

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI TIZI-OUZOU



**Faculté des sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie-Microbiologie**

**Rapport de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en biologie**

Option : Biochimie appliquée

THEME

**Evaluation physicochimique de
quelques produits alimentaires
commercialisés**

Présenté par :

-KACHER Katia

-BOUAGAL Lyna

Devant le jury :

Président du jury : M^{me} GHEZALI-SENOUSSI Chahra

Promotrice: M^{me} OULARBI-SENANI Nassima

Examinatrice : M^{me} ZENNIA- SI AHMED Saliha

Examinatrice : M^{me} BEDOUHENE-FENANE Samia

Maitre assistante à l'UMMTO

Maitre assistante à l'UMMTO

Maitre assistante à l'UMMTO

Maitre assistante à l'UMMTO

Promotion 2014-2015

REMERCIEMENTS

Notre premier remerciement va à dieu tout puissant, qui nous a permis de mener à bien ce travail.

Nous tenons à remercier vivement notre promotrice Mme OULARBI-SENANI Nassima, pour sa gentillesse et ses précieux conseils et qui nous a aidés pour terminer ce mémoire.

On remercie énormément la présidente du jury Mme GHEZALI-SENOUSSI Chahra pour sa disponibilité et d'avoir accepté d'examiner ce travail.

On remercie les membres du jury, Mme ZENNIA- SI AHMED Saliha et Mme BEDOUHENE-FENANE Samia, d'avoir acceptés d'examiner et d'évaluer ce travail et l'enrichir avec leurs expériences et leurs remarques.

On remercie également la technicienne du laboratoire, qui nous a facilité la tâche pendant notre stage, ainsi que toute personne qui nous a aidés de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail et tous les enseignants qui nous ont donnés le savoir tout au long de notre cursus.



Dédicaces

Je dédie cet humble travail :

A mes chers et respectueux parents BOUSSAD et EL DJIDA pour leur amour, leur affection et leur aide précieux. Puisse Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé et bonheur. A ma défunte grand-mère, qui m'a énormément aidé, tu va rester graver dans ma mémoire à jamais, à mon grand-père que Dieu le garde en bonne santé. A ma famille Kacher et Mokhtari, mes deux frères Ali et Hakim, ma sœur Thamila. A mes tantes, mon oncle, mes cousins et cousines.

A mes ami(e) s et mes camarades de classe surtout Ouassila, Zaina et Sarah: En témoignage de ma sincère amitié, veuillez trouver dans ce travail, mon profond hommage.

A tous ceux qui m'ont aidé dans l'élaboration de ce travail.

KATIA

A la mémoire de ma grand-mère, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mes sœurs

A toute ma famille ainsi qu'à mes amis.

LYNA



LISTE DES ABREVIATIONS

ADO	Antidiabétiques oraux
ADP	Adénosine diphosphate
ATP	Adénosine triphosphate
BSA	Albumine Sérique Bovine
CCDV	Canaux calciques dépendants du voltage
DG	Le diabète gestationnel
DID	Diabète insulino-dépendant
DNID	Diabète non insulino-dépendant
DNS	Acide 3, 5 dinitrosalicylique
DPIP	Dichlorophénol indophénol
DPP-IV	La dipeptidyl peptidase-4
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
GLUT2	Glucose transporteur 2
GLUT4	Glucose transporteur 4
IMC	Indice de masse corporel
IR	Insulino-résistance
IRS-1	Insulin Receptor Substrate 1
MP	Membrane plasmique
OMS	Organisation mondiale de la Santé
PAGE	Electrophorèse sur gel de polyacrylamide
pH	Potentiel d'hydrogène
PP	Polyphénols
PPAR-γ	Peroxisome proliferator-activated receptor- γ
PTP1B	Protéine tyrosine phosphatase 1B
SDS	Dodecyl sulfate de sodium
SGLT1	Transporteur glucose sodium 1
SGLTs	Transporteur glucose sodium
TCA	Acide trichloracétique

LISTES DES TABLEAU, FIGURES ET ANNEXES

N° du tableau	Titre du tableau	page
I	Les antidiabétiques oraux	09
II	Aperçu de quelques constituants alimentaires présentant des propriétés antidiabétiques et leurs mécanismes d'action.	15
III	principales classes de composés phénoliques	17
IV	Comparaison des teneurs en vitamine C dans différent jus	28
V	Comparaison des indices d'acides dans différentes matières grasses.	30
VI	Résultats des indices d'iode des différentes matières grasses étudiés	31
VII	Comparaison de la teneur en glucides dans différents échantillons de jus	33
VIII	Comparaison de la teneur en protéines dans différents échantillons	34

N° de figure	Titre de la figure	page
01	Prévalence du diabète selon l'âge et le sexe	04
02	Schéma représentatif du mécanisme de sécrétion de l'insuline par les cellules β du pancréas induit par le glucose	05
03	Mécanisme biochimique de l'action de l'insuline	06
04	La résistance à l'insuline et sa progression vers le diabète de type 2	06
05	Les principales étapes de la digestion des sucres	11
06	Représentation schématique de l'absorption du glucose dans l'intestin grêle	12
07	Schéma représentant la cinétique du transport de glucose par un transporteur GLUT	13
08	Les différentes voies de digestion et d'absorption des polyphénols	18
09	Schéma réactionnel de la réduction du DNS en acide 3-amino-5-nitrosalicylique	24
10	photographie de l'unité d'électrophorèse sur mini cuve	26
11	Comparaison de la teneur en vitamine C dans différent jus de fruits	28
12	Comparaison des indices d'acides dans différentes matières grasses	30
13	Comparaison des indices d'iodes dans différentes matières grasses.	32
14	Courbe étalon représentant les densités optiques en fonction des concentrations en glucides dans le jus light	33
15	Comparaison de la teneur en glucides dans différent jus commercialisés	33
16	Courbe étalon du dosage des protéines d'un jus lacté	34
17	Chromatogramme des protéines sériques camelines et bovine	36
18	Profil électrophorétique des protéines sériques bovines et camelines en PAGE-native	38
19	Profil électrophorétique des hydrolysats de caséines bovines et de protéines du blanc d'œuf	40

Sommaire

I. Synthèse des données bibliographiques

1.1. Introduction.....	01
1.2. Métabolisme des glucides.....	02
1.2.1. Digestion des glucides.....	02
1.2.2. Absorption du glucose.....	03
1.2.3. Transport intestinal du glucose.....	04
1.3. Le diabète.....	05
1.3.1. Définition du diabète	05
1.3.2. Classification du diabète.....	06
1.3.3. Physiopathologie du diabète de type 2	07
1.3.4. Traitements du diabète de type 2.....	11
1.3.4.1. Traitement non pharmacologique	11
1.3.4.2. Traitement pharmacologique.....	12
1.4. Propriétés antihyperglycémiantes de quelques substances naturelles	14
1.4.1. Définition des polyphénols.....	17
1.4.2. Structure chimique et Classification des polyphénols.....	17
1.4.3. Absorption intestinale des polyphénols.....	18
1.4.4. Propriétés pharmacologiques des polyphénols.....	19
1.4.5. Inhibition du transport intestinale du glucose par les polyphénols.....	20
1.5. Conclusion.....	21

II. Stage pratique

2.1. Introduction.....	22
2.2. Matériels et méthodes.....	22
2.2.1. Matériels.....	22
2.2.2. Les méthodes expérimentales.....	23
2.2.2.1. Méthodes physicochimiques.....	23

2.2.2.1.1. Dosage de la vitamine C dans un jus d'orange.....	23
2.2.2.1.2. Détermination des indices d'acidité et d'iode d'une matière grasse.....	23
2.2.2.1.3. Dosage des glucides, méthode utilisant l'acide 3,5 dinitrosalicylique (DNS).....	24
2.2.2.1.4. Dosage des protéines en utilisant la méthode de Lowry et al (1951).....	24
2.2.2.2. Les méthodes de séparation et purification (méthodes chromatographique).....	25
2.2.2.2.1. Chromatographie de perméation sur gel de SEPHACRYL S200.....	25
2.2.2.3. Méthodes de caractérisation (méthodes électrophorétiques).....	25
2.2.2.3.1. Hydrolyse enzymatique des protéines du lait par la papaïne.....	25
2.2.2.3.2. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE native) et en conditions dénaturantes en présence de SDS (PAGE SDS).....	25
2.3. Résultats et discussions.....	28
2.3.1. Résultats physicochimiques.....	28
2.3.1.1. Teneur en vitamine C dans différent jus de fruits.....	28
2.3.1.2. Détermination des indices d'iode et d'acidité d'une matière grasse.....	30
2.3.1.2.1. L'indice d'acide.....	30
2.3.1.2.2. L'indice d'iode.....	31
2.3.1.3. Dosage des glucides, méthode utilisant l'acide 3,5 dinitrosalicylique (DNS).....	32
2.3.1.4. Résultats du dosage des protéines.....	34
2.3.2. Les méthodes de séparation et purification (méthodes chromatographique).....	36
2.3.3. Méthodes de caractérisation (méthodes électrophorétiques).....	37
Conclusion.....	41

Références bibliographiques

Annexes

Glossaire

Résumé

Au cours des deux dernières décennies, la prévalence du diabète a augmenté de façon spectaculaire, l'objectif principal dans le traitement de cette maladie métabolique est de maintenir les niveaux de glucose dans le sang. Les stratégies actuelles antihyperglycémiques utilisées pour atteindre cet objectif comprennent l'intervention de style de vie ainsi que les traitements pharmacologiques.

La concentration de glucose présente dans le sang détermine la glycémie. Elle est finement régulée par deux hormones essentielles : l'insuline et le glucagon.

De nombreuses études épidémiologiques ont suggéré qu'il existe une relation entre la consommation de produits alimentaires spécifiques, ou les facteurs alimentaires, et l'incidence du diabète, elles ont montré aussi que les métabolites secondaires des végétaux peuvent moduler l'absorption du glucose dans l'intestin grêle.

Dans cette optique, cette synthèse bibliographique a pour but de donner un aperçu sur ces métabolites secondaires en particulier les polyphénols ainsi que leur mécanisme d'action qui reste jusqu'à aujourd'hui mal connu, mais il reste évident que la consommation de certains aliments riches en polyphénol comme les tanins, les saponosides et les flavonoïdes, contribue à la régulation de certaines perturbations du diabète.

Mot clés :

Diabète, glucose, métabolites secondaires, intestin grêle, polyphénols, flavonoïdes.

Abstract

Over the past two decades, the prevalence of diabetes has increased dramatically; the primary goal in the treatment of this metabolic disease is to maintain glucose levels in the blood. The antihyperglycemic current strategies used to achieve this goal include lifestyle intervention and pharmacological treatments.

The concentration of glucose present in the blood determined blood sugar. It is tightly regulated by two essential hormones: insulin and glucagon.

Large epidemiological studies have suggested that a relationship exists between the consumption of specific foods or dietary factors and the incidence of diabetes, they have also shown that the secondary metabolites of plants can modulate glucose uptake in the small intestine.

On this optic, this literature review come in order to give an overview on these secondary metabolites in particular polyphenols and their mechanism of action remains poorly understood until now, but it remains clear that the consumption of some foods rich in polyphenol as tannins, saponins and flavonoids, contributes to the regulation of some disturbances of diabetes.

Key words:

Diabetes, glucose, secondary metabolites, small intestine, polyphenols, flavonoids.

Synthèse des données bibliographiques

**Effet antidiabétique des substances
naturelles d'origine végétal, en particulier
les polyphénols et leur effet sur
l'absorption du glucose au niveau de
l'intestin**

1.1. Introduction

Selon le rapport de l'OMS (2014), le diabète est un groupe hétérogène de troubles qui perturbent le métabolisme des glucides, des graisses et des protéines et qui résulte d'une pénurie ou, un manque de sécrétion d'insuline et / ou la diminution de la sensibilité du tissu à l'insuline.

Malgré les progrès sur la compréhension et la gestion de ce trouble métabolique, le taux de la morbidité et de la mortalité est en augmentation chaque année. Environ 285 millions de personnes ont été diagnostiquées avec le diabète sucré dans le monde et ce chiffre devrait doubler d'ici l'an 2030 (LEITERS *et al*, 2013). Il existe essentiellement deux types de diabète sucré, type1 et type2. Le Type 1 représente seulement 3-5% de patients diabétiques. La grande majorité des diabétiques sont de type 2 qui représente environ 95% à travers le monde (WALYETAL, 2010).

Divers médicaments antidiabétiques tels que les biguanides, les sulfonylurées, les méglitinides, β -glucosidase, sont actuellement disponibles pour réduire, contrôler et gérer le diabète sucré. La plupart des classes de ces médicaments ont des effets secondaires. En effet, les sulfonylurées, peuvent causer des maux de tête, complication mortelle et un gain de poids (CAMPBELL *et al*, 1995), ainsi que des troubles gastro-intestinaux et cardiovasculaires. La metformine (sous classe des biguanides) conduit à des nausées transitoires, de l'anorexie ou de la diarrhée, des douleurs abdominales et une acidose lactique avec insuffisance rénale sévère (LALAU *et al*, 1995).

Les plantes médicinales, les herbes, et leurs dérivés ont été utilisé depuis des siècles dans le traitement traditionnel du diabète, et sont étudiés de manière intensive pour leurs mécanismes d'action et leurs principes actifs (AGGARWAL, 2011 ; MARLES *et al*, 1995). Au cours des dernières décennies, de nombreuses études ont été menées pour tenter d'identifier les constituants antidiabétiques d'origine naturelle et leurs mécanismes d'action. Ces substances bioactive, y compris les fibres solubles et phénoliques, ont montré diverses propriétés anti hyperglycémiantes, telles que l'activité inhibitrice contre les enzymes digestives, un effet sur la sécrétion de l'insuline, et l'activation ou l'inhibition des récepteurs impliqués dans le métabolisme du glucose. Les antidiabétiques naturels pourraient représenter une approche complémentaire intéressante dans la gestion du diabète et pourraient remplacer le traitement pharmaceutique.

L'objectif de ce travail est de présenter un aperçu sur ces diverses molécules bioactives contenues dans les plantes médicinales, en particulier, les polyphénols, leur mode d'action ainsi que leur effet sur l'absorption du glucose au niveau intestinal.

1.2. Métabolisme des glucides

Le glucose est le principal substrat énergétique nécessaire au fonctionnement et à la survie des cellules humaines. En effet, tandis que la majorité des cellules telles que les cellules musculaires et adipeuses peuvent utiliser les acides gras comme carburant de substitution, les neurones et les érythrocytes, pour leur part, utilisent exclusivement le glucose comme substrat énergétique, ce qui requiert un apport continu en glucose (FERRE, 2005). Rapidement digérés, les glucides circulent dans le sang sous forme de glucose qui est, soit consommé par les tissus, soit stocké dans le foie (GRIMALDI, 2009). Le glucose est obtenu essentiellement de deux manières : directement de l'alimentation ou dérivant du glycogène qui est principalement stocké dans le foie (YAMASHITA *et al*, 2001 ; WOOD et TRAYHURN, 2003 ; POSTIC *et al*, 2007). Le glucose obtenu par l'alimentation est transféré de la lumière de l'intestin grêle à la circulation sanguine et par la suite dans la cellule cible pour être utilisé comme source d'énergie ou stocké en cas d'excès comme glycogène hépatique ou comme triglycérides (YAMASHITA *et al*, 2001 ; WOOD et TRAYHURN, 2003 ; POSTIC *et al*, 2007)

1.2.1. Digestion des glucides

La digestion des glucides est une voie métabolique d'hydrolyse des polysides en oligosides, puis en oses simples, qui se déroule principalement dans l'intestin (figure 05). Les entérocytes sécrètent des enzymes qui achèvent la digestion des glucides (osidases) (RAISONNIER, 2004).

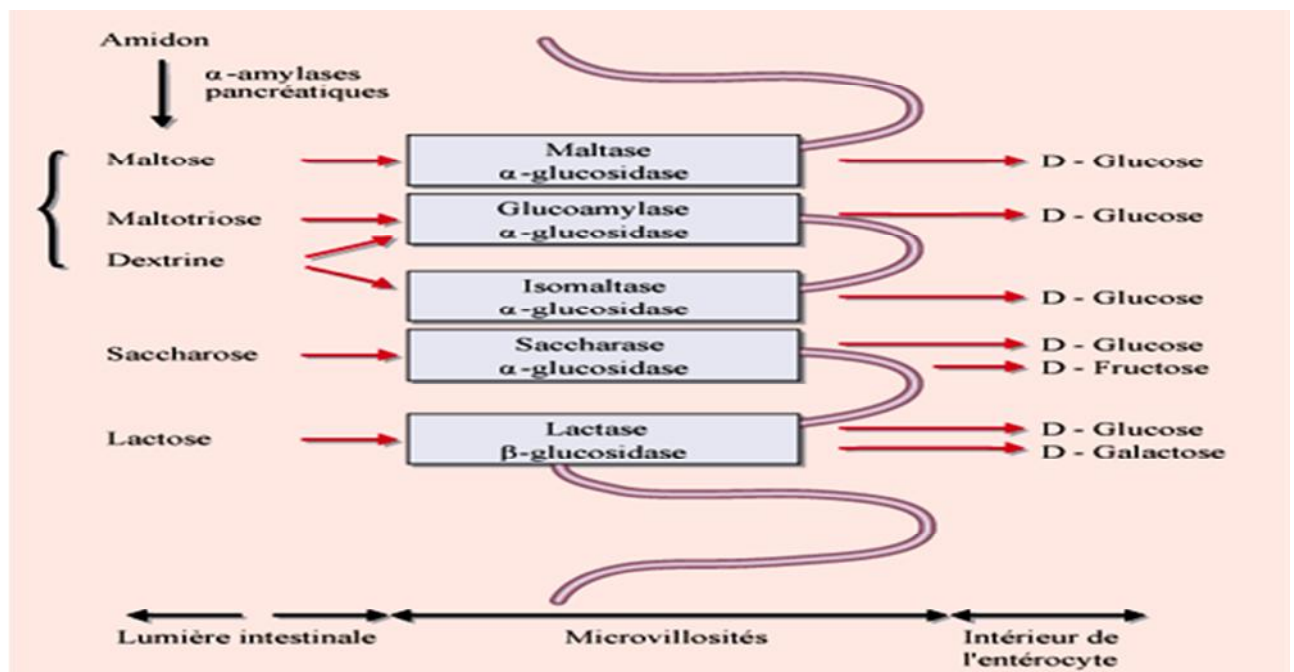


Figure 05 : Les principales étapes de la digestion des sucres (ALLANNIC *et al*, 1997)

L' α -amylase (EC 3.2.1.1) hydrolyse les liaisons α -1,4-glucosidiques à la fois en amylose et amylopectine, mais ne peut pas hydrolyser la α -1,6-glycosidiques qui forment les points de branchement. Après, par hydrolyse de l'amidon par l' α -amylase, les produits sont les malto-oligosaccharides, constitués de deux ou plus d'unités α -1,4 de glucose liés, ainsi que des dextrines limitées, qui contiennent des unités α -1,6 non clivée de glucose (GUZMAN-MALDONADO et PAREDES-LOPEZ, 1995).

La Sucrase et la maltase hydrolysent les disaccharides. Le Saccharose est le glucose lié au fructose, est hydrolysé par la sucrase dans l'intestin. Cette enzyme est isolée de la muqueuse intestinale en une seule chaîne polypeptidique qui hydrolyse également l'isomaltose (SIM *et al*, 2010). Le maltose est le produit final de la digestion de l'amidon par l' α -amylase, et se compose de 2 unités de glucose liés par une liaison α -1,4.

1.2.2. Absorption du glucose

Une fois digérés complètement, le glucose est le principal produit alimentaire de l'amidon et des disaccharides. Comme il est très hydrophile et ne peut pas traverser les membranes biologiques sans aide, il est absorbé et déplacé autour du corps entre les tissus par les transporteurs, principalement comprenant les familles GLUT et SGLTs (SIM *et al*, 2010). Ceux-ci fonctionnent en déplaçant le glucose d'un compartiment à un autre à travers une membrane biologique, en particulier, à partir de l'extérieur de la cellule vers l'intérieur, ou vice versa. Dans le diabète, un grand nombre d'enzymes et de transporteurs qui sont responsable de l'absorption des sucres dans l'intestin sont régulée à la hausse (figure 06).

Selon DYER *et al* (2002), chez les diabétiques de type 2, les niveaux de protéine de SGLT1 sont augmentés jusqu'à quatre fois dans le duodénum, et de même pour les enzymes de la bordure en brosse telles que la sucrase et la lactase qui sont augmentés de deux à trois fois et GLUT2 est également triplé. Les vésicules membranaires de la bordure en brosse de biopsies duodénales de patients diabétiques absorbent le glucose environ triple fois plus rapidement que l'équivalent des sujets témoins. La α -amylase est également plus élevé chez les diabétiques (AYDIN, 2007).

