



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEM  
Faculté des Sciences de la Nature de la Vie et des sciences  
de la terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA)



# Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie  
Option : Sciences Des Aliments*

*Thème*

*Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits des  
flavonoïdes du sorgho*

Présenté par : *Melle SAID Meriem*

Soutenu le : 10-06-2015

Membre du jury :

Président	Mme. M. BELARBI
Examineur	Mr. C. BENAMMAR
Encadreur	Mme. Z. SOUALEM

Année Universitaire : 2014 - 2015

# Dédicace

*Tout d'abord je remercie Dieu le tout puissant qui ma aider et donner  
le courage et la patience pour faire ce travail*

*Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui je port dans mon  
cœur :*

*Ma très chère mère qui ma fait fond de sacrifier pour me permettre de  
réussir mes études a-la quelle je suis très reconnaissance.*

*Ma grand-mère que j'adore pour son soutient morale.*

*A mes très chères sœurs : Soumia, Ikram, Hanan.*

*Et son époux Fouzy, Djawad.*

*Et mon frère Mohamed el Amine.*

*A mes anges : Amen Allah, Ayoub, Aness et Israe*

*A toute ma famille surtout mes oncles Abd el Latif et El Habib et sa  
femme Fatéma Zohra*

*A tout mes enseignants que je respecte énormément.*

*A tout mes amis exceptionnellement Djilali et Hayat*

*Et a toute ma promotion de sciences des Aliments 2014.*

# Remerciements

**T**out d'abord, je tiens particulièrement à remercier Monsieur CHABANE SARI Daoudi. Professeur au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen- et directeur du laboratoire du recherche produits naturels « LAPRONA » pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

**J**e tiens à remercier sincèrement mon encadreur Madame SOUALÈM Zoubida Maitre Assistante au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen-, pour avoir fait l'honneur d'accepter l'encadrement de ce travail, je la remercie encore pour l'aide et pour les conseils qu'elle m'a fournis tout au long de la réalisation de ce mémoire, je la remercie aussi pour son esprit professionnel et humain.

**J'**adresse aussi mes remerciements à Madame Belarbi Meriem, Professeur, et Vice doyen chargée de la poste graduation, faculté des Sciences de la Nature de la Vie des sciences de la terre et de l'Univers, Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Pour avoir accepté de présider le jury, malgré ses multiples occupations. Je vous admire pour vos connaissances scientifiques et pour vos compétences professionnelles. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère admiration et mon profond respect.

**J'**exprime une profonde gratitude et mes remerciements à Monsieur BÈNAMMARCHAHI ELHOCINE, Maitre de conférences à l'université de Tlemcen, d'avoir accepté d'être membre de mon jury de mémoire de master et pour avoir accepté d'en être examinateur.

**M**a profonde reconnaissance s'adresse à M<sup>r</sup> Ali MEDBOUHI, Doctorant en Molécules Bioactives, Synthèse et Application, Faculté des Sciences, Département de Chimie pour son aide précieuse au cours de la réalisation de ce travail, Qu'il trouve ici le témoignage de mes profonds respects.

**S**ans oublié Monsieur BARAKA Mansour responsable de master à la scolarité du département de Biologie.

**M**erci à toute la promotion Master « Science Des Aliments, 2014/2015 » et à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

## Résumé

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause, en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. En effet, les flavonoïdes, composés naturels largement répartis dans le règne végétal, sont reconnus pour leur activité antioxydante et demeurent, à ce jour, peu exploités par l'industrie aussi bien pharmaceutique qu'alimentaire.

Les travaux présentés dans ce mémoire contribuent à l'étude du pouvoir antioxydant des flavonoïdes extraits à partir de la céréale du sorgho blanc du sud d'Algérie. Le sorgho blanc (*Sorghum bicolor* L.) espèce très connue comme source antioxydante de métabolite secondaire, elle est la cinquième céréale mondiale en termes de production après le blé, le riz, le maïs et l'orge. Le choix de cette céréale secondaire dans cette étude est dû au fait qu'elle possède des vertus thérapeutiques et qu'elle a été peu investiguée par rapport aux autres comme le blé ou l'orge.

Le sorgho blanc étudié a présenté des teneurs en flavonoïdes, estimées à 1.11mg/ml équivalent à la catéchine par 100g de la matière sèche.

L'activité antioxydante des deux fractions (acétate d'éthyle et n-butanol) a été évaluée par trois méthodes: le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du fer et l'inhibition de la décoloration du bêta-carotène.

Les résultats obtenus ont montré une activité élevée de la fraction d'acétate d'éthyle par rapport à la fraction butanolique par les deux techniques de DPPH et  $\beta$ -carotène, mais qui reste inférieure à l'antioxydant de référence (BHA).

Par contre, la fraction butanolique a présenté un pouvoir réducteur de fer plus élevé par rapport à celui de la fraction acétate d'éthyle. Cet effet reste négligeable devant la vitamine C.

**Mots clés** : *Sorghum bicolor* L., flavonoïdes, Activité antioxydante, DPPH, FRAP,  $\beta$ -carotène.

## *Abstract*

The use of synthesis antioxidant molecules is being dangerous anyway, because of the potential toxicological risks. Indeed, new source of natural antioxidant molecules are required. The flavonoids, natural compounds largely present in the vegetable kingdom, are recognized for their antioxidant activity and still little exploited by different industry (especially pharmaceutical and food industry).

The work presented in this thesis contributes to the study of the antioxidant activity of flavonoids extracted from the sorghum grain of southern Algeria, sorghum species is well known as an important source of secondary metabolites it is the world's fifth major cereal in terms of production after wheat, rice, maize and barley. The choice of this coarse cereal in our study is due to the fact that it has been poorly investigated comparing to others such as wheat or barley.

The *Sorghum bicolor* L., of this study presented little content of flavonoids 1.11 mg/ml.

The antioxidant activity of two fractions (ethyl acetate fraction and the butanolic fraction) was evaluated using different antioxidant assays, including: DPPH free radical scavenging activity, reducing power, and the  $\beta$ -carotene bleaching method.

The results showed that the ethyl acetate fraction had a high antioxidant activity than the butanolic fraction by DPPH and  $\beta$ -carotene bleaching method, but it remains below the reference antioxidant (BHA).

However, the butanolic fraction presented a higher power report to that of the ethyl acetate fraction this effect is negligible to the vitamin C.

**Key words:** *Sorghum bicolor* L., flavonoids, antioxidant activity, DPPH, FRAP,  $\beta$ -carotene.

## الملخص

يضع العديد من الباحثين الجزيئات المركبة المضادة للاكسدة موضع نظر لما قد تسببه من تسممات, فلذلك يتم الان البحث عن جزيئات بديلة يمكن استخدامها دونما مخاطر محتملة على الصحة يكون مصدرها طبيعيا و تحديدا من النباتات .

من بين المركبات الطبيعية المتواجدة بشكل واسع في المملكة النباتية, تمتلك الفلافونويدات خصائص مضادة للاكسدة, التي تظل الى يومنا هذا, قليلة الاستثمار في مختلف الصناعات الغذائية منها و الصيدلانية على وجه الخصوص.

العمل المقدم في هذه الدراسة تساهم في دراسة النشاط المضاد للاكسدة لمركبات الفلافونويد المستخرج من حبوب الذرة الرفيعة في جنوب الجزائر. تعتبر الذرة الرفيعة مصدر رئيسي من المركبات الثانوية و هي خامس اكبر من حيث حبوب الانتاج العالمي بعد القمح و الارز و الذرة و الشعير. اختيار مثل هذه الحبوب الثانوية في هذه الدراسة يرجع الى حقيقة ان لديها خصائص علاجية و انه تم التحقيق فيما يتعلق بالقمح و الشعير.

