

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
Département Des Sciences de la matière

Mémoire de MASTER

Domaine : Sciences de la matière
Filière : Chimie
Option : Chimie organique appliquée

Par :

ABISMAIL Mustapha

THEME

**Etude de l'activité antioxydante des extraits
phénoliques des sons des graines du sorgho local**

Soutenu publiquement devant le jury composé de:

Mr. DJERIDANE Amar	M.C.A	President
Mr. BENALIA Mohamed	M.A.A	Examineur
Mr. YOUSFI Mohamed	Professeur	Rapporteur

Année Universitaire 2013/2014

Remerciement

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

*Ce travail a été entrepris aux seins du laboratoire de recherche à l'école normale supérieur de Laghouat grâce à Monsieur **YOUSFI Mohamed** directeur de ce laboratoire pour avoir mis à ma disposition tout le matériel nécessaire et disponible pour mener à bien ce travail.*

*Je tiens particulièrement à remercier mon promoteur, Pr. **YOUSFI Mohamed**, Professeur à l'école normale supérieur de Laghouat pour avoir accepté la charge d'être rapporteur de ce mémoire, je le remercie pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'il a consenti durant la réalisation de ce mémoire. Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de mon respect.*

*Nos profonds remerciements vont aussi aux membres de jury qui ont accepté de juger notre travail les enseignants Monsieur **Benalia Mohamed** et Monsieur **Djeridane Amar**.*

Mes remerciements vont aussi à toute personne ayant participé pour réaliser ce modeste travail.

J'adresse, enfin et surtout, ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma mère, mon père, mes sœurs et mes frères, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances, ainsi qu'à tous mes proches amis qui m'ont toujours soutenu et encouragé même dans les périodes les plus difficiles.

A l'aide de dieu, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie

A mes très chers parents

A mes sœurs et mes frères

A ma famille

A mes professeurs

A tous mes amis fidèles.

Liste des abréviations

BEAC	BHA Equivalent Antioxydant Capacity
BHA	Butylhydroxyanisole
BHT	Butylhydroxytoluène
CAT	Capacité antioxydante total
DPPH	2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl
EC50	La concentration nécessaire pour l'inhibition de 50% des radicaux libres
EOA	espèces oxygénées activés
FAO	Food and agriculture organisation of United nations
MT	Mégatonne
nm	Nanomètre
PI	Pouvoir d'inhibition
SOD	superoxyde dismutase
T	Tonne
UV	Ultraviolet-visible
VCEAC	Vitamine C Equivalent Antioxydant Capacity

Liste des figures

Figure.1	Les panicules de sorgho	3
Figure.2	Les graines en cour de la maturation	3
Figure.3	Structure chimique de quelque dérivé d'acide hydroxybenzoïques	11
Figure.4	Structure chimique des quelques dérivés d'acides hydroxycinnamiques	11
Figure.5	structure de base des flavonoïdes	12
Figure.6	Les structures chimiques de différents types de flavonoïdes	13
Figure.7	Les structures des tannins hydrolysables	14
Figure.8	Structure chimique des tanins condensés	15
Figure.9	structure chimique de base des stilbènes	15
Figure.10	structure chimique des lignanes	16
Figure.11	La structure de base des coumarines	16
Figure.12	La nature et la relation entre les radicaux libres d'oxygéné	19
Figure.13	La forme libre et réduite de DPPH	26
Figure.14	La courbe d'étalonnage de l'acide gallique	30
Figure.15	droite d'étalonnage de la quercétine	33
Figure.16	courbe d'étalonnage du catéchine	33
Figure.17	La variation des pouvoirs d'inhibition (PI%) en fonction de la concentration de la vitamine C	36
Figure.18	La variation des pouvoirs d'inhibition (PI%) en fonction de la concentration de BHA	37
Figure.19	La courbe d'étalonnage de la vitamine C représente la variation des absorbances en fonction des concentrations	40
Figure.20	La courbe d'étalonnage de la BHA	40
Figure.21	corrélacion entre la teneur en polyphénols et flavonoïdes dans différentes systèmes	44
Figure.22	corrélacion entre le test chimique de DPPH en équivalent de BHA et le test de phénantroline en équivalent de Vitamine C	45
Figure.23	corrélacion entre la teneur en polyphénols et le test de phénantroline dans les différents systèmes	45
Figure.24	corrélacion entre la teneur en flavonoïdes et le test de phénantroline dans les différents systèmes	46
Figure.25	corrélacion entre la teneur en flavonoïdes et le test chimique de DPPH dans les différents systèmes	47

Liste des tableaux

Tableau.1	Composition en acides aminés essentiels (mg/g) des protéines	4
Tableau.2	composition minérale de sorgho	5
Tableau.3	Les dix principaux pays producteurs de sorgho en mégatonne	7
Tableau.4	Les sept pays principaux consommateurs de sorgho-grain à destination de l'alimentation	7
Tableau.5	Les sept pays principaux consommateurs de sorgho-grain à destination de l'alimentation animale	8
Tableau.6	Les principales classes des composés phénoliques	9
Tableau.7	Activités biologiques des composés polyphénoliques	10
Tableau.8	Standards, produits et appareils utilisés dans ce travail	23
Tableau.9	les deux variétés de sorgho étudié	23
Tableau.10	Teneurs des phénols totaux dans les extraits du sorgho en (g/100)	31
Tableau.11	Teneurs des flavonoïdes dans les extraits du sorgho en (g/100g) selon le système d'extraction en équivalent de la quercétine et la catéchine	34
Tableau.12	pourcentage entre les flavonoïdes et les composés phénoliques	35
Tableau.13	Les valeurs des concentrations (mg/l) des extraits phénoliques du sorgho en équivalent de la vitamine C et le BHA	38
Tableau.14	Les valeurs des concentrations réductrices des extraits phénoliques en (mg/l) en équivalent de la vitamine C et BHA	41

الملخص

تعتبر الحبوب مجالا واسعا للعديد من الأبحاث العلمية. إضافة إلى كونها مصدر غذاء فهي تعتبر أيضا مصدرا للتداوي من عدة أمراض.

في إطار تثمين المنتجات الطبيعية. نهتم في هذا العمل إلى دراسة المركبات الفينولية وتقييم خصائص مضادات الأكسدة من المستخلصات الفينولية من بعض الأصناف المحلية من الذرة الرفيعة.

النتائج التي تم الحصول عليها تظهر أن لحاء الذرة الرفيعة غنية جدا بالمركبات الفينولية مع وجود فرق تبعا لنظام الاستخراج و نوع الذرة (أبيض أو أحمر) . حيث تتراوح كمية الفينول في الذرة البيضاء بين 0.35 و 2.65 (غ/100غ) المعادل لحمض الغاليك في نظام الاستخراج المائي. أما نسبه في الذرة الرفيعة فتتراوح بين 1.66 و 2.95 (غ/100غ) المكافؤ لحمض الغاليك في نظامي الاستخراج الميثانولي و الأسيتوني.

محتوى الفلافونويد في الذرة الرفيعة كانت في العموم بنسب كبيرة تتراوح بين 0.018 و 2.14 (غ/100غ) . تجدر الإشارة إلى أن نسب الفلافونويد في الذرة الرفيعة الحمراء أعلى من الذرة الرفيعة البيضاء بشكل واضح.

تكمن أهمية هذه الدراسة في النتائج التي توصلنا إليها حيث تبين أن المستخلصات الفينولية للذرة الرفيعة تمتاز بفعالية مهمة جدا للنشاط المضاد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: الذرة الرفيعة، البوليفينول، الفلافونويد، فعالية مضادة للأكسدة.

Résumé

Les céréales font l'objet de nombreux travaux car en plus de leur utilisation comme aliment, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies.

Dans le cadre de la valorisation de produits des sources naturelles. Nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude des composés phénoliques et l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits phénoliques de quelques variétés locales des sons du sorgho.

La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des polyphénols totaux, et des flavonoïdes par le réactif du Folin-Ciocalteu, par le trichlorure d'aluminium respectivement.

Les résultats obtenus montrent que les sons de sorgho sont riches en polyphénol totaux avec une différence en teneur selon le système d'extraction et la variété de sorgho (blanc ou rouge). La teneur enregistrée pour le sorgho blanc est de l'ordre 0,35 à 2,65 (g/100g) en équivalent de l'acide gallique dans les systèmes aqueux et 1,66 à 2,95 (g/100) en équivalent de l'acide gallique pour le sorgho rouge dans les systèmes hydrométhanolique et hydroacétonique.

Les teneurs des flavonoïdes trouvés sont généralement très importants se comprise entre 0,018 et 2,14 (g/100g) sans oublier l'existence des différences teneurs entre les systèmes d'extraction et les types de sorgho. On peut noter que la teneur en flavonoïdes de sorgho rouge est clairement supérieure que la celle de sorgho blanc.

L'importance de cette étude présentée au niveau des résultats trouvés sur l'activité antioxydante des polyphénols. Les valeurs d'activité antioxydante ont été enregistrées entre 7,60 et 23,96 (mg/l) dont ces dernières sont du voisinage de la vitamine C ou un peu plus supérieures.

Mots de clés : sorgho, son, polyphénol, flavonoïde, activité antioxydante.

Abstract

Cereals are the subject of much work, because their use as food, and they are involved in the treatment of many diseases.

As part of the value of products from natural sources and waste recycling unused. We are interested in this work to the study of phenolic compounds and evaluation of antioxidant properties of phenolic extracts of some local varieties of sorghum bark.

The first part of this study relates to the extraction and quantitation of total polyphenols, flavonoids by the Folin Ciocalteu reagent and by aluminum trichloride respectively.

The results obtained show that the barks of sorghum are rich in total polyphenol content with a difference according to the extraction system and the type of sorghum (white or red). The content recorded on white sorghum is about 0,35 to 2,65 (g/100g) equivalent of gallic acid in systems aqueous. And 1,66 - 2,95 (g/100) relative to gallic acid for red sorghum in methanolic and hydroacetic systems.

The contents of flavonoids found are generally very important is between 0,018 and 2,14 (g/100g) without forgotten existence of differences between the concentrations and types of extraction systems sorghum. It may be noted that the flavonoid content of red sorghum is clearly higher than that of white sorghum.

The importance of this study presented in the results found antioxidant activity of polyphenols. The antioxidant activity values was recorded between 7,60 and 23,96 (mg / l) in which these latter are adjacent or that of vitamin C or a little higher.

Key words: sorghum, bark, polyphenol, flavonoid, antioxidant activity.

Table des matières

Introduction générale	1
Partie bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur le sorgho	
I.1 Introduction	3
I.2 Caractéristique botanique du sorgho	3
I.3 Composition chimique du sorgho	4
I.3.1 L'amidon	4
I.3.2 Les protéines	4
I.3.3 Les lipides	5
I.3.4 Les sels minéraux	5
I.3.5 Les polyphénols	6
I.4 La production	6
I.5 L'utilisation	7
Chapitre II : Généralités sur les composés phénoliques	
II.1 Définition	9
II.2 Différentes classes des polyphénols	10
II.2.1 Les acides phénoliques	10
II.2.2 Les flavonoïdes	12
II.2.3 Les tannins	13
II.2.4 Les stilbènes	15
II.2.5 Les lignanes	16
II.2.7 Les coumarines	16
Chapitre III : Activité antioxydante	
III.1 Les radicaux libres	18
III.1.1 Définition	18
III.1.2 L'origine des radicaux libre	18
III.1.3 Nature des radicaux libres	18
III.2 Les antioxydants	19
III.2.1 Définition	19
II.2.2 Mécanisme d'action	20
III.2.3 Utilisation des antioxydants	20
III.2.4 Classification des antioxydants	20
III.2.4.1 Antioxydants synthétiques	20
III.2.4.2 Substances synergiques	21
III.2.4.3 Antioxydants d'origine végétale (naturelle)	21
Partie expérimentale	
Chapitre IV : Matériel et méthodes	
IV.1.1 Matériels	23
IV.1.2 La matière végétale	23
IV.2 Choix des solvants et l'extraction des composés phénolique totaux	24
IV.3 Dosage des polyphénols totaux	24
IV.4 Dosage des flavonoïdes	24
IV.4.1 Méthode de Lamaison et carnat	24
IV.4.2 Méthode de Zhishen et al	25

IV.5 Evaluation de l'activité antioxydant des extraite phénolique du sorgho	25
IV.5.1 Méthode de piégeage des radicale libre DPPH	26
IV.5.2 Test de phénantroline (réduction de fer ferrique)	27
Chapitre V : Résultats et discussion	
V.1 Teneurs en composés phénoliques totaux	29
V.1 Teneurs en flavonoïdes	32
V.3 L'évaluation de l'activité antioxydant	35
V.3.1 Test du DPPH	35
V.3.2 Test de réduction du fer ferrique	39
V.4 Recherche des corrélations	42
V.4.1 Corrélation entre la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes	43
V.4.2 Corrélation entre le test de DPPH et le test de phénantroline	44
V.4.3 Corrélation entre la teneur de polyphénol et le teste de phénantroline	44
V.4.4 Corrélation entre la teneur en flavonoïde et le test de phénantroline	45
V.4.5 Corrélation entre la teneur des flavonoïdes et le test DPPH	46
Conclusion générale	49
Référence Bibliographiques	51
Annexe	54

Introduction Générale

Introduction générale

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours aux propriétés curatives des plantes et que les traitements à base de ces dernières reviennent au premier lieu car l'efficacité des médicaments décroît vue leurs effets secondaires sur la santé publique.

Actuellement, la société scientifique, biologiste et chimiste, met en évidence le rôle tragique du processus oxydatif incontrôlable induit par les espèces réactives oxygénées (ERO). Ces oxydants sont à l'origine directe de différents états pathologiques tels que le vieillissement et le cancer et indirecte sur la peroxydation des lipides des denrées alimentaires.

Le sorgho est nutritionnellement équivalents à la plus parts des céréales. Il joue un rôle essentiel à la sécurité alimentaire des millions d'africaines, d'asiatique et de latino-américaines. Mais, il a une importance thérapeutique bien aussi.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de déchet de sorgho non utilisé (sons) d'origine saharienne algérienne (Tamanrasset), et la recherche des antioxydants naturels en évaluant les propriétés antioxydantes des polyphénols et bien aussi l'effet des systèmes d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques totaux et flavonoïdes et sur leurs activités antioxydante. Afin de mettre en évidence leur importance sur le plan thérapeutique.

Dans la première partie de ce manuscrit, nous avons commencé par une étude bibliographique concernant le sorgho et ainsi la structure et la propriété des composés phénoliques, leur biosynthèse et quelques activités biologiques attribués à différentes familles de ces composés. Et une étude sur les radicaux libres, ceci est suivi par un aperçu scientifique sur l'activité antioxydante.

Dans la deuxième partie, nous avons envisagé la partie expérimentale qui se déroule en deux axes :

Dans le premier axe, nous avons réalisé l'extraction des composés phénolique totaux par des différents systèmes, et la détermination des teneurs en composés phénoliques (phénols totaux et flavonoïdes) par des méthodes colorimétriques. Dans le deuxième axe, nous nous sommes intéressés à évaluer le pouvoir antioxydant des extraits phénoliques par deux méthodes. Le choix des tests est fixé sur une analyse mesurant le pouvoir des extraits de balayer le radical stable de DPPH[•], et une autre technique mesurant la capacité réductrice de phénantroline.

Introduction

Enfin, dans la troisième partie, nous avons rapporté les résultats obtenus entre autre les rendements, les teneurs des composés phénoliques et l'étude de l'activité antioxydante des extraits des différentes variétés de sorgho.

Partie bibliographique

Chapitre I

Généralités sur le sorgho

I.1 Introduction

Le sorgho (*Sorghum bicolor* L. Moench) est une céréale majeure dans plusieurs régions tropicales du monde. Il constitue avec le mil les principales céréales cultivées dans les régions tropicales semi-arides de l'Afrique et de l'Asie. Grâce à un système racinaire important et profondément ancré dans le sol, le sorgho tolère mieux les variations pédoclimatiques que les céréales traditionnelles telles que le riz et le maïs. Ceci fait de cette plante, une culture de choix dans les régions où la sécheresse et la pauvreté des sols sont des facteurs militants.