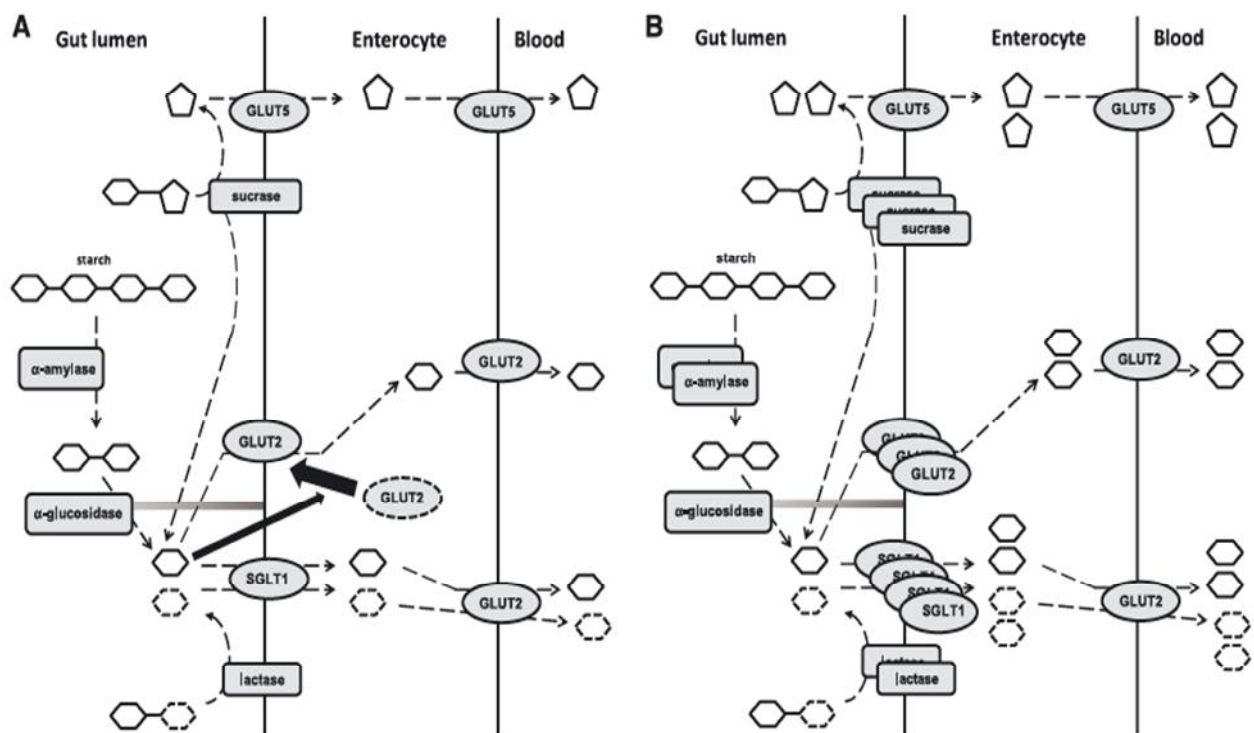


Figure 06 : Représentation schématique de l'absorption du glucose dans l'intestin grêle selon WILLIAMSON (2013).

Flèches brisées montrent la médiation de la réaction de l'enzyme ou du transporteur. Les Flèches noires montrent les voies de régulation. (A) La situation normal d'un individu sain et (B) la situation chez les patients diabétiques où les niveaux de nombreuses enzymes métabolisant le sucre et les transporteurs sont régulés positivement, débouchant sur une amélioration de l'absorption postprandiale de glucose dans le sang et la tolérance au glucose dans un test de tolérance au glucose par voie orale. Le cycle à six chaînons représente le glucose, le cycle à cinq chaînons représente le fructose et le cycle à six chaînons avec ligne brisée représente le galactose.

1.2.3. Transport intestinal du glucose

Dans l'intestin, le glucose est principalement transportée Par deux transporteurs de glucose : transporteur dépendant du sodium 1 (SGLT1) lorsque la concentration de glucose luminale est faible et par le transport facilité de glucose 2 (GLUT2) lorsque la concentration luminale de glucose est élevé (MANZANO et WILLIAMSON, 2010).

Le transfert des molécules de glucose se fait par un changement de conformation du transporteur, exposant de façon alternative deux sites de liaison au glucose. Un premier site fait face à l'extérieur de la cellule (exofacial), et un second site fait plutôt face à l'intérieur de la cellule (endofacial). Lorsque le glucose se lie au site exofacial, le transporteur change de conformation (figure 07). Des analyses par mutagenèse dirigée de ces sites de liaison ont permis d'identifier les résidus des domaines transmembranaires qui composent distinctement le site exofacial et endofacial. L'extrémité C-terminale est aussi importante puisque sa

délétion bloque le transporteur en conformation « face vers l'intérieur », empêchant donc le transport. (OKA *et al*, 1990).

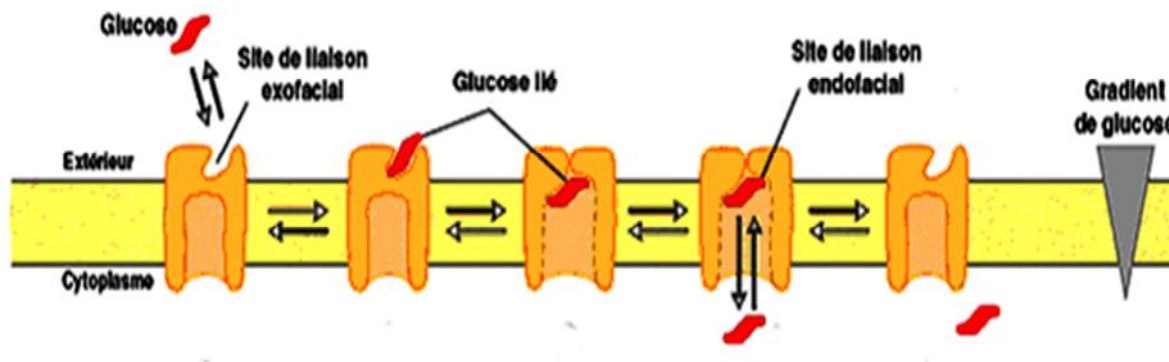


Figure 07 : Schéma représentant la cinétique du transport de glucose par un transporteur GLUT (THORENS, 1996).

1.3. Le diabète

1.3.1. Définition du diabète

Le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit (OMS, 2015).

Le diabète sucré se définit aussi par une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26g/l (7mmol/l) ou une glycémie supérieure à 2g /l (11,1 mmol/l), à n'importe quel moment ou lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale à deux reprises (SACHON *et al*, 2004). Par ailleurs, le diabète peut être favorisé par les troubles de l'utilisation du glucose au niveau des cellules du tissu musculaire, les facteurs héréditaires et environnementaux ainsi que par d'autres pathologies (GRIMALDI, 2009 ; BOUXID, 2012)

Il se reconnaît par une élévation chronique de la glycémie qui s'accompagne par une polydipsie, polyurie, asthénie, polyphagie, amaigrissement ou obésité, et des troubles de la conscience aboutissant à un coma mortel (BUYSSCHAERT et HERMANS 1998; CALOP *et al*, 2008 ; RACCAH, 2004)

En 2012, le diabète a été la cause directe de 1,5 million de décès. Plus de 80% des décès par diabète se produisent dans des pays à revenu faible ou intermédiaire (OMS, 2014). L'OMS

prévoit qu'en 2030, le diabète sera la septième cause de décès dans le monde (MATHERS et LONCAR, 2006).

1.3.2. Classification du diabète :

Selon la fédération internationale du diabète (2011), il existe trois principaux types de diabète :

- 1-Le diabète de type 1 ou diabète insulino-dépendant ;
- 2-Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant ;
- 3-Le diabète gestationnel.

1.3.2.1. Le diabète de type 1

C'est une maladie auto-immune se caractérisant par l'apparition d'auto-anticorps qui prennent pour cible le pancréas endocrine, entraînant une destruction massive des cellules bêta des îlots de Langerhans, productrices d'insuline. La carence profonde en insuline ne peut alors être traitée que par insuline. Ce diabète apparaît brutalement et bruyamment, plus souvent chez l'enfant, l'adolescent et l'adulte jeune et environ 6 % des diabétiques sont de type 1 (PERLEMUTIER, 2000).

Selon l'OMS (2012), il n'existe aucun traitement préventif ou curatif dont l'efficacité serait avérée pour ce type de diabète.

1.3.2.2. Le diabète de type 2

Le diabète de type 2 (DNID) est caractérisé par une altération de l'insulinosécrétion et des anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles (insulinosensibilité) (DROUIN *et al*, 1999 ; HALIMI *et al*, 1999), une insuffisance de sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas, une sécrétion de glucagon inappropriée, ainsi qu'une diminution de l'effet des incrétines, hormones intestinales stimulant la sécrétion postprandiale de l'insuline (MELLITUS, 2001)

1.3.2.3. Le diabète gestationnel

C'est un état d'intolérance au glucose qui se déclare ou est détecté au cours d'une grossesse (BUYSSCHAERT, 2000). Le diabète gestationnel (DG) concerne au moins une grossesse sur 25 dans le monde. Faute de diagnostic ou de traitement adéquat, ce diabète peut avoir diverses conséquences : macrosomie, anomalies fœtales, taux plus élevés de mortalité maternelle et infantile. Les femmes qui ont souffert du diabète gestationnel risquent davantage de développer un diabète type 2 par la suite (NAYLOR *et al*, 1997).

1.3.2.4. Autres types de diabète ou diabète secondaire

Un diabète sucré peut être secondaire à une pancréatopathie (pancréatite chronique ou aiguë, tumeur), à diverses endocrinopathies (phéochromocytomes, syndrome de Cushing, hyperthyroïdie, tumeurs endocrines pancréatiques et digestives), à des dysfonctionnements d'origine génétique des cellules β (diabète MODY [Maturity Onset Diabetes of the Young] et diabète mitochondrial). Il peut être aussi à l'origine des médicaments, des composés chimiques ou composés toxiques. (BUYSSCHAERT et HERMANS, 1998 ; MAUGENDRE *et al*, 2007).

1.3.3. Physiopathologie du diabète de type 2

Le diabète de type 2 représente la forme la plus répandue de diabète, sa fréquence croît dans les pays développés mais aussi dans les pays en voie de développement (HALIMI, 2005). Ce type de diabète débute généralement après l'âge de 40 ans et représente 90% de l'ensemble des cas mondiaux (BUYSSCHAERT *et al*, 1998 ; RACCAH, 2004). Il résulte de l'incapacité de l'organisme à réagir correctement à l'action de l'insuline. L'insuline est soit basse ou soit élevée (insulinorésistance prédominante ou insulinopénie prédominante) (CALOP *et al*, 2008 ; RACCAH, 2004). Ce type de diabète apparaît généralement chez des patients présentant différents facteurs de risque. Nous pouvons citer parmi ceux-ci :

- un âge supérieur ou égal à 45 ans (figure 01) ;
- le sexe : la prévalence du diabète est plus élevée chez les hommes que chez les femmes ;
- une surcharge pondérale ($IMC \geq 25$) ;
- une sédentarité ;
- des antécédents familiaux de diabète ;
- patient présentant une hyperglycémie modérée à jeun > 1.10 g/l ;
- patient présentant une intolérance au glucose défini par une hyperglycémie provoquée orale (glycémie à la 2ème heure > 1.40 g/l) ;
- une hypertension artérielle.

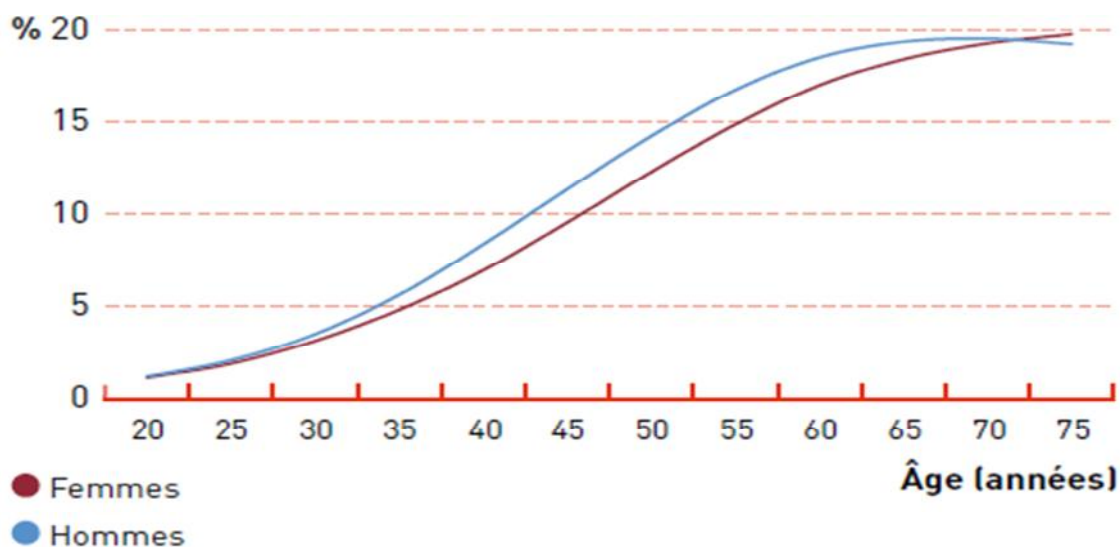


Figure 01: Prévalence (%) des personnes atteintes de diabète en 2013, selon l'âge et le sexe, (FEDERATION INTERNATIONEL DU DIABETE, 2013)

1.3.3.1. L'insuline

L'insuline est l'hormone principale de l'homéostasie du glucose, c'est une hormone peptidique synthétisée dans les glandulaires des îlots de langerhans ou cellules Bêta. L'incapacité de ces cellules à produire suffisamment d'insuline, entraîne un diabète) (figure02). Trois principales anomalies métaboliques conduisent à l'hyperglycémie dans le diabète de type 2 : insulino-pénie relative, résistance périphérique à l'action de l'insuline et augmentation de la production hépatique de glucose. Chacune de ces altérations est actuellement bien caractérisée. Leur part relative est éminemment variable selon les patients ce qui souligne l'extrême hétérogénéité physiopathologique de diabète de type 2 (BROUSSOLLE *et al*, 1990 ; BASTARD et HAINQUE, 1995).

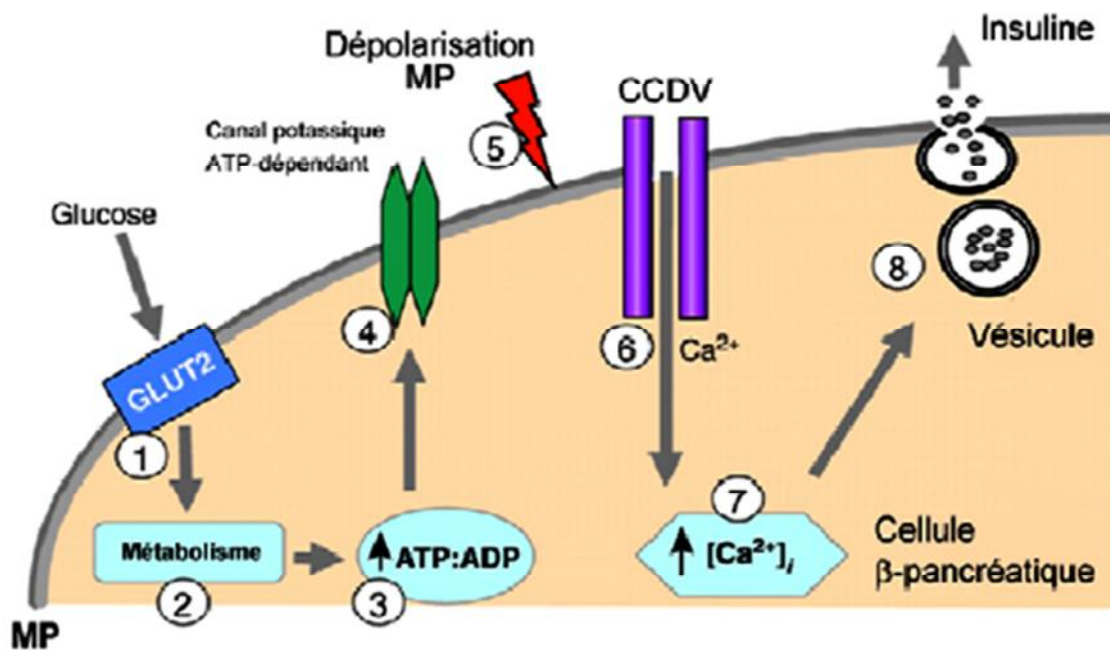


Figure02 : Schéma représentatif du mécanisme de sécrétion de l'insuline par les cellules β du pancréas induit par le glucose (WANG et THURMAND, 2009).

Le glucose entre dans la cellule via le transporteur GLUT2 (1). Il est ensuite métabolisé par la voie de la glycolyse et le métabolisme mitochondrial (2) qui ont pour effet d'augmenter le rapport cytosolique ATP/ADP (3). Cette augmentation du ratio ATP/ADP induit la fermeture des canaux potassiques dépendants de l'ATP (4) et la dépolarisation de la membrane plasmique (MP) (5), ce qui entraîne alors l'ouverture des canaux calciques dépendants du voltage (CCDV) (6). Il en résulte une augmentation de la concentration intracellulaire du Ca^{2+} (7) qui induit la fusion des granules contenant l'insuline avec la membrane plasmique et la libération de l'insuline dans le milieu extracellulaire (8)

Au niveau des cellules cibles (figure 03), cette hormone facilite la pénétration du glucose dans les cellules en augmentant la perméabilité de leur membrane via des récepteurs au glucose exemple GLUT 4 (MALAISSE *et al*, 1982 ; OBERLEY, 1988). Au niveau du foie, elle stimule la glycogénogenèse. Chez les humains obèses et/ou diabétiques, cette action de l'insuline est fortement réduite et cette perturbation est due à un défaut au niveau du transport de glucose (BUYSSCHAERT *et al*, 1999. RACCAH, 2004 ; WEABER, 2007).

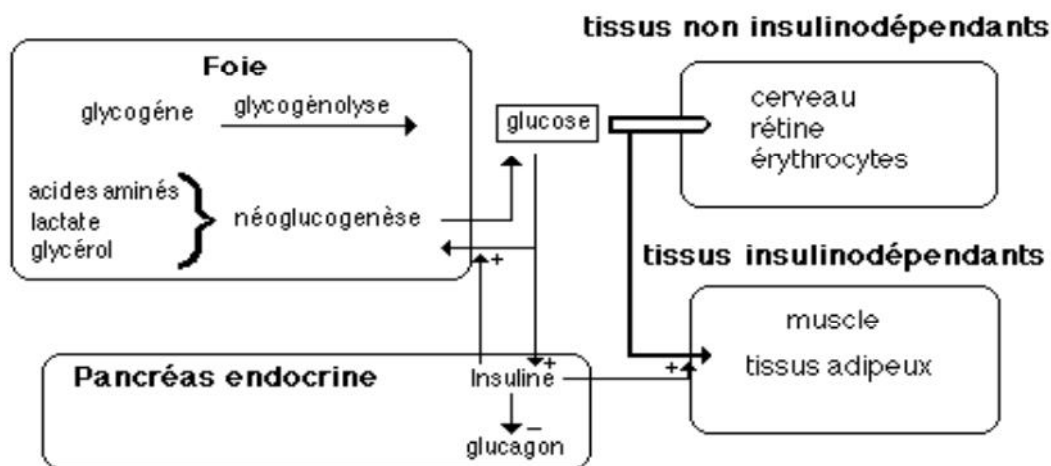


Figure03 : les sites d'action de l'insuline (OBERLEY, 1988).

1.3.3.2. L'insulino-résistance

C'est une réponse biologique *in vivo* à l'insuline expliquée par une sécrétion réduite ou par son action défectueuse. Elle est caractéristique du diabète non insulino-dépendant et concerne la majorité des tissus cibles comme le foie qui va augmenter sa production en glucose, les muscles squelettiques et le tissu adipeux (figure 04). Les mécanismes responsables peuvent se situer à différents niveaux du métabolisme insulinique (BUYSSCHAERT *et al*, 1999 ; RACCAH, 2004). Selon MESSING et BILLAUX (1999), Elle se situe principalement à une étape de postliaison de l'hormone à son récepteur et implique, entre autres : l'activation de la tyrosine kinase et de l'IRS-1 (Insulin Receptor Substrate), le nombre de transporteurs spécifiques GLUT4 et le métabolisme du glucose...

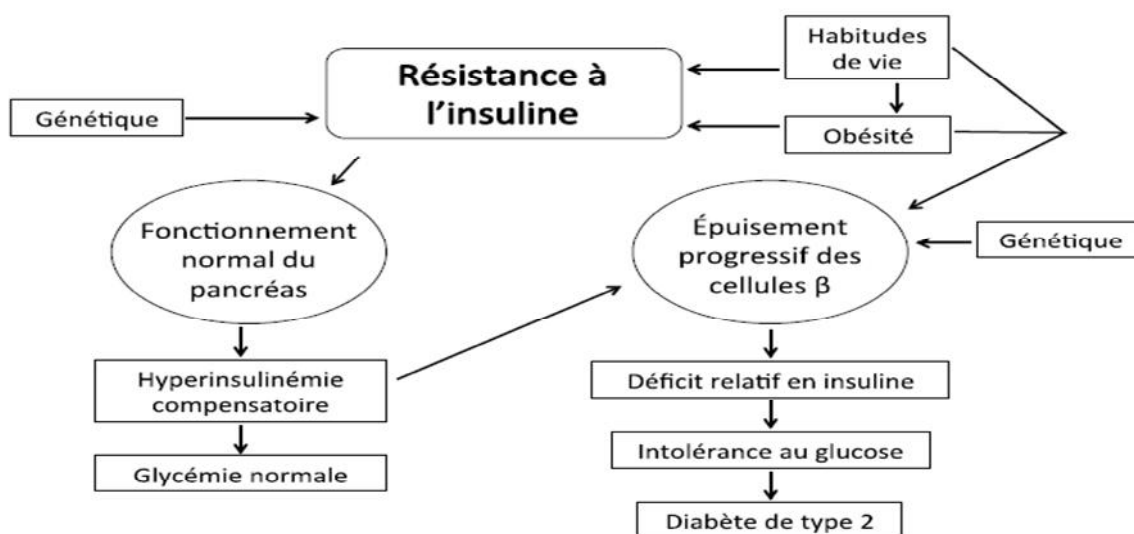


Figure 04 : La résistance à l'insuline et sa progression vers le diabète de type 2 (RAO *et al*, 2004).

1.3.4. Traitement du diabète type 2

Le traitement du diabète de type 2 vise à soigner et non à guérir la maladie. Il repose, d'une part, sur l'amélioration de la sensibilité à l'action de l'insuline par l'activité physique régulière, les mesures diététiques et les médicaments insulino-sensibilisateurs, d'autre part, sur l'amélioration de la sécrétion d'insuline par les médicaments insulinosécréteurs. De plus, le traitement peut comprendre une adjonction d'insuline (CHARBONNEL et CARIOU, 1997).

Les objectifs généraux du traitement sont d'obtenir une glycémie normale mais aussi de prendre en charge l'ensemble des facteurs de risque cardio-vasculaire qui sont souvent associés au diabète. Le traitement vise en outre à réduire l'obésité et la sédentarité.

