

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عمار تليجي بالأغواط

UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم

FACULTE DES SCIENCES

قسم علوم المادة

DEPARTEMENT Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Option : Chimie Organique appliquée

Par :

Melle. DJABALLAH Fatna

THEME

**Evaluation de l'Activité Antiradicalaire des Extraits des
composés phénoliques de Différents variétés de Mil Perlé
local (*Pennisetum glaucum* (L) R.Br)**

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Mr. BENALIA Mohammed

MCB

Président

Mr. KARAIBA Bakhti

MAB

Examineur

Mr. BELHADI Badreddine

MCA

Promoteur

Mr. YOUSFI Mohammed

Pr

Co-Promoteur

Année Universitaire 2021/2022

Remerciment

Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Je remercie sincèrement mon encadreur **Mr. BELHADI BADREDDINE**, qui a supervisé ce projet et veillé à ce qu'il soit achevé. Je veux vraiment vous remercier pour votre conseil, qui m'a été très utile.*

*Notre sincère gratitude va à mon co-encadreur **Pr. YOUSFI MOHAMED**, qui a supervisé ce projet avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, sa grande disponibilité pendant la rédaction de ce mémoire, ainsi pour le temps qu'il a bien voulu consacrer et sans lui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Grand et respectueux remerciement va au **Mr. BENALIA MOHAMED** d'avoir accepté de présider le jury de mon mémoire.*

*Je remercie **Mr. KRIBAA BAKHTI** Pour avoir accepté d'examiner mon travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

Je remercie aussi tous mes collègues de la promotion 2021/2022 et les étudiants de master et je leur souhaite beaucoup de réussite.

Finalement, je tiens à remercier toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Un grand merci à tous

Dédicace

*Je dédie ce travail à mes **Parents** qu'ils trouvent ici toute ma gratitude*

*Pour leur soutien tout le long de mes études **A mes Sœur, mes Frères** et*

***A mes Amis** **A** ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour.*

***A** tous ceux qui m'ont soutenu et qui me soutient encore.*

DJABALLAH FATNA

Liste des tableaux :

Tableau 1: des différents cultivars	14
Tableau 2: Préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	15
Tableau 3: Taux d'humidité et de la matière sèche.....	21
Tableau 4: rendements d'extraction des différents procédés appliqués aux grains mil perlé sèches.....	21
Tableau 5: Les teneurs en composés phénoliques totaux des farines entières décoctés.....	23
Tableau 6: Les teneurs en Phénols totaux des farines sans lipides décoctés dans les deux systèmes (S 1 et S 2).....	23
Tableau 7 : Teneurs en tanins dans les farine complète mil perlé.....	25
Tableau 8 : Teneurs en tanins dans les farines sans lipides mil perlé.....	26
Tableau 9: Les valeurs de VCEAC des extraits des farines complète.....	27
Tableau 10: Les valeurs de VCEAC les farine sans lipides.....	27
Tableau 11: Valeurs VCEAC dans S1etS2 des extraits des farines complètes.	28
Tableau 12: Valeurs VCEAC dans S1etS2 des extraits des farines sans lipides.	29
Tableau 1 3: résume les valeurs des coefficients de corrélations entre quelques paramètres déterminés dans cette étude.....	31

Liste des Figure

Figure 1: Localisation des sites de récolte (Tidikelt, Sahara Algérien)	3
Figure 2: Plante de mil avec plusieurs tailles.	4
Figure 3: Places de la croissance et du développement du mil	5
Figure 4: squelette de base des polyphénols.	8
Figure 5: Squelette de base des flavonoïdes.....	8
Figure 6: Principales classes des flavonoïdes.	9
Figure 7: structure chimique de l'acide gallique (A) et ellagique (B).	10
Figure 8: structure de tannis	10
Figure 9: equation du radical DPPH transformé en DPPH	11
Figure 10: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH)	12
Figure 11: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.	16
Figure 12: La courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des phénols totaux.	16
Figure 13: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le test tanins condensés.	17
Figure 14: Courbe représente l'activité antioxydant DPPH de l'acide ascorbique.....	19
Figure 15: Courbe l'acide ascorbique par le test du FRAP.....	20
Figure 16: Courbe l'acide ascorbique par le test du FRAP.....	20

Liste des abréviations

ANOVA	: Analyse de la variance
ATC	D'acide trichloroacétique
CPH AG1/AA1DPPH	Corrélation Composés phénoliques en equivalent d'acide gallique systeme 1 activité antioxydante DPPH systeme 1.
CPH AT1/AA1DPPH	Corrélation Composés phénoliques en equivalent d'acide tannique systeme 1 activité antioxydante DPPH systeme 1.
CPH AG2/AA2FRAP	Corrélation Composés phénoliques en equivalent d'acide gallique systeme 2 activité antioxydante FRAP systeme 2 .
CPH AT2/AA2FRAP	Corrélation Composés phénoliques en equivalent d'acide tannique systeme 2 activité antioxydante FRAP systeme 2 .
DPPH•	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle.
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EAG	Equivalent en acide gallique.
EAT	Equivalent en acide tannique
FRAP	Pouvoir antioxydant réducteur ferrique.
RE/ CPH AG1	Corrélation entre rendement et composés phénolique en equivalent d'acide gallique systeme 1
RE/ CPH AT1	Corrélation entre rendement et composés phénolique en equivalent d'acide Tannique systeme 1
ROO•	Radical peroxy
ug EAG/ mg	Microgramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme.
ug EAT/ mg	Microgramme d'équivalents d'acide tannique par milligramme
µg EQ/mg	Microgramme d'équivalents de quercétine par milligramme.
VCEAC	Vitamine C Equivalent Antioxydante Capacitie
%	Pourcentage.

Sommaire

Remerciment.....	I
dédicace.....	
Liste des tableaux :.....	Error! Bookmark not defined.
Liste des Figure :	IV
Liste des abréviations.....	V
Introduction générale :	1
I.1. Définition de mil Perlé :.....	3
I.2. Botanique :.....	3
I.3. Taxonomie :.....	4
I.4. Croissance des mils :.....	5
I.5. Importance du mil :	6
I.6. La production de mil :	6
II. Les Composés phénoliques :.....	7
II.1. Généralités :.....	7
II.2. Définition les composés phénoliques :	7
II.3. Les flavonoïdes :	8
II.4. Les tannins :.....	9
II.4.1. Tannins hydrolysables :.....	10
II.4.2. Tanins condensés :.....	10
II.5. Activités antioxydants :.....	11
II.5.1. Pouvoir anti radicalaire contre le DPPH:.....	11
1. Définition Les radicaux libres :.....	11
II.5.2. Pouvoir de réduction du fer (FRAP) :	11
III. Matériel et méthodes :.....	13
III.1. Régions de prospection :	13
III.2. Méthode d'échantillonnage :.....	13
III.3. Taux d'humidité :	14
III.4. Méthodes d'extractions des composés phénoliques:.....	14
III.4.1. Système 01 : Extraction par le méthanol pure (MP) :.....	14
III.4.2. Système 02 : Extraction par le (méthanol + 1%HCl) (M-HCl):.....	15
III.5. Dosage des phénols totaux :	15
III.6. Détermination des tanins condensés :.....	17

III.7. Détermination de l'activité antioxydante :	18
III.7.1. Détermination de l'activité anti-radicalaire DPPH :	18
III.7.2. Détermination de la pouvoir réducteur du fer FRAP :	19
IV.1. Taux d'humidité :	21
IV.2. Rendement d'extraits méthanoliques :	21
IV.3. Composés phénoliques totaux:	22
IV.3.1. Dosage des phénols totaux :	22
1. Dosage des phénols totaux dans les farines entiers :	22
2. Dosage des phénols totaux dans les farines sans lipides :	23
IV.3.2. Dosage des tanins condensés :	25
1. Tanins condensés dans les farines entiers :	25
2. Tanins condensés dans les farines sans lipides :	25
IV.4. Evaluation de l'activité antioxydant :	26
IV.4.1. Activité anti-radicalaire DPPH :	26
1. Activité anti-radicalaire dans les farines complètes :	26
2. Activité anti-radicalaire dans les farines sans lipides :	27
IV.4.2. Pouvoir réducteur FRAP:	28
1. Pouvoir réducteur dans les farines complètes :	28
2. Pouvoir réducteur dans les farines sans lipides :	29
IV.5. Recherche des corrélations :	30
V. Conclusion :	32

Introduction générale :

La présente étude est consacrée à la valorisation phytochimique des grains du mil "pennisetum glaucum" local, cette valorisation consiste à extraire et doser les composés phénoliques totaux d'une part, et d'évaluer l'activité antioxydante des différents extraits d'autres part.

Le mil est une plante de la famille de poacie, ou les principaux genres sont(**Morris et al 2000**) :

- ✓ Finger millet Nom scientifique : Eleusine coracana.
- ✓ Foxtail millet Nom scientifique : Setaria italica.
- ✓ Pearl millet ou « petit mil » Nom scientifique : Pennisetum glaucum.
- ✓ Porso millet Nom scientifique : Panicum miliaceum.

L'une des principales caractéristiques du mil est sa résistance à la chaleur ou des dizaines variétés de cette espèce poussent dans les régions les plus chaudes en Algérie (région de Ain Saleh), cette étude donc a été entreprise pour les raisons suivantes :

- ✓ Cette espèce est couramment rencontrée dans les zones du sud d'Algérie, c'est une espèce souvent utilisée en nutrition.
- ✓ La graine de mil est riche en métabolites primaires et secondaires: amidon, protéine, lipides et composés phénoliques.
- ✓ Peu de travaux ont été réalisés sur l'extraction et la quantification des composés phénoliques totaux, ainsi que l'activité antioxydante des différents extraits locaux du mil, car à notre connaissance aucune publication scientifique n'a été consacrée aux grains du mil perlé locaux.

A travers ce travail, nous nous intéressons dans un premier temps à donner quelques connaissances bibliographiques concernant le mil et un aperçu scientifique sur l'activité antioxydante et les métabolites étudiés, par la suite, nous étudions, l'extraction par deux systèmes de solvants méthanoliques puis la quantification des composés phénoliques dans ces extraits du mil.

Dans un second lieu, on s'intéresse à l'étude de l'activité antioxydante des extraits obtenus, en adaptant deux tests chimiques, le choix de tests est fixé sur une analyse mesurant

le pouvoir des extraits à balayer le radical stable DPPH. et une technique mesurant la capacité réductrice du fer FRAP comme un autre test chimique.

Nous avons essayé par la suite de chercher des corrélations entre les différents paramètres que nous avons déterminé à travers ce travail tels que les rendements d'extraction, les teneurs en composés phénoliques et en tanins et les valeurs de VCEAC relatives à l'évaluation des activités antioxydants des extraits.