محتوى ذرة الرفيعة فيما يخص الفلافونويدات كان ضعيفا.

تمت دراسة النشاط المضادة للاكسدة بواسطة 3 طرائق: تثبيط الجذر الحر DPPH, ارجاع الحديد و تثبيط ازالة لون البتاكروتين.

اظهرت النتائج المتحصل عليها من مستخلص خلات الاتيل يملك نشاط عالي للاكسدة مقارنة لمستخلص الكحول البوتيلي بواسطة طريقتين تثبيط الجذر DPPH و تثبيط ازالة لون البتاكروتين و لكن تبقى منخفضة بالنسبة الى BHA

كما اظهرت النتائج القدرة الارجاعية للحديد لمستخلص الكحول البوتيلي كانت معتبرة مقارنة بمستخلص خلات الاتيل, هذا التأثير يبقى ضعيف بالنسبة للفيتامين C.

**الكلمات المفتاحية:** حبوب الذرة الرفيعة, الفلافونويدات, النشاط المضاد للاكسدة, DPPH, ارجاع الحديد, البتاكروتين.

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**A<sub>AR</sub>** : Activité antiradicalaire.

**T** : Température.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres.

**I %** : Pourcentage d'inhibition.

**K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>** : Ferricyanure de potassium.

**MeOH** : Méthanol.

**AcOEt** : Acide acétique.

**n-BuOH** : n-butanol.

**Rdt** : Rendement.

**NaNO<sub>2</sub>** : Nitrite de sodium.

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium.

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

**EOA** : Espèces oxygénées activées.

**DO** : Densité optique.

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>** : Oxygène singulet.

**BHA** : Butylhydroxyanisole.

**F** : Fer.

**Fe<sup>2+</sup>** : Ions ferreux.

**Fe<sup>3+</sup>** : Ions ferriques.

**FRAP** : Feric reducing antioxidant power.

**UV** : Ultraviolet.

## Liste des unités

**Km** : kilomètre.

**mg** : Milligramme.

**Cm** : Centimètre.

**m** : Mètre.

**µm** : Micromètre.

**ml** : Millilitres.

**nm** : Nanomètre.

**µl** : Microlitre.

**min** : Minute.

**V** : Volume.

**v/v** : Rapport volume par volume.

**P** : Poids.

**p/p** : Rapport poids par poids.

**°C** : Degré Celsius.

**h**: Heure.

**%** : Pourcentage.

## Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : Structure de base des flavonoïdes.....	14
<b>Figure 2</b> : Voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	17
<b>Figure 3</b> : Balance oxydants/ antioxydants en faveur d'un stress oxydatif.....	20
<b>Figure 4</b> : Piégeage des ROS (R·) par les flavonoïdes.....	23
<b>Figure 5</b> : Propriétés réductrices des polyphénols.....	24
<b>Figure 6</b> : Schéma d'extraction des flavonoïdes.....	27
<b>Figure 7</b> : Courbe d'étalonnage de la catéchine (mg/ml).....	32
<b>Figure 8</b> : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle et de la fraction n-butanol.....	33
<b>Figure 9</b> : Pouvoir réducteur des deux extraits testés par la méthode FRAP comparé avec l'acide ascorbique.....	34
<b>Figure 10</b> : Activité antioxydante des deux extraits de sorgho avec le BHA comme antioxydant de référence.....	35

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 01</b> : Les principales classes de composés phénoliques.....	13
<b>Tableau 2</b> : Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe.	15
<b>Tableau 03</b> : Rendement et aspect d'extrait obtenu.....	32

## Liste des Photos

<b>Photo 1</b> : Grains du sorgho blanc.....	5
<b>Photo 2</b> : Sorgho blanc.....	5
<b>Photo 03</b> . Photographie de quelques épis du sorgho ( <i>Sorghum bicolor L.</i> ).....	26

# Table des matières

Remerciements

Résumé

Liste d'abréviation

Liste des unités

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des photos

Introduction générale..... 1

## Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Etude général du sorgho

1. Définition.....	4
2. Description du sorgho.....	4
2.1. Taxonomie.....	4
2.2. Morphologie et biologie.....	5
3. Composition chimique.....	5
3.1. L'amidon.....	5
3.2. Les protéines.....	6
3.3. Les polyphénols.....	6
3.4. L'humidité.....	7
3.5. Les lipides.....	7
4. Inhibiteurs nutritionnels et facteurs toxiques.....	8
4.1. Phytates.....	8
4.2. polyphénols (tanins).....	9
5. Utilisation.....	10

### Chapitre II : Les composés phénoliques et les flavonoïdes

1. Les composés phénoliques.....	12
1.1. Généralité.....	12
1.2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	12
1.3. Classification des structures phénoliques.....	13
2. Flavonoïdes.....	13
2.1. Définition.....	13
2.2. Structure chimique.....	14
2.3. Classification des flavonoïdes.....	14
2.4. Localisation et Distribution .....	15
2.4.1. Localisation.....	15
2.4.2. Distribution.....	16
2.5. Biosynthèse des flavonoïdes.....	16
2.6. Propriétés des flavonoïdes.....	18
2.7. Propriétés biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes .....	18
2.7.1. Propriétés anti-hépto-toxiques .....	18
2.7.2. Propriétés antiallergiques.....	18
2.7.3. Activités anti-inflammatoires .....	18
2.7.4. Propriétés anti-ulcérogènes.....	18
2.7.5. Propriétés antivirales et antibactériennes.....	18

## Chapitre III : Les radicaux libres et les antioxydants

1. Généralité .....	20
2. Les antioxydants .....	20
3. Le stress oxydatif. ....	20
4. Les radicaux libres.....	20
5. Les différents types des radicaux libres.....	21
6. Dommages oxydatifs des radicaux libres .....	21
7. Moyens de défense contre les radicaux libres .....	22
7.1. A Les antioxydants enzymatiques.....	22
7.1. B Les antioxydants non enzymatiques.....	22
7.2. Les polyphénols.....	22
7.3. Mode d'action des antioxydants.....	22
7.3.1. Les antioxydants préventifs par inhibition d'enzymes ou par chélation des éléments traces impliqués dans la formation des radicaux.....	23
7.3.2. Les antioxydants péageurs des ERO.....	23
8. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	24
8.1. Le test de la capacité antioxydante totale.....	25
8.2. Le test de piégeage du radical DPPH° .....	25
8.3. Le test de la réduction de fer.....	25
8.4. Le test d'inhibition de blanchiment du $\beta$ -carotène.....	25
8.5. Le test de piégeage du radical ABTS°+.....	25
8.6. Le test de chélation de fer.....	25

### Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal.....	26
1.1. Origine géographique et périodique de récolte du sorgho blanc.....	26
1.2. Identification botanique.....	26
2. L'extraction des flavonoïdes.....	26
3. Le rendement en extrait sec.....	28
4. Dosage des flavonoïdes.....	28
5. Etude du pouvoir antioxydant.....	29
5.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	29
5.2. Réduction du fer.....	30
5.3. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du $\beta$ -carotène.....	30

### Résultats et Interprétation

1. Rendement en extrait sec.....	32
2. Dosage des flavonoïdes.....	32
3. L'étude de l'activité antioxydant.....	33
3.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	33
3.2. Réduction du Fer : FRAP.....	34
3.3. la méthode de décoloration du $\beta$ -carotène.....	35

**Discussion** ..... 36

**Conclusion**..... 43

**Référence bibliographique**..... 45

**Annexes.**



# Introduction générale

Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer les bien-fondés des vertus thérapeutiques de la plupart des aliments utilisés de façon empirique depuis des millénaires. Ce savoir traditionnel ancestral transmis de génération en génération est devenu aujourd'hui une mine d'information extrêmement précieuse pour tous les chercheurs.