1.3.4.1. Traitement non pharmacologique

Un régime alimentaire sain, une activité physique régulière, le maintien d'un poids normal et l'arrêt du tabac permettent de prévenir ou de retarder l'apparition du diabète de type 2 (OMS, 2011)

1.3.4.1.1. Diététique

De nombreuses études ont été réalisées sur la relation entre le diabète de type 2 et le régime alimentaire. Elles ont démontré que la diététique est un élément essentiel au traitement du diabète de type 2, au même titre que l'activité physique et la prise des médicaments, mais ses principes ont évolué. Il ne s'agit plus d'un régime hypoglucidique, mais d'un régime glucidique normal, modérément hypocalorique, grâce à une réduction des boissons alcoolisées et des graisses. Finalement la composition du régime diabétique correspond à celle que les nutritionnistes conseillent pour l'ensemble de la population (GRIMALDI, 2000).

La qualité de l'alimentation est assurément un facteur essentiel pour favoriser la santé et éviter l'apparition des maladies. Tant la sous-nutrition que la surnutrition renforcent le risque de diabète de type 2. De plus, le diabète est lui-même aggravé par une mauvaise alimentation. Les enfants nés de mères sous-alimentées sont davantage exposés au diabète, tout comme les enfants et les adultes suralimentés, Surnutrition et sous-nutrition peuvent aisément coexister, et sont souvent plus apparentes parmi les personnes issues de milieux socio-économiquement défavorisés (FEDERATION INTERNATIONALE DU DIABETE, 2011).

1.3.4.1.2. Activité physique

L'exercice physique est aussi important pour le traitement du diabète non insulino-dépendant que l'équilibre alimentaire. L'activité physique régulière contribue à une amélioration de la situation métabolique (insulinosensibilité, niveau glycémique, pression artérielle, profil

lipidique, etc.) et pourrait être utile pour le contrôle du poids (ANAES, 2000). Il est recommandé de faire 30 minutes d'activité physique par jour d'intensité modérée, de 3 à 5 fois par semaine, pour atteindre éventuellement 60 minutes quotidiennement. Il est à noter que 80 % des diabétiques meurent de complications cardiovasculaires. Une perte de poids modeste peut déjà réduire de 20% tous les effets délétères de l'obésité ainsi que la mortalité (SHAMSEDDEEN *et al*, 2011). Une prise de poids de 5 à 7 kg peut augmenter le risque de diabète de 50%, alors qu'une perte de 5 kg le diminue de moitié (WILLIAMSON *et al*, 1995).

1.3.4.2. Traitement pharmacologique

1.3.4.2.1. Les traitements médicamenteux

En général, les antidiabétiques oraux (ADO) sont prescrits après un échec des règles hygiéno-diététiques durant 3 à 6 mois. Il existe 5 classe d'ADO, le traitement étant adapté à chaque patient diabétiques (tableau I).

Partie bibliographique

Tableau I : les antidiabétiques oraux (JACQUES *et al*, 2009).

Classe médicamenteuse	Nom commercial (molécule)	Mode d'action	avantages	inconvénients
Les biguanides	Glucophage (Metformine)	Ils réduisent l'insulinorésistance en favorisant l'action de l'insuline sur les tissus cibles, en inhibant la néoglucogenèse hépatique et en diminuant l'absorption intestinale du glucose	Pas de prise de poids. Pas d'hypoglycémie	Effets indésirables gastro-Intestinaux (diarrhée, douleurs abdominales). Déficit en vitamine B12. Nombreuses contre-indications: Insuffisance rénale chronique, acidose, hypoxie, déshydratation, etc
Les sulfamides hypoglicémisants	Diamicron (Gliclazide) Amarel (Glimepiride)	Stimulent la sécrétion de l'insuline	Le plus efficace, pas de limite de dose et bon marché	Hypoglycémie. Prise de poids. Permanence d'effet faible
glitazone	Actos (Pioglitazone et rosiglitazone)	Modulation du PPAR- γ Réduction de l'insulinorésistance des cellules musculaires, adipeuses et hépatiques.	Effets bénéfiques sur le profil Rétention hydro-sodée	prise de poids, risque d'insuffisance cardiaque et de fracture, prix élevé.
Les inhibiteurs des α -glucosidases	glucor	Retardement de l'absorption intestinale de glucose et Réduction de l'hyperglycémie postprandiale	Effets neutres sur le poids	Effets de courte durée souvent <1 an
Meglitinides	Novonorm (Répaglinide)	Stimulation de la sécrétion endogène d'insuline	Durée d'action courte	Effets gastro-intestinaux fréquents, hypoglycémie, gain de poids

1.3.4.2.2. Insulinothérapie

En cas d'échec du traitement antidiabétique oral chez le diabétique de type 2, il paraît nécessaire d'instaurer l'insulinothérapie précocement pour préserver le capital Insulino-sécrétoire résiduel (BOSQUET et HARTEMANN-HEURTIER, 2004). L'insulinothérapie permet donc d'obtenir une amélioration nette du contrôle glycémique. Parfois, on peut lui associer la prescription de biguanides qui en potentialisent l'action. Les traitements du diabète s'avèrent donc difficiles et coûteux d'où la prise de conscience de la nécessité de la prévention (OGUZIE, 2004 ; OKAFOR *et al*, 2007).

1.4. Propriétés antihyperglycémiantes de quelques substances naturelles

L'utilisation des médicaments dans le traitement du diabète, peut être associée avec des effets indésirables graves, les plus couramment observés étant l'hypoglycémie, gain de poids et des perturbations gastro-intestinales (CHENG *et al*, 2005). Ainsi, il existe un besoin de trouver des thérapies antidiabétiques qui sont non seulement sans danger et efficace pour contrôler les niveaux de glucose dans le sang, mais aussi elle manque d'effets négatifs graves

De nombreux nutriments (tableau II) sont capables d'influencer la sensibilité à l'insuline, il est donc possible d'envisager une alimentation adaptée en fonction du contexte clinique. Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires, dont plus de 200 présentent une activité hypoglycémiant (MARLES et FARNSWORTH, 1995 ; SANJAY, 2002). Ainsi un certains nombres de groupes, tels que les alcaloïdes, les saponines, les flavonoïdes, les glycosides, les polysaccharides, les peptidoglycanes, les acides aminés et d'autres obtenus à partir de diverses sources végétales, semblent avoir des effets, d'une importance particulière, dans le traitement du diabète (MUKHERJEE *et al*, 2006 ; SOUMYANATH, 2006).

Le Fenugrec, une plante légumineuse couramment utilisé dans la cuisine indienne et du Moyen-Orient, a été utilisée depuis des décennies dans le traitement du diabète (AGGARWAL et SHISHU, 2011). Plus de 30 études sur des modèles animaux et humains ont rapporté les propriétés antidiabétiques de cette plante (SRINIVASAN, 2005). L'effet bénéfique de fenugrec dans la régulation de la glycémie est censé être principalement attribuable à sa fibre et sa gomme, ce qui peut représenter jusqu'à 52% de la teneur en graines (SRINIVASAN, 2005). Les fibres alimentaires solubles sont considérées ralentir l'absorption des glucides digestibles, et de réduire ainsi l'hyper-insulinémie, en formant des gels visqueux dans le tractus gastro-intestinal qui retarde la diffusion du glucose dans le lumen. Bien que les

Partie bibliographique

fibres puissent ralentir la vidange gastrique (BENINI *et al*, 1995), cet effet a été signalé comme marginal et non suffisant pour un impact significatif sur le taux d'absorption du glucose (EDWARDS *et al*, 1988). Ainsi, le principal facteur expliquant l'effet bénéfique des fibres solubles sur la régulation glycémique est considérée comme étant la plus longue période de digestion et d'absorption d'hydrates de carbone (LAVIN et READ, 1995).

Partie bibliographique

Tableau II : Aperçu de quelques constituants alimentaires et substances secondaires naturelles présentant des propriétés antidiabétiques et leurs mécanismes d'action.

Propriétés antidiabétique	Mécanisme physiologique	Exemple d'aliments	références
Réduction de la concentration du glucose	Inhibition des enzymes hydrolysant les glucides. Inhibition du transport intestinal du glucose. Inhibition de la production hépatique du glucose. Retard de l'absorption intestinale du glucose résultant de la formation de gels visqueux qui ralentissent la diffusion de glucose dans le lumen	Flavonoïdes et les tannins (divers fruits et légumes), sardine et les œufs Polyphénol(le thé), fraise, extraits de pomme. Les fibres solubles (avoine, orge)	(MCDOUGALL <i>et al</i> , 2005) (SHIMIZU <i>et al</i> , 2000) (KOBAYASHI <i>et al</i> , 2000)
Augmentation des effets des incretines	Stimulation de la sécrétion des GLP-1 déclenché par les courtes chaines d'acides libérer pendant la fermentation bactérienne, inhibition de DPP-IV	Fibres fermentescibles, amidon, maïs, protéine du lait et les hydrolysats de viande	(GREENWAY <i>et al</i> , 2007) (ZHOU <i>et al</i> , 2008) (MOCHIDA, 2010)
Augmentation de la sensibilité de l'insuline	Inhibition de PTP1B Activation de PPAR- γ	Les peptides et les hydrolysats du lait, maïs, œufs, protéines de poisson, cannelle, les acides gras insaturés, isoflavones, soja, divers herbe et épices (romarin, thym)	(HUANG <i>et al</i> , 2012) IMPARL-RADOSEVICH, 1998)
Augmentation de l'action de l'insuline	Imitation des fonctions de l'insuline	Cannelle, le piment, le laurier, muscade, clou de girofle, l'épigallocatechine gallate, les tannins, le thé, conglutin- γ (lupin), l'acide tannique	(TERRUZZI <i>et al</i> , 2011) (BROADHURST <i>et al</i> , 2000) (LIU <i>et al</i> , 2005)
Augmentation de la sécrétion de l'insuline	Stimulation de la sécrétion de l'insuline	Les anthocyanes (par exemple cyanidine-3-glucoside), delphinidine-3-glucoside et pélargonidine-3 galactoside (fruits), La cystéine et sulfoxyde de S-diallyl allyle trisulfure (ail), et la courge amère	(JAYAPRAKASAM <i>et al</i> , 2005)

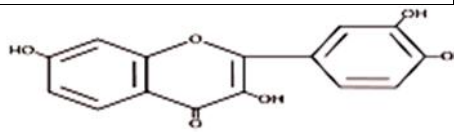
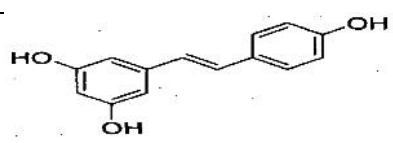
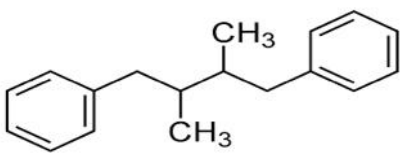
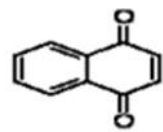
1.4.1. Définition des polyphénols

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 9000 structures connues différentes (BAHORUN, 1997), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins (AKOWAUH *et al*, 2004). Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002). Ces molécules jouent un rôle fondamental car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi dans les boissons, le café, le cacao ou le thé que consomme l'homme, environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (SCALBERT *et al*, 2005).

1.4.2. Structure chimique et Classification des polyphénols

La structure chimique est identique à tous les polyphénols : un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relient. On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes (BOROS, 2010). En plus de cette diversité, les phénols sont présents naturellement sous forme conjuguée : avec des sucres, des acides organiques, entre eux. Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes (Tableau II)

Tableau III : principales classes de composés phénolique (MACHEIX et COLL, 2006)

Classe	Squelette carbonné	Exemple	Structure	Origine
Les phénols simples	C6	Catéchol		Nombreuses espèces
Les flavonoïdes	C6-C3-C6	Quercétine, cyanidine		Fruit, légumes
Les stilbènes	C6-C2-C6	Resvératrol		Vigne
Les lignanes les lignines	(C6-C3) ₂ (C6-C3) _n	Pinorésinol Eusiderine		Pin Bois, fruits à noyaux, raisin, kaki
Naphtoquinones	C6-C4	Juglone, plumbagine		Noix

1.4.3. Absorption intestinale des polyphénols

Le principal lieu d'absorption des polyphénols est l'intestin grêle, mais ceux-ci peuvent également être absorbés au niveau de l'estomac et du côlon (HOLLMAN *et al*, 2011). Par exemple, alors que les composés phénoliques simples, c'est-à-dire sous leur forme aglycone, peuvent être absorbés de façon intacte par diffusion passive, la majorité des polyphénols de l'alimentation ne peuvent pas être absorbés sans d'abord être hydrolysés par les enzymes intestinales ou par les bactéries du microbiote intestinal. C'est le cas des composés ingérés sous forme de glucosides, c'est-à-dire qui sont liés à un sucre (principalement le glucose), d'esters ou de polymères. En effet, l'hydrolyse est nécessaire afin de réduire le poids moléculaire de ces composés et de les rendre davantage lipophiles, ce qui facilite leur absorption (GEE *et al*, 2000 ; PRIOR et WU, 2006). La figure (09) illustre les différentes voies de digestion et d'absorption des polyphénols ingérés sous forme de glucosides et d'aglycones. Par contre, certains glucosides peuvent tout de même être absorbés de façon intacte par le transporteur de glucose SGLT1. C'est le cas entre autres des anthocyanines, la forme glycosylée des anthocyanidines. Ce phénomène crée une compétition entre les glucides

et les glucosides pour le récepteur SGLT1, ce qui réduit leur absorption respective. (KARAKAYA, 2004 ; HOLLMAN *et al*, 1999)

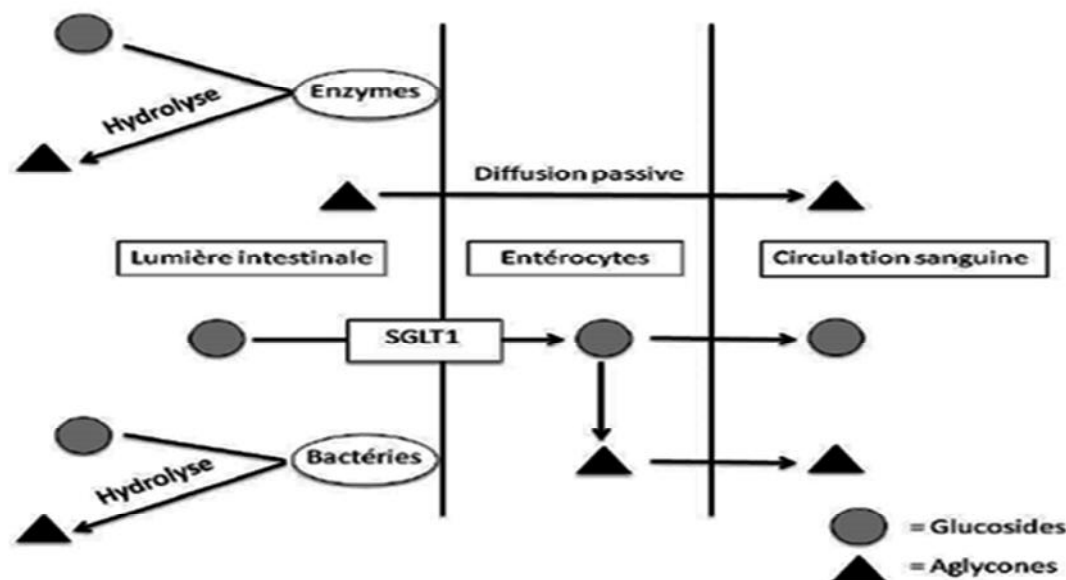


Figure 08 : les différentes voies de digestion et d'absorption des polyphénols

Glucoside : polyphénol lié à un glucide simple, par exemple le glucose ; Aglycone : Composé non glucidique formé au cours de l'hydrolyse du glucoside ; SGLT1 : Transporteur du glucose dépendant du sodium. (KARAKAYA, 2004 ; HOLLMAN *et al*, 1999). cité in (Effets bénéfiques d'un supplément riche en polyphénols de fraises et de canneberges sur la sensibilité à l'insuline et le profil de risque cardiométabolique chez des hommes et des femmes résistants à l'insuline, MARTINE PAQUETTE)

1.4.4. Propriétés pharmacologiques des polyphénols

L'une des approches thérapeutiques efficaces pour réduire l'hyperglycémie postprandiale consiste à retarder l'absorption du glucose par l'inhibition des enzymes de l'hydrolyse des hydrates de carbone telles que la glucosidase et la α -amylase dans les voies de l'appareil digestif (LEBOVITZ, 1997). Dans la dernière décennie, de nombreuses études ont été menées pour identifier les inhibiteurs de ces enzymes à partir de sources naturelles, en particulier de fruits et légumes. Framboise, raisin rouge, poivron vert, et carotte (MCCUE *et al*, 2005), par exemple, ont été rapportés pour inhiber l'activité de l' α -amylase, tandis que le cassis, myrtille, fraise, et le gingembre, étaient capables d'inhiber l'activité de β -glucosidase (OBOH *et al*, 2010 ; DA SILVA *et al*, 2008 ; MCDOUGALL *et al*, 2005).

Les composés polyphénoliques présents dans ces aliments ont été suggérés d'être responsables de cette activité inhibitrice. En fait, plusieurs études ont rapporté une corrélation positive entre la quantité de composés phénoliques dans les extraits de plantes et leur capacité à inhiber des enzymes hydrolysant les hydrates de carbone (ETXEBERRIA *et al*, 2012).

Un haut contenu phénolique est, cependant, pas toujours associée avec une forte activité inhibitrice (OBOH *et al*, 2010), ce qui suggère que le type de phytomolécules et l'interaction entre eux peuvent être des facteurs importants qui déterminent l'activité inhibitrice de α -glucosidase et α -amylase de ces produits végétaux (ETXEBERRIA *et al*, 2012).

KIM *et al* (2011) pensent que les composés Polyphénolique exercent leur activité inhibitrice en se liant aux enzymes hydrolysant les hydrates de carbone. Différents modes d'inhibition ont été rapportés, y compris compétitif (YOU *et al*, 2012), non compétitif, et de type mixte (SHOBANA *et al*, 2009 ; TADERA *et al*, 2006), suggérant que l'inhibition de l'enzyme peut se produire par l'interaction de ces composés polyphénoliques avec différentes régions de l'enzyme.

1.4.5. Inhibition du transport intestinale du glucose par les polyphénols

En plus de leur activité inhibitrice de la α -glucosidase et d' α -amylase, les polyphénols contenus dans les produits alimentaires, tels que les catéchines, ont également été montrés pour empêcher le transport intestinal du glucose (JOHNSTON *et al*, 2005).

Les Polyphénols du thé, en particulier ceux ayant des résidus gallique tel que le gallate d'épigallocatechine gallate et d'épicatéchine, sont trouvés à se lier à SGLT1 et inhiber le transport du glucose. L'épicatéchine gallate a été montrée pour inhiber de manière compétitive le transporteur, même si elle n'a pas été elle-même transportée par SGLT1 (SHIMIZU *et al*, 2000. KOBAYASHI *et al*, 2000).

JOHNSTON *et al* (2005) ont montré que l'absorption du glucose par GLUT2 et SGLT1 a été inhibée par les aglycones et les glycosides, respectivement, tandis que les deux transporteurs ont été inhibés par épigallocatechine gallate, gallate d'épicatéchine, et épigallocatechine.

De plus, des extraits de pomme et de fraise ont également été trouvés pour inhiber l'absorption du glucose ainsi que les transports en cellules Caco-2, l'inhibition du transporteur de GLUT2 étant plus forte que celle de SGLT1 (MANZANO *et al*, 2010). De nombreuses études se sont penchées sur l'analyse du mode d'action des polyphénols dans la prévention de cette pathologie, qui met en cause les propriétés réductrices des polyphénols et/ou leur affinité pour une grande variété de protéines (enzymes, récepteurs, facteurs de transcription) mais, il y a beaucoup de données sur l'activité biologique ainsi que sur les sites d'action de ces métabolites phénoliques, qui pourraient différer de ceux des polyphénols desquels ils proviennent (MANACH *et al*, 2004; PRIOR et WU, 2006).

1.5. Conclusion

Le diabète est une maladie qui existe depuis fort longtemps. Des progrès considérables ont été réalisés depuis sa découverte et ont permis à parvenir à un niveau où l'homme sait gérer cette maladie. Aujourd'hui, le diabète se soigne très bien par de bonnes habitudes et de bons traitements à suivre au quotidien, destinés à maintenir un équilibre glycémique satisfaisant.

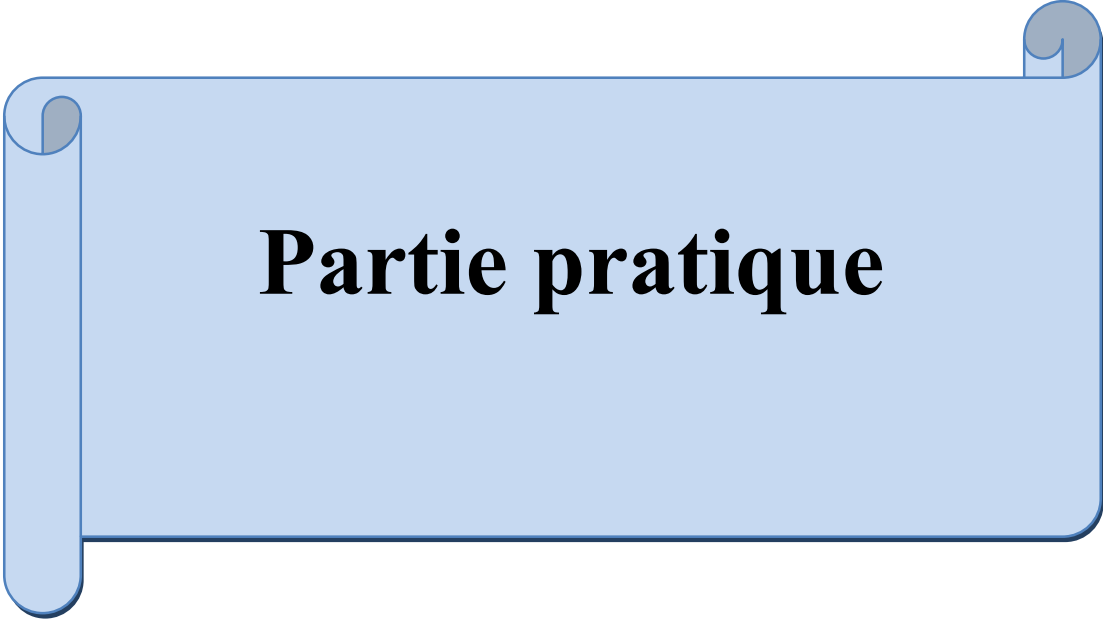
Plusieurs classes de la pharmacothérapie ont été développés au cours des quelques dernières décennies pour la gestion du diabète, et la croissante prévalence de la maladie et ses diverse complications supplient le besoin urgent de nouvelle stratégie de traitement qui sont efficaces et sur tout manquent d'effets négatifs défavorable.

