de la prise d'essai.

m_1 : masse en gramme du creuset d'incinération.

m_2 : masse en gramme du creuset d'incinération et du résidu d'incinération.

H : teneur en eau (%) en masse de l'échantillon.

III. Détermination des métabolites secondaire

III.1. Extraction des polyphénols

L'extraction des polyphénols consiste à macérer à température ambiante l'échantillon à analyser dans une solution d'acétone aqueuse 70/30 (v/v) pendant 24 heures. Après filtration, la solution est évaporée à sec par un évaporateur rotatif sous pression réduite à 45°C (Yu et Dahlgren, 2005).



Figure 20 :
l'évaporateur rotatif

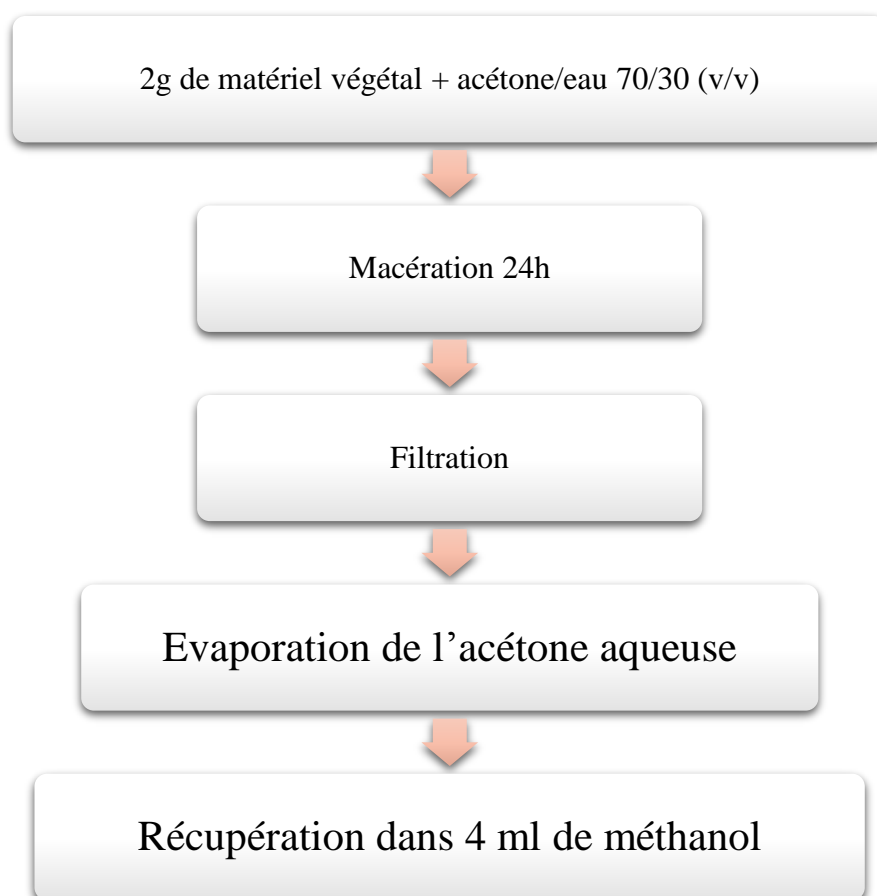


Figure 21 : Extraction des polyphénols (Yu et Dahlgren, 2005).

III.2. Dosage des composés phénoliques

III.2.1. Dosage des polyphénols totaux.

✚ Principe :

En appliquant la méthode de **SINGLETON et ROSSI, 1965** comme un principe pour le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait des graine de chia (*Salvia hispanica L*), qui est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue qui absorbe à 765nm.

✚ Mode opératoire :

- 200 µl d'extrait ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 1/10 et 0.8 ml de carbonate de sodium Na₂CO₃ à 7,5 % ;
- le mélange a été alors incubé à l'obscurité pendant une 30 min ;
- la lecture s'est effectuée contre un blanc à 765 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations (**Annexe**).

✚ Expression des résultats :

Les teneurs en polyphénols totaux de l'extrait ont été exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS) en appliquant la formule suivante :

$$C = (c \times V) / m$$

Avec :

C : La teneur en phénols totaux (mg d'ac. gallique/g de matière sèche).

c : La concentration de l'Ac. Gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml).

V : Volume de l'extrait phénolique ou aqueux

m : Prise d'essai de la matière sèche (g).

III.2.2. Dosage des flavonoïdes.

✚ Principe :

Le dosage des flavonoïdes repose sur la méthode de **Djeridane et al., 2006** avec le trichlorure d'aluminium, qui forme un complexe jaune avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes.

✚ Mode opératoire :

- 1 ml de l'extrait phénolique a été mélangé avec 1 ml de trichlorure d'aluminium (ALCl₃ à 2%).
- Après incubation pendant 15 mn à température ambiante, l'absorbance de l'échantillon a été mesurée à 430 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme standard à différentes concentrations(**Annexe**).

✚ Expression des résultats :

Les teneurs en flavonoïdes de l'extrait ont été exprimés en milligramme équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

III.2.3. Dosage des flavonols:

✚ Principe :

La quantification des flavonols totaux a été déterminée selon le procédé décrit par **Kumaran et al. (2007)**.

✚ Mode opératoire :

- 250µl d'extrait mélangé à 250µl de la solution de trichlorure d'aluminium (AlCl₃, 2%) ont été ajoutés à 1500µl de la solution d'acétate de sodium (50mg/ml).
- Après incubation de 150 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 440nm.

Les concentrations en flavonols sont déterminées en ce référent à une courbe d'étalonnage réalisée avec la Quercétine (**Annexe**).

✚ Expression des résultats :

Les teneurs en flavonols totaux ont été exprimés en milligramme équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mgEQ/g MS).

III.2.4. Dosage des tanins hydrolysables :

✚ Principe :

La méthode de **Mole et Watrman, 1987** est basée sur une réaction avec le chlorure ferrique. En mélangeant l'extrait phénolique avec le réactif de chlorure ferrique, on obtient alors une coloration rouge violette du complexe, d'où la formation des ions (Fe³⁺).

✚ Mode opératoire :

- 1,75 ml du réactif (FeCl₃/HCl) est mélangé avec 0,5 ml de l'extrait de l'échantillon.
- l'absorbance a été lu à 660 nm, 15 secondes après l'addition du réactif (FeCl₃/HCl).

✚ Expression des résultats :

$$T (\%) = DO \times [(M \times V) / E \text{ mole} \times m]$$

Avec :

DO : densité optique.

E mole: 2169 de l'acide gallique.

M : 300

V : volume d'extrait utilisé.

m: masse de l'échantillon.

T % : pourcentage des tanins hydrolysables.

III.2.5. Dosage des tanins condensés.

✚ Principe :

Les quantités des tanins condensés sont estimées en utilisant la méthode à la vanilline en milieu acide (**Julkunen-Titto, 1985**).

✚ Mode opératoire :

- 50 µl de l'extrait phénolique est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v).
- L'ensemble est mélangé à l'aide d'un vortex.
- Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné et laissé réagir à la température ambiante pendant 20min.
- L'absorbance à 550 nm est mesurée contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme standard à différentes concentrations(**Annexe**).

✚ Expression des résultats :

La concentration des tanins condensés est estimée en milligramme équivalents de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS)



Figure 22 :
spectrophotomètre

III.3. Extraction des flavonoïdes et des tanins

III.3.1. Extraction des fractions Ether d'éthyle, acétate d'éthyle, n-butanolique et phase aqueuse des flavonoïdes.

On ajoute 10g de poudre végétale à un mélange de 100 ml de méthanol bouillant avec 5g de CaCO_3 . L'ébullition est maintenue sous réfrigérant à reflux pendant 1 heure. Après filtration (filtrat 1), le dépôt est à nouveau traité pendant une heure à ébullition avec les mêmes quantités de méthanol (filtrat 2). Les deux filtrats sont réunis, et la solution obtenue est soumise à une distillation sous pression réduite et le résidu sec est récupéré avec 50mL d'eau distillée bouillie.

Le filtrat obtenu est mis dans une ampoule à décanter avec 50ml d'éther diéthylique, et après l'agitation et décantation des deux phases, la phase éther est récupéré puis vaporisé à l'évaporateur rotatif.

L'opération est répétée avec l'acétate d'éthyle (AcEto), puis du n-butanol (Bu OH) (**Dauguet et Foucher, 1982**).

Et finalement, la phase aqueuse passe au rotavapeur, puis le résidu obtenu est récupéré dans 3 ml d'eau de bouillon, et ces quatre différents extraits serviront à l'investigation de leurs activités antioxydantes.



Figure 23: le réfrigérant à reflux.



Figure 24 : la filtration.