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base des aliments naturels sans avoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques, il est difficile de définir les molécules responsables de l'action thérapeutique et curatif (**Bahorun, 1997**). Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques (**Bérubé-Gagnon, 2006**). Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété des molécules bioactives (**Ferrari, 2002**).

Le consommateur cherche une alimentation saine et naturelle et préfère les aliments ne contenant pas d'additifs de synthèse. Les extraits végétaux qui présentent un pouvoir antioxydant intéressant sont pour la plupart riche en polyphénols. Or, ces substances ont une activité anti-radical libre, qui s'exprime aussi bien au niveau de la protection d'un aliment contre l'oxydation qu'au niveau de la protection des cellules animales contre plusieurs pathologies comme le vieillissement et le cancer (**Miura et Nakatani, 1964**).

De nos jours, les aliments à base des céréales sont de plus en plus reconnus comme facteur de santé et de bien-être, ainsi que l'intérêt de la graine complète pour les différents nutriments qu'elle contient (**Favier, 1989**).

Le sorgho est une céréale cultivée dans les zones semi-arides et tropicales du monde à cause de son bon rendement et de sa bonne adaptation aux environnements hostiles (**Dicko, 2005**). Dans les pays en développement, l'intérêt technologique porté sur le sorgho est dû à sa capacité à générer un système complexe d'enzymes associées à l'hydrolyse de l'amidon. Ce qui est un élément important pour son utilisation en brasserie et à la préparation des aliments de sevrage (bouillies) à faible viscosité (**Dillon, 1989 ; Larreta-Garde, 1997 et Traoré et al., 2004**). Très abondant et de coût très limité, le sorgho nous a semblé intéressant comme possible source d'antioxydant (**Kehrer et Smith, 1994**).

Les raisons de choix du sorgho tiennent d'une part à la végétation de cette espèce dans nos régions saharienne et d'autre part à des données ethnopharmacologiques indiquant leur utilisation contre certaines maladies et également en nutrition.

L'intérêt des antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement ces dernières années, des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir les plantes médicinales et les produits agros- alimentaires (**Sanchez-Moreno, 2002 ; Marc *et al.*, 2004 ; Huang *et al.*, 2005**). Parmi ces composés, les flavonoïdes ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (**Chebil, 2006**).

L'utilisation de divers systèmes expérimentaux a prouvé que les effets protecteurs des flavonoïdes sont dus à leurs propriétés redox qui se traduisent dans les capacités de donner des électrons et des hydrogènes, en plus de leurs potentiels à chélater les ions métalliques pro-oxydantes, d'activer les enzymes antioxydantes et d'inhiber les enzymes productrices de radicaux libres (NADPH oxydase, xanthine oxydase, myeloperoxydase) (**Harborne et Williams, 2000 ; Atmani *et al.*, 2009**).

Plusieurs études ont confirmé la contribution des polyphénols et des flavonoïdes des extraits du sorgho à l'activité antioxydante *in vitro*. Parmi ces études on peut citer les travaux réalisés par : (**Dicko *et al.*, 2005 ; Serna-Saldivar *et al.*, 1995 ; Awika, 2000 ; Kehrer et Smith, 1994**).

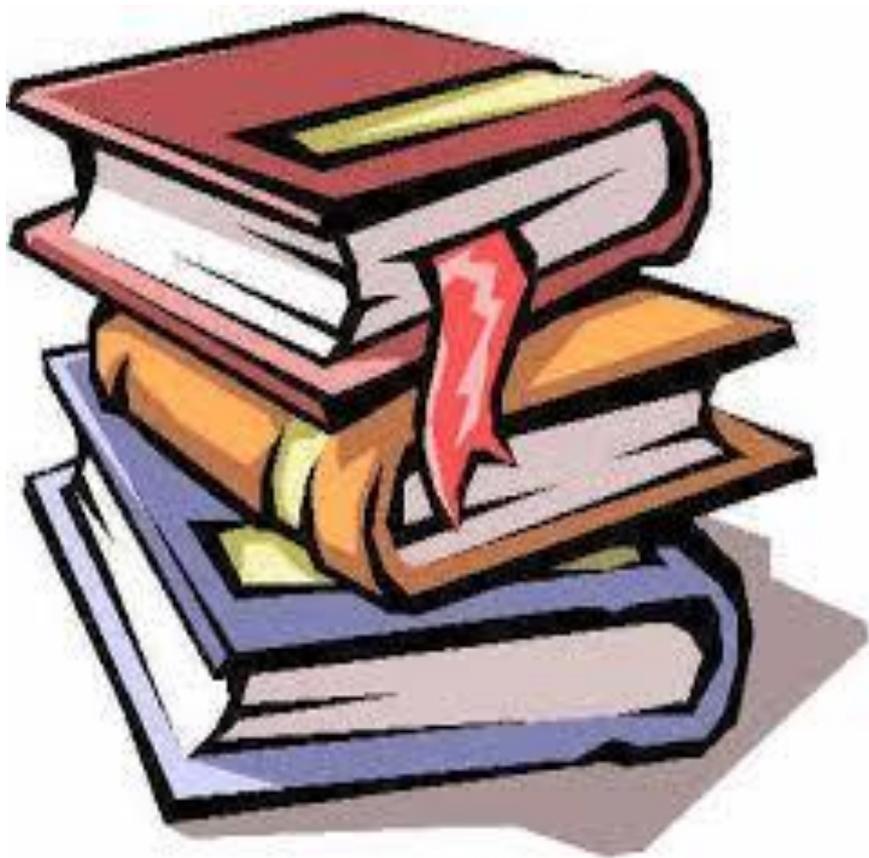
Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche du pouvoir antioxydant des extraits des flavonoïdes du sorgho. Dans la première partie de ce manuscrit, nous avons commencé par une étude bibliographique qui comporte un premier chapitre sur une étude général du sorgho, un second chapitre sur les flavonoïdes et un troisième chapitre qui exposera les antioxydants et les radicaux libres.

La partie expérimentale présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de cette étude à savoir :

- ✓ Extraction des flavonoïdes par une macération à froid ;
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydante des extraits des flavonoïdes du sorgho par les trois techniques :
  - piégeage du radical DPPH ;
  - capacité de réduction du fer (FRAP) ;
  - la décoloration du  $\beta$ -carotène.

Enfin, un dernier chapitre qui discutera les résultats obtenus mené par une discussion de ces résultats.

# Synthèse bibliographique



### Chapitre I : Etude général du sorgho

#### 1. Définition

Le sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), connu aussi sous le nom de grand mil, herbe de Guinée, est une poacée dont la culture est une des plus anciennes dans le monde. Il pousse dans des terrains secs, des sols détrempés ou à forte salinité et tolère bien la chaleur ; ces qualités lui confèrent un avantage considérable par rapport à d'autres cultures céréalières dans les régions de la zone tropicale et semi-aride (**Asiedu, 1991**).

Elle est la cinquième céréale mondiale en termes de production après le blé, le riz, le maïs et l'orge, avec 55 à 60 millions de tonnes produites par an production qui était évaluée à 55 721 588 tonnes en 2010 (**Murty et al., 2001**).