I. Le mil perlé local (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br) :

I.1. Définition de mil Perlé :

Le mil pénicillaire, mil à chandelle ou petit mil (en anglais "Pearl millet") *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. est l'une des céréales les plus importantes cultivée en régions arides et semi-arides, principalement de l'Inde et de l'Afrique de l'Ouest (sehgal et al. 2012) et dans les régions du sud de l'Algérie(Sahara) L'Hoggar et Tidikelt. Classée septième céréale au monde, elle est cultivée pour ses grains et son fourrage. C'est la composante principale dans les systèmes traditionnels de culture et demeure la céréale de base de l'alimentation des populations des zones dans lesquelles elle joue un rôle crucial dans la sécurité alimentaire. Malgré son faible rendement (500-600 kg/ha) du fait des sols pauvres sur lesquels elle est produite et des différentes pressions parasitaires auxquelles elle est confrontée, végétatif est de 45 à 180 jours (OUMAROU et al 2020).

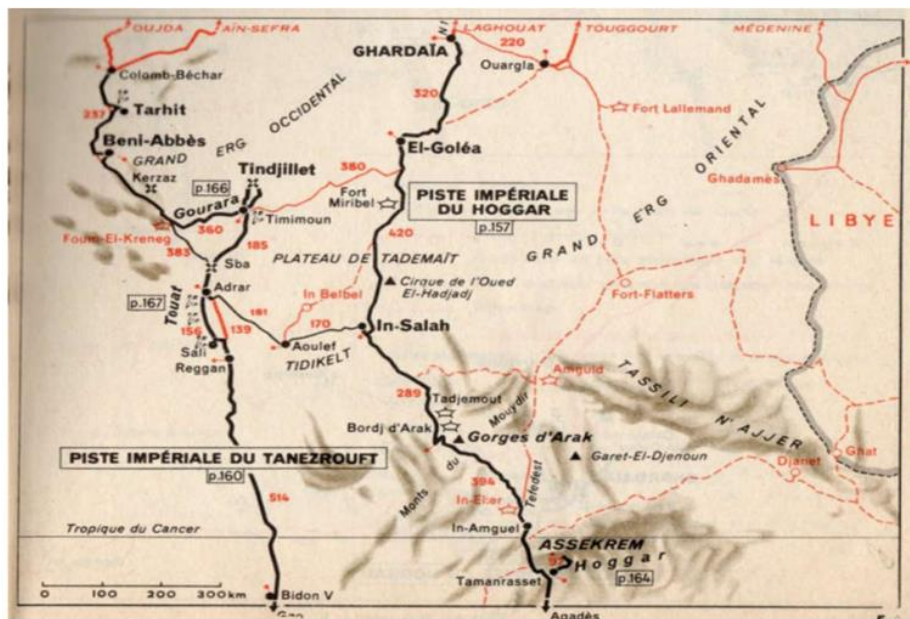


Figure 1: Localisation des sites de récolte (Tidikelt, Sahara Algérien)(aichaoui et belekhal).

I.2. Botanique

Le mil est une graminée annuelle. C'est l'unique espèce diploïde avec $x = 7$ ($2n = 14$ chromosomes). La plante a un port érigé et possède des tiges épaisses (10 à 40 mm de diamètre à la base). A maturité et suivant les variétés, la taille de la plante varie de 1 à 5 voire 6 mètres de haut. Chaque nœud de la tige porte un bourgeon axillaire susceptible de donner dans certaines conditions une pousse axillaire (talle aérienne). Des racines

adventices partent des nœuds de la base de chaque tige. Chaque nœud porte en moyenne 25 racines. Le tallage est important et peut aller jusqu'à 40 tiges par plante.

La longueur du cycle de culture, du semis à la récolte, peut s'étendre entre 60 jours, pour les variétés les plus précoces, et 180 jours pour les plus tardives. Le mil se caractérise par une forte aptitude à mettre en place des mécanismes physiologiques qui lui permettent de tolérer la sécheresse par sa grande vitesse d'installation (**LOUMEREM et al 2004**).



Figure 2:Plante de mil avec plusieurs tailles.

I.3. Taxonomie

- Mil à chandelles ou Mil perlé : *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.
- Mil commun ou Mil Proso : *Panicum miliaceum*.
- Eleusine ou Mil digital : *Eleusine coracana* (Gaeth).
- Petit mil : *Panicum italyca*.
- Mil indigène : *Paspalum scrobilatum*.
- Mil à grappe ou Mil “Queue de Renard” : *Setaria italyca*.
- Mil japonais ou Mil de Basse-cour : *Echinochloa crus-galli*.

Le mil perlé est l'espèce la plus couramment cultivée. Selon (**Branken 1977**) il appartient à :

- ❖ du genre *Pennisetum*
- ❖ La famille des Poaceae (ancienne Graminées)
- ❖ La sous-famille des Panicoideae
- ❖ La tribu des Paniceae
- ❖ Au genre *Pennisetum*

I.4. Croissance des mils

Dans le processus qui va du semis du grain B la récolte, on distingue les phases suivantes :

Feuillaison et tallage : cette phase se caractérise par la prédominance du développement de l'appareil foliaire qui représente 50% environ de la substance humide de la plante. Le tallage de butet .estôt (10^{ème}-15^{ème} jour après semis).

Montaison : elle se situe B la fin de la phase précédente et se caractérisé par un allongement internodal considerable des tiges et par l'apparition des dernières feuilles. Cette phase se termine par l'apparition de l'extrémité de la tige au niveau de la de mieregaine.

Epiaison : le développement de débute B l'intérieur de la tige au cours de la montaison maisce n'est qu'aprhs l'allongement intermodal de la tige que la croissance de l'épi devient active. La tige s'allonge légèrement par suite de l'élongation, B ce stade.

Floraison : par suite deson caractEre progressifet **Btale** dans le temps, la floraison peut être confondue avec la phase précédente durant laquelle l'ensemble de l'Cpi se développe activement. D b l'apparition complète de l'épi, se montrent du sommet **B** la base d'abordles stigmates puis les Btamines.

Fructification : ce terme englobe l'ensemble des phenom8ne.s post-floraux comprenant le développement de l'ovaire, la nouaison et la formation des grains. A partir de la floraison, on note l'arrêt du développement des organes v6getatifs au profit exclusifdel'epi.

Maturation des grains :cette derniere phase conduit les grains du stade laiteux au stade durci et physiologique mûrs. **(Serge HAMON1992)**.

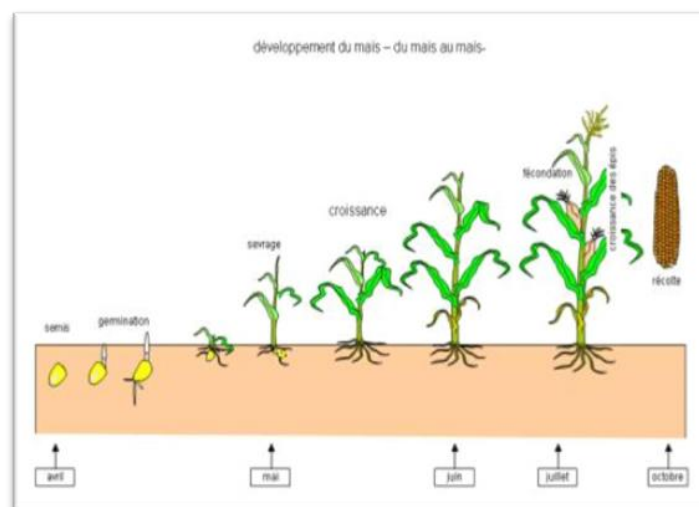


Figure 3: Places de la croissance et du développement du mil

I.5. Importance du mil

Le mil représente une culture vivrière de base dans les zones austères et semi-arides car c'est une céréale qui s'adapte bien aux terres légères à la sécheresse et aux fortes températures .mais sa valeur énergétique est l'une des plus élevées parmi les céréales. Ainsi, pour 100 g de mil, celui-ci est plus énergétique que le blé complet Il est la troisième céréale riche en protéines mais aussi en calcium et fer. La quantité de lipides et de riboflavine le place en première position chez les céréales. C'est pourquoi dans les zones où il est cultivé, le mil est cultivé essentiellement en Afrique et en Inde pour ses grains destinés à l'alimentation humaine mais aussi, de plus en plus, pour ses parties végétatives en tant que fertilisant ou aliment pour bétail. En Afrique, cette culture s'étend sur plus de 13 millions d'hectares, où près de 500 millions de personnes en dépendent pour leur survie. Les cultivateurs africains produisent 40 % du mil mondial.

L'Afrique de l'Ouest, qui est un grand centre de diversité pour le mil, cette culture présente une très grande diversité morphologique. Ainsi, on peut trouver des mils à épis longs et ceux à épis très courts et ces épis peuvent être larges ou minces (**Kadidiatou H. 2014**).

I.6. La production de mil

Les productions de mil ont connu au cours de la décennie passée une lente régression du fait des rendements tendanciellement décroissants. Aux rendements moyens actuels (600 kg/ha), les mils apparaissent faiblement rémunérateurs pour le producteur, ce qui dans le passé n'était pas totalement significatif dans la mesure où cette culture était essentiellement orientée vers l'autoconsommation. Dans la perspective d'une sécurité alimentaire essentiellement fondée sur l'apport des productions locales, il est impératif d'améliorer la productivité des céréales locales, notamment les mils, pour dégager des surplus destinés au marché. Cependant ce paquet n'est toutefois pas suffisamment encore attractif pour le producteur, compte tenu du risque climatique encouru, et du faible rapport valeur la productivité des culture n'a pas suivi le rythme de la demande, principalement à cause de l'insuffisance des efforts afin d'améliorer la culture de millet par rapport à d'autres céréales, ainsi que des conditions environnementales extrêmes et les systèmes agricoles à faibles intrants caractérisés par des contraintes liées aux ressources au sein desquels ces cultures sont pratiquées. Par ailleurs, dans de tels environnements arides, les problèmes liés à la variabilité du climat, et à la dégradation des terres sont profonds et les progrès sont insuffisants (**Sasakawa Global 2001**).

II. Les Composés phénoliques

II.1. Généralités :

Les composés phénoliques sont issus du métabolisme secondaire des plantes. Quand on parle de métabolisme secondaire, on fait référence à des composés qui sont synthétisés en dehors des voies métaboliques primordiales. Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés tels les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques. Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles.

En général, les termes, métabolites secondaires, xénobiotiques, facteurs antinutritionnels, sont utilisés pour déterminer ce groupe, il existe plus de 200 000 composés connus qui ont des effets antinutritionnels et toxiques chez les mammifères. Comme ces composés ont des effets toxiques, leur incorporation dans l'alimentation humaine peut être utile pour la prévention contre plusieurs maladies (cancer, maladies circulatoires, les infections viral...), car la différence entre toxicité et effet bénéfique est généralement soit dose ou structure- dépendant. Alors les composés phénoliques sont une classe qui constitue 8000 composés.

Ils sont divisés en plusieurs catégories:

- les acides phénoliques les coumarines, etc,
- es flavonoïdes (pigments végétaux jaunes-orangés),
- les tanins obtenus par polymérisation des flavonoïdes (**SOUALEM s.d., 2015**).

II.2. Définition les composés phénoliques

Composés phénoliques ou les polyphénols sont des composés organiques qui possèdent un ou plusieurs noyaux aromatiques, auxquels sont attachés un ou plusieurs groupements hydroxyles. Ces composés sont synthétisés par les plantes aussi bien au cours du développement normale que dans les conditions de stress (**Rejeb 2008**). sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones (**Belyagoubi et al 2012**), la teneur des végétaux en composés phénoliques est très variable en fonction de nombreux paramètres génétiques, physiologiques et environnementaux (**Rejeb 2008**).