Cette synthèse bibliographique avait pour but de donnée un aperçu sur les approches thérapeutiques dans la prévention du diabète et de ses complications associées, est de présenter un aperçu sur ces diverses molécules bioactives contenu dans les plantes médicinale en particulier les polyphénols.

Le régime alimentaire est reconnu pour jouer un rôle majeur dans la prévention et la gestion du diabète, un nombre croissant de preuves suggère que les produits alimentaires et ses constituants, comme les fibres, les flavonoïdes et les tanins, présentent des propriétés antidiabétiques.

Bien que de nombreux substances actives se sont avérés avoir des effets bénéfiques sur le métabolisme du glucose, comme les polyphénols, plus de recherches sont encore nécessaires pour identifier et comprendre les facteurs et les mécanismes par lesquels ils exercent leur action antidiabétique, et d'évaluer leur efficacité et leur sécurité.

Et comme dis Hippocrate « *Que ton aliment soit ta seule médecine* »



Partie pratique

2.1. Introduction

Dans le domaine alimentaire, la qualité est une préoccupation ancienne et récurrente qui reste toujours au cœur des inquiétudes des consommateurs. Le terme qualité pour les produits alimentaires regroupe différentes composantes : qualité nutritionnelle, sanitaire et organoleptique (goût). Le secteur alimentaire agit donc sur ces trois dimensions essentielles de la qualité en effectuant des contrôles basés sur des techniques d'analyses physicochimique, microbiologiques et toxicologiques.

Au cours de notre stage, on a effectué une évaluation de quelques produits alimentaires naturels et commercialisés afin de s'assurer de leur qualité et cela par le dosage de quelques paramètres physicochimiques, à savoir, la vitamine C, l'indice d'acidité et d'iode, dosage des sucres réducteurs et des protéines.

2.2. Matériels et méthodes

Le stage pratique a été réalisé au laboratoire pédagogique de biochimie analytique et biotechnologie, Hassnaoua II de l'université MOULOUD MAMMERI de TIZI OUZOU. Il a été effectué par les matériels énumérés ci-dessous :

2.2.2. Matériels :

2.2.2.1. Les échantillons

Jus RAMY, jus lacté, jus light, jus ROUIBA en bouteille, IFRUIT, huile de SOJA, huile d'olive vierge, smen, margarine, protéines sériques de lait de vache, protéines totale de l'œuf, protéines sériques de lait camelin et les caséines bovines.

2.2.2.2. Appareillages

1- colonne de chromatographie (20X1Cm), plaque en verre d'électrophorèse (10 X 8 X 0,75Cm, 12 X 8 X 0,75Cm)

2- la verrerie : tubes à essai, béchers (50, 100, 500 et 1000 ml), pipettes graduées, fioles jaugées, éprouvettes, burettes, seringue d'Hamilton.

3- appareils : spectrophotomètre, pH mètre, chromatogramme (enregistreur, collecteur de fractions, détecteur, pompe).

2.2.2.3. Les réactifs

Réactifs utilisés pour les dosages biochimiques :

- 2-6 dichlorophénol indophénol (DCPIP), acide ascorbique ;
- lugol, thiosulfate de sodium($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), phénolphtaléine ;
- acides 3-5 dinitrosalicylique (DNS) ;
- BSA (albumine sérique bovine), réactif de Folin-Ciocalteu ;

-H₂SO₄ (72%, V/V), solution d'ammoniaque;

Réactifs utilisés pour la chromatographie :

- gel de séphacryl S200, tampon Tris-HCl 0,02 M (pH8, 4), bleu de dextran,

Réactifs utilisés pour l'électrophorèse :

-tampon Tris-HCl 0,5 M (pH 6,4), papaïne ;

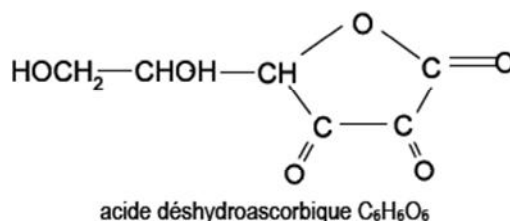
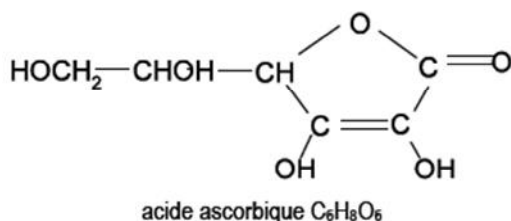
-acrylamide, bisacrylamide, TEMED et persulfate d'ammonium 10%.

2.2.2. Les méthodes expérimentales

2.2.2.1. Méthodes physicochimiques

2.2.2.1.1. Dosage de la vitamine C dans un jus d'orange

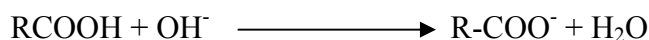
Le dosage de la vitamine C est effectué par titrimétrie grâce à la réaction d'oxydoréduction en utilisant le 2-6-dichlorophénol indophénol comme oxydant et qui est rouge en milieu acide et bleu en milieu neutre et l'acide ascorbique comme réducteur (Annexe 01). La solution du 2-6-DCPIP est étalonné par l'emploi d'une solution d'acide ascorbique de concentration connue. Les solutions d'acide ascorbique sont incolores, une goutte en excès de 2,6-DCPIP donnera à la solution une coloration rose. Voici les formules brutes et semi développées de chacune des deux espèces :



2.2.2.1.2. Détermination des indices d'acide et d'iode d'une matière grasse

2.2.2.1.2.1. L'indice d'acide

L'indice d'acide d'une matière grasse représente le poids d'hydroxyde de potassium (KOH) en milligramme (mg) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme de corps gras.

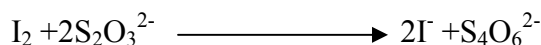


Ce dosage nous permet d'estimer le taux d'acide gras libre. Le mode opératoire est mentionné en annexe 02.

2.2.2.1.2.2. L'indice d'iode

L'indice d'iode d'une matière grasse est la quantité d'iode, exprimé en gramme, fixée par 100g de cette matière. L'iode se fixe sur les doubles liaisons, soit une molécule d'iode par double liaison. Cet indice donne une indication sur le degré d'insaturation du lipide étudié.

Le titrage du diiode formé, par une solution connue de thiosulfate, permet de connaître la quantité de matière d'I-Cl.



L'équilibrage est observé pour un volume versé (Ve) de la solution de thiosulfate de sodium.

Avant l'équivalence dans le bécher, le diiode est en excès, après équivalence, l'ion thiosulfate est en excès. Le protocole est résumé dans l'annexe 02

2.2.2.1.3. Dosage des glucides, méthode utilisant l'acide 3,5 dinitrosalicylique (DNS)

Le dosage est basé sur le pouvoir réducteur des glucides vis-à-vis de l'acide 3,5-dinitrosalicylique qui va être réduit en acide 3-amino-5-nitrosalicylique. Ce pouvoir s'exprime en milieu alcalin et à chaud (figure 10). L'oxydation des sucres réducteurs dans ces conditions est une réaction complexe et non stœchiométrique. Le composé obtenu est rouge orangé et il peut être dosé par spectrophotométrie à 350nm.

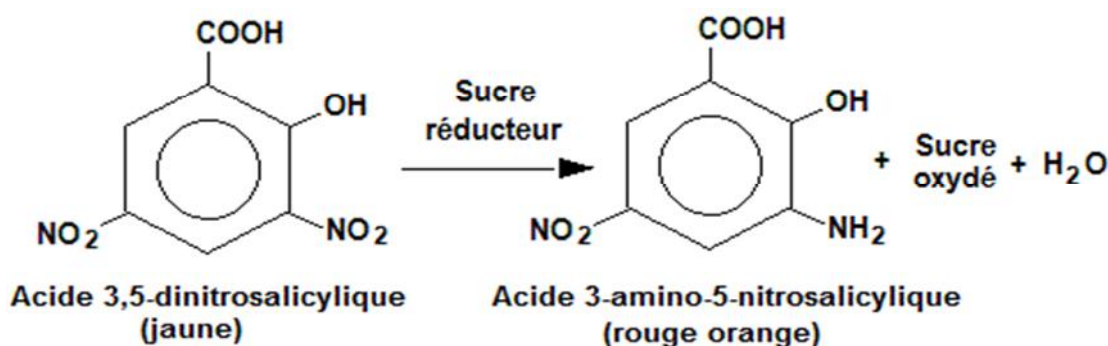


Figure 9 : schéma réactionnel de la réduction du DNS en acide 3-amino-5-nitrosalicylique.

2.2.2.1.4. Dosage des protéines en utilisant la méthode de Lowry et al (1951)

La méthode colorimétrique de Lowry et al (1951) est utilisée pour le dosage des protéines dans les différentes fractions en utilisant la BSA (protéine sérique bovine) comme protéine de référence. Le réactif de folinCiocalteu ou acide phospho-tungsto-molybdique, additionné à une solution protéique diluée, est plus au moins réduit par les protéines, notamment les groupements phénoliques de la tyrosine et indoles du tryptophane et, dans une moindre mesure, ceux de la cystéine et histidine.

Cette réaction donne naissance à un complexe coloré : le bleu de molybdène dont l'intensité peut être mesurée au spectrophotomètre à 750 nm. La teneur en protéines totales a été déterminée par la projection à la courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine (BSA). Le mode opératoire est donné en annexe 04.

2.2.2.2. Les méthodes de séparation et purification (méthodes chromatographique)

2.2.2.2.1. Chromatographie de perméation sur gel de SEPHACRYL S200

La chromatographie de perméation ou d'exclusion sur gel permet de séparer et de purifier les divers constituants d'un mélange selon leur masse moléculaire à travers une phase stationnaire qui permet d'éluer les entités protéiques dans l'ordre décroissant de leurs poids moléculaire.

Un gel de sephacryl S200 (poly allyldextraneCO-N- N' -méthylène bisacrylamide) est utilisé comme phase stationnaire sur une colonne de dimension (20x 1cm) où les protéines sériques bovines et camelines seront fractionnées. Le gel a une grande stabilité et possède un domaine de fractionnement situé entre $5 \cdot 10^3$ et $2,5 \cdot 10^5$ Da. (Le mode opératoire est mentionné en annexe 05)

2.2.2.3. Méthodes de caractérisation (méthodes électrophorétiques)

2.2.2.3.1. Hydrolyse enzymatique des protéines du lait par la papaïne

On prépare 5 tubes à essai et on met 200 μ l du tampon d'échantillon PAGE-SDS dans chaque tube. On prend 2 mg de protéines (caséine et albumen), et les solubilise dans 1 ml de tampon Tris. De celui-ci on prélève 200 μ l et on l'ajoute au tube 200 μ l du tampon contenu dans le premier tube et qui correspond à T0 sans mettre l'enzyme, et on chauffe pour à 100°C pour la PAGE-SDS. Puis on prélève 25 μ l d'enzymes et on l'ajoute à l'échantillon puis l'incube dans un bain marie à 40°C pendant 15min pour arrêter la réaction. après on prélève de ce dernier 200 μ l et on l'ajoute au 200 μ l du tampon d'échantillon contenu dans chaque tube T15, T30, T60 et T120. pour le T15 on lui fait une incubation de 15 min puis le chauffe à 40°C pendant 5 min pour arrêter la réaction enzymatique. On fait la même chose pour les autres tubes T30, T60, T120.

2.2.2.3.2. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE native) et en conditions dénaturantes en présence de SDS (PAGE SDS)

L'électrophorèse est une méthode qui permet la séparation des constituants d'un mélange protéique sous l'action d'un champ électrique.

2.2.2.3.2.1. PAGE native

Partie pratique

La PAGE native est une technique résolutive pour les protéines sériques du lait. Celles-ci migrent dans ce cas selon leur charge nette et leur poids moléculaire.

En se basant sur la méthode de HILLIER (1976), on a utilisé un gel de polyacrylamide à T=12% et C=2,7%. Le tampon de gel est composé de (TRIS, 77mM, pH 8,9).le tampon d'électrode est constitué de (TRIS, 5mM, glycine, 77Mm, pH 8,3) les échantillons sont préparés à raison de 2mg/ml dans une solution contenant le tampon de gel (1/10 v/v), de l'eau distillée (7/10 v/v) et du glycérol 10% (v/v). A la fin de la migration, les protéines sont fixées par immersion du gel dans une solution d'acide trichloracétique (TCA) 12% (P/V) pendant 45 minutes. Le gel est ensuite coloré dans une solution contenant du bleu de Coomassie 0,2% (P/V) dans un mélange (eau/méthanol, TCA ; 1/1/2%) puis décoloré par trempage répétés dans le mélange (eau/méthanol/acide acétique ; 3 /1,5 / 0,3).

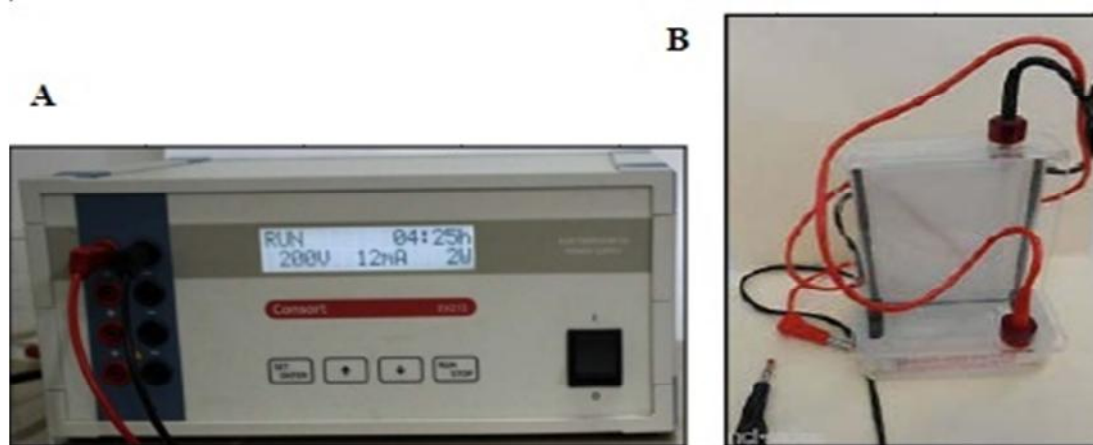


Figure 10 : photographie de l'unité d'électrophorèse sur mini cuve HOFFER SE280

A : Générateur. B : Cuve de migration

2.2.2.3.2.2. PAGE-SDS

La particularité de la PAGE-SDS est de soumettre les échantillons protéiques à un prétraitement dénaturant. Les protéines sont soumises à l'action de deux composés :

- le β mercaptoéthanol : composé qui exerce une action dénaturante sur les protéines oligomériques en rompant les ponts disulfures ce qui désorganise leur structure tridimensionnelle. Les sous unités des protéines sont donc dissociés.

- Le SDS est le dodécylsulfate, ou laurylsulfate, de sodium. La longue queue hydrophobe du dodécylsulfate interagit très fortement avec les chaînes polypeptidiques. Le nombre des molécules de SDS liées à un polypeptide est proportionnel à la longueur de la chaîne (au nombre des résidus).

Partie pratique

-Influencées ainsi par le SDS, elles migreront donc toutes vers l'anode (+) : la charge réelle des protéines n'est donc plus mise en jeu et donc seule leur masse moléculaire influencera leur migration.

Ce système biphasique comprend deux gels : un de concentration (T=4 % et C=2,7%) en tampon TRIS-HCl, pH 6,8 dont le rôle est de concentrer les échantillons et un gel de séparation (T=17% et C=2,7%) en tampon TRIS-HCl, pH 8,8, à travers lequel les protéines migrent selon leur poids moléculaire (LAEMMLI et FAVRE, 1973).

La structure du gel est définie par les indices T et C. Sa porosité est ajustée en faisant varier les concentrations relatives de a et b ; la taille effective des pores d'un gel est d'autant plus petite que sa concentration en acrylamide est élevée.

$$T = (a+b/v) \times 100 (\%)$$

$$C = (b/ a+b) \times 100 (\%)$$

a : acrylamide (g) ; b : N, N-méthylène -bisacrylamide (g) ; v : volume du tampon (ml)

- **Révélation des bandes de migration électrophorétique**

A la fin de la migration, le gel est démoulé pour subir les opérations successives suivantes :

-Fixation : réalisée par immersion du gel dans une solution d'acide trichloracétique (TCA) 12 % (p/v) pendant 45 min ;

-Coloration : le gel est immergé 2 à 4 h dans une solution de coloration contenant du bleu de coomassie 0,2 % (p/v) dissous dans une solution constituée du mélange eau distillée (1 volume), méthanol (1 volume) et TCA 2% (p/v)

-Décoloration : elle est réalisée par immersion du gel dans le mélange (eau/méthanol/acide acétique) dans les proportions respectives 3,12/1,5/0,37 (v/v/v).

2.3. Résultats et discussions

2.3.1. Résultats physicochimiques

2.3.1.1. Teneur en vitamine C dans des jus de fruits

L'acide ascorbique ou plus communément la vitamine C, est une vitamine hydrosoluble, présente dans la plupart des fruits (surtout les agrumes) et légumes frais. Elle s'oxyde facilement et pour cette raison, elle est utilisée comme agent antioxydant pour la conservation de certains aliments (son nom de code est E300). L'oxydant associé est l'acide déshydroascorbique. Lors de l'oxydation, les deux fonctions énols sont oxydées en cétones.

Le but de cette manipulation est de doser la vitamine C dans différents jus commercialisés pour des fins comparatives.

La vitamine C est déterminée par titrage avec le 2,6-dichlorophénolindophénol (DPIP) qui va être réduit par une solution étalon d'acide ascorbique de concentration C1 connue tel que $C1 = 0,4\text{g/l}$ et qui correspond à une chute de burette V1 ($V1 = 3\text{ml}$). La figure 13 et le tableau IV résume les résultats obtenus.

Tableau IV : comparaison des teneurs en vitamine C dans différents jus de fruits.

Types d'échantillons	Jus Ramy en bouteille	Jus lacté	Jus light	Jus Rouiba en boîte	Ifruit
pH mesuré	3,33	4,36	3,29	3,22	3,27
Teneur en vitamine C (mg/l)	253,33	104	228	472	352

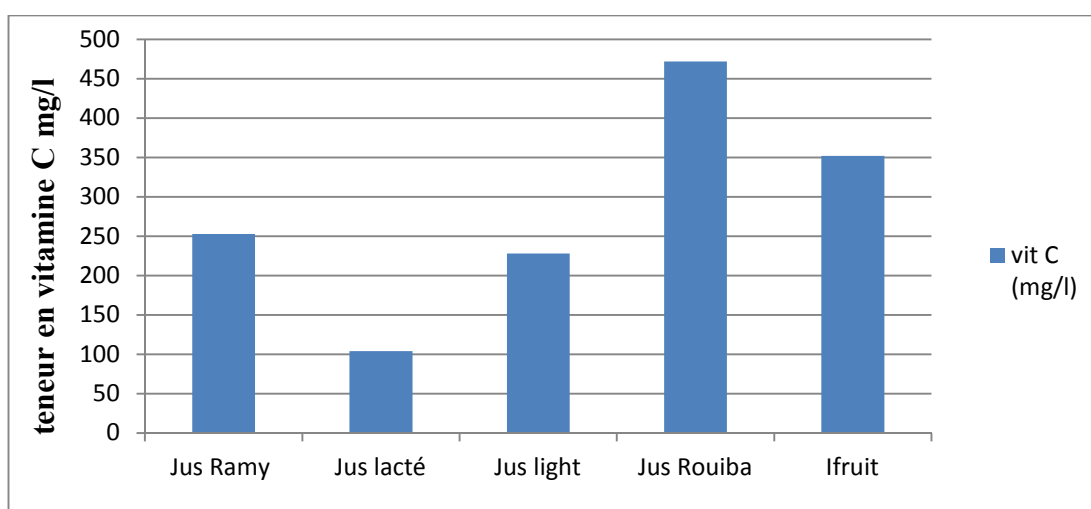


Figure 11 : Comparaison de la teneur en vitamine C dans différent jus de fruits

D'après les résultats obtenus, nous constatons qu'il y a une variation de concentration en vitamine C d'un jus à l'autre, ainsi on remarque qu'il y a une dominance en vitamine C dans le jus ROUIBA en boîte suivi du jus IFRUIT et RAMY, par contre le jus light et le jus lacté contiennent une faible teneur en vitamine C.

Cette variation en teneur s'explique premièrement par la différence au niveau des fruits utilisés pour la fabrication de ces différents jus, en effet, un jus à base d'orange (500mg/kg), par exemple, est plus riche en vitamine C qu'un jus à base de pomme (100mg/kg), cette différence peut aussi s'expliquer par les méthodes de conservation utilisées des jus testés, vu que la vitamine C est très sensible à la lumière et à la chaleur, elle peut se dégrader et s'oxyder avec le temps surtout si le jus n'est pas frais. L'apport journalier conseillé en vitamine C est de 110mg (SCHLIENGER, 2014)

Parmi les méthodes utilisées dans le dosage de la vitamine C, il y a la titration directe à l'iode, qui est une méthode de KOLTHOFF et SANDEL (1936), basée sur un simple dosage iodométrique, mais cette méthode n'est applicable qu'à des produits purs (préparations pharmaceutiques par exemple) et ne dose que l'acide ascorbique réduit. La méthode de titration directe est sensible à de nombreuses substances réductrices ; de plus elle ne donne aucun renseignement sur les formes oxydées de ce dernier, à moins de passer par des artifices successifs d'oxydation puis de réduction complète.

La titration au bleu de méthylène, adaptée par MARTINI et BONSIGNO (1934) est une méthode qui utilise les propriétés photoréductrices de l'acide ascorbique sur le bleu de méthylène. Excellente méthode pour sa rapidité et sa simplicité, elle paraît insuffisante en pratique dans le cas de la présence de réductions et parce qu'elle ne touche qu'à l'acide ascorbique réduit. Il existe aussi d'autres types de dosage comme le dosage biochimique, qui est une méthode enzymatique de TAUBER et KLEINER (1935), basée sur l'oxydation préférentielle de l'acide ascorbique par l'acide ascorbique oxydase. Mais on a montré que cette méthode n'était malheureusement pas spécifique.