Les grains de sorgho jouent un rôle important, voire primordial dans l'alimentation des habitants des régions semi-arides d'Afrique et d'Asie, car ils constituent leurs principales sources d'énergie, de protéines, de vitamines et de minéraux surtout pour les plus pauvres. Par contre dans les pays industrialisés, il est utilisé sous forme de grains ou de fourrage dans l'alimentation des animaux et pour la production de bioéthanol.

L'Afrique détient plus de la moitié (55 %) de la production mondiale de sorgho (**Taylor et Belton, 2002**).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes et parfois tanins) sont les métabolites secondaires les plus largement représentés et omniprésents dans le règne végétal. Parmi les céréales, le sorgho est le plus riche et peut en contenir jusqu'à 6% (**Beta et al., 1999 ; Awika et Rooney, 2004 et Dicko et al., 2005**).

#### 2. Description du sorgho

##### 2.1. Taxonomie

La position systématique actuelle du sorgho cultivé en Afrique de l'ouest est la suivante (**Chanterau et Nicou, 1991**) :

**Famille :** Poacée

**Tribu :** Andropogoneae

**Sous-tribu :** Sorghastrae

**Genre :** Sorghum

**Espèce :** *Sorghum bicolor* (L.) Moench

## 2.2. Morphologie et biologie

Plante annuelle, herbacée (**Nacro et Millogo-Rasolodimbi, 1993**) se caractérise par un système racinaire fibreux, puissant qui explique en grande partie sa capacité à supporter des aléas importants en matière d'alimentation en eau. La plante comprend une tige principale accompagnée de talles issues du développement de bourgeons adventifs sur le collet du maître brin. La hauteur de la plante à maturité varie beaucoup (de 50 cm à plus de 5 m). En fonction des cultivars et de leur situation, les feuilles (alternes, longues, retombantes, vert clair ou vert foncé) portées par les tiges varient en nombre (de quelques unités à plus de 30). L'inflorescence est une panicule de forme variable. Le grain est un caryopse de couleur variable (blanche, rouge, brune et jaune), qui, à maturité, est plus ou moins dégagé des glumes (**Chanterauet Nicou, 1991**).



**Photo 1 :** grains du sorgho blanc



**Photo 2 :** sorgho blanc

## 3. La composition chimique des grains du sorgho

### 3.1. L'amidon du sorgho

L'amidon est de loin le constituant le plus abondant du grain de sorgho (65 à 85 % de matière humide) (**Dicko et al., 2006**).

Les granules d'amidon du sorgho ont des diamètres compris entre 5 et 25  $\mu\text{m}$ , avec une valeur moyenne autour de 15  $\mu\text{m}$  (**Dicko et al., 2006**).

Les propriétés physicochimiques, thermiques et rhéologiques des amidons sont tributaires des diverses interactions qui ont lieu avec les autres constituants (lipides, eau, protéines) (**Sang et al., 2008**).

### 3.2 Les protéines du sorgho

Les protéines représentent 7 à 15 % du poids sec du grain de sorgho (**Dicko et al., 2006**), mais des valeurs encore plus petites ou plus grandes ont déjà été proposées (**Lasztity, 1996**), les protéines des grains peuvent être groupées en quatre classes en fonction de leur solubilité ; il s'agit des albumines (solubles dans l'eau), des globulines (solubles dans des solutions salines diluées), des glutélines (extractibles dans les solutions acides ou basiques diluées) et des prolamines (solubles dans l'alcool) les prolamines étant les plus abondantes des protéines du sorgho (kafirines) (**Hamaker et al., 1995**).

Les protéines du sorgho sont riches en résidus prolines et ressemblent ainsi aux protéines salivaires avec lesquelles elles ont une grande affinité (**Butler et al., 1984 ; Emmambux et al., 2003**).

### 3.3 Les polyphénols du sorgho

Le sorgho renferme plusieurs classes de polyphénols. On trouve aussi bien des acides phénoliques de type benzoïque (acide protocatéchique, acide p-hydroxybenzoïque, acide gallique, acide vanillique, etc.) que cinnamique (acide férulique, p-coumarique et sinapique) (**Hahn et al., 1984 ; Beta et al., 1999**).

Les plus abondants des acides phénoliques seraient l'acide férulique et l'acide p-coumarique (**Hahn et al., 1984**).

Ces composés existent soit sous forme libre, soit sous forme estérifiée et sont concentrés dans la couche externe du grain (**Waniska, 2000 ; Awika et al., 2004**).

Les composés polyphénoliques du sorgho qui d'un côté se sont montrés capables de protéger les grains contre les attaques fongiques, les insectes et les oiseaux ce qui, sans doute, est un avantage agronomique réduisent la digestibilité enzymatique aussi bien des protéines que des amidons et autres polysaccharides (**Earp et al., 1981 ; Serna-Saldivar et al., 1995**).

La formation des complexes protéines-tannins qui, pour le cas du sorgho, se ferait majoritairement par des liaisons hydrogènes et par la formation des associations du type hydrophobe, permettrait dans les conditions optimales aux tannins du sorgho de précipiter au moins 12 fois leur poids propre de protéines (**Butler *et al.*, 1984**).

### 3.4. L'humidité des grains du sorgho

L'humidité des grains est un facteur important, aussi bien dans la conservation et le transport que lors des différents traitements subis par les grains. Les valeurs d'humidité des grains de sorgho seraient comprises entre 8 et 12 % (poids humide) (**Dicko *et al.*, 2006**) . S'il est important de réduire l'humidité des grains pour permettre un bon stockage et une réduction du cout de transport, cette humidité atteint jusque 35 à 40 %, voire un peu plus (**Ogbonna *et al.*, 2004**) . L'activité de l'eau ainsi modifiée permet de créer les conditions nécessaires à la synthèse et à la mobilisation des enzymes hydrolytiques, et aussi à toute une série de réactions biochimiques dont le résultat se résume en ce qu'il convient d'appeler la « désagrégation du grain ». Cette augmentation de l'humidité crée aussi des conditions favorables au développement des bactéries, levures et moisissures ainsi qu'à l'activation des spores, et si les conditions de température et d'humidité sont réunies, la production des mycotoxines devient plus que probable.

À la fin de la germination, lorsque toutes les transformations attendues ont eu lieu, l'humidité des grains est réduite par séchage, jusqu'autour de 3,5-4 % pour les variétés pâles et 1,5-2 % pour les variétés foncés (**Esslinger *et al.*, 2005**).

### 3.5. Les lipides

Les lipides représentent, dans les grains de sorgho, entre 1,5 à 6 % de matière humide (**Dicko *et al.*, 2006**).

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 (**vanderhaegen *et al.*, 2006**).

### 4. Inhibiteurs nutritionnels et facteurs toxiques

#### 4.1. Phytates

Les phytates représentent une catégorie complexe de composés naturels du phosphore pouvant avoir une influence notable sur les propriétés fonctionnelles et nutritives des aliments. Bien que l'on connaisse leur présence depuis plus d'un siècle, on ne comprend pas totalement leur rôle biologique. L'acide phytique méso-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis (dihydrogène phosphate) constitue le principal stock de phosphore dans les graines mûres. L'acide phytique possède une forte capacité de liaison et peut donc constituer des complexes avec des protéines et des cations multivalents. La plupart des complexes phytate-métal sont insolubles au pH physiologique et rendent par conséquent plusieurs minéraux biologiquement indisponibles pour les animaux et les humains.