Figure 1: Les panicules de sorgho



Figure 2: Graine au cour de la maturation

I.2 Caractéristiques botaniques du Sorgho

Nom scientifique : *Sorghum bicolor* (L)

Nom commun, sorgho grain, mtatma, shallu, feteuta (East Africa), millet indien, durra au Egypte, south Africa kaffiroorn, Middle East Africa milo, West Africa great millet, sorgho or sorgho

Tribe : Andropogoneae

Famille: Poaceae

Specier : *Sorghum bicolor* (L)

Races : Bicolor, vulgare, campatum, kafir, guinea durra

Origine : Africaine, Chine. Très répandu à l'état sauvage sous les climats tropicaux et subtropicaux.

Chapitre I : Généralités sur le sorgho

Lieux de culture : Afrique et Asie essentiellement, aussi Etats-Unis.

Culture : En général extensive, sur terre labourée, en climat chaud et sec.

Hauteur: 1 à 3 m

Graines: sous forme de grappes violacées, vert jaune, bleu, marron

I.3 Composition chimique du sorgho

I.3.1 L'amidon

La plante est notamment cultivée pour son amidon. La FAO (1994) a fourni la composition nutritionnelle du sorgho. Le grain entier contient 73,8% d'amidon (**Mrs. Denloye, Stella A et col, 2012**). La teneur en amylose est influencé à la fois par des facteurs génétique et environnementaux (**Nadia Boudries, 2009**).

I.3.2 Les protéines

La deuxième composante principale des grains de sorgho est les protéines. La teneur en protéines du sorgho est influencée à la fois par les facteurs génétiques et environnementaux. Dans le sorgho, la variabilité est importante (12.3%), probablement parce qu'on le cultive dans des conditions agro-climatiques diverses qui influent sur la composition du grain. Les fluctuations de la teneur en protéines s'accompagnent généralement de changements de la composition en acides aminés des protéines (**Denloye, Stella A et col, 2012**).

Tableau 1: Composition en acides aminés essentiels (mg/g) des protéines

Acide amine	teneur
Isoleucine	245
Leucine	832
Lysine	126
Méthionine	87
Cystine	94
Phénylalanine	306
Tyrosine	167
Thréonine	189
Valine	313

I.3.3 Les lipides

La teneur en matière grasse brute du sorgho est de 3%, plus que celle du blé et du riz mais moins que celle du maïs. Les éléments qui contribuent le plus à la fraction lipidique sont le germe et l'aleurone. Le germe lui-même contient environ 80 % de la quantité totale de matière grasse. De ce fait, les mutants de sorgho qui comportent une fraction embryonnaire importante ont une teneur en matière grasse plus élevée (5,8 à 6,6 %) que la normale. Les variations de la teneur en matière grasse du grain peuvent être attribuées partie aux différents systèmes de solvant utilisés pour l'extraction de la matière grasse qu'il contient. Price et Parson ont signalé que la fraction lipidique neutre était de 86,2 %, les glycolipides représentant 3,1 % et les phospholipides 10,7 % dans la matière grasse du sorgho.

La composition en acides gras de la matière grasse du sorgho (49 % d'acide linoléique, 31 % d'acide oléique, 14 % d'acide palmitique, 2,7 % d'acide linolénique, 2,1 % d'acide stéarique) était analogue à celle du blé, mais plus insaturée (Denloye, Stella A et col, 2012).

I.3.4 Les sels minéraux

La composition en sels minéraux des graines de sorgho est extrêmement variable. Plus que les facteurs génétiques, ce sont les conditions écologiques des régions de culture qui ont une incidence sur la teneur en sels minéraux de ces céréales.

Tableau 2: composition minérale de sorgho

Elément Minéraux	Teneur
Mg	171
Ca	15
Fe	4,2
Zn	2,5
Cu	0,44
Mn	1,15
Mo	0,06
Cr	0,017

I.3.5 Les polyphénols

Le sorgho est riche en divers produits phénolique dont les tanins, les acides phénoliques, les anthocyanines, les phytostérols et les policosanols. Ces produits phénolique ont le potentiel de produire un impact significatif sur la santé humaine. La plupart des produits phénoliques est concentrée dans le son qui peut être facilement séparé du grain de sorgho et ensuite utilisé dans la supplémentation alimentaire, l'amélioration de la qualité des aliments et/ou les applications thérapeutiques.

L'incidence des polyphénols dans le sorgho est caractéristique des types de grain. La plante est unique pour son importante quantité de tanins qui sont présents dans la couche intérieure pigmentée appelée testa du sorgho à grains bruns. Les avantages de cette présence (qui confère une tolérance/résistance aux insectes et aux maladies dues aux animaux nuisibles). Le sorgho alimentaire à grains blancs ne contient pas de tanins mais pourrait contenir de faibles quantités d'acides phénoliques (Denloye, Stella A et col, 2012).

I.4 La production

Le sorgho est probablement originaire d'Éthiopie, d'où il s'est répandu dans toute l'Afrique. Il était connu à Rome du temps de Pline. Avec une surface cultivée de 40,5 millions d'hectares, le sorgho arrive au 5^{ème} rang des grandes cultures dans le monde.

De nos jours, le sorgho est cultivé avec succès, et parfois subspontané dans tous les continents. Les principales zones de culture du sorgho se situent dans les régions chaudes, comme l'Inde, l'Afrique, l'Amérique du Nord et du Sud. Mais en Europe aussi, sa culture reste cependant cantonnée aux pays méditerranéens.

Contrairement aux variétés locales cultivées dans de nombreux pays d'Afrique et d'Asie, qui ont tendance à avoir des rendements plutôt faibles, et dont les récoltes sont utilisées essentiellement pour l'alimentation humaine, les variétés cultivées dans les pays industrialisés sont des variétés hybrides à haut rendement, utilisées surtout dans la production animale. (Jürg Hiltbrunner et col, 2012).

Tableau 3: Les dix principaux pays producteurs de sorgho en mégatonne (FAO, 2006)

Rang	Pays	Production (MT)
1	Etats-Unis	11998040
2	Nigéria	9318000
3	Inde	7925900
4	Soudan	3869000
5	Australie	3789931
6	Argentine	2936840
7	Chine	2502532
8	Ethiopie	2316041
9	Brésil	2004005
10	Burkina Faso	1875046

I.5 L'utilisation

- Alimentation humaine : le sorgho est une culture vivrière dans de nombreux pays d'Afrique et d'Asie. Le sorgho peut se consommer en grain. Les grains finement broyés en farine sont utilisés pour la confection de nombreux mets comme des galettes, couscous, semoule, bouillies, pains ou beignets (**Kouamé Germain Cyrille KOFFI et col, 2011**). Dans les pays occidentaux il entre dans la composition de biscuits pour le goûter. Les tiges de sorgho bicolore se mâchent tout comme la canne à sucre.

Tableau 4: Les sept pays principaux consommateurs de sorgho-grain à destination de l'alimentation

	Production (T)	Alimentation Humaine (T)
Inde	7 330 000	6 452 447
Nigéria	8 028 000	5 558 891
Soudan	5 188 000	2 621 075
Ethiopie	1 650 000	1 600 566
Chine	2 879 542	1 299 212
Burkina Faso	1 610 255	1 129 949
Mali	650 000	563 019

Chapitre I : Généralités sur le sorgho

- Alimentation animale : l'ensilage du sorgho grain sucrier permet d'obtenir un fourrage dont la valeur UF est proche de celle d'un maïs. Cependant, le sorgho sucrier présente des teneurs en amidon et en sucres solubles qui sont radicalement différentes. L'énergie du sorgho provient à la fois de l'amidon présent dans le grain et des sucres contenus dans les tiges et les feuilles. Au niveau du rumen, l'amidon de sorgho est dégradé lentement alors que les sucres solubles sont transformés très rapidement. Cette combinaison de sources énergétiques et de cinétique de dégradation est favorable à une bonne activité des microflore de l'appareil digestif des ruminants.

Tableau 5: Les sept pays principaux consommateurs de sorgho-grain à destination de l'alimentation animale

	Production (T)	Alimentation Animale (T)
Mexique	6 462 200	9 615 920
Etats-Unis d'Amérique	10 445 900	5 100 000
Argentine	2 684 780	1 977 202
Japon	0	1 490 102
Australie	1 465 000	1 368 876
Chine	2 879 542	1 350 042
Brésil	1 754 970	704 122

- Herbe à chat : la plupart des mélanges vendus en distribution sont un mélange de graines d'orge et de sorgho.
- Production de sucre et sirop : des tiges du sorgho bicolore est extraite une mélasse ou un sirop sucré (sirop de sorgho), aux Etats-Unis sont produits 1000 litres de sirop par ha.
- Réalisation facile de balais biodégradables.
- Teinture : il existe plusieurs variétés des sorgho non-comestibles sont cultivés exclusivement pour le colorant rouge contenu dans ses feuilles ou dans les gaines foliaire et parfois aussi dans les parties adjacentes de la tige. Les colorants du sorgho ainsi que d'autres sources, riches en tanin, sont associés avec de la boue pour créer les motifs des étoffes peintes (Kouamé Germain Cyrille KOFFI et col, 2011).

Chapitre II

Généralités sur les composés phénoliques

Chapitre II : Généralités sur les composés phénoliques

II.1 Définition

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux et appartenant à leur métabolisme secondaire. Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales. Nommés phytomicronutriments, ils sont regroupés en une classe constituée d'environ 8000 composés (**tableau 6**).

Tableau 6 : Les principales classes des composés phénoliques (T. Budic-Leto et col, 2002)

Squelette C	Classe	Exemple	Origine
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïque, les acides galliques	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acides caféique et férulique	Pomme de terre, pomme
C ₆ -C ₄	Coumarines Naphthoquinones	Scopléine, esculétine Juglone	Agrumes Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vin, Raisin
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes : Flavonols Anthocyanes Flavanols Flavanones Isoflavonoïde	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Daidzéine	Fruits, légumes Fruits rouges Pomme, raisin Agrumes Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge

Chapitre II : Généralités sur les composés phénoliques

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment à cause de leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**tableau 7**) (**Frankel et col, 1993**).

Tableau 7 : Activités biologiques des composés phénoliques (Bahorun, 1997)

Polyphénols	Activité biologique
Acides phénoliques (cinnamique et benzoïque)	Antibactériennes Antifongique Antioxydant
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuse
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétique Antioxydant
Anthocyanes	Protectrice capilaro-veineux
Proanthocyanidine	Effet stabilisateur sue le collagène Antioxydant Antitumorales Antifongique Anti-inflammatoires
Tanins gallique et catéchique	Antioxydant

II.2 Différentes classes des polyphénols

II.2.1 Les acides phénoliques

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts qui sont les acides hydroxybenzoïques (C6-C1) et les acides hydroxycinnamiques (C6-C3).

Chapitre II : Généralités sur les composés phénoliques

Des composés de ces deux groupes ainsi que leurs dérivés estérifiés et glycosylés ont été trouvés dans les différentes parties de la plante. On peut citer les cinq dérivés des acides hydroxybenzoïques (l'acide salicylique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acideprotocatéchine, l'acide gallique et l'acide vanillique) (**figure 3**), et dans une autre partie les quatre dérivés des acides hydroxycinnamiques (l'acide cinnamique, l'acide p-coumarique, l'acide caféique et l'acide férulique) (**figure 4**).

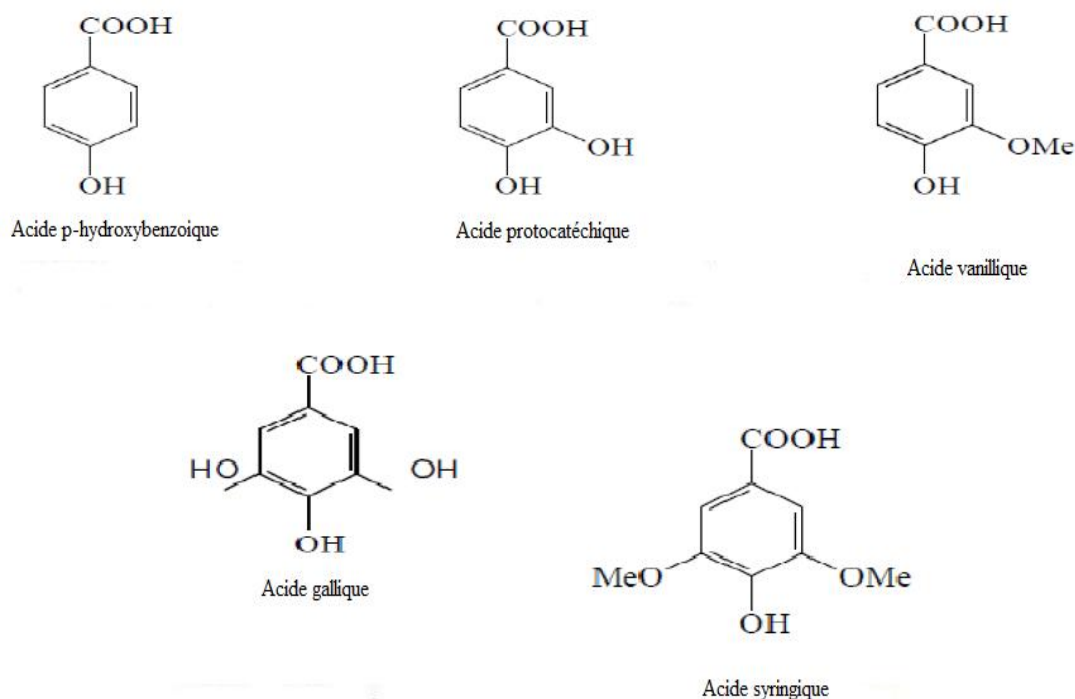


Figure 3: Structure chimique de quelque dérivé d'acide hydroxybenzoïques

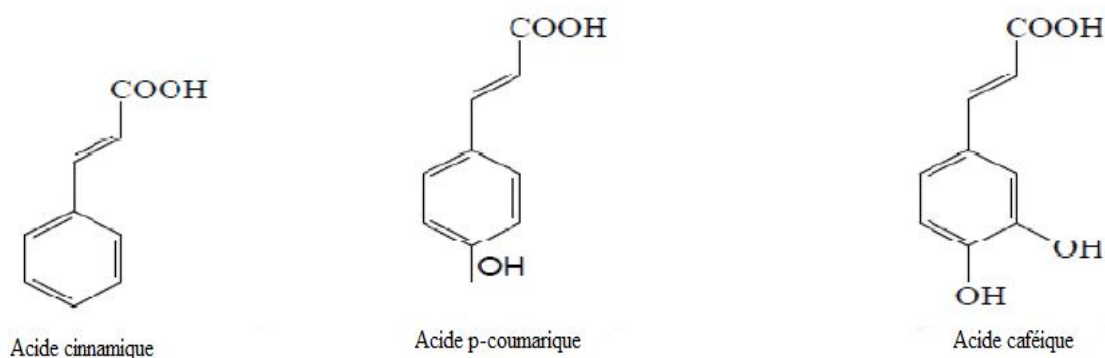


Figure 4: Structure chimique de quelque dérivé d'acide hydroxycinnamiques

II.2.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont un groupe de plus de 4000 composés polyphénoliques se produisant naturellement d'origine végétale. Ces composés possèdent une structure commune de phenylbenzopyrone (C₆-c₃-c₆) (**figure 5**), et ils sont classés par catégorie selon le niveau de saturation et l'ouverture de l'anneau central de pyrane (**figure4**) (**WenyingRen, 2013**).