Figure 25: la décantation

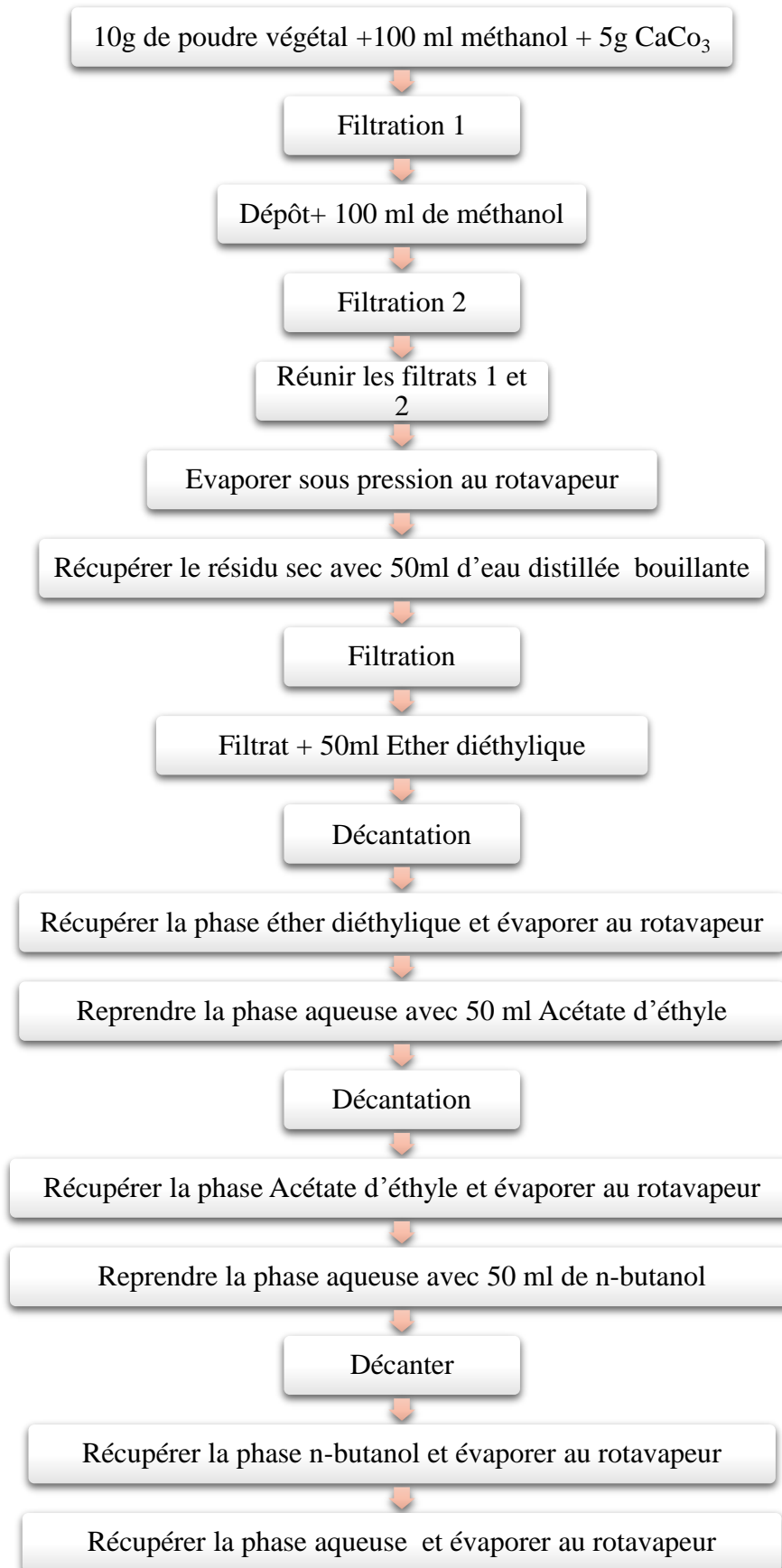


Figure 26 : Extraction des flavonoïdes (Dauguet et Foucher, 1982).

III.3.2. Extraction des tanins.

2.5g de poudre végétale sont ajoutés à 50 ml du mélange eau-acétone 35/15 (v/v). Puis laisser macérer pendant 4 jours à froid (4°C). Après filtration et évaporation de l'acétone, la phase aqueuse est reprise dans 25 ml du dichlorométhane. Après décantation et séparation, la phase aqueuse est extraite par 50ml d'acétate d'éthyle. Cette dernière qui contient les tanins est soumise à une évaporation à sec et enfin récupérer le résidu dans 3 ml de méthanol (Bruneton, 1999).

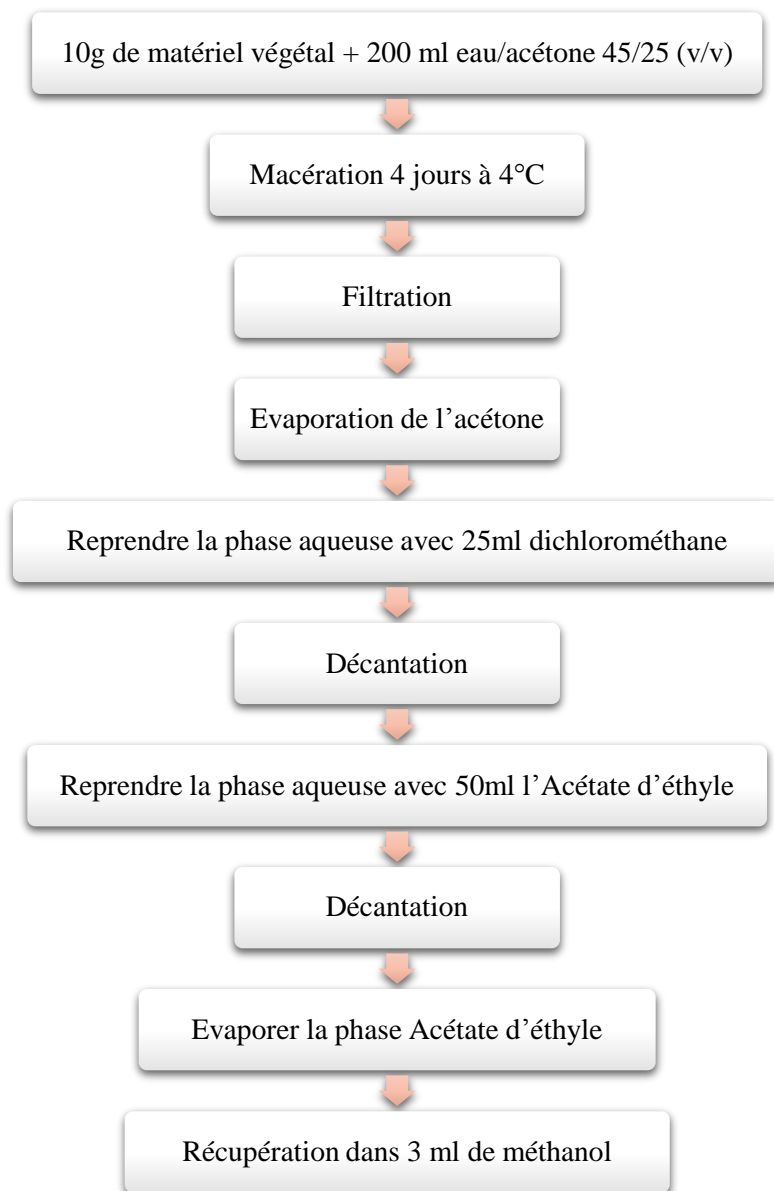


Figure 27 : Extraction des tanins (Bruneton, 1999).

IV. Evaluation de l'activité antioxydante

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits de notre matière végétale a été réalisée par la technique de la Capacité Antioxydante Totale (CAT).

IV.1. la Capacité Antioxydante Totale (CAT).

✚ Principe :

l'évaluation de la capacité antioxydante totale (CAT) des extraits par la méthode phosphomolybdène de **Prieto et al., 1999**, est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert dephosphate Mo(V) à pH acide.

✚ Mode opératoire :

- 0,3ml de chaque extrait est mélangé avec 3ml de solution du réactif (0,6M acide sulfurique, 28mM phosphate de sodium et 4mM molybdate d'ammonium).
- Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90min.
- l'absorbance des solutions est mesurée à 695nm contre un blanc qui contient 3ml de la solution du réactif et 0,3ml du méthanol et qui est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les expériences sont répétées 3 fois.

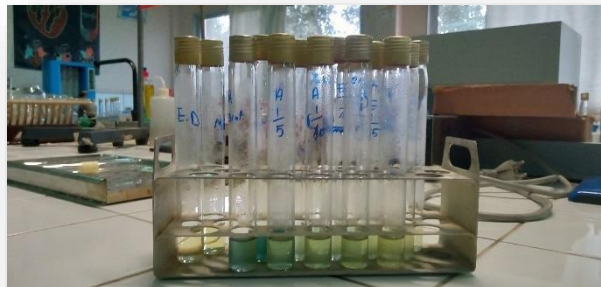


Figure 28 : évaluation de la Capacité Antioxydant Totale (CAT) des extraits

✚ Expression des résultats :

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS) par courbe d'étalonnage (Annexe).

Résultats et discussion

Salvia hispanica L. est une espèce originaire du Mexique et du Guatemala distribuée en Australie, Bolivie, Colombie, Pérou, Argentine, Amérique et en Europe (Knez Hrnčič et al., 2020). Selon plusieurs études, cette plante peut être utilisée comme un anti-inflammatoire, hypoglycémique, hypocholestérolémiant, hypotenseur, agent antioxydant ou encore anticancéreux et peut protéger contre de nombreuses maladies chroniques (Cardenas et al., 2017; Bjarnadottir, 2019 ; Vuskan et al., en 2017 ; Toscano et al., 2014). Afin d'analyser l'utilisation des graines de Chia comme aliment fonctionnel, il est important de définir son identité, connaître sa composition chimique et valeur nutritive et rechercher ses activités biologiques.

1. Détermination de la matière sèche :

L'appréciation de la teneur en matière sèche repose sur la détermination du taux d'humidité contenue dans l'échantillon à analyser, cette humidité qui reste un indice très important, donne une idée sur la qualité de notre échantillon, elle accélère la germination et favorise le développement des microorganismes lors du stockage.

L'analyse du taux d'humidité des graines de Chia a révélé une faible proportion estimée à 3,25% d'humidité. A partir de cette valeur nous avons pu déterminer le pourcentage en matière sèche (MS) qui était estimée à 96.75% d'environ.

2. Détermination des métabolites primaire des graines de Chia

Suite aux analyses effectuées pour la détermination de la teneur en sucres totaux, en matière grasse et en cendres, les pourcentages obtenus sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 05: Les teneurs en sucre totaux, en matière grasse et en cendre des graines de *Salvia hispanica L* exprimées en pourcentage de matière sèche.

Métabolites primaires en % MS	Sucre totaux	Matière grasse	cendre
Graines de Chia	40.15%	32,29%	6,56%

L'évaluation des teneurs en métabolites primaires : sucres, matière grasse et cendres de *Salvia hispanica L.* a montré la richesse des graines de Chia en sucre 40.15% et en matière grasse 32,29% (Tableau 5).

Les cendres n'en sont pas moins importantes avec un pourcentage de l'ordre de 6.56%.