**Doherty, Faubion et Rooney (1982)** ont analysé plusieurs variétés de sorgho et constaté que dans la graine entière le phosphore phytique variait de 170 à 380 mg pour 100 g; plus de 85 pour cent du phosphore total de la graine complète étaient constitués de phosphore phytique. **Wang, Mitchell et Barham (1959)** ont étudié la distribution dans la graine de sorgho et ont constaté un plus fort pourcentage d'acide phytique dans le germe que dans le son et un pourcentage minimal dans l'endosperme. Le décortiquage peut éliminer de 40 à 50 pour cent des phytates et du phosphore total. On a observé que le phosphore phytique constituait de 82 à 91 pour cent du phosphore total dans la graine complète, de 56 à 84 pour cent dans la graine décortiquée et de 85 à 95 pour cent dans le son. Dans les fractions obtenues par la mouture traditionnelle, la teneur en phosphore phytique était maximale dans le son, moindre dans la graine entière et minimale dans la graine décortiquée. Cela a donné à penser que le son et l'assise protéique de la graine étaient un réservoir important de phytates et de phosphore total dans le sorgho. Comme la mouture des variétés à endosperme n'élimine qu'une petite partie du péricarpe, la diminution du phosphore phytique est relativement moindre lors de la mouture de ces variétés. La disponibilité biologique de fer dans le sorgho pour les sujets humains s'est révélée influencée davantage par le phosphore phytique que par la teneur en tanin des graines (**Radhakrishnan et Sivaprasad, 1980**). Lorsqu'on perlait la graine de sorgho, une augmentation notable de la teneur en fer ionisable et en zinc soluble indiquait une amélioration de la disponibilité biologique de ces deux micronutriments, ce qui a été en partie attribué à l'élimination du phytate, de la fibre et du tanin avec le son lors du perlage (**Sankara Rao et Deosthale, 1980**).

### 4.2. Polyphénols ( tanins du sorgho)

Les composés phénoliques du sorgho peuvent être classés en acides phénoliques, flavonoïdes et phénols polymères condensés connus sous le nom de tanins. Les acides phénoliques, libres ou liés sous forme d'esters, sont concentrés dans les couches extérieures de la graine. Ils empêchent la croissance des micro-organismes, permettant ainsi probablement à la graine de résister à la moisissure.

Les flavonoïdes du sorgho, qui sont des dérivés du polyphénol monomère flavane-4-ol, sont appelés anthocyanidines. Les deux flavonoïdes identifiés comme abondants dans les graines de sorgho sont le lutéophorol (**Bate-Smith, 1969**) et l'apiphorol (**Watterson et Butler, 1983**). On a constaté que certaines variétés de sorgho à forte teneur en tanin étaient résistantes aux oiseaux (**Burns, 1971; Tripton et al., 1970**). Les tanins sont le composé phénolique le plus abondant que l'on rencontre dans le sorgho brun résistant aux oiseaux. Au cours de la maturation, la graine de sorgho brun devient astringente, ce qui lui confère une résistance aux oiseaux et à la moisissure. Cette qualité est importante dans les régions arides et semi-arides où les autres cultures échouent. Dans certaines de ces régions, on a signalé des pertes annuelles de production céréalière allant jusqu'à 75 pour cent ou parfois plus (**Mc Millan et al., 1972; Tripton et al., 1970**).

Si les tanins confèrent un avantage agronomique de résistance aux oiseaux, on a constaté qu'ils avaient des effets négatifs sur la qualité nutritionnelle de la graine (**Salunkhe et al., 1982; Salunkhe, Chavan et Kadam, 1990; Butler et al., 1984, 1986**). On a observé un retard de croissance chez les poussins alimentés avec des sorghos à forte teneur en tanin. Les tanins contenus dans la graine lui confèrent un goût astringent qui en diminue l'appétibilité, réduit la consommation alimentaire et par conséquent la croissance (**Butler et al., 1984**). Les tanins se lient à la fois aux protéines exogènes et endogènes, y compris les enzymes du tube digestif, ce qui a un effet négatif sur l'utilisation des protéines (**Asquith et Butler, 1986; Griffiths, 1985; Eggum et Christensen, 1975**). Plusieurs études sur les rats, les poussins et le bétail ont montré qu'une teneur élevée en tanin du régime alimentaire a un effet négatif sur la digestibilité des protéines et des hydrates de carbone et réduit la croissance, l'efficacité de l'alimentation, l'énergie métabolisable et la disponibilité biologique des acides aminés (**Rostango, 1972**). Certains des effets antinutritionnels du sorgho à teneur élevée en tanin sont peut-être dus à des flavonoïdes associés à faible poids moléculaire qui sont facilement

absorbés, empêchant l'utilisation métabolique des produits alimentaires digérés et absorbés **(Butler, 1988 ; Mehansho, Butler et Carlson, 1987)**.

Il n'existe pas de preuve directe des effets antinutritionnels des tanins alimentaires chez l'homme encore que l'on ait pu penser qu'une teneur élevée de tanins alimentaires avait un effet cancérigène **(Morton, 1970 ; Singleton et Kratzer, 1973)**.

### 5. Utilisation

- Alimentation humaine : Le sorgho peut se consommer en grain à l'instar du riz, ou être réduit en farine. 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 **(Serna-Saldivar et Rooney, 1995)**.

- le sorgho fourrager est utilisé en alimentation animale principalement dans les pays occidentaux et Afrique du Nord **(Erah et Ayuba, 2004)**.

- Production de sucre et sirop : des tiges du sorgho bicolore est extraite une mélasse ou un sirop sucré (sirop de sorgho) **(Tharanathan et Mahadevamma, 2003)**.

- Alcool, notamment au Burkina Faso, mais aussi et surtout en Chine avec le maotai, alcool de sorgho, considéré en Chine, comme le meilleur alcool, parfumé à la rose **(Erah et Ayuba, 2004)**.

- Agrocarburant : le sorgho à sucre pourrait être une solution pour produire un agrocarburant tel que le bioéthanol, avec le risque quasi-certain cependant de mettre en péril les cultures vivrières locales. Un projet pilote a été mis en place en Inde, d'autres sont en cours aux Philippines, au Mexique, au Mozambique et au Kenya. Peu demandé, contrairement au maïs, l'utilisation de cette plante facile à cultiver ne déstabilise pas encore le marché alimentaire. En revanche, l'accaparement de surfaces potentiellement destinées à l'alimentation va devenir un problème crucial **(Hubert Richard, 1998)**.

- Le sorgho fibre permet grâce à la méthanisation de sa biomasse la fabrication de biomatériaux destinés à la fabrication de films plastiques ou de balais biodégradables **(Jaques-Henry, 2001)**.

- Utilisations médicinales : Sorgho bicolore, à un pouvoir antioxydant, des études montrent son intérêt dans la prise en charge de patients séropositifs ou malades du sida dont il renforce le système immunitaire, en renforçant les parois capillaires, ils améliorent la circulation sanguine. C'est particulièrement important chez des sujets ayant un système circulatoire perturbé comme chez des victimes d'accident Cérébral, les diabétiques, les arthritiques, les fumeurs, les femmes utilisant une contraception orale ou, d'une façon plus générale, chez des personnes souffrant de pathologies associées au vieillissement (**Karppinen *et al.*, 2003**).

# Chapitre II : Les composés phénoliques et les flavonoïdes

## 1. Les composés phénoliques

### 1.1. Généralité

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement.

Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

Les composés phénoliques peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel, d'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (**Macheix et al., 2005**).

### 1.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques :

- ❖ celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples (**Bruneton, 1999**).
- ❖ celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly  $\beta$ -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (**Bruneton, 1999 ; Naczk et Shahidi, 2006**).