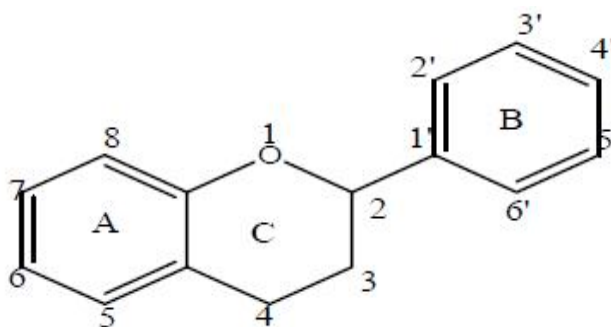


Figure 5: Structure de base des flavonoïdes (BimleshKumar et col, 2011)

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques qui sont omniprésents aux usines. Elles ont été montrées pour posséder une variété d'activités biologiques aux concentrations non-toxiques dans les organisations. Le rôle des flavonoïdes diététiques dans le cancer l'empêchement est largement discuté. Et les épreuves cliniques humaines indiquent que les flavonoïdes ont des effets importants sur la chimioprévention et la chimiothérapie de cancer. Beaucoup de mécanismes d'action ont été identifiés, y compris l'inactivation antiprolifération, l'arrêt du cycle cellulaire, l'induction de l'apoptose et la différenciation, l'inhibition de l'angiogénèse, l'antioxydation et l'inversion de la résistance aux médicaments ou une combinaison de ces mécanismes. Basé sur ces résultats, les flavonoïdes peuvent être des agents anticancéreux prometteurs.

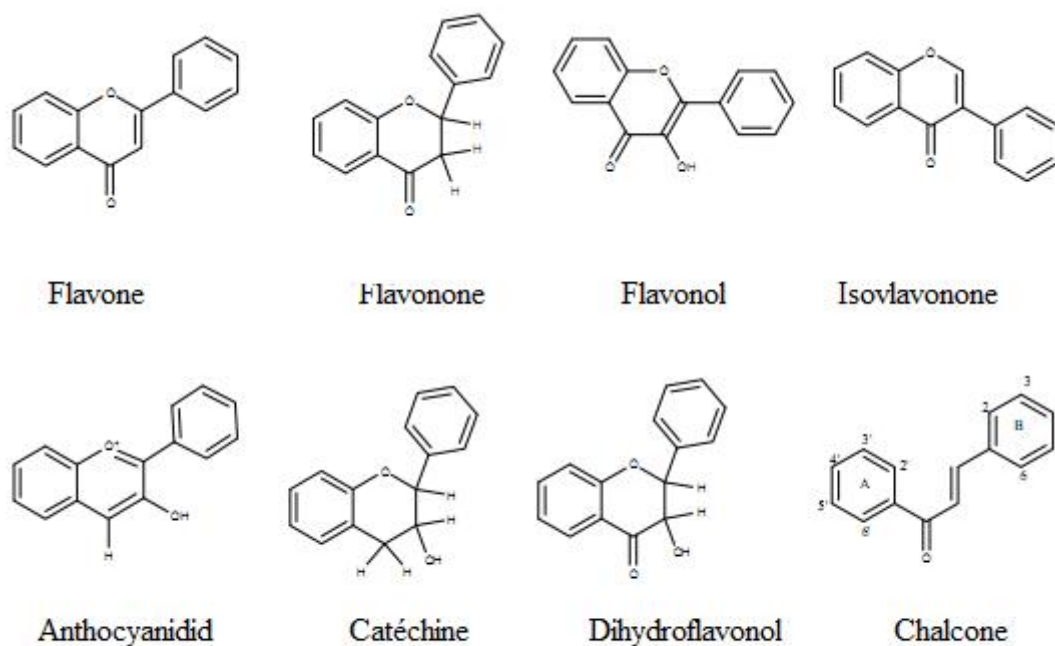


Figure 6: Les structures chimiques de différents types de flavonoïdes (BimleshKumar et col, 2011)

II.2.3 Les tannins

Basé sur les structures moléculaires du actuellement connu tannins, et leur origine et rôle dans la flore, le suivant de finition des tannins peut être dérivé :Les tannins sont les métabolites secondaires polyphénoliques de plus haut les usines, et sont l'un ou l'autre esters de galloyl et leurs dérivés, dans à quelles parties de galloyl ou à leurs dérivés sont attachés une variété de polyol -, de catéchine et de noyaux de triterpénoïde (gallotannins, les ellagitannins et les tannins complexes), ou eux sont proanthocyanidins oligomères et polymères qui peuvent posséder modèles intererent d'accouplement et de substitution d'avanyl de Di (tannins condensés).

Les tannins sont des produits organiques et non azotés. Ces composés constituent un grand groupe des composés qui sont largement distribués dans le royaume des plantes tel que les sons d'abords, les fruites et les feuilles aussi.

▪ Tannins Hydrolysables :

Leurs structures impliquent plusieurs molécules des acides polyphénoliques tels que les acides galliques ou ellagique, liés par des tringleries d'ester à une molécule centrale de glucose. Sur la base des acides phénoliques produits après l'hydrolyse, elles sont encore classées par

Chapitre II : Généralités sur les composés phénoliques

catégorie sous des gallotannins composés d'acide ou d'ellagitannins galliques qui contient l'acide hexahydroxydiphénique qui après intra estérification produit l'acide ellagique (**figure 7**).

Les tannins hydrolysables sont solubles dans l'eau et leur solution produit la couleur bleue avec du chlorure ferrique (**Dr. Vinod D. Rangari, 2007**).

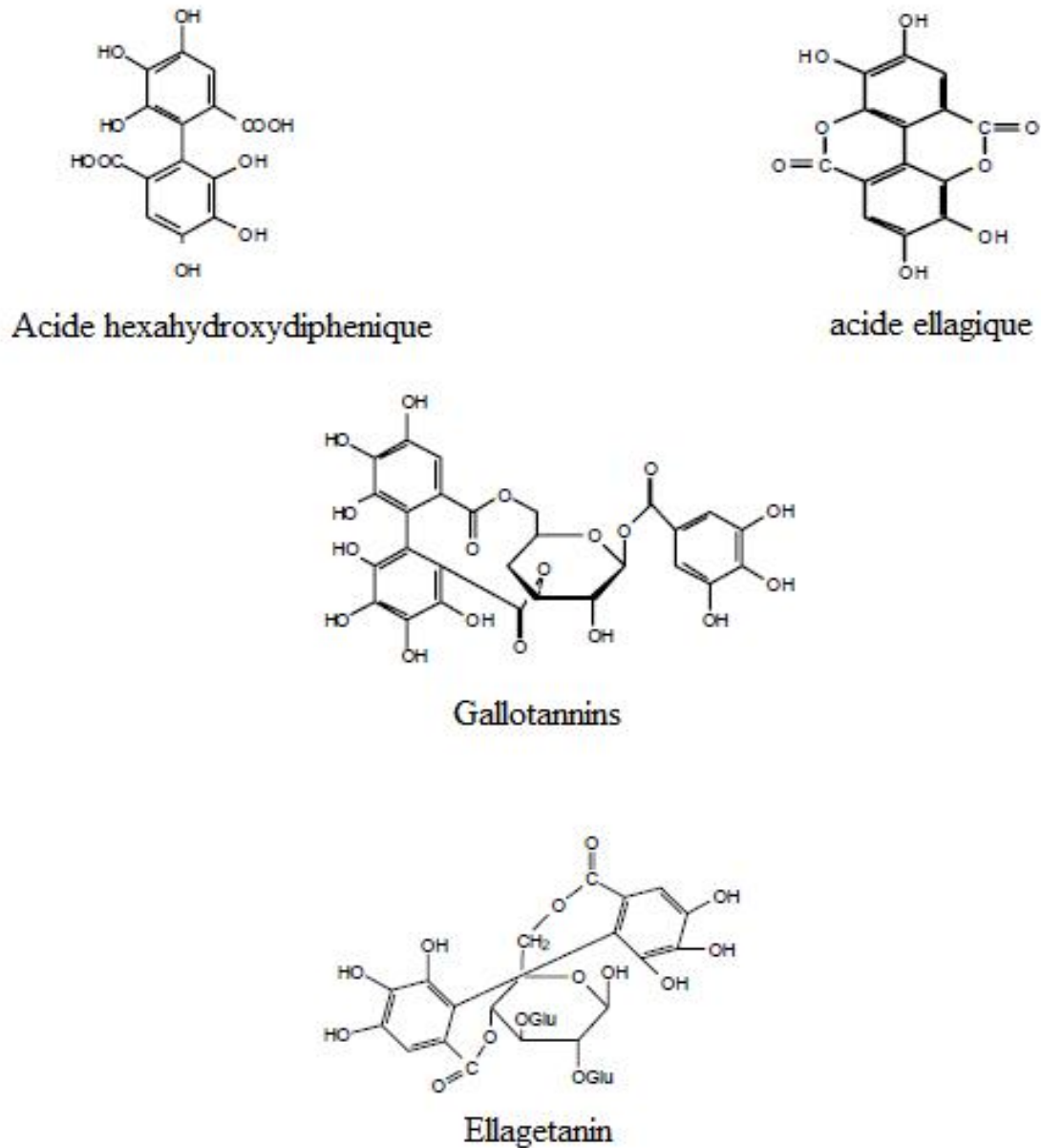


Figure 7: Structure de tannins hydrolysable (Dr. Vinod D. Rangari, 2007)

▪ Tanins condensés

Les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou proanthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine (fruits, légume, thé, dattes, ...). Qui se diffèrent

Chapitre II : Généralités sur les composés phénoliques

fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes.

La structure complexe des tanins condensés est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation. Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétriques C2 et C3 et par le niveau d'hydroxylation du noyau B (**figure 8**). On distingue ainsi les catéchines (dihydroxylées) des gallocatéchines (trihydroxylées) (**PraveenKumar Ashok1, 2012**).

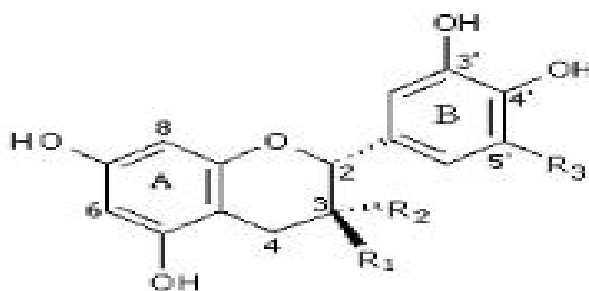


Figure 8: Structure chimique des tanins condensés

II.2.4 Les stilbènes

Sont des composés phénoliques issus des métabolismes secondaires végétale et qui dérive par la voie des phénylpropanoïdes. Les stilbènes (1-2 diphényléthylène) sont composés des deux noyaux phényle reliée entre eux par un pont de double liaison pouvant d'exister en deux formes : la forme *trans* et la forme *cis* parage (**figure 9**) (**S. KRISA, 1997**).

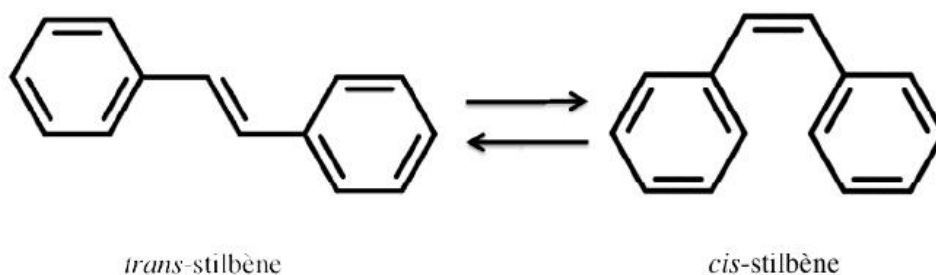


Figure 9: structure chimique de base des stilbènes

II.2.5 Les lignanes

Ce sont des composés dont des diphénoles qui ont une structure 2-3 dibenzyl butane. Bien qu'elles n'aient pas démontré induire l'oestrus chez l'animal, elles sont considérées comme des phytoestrogènes ayant une activité « oestrogèneslike ». Elles interviennent également dans le processus de lignification (**figure 10**).

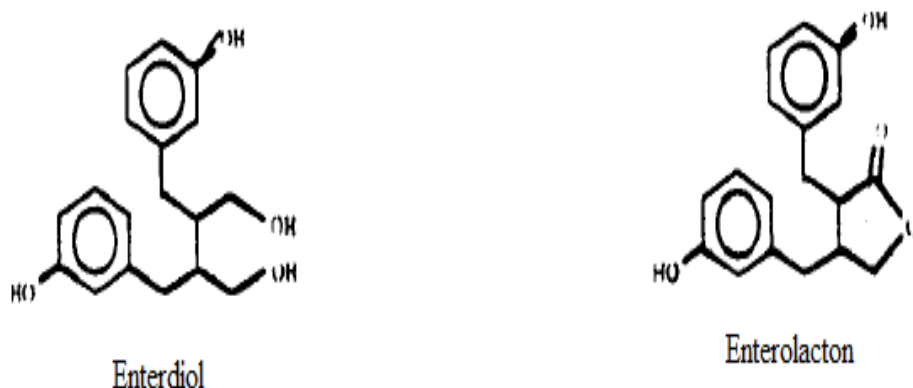


Figure 10: structure chimique des lignanes

II.2.6 Les coumarines

Les coumarines constituent un groupe comprenant divers métabolites végétaux secondaires de faible poids moléculaire largement répandus dans le règne végétal. Sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone (C₆-C₃) possédant le noyau benzo- α -pyrone (**figure 11**). Ce composé dériverait de la cyclisation de l'acide cis cinnamique oxygéné en C2 (P. K. Jain et Himanshu Joshi, 2012).

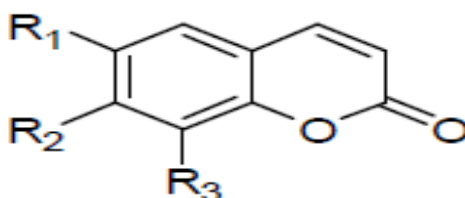


Figure 11: La structure de base de coumarine

Chapitre II : Généralités sur les composés phénoliques

La structure chimique des coumarines est constituée d'un groupe aglycone de nature triterpénoidique ou stéroïdique et d'une ou plusieurs chaînes saccharidiques (glycosides) (Djamila Djemoui, 2012).

Chapitre III

Activité antioxydante

III.1 Les radicaux libres

III.1.1 Définition

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne (**I.Hininger-Favier, 2010**). Plusieurs éléments peuvent être à l'origine de radicaux libres. Les sources des radicaux libres sont nombreuses (**Fatima Zohra Bouras et coll, 2013**).

En chimie, un radical libre est un atome ou une molécule dont la structure se caractérise par la présence d'un électron libre rendant cette espèce chimique beaucoup plus réactive que l'atome ou la molécule dont il est issu.

Ces composés issus de l'oxygène sont très toxiques pour la cellule et peuvent la détruire. L'organisme a développé le système de défense pour s'en protéger : on parle alors d'antioxydante ou d'anti radicaux libres.

Cette production de radicaux libres est impliquée dans la survenue des principales maladies chroniques que sont les maladies cardiovasculaire, les cancers, le diabète ou les maladies inflammatoires.

III.1.2 L'origine des radicaux libre

L'oxygène, élément indispensable à la vie, produit en permanence au niveau de la cellule et en particulier de la mitochondrie (composant de la cellule qui produit de l'énergie) des composants appelée radicaux libres, ou encore espèces oxygénées activés (ERO).

Ces substances issues de l'oxygène sont générés sous l'effet d'oxydant environnementaux.

Le tabagisme, une nutrition trop riche en graisse, la pollution, l'absorption d'alcool, l'exposition prolongée au soleil provoquent une surproduction de radicaux libre dans notre organisme.

Une intervention chirurgicale ou la pratique d'un exercice physique intense sont responsable de production de radicaux libres.

III.1.3 Nature des radicaux libres

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et ou un pouvoir oxydant fort, il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe.

Chapitre III : Activité antioxydante

Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les **radicaux primaires** à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), le radical hydroxyle ($^{\bullet}OH$), le monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$), le radical peroxyde ($ROO^{\bullet}$) et le radical alkoxyde ($RO^{\bullet}$).

Les autres radicaux libres, dits **radicaux secondaires** telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**).