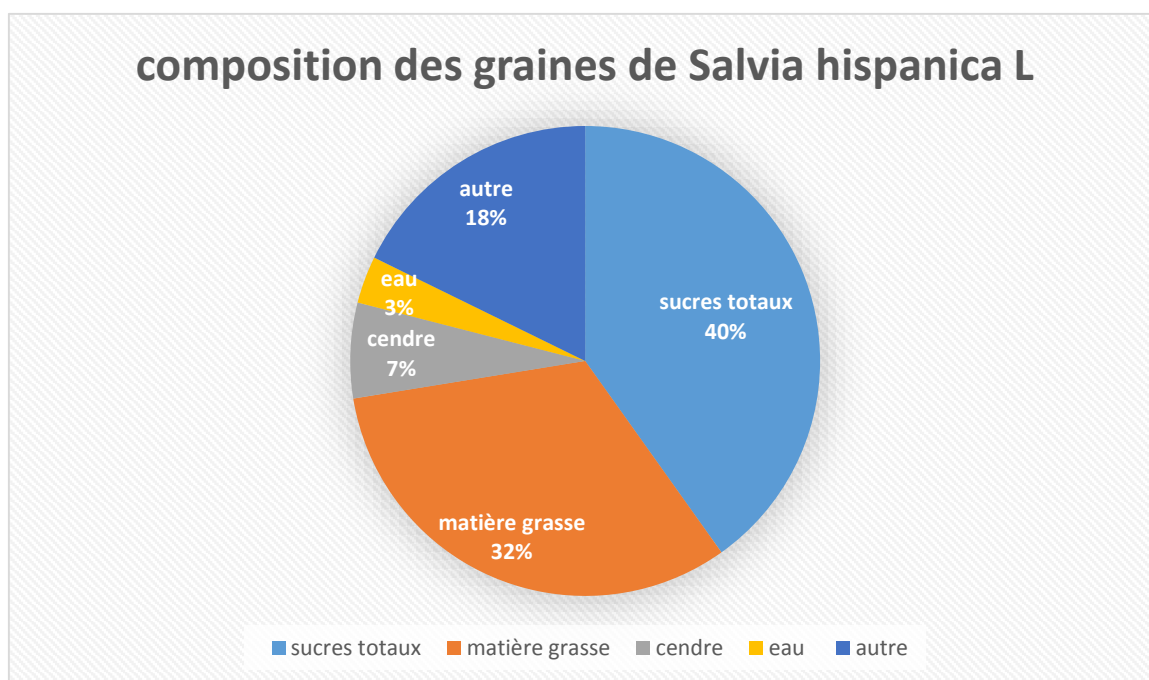


Figure 29 : la composition des graines de *Salvia hispanica* L.

3. Teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes, en flavonols, en tanins hydrolysables et condensés :

Après avoir utilisé diverses méthodes pour estimer les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes, en flavonols, et en tanins hydrolysables et condensés des graines de *Salvia hispanica* L. Les résultats sont exprimés successivement dans le **tableau 6**.

Tableau 06 : Les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, flavonols, en tanins hydrolysables et condensés des graines de *Salvia hispanica* L

	Polyphénols totaux (mgEAG/g MS)	Flavonoïdes (mgEC/gMS)	Flavonols (mgEC/g MS)	Tanins condensés (mgEC/gMS)	Tanins hydrolysables (mgEC/g MS)
Graines de Chia	19.06	8.32	12.30	10.87	0.13

mg EAG /g MS : mg équivalent d'acide gallique/ g de la matière sèche/ mg EC / g MS : mg équivalent de catéchine/g de la matière sèche.

L'estimation des teneurs en polyphénols totaux des graines de Chia a été réalisée selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Le dosage des tanins condensés et hydrolysables a été réalisé selon les méthodes de la vanilline en milieu acide et du réactif de chlorure ferrique respectivement. Le trichlorure d'aluminium a été utilisé pour quantifier les flavonoïdes et les flavonols. Les résultats sont exprimés successivement en mg équivalent d'acide gallique, mg équivalent de catéchine et mg équivalent de Quercétine par g de la matière sèche dans la figure 29.

Selon nos résultats les graines de Chia sont riches en polyphénols totaux avec une teneur de 19.06 mg EAG/g MS, suivi des flavonols avec 12.30 mg EC/g MS, et des tanins condensés avec une valeur de 10.87mg EC/g MS, une teneur moindre en flavonoïdes avec 8.32 mg EC/g MS, alors que la teneur en tanins hydrolysables est la plus faible avec 0.13 mg EC/g MS.

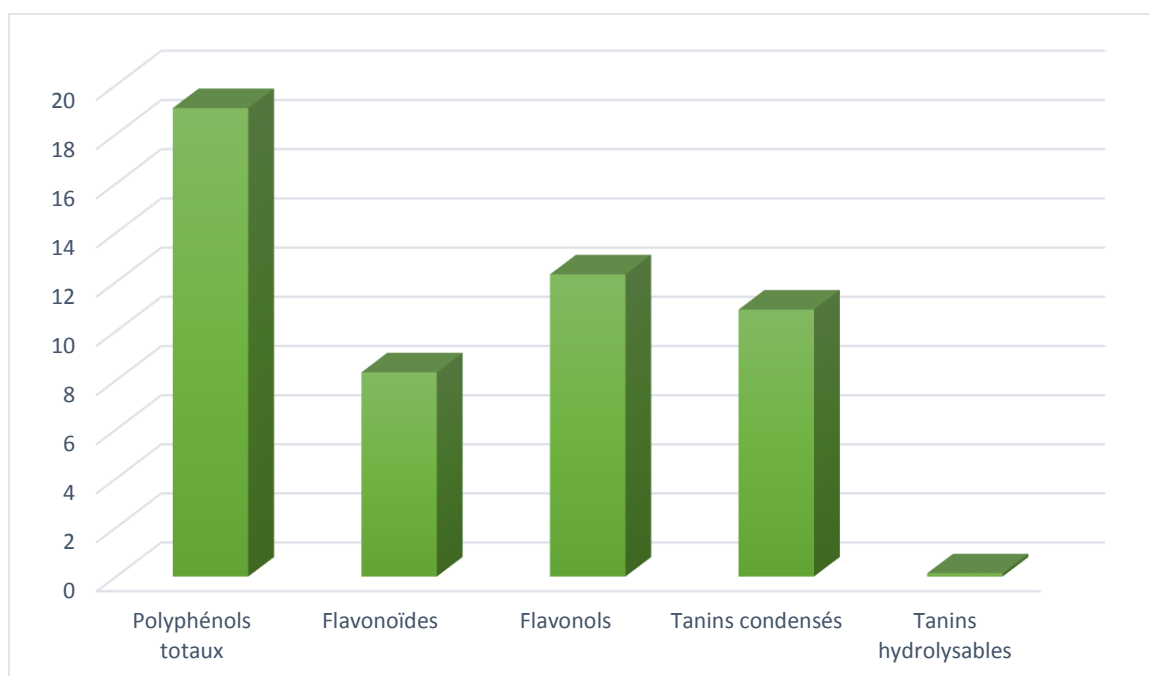


Figure 30 : Dosages des composés phénoliques

4. Evaluation de la Capacité Antioxydante Totale (CAT) des extraits des graines de chia:

La capacité antioxydante totale des différents extraits de *Salvia hispanica L* est exprimée en mg équivalent d'acide ascorbique par g à partir d'une courbe d'étalonnage établie en utilisant l'acide ascorbique comme référence (**Annexes**).

La méthode de phosphomolybdène est basée sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) par les composés antioxydants, et la formation d'un phosphate vert / Mo (V) complexe, avec une absorption maximale à 695 nm (**Rosales-Castro et al., 2014**).

À partir des résultats de la figure 30, on remarque que l'extrait ayant la plus grande capacité antioxydante est l'extrait flavonique fraction éther diéthylique avec une capacité antioxydante égale à 22.62mg EAA/g, suivi de l'extrait des polyphénols avec une capacité antioxydante de l'ordre de 18.88 mg EAA/g. Les extraits flavoniques acétate d'éthyle et la phase aqueuse ont enregistré une capacité antioxydante totale presque identique 15.43 et 15.58 mg EAA/g. L'extrait tannique représente la capacité antioxydante la plus faible avec seulement 4.32 mg EAA/g.

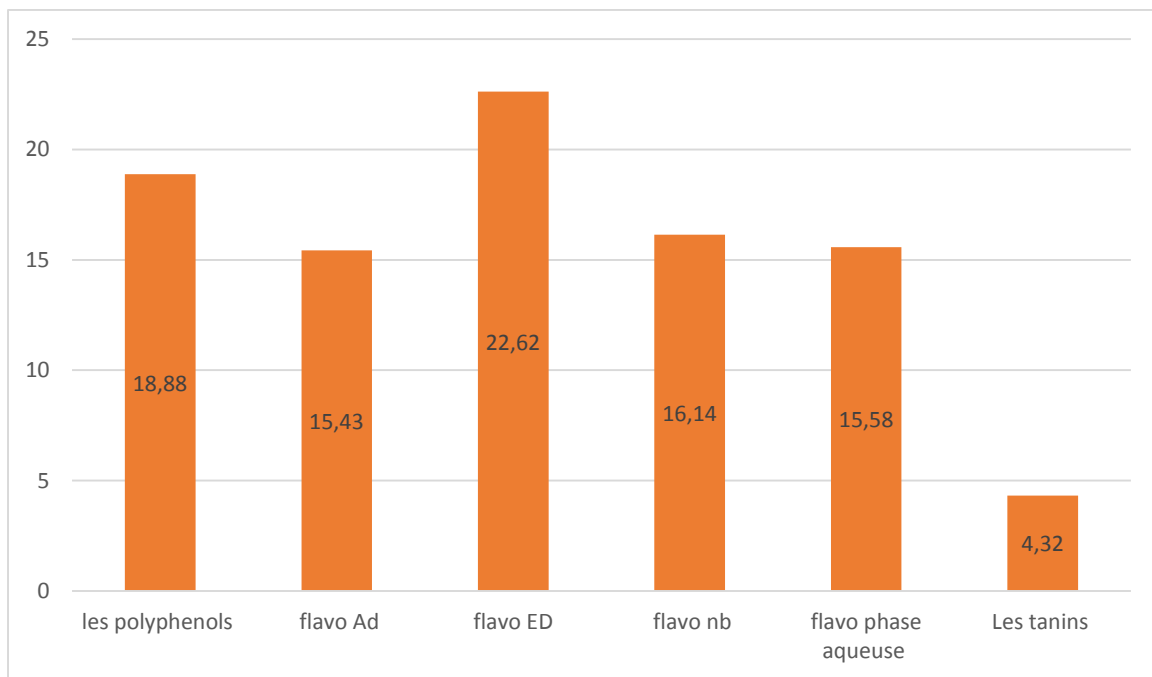


Figure 31 : La capacité antioxydante totale des extraits des graines de *Salvia hispanica*

Flavo Ad : la fraction flavonoïdique éther diéthylique ; Flavo ED : la fraction flavonoïdique acétate d'éthyle ;

Flavo nb : la fraction flavonoïdique n-butanolique ; Flavo phase aqueuse : la fraction flavonoïdique phase aqueuse

Les graines de Chia ont joué un rôle important dans l'alimentation des Mexicains préhispaniques et avait une importance indéniable en tant que source de nutriments de haute qualité (Valdivia et Tecante, 2015).

Les pourcentage de sucres totaux et de matière grasse trouvés lors de notre étude sont cohérents avec les résultats du département américain de l'Agriculture USDA, qui représentent 42.12% de sucres totaux et 30.74% des lipides totaux (Valdivia et Tecante, 2015) ainsi que

ceux trouvés par **Ixtaina et al., (2008)** dont les pourcentages étaient entre 26 – 41% et 30 - 33% de glucides et de matière grasse respectivement (**Mohd Ali et al., 2012**). **Orona-Tamayo et al., (2017)** ont rapporté des teneurs en glucides et en matière grasse comparables (25 à 40% et 26 à 41%). De même pour une étude sur les graines de Chia Brésiliennes menée par **Da Silva et al., (2017)** qui a montré une teneur moyenne en matières grasses de 31,2%.