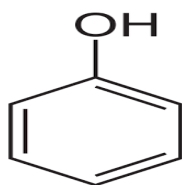


Figure 4: Squelette de base des polyphénols.

Les composés phénoliques dérivent du phénol C_6H_5OH , qui est un onhydroxybenzène. La couleur et l'arôme, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Les composés phénoliques représentent de 2 à 3% de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10% et même d'avantage. Ces substances chimiques peuvent être classées selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbone (**HAREB Aldja 2019**).

II.3. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des dérivés du phénylpropane avec une composition de base C₆-C₃-C₆. Le squelette original du groupe est une flavone, dans laquelle la liaison C₃ à formé un noyau Hétérocyclique pyranne. Dans la flavone le noyau hétérocyclique est totalement réduit. Il existe environ douze groupes connus de flavonoïdes qui ne diffèrent les uns des autres (**BENSOUICI 2014**). Les flavonoïdes sont de puissants antioxydants vis-à-vis des radicaux libres dus à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques (**Di carlo et al 1999**).

Les flavonoïdes se caractérisent par 3 cycles, A, B et C, dont seuls A et B sont des cycles phénoliques, le cycle C étant . Cette structure est généralement noté C₆-C₃-C₆. La structure générale de cette famille présente le cycle B en position C₂ du cycle C. Cependant, certaines sous-classes des flavonoïdes diffèrent en ce point avec une liaison en C₃ ou C₄.

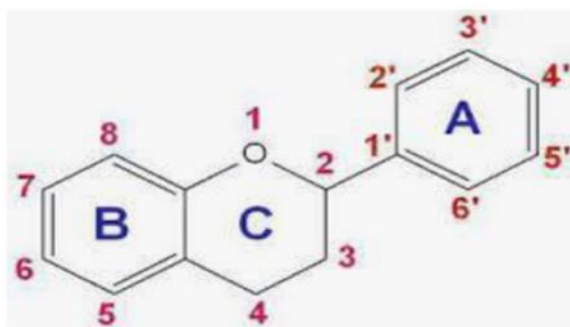


Figure 5: Squelette de base des flavonoïdes.

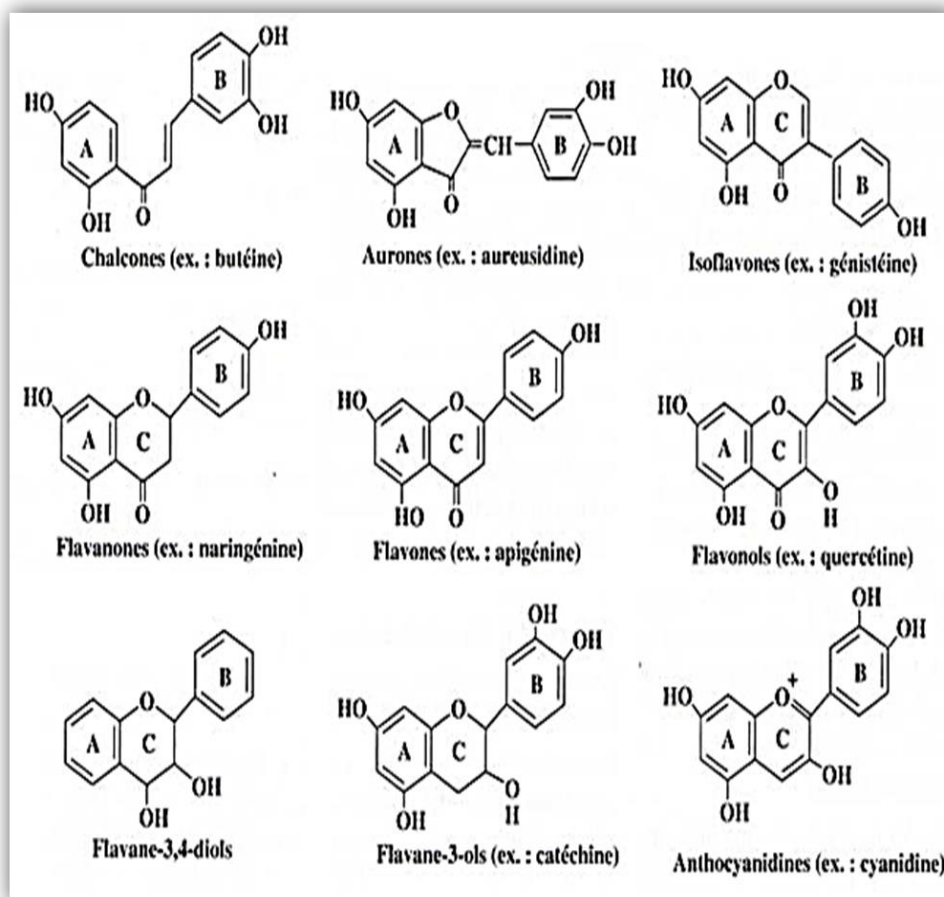


Figure 6: Principales classes des flavonoïdes.

II.4. Les tannins :

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire.

Les tannins sont des composés phénoliques, solubles dans l'eau, dont les masses molaires se situent entre 500 et 3000g/mol (**Gazengel, J. M. 1999**). Ils présentent les réactions caractéristiques des phénols en général, ils sont capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine, et les autres protéines Cette réactivité avec les protéines est à l'origine des propriétés tannantes qu'ils exercent sur le collagène de la peau au cours de la transformation de la peau en cuir, la rendant imputrescible et moins perméable à l'eau.

D'après leurs structures et leurs propriétés, deux types de tannins sont distingués : les tannins hydrolysables et les tannins condensés. (**khelfallah Amina 2012**).

II.4.1. Tannins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables, ou acide tanique, sont des polymères de l'acide gallique ou de son produit de condensation, L'acide ellagique. Ils ont un poids moléculaire plus faible (de 500 à 3000) et précipitent beaucoup moins les protéines que les tanins condensés (Jarrige et al., 1995).

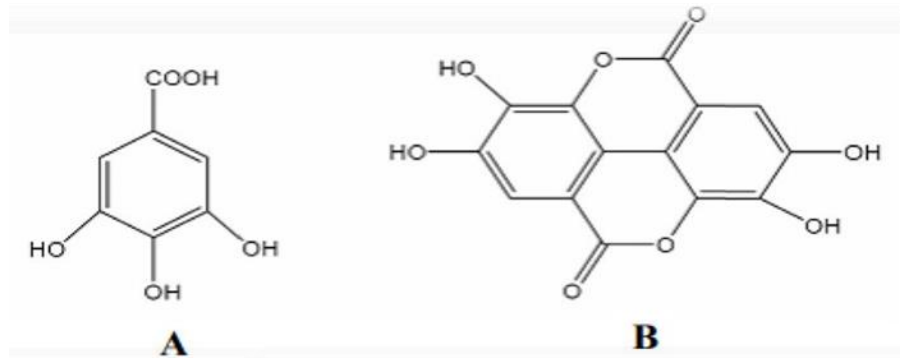
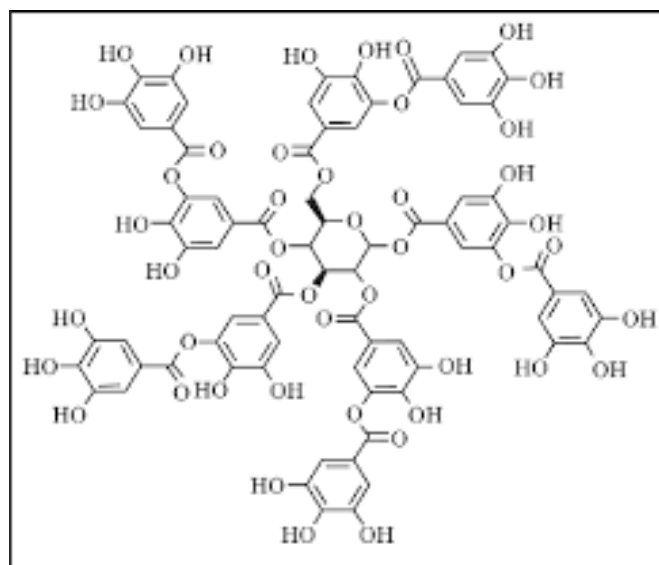


Figure 7: structure chimique de l'acide gallique (A) et ellagique (B).

II.4.2. Tanins condensés :

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines , les tanins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevées. Ils résultent de la polymérisation auto oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi pro anthocyanidines. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7. (HAREB Aldja 2019).



II.5. Activités antioxydants :

II.5.1. Pouvoir anti radicalaire contre le DPPH:

1. Définition Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont des atomes, ou un groupe d'atome avec un nombre impair d'électrons sur l'orbite extérieur, cet électron libre les rend très réactifs et instables sur le plan énergétique se forment en excès comme résultat du stress oxydatif (Naskar et al., 2010).

2. Principe

Le test DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante. En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables.

Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une longement de la décoloration de la solution (Molyneux, 2004). Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Popovici, et al2009) (Molyneux, 2004)

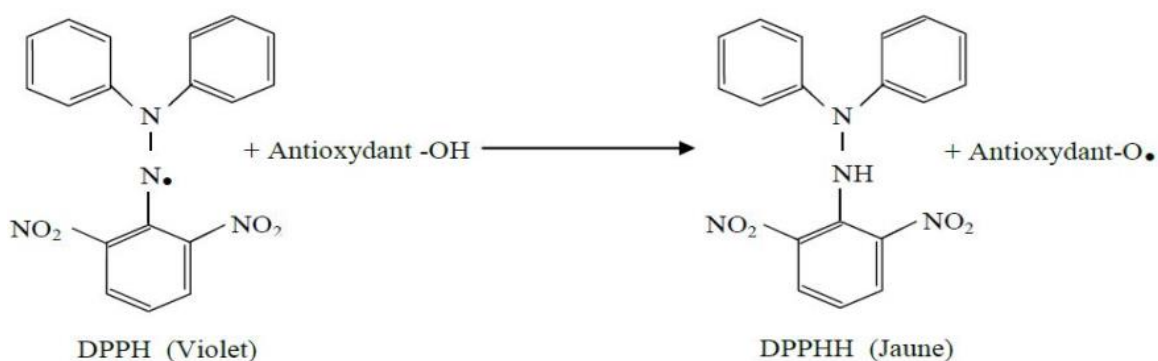


Figure 9: equation du radical DPPH transformé en DPPH

II.5.2. Pouvoir de réduction du fer (FRAP) :

1. Principe

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés (Ou et al., 2001). La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en

mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (**Chung et al., 2002**). En effet, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination «semi quantitative» des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox (**Amarowicz et al., 2004**).