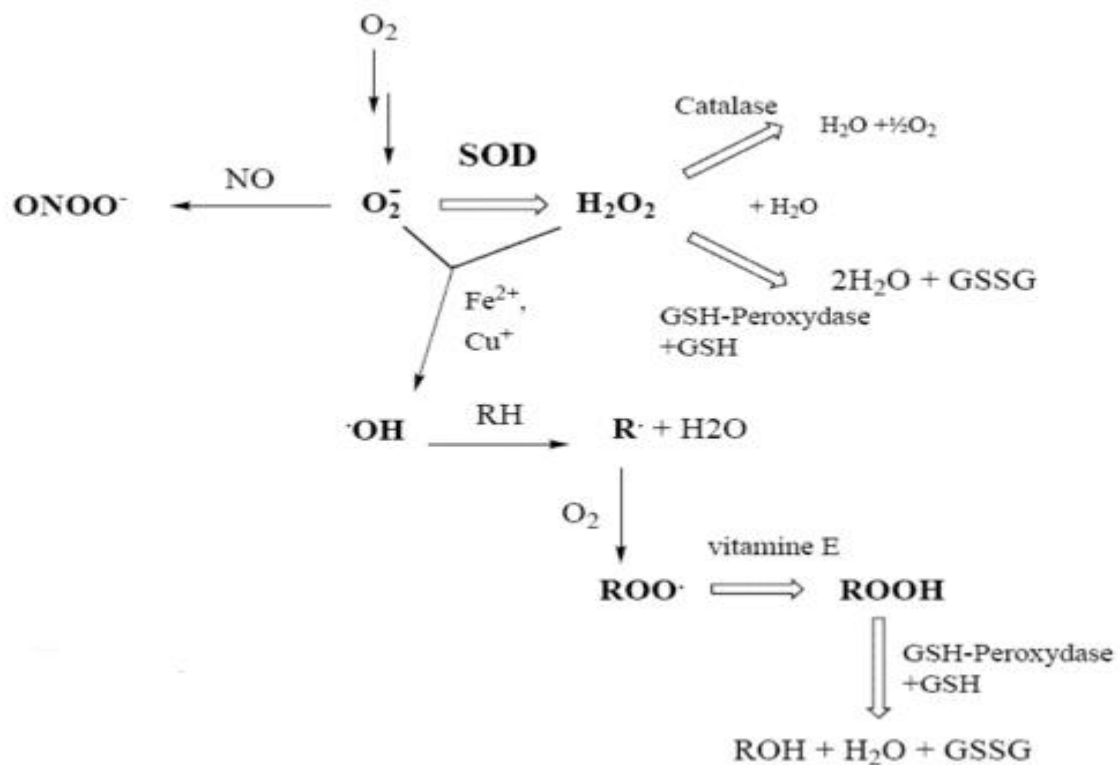


Figure 12: La nature et la relation entre les radicaux libres d'oxygène (Alain Favier, 1997)

III.2 Les antioxydants

III.2.1 Définition

Les antioxydants sont des substances qui diminuent l'oxydation d'autre substance chimique et qui protègent l'organisme contre les dommages causés par les radicaux libres.

Ces dernières naturellement présentes dans l'organisme sont parfois fabriquées en excès par nos cellules, notamment sous l'effet de la pollution, du tabac, des rayons UV ... Cela peut alors engendrer le vieillissement prématuré des cellules et le développement de certaines maladies.

Chapitre III : Activité antioxydante

Le stress oxydatif et les antioxydants font partie intégrante des moyens de défense de l'organisme au niveau cellulaire et y jouent un rôle central.

II.2.2 Mécanisme d'action

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol.

En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires.

D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Hellal. Z, 2011).

III.2.3 Utilisation des antioxydants

On parle beaucoup des effets bénéfiques des antioxydantes. Ces dernières et l'industrie agroalimentaire met en avant leur présence dans ses produits afin de dynamiser ses ventes.

Elle les utilise également, pour éviter le rancissement des corps grains.

Et bien aussi dans l'industrie teinture pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou de colorants se cuvent lors de la teinture.

III.2.4 Classification des antioxydants

III.2.4.1 Antioxydants synthétiques

A cause de l'instabilité inhérente des antioxydants naturels, on utilise plusieurs antioxydants pour stabiliser les matières grasses et les huiles (John W. Hilton, Ph.D, 1989).

Cette famille de substances antioxydants est relativement limitée, puisqu'elle correspond à des corps étrangers au biologique (humain comme animal), donc biologiquement suspects. C'est la raison pour laquelle ces molécules ont fait l'objet de nombreuses publications, dont les données toxicologiques sont parfois contradictoires

- o Le Butylhydroxytoluène (B.H.T).
- o Le Butylhydroxyanisole (B.H .A).
- o L'acide isoascorbique.

III.2.4.2 Substances synergiques

Ce sont des molécules qui améliorent l'action de certains antioxydants. Ce qui se traduit souvent par un accroissement de la période de protection, parmi eux se trouvent : Les acides lactique, tartrique et ortho phosphorique et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer ou le cuivre, dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose. Cependant, ce n'est peut-être pas la seule explication, car plusieurs de ces produits sont d'assez mauvais chélatant (**K. Bouhadjra, 2006**).

III.2.4.3 Antioxydants d'origine végétale (naturelle)

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont :

- La vitamine E est un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie des cellules tout en ralentissant le processus de vieillissement et la diminution de l'athérosclérose. La vitamine E joue un rôle prouvé que les patients d'Alzheimer obtiennent des avantages remarquables au traitement par la vitamine E. Il a été déterminé que la vitamine E naturelle, semble être deux fois plus biodisponible que la vitamine E synthétique. La vitamine E est rencontrée surtout dans les huiles végétales, les noix et les germes de diverses graines (**Vansant, 2004**).
- La vitamine C est largement répandue dans les fruits, l'influence sur les dégâts protéiques a été examinée dans des études d'apports supplémentaires. De façon intéressante, de supplémenter des volontaires sains pendant 5 semaines avec la vitamine C n'a aucun effet. Cependant, après 10 et 15 semaines de traitement les taux carbonyles ont été significativement abaissés.
- Les Caroténoïdes sont une classe de composés photochimiques très importante, trouvés dans les légumes et fruits, également dans le lait, empêchent les dommages génétiques, protègent contre les dommages oxydants en augmentant le métabolisme de désintoxication des gaps jonctions. Les exemples de Caroténoïdes, incluent l'alpha carotène, beta carotène, lycopène, lutéine... sont impliqués dans la prévention de nombreux types de cancer ; cancer de la prostate ; cancer du poumon (**Mohammedi. Z, 2006**).

Chapitre III : Activité antioxydante

- Les composés phénoliques : Ces substances sont très utilisées dans la médecine traditionnelle et moderne pour leurs activités antioxydants. Vue leurs propriétés redox les plus élevées, les polyphénols agissent comme des agents réducteurs, donneur d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions

Partie Expérimentale

Chapitre IV

Matériel et Méthodes

IV.1.1 Matériels

Tableau 8: Réactifs et appareils utilisés dans ce travail

Produit	Firme
Produit	
Acétone	VWR Prolabo
Acide gallique	
BHA	Fluka
Carbonate de sodium	VWR Prolabo
Catéchine	Sigma Aldrich
Chlorure de fer (III)	VWR Prolabo
Ethanol	Sigma Aldrich
Hydroxyde de sodium	Sigma Aldrich
Méthanol	Sigma Aldrich
Nitrite de sodium	Sigma Aldrich
Phénantroline	Sigma Aldrich
Quercétine	Sigma Aldrich
Réactif de folin ciocalteu	Sigma Aldrich
Trichlorure d'aluminium	
Vitamine C	
matériel	
Balance	OHAUS
Papier filtre	
Spectroscopie UV-visible	Schott instrumentes
Verreries	Riviera et Simax

IV.1.2 La matière végétale

Les sons de dix-huit échantillons de sorgho sont cultivés à Tamanrasset. Cette dernière est une zone saharienne au sud d'Algérie qui caractérise par un climat très aride.

Pour simplifier le travail, on désigne notre échantillon par des codes et on les classe en deux groupes selon la couleur de ces graines (variétés de sorgho blanc et rouge).

Tableau 9: les deux variétés de sorgho étudié

Variétés de sorgho blanc	A08	A10	A12	A19	A21	A26	A27	A34	A35	A40
Variétés de sorgho rouge	A13	A14	A15	A16	A18	A33	A36	A39		

IV.2 Extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques a été faite en utilisant quatre systèmes de solvants de polarité différente. Les systèmes solvants utilisés sont: L'eau distillée, (méthanol/eau) (80/20, v/v), (acétone/eau) (70/30, v/v) et (méthanol/acétone/eau) (40/40/20, v/v/v). Une quantité bien déterminée de chaque échantillon de sorgho (environ 0,2 g) est macérée à température ambiante dans 20 ml de solvant pendant 24 heures. Après filtration, les extraits sont conservés au réfrigérateur à 6°C jusqu'à leurs analyses.

IV.3 Dosage des polyphénols totaux

La concentration en polyphénols est déterminée en utilisant le réactif de folin ciocalteu. Ce dernier qui est constitué d'acide phosphomolybdique et d'acide phosphorique qui sera réduits par les composés phénoliques. L'intensité de la coloration bleue est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible à 760 nm. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la concentration des polyphénols dans la solution.

Une courbe d'étalonnage a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de concentration varie entre 0.03 (g/l) et 0.3 (g/l). A 100 µl de chaque solution d'acide gallique préparée, on ajoute 500µl de réactif de folin ciocalteu diluée à 10 fois par l'eau distillée. Après l'incubation pendant cinq minutes on ajoute 2 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 10 %, Les solutions sont incubées à l'obscurité pendant d'une heure à une température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été mesurée à 760 nm contre le blanc (**HAMMOUDI Roukia et col, 2012**).

IV.4 Dosage des flavonoïdes

L'analyse quantitative des flavonoïdes dans les différentes variétés du sorgho est effectuée par deux méthodes colorimétriques.

IV.4.1 Méthode de Lamaison et carnat

Dans cette méthode le principe est basé sur la réaction de complexation des fonctions hydroxyles OH par un acide de Lewis qui est le trichlorure d'aluminium AlCl_3 . Une quantité de 1 ml d'extrait est ajouté à 1 ml d'une solution méthanolique d' AlCl_3 à 2 %. Après une incubation de 15 mn, la lecture de l'absorbance est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible à une longueur d'onde de 430 nm (**Dong-Jiann HUANG, 2004**).

Chapitre IV : Matériel et méthodes

La courbe d'étalonnage est effectuée par des différentes concentrations de la quercétine (0.01 g/l-0.1g/l) comme un standard (la quercétine est préparé dans le méthanol). Dans les mêmes conditions expérimentales et on suivant les mêmes étapes du dosage précédent.

IV.4.2 Méthode de Zhishen et col

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une autre méthode adaptée par **Zhishen et col, (1999)** avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

1 ml de l'extrait de chaque variété du sorgho est mélangé avec 5 ml d'eau distillée, suivis de 0.3 ml de nitrite de sodium (NaNO_2) à 5%. Après 5 min d'incubation, 0.6 ml de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10% (m/v) est rajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% est additionné, ceci est complété à 10 ml avec de l'eau distillé. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance de la solution de couleur rosâtre est déterminée à 510 nm contre un blanc (**Abd El-Moneim MR Afify et col, 2012**).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme un standard.

IV.5 Evaluation de l'activité antioxydant des extraites phénoliques du sorgho

Pour l'évaluation de l'activité antioxydant des extraits il existe plusieurs méthodes. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnelle.

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire par deux types de mécanismes:

- 1- la libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétiquement est rapide) des certaines acides et dérivées phénoliques.
- 2- la libération d'un électron (cinétiquement est lente) des dérivées glycolyses et des anthocyanes).

Dans notre étude nous nous sommes intéressés par deux différents tests chimiques : la réduction du fer ferrique et le test DPPH, ce dernier est le plus utilisé dans les recherches les plus récents dans le domaine de l'évaluation de l'activité antioxydant des produits naturels.

IV.5.1 Méthode de piégeage des radicaux libres DPPH

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité d'antioxydante à piéger le radical libre. Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α , α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, c'est à dire DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur violet bien caractéristique de la solution de DPPH•. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violet, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm.

Dans le cas des composés phénoliques, le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• pour former une molécule stable DPPHH (figure 13).

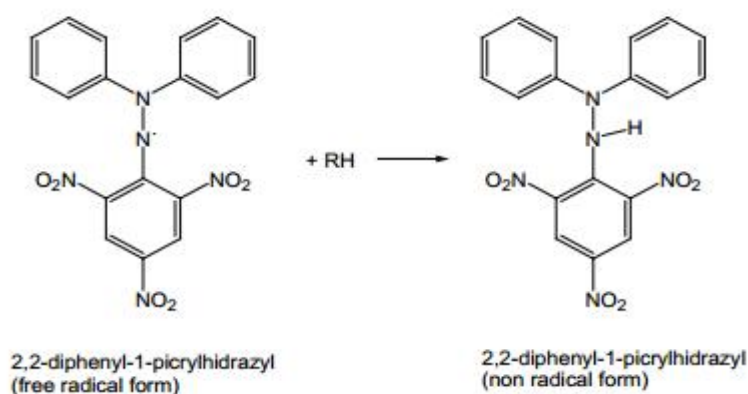


Figure 13: La forme libre et réduite de DPPH

Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres de DPPH est calculé d'après la formule suivante :

$$\text{Inhibition \%} = \frac{[\text{absorbance du control} - \text{absorbance de l'échantillon}]}{\text{absorbance du control}} \times 100$$

La valeur EC₅₀ (ou IC₅₀) est définie comme la concentration des antioxydants correspondant à 50 % d'inhibition ou la quantité de l'extrait d'une concentration bien précisée pour neutralisé

Chapitre IV : Matériel et méthodes

50% du radical. Elle est calculée en traçant la courbe des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait (**Alavi L et col, 2010**).

On peut citer que plus la valeur de EC50 est petite, plus l'activité antioxydant des extraits est grande.

▪ Mise en œuvre pratique

1 ml de chaque solution a été introduire à l'aide d'une micropipette dans des tube à essai, suivi par l'addition d'un 1 ml de DPPH•, puis l'incubation pendant 30 minutes à la température ambiante.

L'absorbance de chaque solution a été déterminé à 517 nm contre un blanc qui contient 2 ml de solvant utilisable pour l'extraire notre échantillon, et un témoin qui contient 1 ml de solvant et 1 ml de DPPH• (**Hyun Young Kil et col, 2009**).

▪ La courbe d'étalonnage de la vitamine C

Pour la détermination de l'activité antioxydante des extraits phénoliques totaux, il est nécessaire de tracer une courbe d'étalonnage à partir d'une série de solution standard de la vitamine C ayant des concentrations dans l'intervalle de 0.0025 g/l et 0.025 g/l comme un antioxydant de référence.

▪ La courbe d'étalonnage du BHA

La détermination de l'activité antioxydante des polyphénols totaux a été aussi exprimée à partir d'un étalon de BHA. A partir d'une solution de mère de BHA de concentration 0.04 (g/l), on prépare des solutions de concentrations varient entre 0.004 (g/l) jusqu'à 0.04 (g/l). On prend 1 ml de chaque solution de filles, puis on ajoute 1 ml de DDPH. Et on suivant les mêmes étapes précédentes.

IV.5.2 Test de phénantroline (réduction de fer ferrique)

Nous avons adopté la méthode de dosage colorimétrique d'Emmerie-Engel. Cette méthode est basée sur la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) en présence des extraits phénoliques ou des antioxydants commerciales. Ces derniers, en présence de réactifs spécifiques comme le phénantroline, forment un complexe rouge-orangé stable qui absorbe à 510 nm (**Hamia Chahrazad, 2007**).

▪ Protocole suivi

On prend 1 ml de chaque extrait, puis on ajoute 1 ml solution de phénantroline préparée dans l'éthanol (0.40%), suivi par 0.5 ml de FeCl_3 préparé dans l'éthanol à (0.12%). Après 5 minutes d'incubation on mesure l'absorbance.

▪ Les Courbes d'étalonnage de vitamine C et le BHA

Nous avons tracé deux courbes d'étalonnage à partir des solutions de la vitamine C (ou BHA). Nous avons préparés des solutions de filles ont des concentrations bien déterminées. 1 ml de chaque solution a été ajouté à 1 ml de réactif de phénantroline et on le suit par l'ajoute de 0.5 ml de FeCl_3 . Après l'incubation on mesure l'absorbance à 510 nm.