La méthode titrimétrique est basée sur la technique au 2,6-dichlorophénol indophénol. C'est la méthode originale de TILLMANN (1927), modifiée par de nombreux chercheurs. Il convient de prendre certaines précautions car le 2,6-dichlorophénol indophénol peut oxyder des substances organiques très variées.

Il est également possible d'utiliser d'autres réactifs de titrage oxydants au lieu de 2,6-dichlorophénol indophénol par exemple l'iode, iodure/iodate, chloramine-T. Il y a cependant

un plus grand danger que d'autres composés oxydables présents dans l'échantillon, autres que la vitamine C, soient aussi déterminé.

2.3.1.2. Détermination des indices d'iode et d'acidité d'une matière grasse

2.3.1.2.1. L'indice d'acide

L'indice d'acide permet de mesurer la quantité d'acides gras libres résultant des réactions d'hydrolyse et d'oxydation des triglycérides (NDEYE, 2001).

La teneur en acides gras libres est un indice de qualité très important : plus elle est basse, plus l'huile est stable et mieux elle se conserve. L'huile dégradée contient de plus en plus d'acides gras libres ce qui fait croître son indice d'acide. La mesure de cette acidité libre est un moyen pour déterminer son altération et les huiles destinées à la consommation doivent contenir moins de 1% d'acides libres (MAMBAP, 1989).

Les résultats de la manipulation sont présentés dans le (tableau V et la figure 12).

Tableau V: Comparaison des indices d'acides dans différentes matières grasses.

Types d'échantillons	L'huile de Soja	Smen	Beurre président	L'huile d'olive
Masse de prise d'essai (g)	0,54	0,54	0,54	0,54
Volume de la solution KOH (ml)	0,5	0,6	0,1	1,5
L'indice d'acide	5,19	7,14	1,03	22,6

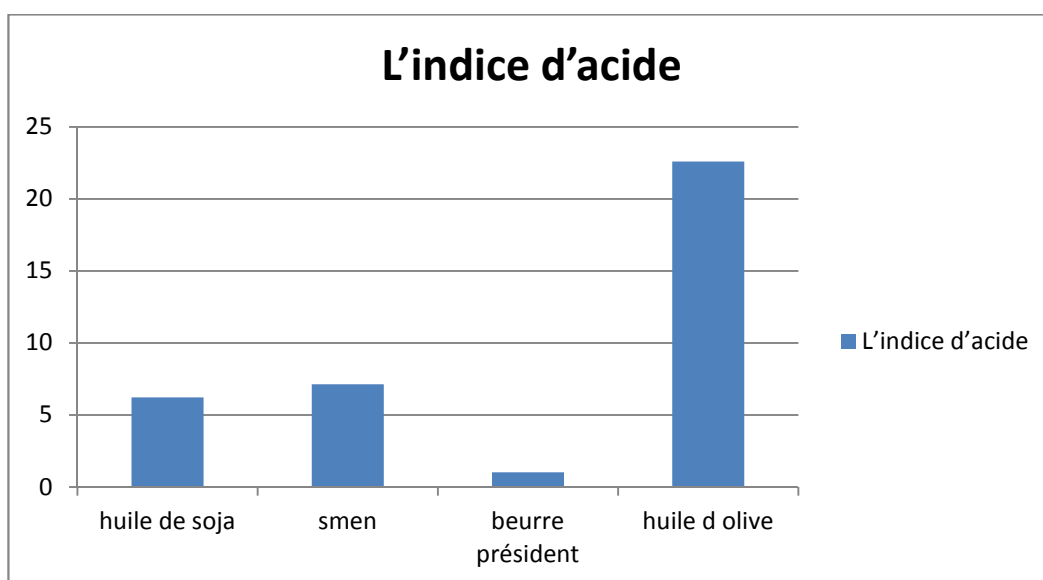


Figure 12 : Comparaison des indices d'acides dans différentes matières grasses.

Le volume de KOH nécessaire pour neutraliser les acides gras de l'huile d'olive est plus grand que celui du sésame suivi par celui de l'huile de soja et enfin par le beurre, de ce fait les résultats obtenus montrent que l'huile d'olive possède l'indice d'acide le plus élevé, suivi par le sésame et l'huile de soja et enfin le beurre Président.

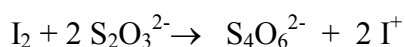
L'huile d'olive possède un indice d'acide élevé cela peut s'expliquer par sa richesse en groupement COOH libre, qui sont représentés par l'acide oléique (CHARLES et DEN, 1997).

2.3.1.2.2. L'indice d'iode

L'indice d'iode exprime le degré d'insaturation d'un corps gras et par la suite sa prédisposition à l'oxydation (DJOM, 1993). Un corps gras est plus sensible à l'oxygène lorsqu'il est constitué d'un nombre élevé de doubles liaisons.

Lorsque ce type de liaison est présent dans une substance, celle-ci est donc susceptible de fixer une molécule d'iode (I_2), par addition. La quantité d'iode fixée dépend donc du nombre d'insaturations présentes sur la chaîne d'acide gras. Plus l'indice d'iode est élevé, plus le degré d'insaturation est élevé.

En présence de diiode, l'empois d'amidon forme un complexe de couleur violette foncée qui est la couleur de la solution avant équilibre, après équivalence toutes les espèces sont incolores, donc le rôle de l'empois d'amidon est un indicateur de fin de réaction. On effectue l'étalonnage de la solution de thiosulfate, l'iode moléculaire est utilisé pour doser le thiosulfate. Le dosage est basé sur les réactions suivantes:



Les résultats des indices d'iode sont représentés dans le (tableau VI et la figure 13).

Tableau VI : Résultats des indices d'iode des différentes matières grasses étudiées.

Types d'échantillons	L'huile de Soja	Sésame	Beurre président	L'huile d'olive
L'indice d'iode	29,84	10,38	9,38	16,92

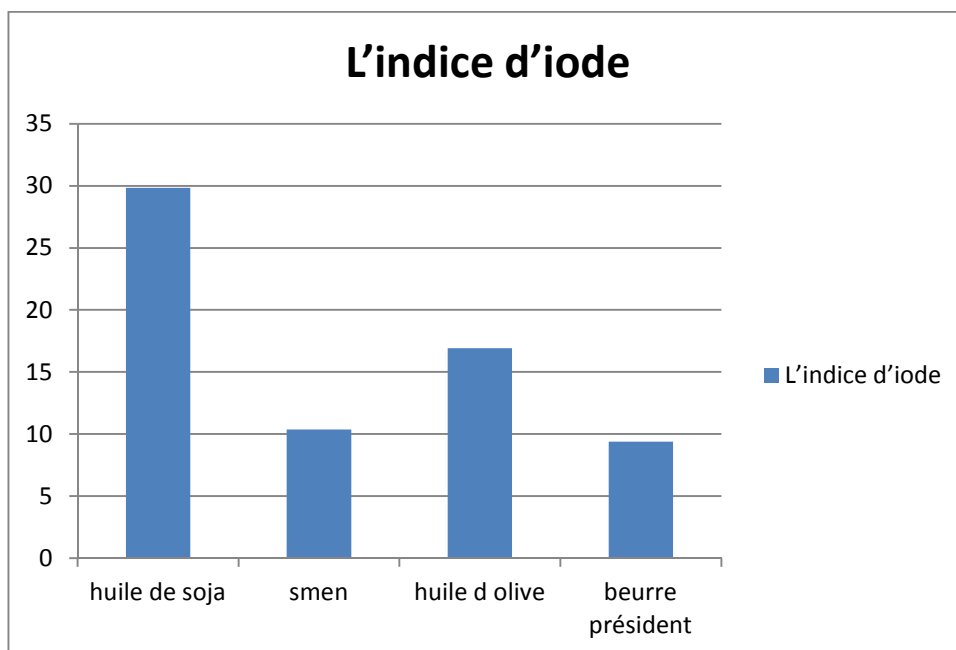


Figure 13 : Comparaison des indices d'iodes dans différentes matières grasses.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que l'huile de soja possède l'indice d'iode le plus élevé parmi les échantillons, suivi par l'huile d'olive puis le smen et en dernier le beurre président. Ceci s'explique par le fait que d'un côté l'huile de soja (riche en acide gras polyinsaturés, l'acide linoléique C18 :2) et l'huile d'olive (riche en un acide gras mono insaturé, l'acide oléique (C18 :1) ont une origine végétale, suivi du smen et du beurre président qui contiennent un indice d'iode inférieur aux deux derniers, vu leur origine animale donc possèdent un nombre inférieur en insaturations.

2.3.1.3. Dosage des glucides, méthode utilisant l'acide 3,5 dinitrosalicylique (DNS)

Les quantités de sucres présents dans les jus de fruits sont très variables et dépendent des fruits dont ils sont issus : le jus de raisin ou le jus de pomme sont plus sucrés que le jus d'agrumes. La teneur en glucide a été déduite à partir de la courbe étalon (figure 14) et les résultats de notre manipulation sont représentés dans la (figure 15 et le tableau VII)

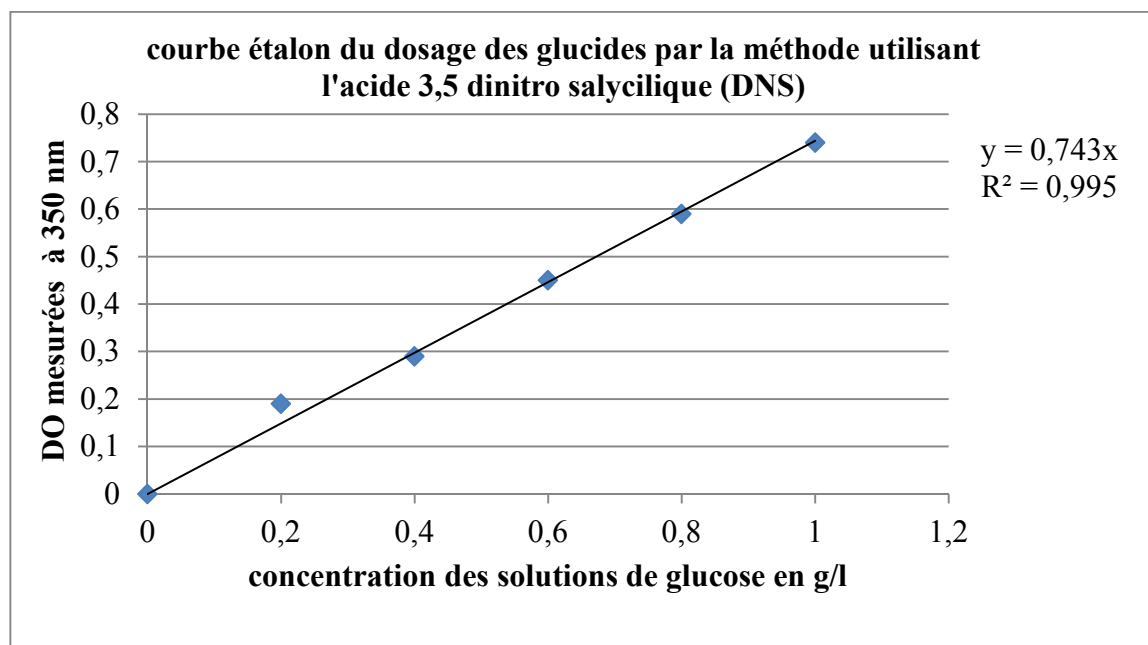


Figure 14: Courbe étalon représentant les densités optiques à 350nm en fonction des concentrations en glucose (g/l)

Une concentration nettement élevée en glucides est enregistré dans le jus Rouiba et du jus Ramy, cela est due aux édulcorants ajouter en plus du sucre naturelle présent dans les fruits utilisées, ce pendant le jus Ifruit présente une faible teneur en glucide, car cet échantillon de jus contient une certaine quantité de lait.

Tableau VII: Comparaison de la teneur en glucides dans différents échantillons de jus

Type d'échantillon	Ramy en bouteille	Ifruit	Jus light	Jus Rouiba
Teneur en glucides (g/l)	40 g/l	22,16 g/l	2,69 g/l	79,3 g/l

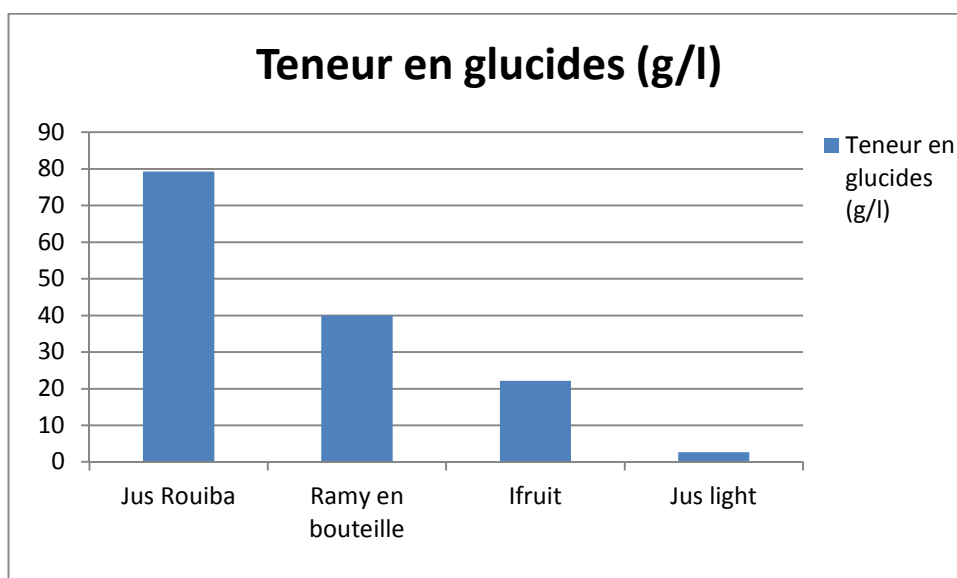


Figure 15 : Comparaison de la teneur en glucides dans différent jus commercialisés.

Partie pratique

La faible teneur dans le jus Ifruit est due à la mauvaise conservation de l'échantillon avant la manipulation ce qui a conduit à la dégradation du glucose par les bactéries et diminuer sa teneur. Le jus light, lui aussi, présente une faible teneur, vu que c'est un jus allégé et ne contient pas de sucres ajoutés donc, il doit contenir une faible concentration en glucides.

2.3.1.4. Résultats du dosage des protéines

L'échantillon testé a subi une dilution de 10^{-2} et il a révélé une concentration de 19g/l à cette dilution. **C=19g/l** déduite à partir de la courbe de régression (figure 16). Les résultats du test sont représentés dans le tableau VIII.

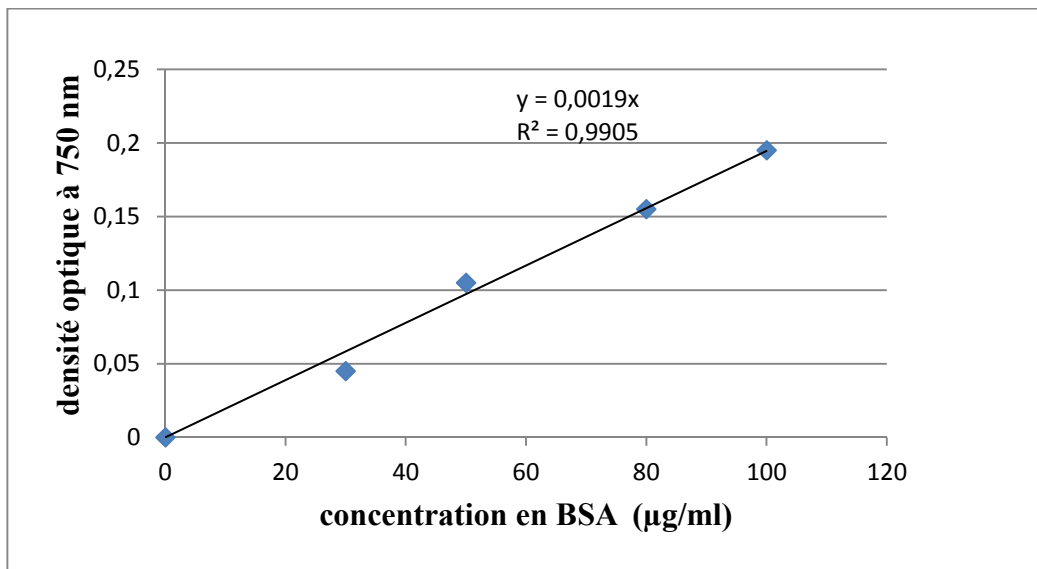


Figure 16: courbe étalon du dosage des protéines par la méthode de LOWRY *et al*(1951), utilisant l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence.

Tableau VIII : Comparaison de la teneur en protéines dans différents échantillons

Type d'échantillon	Lait de vache	Jus lacté
Teneur en protéines (g/l)	26,3 g/l	19 g/l

Le lait de vache contient une teneur nettement supérieure en protéine par rapport au jus lacté, ce qui traduit sa richesse en caséines et protéines sérique. Par contre le jus lacté ne contient que les protéines du lait ajouté au jus pour former un jus lacté.

De nombreuses méthodes ont été mises au point pour doser les protéines. Ce sont généralement des méthodes spectrophotométriques basées sur diverses caractéristiques spectrales ou réactionnelles des acides aminés constituant les protéines. Le choix dépend des besoins et des caractéristiques recherchées: fiabilité, sensibilité, rapidité, taille des

échantillons, possibilité de récupérer l'échantillon après dosage, présence de substances interférentes dans l'échantillon, etc.

Cette méthode a été développée par LOWRY *et al* (1951) qui ont combiné une réaction au biuret et une réaction au réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier, à base de phosphomolybdate et de phosphotungstate, réagit avec les tyrosines et les tryptophanes, pour donner une coloration bleue qui s'ajoute à celle de biuret, C'est une méthode très utilisée en biochimie et dans l'industrie laitière (HUANG *et al*, 1976 ; LOWRY *et al*, 1951). Elle est habituellement étalonnée avec de l'albumine sérique bovine, qui est disponible avec une grande pureté. C'est une méthode rapide et peu coûteuse. La grande sensibilité de la méthode de Lowry est sa principale qualité. Elle peut atteindre 5-10 µg.

La méthode de biuret a été développée par GORNAL *et al* (1949), elle consiste en une réaction entre la liaison peptidique des protéines et un métal de transition (Cu, Ni...) pour former un complexe stable et coloré. Cette méthode est généralement utilisée pour une détermination quantitative. La méthode est affectée par la teneur en azote non protéique et en matière grasse du lait (GUILLOU *et al*, 1986).

Même si cette méthode est peu sensible (1-20 mg), elle est relativement rapide. Sa principale qualité est d'avoir une absorption égale pour toutes les protéines. Encore une fois, le défaut de cette méthode est sa sensibilité à certains interférents comme les peptides, le saccharose, le tris, le glycérol, etc.

Il y'a aussi la méthode de KJELDAHL (1883), qui est une méthode de référence et qui consiste à effectuer une minéralisation complète des molécules organiques, transformant l'azote présent en ammoniacque qui peut être dosé par différentes techniques, mais cette méthode est longue et fastidieuse, ce qui empêche l'utilisation de cette méthode en routine pour le paiement du lait à sa teneur protéique.

Bradford *et al* (1976) ont développé une méthode basée sur l'adsorption du colorant bleu de Coomassie G250. En milieu méthanolique acide, ce colorant s'adsorbe sur les protéines et cette complexation provoque un transfert de son pic d'adsorption qui passe du rouge au bleu. Cette adsorption se fait principalement par des liens ioniques avec des acides aminés basiques (arg, his, et lys) et des interactions hydrophobes (acides aminés hydrophobes).

2.3.2. Les méthodes de séparation et purification (méthodes chromatographique)

2.3.2.1. Chromatographie de perméation sur gel de SEPHACRYL S200

Dans la chromatographie de perméation, les molécules sont séparées selon leur taille et leur forme. On utilise pour cela des granules de gel poreux. Les grosses molécules (dont le diamètre est supérieur à celui des pores) sont exclues et sont donc éluées les premières, au niveau du volume mort (V_m ou V_0). Les petites et moyennes molécules sont éluées plus tardivement, car incluses dans le gel, leur migration est freinée. Les solutés sont donc élués dans l'ordre inverse des masses moléculaires.

Pour le fractionnement, deux échantillons ont été utilisés, les protéines sériques du lait bovin et camelin, en utilisant la chromatographie de perméation sur gel de séphacryl S200. Les protéines sériques camelines sont éluées comme indiqué dans le chromatogramme (figure 17 A) en quatre pics notés F1, F2, F3 et F4.

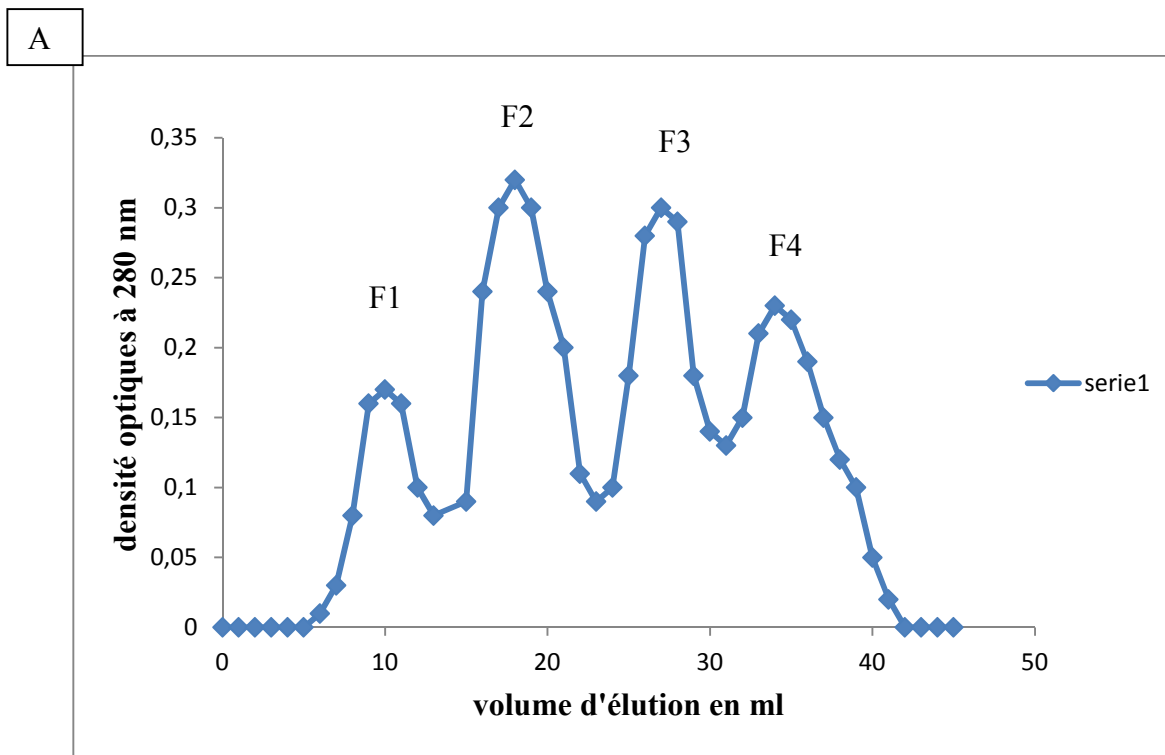


Figure 17A : Chromatogramme des protéines sériques camelines sur séphacryl S200.