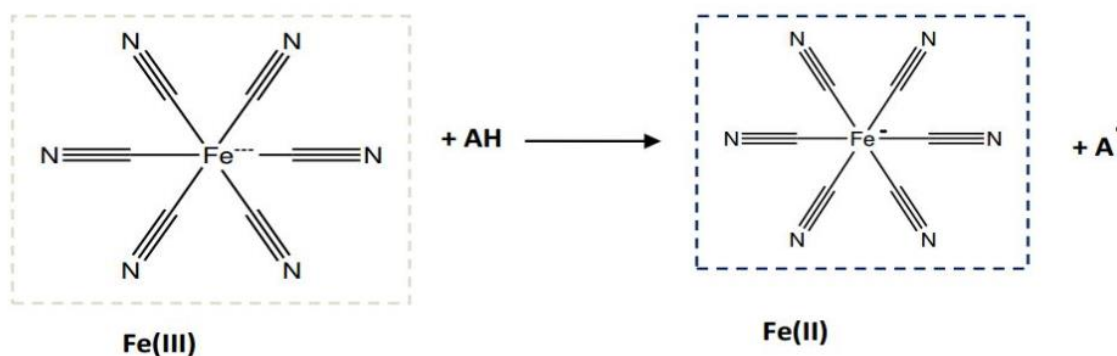


Figure 10: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH)

III. Matériel et méthodes :

L'objectif de cette présente étude est de déterminer le taux en composés phénoliques totaux et en tanins condensés, ainsi de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire (DPPH) et le pouvoir réducteur (FRAP) de quelques extraits préparés à partir de six variétés locales de grains de mil perlé. L'extraction des composés phénoliques a été réalisée par deux systèmes méthanoliques dans un montage de chauffage à reflux. Pour cela, notre étude est réalisée comme suite :

III.1. Régions de prospection :

Le travail de prospection est réalisé dans deux régions du sud de l'Algérie, différentes par leurs climats : Tidikelt à In Salah, et le Hoggar, situées dans la wilaya de Tamanrasset.

Tidikelt est une vaste région désertique située au cœur du Sahara Algérien, dans la wilaya de Tamanrasset, elle couvre près de 100000 km². L'Oasis d'In Salah qui se trouve dans cette région a un climat chaud d'été, tempéré d'hiver, et très sec en toute saison. Le vent est constant et chargé de sable, et le sol est sableux, parfois argileux, et salé. Les températures sous abris varient entre -2 et 50 °C, les écarts journaliers sont de 15 à 20 °C. La pluviométrie est très faible ne dépassant pas les 8 mm/an en moyenne, ce qui fait que les sources hydriques de la région sont d'origine souterraine (nappes).

Le Hoggar est une région de la wilaya de Tamanrasset occupée par de nombreuses montagnes, elle couvre environ 500000 km². L'Hoggar est caractérisé par un climat saharien. Le sol est sableux, argileux, et salé. Les températures sous abris varient entre 10 et 38 °C, l'écart journalier atteint 23 °C. La pluviométrie varie entre 7 et 160 mm/an et les pluies sont fréquentes en été et en automne. 95% des sources hydriques sont d'origine souterraine (puits), et le reste est d'origine superficielle.

III.2. Méthode d'échantillonnage :

Les échantillons de graines ont été stockés dans un réfrigérateur à 6 °C au niveau du laboratoire de l'équipe de valorisation de la biomasse, laboratoire d'étude et de développement des techniques de traitement et d'épuration des eaux et de gestion environnementale (LEDTEGE) à l'Ecole Normale Supérieure de Kouba.

La sélection de six grains des différents cultivars a été effectuée sur la base de la prédominance et de la diversité comme il est indiqué dans le tableau (1)

Tableau 1: Différents cultivars

Cultivar	Region
MLT .Ham	Tidikelt
MLT.P.P	Tidikelt
MLH.Z	Hoggar
MLH .epc	Hoggar
MDH. Saf .T	Hoggar

III.3. Taux d'humidité :

La teneur en eau de la farine de différents échantillons a été déterminée selon la méthode normalisée 44-15A de l'AACC (2000) comme suit :

Une masse de 5 g d'échantillon pesée avec précision dans une conserve, préalablement tarée, est séchée à 130°C dans une étuve jusqu'à l'obtention d'une masse constante. La teneur de la matière sèche est déterminée par la relation Eq. (1) suivante :

$$\text{MS}\% = [(M2-M0)/M1].100 \quad (1)$$

Avec :

M0 : masse de la conserve séchée et refroidie dans un dessiccateur, en g,

M1 : masse de la prise d'essai, en g.

M2 : masse de la conserve et de la prise d'essai après séchage, en g,

La teneur en humidité est déterminée selon la formule Eq. (2) suivante :

$$\text{H}\% = 100 - \text{MS} \% \quad (2)$$

III.4. Méthodes d'extractions des composés phénoliques:

1 g de chaque farine (farines du grain de mil perlé entier et des farines du grain de mil perlé sans lipide) est décoctée dans un montage de chauffage à reflux dans 50 ml des deux différents systèmes méthanoliques pendant 120 minutes dans un bain-marie à 70°C (Chethan et al 2007).

III.4.1. Système 01 : Extraction par le méthanol pure (MP) :

L'extraction a été faite par macération sous reflux de 1 g de farine dans 50 ml du méthanol pur (Chethan et al 2007).

III.4.2. Système 02 : Extraction par le (méthanol + 1%HCl) (M-HCl):

L'extraction a été réalisée par décoction sous reflux de 1 g de farine dans 50 ml du solvant constitué de (méthanol + 1%HCl) (Chethan et al 2007). Nous ajustons le pH du mélange avec une solution concentrée d'hydroxyde de sodium, et nous surveillons le pH avec du papier pH.

Après filtration sur papier Whatman No.1, les filtrats obtenus ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif à 64 °C et pression 400 mbar. Les résidus de ce filtrat ont été séchés à l'étuve pendant la nuit à 40 °C pour obtenir les extraits secs. Les résidus secs pesés sont repris par 3 à 5 ml du méthanol. Les extraits bruts sont conservés réfrigérateur jusqu'à leurs utilisations.

III.5. Dosage des phénols totaux :

La méthode de Folin-Ciocalteu (Georgé s.d., 2005), simple et sensible, est utilisée pour doser les phénols totaux. Dans 100 µl d'extrait, on ajoute 500 µl de réactif de Folin (Sigma-Aldrich, Germany) dilué (10 % v/v). Après 2 min d'incubation à la température ambiante, 2000 µl de carbonate de sodium à 2 % (p/v) sont ajoutés dans les tubes. L'absorbance est lue à 760 nm après 30 min d'incubation. Les blancs sont préparés pour chaque série d'analyse en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée. Deux courbes d'étalonnage sont réalisées en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique et l'acide tannique à des concentrations de 60 à 250 µg/ml. Les teneurs en polyphénols totaux sont exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g MS) et en milligramme équivalent acide tannique par gramme de matière végétale sèche (mg EAT/g MS).

III.5.1. Courbe d'étalonnage : Acide gallique

A partir de la solution mère d'acide gallique que (mg/l) 500, une série de solutions filles est ainsi préparée, avec des concentrations allant de 60 à (mg/ml) 250, Ensuite, nous avons suivi le même protocole entrepris pour doser les échantillons.

Tableau 2: Préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

concentration de la solution mère (g/l)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
volume de la solution mère(u/l)	120	180	240	300	360	400	500
concenter de solution fille(g/l)	0.06	0.09	0.12	0.15	0.18	0.21	0.25
Le volume de la solution diluée(ml)	1	1	1	1	1	1	1
d'eau distillée (ml)	880	820	760	700	640	600	500

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans la figure ci-dessous:

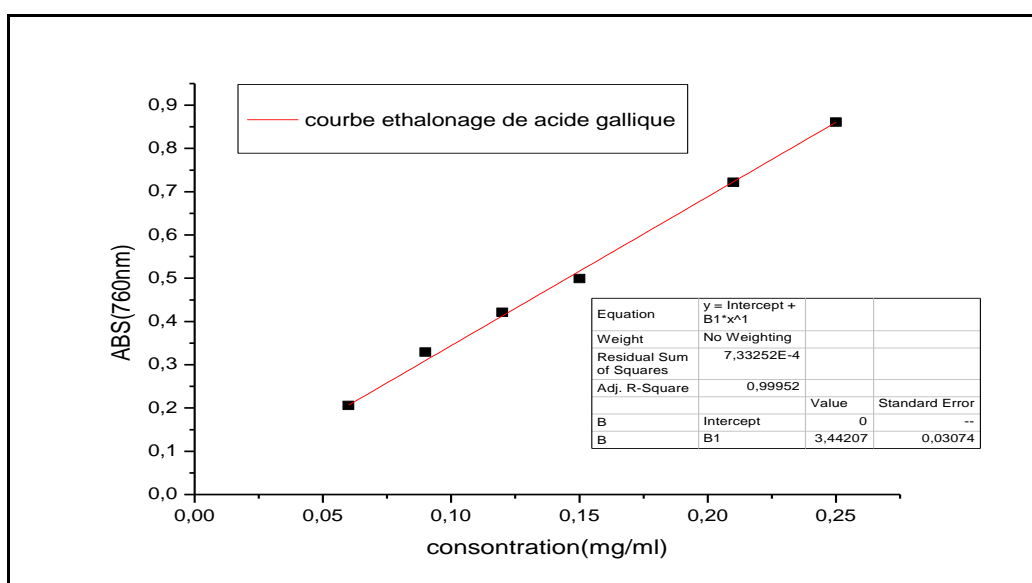


Figure 11: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

III.5.2. Courbe d'étalonnage : Acide tannique

A partir de la solution mère d'acide tannique 500 (mg/l), une série de solutions filles est ainsi préparée, avec des concentrations allant de 60 à (mg/ml) 250, Ensuite, nous avons suivi le même protocole entrepris pour doser les échantillons.

La courbe d'étalonnage de l'acide Tannique est représentée dans la figure ci-dessous :

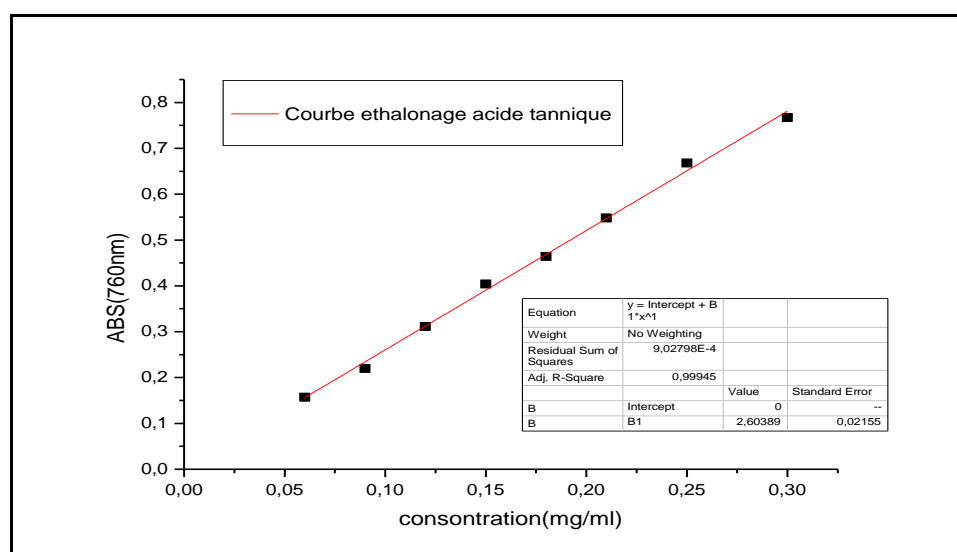


Figure 12: La courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des phénols totaux.