Chapitre V

Résultats et

Discussion

V.1 Teneurs en composés phénoliques totaux

Les extraits préparés ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible, par leurs contenus en phénols totaux. Ensuite la densité optique a été exprimée à partir d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique (**figure 14**). Les résultats obtenus sont regroupés dans le (**tableau 10**).

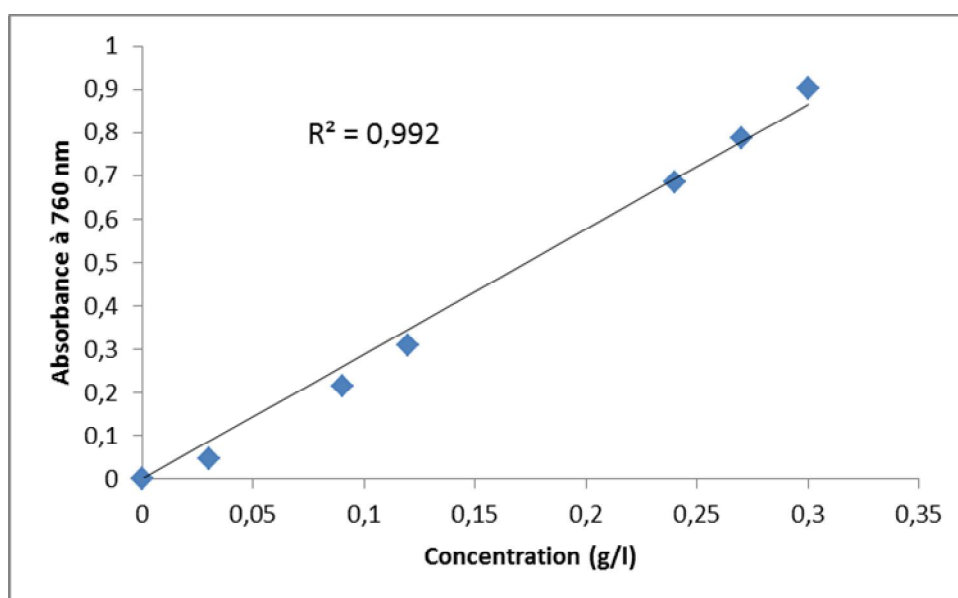


Figure 14: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La quantité en composés phénoliques totaux dans chaque extrait a été exprimée en gramme en équivalent de l'acide gallique par cent gramme de la matière sèche des sons de chaque variété.

Tableau 10: Teneurs des phénols totaux dans les extraits du sorgho (g/100g)

Echantillon	Système d'extraction			
	Eau	Méthanol/Eau	Acétone/Eau	Méthanol/Acétone/Eau
A08	0,7338	1,3001	0,2987	0,2793
A10	1,1000	0,7610	0,8769	0,6588
A12	0,4529	0,6280	-	-
A13	1,1225	2,1349	2,0121	2,5092
A14	1,9741	2,2544	2,0536	2,1142
A15	1,9518	1,9001	1,6654	1,4986
A16	2,3991	2,3153	1,9204	2,2475
A18	1,3815	1,9697	2,9528	2,1807
A19	0,3523	0,4482	0,5791	-
A21	0,9083	0,4585	0,4348	0,2785
A26	0,8508	0,3838	0,7424	1,0464
A27	0,5303	0,5379	0,9247	0,7130
A33	1,1105	0,9556	1,4417	1,4562
A34	2,6504	0,9274	-	-
A35	2,2191	0,6124	0,7048	-
A36	1,7956	-	-	-
A39	1,8262	1,9258	2,0596	2,3904
A40	0,3232	-	-	-

A partir des résultats enregistrés dans le **tableau 10**, on remarque que tous les extraits des sons de différents échantillons du sorgho contiennent des quantités importantes en phénols totaux.

Si on s'intéresse par la teneur des composés phénoliques totaux selon le système d'extraction utilisé, nous constatons que les valeurs varient d'un extrait à l'autre.

Dans l'extrait aqueux les teneurs en phénols totaux sont comprises entre 0,3232 et 2,6504 (g/100g en équivalent en acide gallique). Mais avec dans extraits hydrométhanoliques les valeurs varient dans la fourchette de 0,3838 à 2,2544 (g/100g en équivalent en acide gallique). Par ailleurs pour les extraits hydroacétoniques les valeurs sont dans la gamme de 0,4348 et

Chapitre V : Résultats et discussion

2,9528(g/100g) et bien aussi pour les extraits hydrométhanoacétonique les teneurs sont entre 0,2793 et 2,5092 (g/100g en acide gallique).

La plus grande valeur en teneur est enregistré dans l'extrait hydroacétonique environ de 2,9528 (g/100g en équivalent en acide gallique), et cela peut-être due à la présence des composés phénoliques extractibles par ce système solvant (acétone/eau), qui sont généralement les tanins (**Marwa Zaroug et col, 2014**).

Toutes les variétés du sorgho rouge (A13, A14, A15, A16, A18, A33, A36 et A39) représentent des teneurs en composés phénoliques très élevées par rapport aux autres variétés du sorgho blanc. Nos résultats sont en accords avec d'autres résultats trouvés par Hadbaoui Zineb (**Zineb Hadbaoui, 2012**).

A la lumière de ces résultats trouvés on peut dire que les meilleurs solvants pour l'extraction des composés phénoliques sont : acétone/eau, méthanol/eau.

Alors, il est important de noter que la comparaison entre les valeurs en quantité en phénols totaux est pratiquement difficile, à cause aux différentes méthodes d'extraction et de dosage et même aussi l'origine géographique et climatique de sorgho sans oublié l'état de conservation notre cultivars.

V.2 Teneur en flavonoïdes

La quantité en flavonoïdes dans les extraits a été exprimée en gramme par cent gramme de la matière sèche des sons de chaque variété en équivalent de la quercétine et de la catéchine. Pour cela deux courbes d'étalonnages ont été tracées, la première pour la catéchine et la deuxième pour la quercétine (**Zhishen et col, 1999**).

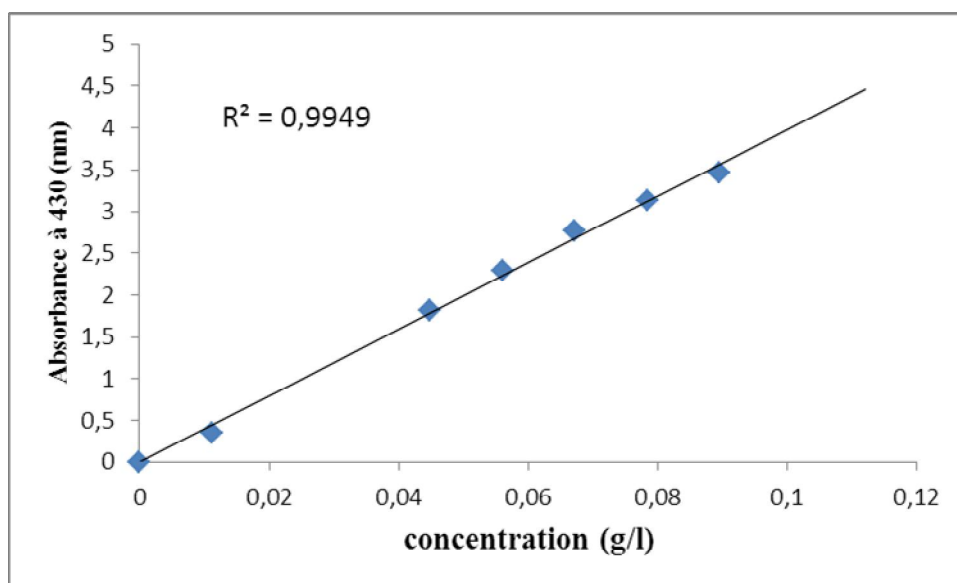


Figure 15: Courbe d'étalonnage de la quercétine

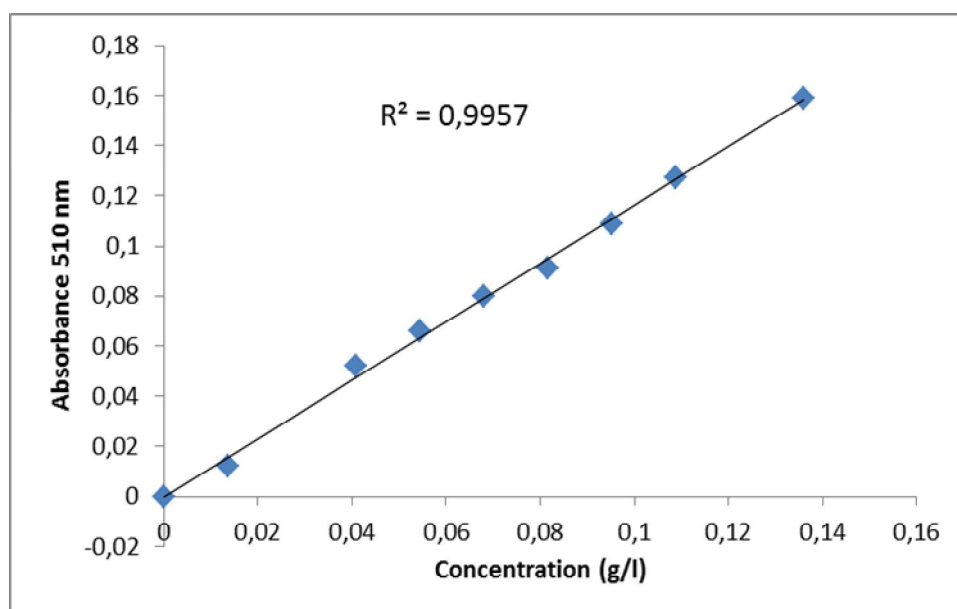


Figure 16: La courbe d'étalonnage du catéchine

Chapitre V : Résultats et discussion

Les courbes d'étalonnages précédentes nous ont permis de quantifier les teneurs en flavonoïdes. Les résultats sont regroupés dans le **tableau 11** et ont été exprimés en gramme(g) par cent gramme du poids sec des sons du sorgho en équivalent de la quercétine ou de la catéchine.

Tableau 11: Teneurs des flavonoïdes dans les extraits du sorgho en (g/100g) selon le système d'extraction en équivalent de la quercétine et la catéchine

Echa	Eau		Méthanol/Eau		Acétone/Eau		Méthanol/Acétone/Eau	
	Quer	Caté	Quer	Caté	Quer	Caté	Quer	Caté
A08	0,0523	0,2811	0,1525	0,0256	0,0642	0,0413	0,0693	0,1500
A10	0,0717	0,3597	0,1608	0,3778	0,1004	0,0256	0,1638	0,5340
A12	0,0537	0,0813	0,1175	0,2001	-	-	-	-
A13	0,0583	0,0984	0,2430	1,5087	0,2003	1,7864	0,1997	0,5211
A14	0,0918	0,1049	0,2251	0,8579	0,1935	0,3287	0,2045	0,6952
A15	0,0845	0,3929	0,2141	1,0037	0,1761	0,3047	0,1625	1,2114
A16	0,1292	0,0957	0,2502	0,9008	0,1878	0,6682	0,1934	1,0418
A18	0,1046	0,3847	0,2151	0,4054	0,2043	2,1415	0,1645	1,3900
A19	0,0181	0,1787	0,1293	0,3035	0,0686	0,4353	-	-
A21	0,0591	0,0068	0,0896	0,1316	0,0485	0,0424	0,0796	0,1847
A26	0,0726	0,0034	0,1815	0,0423	0,0957	0,1188	0,1254	0,4882
A27	0,0733	0,0829	0,1442	0,3201	0,1182	0,5613	0,1312	0,0447
A33	0,0762	0,1317	0,2096	0,5948	0,1652	0,7589	0,1388	0,5912
A34	0,0802	0,2613	0,2102	0,5316	-	-	-	-
A35	0,0467	0,2264	0,1771	0,3285	0,1128	0,5412	-	-
A36	0,0486	0,7429	-	-	-	-	-	-
A39	0,0587	0,4174	0,3078	0,4996	0,1907	0,4950	0,2238	0,3629
A40	0,0357	0,0761	-	-	-	-	-	-

Quer : quercétine

Caté : catéchine

A partir de ces résultats on peut déduire que les sons de nos échantillons contiennent des quantités moyennes en flavonoïdes.

Chapitre V : Résultats et discussion

Par contre les teneurs en flavonoïdes dépendent du système d'extraction. Par exemple on peut citer que la teneur dans les extraits aqueux appartiennent à l'intervalle de 0,0036 à 0,3847 (g/100g), mais dans l'extrait hydrométhanolique les teneurs varient de 0,0256 à 1,5087 (g/100g) et pour l'extrait hydroacétonique les teneurs sont dans l'intervalle de 0,0693 et 1,7864(g/100g), en fin les teneurs de l'extrait hydrométhanoacétonique sont comprises entre 0,0418 et 1,3900 (g/100g).

Nous avons remarqué que la teneur des flavonoïdes est très élevée dans les variétés de sorgho rouge étudiées (A13, A14, A15, A16, A18, A33, A36 et A39) par rapport aux autres variétés du sorgho blanc **tableau 11**.

Nous avons également calculé le pourcentage des flavonoïdes dans les phénols totaux. D'après les résultats, on remarque que ces pourcentages sont inférieurs à 100% et que les valeurs des quantités en flavonoïdes sont toujours inférieures de celles des composés phénoliques totaux et que les systèmes solvants méthanol –eau et acétone-eau sont les plus capables d'extraire des flavonoïdes.

V.3 L'évaluation de l'activité antioxydant

V.3.1 Test du DPPH

Ce test est déterminé par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique du radical DPPH à 517 nm, réduit par les extraits étudiés des sons de sorgho, pendant 30 mn à l'obscurité.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de nos échantillons étudiés des sons de sorgho ont été fait en comparaison par rapport à deux antioxydants de références à savoir: l'acide ascorbique et le BHA.

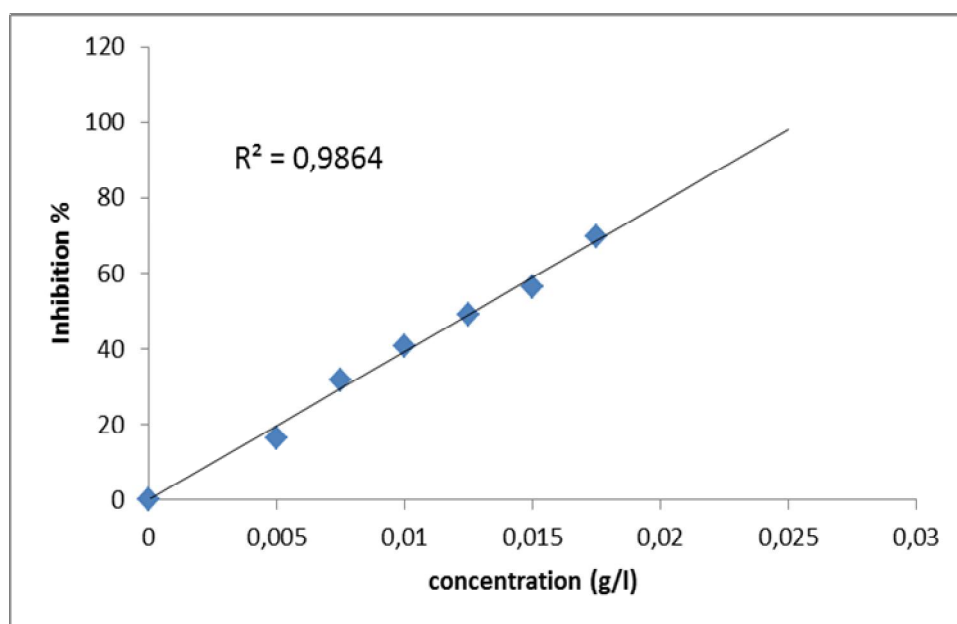


Figure 17: La variation des pouvoirs d'inhibition (PI%) en fonction de la concentration de la vitamine C

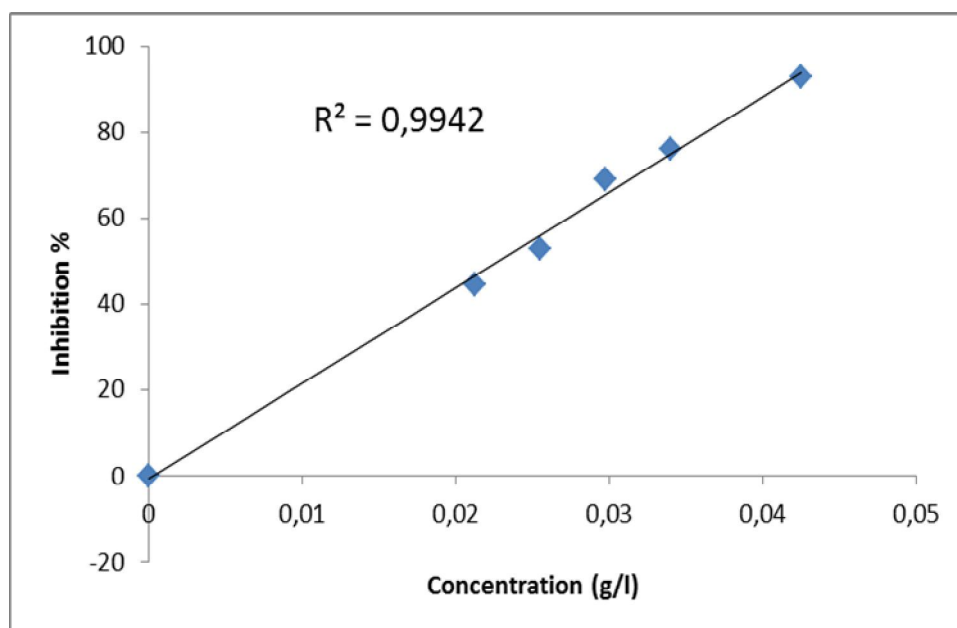


Figure 18: La variation des pouvoirs d'inhibition (PI%) en fonction de la concentration de BHA

Pour cela deux courbes ont été établies reliant le pourcentage d'inhibition PI% en fonction des concentrations des deux solutions de la vitamine C et le BHA (**figures 17 et 18**). L'activité antioxydante des extraits est déterminée par le calcul de la valeur la concentration de chaque extrait en équivalent de la vitamine C et le BHA en utilisant les pentes des deux courbes d'étalonnages établies précédemment.