Sargi et al., (2013) en comparant avec les graines de lin et de perilla, ont montré la plus forte teneur en sucre (45.30%) dans les graines de Chia et ont conclu que cette augmentation était due à la quantité élevée de fibres alimentaires présentes dans ces gaines. En effet, les graines de *Salvia hispanica L.* contiennent environ 30 à 34 g de fibres alimentaires, et la fraction insoluble (IDF) représente environ 85 à 93%, tandis que les fibres alimentaires solubles (SDF) représentent environ 7 à 15%. En termes de teneur en fibres alimentaires, les graines de chia dépassent les fruits secs, les céréales ou les noix (**Kulczynski et al., 2019**).

Des travaux antérieurs ont constaté que la majorité de la teneur totale en glucides provenait de polysaccharides (30,81 g dans 100 g), ainsi que l'Organisation de l'alimentation et l'agriculture (FAO) a identifié le mucilage de chia comme une potentielle source de polysaccharides, même à de très faibles concentrations, en raison de ses propriétés poreuses dans une solution aqueuse (**Dincoglu et Yesildemir, 2019**).

Le profil des acides gras des graines de Chia présente un intérêt particulier. Il se caractérise par une teneur élevée en acides gras polyinsaturés (AGPI) principalement l'acide α -linoléique (ALA, acide gras ω -3) et linoléique (acides gras LA, ω -6), son huile contient par conséquent jusqu'à 68% d'acide ω -3 et 19% d'acide gras ω -6. Les acides oléiques et palmitiques étant en quantités plus faibles, les graines de Chia sont tout de même plus riches en acides omega3 que les graines de lin. Le rapport entre les acides gras ω -6 et ω -3 est de 0,3: 0,35(**Knez Hrnčič et al., 2020**).

En ce qui concerne nos résultats liés à la teneur en cendre, ils étaient supérieurs à ceux mentionnés par **sargi et al., (2013)** avec 3.63% et **Özbek, (2016)** avec 3.93% (**Dincoglu et Yesildemir, 2019**). mais comparables aux résultats de **Ixtaina et al., (2008)** qui se situaient entre 4 et 5%.

En conclusion, la composition de ces graines est variable et dépend de la région où elles se développent. Même si la plante pousse mieux dans les régions tropicales et subtropicales, cette sauge peut également être cultivée dans des climats doux (**Valdivia et Tecante, 2015**).

En plus des sucres, des graisses, des cendres, et des fibres, les graines de Chia contiennent une quantité importante de protéines (31 – 34%). Elles sont une bonne source de protéines végétales, qui représentent environ 18 à 24% de leur masse. D'après **Kulczynski et al., (2019)** les analyses de la composition en acides aminés ont confirmé la présence de 10 acides aminés exogènes, parmi lesquels les plus grandes teneurs étaient pour l'arginine, la leucine, la phénylalanine, la valine et la lysine. Les protéines des graines de chia sont également riches en acides aminés endogènes, principalement les acides glutamique et aspartique, l'alanine, la sérine et la glycine.

D'autre part, elles sont une source de minéraux (calcium, phosphore, potassium et magnésium), vitamines (thiamine, riboflavine, niacine, acide folique, acide ascorbique et vitamine A) et des composés antioxydants (**Marcinek et Krejpcio, 2017**).

Une portion d'une once de graines de Chia contient près de 20% de la cible quotidienne de calcium. C'est un nutriment essentiel pour des os sains, et au bon fonctionnement des muscles, des vaisseaux sanguins, des nerfs, des enzymes et des hormones. Aussi il joue un rôle dans la coagulation sanguine, la pression artérielle et le maintien d'un rythme cardiaque et d'une fonction cérébrale normale. Cette même portion de graines de Chia a également environ un tiers de l'objectif quotidien pour les minéraux ; magnésium, manganèse et phosphore. Le magnésium aide à améliorer l'humeur et le sommeil, tandis que le manganèse joue un rôle dans la production de collagène et favorise la santé de la peau et des os. Le phosphore aide à former les structures cellulaires et travaille avec le calcium pour garder les os en bonne santé (**Sass, 2020**).

De plus, elles contiennent de plus petites quantités de vitamines B, de potassium et de zinc. Les vitamines B aident à soutenir la production d'énergie. Le potassium aide à maintenir la fonction cardiaque, une pression artérielle saine et les contractions musculaires; empêche les crampes musculaires; et aide à maintenir la masse musculaire et le zinc est nécessaire pour un certain nombre de fonctions immunitaires (**Sass, 2020**).

Les graines de Chia ne contiennent pas de composés toxiques et de gluten, faisant ainsi de ces graines un coffre-fort également pour les régimes sans gluten (**De Falco et al., 2017**).

D'autre part, les graines de Chia sont également une riche source de groupes de composés végétaux particulièrement intéressants, caractérisés par une activité biologique élevée (**Kulczynski et al., 2019**). Ces graines contiennent de nombreux composés antioxydants, tels que les vitamines, les polyphénols et les peptides. Ces composés peuvent inhiber l'activation du facteur de transcription NF- κ B in vitro, réduisant ainsi les processus inflammatoires et même

cancérigènes et protégeant contre l'attaque des espèces réactives de l'oxygène ou l'azote. Ces actions antioxydantes peuvent protéger l'organisme des pathologies, comme les maladies neurologiques, inflammation, immunodéficience, cardiopathie ischémique, accidents vasculaires cérébraux, maladies d'Alzheimer et de Parkinson et cancer (**Grancieri et al., 2019**).

En 2004 **Jeong et al.** ont signalé qu'une augmentation de la consommation de graines de Chia a été observée en raison de ses antioxydants naturels (**Srujana et al., 2019**). Les tocophérols, les phytostérols, les caroténoïdes sont parmi les principaux antioxydants trouvés dans les graines de Chia avec les composés polyphénoliques qui sont principalement construits à partir de bloc de construction d'acide caféique et flavonoïdes, y compris les flavones, myricétine, quercétine et kaempférol (**De Falco et al., 2017**).

Selon notre étude, la teneur en polyphénols totaux des gaines de Chia est plus élevée (19.06 mg EAG/g MS) que ceux trouvés par **Martinez-Cruz et Paredes-Lopez et al., (2014)** ($1,6398 \pm 0,2081$ mg EAG / g de graines de *S. hispanica L.*). Et une autre étude menée sur les graines de Chia des États mexicains de Jalisco et Sinaloa avec une teneur moyenne totale en composé phénolique de 0,92 mgEAG/g pour Jalisco et 0,88 mgEAG/g pour Sinaloa (**Suri et al., 2016**). Ainsi que les résultats obtenus par **Da Silva et al., 2017** avec des concentrations de composés phénoliques de $0,97 \pm 0,01$ mg EAG / g d'échantillon et $0,99 \pm 0,02$ mg EAG / g d'échantillon des graines de Chia Brésiliennes cultivées respectivement dans les états de Rio Grande do Sul et Mato Grosso.

Parmi les polyphénols présents dans les graines de *S. hispanica L.*, les flavonoïdes sont largement distribués dans ces graines et leur synthèse augmente à la suite d'une infection microbienne (**De Falco et al., 2017**).

La teneur en flavonoïdes dans les graines de Chia constatée lors de nos recherches est égale à 8.32 mg EC/g MS et est supérieure à la valeur mentionnée par **Scapin et al., (2016)** qui était de 1,62 g EC/kg MS.

Certains chercheurs ont montré que la teneur en composés phénoliques est affectée par un certain nombre de facteurs externes, tels que les conditions météorologiques et les conditions post-récolte (**Coelho et Salas-Mellado, 2014**). C'est peut-être ce qui en fait l'une des raisons de cette différence de résultats.

Dans l'étude relative aux graines de Chia provenant de deux régions différentes du Mexique (Jalisco et Sinaloa), le groupe flavonols est présent en plus grande quantité, les graines de Sinaloa contenaient 0,590 mg/ml d'extrait brut et 0,650 mg/ml d'extrait hydrolysé, tandis

que les graines de Jalisco contiennent 0,379 mg/ml d'extrait brut et 0,427 mg/ml d'extrait hydrolysé (**Valdivia et Tecante, 2015**).

Concernant le dosage des tanins condensés, notre résultat 10.87mg EC/g MS était Supérieure à celui observé chez **Ding et al., (2016)** avec $31,15 \pm 0,66$ mg CE / 100g d'extrait.

En outre, **Ciftci et al., (2012)** ont montré la présence de campestérol (472 mg / kg de lipides), de stigmastérol (1248 mg / kg de lipides), de β -sitostérol (2057 mg / kg de lipides) et de Δ^5 -avénastérol. De plus, il a été constaté que les graines de Chia contiennent également des tocophérols: α -tocophérol (8 mg / kg de lipides), γ -tocophérol (422 mg / kg de lipides) et δ -tocophérol (15 mg / kg de lipides) (**Kulczynski et al., 2019**).

En plus des composés phénolique, des tocophérols et d'autres composés antioxydants, les graines de Chia ont une teneur totale en vitamine E de 238- 427 mg / kg, comparable à l'huile d'arachide (398,6 mg / kg), mais elle est inférieure à celle des graines de lin (588,5 mg / kg), tournesol (634,4 mg / kg) ou soja (1 797,6 mg / kg) (**Marcinek et Krejpcio, 2017**).

Après avoir utilisé la méthode de phosphomolybdène **PRIETO et al., (1999)**, pour évaluer la Capacité antioxydante totale des extraits des graines de Chia, on observe que ces graines ont une activité antioxydante importante. Et les plus fortes capacités ont marqués par l'extrait flavonique fraction éther diéthylique, l'extrait des polyphénols, et même par Les extraits flavoniques acétate d'éthyle et la phase aqueuse.

Il convient également de noter que la phase aqueuse contient des composés flavonoïdes hautement polaires (poly hydroxyle). Cela peut s'expliquer par le fait que l'eau représente le solvant le plus universel qui permet la dissolution de la majorité des flavonoïdes et des composés phénoliques. C'est une question de polarité où les flavonoïdes contiennent des groupes hydroxyle qui ont tendance à interagir avec Molécules d'eau (**Markham, 1982, Bruneton,1993**).