III.6. Détermination des tanins condensés :

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (Price et al. 1978). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère.

Les extraits et les réactifs de vanilline [mélange à volume égal de 8 % d'HCl à 37 % dans du méthanol et 4 % de vanilline (Sigma-Aldrich, Germany) dans du méthanol] solution A sont maintenus à 30 °C avant le dosage. 100 µl d'extrait sont ajoutés à 1000 µl de réactif de vanilline pour le dosage des tanins condensés. Les blancs sont préparés en remplaçant le réactif par le mélange méthanol-acide solution B, les tubes sont maintenus à 30 °C pendant 20 min, l'absorbance est lue à 500 nm. La catéchine est utilisée comme standard et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent catéchine par g (EC/g) de matière sèche.

III.6.1. Courbe d'étalonnage :

A partir d'une solution mère de catéchine de 1000 mg/l, une série de solutions filles est ainsi préparée, de concentrations allant de 100 à 1000 mg/l. Ensuite, nous avons suivi le même protocole entrepris pour doser les échantillons.

La courbe d'étalonnage de catéchine est représentée dans la figure ci-dessous :

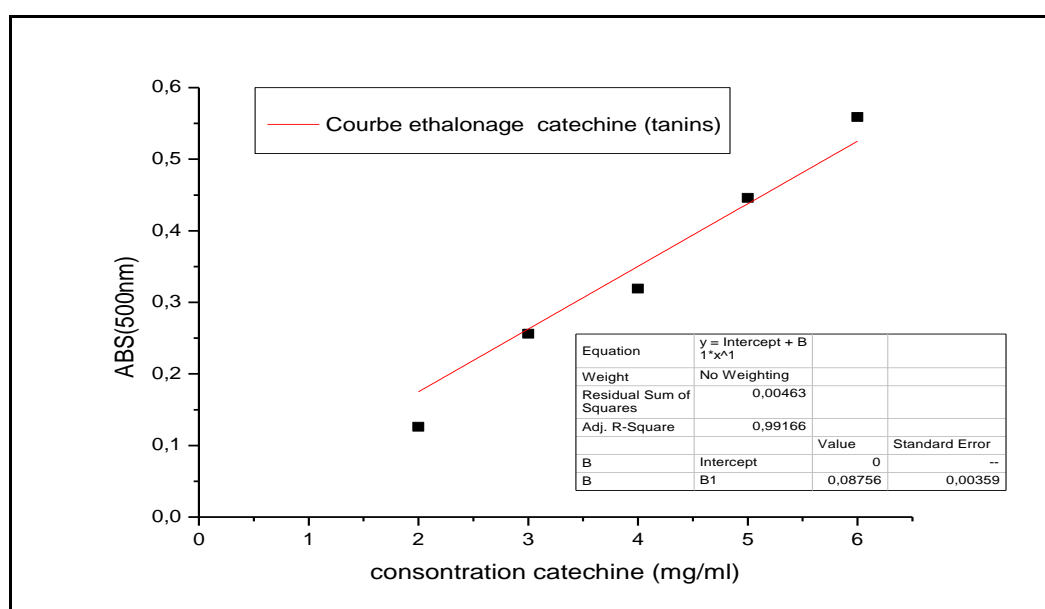


Figure 13: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le test tanins condensés.

III.7. Détermination de l'activité antioxydante :

III.7.1. Détermination de l'activité anti-radicalaire DPPH :

Les activités anti-radicalaires des extraits sont mesurées par une méthode basée sur la réduction du 2,2-phényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) qui est un radical libre stable possédant une coloration violette foncé par un atome d'hydrogène provenant d'un antioxydant contenu dans l'extrait, ce radical devient jaune pâle.



Une prise d'essai de 100 µl de chaque extrait est mise en présence de 1000 µl de la solution de DPPH (0.04 g/l) fraîchement préparée à l'obscurité. Le mélange est laissé 30 minutes à l'obscurité. La mesure de l'absorbance est effectuée par un spectrophotomètre UV-VIS, à 517 nm. Comme étalon on a utilisée comme standard l'acide ascorbique, pour déterminer l'activité anti radicalaire.

Le pourcentage d'inhibition de DPPH est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ DPPH} = [(A_0 - A_e)/A_0] \times 100$$

A₀: absorbance du contrôle (1000 µl de méthanol et 1000 µl de DPPH).

A_e : absorbance de l'échantillon

Le pourcentage de retour du DPPH par rapport à celui de l'acide ascorbique est estimé à différentes des concentrations, une série de solutions filles est ainsi préparée allant de **0,025, 0,03, 0,035, 0,04, 0,05, 0,055, 0,06, 0,065, 0,07 mg/ml** .A partir d'une solution mère d'acide ascorbique de 1mg/l .On suit les mêmes étapes que pour l'examen des échantillons. La courbe de l'activité antioxydant de l'acide ascorbique par le test du DPPH est représentée dans la figure 14 ci -dessous :

✓ **Courbe d'étalonnage :**

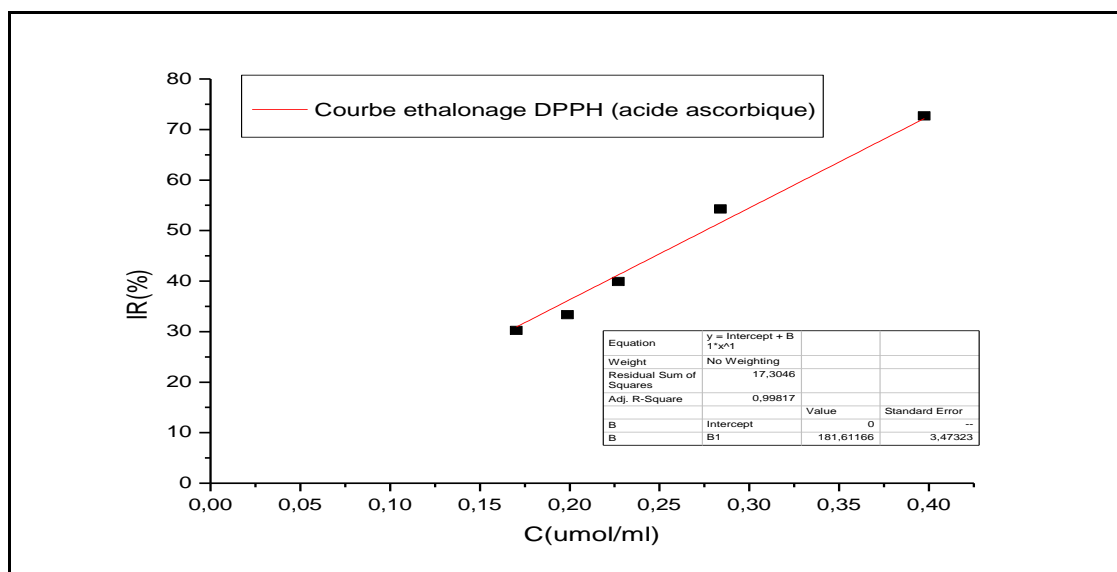


Figure 14: Courbe représente l'activité antioxydant DPPH de l'acide ascorbique.

L'activité antioxydant de tous les extraits a été exprimée dans ce test par l'équivalence (VCEAC) de la matière sèche, qui est défini comme la concentration exprimée en μM d'une solution de la vitamine C, ayant la même activité antioxydant qu'une solution 1 μM de l'extrait. Les résultats sont exprimés en μM en équivalent d'acide ascorbique par 1 g de la matière sèche.

III.7.2. Détermination de la pouvoir réducteur du fer FRAP :

Le pouvoir réducteur des extraits de mil a été déterminé par la méthode rapportée par (Bougandoura et al 2013)(Oyaizu, 1986). Un volume de 25 μl d'extrait a été additionné d'un volume de 500 μl de tampon phosphate (0,2M, pH : 6,6) et d'un volume de 500 μl de ferricyanure de potassium [$\text{K}_3 [\text{Fe}(\text{CN})_6]$] (1%). Après incubation à 50°C pendant 20 minutes, un volume de 500 μl d'acide trichloracétique (TCA10%) a été ajouté. Un volume de 100 μl d'une solution de FeCl_3 à (0,1%) sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés. l'absorbance est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS.

➤ **Courbe d'étalonnage :**

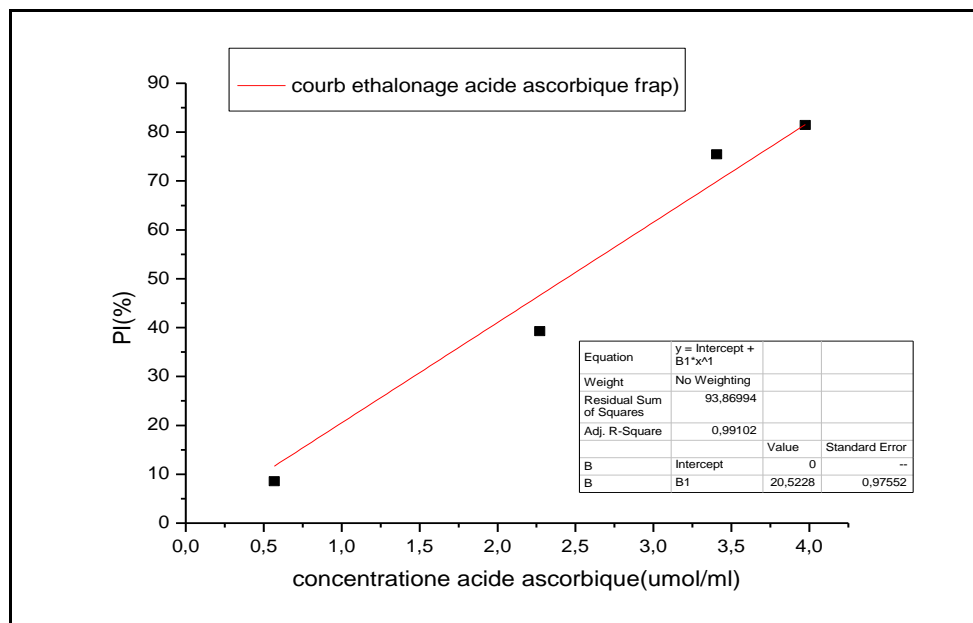


Figure 15: Courbe l'acide ascorbique par le test du FRAP.