La valeur de l'activité antioxydante de chaque extrait phénolique des différentes variétés des sons du sorgho dans les quatre systèmes d'extraction a été exprimée en milligramme par litre en équivalent de l'acide ascorbique et le BHA. Rappelons que plus la valeur de cette concentration est forte plus l'extrait est un antioxydant fort.

A partir des courbes d'étalonnages des deux antioxydants de références, nous avons calculé les valeurs de ces concentrations qui s'échelonnent entre 12,76 mg/l et 21,56 mg/l

A base des résultats obtenus, on peut conclure que les extraits phénoliques des sons de différentes variétés du sorgho sont riches en espèces antioxydants et quelque soit le système d'extraction utilisé.

Chapitre V : Résultats et discussion

Tableau 13: Les valeurs des concentrations (mg/l) des extraits phénoliques du sorgho en équivalent de la vitamine C et le BHA

Echa	Eau		Méthanol/Eau		Acétone/Eau		Méthanol/Acétone/Eau	
	Vit C	BHA	Vit C	BHA	Vit C	BHA	Vit C	BHA
A08	14,4241	24,3705	20,2651	34,2393	21,9566	37,09716	23,0347	38,9188
A10	14,6154	24,6937	22,7117	38,3731	23,6222	35,87916	23,9674	40,4946
A12	12,1739	20,5686	22,7612	38,4566	-	-	-	-
A13	13,9741	23,6101	18,7082	31,6087	19,5357	29,67222	19,6294	33,1653
A14	11,4313	19,3139	20,3640	34,4063	22,1670	33,66889	22,8829	38,6623
A15	9,6536	16,3104	21,2536	35,9095	22,0474	33,48722	23,1649	39,1387
A16	15,1329	25,5682	18,5352	31,3165	20,4925	31,12555	21,7767	36,7933
A18	14,1653	23,9333	19,4496	32,8614	19,6154	29,79333	22,1238	37,3797
A19	16,5843	28,0204	20,8335	35,1997	21,0706	32,00361	-	-
A21	12,9052	21,8042	22,4152	37,8720	22,6654	34,42583	23,5336	39,7617
A26	13,5578	22,9068	20,9077	35,3250	20,7716	31,54944	23,4035	39,5418
A27	12,2189	20,6446	22,2916	37,6633	22,3664	33,97166	23,5770	39,8350
A33	7,6058	12,8506	20,0180	33,8218	20,3929	30,97416	22,0587	37,2697
A34	13,9516	23,5721	21,6491	36,5776	-	-	-	-
A35	21,5912	36,4798	22,5140	38,0391	23,9212	36,33333	-	-
A36	19,0484	32,1836	-	-	-	-	-	-
A39	17,4957	29,5602	20,9077	35,3250	-	-	22,9914	38,8455
A40	16,4718	27,8303	-	-	-	-	-	-

Echa : Echantillon

Vit C : vitamine C

L'effet antioxydant des extraits phénoliques de nos échantillons étudiés peut être classé en trois catégories:

- Une catégorie avec activité antioxydante égale ou voisine à celle des antioxydants de références (la vitamine C et le BHA), cette catégorie est représentée par les échantillons (A12, A13, A14, A21, A26, A27 et A34).

Chapitre V : Résultats et discussion

- Une deuxième catégorie caractérisée par des activités antioxydantes supérieures à celles des antioxydants la vitamine C et le BHA, cette catégorie est représentée par les échantillons (A08, A10, A16, A18, A19, A35, A36, A39 et A40).
- Une dernière catégorie présente des activités antioxydants inférieures à celles des activités des antioxydants de références, ce sont les échantillons (A15 et A33).

Les plus fortes activités antioxydantes sont enregistrées dans les extraits hydrométhanoliques qui sont comprises entre 31,3165 et 38,466 (mg/l), et dans les extraits hydroacétoniques qui donnent des valeurs qui sont proches des extraits hydrométhanoliques.

V.3.2 Test de réduction du fer ferrique

Les courbes d'étalonnages de la vitamine C et le BHA.

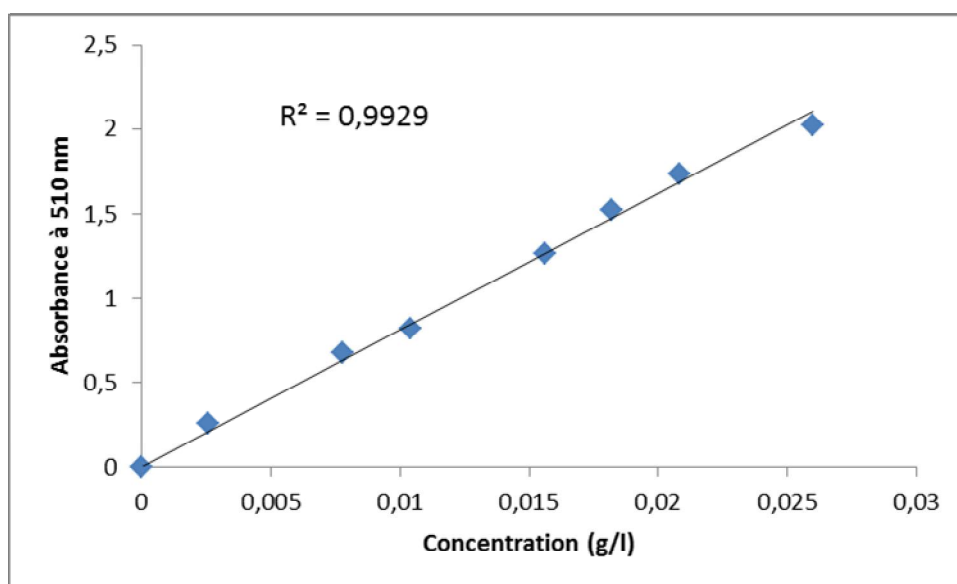


Figure 19: La courbe d'étalonnage de la vitamine C représente la variation de l'absorbance en fonction des concentrations

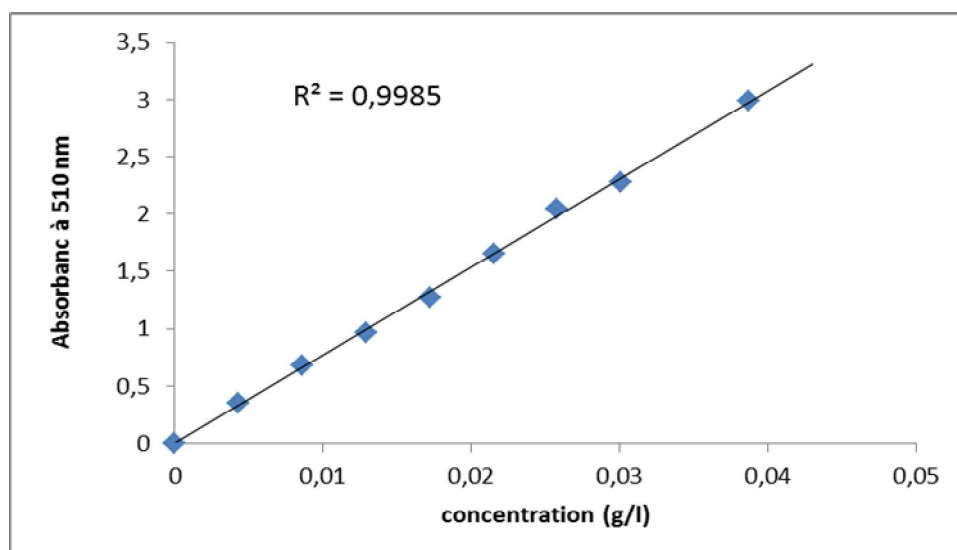


Figure 20: La courbe d'étalonnage de la BHA représente la variation de l'absorbance en fonction des concentrations

La valeur du pouvoir réducteur de chaque extrait phénolique dans les différents systèmes de solvants d'extraction a été exprimée en milligramme par litre en équivalent de la vitamine C et le BHA (**tableau 14**). Ces valeurs de l'activité antioxydante sont définies comme les concentrations de l'extrait en équivalent de la vitamine C (VCEAC) et (BEAC) pour le BHA.

Chapitre V : Résultats et discussion

Tableau 14: Les valeurs des capacités réductrices des extraits phénoliques en (mg/l) en équivalent de la vitamine C et BHA

	Eau		Méthanol/Eau		Acétone/Eau		Méthanol/Acétone/Eau	
Echa	Vit C	BHA	Vit C	BHA	Vit C	BHA	Vit C	BHA
A08	15,1910	15,99219	0,1112	0,117111	5,6487	5,946649	6,0814	6,40208
A10	25,4131	26,75342	0,2596	0,27326	11,6312	12,24463	11,3222	11,91932
A12	24,6221	25,92062	1,6439	1,730644	-	-	-	-
A13	24,4120	25,69941	16,4024	17,2674	38,5153	40,54652	44,2382	46,57124
A14	40,6783	42,82368	32,2114	33,91021	35,5982	37,4756	40,3075	42,43331
A15	42,1987	44,4242	26,4885	27,88549	33,7565	35,53676	47,9092	50,43591
A16	40,7896	42,94079	45,6473	48,05465	42,3594	44,59336	39,1333	41,19714
A18	45,1528	47,53416	48,4654	51,02147	55,6222	58,55563	40,6907	42,83669
A19	12,1504	12,79115	16,4394	17,30644	23,3613	24,59336	-	-
A21	25,2030	26,53221	4,5610	4,801561	11,2604	11,85426	3,3002	3,47430
A26	21,0870	22,19909	15,7843	16,61679	19,1958	20,2082	16,4024	17,26740
A27	23,7445	24,99675	13,9055	14,63891	22,1376	23,30514	16,3282	17,18933
A33	29,0348	30,56604	25,0300	26,35003	32,4463	34,15745	27,2549	28,69226
A34	28,1325	29,61614	11,3346	11,93234	-	-	-	-
A35	24,2265	25,50423	5,5251	5,816526	12,6448	13,31165	-	-
A36	43,3358	45,62134	-	-	-	-	-	-
A39	48,4902	51,0475	44,3000	46,6363	39,1333	41,19714	44,8438	47,20885
A40	9,5299	10,03253	-	-	-	-	-	-

Comme une remarque générale on peut dire que les pouvoirs antioxydants de nos extraits sont presque comparables aux antioxydants de références la vitamine C et le BHA.

Pour la facilité la discussion il est préférable de classer nos variétés en deux groupes les variétés de sorgho blanc et rouge.

- Les variétés de sorgho blanc

Il est clair que le pouvoir réducteur de ces extraits est fort dans les extraits aqueux qui varient entre 9,5299 et 25,2030 (mg/l). Par contre il est très faible dans les extraits hydroalcoliques.

Chapitre V : Résultats et discussion

Ces résultats peuvent être expliqués par la présence des molécules susceptibles de donner des électrons car dans ce test est basé sur le transfert des électrons entre l'oxydant et le réducteur.

- Les variétés de sorgho rouge

D'après les résultats obtenus on peut conclure que le pouvoir réducteur des extraits phénoliques de ces variétés est généralement très élevé quelque soit le système d'extraction et surtout dans les extraits hydroalcoliques. Comme un exemple les valeurs de pouvoir réducteur de A18 en comparaison à la vitamine C sont : 45,1528 (mg/l) dans l'extrait aqueux et 48,4654 (mg/l) dans l'extrait hydrométhanolique et 55,6222 (mg/l) dans l'extrait hydroacétonique et 40,6907 (mg/l) dans l'extrait hydrométhanoacétonique.

V.4 Recherche des corrélations

Nous avons essayé de trouver des corrélations linéaires entre les valeurs du test de DPPH et les valeurs du test phénantroline d'une part et entre les valeurs de test DPPH et du test de phénantroline de chaque système avec leurs teneurs en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes d'une autre part, et bien aussi entre la teneur des polyphénols totaux et les teneurs des flavonoïdes.

Pour simplifier le travail on propose de diviser les échantillons en deux groupes à savoir sorgho blanc et sorgho rouge.

L'étude des corrélations entre les différentes valeurs déterminées lors de cette étude(teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes et les valeurs des activités antioxydantes), nous ont permis de trouver 15 corrélations dont le coefficient de corrélation varie entre 0,87 et 0,50. Ces corrélation sont trouvées en étudiant chaque système solvant à part.