Pour les protéines sériques bovines (figure 17 B), elles sont éluées en cinq pics F'1, F'2, F'3, F'4 et F'5. Le débit utilisé est de 1,5 ml/min. l'élution du bleu de dextran a donné un volume mort $V_0=17\text{ml}$.

B

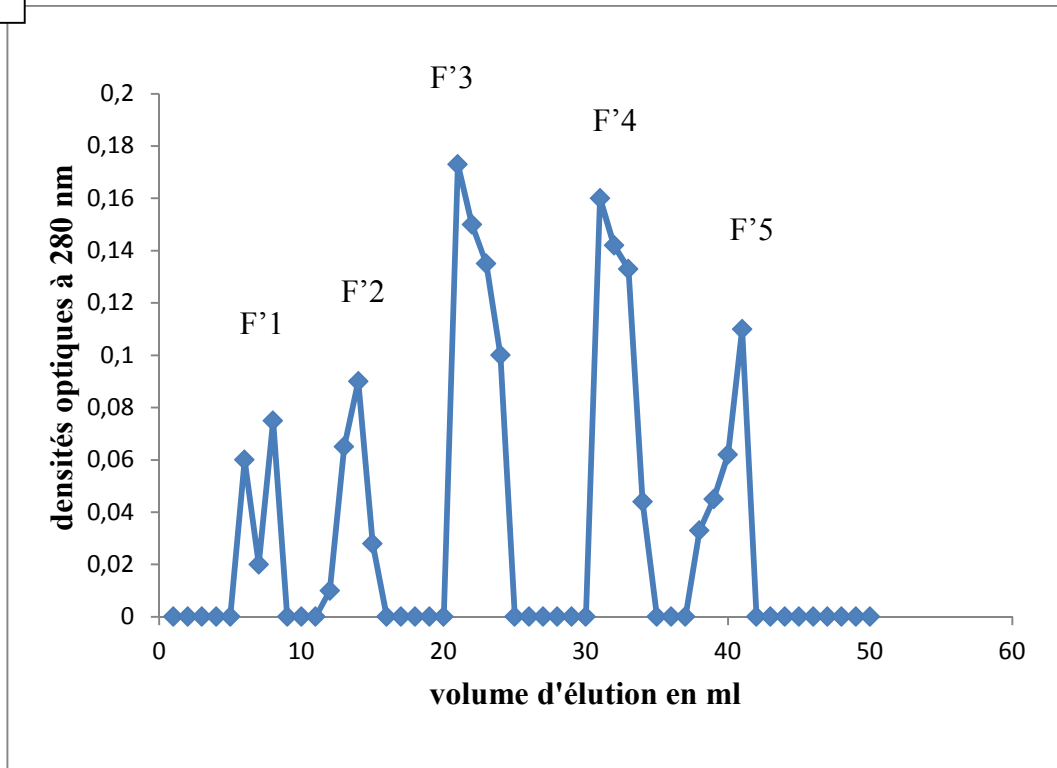


Figure 17B : chromatogramme des protéines sériques bovines sur séphacryl S200.

Les profils électrophorétique sont représentés dans la (figure 18)

2.3.3.2. Isolement et caractérisation électrophorétique des séroprotéines bovines et camelines en condition natives (PAGE-native).

Ce type d'électrophorèse est particulièrement adapté à la séparation des protéines du lactosérum. En absence d'agents dissociant tels que le SDS et l'urée ou de réducteurs tel que le mercaptoéthanol. Les molécules y sont séparées selon leur poids moléculaire ainsi que leur charge (WITTIG *etal*, 2007).

L'analyse du profil électrophorétique obtenu (figure 18), montre une différence assez nette entre les deux profils provenant de deux origines, bovin et camelin, sur le plan qualitatif et quantitatif.

Le premier puits qui correspond au témoin représente les protéines sériques bovines, il a révélé la migration des protéines standards en fonction de leur poids moléculaires ordonné comme suite : Igs < BSA < α -La < β -Lg

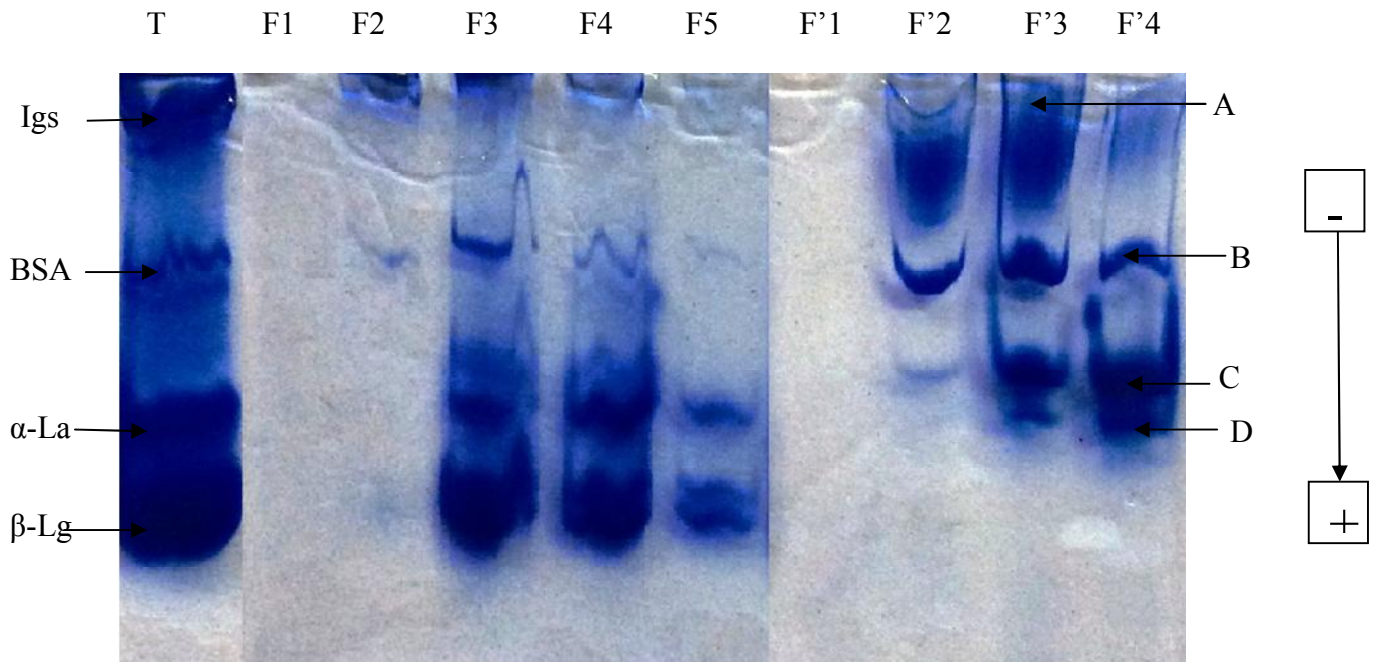


Figure 18: profil électrophorétique des protéines sériques bovines et camelines en PAGE-native, T=12% et C=2,7%. (F1, F2, F3, F4 et F5 séroprotéines bovines. F'1, F'2, F'3 et F'4 séroprotéines camelines).

En ce qui concerne les séroprotéines bovines, on peut distinguer cinq bandes. Pour la F1 les protéines ne sont pas révélées, cela est dû à la concentration infime en protéines dans cette fraction collecté précédemment en chromatographie de perméation sur gel et de même pour la F2 qui a révélé seulement 1 bande. Pour la F3 on peut distinguer 4 bandes bien distinctes correspondant aux différentes protéines sériques bovines selon leur ordre croissant de leur mobilité. En s'appuyant sur les données bibliographiques on peut dire que la première bande correspond aux Igs vu leur poids moléculaire très élevée et leur mobilité très faible donc elles migrent moins vite et pas loin, une bande bien distincte représente la BSA, la troisième bande représente les α -lactalbumine et la dernière c'est les β -lactoglobulines.

La migration dans F4 est la même que celle de F3, enfin dans la F5, il y'a deux bandes bien distincte qui correspondent aux deux variantes génétiques de β -lactoglobuline.

Pour le profil des protéines sériques camelines, la bande A de très faible intensité se trouve au même niveau que les Igs pour le lait bovin donc on peut déduire qu'il s'agit de leur homologue camelin. La bande B qui est au même niveau que la BSA peut correspondre à la CSA dans le lait de chamelle. La bande C représente l' α -la camelines. la bande D qui n'a pas d'homologue dans le lait bovin peut s'agir des variantes de l' α -La camelines.

D'après FARAH *et al* (2004), les protéines sériques de lait de chamelle sont composé de l' α -La, la lactoferrine, la lactopéroxydase, les immunoglobulines et les lysozymes mais la β -Lg semble être absente, c'est pour cela elle n'apparaît pas sur le gel d'électrophorèse.

2.3.3. Méthodes de caractérisation (méthodes électrophorétiques)

2.3.3.1. Hydrolyse enzymatique des protéines du lait par la papaïne

La Papaïne (CE 3.4.22.2) est une protéase qui est isolée de papaye (*Caricapapaya L.*) latex. La papaïne a une importance cruciale dans de nombreux processus biologiques vitaux de tous les organismes vivants. Elle est largement appliquée dans les domaines de la nourriture et des médicaments (UHLIG, 1998). Elle clive préférentiellement les peptides impliquant des acides aminés basiques, en particulier l'arginine, la lysine et des résidus après la phénylalanine (AMRI et MANBOYA, 2012).

La cinétique de cette enzyme a été suivie ou contrôlé par électrophorèse en conditions dénaturantes (PAGE-SDS) après avoir obtenu des hydrolysats à différent temps d'incubation noté en minute (T0, T15, T30, T60 et T120). Les hydrolysats contiennent les produits de la digestion des caséines de lait bovin et de l'albumen par la papaïne à savoir, des polypeptides, des peptides, des tripeptides et des acides aminés. Les profils électrophorétiques sont représentés dans la (figure 19).

Le mécanisme d'action de la papaïne est rendu possible grâce à la partie cystéine-25 de la triade dans le site actif qui attaque le carbone du carbonyle dans le squelette de la chaîne peptidique libérant l'extrémité amino terminale. Comme cela se produit dans toute la chaîne peptidique de la protéine, la protéine se brise. Le mécanisme par lequel les liaisons peptidiques se cassent implique la déprotonation de Cys-25 par His-159. Asparagine-175 contribue à orienter le cycle imidazole de His-159 pour permettre cette déprotonation d'avoir lieu (MENARD *et al*, 1990; TSUGE *et al*, 1999).

2.3.3.3. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions dénaturantes en présence de SDS (PAGE SDS)

Le SDS « Sodium dodécyl sulfate » de formule $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{11}-\text{SO}_3^- \text{Na}^+$ est un détergent anionique qui se fixent aux protéines et leur confèrent ainsi une même charge globale négative. Si ces dernières sont mises dans ces conditions sous un champ électrique, elles ne

Partie pratique

pourront se séparer que sur la base de leur taille et leur forme, autrement dit selon leur poids moléculaire (PM). Le 2-Mercaptoéthanol rompt les ponts disulfures.

Dans la figure 19, est représenté le profil électrophorétique des hydrolysats de caséine de lait de vache et des protéines du blanc d'œuf.

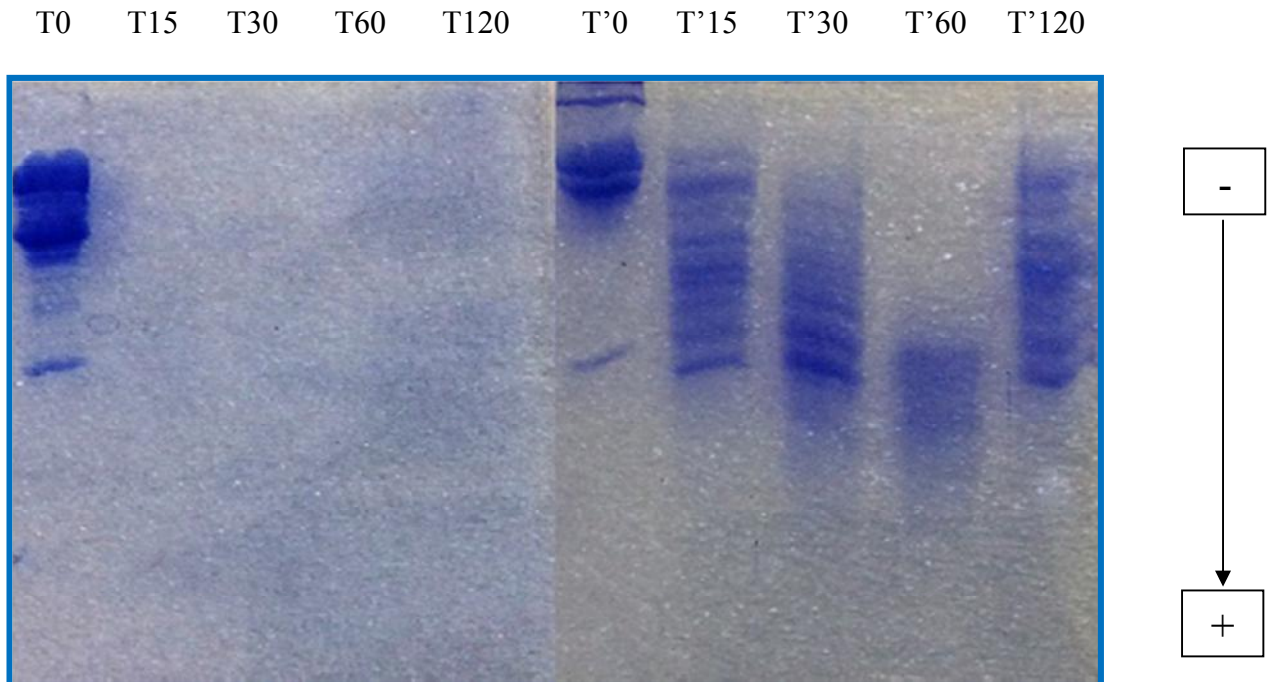


Figure 19: profil électrophorétique des hydrolysats de caséines bovines (T0, T15, T30, T60 et T120) et de protéines du blanc d'œuf (T'0, T'15, T'30, T'60 et T'120) par la papaïne à différent temps d'incubation. T=12% et C=2,7%.

Pour l'électrophorèse des caséines bovines il n'y a pas eu vraiment de révélation pour les échantillon correspondant à T15, T30, T60 et T120, cela est peut être du à l'hydrolyse complète des caséines par la papaïne vu que les caséines sont moins résistantes à l'hydrolyse, ou c'est la durée d'incubation qui n'a pas été respecté, mais en T0 il y'a révélation de deux bandes claires et épaisses et une bande plus fine et moins claire ce qui traduit l'hydrolyse enzymatique et qui peuvent correspondre aux acides aminés, aux peptides ou aux polypeptides selon le type de caséine hydrolysée.

Pour ce qui est des hydrolysats des protéines du blanc d'œuf, leur profil électrophorétique a révélé l'existence de plusieurs bandes contigües et serrées ce qui traduit l'hydrolyse enzymatique des protéines en plusieurs peptides avec différents poids moléculaires.

Le blanc d'œuf contient, en plus des autres protéines, quatre principales protéines qui sont : l'ovalbumine, l'ovotransferrine, l'ovomucoïde et le lysozyme (HOLEN et ELSAYED, 1990).

Conclusion

Il existe un grand nombre de méthodes pour l'évaluation de la qualité d'un produit alimentaire que ce soit au niveau sensorielle ou au niveau organoleptiques, mais chaque méthode, à coté de ces qualités, présente des défauts qui peuvent lui valoir une mauvaise interprétation des résultats et ainsi touché de près ou de loin la santé du consommateur.

L'objectif de cette étude de la qualité physico-chimique de quelques produits alimentaires commercialisés à savoir, les jus Ramy, Rouiba, Ifruit et jus lacté ainsi que le lait de vache et de chamelle en utilisant quelques techniques d'analyse et des méthodes de dosage physico-chimiques.

Les méthodes de dosage rapide (principalement celle de dosage de la vitamine C, des protéines, des glucides.. etc) sont considérées comme les techniques les plus répondues mais de nouvelle méthodes ont été mise au point, pour apporter plus de précision, comme l'électrophorèse et la chromatographie mais ces méthodes sont lentes. Cependant, le développement des méthodes chromatographiques rapides (FPLC, HPLC) ouvrent de nouvelles perspectives par un abaissement important du temps d'analyse.

Les attitudes des consommateurs contemporains marqués par une tendance à la méfiance en vers l'industrie, pousse les chercheurs à trouver de nouvelles techniques et à optimiser les anciennes car un système de contrôle continu de la qualité est difficile à maintenir, mais essentiel. Cet objectif requiert l'utilisation de standards (références) pour un contrôle continue des produits alimentaires et la participation fréquente à des essais d'aptitude ou des études interlaboratoires. Les conséquences graves qui découlent d'une mauvaise mise en place du système d'assurance de la qualité justifient le temps et les dépenses nécessaires qu'il faut y consacrer.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- **AGGARWAL N. et SHISHU. (2011).** A review of recent investigations on medicinal herbs possessing anti-diabetic properties. *J. Nutrition. Disord. Ther.* 1, 102. doi:10.4172/jndt.
- 2- **ALLANNIC H. DELAMAIRE M., MAUGENDRE D., MORENO M, LE GOFF MC., GENETET B. (1997).** Impaired leucocyte functions in diabetic patients. *Diabet Med.* 14(1):29-34.
- 3- **AMRI E. et MANBOYA F. (2012).** Papain, a plant enzyme of biological importance. *Am.j. of biochem. And biotech.*, 8(2), 99-104.
- 4- **ANAES. (2000).** (l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé). Stratégie de prise en charge du patient diabétique de type 2 à l'exclusion de la prise en charge des complications. *Service des Recommandations et Références Professionnelles. Paris*; ISBN: 2-910653-73-0.
- 5- **AYDIN S. A. (2007).** comparison of ghrelin, glucose, alpha-amylase and protein levels in saliva from diabetics. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 40, 29–35.
- 6- **BASTARD J.P HAINQUE B. (1995).** Mécanismes d'action cellulaire de l'insuline et insulino-résistance périphérique. *Sang Thromb Vaiss* ; 7 : 365-374.
- 7- **BENINI L., CASTELLANI G., BRIGHENTI F., HEATON K. W. (1995).** Gastric emptying of a solid meal is accelerated by the removal of dietary fibre naturally present in food. *Gut*, 36, 825–830.
- 8- **BOROS B., JAKABOVA S., DORNYEI A., HORVATH G., PLUHAR Z ., KILAR F., FELINGER A.BRAVO L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev.*;56(11):317-33.
- 9- **BOSQUET F., HARTEMANN-HEURTIER A. (2004).** Insulinothérapie dans le diabète de type2. *EMC Endocrinologie*; 1 : 55–65.
- 10- **BOUXID H. (2012).** Les plantes médicinales et le diabète de type 2 (A propos de 199 cas). Thèse méd., Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, n°001/12.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 11- **BRADFORD, M. (1976).** A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding *Anal. Biochem.* 72, 248 – 256.
- 12- **BROADHURST C. L., POLANSKY M.M. (2000).** Anderson, R. A., Insulinlike biological activity of culinary and medicinal plant aqueous extracts in vitro. *J. Agric. Food Chem.* 48, 849–852.
- 13- **BROUSSOLLE C., ORGIAZZI J., NOËL G. (1990).** Physiopathologie du diabète noinsulinodépendant: données actuelles et conséquences thérapeutiques. *La Revue de Mddecine Interne*; XI (2): 143- 148.
- 14- **BUYSSCHAERT M., HERMANS M.P. (1998).** Critères révisés et nouvelle classification des diabètes sucrés. *Louvin Med.*; 117: 1-6.
- 15- **BUYSSCHAERT M. (2006).** Diabétologie clinique. 3è édition. s.l.: DeBoeck., pp. 33-34.
- 16- **CAMPBELL IW, HOWLETT HC. (1995).** Worldwide experience of metformin as aneffective glucose-lowering agent: a meta-analysis. *Diabetes Metab Rev*;11(1):S57–62.
- 17- **CHARBONNEL B., CARIOU B. (1997).** Diabète non insulino dépendant: indications thérapeutiques. *Médecine thérapeutique* ; 3.hs: 103-11.
- 18- **CHARLES A. ET DEN G. (1997).** Abrégé de Biochimie alimentaire. 4eme Edition : Masson, Paris, 225-232.
- 19- **CHENG A. Y., FANTUS I. G., (2005).** Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Can. Med. Assoc. J.*, 172, 213–226.
- 20- **DA SILVA PINTO M., KWON Y.-I., APOSTOLIDIS, E., LAJOLO F. M. (2008).** Functionality of bioactive compounds in Brazilian strawberry (*Fragaria x ananassa Duch.*) cultivars: evaluation of hyperglycemia and hypertension potential using in vitro models. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 4386–4392.
- 21- **DJOM. (1993).** Suivi de la palmisterie du processus de fabrication de l'huile de palme et contrôle de qualité des produits finis. Mémoire de fin d'étude. ENSIAAAC .Université de Ngaoundéré. 52 P.