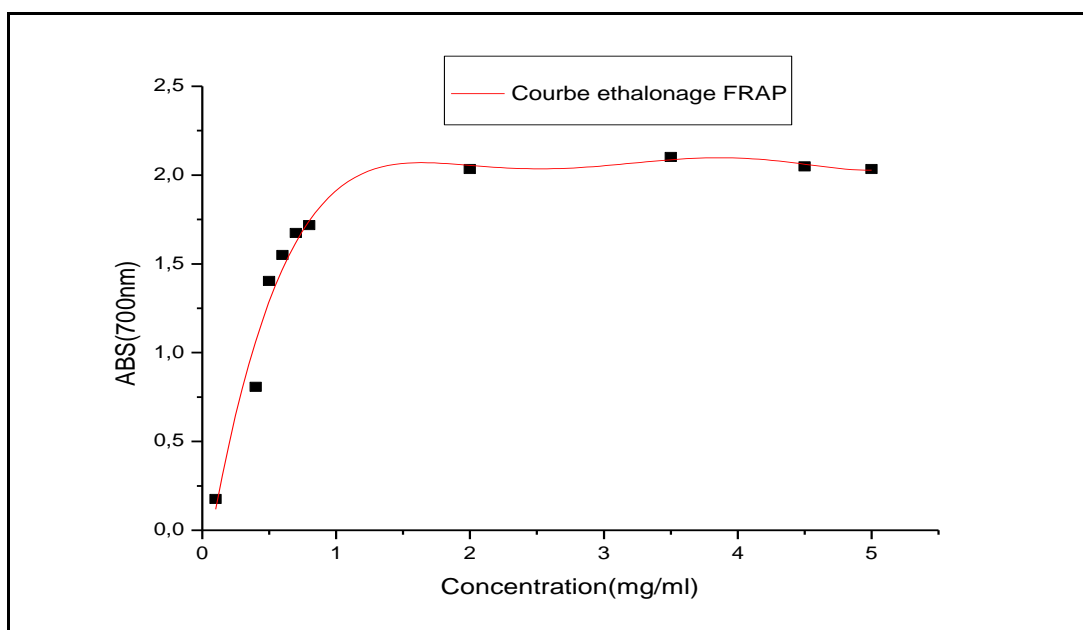


Figure 16: Courbe l'acide ascorbique par le test du FRAP.

IV. Résultats et Discussion :

IV.1. Taux d'humidité :

L'analyse du taux d'humidité a montré une normale teneur, variant entre 10 à 13,11%, avec une moyenne de 11,50 % (Tableau 3).

Tableau 3: Taux d'humidité et de la matière sèche

	H%	MS%
MLT .Ham	11,75	88,25
MLH.Z	13,11	86,89
MLH .epc	11,55	88,45
MDH .Saf	10	90
MLT.PP	11,35	88,65

IV.2. Rendement d'extraits méthanoliques :

Les résultats présentés dans le tableau 4 montrent que les rendements des extraits des farines complètes et sans lipides du mil perle dans le méthanol pur sont différents et varient de 3,75 à 13,52 dans les farines complètes et de 11,99 à 93,43 pour les farines sans lipides. Respectivement. Les plus grandes teneurs en extraits sont enregistrées dans les cultivars MLT .Ham-L **93,43 %** pour les farines délipidés et **13,52%** MLH .Z-L dans les farines complètes. Il faut noter les farines sans lipides enregistrent les valeurs les plus grandes en extraits. Les faibles rendements dans les farines complètes en extraits méthanoliques sont peut-être dus au fait que les lipides empêchent le méthanol à extraire le maximum de composés polaires, donc les lipides jouent le rôle comme masque.

Tableau 4: rendements d'extraction des différents procédés appliqués aux grains mil perlé sèches.

Cultivar	Rendement % (m/m)
MLT .Ham	5,95
MLT .Ham-L	93,43
MLH .Z	3,75
MLH .Z-L	19,10
MLH .epc	13,52
MDH .Saf	6,24
MDH.Saf-L	11,99
MLTP.P	7,71
MLTP.P-L	13,03

IV.3. Composés phénoliques totaux:

L'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques. L'extraction est effectuée par deux solvants différents : extraction par décoction en utilisant le méthanol pur (Systeme1), et dans un autre solvant qui est le méthanol acidifié à 1% par le HCl (v/v) (Systeme2). Le travail consiste à évaluer les extraits obtenus en termes de quantifier leurs teneurs en polyphénol totaux et en tanins, ainsi que l'évaluation de l'activité anti radicalaire (DPPH) et le pouvoir réducteur (FRAP) de quelques extraits préparés à partir des farines complètes et des farines sans lipide de cinq grains de mil perlé locaux.

IV.3.1. Dosage des phénols totaux :

Les teneurs en composés phénoliques totaux ont été déterminées par le test de Singlon et Ross en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ces teneurs ont été estimées en utilisant deux composés phénoliques étalons, et en utilisant les équations de la régression linéaire des deux courbes d'étalonnage. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (mg EAG) et en mg équivalent d'acide tannique (mg EAT) par g de la matière sèche, respectivement.

1. Dosage des phénols totaux dans les farines entières :

Après les calculs effectués à partir des deux courbes d'étalonnages, la teneur en phénols totaux dans les extraits des farines entières de cinq variétés des mil perlés décoctés dans les deux systèmes (S1 et S2), sont indiqués dans le tableau 5.

Les résultats obtenus par les deux systèmes méthanoliques pour les 5 extraits des farines entières, montrent que les teneurs en composés phénoliques varient de 0,62 mg EAG/g à 1,49 mg EAG/g) et de 0,83 mg EAT /g à 1,97 mg EAT/g (S 1) et de 1,51 mg EAG/g à 3,05 mg EAG/g) et 2,00 mg EAT/g à 4,03 mg EAT/g (S 2). Il est clair que les teneurs en composés phénoliques sont plus grandes dans les extraits du système 2, elles sont 4 fois plus supérieures que celles trouvées pour le système 1. Une remarque qui attire l'attention est que la variation de ces teneurs varient dans le même sens quel que soit le composé phénolique utilisé comme étalon ainsi que le système du solvant utilisé pour l'extraction.

Tableau 5: Les teneurs en composés phénoliques totaux des farines entières décoctés

Cultivar	Acide gallique (mg EAG/g)				Acide tannique (mg EAT/g)			
	Système1		Système 2		Système1		Système 2	
	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD
MLT.Ham	0.62	0.05	-	-	0.83	0.06	-	-
MLH.Z	1.20	0.11	2.65	0.15	1.58	0.15	3.51	0.20
MLH.epc	0.93	0.05	1.51	0.02	1.23	0.06	2.00	0.03
MDH.Saf.T	1.28	0.19	3.05	0.39	1.69	0.25	4.03	0.51
MLT.P.P	1.49	0.73	2.33	0.09	1.97	0.97	3.08	0.11
Moyenne	1.11		2.38		1.46		3.18	
Ecart type	0.43		0.62		0.56		0.82	
Variance	0.18		0.38		0.32		0.67	

2. Dosage des phénols totaux dans les farines sans lipides :

Après les calculs effectués à partir des deux courbes d'étalonnage, la teneur en phénols totaux dans les extraits des farines sans lipides des cinq cultivars des mil perlés décoctés dans les deux systèmes (S 1 et S2), sont indiqués dans le tableau (6).

Tableau 6: Les teneurs en Phénols totaux des farines sans lipides décoctés dans les deux systèmes (S 1 et S 2).

Cultivar	Acide gallique (mg EAG/g)				Acide tannique (mg EAT/g)			
	Système1		Système 2		Système1		Système 2	
	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD
MLT.Ham-L	1.71	0.13	-	-	2.27	0.17	-	-
MLH.Z-L	0.77	0.01	2,31	0,16	1.02	0.01	3,06	0,21
MLH.epc-L	1.61	0.05	1,78	0,11	2.12	0.07	2,35	0,15
MDH.Saf.T-L	0.57	0.04	2,76	0,15	0.75	0.06	3,65	0,20
MLT.P.P-L	1.52	0.20	3,04	0,13	2.02	0.26	4,02	0,17
Moyenne	1,24		2.48		1,64		3 ,27	
Ecart type	0 ,50		0.51		0,66		0,68	
Variance	0 ,25		0.26		0 ,43		0 ,46	

Dans les extraits des farines sans lipides, les teneurs en composés phénoliques obtenus par les deux systèmes méthanoliques varient de 0,57 mg EAG/g à 1,71 EAG/g) et de 0,75 mg EAT /g à 2,27 mg EAT/g (S1) et de 1,78 mg EAG/g à 3,04 mg EAG/g et 2,35 mg EAT/g à 4,02 mg EAT/g (S2). Ces résultats montrent que les extraits obtenus par le système 2 sont plus riches que ceux obtenus par le solvant du système 1. Les teneurs en composés phénoliques varient dans le même sens quel que soit la structure de l'étalon utilise pour le dosage ainsi que le système du solvant utilise pour l'extraction.

Si on compare des teneurs en phénols totaux estimé par l'équation de la régression linéaire du l'acide gallique, on remarque généralement qu'elles sont inférieures aux valeurs calculées par l'équation de la régression linéaire du l'acide et tannique.

Nous notons que les teneurs en phénols totaux dans les extraits obtenus par le système 1 sont plus faibles que celles dans les extraits obtenus par le système 2.

Il est clair que les plus faibles teneurs en phénols totaux ont été enregistrées pour les extraits obtenus par le système 1, par contre les extraits obtenus par le système 2 à enregistre les plus fortes teneurs.

Si on compare les teneurs en phénols totaux estimés par l'équation de la régression linéaire de l'acide gallique, on remarque généralement qu'elles sont inférieures aux valeurs calculées par l'équation de la régression linéaire de l'acide et tannique.

L'analyse de la variance (ANOVA) sur les teneurs en phénols totaux dans les extraits obtenus, a montré qu'il n'existe aucune différence significative entre les cinq variétés locales et lors de l'élimination des lipides ($P < 0.05$). Par contre, ANOVA a montré qu'il y a une différence significative entre les valeurs moyennes des teneurs en phénols totaux lors du changement du système d'extraction ($P < 0.05$).

Les teneurs en composés phénoliques ne sont pas comparables avec celles publiées par (Chethan et al 2007). Pour le mil importe de l'USA, car ces auteurs ont trouvé des quantités en composés phénoliques qui varient de 1,38 à 2,30 g/100g pour des extraits méthaloniques purs et méthanolique acidifiés à 1% respectivement.

IV.3.2. Dosage des tanins condensés :

Après les calculs effectués à partir de la courbe d'étalonnage, les teneurs en tanins, de la farine du mil perlé sans lipides et la farine complète du mil perlé pour les cinq variétés dans deux systèmes sont indiqués dans les tableaux (7 et 8).

1. Tanins condensés dans les farines entiers :

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 7 on remarque que la quantité en tanins varie de 2,56 à 4,17 mg CE/g dans les extraits obtenus par le solvant du système 1 et de 4,03 à 11,47 mg EC/g dans les extraits du système 2.

Tableau 7 : Teneurs en tanins dans les farine complète mil perlé.

Cultivar	Système 1 (mg EC/g)		Système 2 (mg EC/g)	
	Moy	SD	Moy	SD
MLT .Ham	3,58	0,58	—	—
MLH .Z	2,98	0,36	7,74	1,01
MLH .epc	2,93	0,57	4,03	0,97
MDH.Saf	2,56	0,00	11,47	0,33
MLTP.P	4,17	0,70	5,44	0,68
Moyenne	3,18		7,17	
Ecart type	0,69		3,02	
Variance	0,48		9,09	

Comme il a été déjà observé pour les composés phénoliques, on remarque que les extraits résultants du système 2 contiennent des quantités en tanins plus importantes que ceux des extraits obtenus par le système 1. Les quantités en tanins dans les extraits du système 2 sont presque 3 fois plus grandes à ceux des extraits du système solvant 1.