V.4.1 Corrélation entre la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes

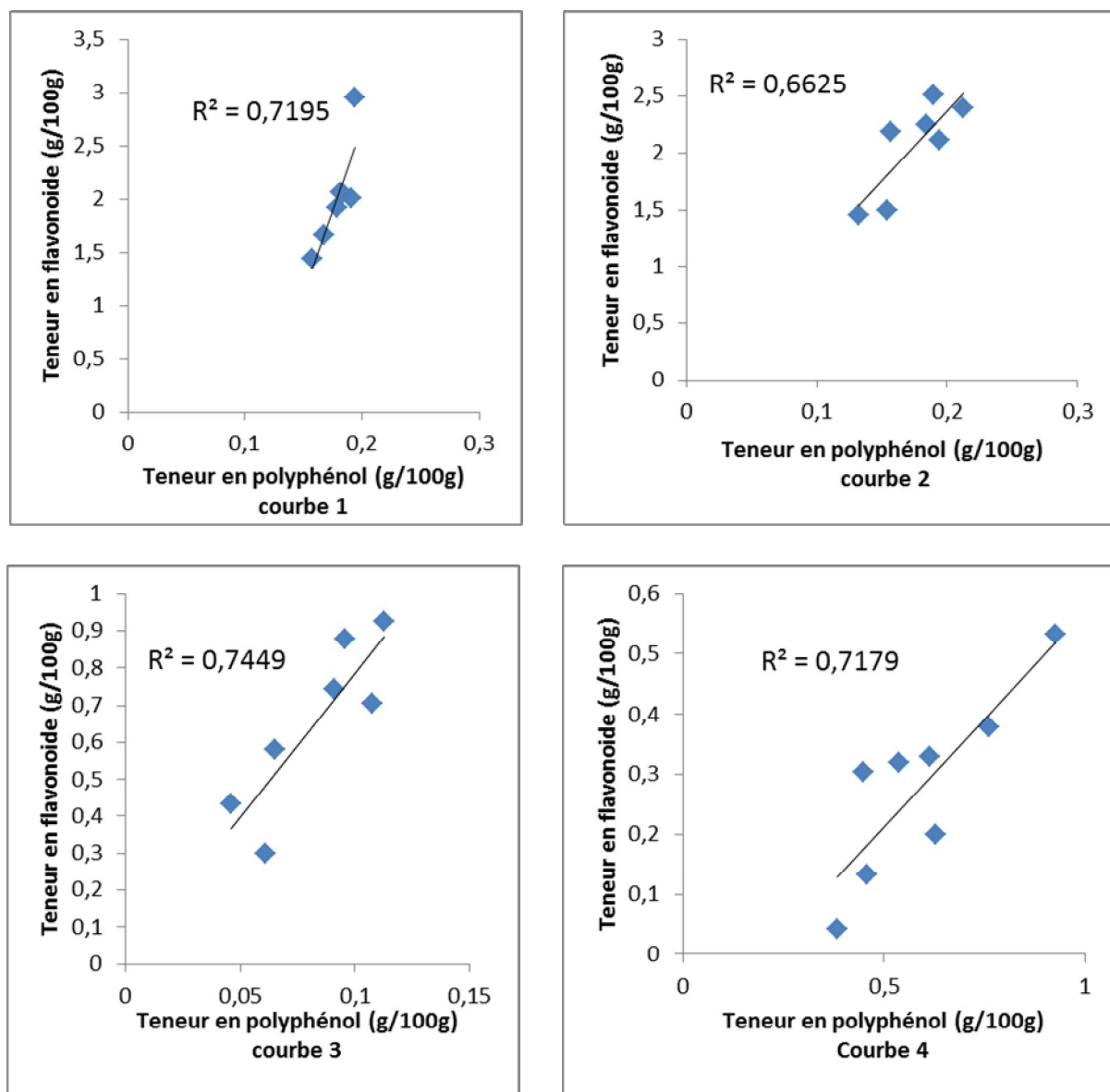


Figure 21: corrélation entre la teneur des polyphénols et flavonoïdes dans différents systèmes

Courbe 1 : corrélation entre la teneur des polyphénols et flavonoïde en équivalent de la quercétine dans le système hydroacétonique des variétés de sorgho rouge

Courbe 2 : corrélation entre la teneur des polyphénols et flavonoïde en équivalent de la quercétine dans le système hydrométhanoacétonique des variétés de sorgho rouge

Courbe 3 : corrélation entre la teneur des polyphénols et flavonoïde en équivalent de la quercétine dans le système hydroacétonique des variétés de sorgho blanc

Chapitre V : Résultats et discussion

Courbe 4 : corrélation entre la teneur des polyphénols et flavonoïde en équivalent de la catéchine dans le système hydrométhanolique des variétés de sorgho blanc

V.4.2 Corrélation entre le test de DPPH et le test de phénantroline

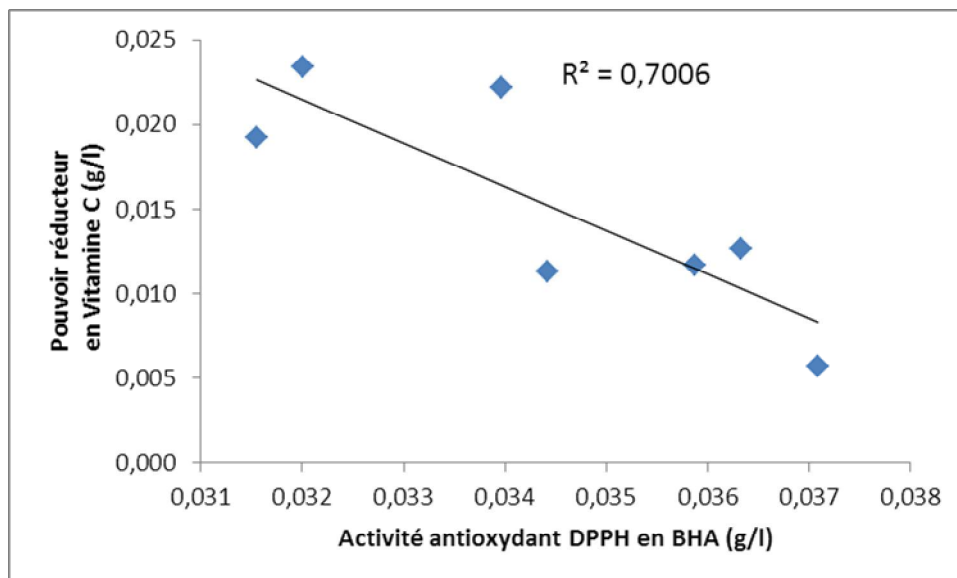


Figure 22: corrélation entre le test chimique de DPPH en équivalent de BHA et le test de phénantroline en équivalent de la Vitamine C

V.4.3 Corrélation entre la teneur de polyphénol et le pouvoir réducteur

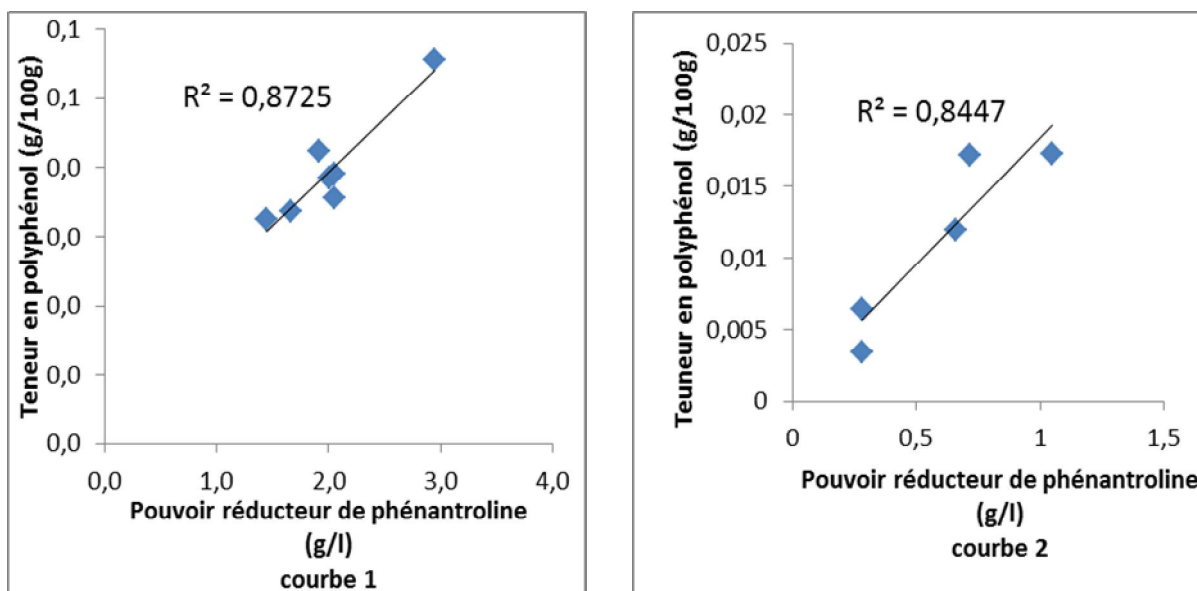


Figure 23: corrélation entre la teneur des polyphénols et le test de phénantroline dans les différents systèmes

Chapitre V : Résultats et discussion

Courbe 1 : corrélation entre la teneur des polyphénols et le test de phénantroline dans le système hydroacétonique des variétés de sorgho rouge.

Courbe 2 : corrélation entre la teneur des polyphénols et flavonoïde en équivalent de la quercétine dans le système hydrométhanoacétonique des variétés de sorgho blanc.

V.4.4 Corrélation entre la teneur en flavonoïde et le test de phénantroline

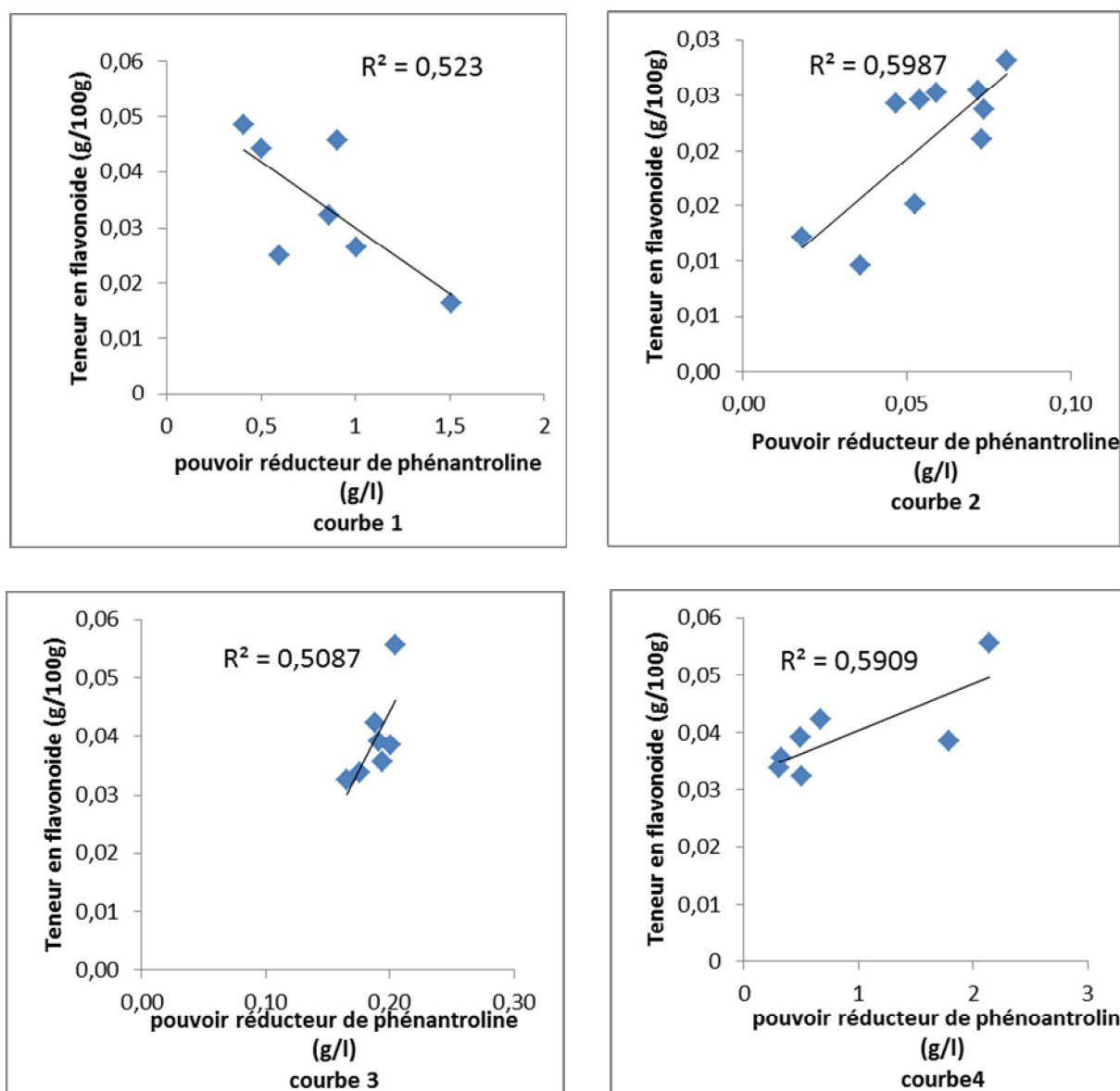


Figure 24: corrélation entre la teneur des flavonoïdes et le test de phénantroline dans les différents systèmes

Courbe 1 : corrélation entre la teneur des flavonoïdes en équivalent de la catéchine et le test de phénantroline dans le système hydrométhanolique des variétés de sorgho rouge.

Chapitre V : Résultats et discussion

Courbe 2 : corrélation entre la teneur des polyphénols et flavonoïde en équivalent de la quercétine dans le système aqueuse des variétés de sorgho blanc.

Courbe 3 : corrélation entre la teneur des polyphénols et flavonoïde en équivalent de la quercétine dans le système hydroacétonique des variétés de sorgho rouge.

Courbe 4 : corrélation entre la teneur des polyphénols et flavonoïde en équivalent de la catéchine dans le système hydroacétonique des variétés de sorgho rouge.

V.4.5 Corrélation entre la teneur des flavonoïdes et le test DPPH

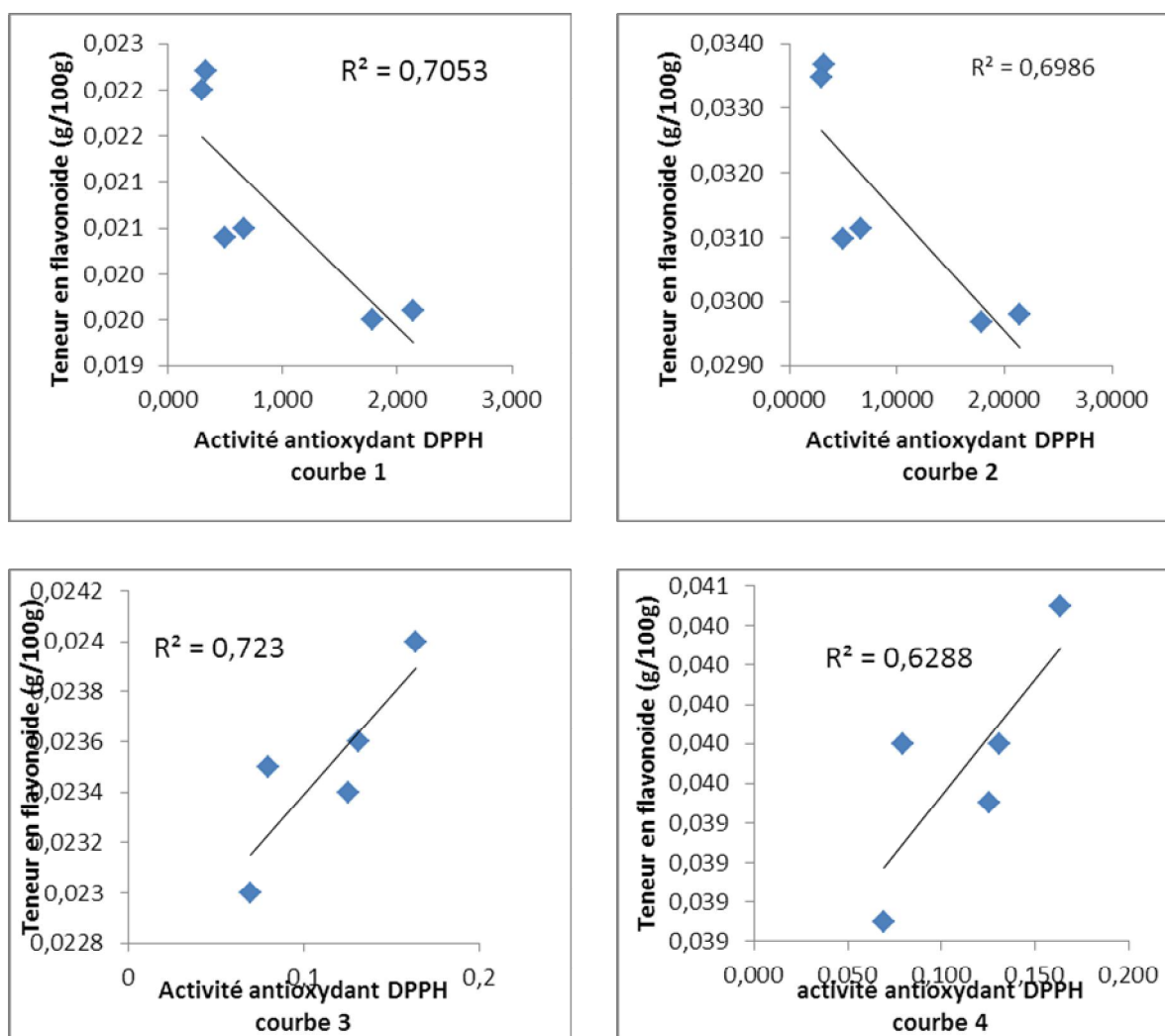


Figure 25: corrélation entre la teneur des flavonoïdes et le test chimique de DPPH dans les différents systèmes

Chapitre V : Résultats et discussion

Courbe 1 : corrélation entre la teneur des flavonoïdes en équivalent de la catéchine et le test chimique de DPPH en équivalent de vitamine C dans le système hydroacétonique des variétés de sorgho rouge.