Conclusion et perspectives

Éviter l'utilisation de produits naturels et s'appuyer sur des produits manufacturés et malsains est devenu une mauvaise habitude pour de nombreuses sociétés à travers le monde, comme l'utilisation de fast-foods, de graisses saturées, de conserves...etc. Ce qui à son tour a exacerbé les maladies et les épidémies, parmi lesquelles des maladies chroniques telles que le diabète, l'obésité, l'hypertension artérielle en plus de toutes sortes de cancers et la liste est longue.

Cela a conduit les chercheurs du monde entier à retourner à la nature et à découvrir de nouveaux produits naturels qui réduisent le risque de ces maladies et la possibilité d'infection.

Par conséquent, ces dernières années, les laboratoires ont découvert de nouvelles sources naturelles qui soutiennent le système immunitaire humain et éliminent toutes les toxines du corps. Ces sources naturelles se trouvent dans des céréales et des fruits, en plus des herbes, qui peuvent être incluses dans les industries alimentaires et pharmaceutiques, en plus de leur utilisation sous leur forme naturelle.

Dans ce contexte, nous nous sommes penchés sur les graines de chia, dont nombreux experts ont convenu de leurs avantages. Selon les analyses quantitatives du métabolisme primaires et secondaire, les résultats obtenus montrent que ces graines ont une teneur élevée en sucres totaux (40.15%) et en matière grasse (32,29%), en plus d'une quantité importante de cendres (6.56%).

La quantification des différents composés phénoliques par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer, des teneurs importantes dans l'ordre en polyphénols totaux (19.06 mg EAG/g MS), suivie du flavonols (12.30 mg EC/g MS), les tanins condensés (10.87mg EC/g MS), puis les flavonoïdes (8.32 mg EC/g MS), et enfin les tanins hydrolysables (0.13 mg EC/g MS).

En outre, l'évaluation de la Capacité Antioxydante Totale (CAT) par la méthode de phosphomolybdène effectuée pour l'extrait polyphénolique, les fractions acétates, éther diéthylique, n-butanolique et la phase aqueuse ainsi que l'extrait tannique des graines de *Salvia hispanica L.*, a révélé une importante activité antioxydante avec une grande capacité de la fraction éther diéthylique (22.62 mg EAA/g MS), et l'extrait polyphénoliques (18.88 mg EAA/g MS), suivi par la fraction n-butanolique (16.14 mg EAA/g MS). La phase aqueuse également à une capacité remarquable (15.58 mg EAA/g MS), puis la fraction acétate d'éther (15.43 mg EAA/g MS), et la plus faible marquée par les tanins (4.32 mg EAA/g MS).

En conclusion et compte tenu des résultats obtenus, il semblerait possible d'utiliser les graines de Chia comme source facilement accessible de composés naturels et antioxydants.

Conclusion et perspective

Elles peuvent être utilisées commercialement pour le développement de nouveaux produits alimentaires, pharmaceutiques et même cosmétiques, peuvent aider également à la prévention, au traitement et à la gestion de plusieurs maladies non transmissibles et améliorer le système immunitaire. Les graines de chia peuvent être considéré comme un aliment fonctionnel qui pourrait contribuer à améliorer la santé et le mode de vie.

Pour plus d'efficacité des perspectives sont envisageable :

- La détermination de la teneur des graines de *Salvia hispanica L* en acide α -linoléique (oméga 3) par la technique chromatographique en phase gazeuse.
- Le dosage des protéines par la méthode de Kjeldahl.
- Le dosage des fibres alimentaires.
- L'utilisation de la méthode de piégeage du radical libre (DPPH) et le pouvoir réducteur du fer (FRAP), pour l'évaluation de l'activité antioxydante de ces graines.

Référence bibliographique

1. **Adams J., Marpuy P., (2000).** Obesity in anasthessia and intensive care Braneath 86 :91-108. Advnced oxidation protein prodection in cbese women: its relation to insulinresistance and resistin Clin Exp Med .7(4):173-178.
2. **Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A. (2007).** Reactive oxygen species and superoxide dismutases: Role in joint diseases. Joint Bone Spine. 74(4):636–643.
3. **Ashwell M. (2001).** Functional foods: A simple scheme for establishing the scientific basis for all claims. Public Health Nutrition 4:859-862.
4. **Audigié, CL, Figarelle, J, Zons Zani. (1980).** Manipulation d'analyses biochimiques. Ed.Doin. Paris. pp 88-97.
5. **Bahorum, T. (1997).** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle Food and Agricultural Research council Mauritis pp 83-94.
6. **Baudin, B. (2006).**"Oxidative stress and cardiovascular pathology." MT Cardio, 2(1), 43-52.
7. **Bélanger, G.; Tremblay, G. F. ; Michaud, R., 2006.** The nutritive value of timothy and its improvement through management and breeding. In: Timothy productivity and forage quality - possibilities and limitations, NJF Seminar 384 10-12/8/2006 Akureyri, Iceland, 15-25
8. **Bellisle F, Diplock ST, Hornstra G, Koletzko B, Roberfroid M, Salminen S and Saris WHM .(1998).** Functional Food Science in Europe. British Journal of Nutrition 80 (Suppl. 1), S1-S193.
9. **Benourad Djamilia. (2018).** Influence de différentes méthodes d'extraction sur le rendement, la composition chimique et l'activité antioxydante des extraits de zingiber officinale (Formes fraiche & sèche).Mémoire : Pharmacologie-toxicologie Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
10. **Beta, T, Nam, S, Dexter, JE, Sapirstein, H.D. (2005).** Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. Cereal Chem. 82(4), 390–393.
11. **Boizot, Nathalie, Charpentier, JP. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, INRA-Amélioration génétique

- et physiologie Forestières, Laboratoire d'analyses biochimiques, le cahier des techniques de l'INRA, P 79, 80.
12. **Bouhadjra., (2011).** Étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
 13. **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie:Phytochimie, Plantes médicinales. 3èmeEdition. *Tec & Doc Lavoisier*. Paris. p. 1120.
 14. **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
 15. **Cárdnas M, Cappio C, Welbaum J, Vilcacundo, Carrillo W. (2018).** CHIA protéine concentrat (Salvia Hispanica L.) Anti- inflammatory and antioxydants activity. *Asian journal of pharmaceutical chemical and clinical research* vol 11. Results.
 16. **Carillon A. (2009).** Place de la Phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. Séminaire International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales. Conférence SIPAM.
 17. **Chavan U.D. , Shahidi F., Nacz M., 2001** – Extraction of condensed tannins from beachpea (Lathyrus maritimus L.) as affected by different solvents. *Food Chemistry*. 75 (4) : 509 – 512.
 18. **Chavan VU, Melinkeri RR. (2013)** Study of protein carbonyl group, nitric oxide and MDA (index of lipid peroxidation) as biomarkers of oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Natl J Community Med*.4 (2) (294-9).
 19. **Coelho, MS et Salas-Mellado, MDLM. (2014).** Caractérisation chimique du chia (Salvia hispanica L.) destiné à être utilisé dans les produits alimentaires. *Journal of Food and Nutrition Research* , 2 (5), 263-269.
 20. **Cowan, MM. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4): 564- 582.
 21. **da Silva, BP, Anunciação, PC, da Silva Matyelka, JC, Della Lucia, CM, Martino, HSD, & Pinheiro-Sant'Ana, HM. (2017).** Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. *Food chemistry*, 221, 1709-1716.
 22. **Dauguet JC., Foucher JP. (1982).** Plantes médicinales et phytothérapie. *L'actualitéphytochimique*. 16(3): 185-191.
 23. **De Falco, B., Amato, M. et Lanzotti, V. (2017).** Produits de graines de chia: un aperçu. *Phytochemistry Reviews* , 16 (4), 745-760.

24. **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC et DOC. Paris. 1-405.
25. **Devasagayam TBA, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD(2004).** Free radical and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of the Association of Physicians of India.* 52: 794-804.
26. **Dfraise JO, Pincemail J (2008).** Stress oxydant et antioxidant : mythes et réalités. *Rev Med Liege.* 63: 10-19.
27. **Dinçoğlu, AH et Yeşildemir, Ö. (2019).** Une source renouvelable comme aliment fonctionnel: la graine de chia. *Current Nutrition & Food Science* , 15 (4), 327-337.
28. **Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N. (2006).** Antioxydant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry.* 97(4): 654-660.
29. **Djohan, YF. (2017).** Influence d'un régime riche en huile de palme sur le status antioxydant, la fonction mitochondriale et les désordres métaboliques associés à l'obésité (Doctoral dissertation, Université Montpellier).312
30. **Dubois MKA, Gilli YK, Hamilton PA. (1956).** Colometric method for determination of emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* 4 ,162-169.
31. **FAVIER A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* : 108 – 115.
32. **Favier, A. (2006).** Stress Oxydant et pathologies humaines, *Annals of Pharmacotherapy* SAGE Journal, Vol 64, pp. 390-396.
33. **Goudable, J. Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 11,115-120.
34. **Graglia E, Julkunen-Titto R, Shaver GR, Schamidt IK, Jonasson S, Michelsen A. (2001).** Environmental control and intersite variations of phenolics in *Betula nana* in tundra ecosystems. *New Phytologist*, 151 (1) : 227 – 236.
35. **Grancieri M, Martino HSD et Gonzalez de Mejia E. (2019).** Graine de chia (*Salvia hispanica* L.) en tant que source de protéines et de peptides bioactifs ayant des avantages pour la santé: une revue. *Examens complets de la science et de la salubrité des aliments* ; 18 (2), 480-499.
36. **Guignard JL. (2000).** Biochimie végétale. Ed. Dunod, Paris, 2e éd., 274 p. cest toi qui a fait la structure des flavonols pas moi.