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (**Martin, 2003**).

## 1.3. Classification des structures phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en une dizaine des classes (**Harborne, 1999 ; Mancheix *et al.*, 2006**) (**tableau 1**) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant a des simple C6 à des forme très polymérisées ), en suit par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, hydroxylation, de méthylation...), en fin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autre molécules (glucides, lipides, protéines, autre métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) (**Mancheix *et al.*, 2006**).

**Tableau 01:** Les principales classes de composés phénoliques (**Harborne, 1989 ; Macheix *et al.*, 1990**).

Squelette carboné	Classe	Exemple	origine
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Citrus Citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonols</li> <li>• Anthocyanes</li> <li>• Flavanols</li> <li>• Flavanones</li> </ul> Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Déidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleure, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lingnanes	Pinorésinol	Pin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C <sub>15</sub> ) <sub>n</sub>	Tannins		Raisin rouge, Kaki

## 2. Flavonoïdes

### 2.1. Définition

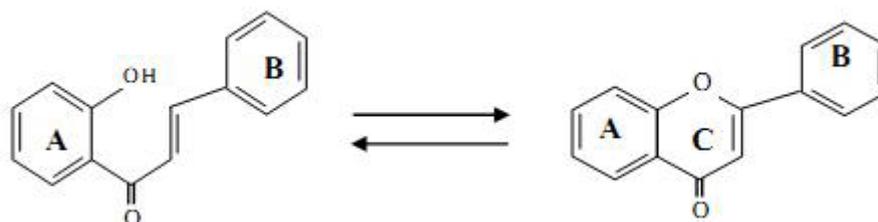
Les flavonoïdes (du latin flavus, jaune) ou bio flavonoïdes sont des substances généralement colorées répandues chez les végétaux (**Guignard, 1996**). Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (**Ghedira, 2005**), qui sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols (**Toufektsian *et al.*, 2008**).

Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois. Aussi, ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal (**Fritch et Griesbach, 1975**).

Les flavonoïdes jouent plusieurs rôles dans la plante, ainsi leur présence dans la cuticule foliaire assure la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV. Il a été établi aussi que les flavonoïdes contribuent à la résistance des plantes à certaines maladies (**Harborne et Williams, 2000**).

### 2.2. Structure chimique

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitués de deux cycles phényles, les cycles A et B, reliés par une chaîne à trois carbones (structure en C6-C3-C6). La chaîne en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisée pour former le cycle C (**Bruneton, 1999**) (**figure 1**).

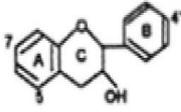
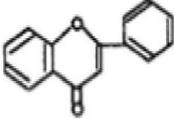
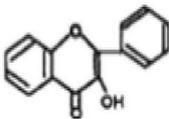
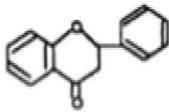
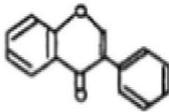
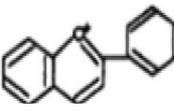


**Figure 1** : Structure de base des flavonoïdes (**Heller et Forkman, 1993**).

### 2.3. Classification des flavonoïdes

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (**Pietta, 2000**), 14 groupes différents ont été identifiés dont six groupes sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés : flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavonols, anthocyanidines (**Heim et al., 2002**) (**Tableau 2**).

**Tableau 2** : Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe (Heim *et al.*, 2002).

Classe	structure générale	flavonoïdes typiques	Substituants
Flavanol		(+)-catechin (-)-epicatechin Epigallocatechin gallate	3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallate
Flavone		chrysin apigenin rutin  luteolin luteolin glucosides	5,7-OH 5,7,4'-OH 5,7,3',4'-OH, 3-rutinoses  5,7,3',4'-OH 5,7,3'-OH, 4'-glucose 5,4'-OH, 4',7-glucose
Flavonol		kaempferol  quercetin	3,5,7,4'-OH  3,5,7,3',4'-OH
		myricetin tamarixetin	3,5,7,3',4',5'-OH 3,5,7,3'-OH,4'-OMe
Flavanone (dihydroflavon)		naringin naringenin taxifolin eriodictyol hesperidin	5,4'-OH,7-rhamnoglucose 5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 5,7,3',4'-OH 3,5,3'-OH,4'-OMe, 7-rutinoses
Isoflavone		genistin genistein daidzin daidzein	5,4'-OH, 7-glucose 5,7,4'-OH 4'-OH, 7-glucose 7,4'-OH
Anthocyanidin		apigenidin cyanidin	5,7,4'-OH 3,5,7,4'-OH,3,5-OMe

## 2.4. Localisation et distribution

### 2.4.1. Localisation

Les flavonoïdes sont impliqués dans de nombreuses interactions des plantes avec les conditions biotiques et abiotiques de leur environnement, ces substances sont accumulées dans différentes parties cellulaires et tissulaires de la plante durant l'organogénèse et sous l'influence de plusieurs facteurs stimulants (Hutzler *et al.*, 1998).

Au niveau cellulaire, on a observé que les flavonoïdes, sous forme d'hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux. Lorsque les flavonoïdes sont présents dans la cuticule foliaire, il s'agit presque toujours de génines libres dont la lipophilie est accrue par la méthylation partielle ou totale des groupes hydroxyles (**Bruneton, 1993**).

La répartition de ces composés montre des accumulations très localisées, généralement en relation avec une fonction physiologique ou avec l'interaction de la plante avec son environnement. Ainsi, les flavonoïdes qui ont une localisation épidermique ont un rôle d'écran vis-à-vis des rayonnements solaires, tandis que ceux qui sont impliqués dans les mécanismes de défense ont plutôt une localisation sous épidermique (**Piquemal, 2008**).