Courbe 2 : corrélation entre la teneur des flavonoïdes en équivalent de la catéchine et le test chimique de DPPH en équivalent de BHA dans le système hydroacétonique des variétés de sorgho rouge.

Courbe 3 : corrélation entre la teneur des flavonoïdes en équivalent de la quercétine et le test chimique de DPPH en équivalent vitamine C dans le système hydrométhanoacétonique des variétés de sorgho blanc.

Courbe 4 : corrélation entre la teneur des flavonoïdes en équivalent de la quercétine et le test chimique de DPPH en équivalent BHA dans le système hydrométhanoacétonique des variétés de sorgho blanc.

Discussions

Ces corrélations montrent que pour un même système de solvant et même groupe des sons du sorgho les teneurs en composés phénoliques totaux et celles des flavonoïdes varient dans le même sens et notamment dans les extraits issus des deux systèmes hydrométhanolique et hydroacétonique pour les échantillons du sorgho blanc avec des valeurs des coefficients de corrélation 0,71 et 0,74 respectivement. Par contre une meilleure corrélation enregistrée pour les échantillons du sorgho rouge a été trouvée dans les extraits hydroacétoniques et hydrométhanoacétoniques avec des coefficients de corrélations 0,71 et 0,66 respectivement.

Par ailleurs quatre corrélations ont été enregistrées entre la quantité en flavonoïdes et l'activité antioxydante évaluée par le test phénantroline pour les deux groupes. Les valeurs de ces corrélations varient entre 0,50 et 0,59 dans les extraits hydroacétonique des échantillons du sorgho rouge. 0,59 comme coefficient de corrélation a été trouvée dans l'extrait aqueux de l'échantillon sorgho blanc.

Quatre corrélations ont été aussi enregistrées entre la quantité en flavonoïdes et l'activité antioxydante déterminée par le test DPPH. Pour les échantillons su sorgho blanc, les valeurs des coefficients de corrélations varient entre 0,62 et 0,72 dans les extraits hydrométhanoacétoniques. Pour le sorgho rouge les valeurs du coefficient de corrélation sont proches 0,70.

Chapitre V : Résultats et discussion

Deux corrélations sont enregistrées entre la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante évaluée par le test phénantroline pour les groupes de sorgho avec des coefficients de corrélations plus importants 0,84 et 0,87 pour les systèmes hydrométhanoacétoniques pour le sorgho blanc et hydroacétonique pour le sorgho rouge respectivement.

Une seule corrélation a été trouvée entre les deux activités antioxydantes et cela pour le sorgho blanc et dans l'extrait hydroacétonique avec un coefficient de corrélation de l'ordre de 0,70.

Conclusion Générale

CONCLUSION

Les résultats obtenus à travers cette étude ont été donc attendus et proches de nos objectifs fixés au préalable, en effet la polarité des différents solvants utilisés pour l'extraction des composés phénoliques des sons de différents échantillons de sorgho local est bien clair. La quantification des phénols totaux et flavonoïdes a montré que les échantillons des écorces du sorgho sont riches en composés phénoliques et en flavonoïdes. L'évaluation de l'activité antioxydante par deux tests chimiques montre que tous les extraits étudiés sont des sources importantes en antioxydants naturels

Par ailleurs le suivi de la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes en utilisant différents systèmes de solvants pour l'extraction a montré que les deux systèmes de solvants méthanol-eau et Acétone-eau sont les plus efficaces à extraire les composés phénoliques.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits a montré que les extraits issus de l'extraction par les solvants hydroalcoliques et hydroacétoniques sont les plus actifs par rapport aux autres extraits et notamment les extraits aqueux.

Quelques corrélations ont été enregistrées entre les différents variables de cette étude à savoir : teneur en composés phénoliques et teneur en flavonoïdes. Teneurs en composés phénoliques ou teneur en flavonoïdes et activité antioxydante et entre les différentes activités antioxydantes. L'étude a montré qu'on peut classer les échantillons du sorgho étudiés en deux catégories ; sorgho blanc et sorgho rouge, de plus on peut aussi différencier entre les variétés rouges et les variétés blanches du sorgho par des simples tests et cela soit en dosons les phénols totaux ou bien en évaluant l'activité antioxydante. Cette information a été confirmée dans cette étude car les échantillons des écorces du sorgho rouges sont les plus riches en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes, en plus leurs extraits ont montré des activités antioxydantes les plus importantes.

En fin l'étude présente un grand intérêt agroalimentaire et thérapeutique, car elle confirme la présence des antioxydants naturels dans des déchets du sorgho non utilisés ; céréale cultivée en plein Sud de notre pays dans un climat hyper aride.

Et comme perspective, il est préférable d'étudier des autres parties de la plante (tiges, racine,.....) et de quantifier les extraits protéiques et lipidiques et de sucre de différentes parties de la plante. Et ainsi de suite d'évalués leur activité antioxydante et de connaître la composition chimique de ces fractions en utilisant les méthodes lourde en appliquant des

Conclusion générale

techniques chromatographiques (CPG, HPLC) et spectroscopiques (IR, RMN¹H et ¹³C, spectroscopie de masse).

Références bibliographiques

Bibliographie

- Abd El-Moneim MR Afify, Hossam S El-Beltagi, Samiha M Abd El-Salam, Azza A Omran. (2012). Biochemical changes in phenols, flavonoids, tannins, vitamin E, carotene and antioxidant activity during soaking of three white sorghum varieties. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 203-209.
- Alain Favier. (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. Annales de Biologie Clinique, Revues générales. Vol. 55, No. 1 : 9-16.
- Alain Favier. (2003). le stress oxydant intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique : 501-512.
- Alain Favier. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique : 108-115.
- Alavi L (M.Sc.), Barzegar M (Ph.D.), Jabbari A (Ph.D.), Naghdi Badi H (Ph.D.). (2010). Effect of Heat Treatment on Chemical Composition and Antioxidant Property of Thymus daenensis Essential Oil. journal of plant medicinal, vol. 9, No. 35 : 130-139.
- Anthony Ojeil, Nada El Darra, Youssef El Hajj, Paulette Bou Mouncef, Toufic J. Rizk et Richard G. Maroun. (2010). Identification et caractérisation de composés phénolique extraits du raisin château ksara. Lebanese Science Journal, Vol. 11, No. 2 : 117-131.
- Belyagoubi Née Nabila Benhamou. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse Pour l'obtention d'un Doctorat en Biologie.
- Bimlesh Kumar Harleen Kaur Sandhar, Sunil Prasher, Prashant Tiwari, Manoj Salhan, Pardeep Sharma. (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. Internationale Pharmaceutica Scientia, vol 1.
- Djamila DJEMOUI. (2012). Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Thèse présentée pour l'optention du diplôme de master académique.
- Dong-Jiann HUANG, Chun-Der LIN, Hsien-Jung CHEN, and Yaw-Huei LIN. (2004). Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam 'Tainong 57') constituents. Botanical Bulletin of Academia Sinica, Vol. 45: 179-186.

Références bibliographiques

- Dr. Vinod D. Rangari. (2007). Tannin Containing Drugs
- Fatima Zohra BOURAS et Abdelbasset HOUCI. (2013). Etude de l'activité antioxydante de la plantes Rumex L. Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de master académique.
- Frankel et col, (1993). « Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine », dans Lancet, vol. 341: 454-457.
- Hamia Chahrazed. (2007). Contribution à la composition et à l'étude chimique de l'huile de fruit de l'arganier. thèse présentée pour l'obtention du diplôme de magistère.
- HAMMOUDI Roukia, HADJ MAHAMMED Mahfoud, RAMDANE Farah et KHODIR Abed Allah. (2012). Activité antibacterienne des extraits phénolique de la plante *Teucrium polium geyrii*. Algerian journal of arid environment, vol. 2, No.1 : 49-55.
- Harleen Kaur Sandhar, Bimlesh Kumar, Sunil Prasher, Prashant Tiwari, Manoj Salhan, Pardeep Sharma. (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. Internationale pharmaceutica scientifica Vol 1
- Hellal. Z. (2011). contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. thèse présentée pour l'obtention du diplôme de magistère. 18-19.
- Hyun Young Kil, Eun Soo Seong, Bimal Kumar Ghimire, Ill-Min Chung, Soon Sung Kwon , Eun Jeong Goh , Kweon Heo , Myong Jo Kim , Jung Dae Lim , Dokyoung Lee , Chang Yeon Yu. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extrac. Food Chemistry, No. 115: 1234–1239.
- I.Hininger-Favie. (2010). Le stress antioxydant
- John W. Hilton, Ph.D. (1989). Les antioxydants : roles, types et necessites dans les ailments pour animaux de compagnie. Can Vet J, Vol. 30 : 834-837.
- Jürg Hiltbrunner, Ueli Buchmann, Susanne Vogelgsang, Andreas Gutzwiller et Hans Ramseier. (2012). Le sorgho – une grande culture intéressante Encore inconnue en Suisse. Recherche Agronomique Suisse, No. 3 : 524–531.
- Kahina Bouhadjra. (2011). Etude de l'effet des antioxydante naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Thèse présentée pour l'obtention du titre de diplôme de magister.
- Kouamé Germain Cyrille KOFFI, Louise AKANVOU, René AKANVOU, Bi Irié Arsène ZORO, Charles Konan KOUAKOU, Hugues Annicet N'DA. (2011). Diversité morphologique du sorgho (*sorghum bicolor* l.moench) cultivé au nord de la cote d'ivoire.

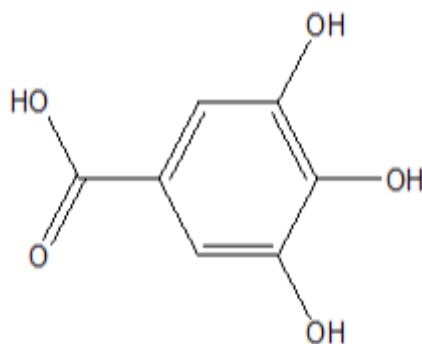
Références bibliographiques

Rev. Ivoir. Sci. Technol, No 17 : 125 – 142

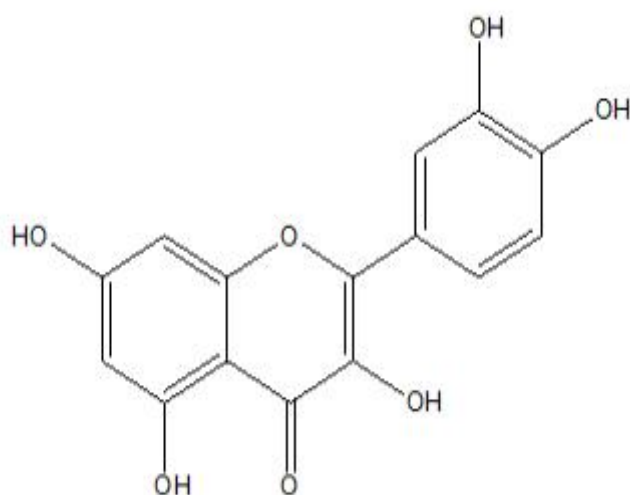
- Marwa Zaroug, Ilkay Erdogan Orhan, Fatma Sezer Senol and Sakina Yagi. (2014). Comparative antioxidant activity appraisal of traditional Sudanese kisra prepared from two sorghum cultivars Food Chemistry. No.156: 110–116.
- Nadia Boudriesa, Naïma Belhanechea, Boubekur Nadjemib, Claude Deroannec, Mohamed Mathlouthid, Barbara Rogerd, Marianne Sindicc. (2009). Physicochemical and functional properties of starches from sorghum cultivated in the Sahara of Algeria. Carbohydrate polymers, No. 78 :475-480.
- P. K. Jain et Himanshu Joshi. (2012). Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile. Journal of Applied Pharmaceutical Science 02 (06): 236-240.
- Praveen Kumar Ashok, Kumud Upadhyaya. (2012). Tannins are Astringent Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, Vol. 1 No. 3
- Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra, W. R., Utami, R. et Mulatsih, W. (2010). Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts and fractions of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam). International Food Research Journal, No. 17: 97-106
- S. KRISA, P. Waffo Teguo, A. Decendit, G. Deffieux, F. Huguet, B. FA Uconneau, J.-M. Mérillon. (1997). production, purification et activité biologique des picédes (stilbénes) extrait de cultures cellulaires de *vitis vinifera*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, No.136 : 7-18.
- T. Budic-Leto, J. Lovric, Food Technol and Biotechnol. (2002) Vol. 40, No. 3: 221-225
- The journal of european food safety authority. (2009). Les saponines de *Madhuca Longifolia* en tant que substances indésirables dans l'alimentation animale Avis du groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire. No. 979 :2-3.
- Vansant G (2004). Radicaux libres et antioxydants : principes de base Symposium « Antioxydants alimentation » Institut Danone.
- Wenying Ren, Zhenhua Qiao, Hongwei Wang, Lei Zhu, Li Zhang. (2003). flavonoïdes: promissing anticancer agent. Medicinal Research Reviews, Vol. 23, No. 4 ; 519-534
- Zineb Hadbaoui. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidique, protéique, et phénolique de sorgho et de mil locaux. Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de doctorat d'états.

Annexe

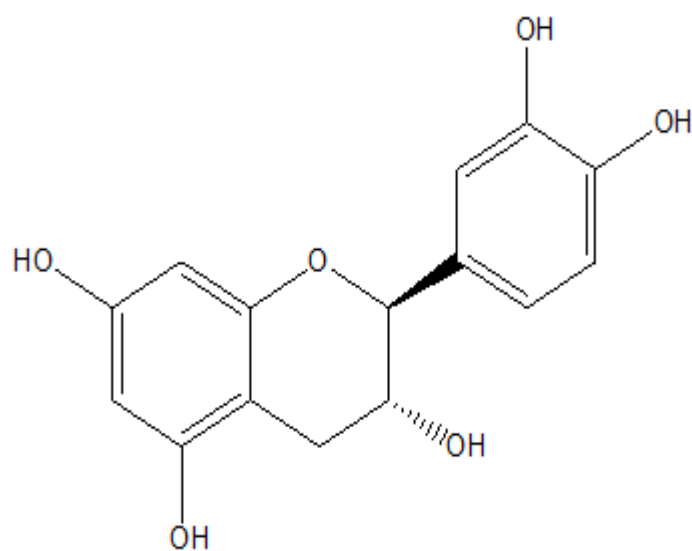
Annexe



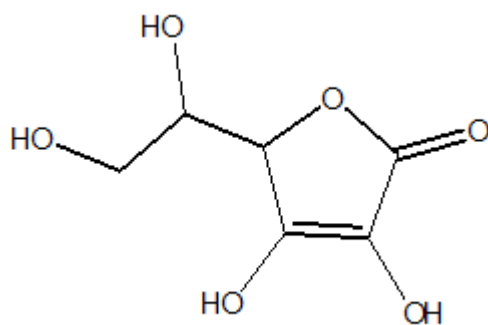
L'acide gallique



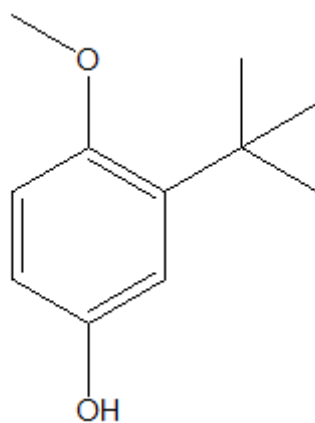
La quercétine



La catéchine



La vitamine C



Le Butylhydroxyanisole (BHA)