37. **Hare J. (2004).** Nitroso-redox balance in the cardiovascular system; *N Engl J Med*, 351(14):2112-2114.
38. **Haslam E. (1996).** Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J. Nat Pro*, 59: 205-215.
39. **Hasler CM, Brown AC. (2009).** Position of the American Dietetic Association: Functional foods. *J Am Diet Assoc*; 109(4): 735-46.
40. **Hocini F. (2019).** Etude phytochimique, biologique et comportement électrochimique d'extrait brut d'une plante médicinale (*Costus indicus*). Mémoire : chimie organique. M'sila : Université Mohamed Boudiaf-M'sila.
41. **ISO 2171, 2007.** Norme algérienne N.A.733-1990(I.S.O.2171) : détermination des cendres.
42. **ISO 659. (1988).** Graines oléagineuses – détermination de la teneur en huile. *International Organisation for Standardization (ISO)*. Geneva.
43. **Julkunen-Titto R. (1985).** Phenolic constituents in the leaves of Northern Willow: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 33 : 213–217.
44. **Kanoun K. (2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaïne). Mémoire de Magister en Biologie. Université aboubekr belkaid tlemcen. p. 30-48.
45. **King A, Young G. (1999).** Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American dietetic association*, 99:213-218.
46. **Knez Hrnčič M, Ivanovski M, Cör D, & Knez Ž. (2020).** Chia Seeds (*Salvia Hispanica* L.): An Overview—Phytochemical Profile, Isolation Methods, and Application. *Molecules*, 25(1), 11.
47. **Kulczyński B, Kobus-Cisowska J, Taczanowski M, Kmiecik D, & Gramza Michałowska A. (2019).** The chemical composition and nutritional value of chia seeds—Current state of knowledge. *Nutrients*, 11(6), 1242.
48. **Kumaran SP, Kutty BC, Chatterji A, Subrayan PP, Mishra KP. (2007).** Radioprotection against DNA damage by an extract of Indian green mussel, *Perna perna* (L.). *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 26(4):263-272.
49. **Larkins N, Wynn S. (2004).** Pharmacognosy: phytochemicals and their mechanisms. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 34: 291-327.

50. **Lhuillier A. (2007)** Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissatrichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse Doc. S. Agro.res., Inst. nat. poly., Toulouse, 214 p.
51. **Liu H, Zhang L, and Lu S. (2012)**. Evaluation of antioxidant and immunity activities of quercetin in isoproterenol-treated rats. *Molecules*, **17**: 4281–4291.
52. **Lugasi A, Hóvári J, Sági KV, Bíró L. (2003)**. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis* 47, 119-125.
53. **Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C. (2005)**. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques, 192 pages.
54. **Marcinek K, et Krejpcio Z. (2017)**. Graines de chia (*Salvia hispanica*): propriétés favorisant la santé et applications thérapeutiques - un examen. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* , 68 (2).
55. **Markham KR. (1982)** Techniques of Flavonoid identification. Biological Techniques Series. Ed.Treherne J. E. et Rubery P. H. Academic Press. 113p
56. **Matés J, Perez-Gomez C, Nunez I. (1999)**. Antioxidant enzymes and human diseases. *ClinBiochem*. 32: 595-603.
57. **Mercader AG, Duchowicz PR, Fernández FM, Castro EA, Bennardi DO, Autino JC, Romanelli GP. (2008)**. QSAR prediction of inhibition of aldose reductase for flavonoids. *Bioorgan. Med. Chem*. 16, 7470–7476.
58. **Mercan R. (2010)**. Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine: 107- 133.
59. **Migdal C., Serres M. (2011)**. Reactives oxygen species and oxidative stress. *Med Sci (Paris)*,27(4):405-412.
60. **MILANE H. (2004)**. *La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres;études et applications thérapeutiques*. Thèse Doc. S., Univ. Louis Pasteur,Strasbourg, 268 p.
61. **Mohd Ali N, Yeap SK, Ho WY, Beh BK, Tan SW et Tan SG. (2012)**. L'avenir prometteur du chia, *Salvia hispanica* L. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*.
62. **Mole S, Waterman PG. (1987)**. Tannicacidproteolicenszymes : enzyme inhibition substrat derivation. *Phytochemistry*, 26, 99-102.

63. **MUANDA F. (2010)**. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse Doc. C.O., Univ. Paul Verlaine-Metz, Lorraine, 239 p.
64. **Muñoz LA, Cobos A, Diaz O, et Aguilera, JM. (2013)**. Graine de chia (*Salvia hispanica*): un grain ancien et un nouvel aliment fonctionnel. *Food reviews international*, 29 (4), 394-408.
65. **Novelli GP. (1997)**. Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol. Pharmacol.* 1997 ; 48:517-527.
66. **Orona-Tamayo D, Valverde ME, & Paredes-Lopez O. (2017)**. Chia—The New Golden Seed for the 21st Century: Nutraceutical Properties and Technological Uses. In *Sustainable protein sources* (pp. 265-281). Academic Press.
67. **PRIETO P, PINEDA M, AGUILAR M. (1999)**. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269 : 337 – 341.
68. **Psotova J, Lasovsky J, Vicar J. (2003)**. Metal chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolic. *Biomed. Papers* 174-153 p. radicalaire. *Techniques en biologie*. 23: 245-257.
69. **Richter G. (1993)**. Les composés phénoliques des végétaux. *Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie*. Gayon Dunod, paris, pp. 317-339.
70. **Ruiz G. (2005)**. Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges, discipline : Chimie appliquée-Chimie des substances Naturelles. Pp 258
71. **Sargi SC, Silva BC, Santos HMC, Montanher PF, Boeing JS, Santos Júnior OO, & Visentainer JV. (2013)**. Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla. *Food Science and Technology*, 33(3), 541-548.
72. **Sarni-Manchado P, Cheynier V. (2006)**. Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 398 p. (ISBN 2-7430-0805-9).
73. **Scalbert A. (1991)**. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875-3883.
74. **Scapin G, Schmidt MM, Prestes RC et Rosa CS. (2016)**. Composés phénoliques, flavonoïdes et activité antioxydante d'extraits de graines de chia (*Salvia hispanica*) obtenus par différentes conditions d'extraction. *International Food Research Journal*, 23 (6), 2341.

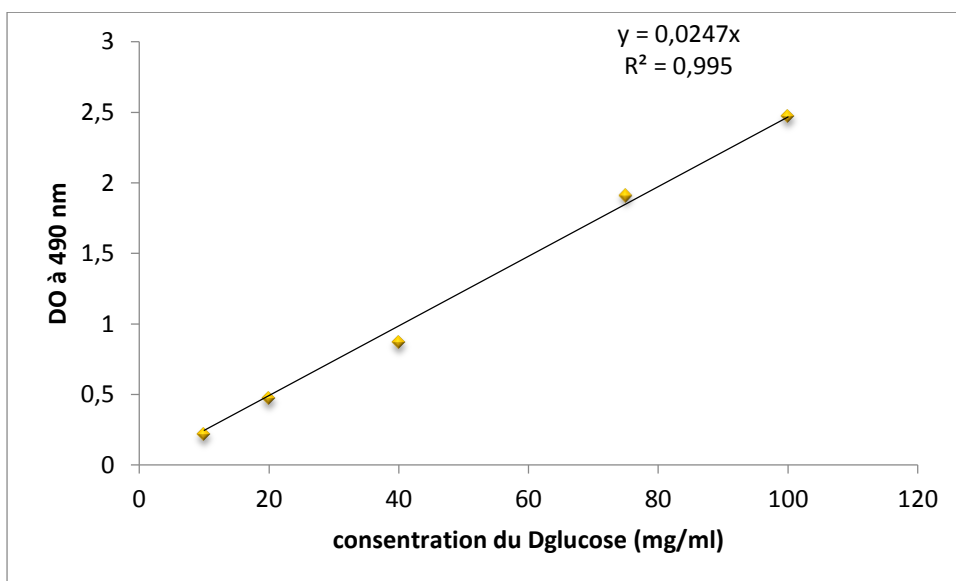
75. **Sharma B, Viswanath G, Salunke R, Roy P. (2008).** Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. *FoodChem.*, 110, 697-705.
76. **Shi H., Kokoeva M.V., Inouye K., Tzamelis I., Yin H., Flier J.S. (2006).** TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest.* 116: 3015–3025.Sinaiko.
77. **Singleton VL, et Rossi JA. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144.
78. **Souchard JP, Arnal JF, Rochette L. (2002).** Les radicaux libres et le stress oxydatif radicalaire. *Techniques en biologie.* 23: 245-257.
79. **Srinivasan VA, Raghavan VA, Parthasarathy S. (2012).** Biochemical basis and clinical consequences of glucolipotoxicity: a primer. *Heart Fail Clin.* 8(4):501-11.
80. **Srujana MNS, Kumari BA, Suneetha WJ et Prathyusha P. (2019).** Technologies de transformation et bienfaits du quinoa pour la santé.
81. **Suri S, Passi SJ, & Goyat J. (2016).** Chia seed (*Salvia hispanica* L.)—A new age functional food. In *4th International Conference on Recent Innovations in Science Engineering and Management* (pp. 286-299).
82. **Toscano LT, da Silva CSO, Toscano LT, de Almeida AEM, da Cruz Santos A, & Silva AS. (2014).** Chia flour supplementation reduces blood pressure in hypertensive subjects. *Plant foods for human nutrition*, 69(4), 392-398.
83. **Ullah R, Nadeem M, Khalique A, Imran M, Mehmood S, Javid A, & Hussain J. (2016).** Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. *Journal of food science and technology*, 53(4), 1750-1758.
84. **Valdivia-López MÁ, & Tecante A. (2015).** Chia (*Salvia hispanica*): une revue des semences indigènes du Mexique et de leurs propriétés nutritionnelles et fonctionnelles. Dans *Advances in food and nutrition research* (Vol. 75, pp. 53-75). Presse académique.
85. **Vuksan V, Jenkins AL, Brissette C, Choleva L, Jovanovski E, Gibbs AL, ...& Duvnjak L. (2017).** Salba-chia (*Salvia hispanica* L.) in the treatment of overweight and obese patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 27(2), 138-146.