### 2.4.2. Distribution

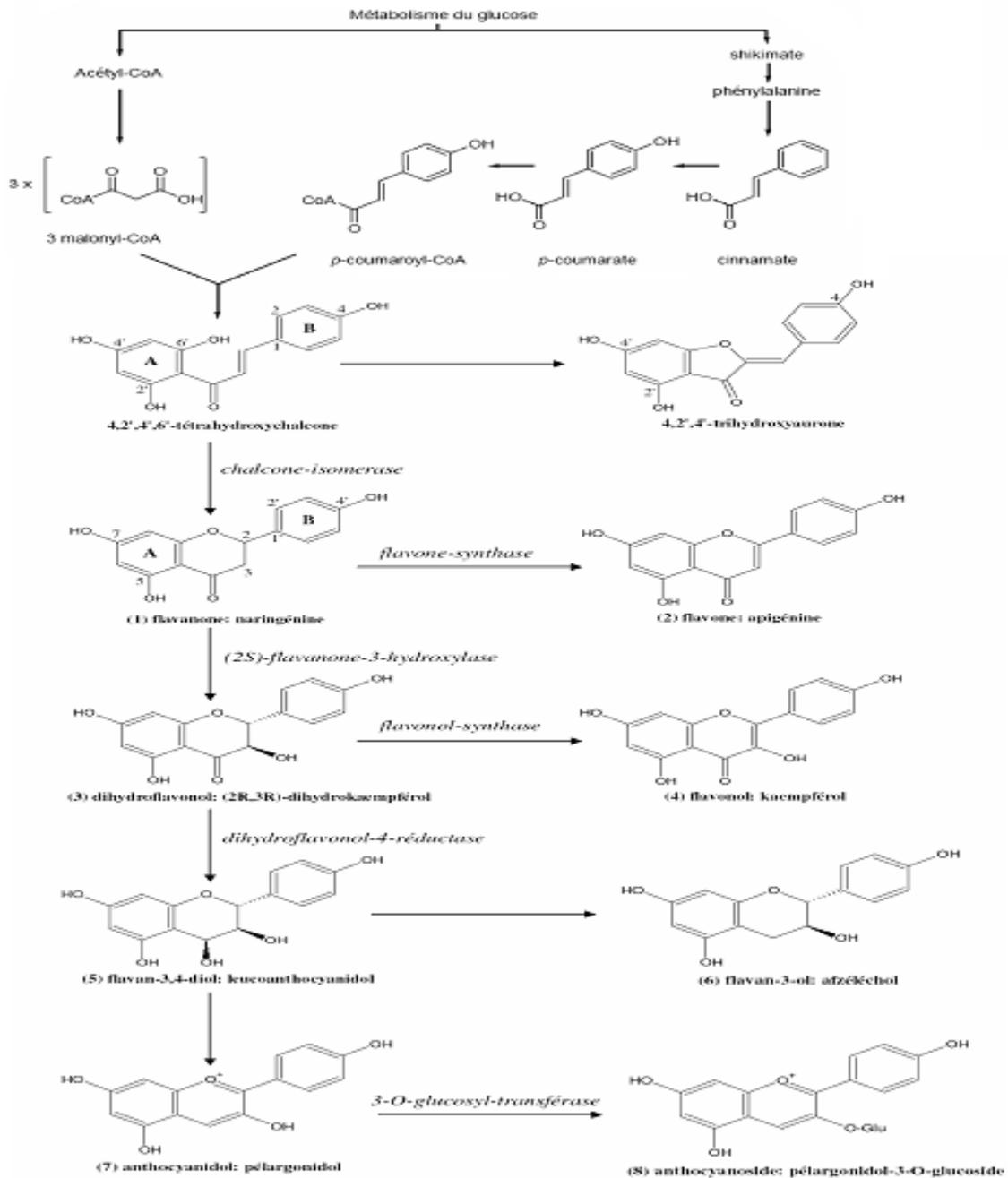
Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens (**Verhoeyen et al., 2002**), ils peuvent aussi être rencontrés dans certains boissons et chez certains fourrages (ex: trèfle) (**Urquiaga et Leighton, 2000**). Certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les flavanones dans les agrumes, les isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont eu une large distribution dans les fruits et les légumes tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs, sont considérés comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes (**Lahouel, 2005 ; Piquemal, 2008**).

### 2.5. Biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont synthétisés au niveau du chloroplaste et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons. Certains quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles (**Elicoh-Middleton, 2000**). Le chalcone représente le précurseur commun de tous les autres flavonoïdes. Il est métabolisé sous l'action de la chalcone isomérase en flavanone : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)- flavanone 3-hydroxylase pour donner les flavones : apigénine, dihydroflavonol et (2R-3R) dihydrokaempférol respectivement (**Remesy et al., 1996**).

Les deux enzymes citées fonctionnent différemment : la première introduit la double liaison entre les carbones 2 et 3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du C3. Le dihydroflavonol en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se

métabolise en flavonol, kaempférol ou en flavan-3,4-diol et leucoanthocyanidol respectivement (Ono *et al.*, 2006 ; Seeram *et al.*, 2006).



**Figure 2 :** Biosynthèse de différentes classes de flavonoïdes (Bruneton, 1999).

### 2.6. Propriétés des flavonoïdes

Les flavonoïdes présentent un intérêt thérapeutique qui date de la découverte de la vitamine C par Szent Gyorgyi (Prix Nobel, 1937), chercheur de l'Université de Szeged (Hongrie), qui a constaté que les symptômes hémorragiques du scorbut, liés à la fragilité ou l'hyperperméabilité des vaisseaux, étaient guéris par des extraits de paprika ou de jus de citron, riches en vitamine C et flavonoïdes. Cette action a été appelée propriété vitaminique P (P étant la première lettre du mot perméabilité) (Scalbert, 2004).

### 2.7. Propriétés biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes

#### 2.7.1. Propriétés anti-hépto-toxiques

La quercétine a été décrite comme étant un flavonoïde qui possède une activité protectrice vis-à-vis de l'hépatotoxicité du paracétamol chez le rat et la souris (Marfak, 2003).

#### 2.7.2. Propriétés antiallergiques

Les flavonoïdes peuvent inhiber les enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles (Marfak, 2003 ; Ghedira, 2005).

#### 2.7.3. Activité anti-inflammatoire

In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire : la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclooxygénase et lipooxygénase à des concentrations relativement élevées (Salvador *et al.*, 2007).

#### 2.7.4. Activité anti-ulcérogène

La naringine et la quercétine exercent une activité anti-ulcérogène mise en évidence chez le rat dont l'ulcère gastrique a été induit par l'éthanol (à 50%). La quercétine inhibe également la croissance d'*Helicobacter pylorii* (très résistant aux antibiotiques) (Ghedira, 2005).

#### 2.7.5. Propriétés antivirales et antibactériennes

Des propriétés antibactériennes et antivirales des flavonoïdes vis-à-vis de différentes souches bactériennes ont également été mises en évidence (Basile, 2005; Pereira, 2007; Özkan, 2007; Almajano, 2008). Les flavonoïdes atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire d'autres virus tels que le virus respiratoire

syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus (**Ghedira, 2005**).

Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales. Ce mécanisme semble être impliqué dans la protection des souris vis-à-vis d'une infection virale à la suite d'une administration journalière de 3-O-méthylquercétine à raison de 20 mg/kg pendant 9 jours. D'autres études ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPc dans des cellules infectées.

Les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs in vitro de l'ADN gyrase. Une étude récente a montré l'effet bactéricide de différentes flavanones sur un *Staphylococcus aureus* (**Marfak, 2003**).

## Chapitre III : Les radicaux libres et les antioxydants

### 1. Généralités

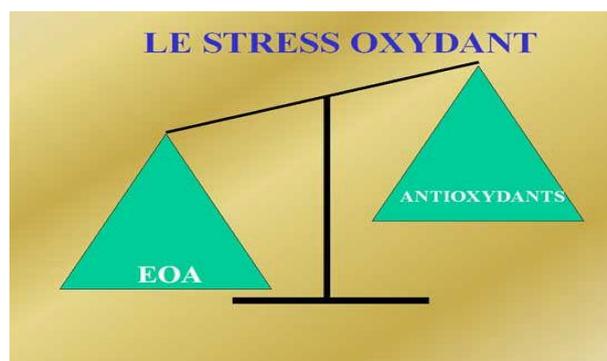
Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, du à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (**Walker *et al.*, 1982**).

### 2. les antioxydants

L'antioxydant, comme son nom l'indique est une substance chimique synthétique ou naturelle qui empêche ou inhibe les réactions d'oxydation de type radicalaire des corps gras. Les composés antioxydants font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leur utilisation comme des conservateurs dans les denrées alimentaires en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies (**Zoubidi, 2004**).

### 3. le stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Boyd *et al.*, 2003**).



**Figure 3 :** Balance oxydants/ antioxydants en faveur d'un stress oxydatif

### 4. les radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (**Jacques, André, 2004**).

Cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (**Martinez-Cayuela, 1995**).

### 5. Différents types 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. 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 ( $O_2^{\cdot-}$ ), le radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ), le monoxyde d'azote ( $NO\cdot$ ), le radical peroxyde ( $ROO\cdot$ ) et le radical alkoxyde ( $RO\cdot$ ). 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**).