- 22-DROUIN P., BLICKLE J.F., CHARBONNEL B., ESCHWEGE E., GUILLAUSSEAU P.J., DANINOS J.M., BALARAC N., SAUVANET J.P., 1999.** Diagnostic et classification du diabète sucré. Les nouveaux critères. *Diabète et Métabolisme*. Paris ; 25(1) : 72-83.
- 23- DYER J., WOOD I. S., PALEJWALA A., ELLIS A. (2002).** Expression of monosaccharide transporters in intestine of diabetic humans. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 282, G241–G248.
- 24- EDWARDS C. A., JOHNSON I. T., READ N. W. (1988).** Do viscous polysaccharides slow absorption by inhibiting diffusion or convection. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 42, 307–312.
- 25- ETXEBERRIA U., DE LA GARZA A. L., CAMPIO' N, J., MARTINEZ J. A. (2012).** Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic alpha amylase. *Expert Opin. Ther. Targets*, 16, 269–297.
- 26- FAGOT-CAMPAGNA A., ROMON I. et FOSSE S. (2010).** Prévalence et incidence du diabète, et mortalité. Institut de veille sanitaire.p3
- 27- FARAH Z, FISCHER A. (2004).** Milk and Meat from the camel Handbook on products and processing february : *milk* 25-28.
- 28- Fédération international du diabète, (2013).** Atlas du diabète de la FID, Chapitre 2, LE FARDEAU MONDIAL, Sixième édition (p35).
- 29- FEDERATION INTERNATIONALE DU DIABETE. (2011).** plan mondial contre le diabète 2011-2021.p13.
- 30- GARY WILLIAMSON. (2013).** Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion *Mol. Nutr. Food Res.* review, 57, 48–57.
- 31- GEE JM, DUPONT MS, DAY AJ, PLUMB GW, WILLIAMSON G, JOHNSON IT. (2000).** Intestinal transport of quercetin glycosides in rats involves both deglycosylation and interaction with the hexose transport pathway. *J Nutr.*; 130(11):2765-71.

- 32- GORNALL A G, BARDAWILL C J & DAVID M M. (1949).** Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177:751-66.
- 33- GREENWAY F., O'NEIL C. E., STEWART L., ROOD, J. (2007).** Fourteen weeks of treatment with Viscofiber R _ increased fasting levels of glucagon-like peptide-1 and peptide-YY. *J. Med. Food*, 10, 720–724.
- 34- GRIMALDI A. 2009.** Traité de diabétologie, 2ème édition, *Ed. Médecine-Sciences, Flammarion*, Paris, 210 p.
- 35- GUILLOU H., PELISSIER J.P., GRAPPIN. (1986).** R. Méthodes de dosage des protéines du lait de vache. *Le Lait*, 66 (2), pp.143-175.
- 36- GUZMAN-MALDONADO H., PAREDES-LOPEZ O., (1995).** Amylolytic enzymes and products derived from starch: a review. *Crit Rev. Food Sci. Nutr.*, 35, 373–403.
- 37- HALIMI S., ROSTOKER G., ALTMAN J.J., ATTALI C. (1999).** Traitement médicamenteux du diabète de type 2. Agence françaises de sécurité des produits de santé. Recommandation de bonne pratique : 13-19.
- 38- HOLLMAN PC, BIJSMAN MN, VAN GAMEREN Y, CNOSSEN EP, DE VRIES JH, KATAN MB. (1999).** The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radic Res.*; 31(6):569-73.
- 39- HUANG S.-L., JAO C.-L., HO, K.-P., HSU K.-C. (2012).** Dipeptidylpeptidase IV inhibitory activity of peptides derived from tuna cooking juice hydrolysates. *Peptides* 2012, 35, 114–121.
- 40- HUANG Y W., MASHALLRT., ANDERSON ME., CHAROEN C. (1976).** Automated Modified Lowry Method for Protein Analysis of Milk, *J. Food Sci.* 41: 1219 1221 (1976).
- 41- IMPARL-RADOSEVICH, J., DEAS S., POLANSKY M.M., BAEDKE D. A. (1998).** Regulation of PTP-1 and insulin receptor kinase by fractions from cinnamon: implications for cinnamon regulation of insulin signalling. *Horm. Res.*, 50, 177–182.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 42- **INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION** (en ligne) <https://www.idf.org/diabetesatlas/fr/introduction> (consulté le 15 septembre 2015).
- 43- **JAYAPRAKASAM B., VAREED S. K., OLSON L. K., NAIR M. G. (2005).** Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 28–31.
- 44- **JOHNSTON K., SHARP P., CLIFFORD M., MORGAN L. (2005).** Dietary polyphenols decrease glucose uptake by human intestinal Caco-2 cells. *FEBS Lett.*, 579, 1653–1657.
- 45- **KAHN B.B. (1992).** Facilitative glucose transporters: regulatory mechanisms and dysregulation in diabetes. *J Clin Invest.*, 89: 1367-71.
- 46- **KARAKAYA S. (2004).** Bioavailability of phenolic compounds. *Crit Rev Food Sci Nutr.*; 44(6):453-64.
- 47- **KIM J.-A., HYUN T. K., KIM M.-J. (2011).** The inhibitory effects of ethanol extracts from sorghum, foxtail millet and prosomillet on α -glucosidase and α -amylase activities. *Food Chem.* 124, 1647–1651.
- 48- **KJELDAHL J. Z. (1883).** A new method for the determination of nitrogen in organic bodies. *Analytical Chemistry* 22 : 366.
- 49- **KOBAYASHI Y., SUZUKI M., SATSU H., ARAI S. (2000).** Green tea polyphenols inhibit the sodium-dependent glucose transporter of intestinal epithelial cells by a competitive mechanism. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 5618–5623.
- 50- **KOLTNOFF et SANDELL. (1936).** Textbook of quantitative inorganic analysis. The mac Millan Co N.Y., p. 584-596.
- 51- **LALAU JD, LACROIX C, COMPAGNON P. (1995).** Role of metformin accumulation in metformin-associated lactic acidosis. *Diabetes Care*;18(6):779–84.
- 52- **LAVIN J. H., READ N. W. (1995).** The effect on hunger and satiety of slowing the absorption glucose: relationship with gastric emptying and postprandial blood glucose and insulin responses. *Appetite*, 25, 89–96.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 53- LEOVITZ H. E. (1997).** Alpha-glucosidase inhibitors. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 26, 539–551.
- 54- LEITE RS, MARLOW NM, FERNANDES JK. (2013).** Oral health and type 2 diabetes. *Am J MedSci*;345(4):271–3.
- 55- LIU X., KIM J.-K., LI Y., LI J. (2005).** Tannic acid stimulates glucose transport and inhibits adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *J. Nutr.*, 135, 165–171.
- 56- LOWRY O-H., ROSEBROUGH N-J., FARR A-L. et RANDALL R-J. (1951).** Protein measurement with folin phenol reagent. *Journal of biochemistry*, 193, 265-275.
- 57- MACHEIX et COLL., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire, *Lavoisier* 1-28.
- 58- MALAISSE WJ., MALAISSE-LAGE F, SENER A, PIPELEERS DG. (1982).** Determinants of the selective toxicity of alloxan to the pancreatic B-cell. *Proc. Natl Acad Sci USA*, 79: 927-930.
- 59- MAMBAP. (1989).** Etude chimique et valorisation des graines de soja. Mémoire de fin d'études. ENS université de Yaoundé. Page 8.
- 60- MANZANO S., WILLIAMSON G. (2010).** Polyphenols and phenolic acids from strawberry and apple decrease glucose uptake and transport by human intestinal Caco-2 cells. *Mol. Nutr. Food Res.*, 54, 1773–1780.
- 61- MARLES R. J., FARNSWORTH N. R. (1995),** Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2, 137–189.
- 62- MARTINI el BONSIGNORE. (1934).** *Biochem. Z.*, 273, 170. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 9, 388.
- 63- MATHERS CD, LONCAR D. (2006).** Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*, 3(11):e442.
- 64- MATSUI T., KOBAYASHI M., HAYASHIDA S., MATSUMOTO K., LUTEOLIN. (2002).** a flavone, does not suppress postprandial glucose absorption through an inhibition of a-glucosidase action. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66, 689–692.

- 65- MAUGENDRE D., YAOUANQ J., GUILHEM I., CAMPION L., LORCY Y., LEGUERRIER A.M., ALLANNIC H. (2007). Etiologie et physiopathologie des diabètes secondaires. In: Encyclopédie Médico-chirurgicale. *Endocrinologie-Nutrition. Editions scientifiques et médicales, Elsevier Masson SAS* ; 10-366-D-20 :6.

- 66- MCCUE P., KWON Y.-I., SHETTY K. (2005). Anti-amylase and antiangiotensin I-converting enzyme potential of selected foods. *J. Food Biochem.*, 29, 278–294.

- 67- MCDOUGALL G. J., SHPIRO F., DOBSON P., SMITH P. (2005). Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α -amylase and α -glucosidase. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 2760–2766.

- 68- MELLITUS D. (2011). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 27: p. S5-S10.

- 69- MENARD R., H.E. KHOURI C. PLOUFFE R. DUPRAS AND D. RIPOLL . (1990). A protein engineering study of the role of aspartate 158 in the catalytic mechanism of papain. *Biochemistry*, 29: 6706-6713. DOI: 10.1021/bi00480a021.

- 70- MESSING et BILLAUX. (1999). Insulinorésistance. s.l : *Arnette*, p. 42.

- 71- MOCHIDA T., HIRA T., HARA H. (2010). The corn protein, zein hydrolysate, administered into the ileum attenuates hyperglycemia via its dual action on glucagon-like peptide-1 secretion and dipeptidyl peptidase-IV activity in rats. *Endocrinology* , 151, 3095–3104.

- 72- MOHAMMADI S., HOSSEINZADEHATTAR M.J., HOSSEINNEZHAD A., HOSSEINI S.H., ESHRAGHIAN M.R., NEZHAD M.K., RAHMANI M., KARIMI M. (2011). Compare the effects of different visfatin concentration on cardiovascular risk factors, adiponectin and insulin resistance in patients with T2DM. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 5, 71–75.

- 73- NAYLOR C.D., SERMER M., CHEN E., FARINE D. (1997). Selective screening for gestational diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.*; 337 (22): 1591-1596.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 74- NDEYE. (2001).** Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées aux SENEGAL. Thèse pour l'obtention du grade de docteur en pharmacie.
- 75- OBERLEY LW. (1988).** Free radicals and diabetes. *Free Radic Biol Med*, 5(2): 113-124.
- 76- OBOH G., AKINYEMI A. J., ADEMILUYI A. O., ADEFEGHA S. A. (2010).** Inhibitory effects of aqueous extract of two varieties of ginger on some key enzymes linked to type-2 diabetes in vitro. *J. Food Nutr. Res.*, 49, 14–20.
- 77- OGUZIE E.E., (2004).** mater, *Chem. Phy.* 87-212.
- 78- OKA Y., ASANO T., SHIBASAKI Y., LIN J.L., TSUKUDA K., KATAGIRI H., AKANUMA Y., AND TAKAKU F. (1990).** C-terminal truncated glucose transporter is locked into an inward-facing form without transport activity. *Nature* 345:550-553.
- 79- OKAFOR P. C., OSABOR V.I. ET E. E. EBENSO (2007).** Eco friendly corrosion inhibitors: Inhibitive action of ethanol extracts of *Garcinia Kola* for the corrosion of aluminium in acidic medium. *Pigment and Resin Technology* (EMERALDINSIGHT, UK). 36(5): 299 - 305.
- 80- OMS (en ligne)** http://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/fr/ (consulter le 10 septembre 2015).
- 81- OMS. (2014).** Global Health Estimates: Deaths by Cause, Age, Sex and Country, 2000-2012. Geneva.
- 82- OMS. (2014).** global status report on noncommunicable diseases. Geneva, World Health Organization.
- 83-PERLEMUTIERr L., COLLIN DE L'HORTET, G. et SELAM J-L.(200).** Diabète et maladies métaboliques. 3e édition. Paris : Masson.
- 84- PHILIPPE J, BRÄNDLE M, JACQUES C, DIEM P, KELLER U, KUNTSCHE F, RUIZ J, STAHL M, WEISSENBERGER B, GIATGEN A. SPINAS. (2009).** Recommandations sur le traitement du diabète de type 2. Déclaration de consensus de la Société Suisse d'Endocrinologie-Diabétologie. *Forum Med Suisse* 2009;9 (3):50–55.

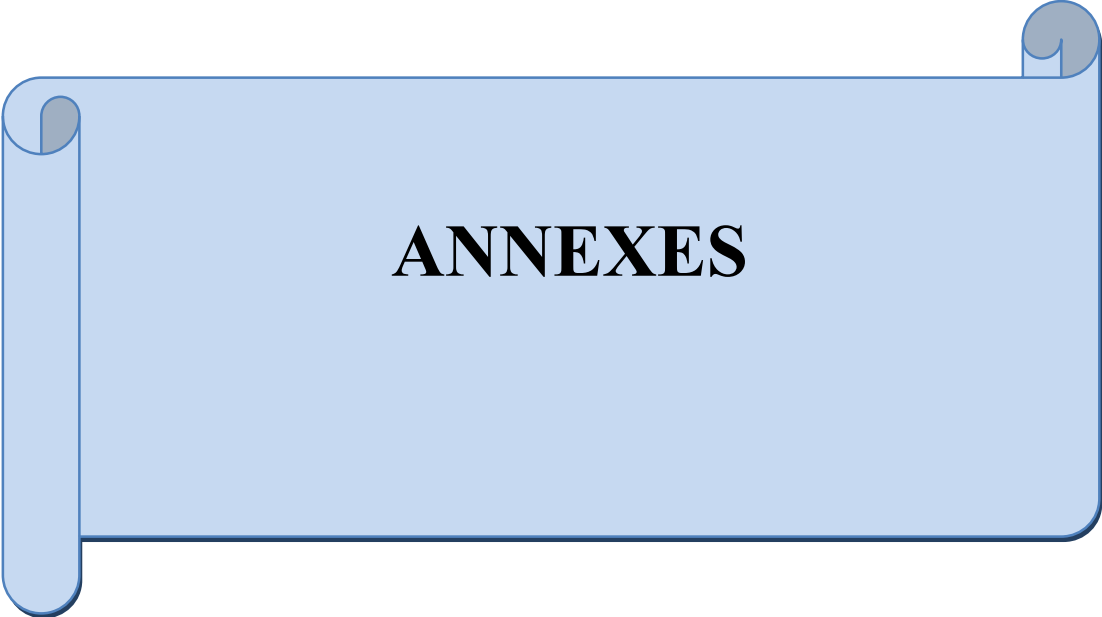
- 85- POSTIC C., A. LETURQUE F. RENCUREL R. L. PRINTZ C. FOREST D. K. GRANNER AND J. GIRARD (1993).** "The effects of hyperinsulinemia and hyperglycemia on GLUT4 and hexokinase II mRNA and protein in rat skeletal muscle and adipose tissue." *Diabetes* 42(6): 922-929.
- 86- POSTIC C., R. DENTIN P. D. DENECHAUD and J. GIRARD (2007).** chREBP, a transcriptional regulator of glucose and lipid metabolism." *Annual review of nutrition* 27, 179-192.
- 87- PRIOR RL ET WU X. (2006).** Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radic Res.*; 40(10):1014-28.
- procédés. K 330 1.
- 88- RACCAH D. (2004).** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*; 1 : 29-42.
- 89- RAO SS, DISRAELI P, MCGREGOR T. (2004).** Impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. *Am Fam Physician*. 69(8):1961-8.
- 90- SACHON C, CORNET P., GRIMALDI A. (2004).** Diagnostic du diabète. In *Diabète de type II*, coordonné par Grimaldi A. EMC référence, Elsevier, Paris : 83-101. Selective toxicity of alloxan to the pancreatic B-cell. *Proc. Natl Acad Sci USA*, 79: 927-930.
- 91- SCHLIENGER J.L. (2014).** Besoins nutritionnels et apports conseillés : adultes, femmes enceintes, personnes âgées, sportifs, *Nutrition clinique pratique*, Chapitre 3, p44.
- 92- SELTZER HS. (1989).** Drug-induced hypoglycemia. A review of 1418 cases. *Endocrinol Metab Clin North Am*; 18(1):163–83.
- 93- SHAMSEDDEEN H., GETTY J.Z., HAMDALLAH I.N., ALI M.R. (2011)** Epidemiology and economic impact of obesity and type 2 diabetes *Surgical Clinics of North America*, vol 91 (issue 6), p. 1163-1172.
- 94- SHIMIZU M., KOBAYASHI Y., SUZUKI M., SATSU H. (2000).** Regulation of intestinal glucose transport by tea catechins. *Biofactors*, 13, 61–65.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 95- SHOBANA S., SREERAMA Y. N., MALLESHI N. G. (2009).**Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics: mode of inhibition of α -glucosidase and pancreatic amylase. *Food Chem.*, 115, 1268–1273.
- 96- SIM L., WILLEMSMA C., MOHAN S., NAIM H. Y. (2010).** Structural basis for substrate selectivity in human maltaseglucoamylase and sucrase-isomaltase N-terminal domains. *J. Biol. Chem.*, 285, 17763–17770.
- 97- SRINIVASAN K. (2005).** Plant foods in the management of diabetes mellitus: spices as beneficial antidiabetic food adjuncts. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 56, 399–414.
- 98- TADERA K., MINAMI Y., TAKAMATSU K., MATSUOKA T. (2006).** Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, 52, 149–153.
- 99- TAUBER et KLEINER. (1935).** an enzymic method for the estimation of true vitamin C". *Bid. Chem.*, 110, 559.
- 100- TERRUZZI I., SENESI P., MAGNI C., MONTESANO A. (2011).** Insulin-mimetic action of conglutin-, a lupin seed protein, in mouse myoblasts. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 21, 197–205.
- 101- THORENS B., (1996).** Glucose transporters in the regulation of intestinal, renal, and liver glucose fluxes. *Am J Physiol* 270:G541-553.
- 102- TILLMANN J, HURCH P et JACKISH J. (1932).** Reduction capacity of plants food tuffs and its relations to vitamin C. III-Quantities of reducting substances in various fruits and vegetables. *Z. Untersuch. Lebensm.* 63, 241-267.
- 103- TSUGE H., T. NISHIMURA Y. TADA T. ASAO AND D. TURK. (1999).** Inhibition mechanism of cathepsin L-specific inhibitors based on the crystal structure of papainCLIK148 complex. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 266: 411-416. DOI: 10.1006/bbrc.1999.1830.
- 104- WALY M.I.,ESSA M.M.,ALI A. (2010).**The global burden of type 2diabetes:are view. *International Journal ofBiological & Medical Research*1, 326–329.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 105- WANG Z, THURMOND DC. (2009)** Mechanisms of biphasic insulin-granule exocytosis - roles of the cytoskeleton, small GTPases and SNARE proteins. *Journal of Cell Science* 122:893-903.
- 106- WILLIAMSON D.F., PAMUK E., THUN M., FLANDERS D., BYERS T., HEATH C. (1995)** Prospective study of intentional weight loss and mortality in never-smoking overweight US white women aged 40–64 years. *American Journal of Epidemiology*, vol 141, p. 1128-1141.
- 107- WITTIG I., KARAS M. et SCHAGGER H. (2007)**-High resolution clear native electrophoresis for in-gel functional assays and fluorescence studies of Membrane Protein Complexes. *Molecular and Cellular Proteomics*. 6.7, 1215-1225.
- 108- WOOD L.S. AND P. TRAYHURN (2003).** "Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins." *British journal of nutrition* 89(1):3-9.
- 109- YAMASHITA H., M. TAKENOSHITA M., SAKURAI R.K., BRUICK W.J., HENZEL W., SHILLINGLAW D. ARNOT AND K. UYEDA (2001).** "A glucose responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver". *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of America* 89(16):9116-9121.
- 110- YOU Q., CHEN F., WANG X., JIANG Y. (2012).** Anti-diabetic activities of phenolic compounds in muscadine against α -glucosidase and pancreatic lipase. *LWT – Food Sci. Technol.*, 46, 164–168.
- 111- ZHOU J., MARTIN R. J., TULLEY R. T., RAGGIO A. M. (2008).** Dietary resistant starch upregulates total GLP-1 and PYY in a sustained day-long manner through fermentation in rodents. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 295, E1160–E1166.



ANNEXES

ANNEXES

Annexe 01 : détermination de la teneur en vitamine C par la méthode au 2-6-DPIP

Réactifs :

Solution de 2-6-dichlorophénol indophénol à 0,5g/l, préparée comme suite :

- Sel de sodium du 2-6 DPIP.....0,5 g
- bicarbonate de sodium0,2 g
- eau distillé chaude..... 300 ml
- Laisse refroidir et ajuster à 1000 ml avec l'eau distillée froide, puis filtrer.

- Solution d'acide ascorbique à 0,4 g/l
- Acide acétique glaciale (99 à 100%)

Mode opératoire :

Dans un bécher de 10 ml, introduire :

- 1 ml de solution à doser ;
- ajouter 200 µl d'acide acétique glaciale, mélanger ;
- verser goutte à goutte la solution du 2-6 DPIP à l'aide d'une burette, jusqu'à apparition d'une coloration rose pale persistante.
- lire le volume sur la burette (chute de burette), soit V1 (ml)

Etalonnage de la solution d'acide ascorbique :

L'étalonnage est réalisé à l'aide d'une solution étalon de concentration $C1=0,4g/l$. elle correspond à une chute de burette V1 (ml).

Expression des résultats :

La teneur en vitamine C en mg/l, est donnée par la relation suivante :

$$C2 = (C1 \times V1 / V2) \times 100$$

Où : C1 : concentration en acide ascorbique de la solution étalon

C2 : concentration en vitamine C dans le jus

V1 : chute de burette mesurée dans le cas de la solution étalon

V2 : chute de burette mesurée dans le cas du jus

Annexe 02 : détermination des indices d'iode et d'acidité d'une matière grasse

1-indice d'acidité :

Protocole expérimental :

-Peser 2,5g de matière grasse (huile de soja) dans un bécher puis les dissoudre dans 5ml d'éthanol ;

-titrer immédiatement avec la potasse alcoolique (0,1N), en présence de phénophtaléine (3 gouttes) jusqu'à l'apparition d'une coloration rose-pâle persistante.