2. Tanins condensés dans les farines sans lipides :

Les Teneurs en tanins sont mentionnés dans le tableau 8, on remarque que les quantités en tanins s'échelonnent entre 2,58 et 3,55 mg CE/g dans les extraits obtenus par le solvant du système 1 et de 4,43 à 7,02 mg EC/g dans les extraits du système 2. Il est clair que le système 2 possède la capacité d'extraire plus de tanins que du système solvant 1. De même les quantités en tanins dans les extraits du système 2 sont presque 3 fois plus importantes que ceux des extraits du système solvant 1.

L'analyse de la variance (ANOVA) sur les teneurs en tanins dans les extraits obtenus, a montré qu'il n'y a de différence significative entre les cinq variétés locales, le système d'extraction et lors de l'élimination des lipides ($P < 0.05$).

Tableau 8 : Teneurs en tanins dans les farines sans lipides mil perlé.

Cultivar	Système1 (mg EC/g)		Système2 (mg EC/g)	
	Moy	SD	Moy	SD
MLT .Ham-L	3.55	0.12	-	-
MLH .Z-L	2.65	0.00	5,30	1,23
MLH .epc-L	2.58	0.35	4,43	0,32
MDH.Saf-L	3.08	0.74	7,02	2,21
MLTP.P-L	3.09	0.38	6,82	0,74
Moyenne	2,99		5 ,89	
Ecart type	0,46		1,59	
Variance	0,21		2,54	

IV.4. Evaluation de l'activité antioxydant :

IV.4.1. Activité anti-radicalaire DPPH :

L'activité antiradicalaire vis-à-vis au radical stable DPPH a été exprimée par le facteur VCEAC, qui est définie comme la concentration en μM de l'acide ascorbique ayant le même pouvoir antiradicalaire d'une solution de concentration de $1 \mu\text{M}$ de l'extrait. On rappelle que plus la valeur de VCEAC est grande plus l'activité anti- radicalaire est importante.

1. Activité anti-radicalaire dans les farines complètes :

Les valeurs des VCEAC sont données dans le tableau 9. A la lumière des résultats, on remarque que les valeurs de l'activité anti radicalaire des extraits varient de $0,02$ à $4,57 \mu\text{M}$ et $4,87$ à $22,76 \mu\text{M}$ pour les extraits obtenus par le système de solvant 1 et le système solvant 2 respectivement. On note que les extraits résultants du système de solvant 2 sont plus actifs que ceux obtenus du système solvant 1. Ce résultat est justifié car nous avons déjà trouvé que les extraits obtenus par le système de solvant 2 sont plus riches en composés phénoliques que ceux obtenus par le système de solvant 1 et donc cela prouve que les composés phénoliques sont responsables à l'activité anti radicalaire.

Tableau 9: Les valeurs de VCEAC des extraits des farines complètes

Cultivar	Systèmes 1 (μM)		Système2 (μM)	
	Moy	SD	Moy	SD
MLT .Ham	1.55	0.33	-	-
MLH .Z	1.26	0.15	6.00	0.50
MLH .epc	4.57	0.73	4.87	1.27
MDH.Saf	0.02	0.17	22.76	0.12
MLTP.P	2.13	1.85	6.35	0.26
Moyenne	1.88		14,56	
Ecart type	1.61		7.87	
Variance	2.61		62.00	

2. Activité anti-radicalaire dans les farines sans lipides :

Les valeurs des VCEAC sont données dans le tableau 10. On remarque que les valeurs de VCEAC des extraits varient de 0,41 à 7,38 μM et 1,82 à 17,09 μM pour les extraits obtenus par le système de solvant 1 et le système solvant 2 respectivement.

Tableau 10: Les valeurs de VCEAC les farine sans lipides.

Cultivar	Système 1 (μM)		Système2 (μM)	
	Moy	SD	Moy	SD
MLT .Ham-L	7.38	1.31	—	—
MLH .Z-L	4.96	0.46	2.52	0.12
MLH .epc-L	5.48	0.21	5.83	1.14
MDH.Saf-L	0.41	0.85	1.82	0.14
MLTP.P-L	1.90	0.32	17.09	0.33
Moyenne	4.03		6.70	
Ecart-type	2.69		6.44	
Variances	7.24		41.44	

On note que l'extrait le plus actif est trouvé parmi les extraits obtenus par le système de solvant 2, il s'agit du cultivar ML TP.P-L, par contre l'extrait le moins actif est le cultivar MDH. Saf-L qui est obtenu par le système de solvant 1. L'activité anti radicalaire élevée dans les extraits du système solvant 2 est due aux teneurs élevées en composés phénoliques comme il a été déjà mentionné.

L'analyse de la variance (ANOVA) de l'activité anti-radicalaire et de taux des extraits, a montré qu'il n'y a pas de différence significative entre les cinq variétés locales, le système d'extraction et lors de l'élimination des lipides ($P < 0.05$).

IV.4.2. Pouvoir réducteur FRAP:

Nous avons aussi étudié l'activité antioxydant des extraits phénoliques de nos échantillons, en utilisant la méthode de réduction du fer. Par des dilutions en cascade, des différents extraits ont été testés, ainsi que la substance de référence (l'acide ascorbique) connu comme antioxydant puissant utilisé en industrie agroalimentaire, nous avons obtenu une gamme de concentrations allant de 0.1 - 1 mg/ml. Pour chaque concentration, nous avons mesuré les densités optiques à 700 nm.

1. Pouvoir réducteur dans les farines complètes :

Les valeurs des VCEAC relatives à l'activité du pouvoir réducteur FRAP des extraits étudiés des farines complètes du mil perlé dans les deux systèmes de solvants (tableau 11) varient entre 2,13 et 7,43 μM dans **S1** et de 3,97 à 6,67 μM dans **S2** respectivement. Les extraits obtenus par S2 sont plus réducteurs à ceux obtenus par S1 à l'exception de l'extrait MLH.Z trouvé dans le système de solvant 1.

Tableau 11: Valeurs VCEAC dans S1 et S2 des extraits des farines complètes.

Cultivar	Système 1 (μM)		Système 2 (μM)	
	Moy	SD	Moy	SD
MLT .Ham	5.04	0.59	-	-
MLH .Z	7.43	0.49	6.09	0.56
MLH .epc	7.37	0.52	6.67	2.88
MDH.Saf	6.22	0.47	3.97	1.05
MLTP.P	2.13	1.85	6.35	0.26
Moyenne	5,35		5,77	
Ecart type	2,03		1,73	
Variance	4,14		2,99	

2. Pouvoir réducteur dans les farines sans lipides :

Le tableau 12 englobe les valeurs des VCEAC des extraits étudiés des farines sans lipides du mil perlé obtenus par les deux systèmes de solvants. Le cultivar MDH.Saf-L du S2 enregistre la plus grande valeur de VCEAC qui est égale à 10,29 μM , ce qui lui affecte le réducteur le plus important, par contre la plus faible valeur de VCEAC est enregistré chez le cultivar MLH.epc-L provenant du S2, et qui sera bien sur l'extrait le moins actif. Aucune tendance n'a été enregistrée entre la nature du système solvant utilisé et le pouvoir réducteur des extraits.

Tableau 12: Valeurs VCEAC dans S1 et S2 des extraits des farines sans lipides.

Cultivar	Système 1 (μM)		Système 2 (μM)	
	Moy	SD	Moy	SD
MLT .Ham	8.04	0.49	–	–
MLH .Z	4.38	4.11	7.40	0.69
MLH .epc	7.37	0.52	2.98	2.62
MDH.Saf	7.18	0.62	10.29	0.47
MLTP.P	7.86	1.10	6.63	0.54
Moyenne	6,96		6,82	
Ecart- type	2,15		2,98	
Variance	4,65		8,85	

L'analyse de la variance (ANOVA) du pouvoir réducteur de tous les extraits obtenus, a montré qu'il n'existe aucune différence significative entre les cinq variétés locales et lors du changement du système d'extraction ($P < 0.05$). Par contre, ANOVA a montré qu'il y a une différence significative entre les valeurs moyennes pouvoir réducteur lors dans les extraits délipides ($P < 0.05$).

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité de la comparaison. L'extraction des composés phénoliques a été réalisée par macération en utilisant le méthanol pur et le méthanol acidifié, la solubilité des composés phénoliques est influencée par le type de solvant (polarité) utilisé. Le degré de polymérisation des composés phénoliques et l'interaction des composés phénoliques avec d'autres constituants alimentaires et la formation de complexes insolubles, ainsi il n'existe pas de procédure

uniforme ou totalement satisfaisante convenant à l'extraction de tous les composés phénoliques ou d'une classe spécifique de composés phénoliques dans les matières végétales.

Dans cette étude, l'extraction a été réalisée par macération dans le méthanol qui est fréquemment utilisé pour l'extraction de composés phénoliques.

La quantification des composés phénoliques totaux a été faite par le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dosage présente des inconvénients tels que la non-spécificité, du réactif de Folin-Ciocalteu qui détecte tous les groupes phénoliques comprenant les protéines, aussi, il y a des interférences avec toutes les substances réductrices.

IV.5. Recherche des corrélations :

Nous avons essayé de trouver des corrélations entre quelques paramètres qui ont été déjà déterminés dans cette étude à savoir; le rendement de l'extraction, la quantité en composés phénoliques totaux et en tanins et les activités antioxydantes. La corrélation permet d'étudier l'association ou la dépendance entre deux ou plusieurs variables. Elle est caractérisée par un coefficient de corrélation de valeur comprise entre -1 et 1 . Plus le coefficient est proche de 1 , plus la relation linéaire positive entre les variables est forte. Plus le coefficient est proche de -1 , plus la relation linéaire négative entre les variables est forte.

En termes simples, l'analyse de corrélation calcule la quantité de changement dans une variable due au changement dans l'autre. Une corrélation élevée indique une forte relation entre les variables, tandis qu'une corrélation faible signifie que les variables sont faiblement dépendantes les unes des autres.

Le tableau 13 résume les valeurs des coefficients de corrélations entre quelques paramètres déterminés dans cette étude. Les valeurs de ces coefficients montrent qu'il existe des fortes corrélations $0,96$ entre les rendements en extraits bruts et les quantités des phénols totaux et cela quel que soit le système de solvants utilisé pour l'extraction, les composés phénoliques utilisés comme étalon et la nature des farines complètes ou sans lipides de grains de mil. Des moyennes à bonnes corrélations de $0,40$ à $0,68$ ont été enregistrées entre les quantités des phénols totaux et les valeurs VCEAC des activités antioxydantes DPPH et FRAP.

Tableau 13: résume les valeurs des coefficients de corrélations entre quelques paramètres déterminés dans cette étude.