86. **Wang J, Mazza G. (2002).** Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor α in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4183-4189.
87. **Wolin MS, Ahmed M, Gupte SA. (2005)** .Oxidant and redox signaling in vascular oxygen
88. **Yu Z, Dahlgren RA. (2005).** Evaluation of methods for measuring polyphenols in copper foliage. *J.Chem.Ecol.* (26) :2119-2140.
89. **Berman M. (2019).** Les graines de chia sont riches en nutriments mais ont-elles des avantages spécifiques pour la santé?[**en ligne**].(écrit le 30 mai 2019). Disponible sur <https://healthybutsmart.com chia-seeds/> (consulté le 03/06/2020).
90. **Bjarnadottir A. (2019).** Chia Seeds 101: valeur nutritive et bienfaits pour la santé.healthline.[**en ligne**].(écrit le 12 mars 2019) disponible sur <https://www.healthline.com/nutrition/foods chia-seeds#nutrition> (Consulté 03/06/2020).
91. Chia Seeds 101: Nutrition Facts and Health Benefits.healthline. [**en ligne**]. (écrit le 12 mars 2019). Disponible sur <https://www.healthline.com/nutrition/foods chia-seeds#benefits> (consulté le 03/06/2020).
92. Chia-mexicaine sauge-salvia Hispanica - 100+ graines.[**en ligne**].(écrit le 09 juin 2020). Disponible sur <https://www.ebay.fr/itm/Chia-Mexikanische-Salbei-Salvia-hispanica-100-Samen-/262781660241> (consulté le 21/05/2020).
93. Faut-il vraiment se précipiter sur les graines de chia?. [**en ligne**]. (écrit le 28 février 2016). Disponible sur <https://www.espace-nutrition.ch/data/web/espace-nutrition.ch/uploads//Articles,%20brochures/le-matin-dimanche-graines-de chia-fa.pdf>
94. **Gunnars K. (2018).** 11 avantages prouvés pour la santé des graines de chia.healthline.[**en ligne**]. (écrit le 8 août 2018) Disponible sur <https://www.healthline.com/nutrition/11-proven-health-benefits-of chia-seeds> (consulté le 20/05/2020).
95. <http://www.ddiffusion.com/stress-oxytatif.html>
96. https://fracademic.com/pictures/frwiki/67/Cyanidin_structure.png
97. <https://www.drplasaki.fr/anti-age/stress-oxydant/>

98. https://www.researchgate.net/figure/Structure-de-lacide-gallique-a-gauche-et-dun-tannin-gallique-le_fig4_283816508
99. Le central de références sur la nutrition de l'université de montréal.[en ligne]. (Écrit le 10 avril 2014) disponible sur <https://extenso.org/article/les-aliments-fonctionnels/> (consulté 13/06/2020).
100. **Mandal A., (2019)**. Systèmes antioxydants d'enzymes.[en ligne].(écrit le 26 février 2019) Disponible sur [https://www.news-medical.net/health/Antioxidant-Enzyme-Systems-\(French\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Antioxidant-Enzyme-Systems-(French).aspx) (Consulté. 12/06/2020).
101. **Marianela I Capitani , Vanesa Y Ixtaina, Susana M Nolasco, Mabel C Tomás. (2013)**. Microstructure, Chemical Composition and Mucilage Exudation of Chia (*Salvia Hispanica* L.) Nutlets From Argentina. [en ligne]. Disponible sur <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23900918/> (consulté le 01/06/2020).
102. Olivier .un étudiant québécois de 18 ans aurait-il découvert le remède à un cancer des plus mortels. [en ligne].(écrit le 11 mai 2015). Disponible sur <https://www.rcinet.ca/fr/2015/05/11/un-etudiant-quebecois-de-18-ans-aurait-il-decouvert-le-remede-a-un-cancer-des-plus-meurtrier/>. (consulté le 20/05/2020).
103. **OMS (Organisation Mondiale de la Santé)**. (Page consultée le 14 juin 2020) – *OMS / Nutrition*, [En ligne]. Adresse URL : <http://www.emro.who.int/fr/>.
104. **pillou JF (2013)**. Le journal des femmes. Disponible sur <https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/20873-nutrition-definition>.
105. **Sass, C. (2020)**. 7 Chia Seed Benefits, According to a Nutritionist.[en ligne]. (écrit le 3 février 2020). Disponible sur <https://www.health.com/food/chia-seed-benefits>.
106. **West W. (2019)**. 35 Fun Ways to Eat Chia Seeds.*healthline*. [en ligne].(écrit le 29 avril 2019).Disponible sur <https://www.healthline.com/nutrition/35-ways-eat-chia-seeds>. (consulté le 1/06/2020).
107. **Wolfram T. (2018)**. Quelles sont les graines de chia. academy of nutrition and dietetics .[en ligne].(écrit le 23 mars 2018). Disponible sur <https://www.eatright.org/food/vitamins-and-supplements/nutrient-rich-foods/what-are-chia-seeds>.
108. **Youssef C. (2020)**. بذور الشيا.. فوائد كثيرة وأعراض جانبية قليلة. [En ligne]. (écrit le 13 mai 2020)
109. **Zelman k. (2010)**. The truth about chia.[en ligne]. Disponible sur <https://www.webmd.com/diet/features/truth-about-chia> (consulté le 05/06/2020).

Annexe

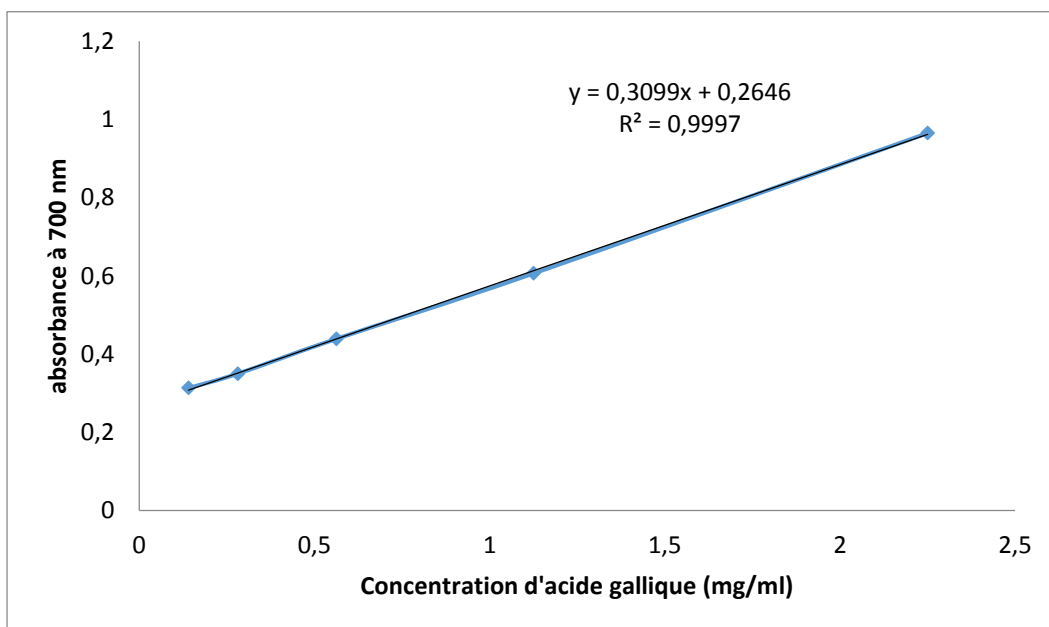
➤ **Courbe d'étalonnage pour le dosage des Sucres totaux**



Annex a : Courbe d'étalonnage du glucose pour le dosage des sucres totaux

➤ **Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux**

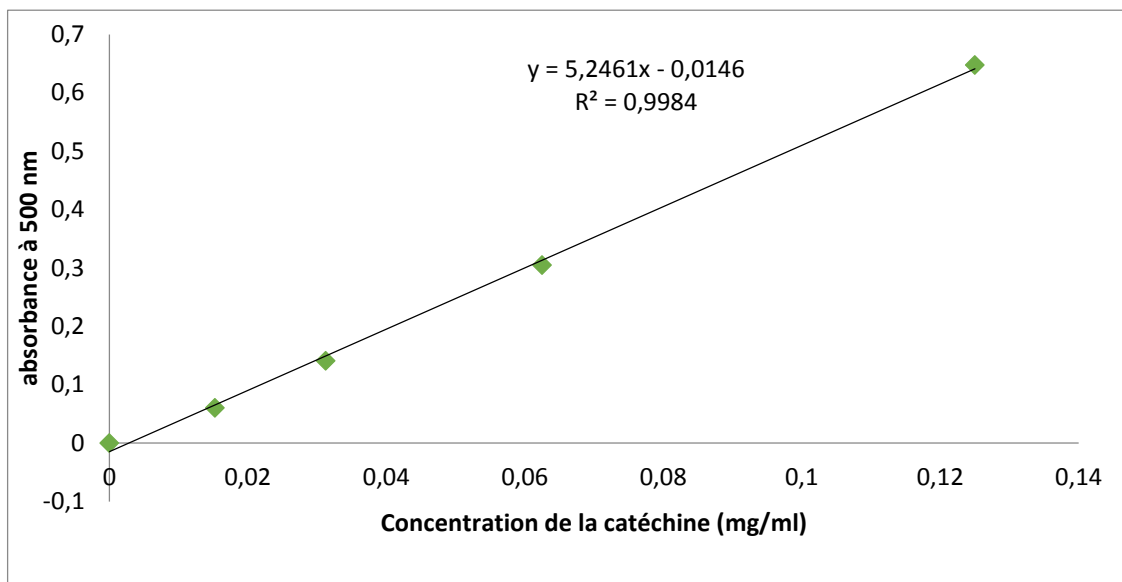
Cette courbe est établie en utilisant l'acide gallique comme référence. La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9997$.



Annex b : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

➤ **Courbe d'étalonnage pour le dosage flavonoïdes**

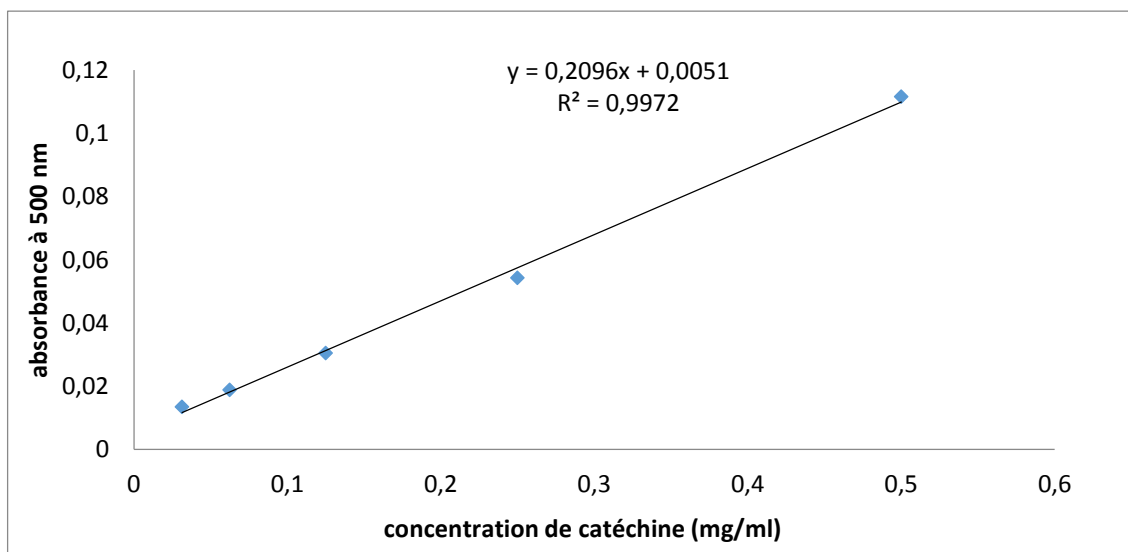
La courbe suivante est établie en utilisant comme référence la Catéchine et le coefficient de corrélation $R^2 = 0,9984$.