Expression des résultats :

L'indice d'acide est calculé par la relation suivante : $IA = \frac{V \cdot N \cdot 56,1}{m}$

IA : indice d'iode ;

N : normalité de la solution éthanolique de KOH;

V : volume de la solution éthanolique exprimé en ml ;

m : masse de la prise d'essai d'huile en (gr) ;

56,1 : masse molaire de KOH.

Indice d'iode :

Protocol expérimental :

- préparer deux tubes, un tube témoin qui contient du lugol seul et un autre qui contient un échantillon d'huile et du lugol.
- Titrer avec une solution de thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$, 0,02N), et déterminer les volumes de thiosulfate nécessaire pour le titrage des deux.

1-préparation du tube témoin : introduire dans un tube à essai 5ml de lugol et quelque goutte d'amidon (le mélange est bleu). Déterminer le volume V_1 de thiosulfate de sodium nécessaire pour neutraliser l'iode contenu dans le tube témoin.

2- préparation du tube échantillon : introduire dans un tube à essai 5ml de lugol, 0,5ml d'huile puis chauffer pendant 5 min (bien homogénéiser le long du chauffage) ; après refroidissement, Ajouter quelque goutte d'empois d'amidon (mélange bleu) puis verser le thiosulfate goutte à goutte en agitant, jusqu'à décoloration. Déterminer le volume V_2 nécessaire pour neutraliser l'iode contenu dans l'échantillon.

Expression des résultats :

L'indice d'iode est calculé par l'équation suivante (AFNOR ,1984) :

$$Ii(g/100g) = \frac{(V_0 - V) \cdot 0,01269 \cdot 100}{p}$$

Où : V_0 : volume (ml) pour doser le témoin

V : volume de thiosulfate (ml) pour doser l'échantillon

P : poids de la matière grasse

Calcule des indices d'iode et d'acide :

Puis on détermine le nombre d'insaturation dans nos matières grasses, donné par l'équation suivante :

$$nI = \frac{Ii \cdot m}{MI_2 \cdot 100}$$

nI : nombre d'insaturation m : masse du corps gras MI_2 : masse molaire de l'iode

Annexe 03 : dosage des glucides, méthode utilisant l'acide 3-5 dinitrosalicylique(DNS)

- réaliser une courbe d'étalonnage avec une solution de glucose à 1g/l ;
- préparer les dilutions nécessaires pour les échantillons inconnu (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) dans le cas ou ils sont concentrés (leurs DO à 350 nm après la réaction doit être incluse dans la gamme étalon).

Gamme étalon :

Numéros du tube	01	02	03	04	05	06
solution de Glc (ml)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Eau distillé (ml)	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0
DNS (ml)	2	2	2	2	2	2

Protocol expérimental :

- préparation des différentes dilutions de l'échantillon ;
- mettre 1ml de la solution à doser (ou des différentes dilutions) dans un tube a essai ;
- ajouter 2ml du réactif (3,5 DNS) ;
- chauffer au bain-marie bouillant pendant 5 min ;
- refroidir par écoulement d'eau au robinet ;
- ajouter 7ml d'eau distillé et homogénéiser ;
- laisser reposer pendant 15 min à température ambiante ;
- faire la lecture à 350nm contre le blanc

Expression des résultats :

Une courbe étalon est tracée $DO=f$ (concentration en glucose). Puis la quantité de sucre réducteur présente est déterminée.

Tableau : les densités optiques obtenues lors du dosage des sucres par la méthode utilisant l'acide dinitrosalicylique (DNS)

Les concentrations en glucose (g/l)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Les densités optiques (nm)	0	0,19	0,29	0,45	0,59	0,74

Calcul de la concentration en glucides dans notre échantillon : jus light

$$Y = 0,743x \quad DO = 0,020$$

$C = 0,020 / 0,743 = 0,026 \text{ g/l}$ (avec une dilution 10^{-2}) on aura

$$C = 0,026 \text{ g/l} \cdot 100 = 2,6 \text{ g/l}$$

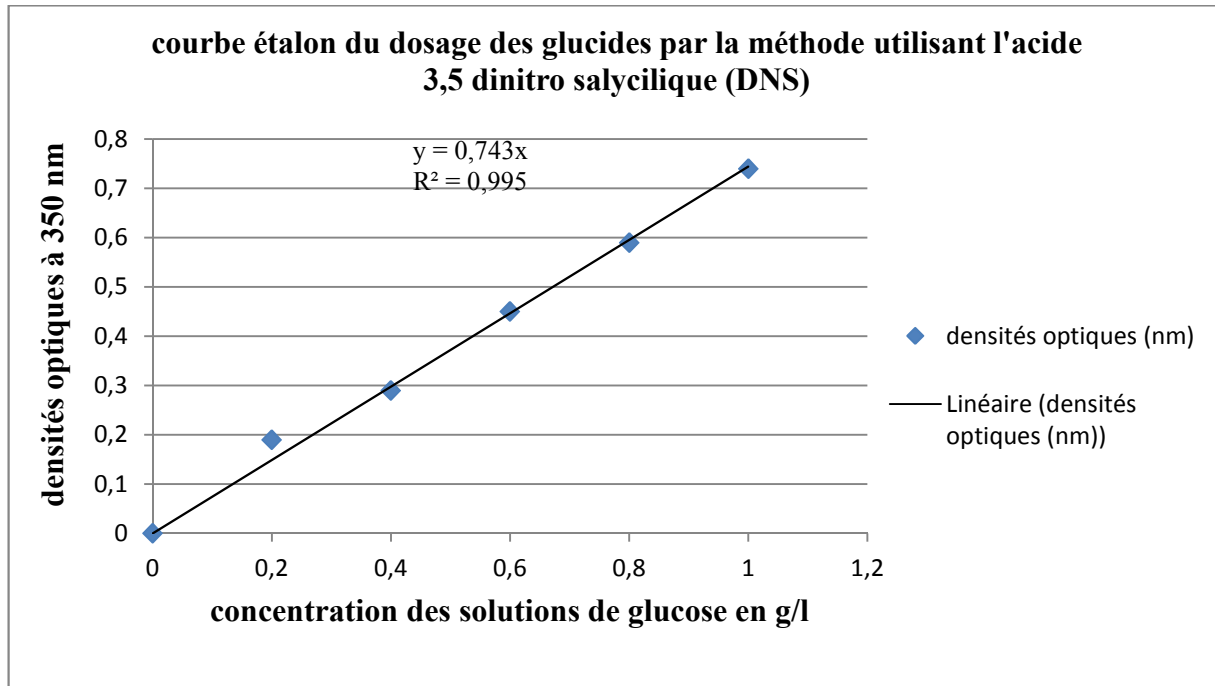


Figure : courbe étalon représentant les densités optiques en fonction des concentrations en glucides dans le jus light

Annexe 04 : dosage des protéines par la méthode de LOWRY et al. (1951)

Préparation des solutions :

- Solution A : 2% de Na_2CO_3 (2g dans 100ml d'eau distillée) dans NaOH, 0,1 mol (Mm NaOH= 40g/l= 40mg/ml= 0,4g/l)
- Solution B : 2ml de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,5% (0,5g dans 100ml+2ml de tartrate de Na^+ et K, 1% (1g dans 100ml)
- Solution C : 50mlde A +1ml de B

Gamme étalon

A partir de la solution de BSA, des dilutions sont préparées suivant le tableau ci-dessous

Numéro du tube	01	02	03	04	05
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	0	30	50	80	100
Solution mère de BSA (μl)	0	150	250	400	500
Eau distillée (μl)	500	350	250	100	0

Protocol expérimental :

A 0,5 ml de la solution d'échantillon contenant entre 25 et 100 μ g de protéines :

- ajouter 2,5ml de la solution C et mélanger ;
- laisser 5 à 10 min a température ambiante ;
- ajouter 250 μ l de réactif de folin-Ciocalteu ;
- homogénéiser rapidement et mettre les tubes 30min à l'obscurité.
- après 30 min, homogénéiser les solutions rapidement et lire la DO à 750nm contre le blanc

Expression des résultats :

Une courbe étalon DO=f (C) est tracée. Puis la concentration de la protéine inconnue X est déterminée.

Tableau : les densités optiques obtenues lors du dosage des protéines par la méthode de LOWRY, BSA utilisée comme protéine de référence

Concentration (μ g/ml)	0	30	50	80	100
Densités optiques (nm)	0	0,045	0,105	0,155	0,195

Calcul de la concentration en protéines dans l'échantillon de jus lacté :

$$Y=0,001x \text{ alors que la } DO=0,190$$

$$C= DO/0,001= 0,190/0,001$$

$$\text{Donc } C= 19.10^2.10^{-6}\text{g}/10^{-3}\text{l}$$

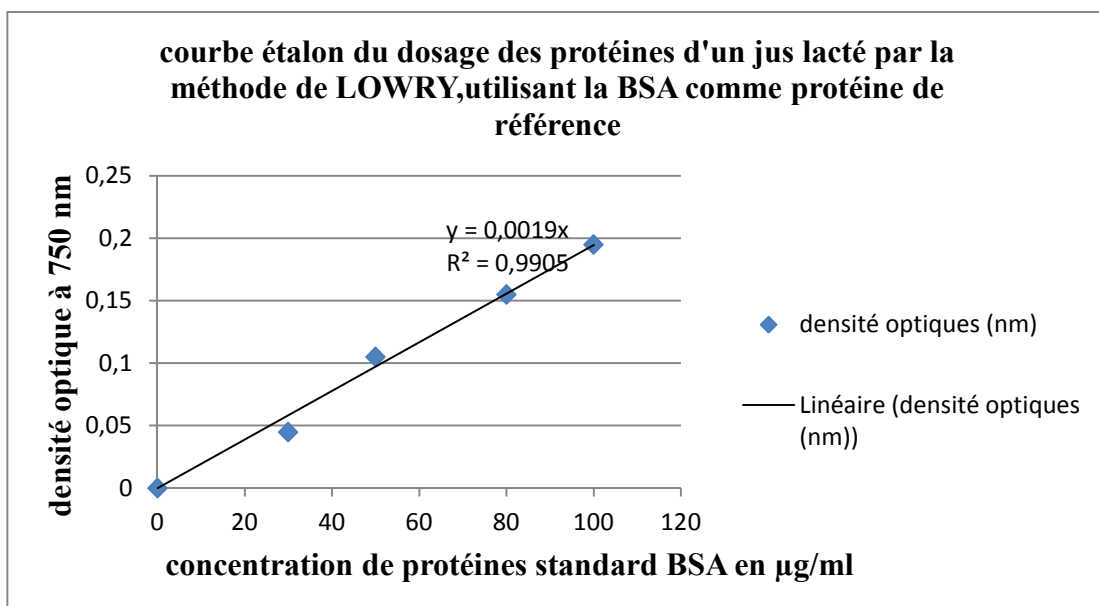


Figure : courbe étalon du dosage des protéines d'un jus lacté par la méthode de LOWRY et al (1951), utilisant l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence.

Annexe 05 : chromatographie de perméation sur gel de SEPHACRYL S200

Produit à préparer :

- Gel de sephacryl s200
- tampon Tris-HCl 0,02 M, ph 8,4
- échantillon : protéines sériques lyophilisées d'un lait camelin (100mg)

Protocole expérimental :

- 5g d'un gel sephacryl S200 prêt à l'emploi est mis en contact avec le tampon de départ (Tris-HCl 0,02 M, ph 8,4) pendant 30 min ;
- dégazé ensuite sous vide et coulé dans la colonne (20x 1cm) en une seule fois ;
- après stabilisation par l'éluant, à un débit de 1 mL/min, le volume mort de la colonne (v_0) est déterminé par injection de bleu de dextrane à la concentration de 1mg/ml.
- 100g de protéines sérique lyophilisées sont solubilisées dans 5ml de tampon Tris-HCl(0,02 M, ph 8,4) ;
- déposées en haut de la colonne et éluées dans des conditions à débit constant,
- des fractions de 5ml sont récupérées pour les besoins de leur identification.

Expression des résultats

Un chromatogramme est tracé à partir des densités optiques obtenues par chromatographie de perméation sur gel de sephacryl S200

Tableau : les densités optiques des fractions éluées par chromatographie de perméation sur gel de SEPHACRYL S200 (protéines sériques du lait camelin)

Produit

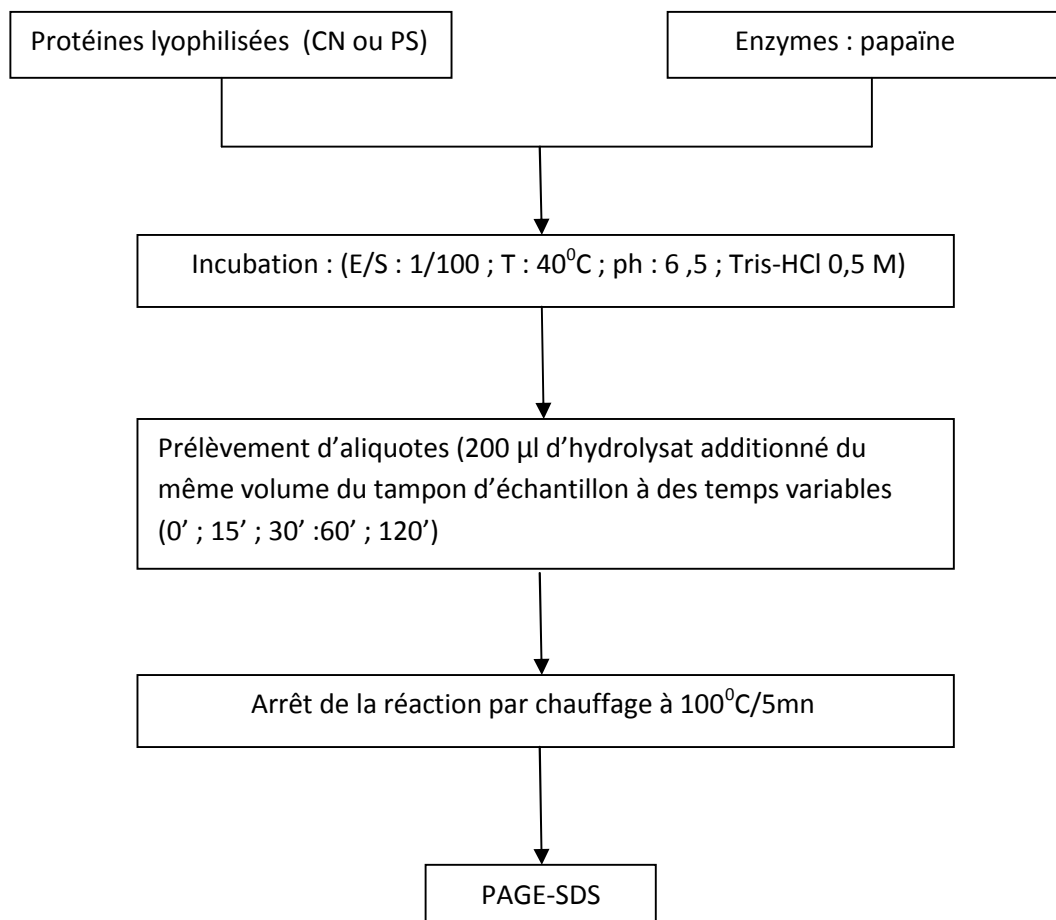
V e n t i l	0 ↓ 5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42 ↓ 45
D e n s i t é	0	0,01	0,03	0,08	0,16	0,22	0,21	0,1	0,08	0,08	0,09	0,24	0,3	0,32	0,3	0,24	0,2	0,11	0,09	0,1	0,18	0,32	0,31	0,29	0,18	0,14	0,13	0,15	0,19	0,21	0,22	0,21	0,20	0,14	0,11	0,05	0,01	0

Annexe 06 : hydrolyse enzymatique des protéines du lait par la papaïne

Produits et solutions à préparer

- tampon Tris-HCl 0,5M ; pH6, 4
- l'enzyme : la papaïne
- le substrat : protéines sériques ou les caséines
- bain mari à 40⁰C et un autre bain mari
- tampon d'échantillon (voir annexe)

Protocole expérimental



Expression des résultats : électrophorèse en conditions dissociantes et dénaturantes, en présence de 2-mercaptoéthanol (PAGE-SDS)

Annexe 07 : préparation des solutions tampons pour l'électrophorèse en conditions natives et dénaturantes

Pour la PAGE-native :

Solution d'acrylamide (prêt a l'emploi)

Acrylamide	36 g
Bisacrylamide.....	1g
Eau distillée.....	100ml

Tampon de gel B

Tris.....	9,14g
Eau distillée.....	100ml

Ajuster à ph 8,9 avec de HCl 4N

Tampon d'électrode

Tris	0,12g
Glycine.....	0,58g
Eau distillée.....	200ml

Ajuster le ph a 8,3 avec du Tris

Tampon d'échantillon

Tampon du gel (B).....	100µl
Eau distillée	700µl
Glycérol 50%.....	200µl

Bleu de bromophénol.....une tête d'aiguille

Dissoudre 1 mg de protéines lyophilisées dans 1ml de ce tampon

Electrophorèse**Préparation du gel : T=12% et C=2,7%(pour une plaque)**

Solution (A).....	3,25ml
Solution(B).....	5ml
Eau distillée.....	1,68ml

Dégazer le mélange (maximum 2mn)

TEMED.....10µl

Solution de persulfate d'ammonium10%.....75µl

Couler et mettre le peigne immédiatement

Pour la PAGE-SDS

Solution d'acrylamide (prêt à l'emploi)

Tampon de gel de séparation

Tris.....	9,25g
Eau distillée.....	50ml

Ajuster à ph 8,8 avec de HCl 4N

Tampon de gel de concentration (gel C)

Tris3g
Eau distillé.....50ml
Ajuster à ph 6,8 avec de HCl 4N

Tampon d'électrode

Tris.....3g
Glycine.....14,4g
SDS.....0,5 g
Eau distillé.....200ml

Tampon d'échantillon

Solution(C)500µl
Eau distillé.....250µl
SDS(10%).....250µl
2-mercaptoéthanol.....50µl

Dissoudre 1à 2mg de protéines lyophilisées dans 800µl de ce tampon

Chauffage à 100⁰C pendant 4à5mn puis refroidir dans un bain d'eau froide

Ajouter 100µl d'une solution de glycérol50%(v/v) et quelques graines de bleu de bromophénol

Solution de fixation

TCA.....12g
Eau distillé.....100ml

Solution de coloration

Bleu de coomassieR250.....0,5g
TCA.....4g
Méthanol.....100ml
Eau distillé.....100ml

Solution de décoloration

Acide acétique.....37,5 ml
Eau distillé.....312,5ml
Méthanol.....150ml

Solution de persulfate d'ammonium

Persulfate d'ammonium.....0,1 g
Eau distillé (qsp).....1ml

Conduite de l'électrophorèse

Préparation de gel de séparation : T=17 %et C=2,7%(pour une plaque)

Solution (A).....4,60 ml

Solution (S).....2,51 ml

Eau distillé.....2,73ml

Dégazer pendant 2mn maximum

SDS 10%.....100µl

TEMED.....30µl

Persulfate d'ammonium10%.....80µl

Couler à environ 1,5 cm du sommet de la plaque de moindre hauteur

Préparation de gel de concentration : T=4,8% et C=2,7%(pour une plaque)

Solution(A).....1,3ml

Solution(C).....2,5ml

Eau distillé.....5,8ml

Dégazer quelque secondes

Solution de SDS à 10%.....100µl

TEMED.....20µl

Persulfate d'ammonium à 10%.....10µl

Couler immédiatement sur le gel de séparation polymérisé et mettre le peigne

Dépôt d'échantillon : 10 à20 µl

Mise sous tension : 20mA, 250V

Fixation : 45 minutes dans la solution de fixation

Coloration : 1 heure dans la solution de coloration

Décoloration : dans la solution de décoloration

GLOSSAIRE

-Asthénie : affaiblissement de l'organisme, fatigue physique. Par extension, elle peut concerner l'état psychique, la libido ou l'intellect.

-Caco-2 : Les cellules Caco-2 constituent une lignée cellulaire tumorale humaine d'origine intestinale isolée d'un adénocarcinome colique.

-Diabète mitochondrial : Il s'agit d'une maladie génétique transmise par la mère. Il est dû à un déficit congénital de la chaîne respiratoire mitochondriale qui modifie les phénomènes d'oxydoréduction, en particulier au niveau du cycle de Krebs.

-Diabète MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) : est une forme particulière de diabète, différent du diabète auto-immun de type 1. Il est en rapport avec une anomalie de la régulation de la sécrétion d'insuline. Il se manifeste dès l'enfance ou l'adolescence, d'où le nom : Maturity-Onset Diabetes of the Young, ou diabète de type adulte chez le jeune.

-Macrosomie fœtale : désigne à la naissance, un bébé dont le poids dépasse 4 kg et, durant la grossesse (grâce à l'échographie) un bébé présentant des dimensions dépassant des valeurs normales maximales, c'est-à-dire, pour les spécialistes en pédiatrie : le 90ème percentile (visible sur une courbe).

-Pancréatopathie : terme désignant les affections du pancréas, glande située en arrière de l'estomac, jouant un rôle important dans la digestion et sécrétant l'insuline.

-Phéochromocytomes : est une affection tumorale parfois maligne. Cette tumeur se développe à partir des cellules chromaffines de la médullo-surrénale.

-Polydipsie : c'est un symptôme rencontré le plus souvent en endocrinologie et caractérisé par une soif excessive avec augmentation de l'absorption de liquide, causée par la polyurie dans le cas du diabète.

-Polyphagie : est un symptôme ou une maladie caractérisée par une faim excessive avec une absence de sensation de satiété, traduisant un excès dans le comportement alimentaire, Cette attitude peut être un symptôme du diabète ou pré-diabétique. Dans ce cas cela est dû au fait que l'individu ne peut absorber suffisamment de glucose.

-Polyurie : est un symptôme ou une maladie caractérisée par des urines abondantes, fréquemment rencontrée dans le cas du diabète.

-Syndrome de Cushing : Constitué par un ensemble de symptômes dus à un excès de sécrétion d'une hormone cortico-surrénalienne, le cortisol.