RE/ CPH AG1	RE/ CPH AT 1	CPH AG 1 / AA 1 DPPH	CPH AT 1 / AA 1 DPPH	CPH AG 2 / AA 2 DPPH	CPH AT 2/ AA 2 DPPH	CPH AG 2/ AA 2 FRAP	CPH AT 2/ AA 2 FRAP
0,96	0,96	0,40	0,40	0,58	0,58	0,68	0,68

V. Conclusion :

Nous avons cherché à travers ce travail à étudier la valorisation des extraits phénoliques des grains de mil perlé locaux. Cette valorisation consiste à déterminer la quantité des phénols totaux et des tanins ainsi d'évaluer l'activité antioxydante des extraits. L'étude est réalisée sur les farines complètes et sans lipides de cinq cultivars de grains de mil cultivés dans le Sud de notre pays.

L'extraction des composés phénoliques est réalisée par deux systèmes de solvants à savoir; le méthanol pur et le méthanol acidifié à 1% par HCl. Le dosage des composés phénoliques est réalisé par la méthode de Singleton et Ross en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. L'activité antioxydante est évaluée par deux tests chimiques tels que le DPPH et le FRAP.

Les résultats obtenus nous ont permis de tirer les conclusions suivantes;

- L'influence de la nature du solvant de l'extraction sur le rendement, sur la quantité des composés phénoliques et des tanins ainsi sur l'activité antioxydante des extraits,
- La nature de la farine des grains de mil perlé est une caractéristique non négligeable dans l'extraction des composés phénoliques,
- Les farines sans lipides ont enregistré les rendements les plus importants, elles sont les plus riches en composés phénoliques et tanins,
- Les extraits phénoliques issus du méthanol acidifié sont les plus riches en composés phénoliques et en tanins, ils sont les plus actifs vis-à-vis du radical DPPH et le pouvoir réducteur FRAP
- Très bonnes corrélations sont enregistrées entre les rendements de l'extraction et les quantités des composés phénoliques et cela quel que soit le solvant utilisé pour l'extraction ainsi la nature de la farine des grains de mil perlé,
- De moyennes à bonnes corrélations ont été trouvées entre les quantités des phénols totaux et les activités antioxydantes évaluées par les tests chimiques DPPH et FRAP.

Nous pouvons dire, enfin que notre étude a apporté des résultats préliminaires et très intéressants sur le contenu des grains de mil perlé en composés phénoliques. Il n'en demeure pas moins que des études plus approfondies visant à utiliser d'autres méthodes d'

extraction en prenant en considération la nature des solvants, les caractéristiques des grains de mil, température, le temps et le rapport masse/volume afin de déterminer les conditions optimales de l'extraction des phénols totaux. Autres perspectives à envisager est l'analyse qualitative et quantitative des composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance CLHP.

VI. Références bibliographiques :

- Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry*, 84(4), 551-562. s.d.**
- Belyagoubi Née Benhammou, N. (2012). Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'ouest et du Sud-Ouest Algérien (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat en Substances Naturelles, Activités biologiques et Sy. s.d.**
- Bensouici, C.(2015).Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre Sedum. (Doctoral dissertation, Université de Freres Mentouri Constantine). s.d.**
- Brunken, J. N. (1977). A systematic study of Pennisetum sect. Pennisetum (Gramineae). *American journal of botany*, 64(2), 161-176. s.d.**
- Chethan, S., & Malleshi, N. G. (2007). Finger millet polyphenols: Optimization of extraction and the effect of pH on their stability. *Food chemistry*, 105(2), 862-870. s.d.**
- Chung, Y. C., Chang, C. T., Chao, W. W., Lin, C. F., & Chou, S. T. (2002). Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(8), 2454-2458. s.d.**
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 65(4), 337-353. s.d.**
- Gazengel, J. M. (1999). Le préparateur en pharmacie: guide théorique et pratique. Tec & Doc, et Ed. Médicales internationales. s.d.**
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. J. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53(5), 1370-1373. s.d.**

- HAREB, A.(2020). Approche bibliographique concernant le dosage et l'extraction de composés phénoliques du pistachier de l'Atlas (Pistacia atlantica Desf.) (Master dissertation, Université de Mouloud MAMMARI de TIZI OUZOU). s.d. s.d.**
- Hassane Moumouni, K. (2014). Construction d'une carte génétique pour le mil, Pennisetum glaucum (L.) R. Br., par une approche de génotypage par séquençage (GBS). s.d.**
- Jarrige, R., & Ruckebusch, Y. (1995). Nutrition des ruminants domestiques: ingestion et digestion. Editions Quae. s.d.**
- Loumerem, M. (2004). Etude de la variabilité des populations de mil (Pennisetum glaucum (L.) R. Br.) cultivées dans les régions arides tunisiennes et sélection de variétés plus performantes. Ghent University. s.d.**
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakar J. sci. technol, 26(2), 211-219. s.d.**
- Morris, P. C., & Bryce, J. H. (Eds.). (2000). Cereal biotechnology. CRC Press. s.d.**
- Naskar .S;Islam A.Mazumdar, U.ksaha,P.;Haldar ,P.k;and Gupta, M.(2010). In vitro and In vivo Antioxdante Potential of Hydrometh anolic Extract of phoenixdactylifera fruit J.Sci Res 2(1)144-157.**
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. Journal of agricultural and food chemistry, 49(10), 4619-4626. s.d.**
- Oumarou, M. N., Baoua, I., Saidou, A. A., & Laouali, A. L. (2020). Evaluation des génotypes de mil Pennisetum glaucum (L.) R. Br. pour la résistance ou la tolérance à la mineuse de l'épi de mil, Heliocheilus albipunctella De Joannis au Niger. Internationa. s.d.**
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. The Japanese journal of nutrition and dietetics, 44(6), 307-315. s.d.**

- Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel, 4(8). s.d.**
- Price, M. L., Van Scoyoc, S., & Butler, L. G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. Journal of agricultural and food chemistry, 26(5), 1214-1218. s.d.**
- Rejeb, I. (2008). Study of irradiation effect on curcuma polyphenols, et Etude de l'effet de l'irradiation sur les polyphenols du curcumin. s.d.**
- Sasakawa Global DE L'ELEVAGE, E. T. (2001). LA CULTURE ET LA PRODUCTION DU MIL ET DU SORGHO AU SENEGAL: BILAN-DIAGNOSTIC ET PERSPECTIVES. s.d.**
- Sehgal, D., Rajaram, V., Armstead, I. P., Vadez, V., Yadav, Y. P., Hash, C. T., & Yadav, R. S. (2012). Integration of gene-based markers in a pearl millet genetic map for identification of candidate genes underlying drought tolerance quantitative trait lo. s.d.**
- Serge H.(1992). LE MILEN AFRIQUE POTENTIALITÉSET CONTRAJNTES DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE ET AGRO-PHYSIOLOGIQUE : POUR AMÉLIORATION ET LA CULTURE Correspondants au Niger.**
- SOUALEM, N.(2015). Activité biologique du seigle et du sorgho chez le rat Wistar normal et rendu diabétique par la streptozotocine (Doctoral dissertation, Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid). s.d.**

الملخص :

يهدف هذا العمل الى تحديد المحتوى من الفينولات الكلية في الدقيق الكامل ومنزوع الليبيدات لخمس عينيات من حبوب الدخن اللؤلؤي المحلي، وكذا تقييم النشاط الفينولات الكلية باستعمال مذيبن الميثانول النقي والميثانول المحمض 1% . قمنا بتقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال الاختبارين الكيمائيين DPPH و FRAP. بينت النتائج المتحصل عليها عموما ان مستخلصات الميثانول المحمض للدقيق الكامل والدقيق منزوع الليبيدات، احتوى على اكبر كمية من الفينولات الكلية والتانينات ولديها أفضل الأنشطة المضادة للأكسدة. أعلى الكميات سجل عند العينة MDH. Saf.T، حيث قدرت بالنسبة للفينولات الكلية 4.03 (mg EAT / g SM) و 11.47 (mg EC / g SM) بالنسبة للتانينات. اما فيما يخص الفعالية المضادة للاكسدة فتراوحت قيم الـ VCEAC ما بين 0,02 و 22,76 (µM) بالنسبة للـ DPPH و بين 2,13 و 10,29 (µM) بالنسبة للـ FRAP. سجلت علاقات ارتباط قوية بين مردود الاستخلاص وكذا كميات الفينولات الكلية والتانينات، قيم معاملات الارتباطات من رتبة 0.96. ارتباطات اقل اهمية سجلت ما بين كمية الفينولات الكلية والفعالية المضادة للاكسدة، تتراوح معاملات الارتباط ما بين 0,58 و 0,68.

الكلمات المفتاحية : الحبوب، الدخن اللؤلؤي، الفينولات الكلية ، التانينات ، نشاط مضاد للأكسدة.

Résumé :

L'objectif de ce travail est de déterminer le contenu en phénols totaux dans les farines complètes et sans lipides de cinq cultivars de grain de mil perle local ainsi l'évaluation de leur activité antioxydante. L'extraction des composés phénoliques a été réalisée par deux systèmes de solvants méthanol pur et méthanol acidifié à 1% par HCl. L'activité antioxydante a été évaluée par deux tests chimiques FRAP et DPPH. Les résultats trouvés indiquent en général que les extraits des farines sans lipides issu du méthanol acidifié sont les plus riches en phénols totaux et tanins et possèdent les meilleures activités antioxydantes. Les plus grandes quantités enregistrées sont 4,03mgEAT/g MS dans le cultivar MDH. Saf.T et 11,47 mg EC/g MS dans le même cultivar en phénols totaux et en tanins respectivement. On ce qui concerne l'activité antioxydante les valeurs de VCEAC s'échelonnent entre 0,02 et 22,76 µM pour le DPPH et 2,13 et 10,29 µM pour le test FRAP. Des bonnes corrélations ont été enregistrées entre les rendements en extraits et les quantités en phénols totaux et tanins avec des coefficients de corrélation de l'ordre de 0,96. Des corrélations moins importantes ont été enregistrées entre les quantités en phénols totaux et les activités antioxydantes, les coefficients de corrélation sont de l'ordre 0,58 à 0,68.

Mots clés; Grain, Mil perle, phénols totaux, tanins, activité antioxydante.

Abstract

The objective of this work is to determine the content of total phenol in whole meal except in lipids flours of five cultivars of five cultivars of local pearl millet grain as well as the evaluation of their antioxidant activity. The extraction of phenolic compounds was carried out by two solvent systems. pure methanol and methanol acidified to 1 by HCl. The antioxidant activity was evaluated by two chemical tests FRAP and DPPH . Te results found generally indicate that the extracts of flours without lipids form acidified methanol are the richest in total phenols and tannins and have the best antioxidant activities. The highest quantities recorded are 4.03 mg EAT/g SM in the MDHSaf.T cultivar and 11.47mg EC/g SM in the same cultivar in total phenols and tannins respectively. With regard to antioxidant activity, VCEAC values range from 0.02 to 22.76 μ M for DPPH and 2.13 to 10.29 μ M for the FRAP test. Good correlations were recorded between the yields of extracts and the quantities of total phenols and tannins with correlation coefficients in the order of 0.96. Less significant correlations were recorded between the amounts of total phenols and the antioxidant activities, the correlation coefficients are of the order of 0.58 to 0.68.

Key words; seed , pearl Millet, Total phenols, tanins, antioxidant activity.