Annex c : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

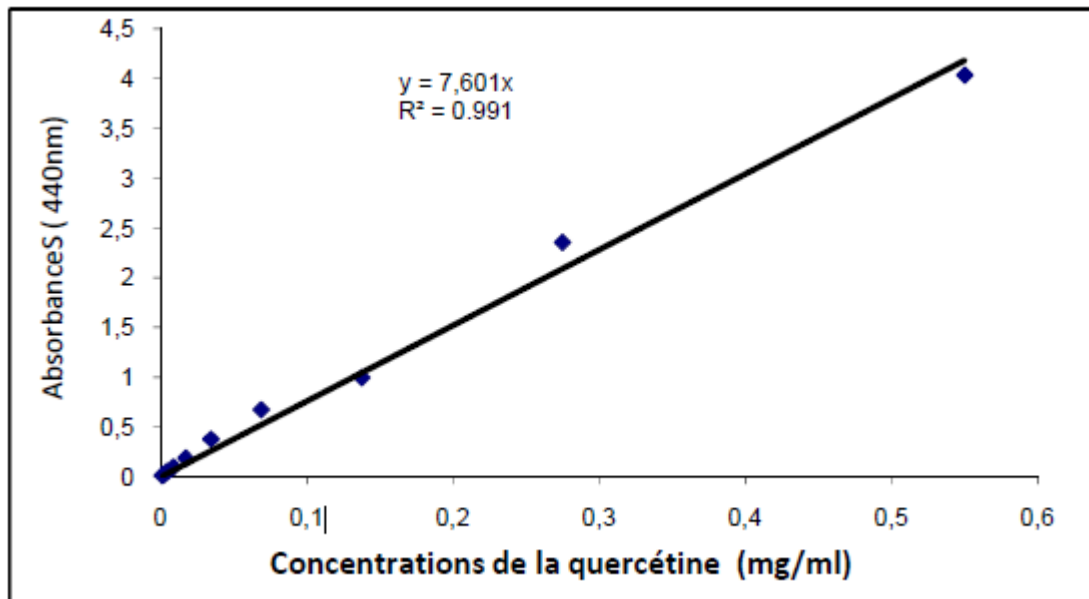
➤ **Courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins condensés**

Le composé de référence utilisé pour l'établissement de cette courbe est la Catéchine. La courbe est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9972$.



Annex d : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

➤ Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonols



Annex e : Courbe d'étalonnage de la Quercetine pour le dosage des flavonols

Résumé

Il a été prouvé au cours des dernières années que les aliments fonctionnels jouent un rôle important dans la promotion de la santé humaine et la réduction de diverses maladies, grâce aux nutriments de base et aux phytonutriments qu'ils contiennent. Les graines de Chia ne sont pas nouvelles dans l'alimentation. Elles ont été utilisées même à l'époque précolombienne par les Aztèques comme denrées alimentaires. Ces graines sont considérées comme un aliment fonctionnel car elles apparaissent comme une source importante de fibres alimentaires (solubles et insolubles), d'acides gras (oméga-3), de protéines, de composés biologiquement actifs et polyphénoliques. Le premier volet de notre étude sur les graines de Chia a pour but la détermination quantitative des métabolites primaires via le dosage des sucres totaux avec des techniques colorimétriques, la détermination de la teneur en matière grasse qui a été réalisée dans un appareil approprié de type soxhlet avec un solvant organique, et enfin la détermination de la teneur en cendres basé sur l'incinération dans un four à moufle. Le deuxième volet basé sur l'extraction et le dosage des phénols totaux, des flavonoïdes, des flavonols et des tanins condensés et hydrolysables par le réactif de Folin-ciocalteu, le trichlorure d'aluminium, par le test de vanilline et par le chlorure ferrique respectivement. La dernière partie est l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des graines de *Salvia hispanica* L qui est déterminée in vitro en utilisant la capacité antioxydante totale. Les résultats obtenus, ont montré la présence des sucres totaux à raison de 40.15%, une teneur en matière grasse de 32.29% ainsi que 6,56% en cendres. La détermination des teneurs en polyphénols a révélé une teneur élevée en polyphénols totaux avec 19.06 mg EAG/g MS, suivi des flavonols avec 12.30 mg EC/g MS, et des tanins condensés 10.87 mg EC/g MS, des flavonoïdes avec 8.32 mg EC/g MS, alors que la plus faible teneur est marquée par les tanins hydrolysables avec 0.13 mg EC/g MS. L'évaluation du pouvoir antioxydant par la CAT a révélé que les extraits de l'espèce végétale étudiée présentent des propriétés antioxydantes à différentes concentrations. Les extraits les plus efficaces sont : la fraction éther diéthylique et l'extrait polyphénoliques avec des capacités de 22.62 mg EAA/g, et 18.88 mg EAA/g respectivement, suivi par la fraction n-butanolique, la phase aqueuse, la fraction d'acétate d'éther, et l'extrait tannique. En conclusion, il est probable que les graines de *Salvia hispanica* L. peuvent être considérées comme aliment fonctionnel ou un nutraceutique efficace, capable de prévenir ou de ralentir le développement de maladies chroniques et de promouvoir une meilleure santé, une meilleure qualité de vie et une plus grande longévité.

Mots clés : *Salvia hispanica* L, graines de Chia, composés phénoliques, activité antioxydante, CAT.

Abstract:

Functional foods have been proven in recent years to play an important role in promoting human health and reducing various diseases, thanks to the basic nutrients and phytonutrients they contain. Chia seeds are not new to food. They were used even in pre-Columbian times by the Aztecs as food. These seeds are considered a functional food because they appear as an important source of dietary fiber (soluble and insoluble), fatty acids (omega-3), proteins, biologically active and polyphenolic compounds.

The first part of our study on Chia seeds aims at the quantitative determination of primary metabolites via the determination of total sugars with colorimetric techniques, the determination of the fat content which was carried out in an appropriate device of the soxhlet type with an organic solvent, and finally the determination of the ash content based on the incineration in a muffle furnace. The second component based on the extraction and determination of total phenols, flavonoids, flavonols and tannins condensed and hydrolyzable by the Folin-ciocalteu reagent, aluminum trichloride, by the vanillin test and by ferric chloride respectively.

The last part is the evaluation of the antioxidant activity of the extracts of the seeds of *Salvia hispanica* L which is determined in vitro using the total antioxidant capacity.

The results obtained showed the presence of total sugars at 40.15%, a fat content of 32.29% and 6.56% in ashes. The determination of polyphenol contents revealed a high content of total polyphenols with 19.06 mg EAG / g DM, followed by flavonols with 12.30 mg EC / g DM, and condensed tannins 10.87 mg EC / g DM, flavonoids with 8.32 mg EC / g DM, while the lowest content is marked by hydrolyzable tannins with 0.13 mg EC / g DM. The evaluation of antioxidant power by the CAT revealed that the extracts of the plant species studied have antioxidant properties at different concentrations. The most effective extracts are: the diethyl ether fraction and the polyphenolic extract with capacities of 22.62 mg EAA / g, and 18.88 mg EAA / g respectively, followed by the n-butanolic fraction, the aqueous phase, the fraction ether acetate, and tannic extract. In conclusion, it is likely that the seeds of *Salvia hispanica* L. can be represented as an effective functional or non-nutraceutical food, capable of preventing or slowing the development of chronic diseases and promoting better health, a better quality of life and a greater longevity.

Key words: *Salvia hispanica* L, Chia seeds, phenolic compounds, antioxidant activity, CAT.

ملخص

أثبتت الأغذية الوظيفية في السنوات الأخيرة أنها تلعب دورًا مهمًا في تعزيز صحة الإنسان وتقليل الأمراض المختلفة، وذلك بفضل العناصر الغذائية الأساسية والمغذيات النباتية التي تحتوي عليها. بذور الشيا ليست جديدة على النظام الغذائي. تم استخدامها حتى في العصر ما قبل كولومبوس من قبل الأزتيك كغذاء. تعتبر هذه البذور غذاء وظيفيًا لأنها تبدو كمصدر مهم للألياف الغذائية (القابلة للذوبان وغير القابلة للذوبان) والأحماض الدهنية (أوميغا 3) والبروتينات والمركبات النشطة بيولوجيًا والمركبات متعددة الفينول.

يهدف الجزء الأول من دراستنا حول بذور الشيا إلى التحديد الكمي للمستقلبات الأولية من خلال تحديد السكريات الكلية بتقنيات قياس الألوان، وتحديد محتوى الدهون الذي تم إجراؤه في جهاز مناسب من نوع سوكسليت مع مذيب عضوي، وأخيرًا تحديد محتوى الرماد على أساس الترميد في فرن دثر. يعتمد الجزء الثاني على استخلاص وتقدير إجمالي الفينولات والفلافونيدات والفلافونول والتانينات المكثفة والمحللة بواسطة كاشف فولين سيوكالتيو، ثلاثي كلوريد الألومنيوم، عن طريق اختبار الفانيلين وكلوريد الحديدك الجزء الأخير هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات بذور سالفيا هيسبانيكا L والتي يتم تحديدها في المختبر باستخدام السعة الإجمالية لمضادات الأكسدة.

أوضحت النتائج وجود سكريات إجمالية بنسبة 40.15% ومحتوى دهني 32.29% و6.56% رماد. كشف تحديد محتويات البولي فينول عن محتوى عالي من البولي فينول الكلي مع 19.06 مجم / EAG جم SM، يليه الفلافونول مع 12.30 مجم / EC جم SM، والتانينات المكثفة 10.87 مجم / EC جم SM، والفلافونيدات مع 8.32 مجم / EC جم SM، بينما يتم تمييز المحتوى السفلي بالتانينات القابلة للتحلل بالماء مع 0.13 مجم / EC جم SM. كشف تقييم CAT المضاد للأكسدة أن المستخلصات من الأنواع النباتية التي تمت دراستها تظهر خصائص مضادة للأكسدة بتركيزات مختلفة. وأكثر المستخلصات فعالية هي: جزء إيثيل ثنائي إيثيل ومستخلص بوليفينوليك بسعات 22.62 مجم / EAA جم، و18.88 مجم / EAA جم على التوالي، يليه جزء n-بيوتانول، المرحلة المائية، جزء مائي خلات الأثير، وخالصة التانينك. في الختام، من المحتمل أن بذور سالفيا هيسبانيكا إل يمكن اعتبارها غذاء وظيفيًا أو مغذيًا فعالًا قدرًا على منع أو إبطاء تطور الأمراض المزمنة وتعزيز صحة أفضل ونوعية حياة أفضل وطول العمر أكبر.

الكلمات المفتاحية: *Salvia hispanica* L، بذور الشيا، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، CAT