### 6. Dommages oxydatifs des radicaux libres

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif » (**Rahman, 2002**). Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN (**Aurousseau, 2002**), (**Valko et al., 2006**). Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies ( **Aruoma, 1998**). Parmi ces maladies, nous citons, les maladies d'Alzheimer ( **Smith et al., 2004**), de Parkinson ( **Bolton et al., 2000**), de Creutzfeldt Jacob et de méningo-céphalites ( **Ali et al., 2008**) et les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque ( **Jha et al., 1995**), les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau ( **Georgetti et al., 2003**) et le cancer ( **Ali et al., 2008**).

### 7. Moyens de défense contre les radicaux libres

#### 7.1. A Les antioxydants enzymatiques

Ce type d'antioxydants possède une action directe sur les ERO et sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme. Les trois enzymes antioxydants majeurs sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) (**De Moffarts et al., 2005**).

#### 7.1. B Les antioxydants non enzymatiques

Les substances non enzymatiques représentent la deuxième ligne de défense contre les oxydants. Le système glutathion (GSH) reste un acteur majeur dans cette défense (**Sen et Packer, 2000**). Deux autres groupes d'antioxydants participent à la défense antioxydante :

- Les antioxydants lipophiles : les tocophérols, les rétinoïdes, les polyphénols, l'ubiquinol, la bilirubine et la mélatonine.
- Les antioxydants hydrophiles : l'acide urique, la vitamine C, les dérivés thiol et l'acide hyaluronique, les polyphénols (**Morel et al., 1999**).

#### 7.2. Polyphénols

Les composés phénoliques sont des antioxydants puissants avec des propriétés réductrices, de piégeage des radicaux libres, d'inhibition des systèmes enzymatiques responsables de la génération de radicaux libres et de chélation des métaux (**Kumaran et Karunakaran, 2007; Bourgou et al., 2008**).

**Yu-Ling et al., (2008)** ont montré récemment que les antioxydants phénoliques dans les plantes sont principalement composés d'acides phénoliques et de flavonoïdes qui ont des capacités d'inhiber l'oxydation lipidique, de prévenir les dommages oxydatifs de l'ADN et de piéger les ERO.

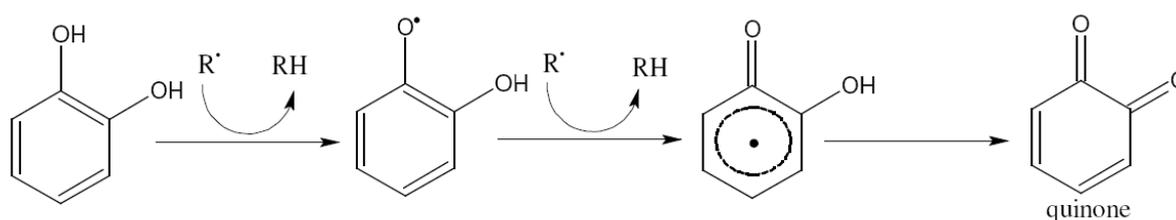
#### 7.3. Mode d'action des antioxydants

Les antioxydants peuvent réagir à différentes étapes du procédé d'oxydation et ils peuvent avoir plus d'un mécanisme d'action, ce qui ne facilite pas leur classification (**Frankel et Meyer, 2000**).

### 7.3.1. Les antioxydants préventifs par inhibition d'enzymes ou par chélation des éléments traces impliqués dans la formation des radicaux

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber une large gamme d'enzymes génératrices du  $O_2^{\bullet-}$  et d'autres ERO, comme la xanthine oxydase, la protéine kinase C, la cyclooxygénase, la lipooxygénase, la monooxygénase microsomal et la glutathion S-Transferase. Les flavonoïdes ayant un groupe catéchol sur le cycle B inhibent la succinoxidase mitochondriale et la NADH oxydase (Pietta, 2000).

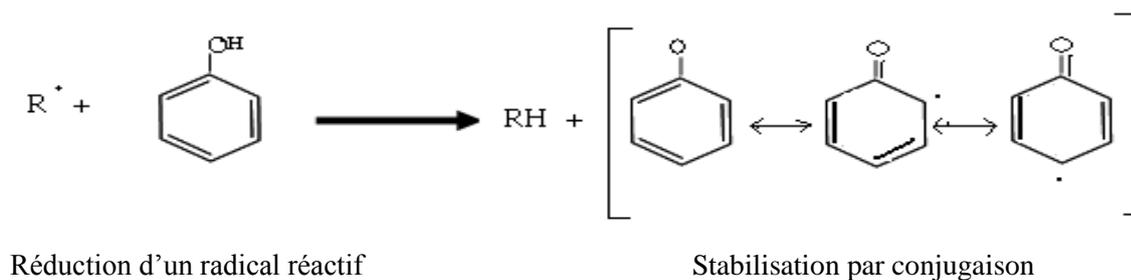
Ils peuvent aussi chélater les catalyseurs des réactions d'oxydation tels que les ions métalliques (fer et cuivre), c'est le cas par exemples des flavonoïdes (tels que la quercétine) et du sélénium (Cuyckens et Claeys, 2004). Les sites de liaison proposés pour chélater les traces de métaux par les flavonoïdes sont la fraction catéchol dans le cycle B, le 3-hydroxyle, les groupes 4-oxo dans le noyau hétérocyclique, et les 4-oxo, les groupes 5-hydroxy entre l'hétérocycle et le cycle A.



**Figure 4 :** Piégeage des ROS ( $R^{\bullet}$ ) par les flavonoïdes (marfak, 2003).

### 7.3.2. Les antioxydants piègeurs des ERO

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire de deux types de mécanismes: la libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certaines acides et dérivés phénoliques) et d'un électron (cinétique lente des dérivés glycosylés et des anthocyanes). Les antioxydants rentrent en compétition avec des radicaux déjà existants et contribuent à bloquer la phase de propagation. Dans le cas des composés phénoliques, le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome d'hydrogène. À cause de leur faible potentiel redox, ils sont capables de réduire les radicaux libres oxydants ( $R^{\bullet}$ ) comme le superoxyde, le radical peroxy, le radical alkoxy et le  $OH^{\bullet}$  par transfert d'hydrogène. Le radical aroxy résultant peut réagir avec un autre radical libre pour former une structure quinone stable. Les flavonoïdes sont aussi des principaux donneurs d'électrons. Cette capacité est appelée pouvoir réducteur (Rice-Evans *et al.*, 1996 ; Huang *et al.*, 2005).



**Figure 5** : Propriétés réductrices des polyphénols

### 8. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA), le tertbutylhydroquinone (TBHQ) sont des antioxydants synthétiques qui sont utilisés depuis de nombreuses années dans l'industrie alimentaire. Mais, récemment, beaucoup d'études ont porté sur leurs toxicité élevée (**Albayrak *et al.*, 2010**). L'intérêt pour les antioxydants naturels, qui a commencé depuis les années 1990, a stimulé le développement de méthodes efficaces et fiables afin de déterminer la capacité antioxydante de ces produits. Il n'existe pas de test de référence, *in vitro*, pour évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon, sachant de plus que cet échantillon peut présenter divers mécanismes d'action. Il faut donc combiner les réponses obtenues à l'aide de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester.

Les lipides sont les principaux constituants alimentaires vulnérables à l'oxydation, qui se traduit par une détérioration généralisée de l'aliment. Diverses méthodes de dosage de l'activité antioxydante, *in vitro*, dans des aliments ou dans des systèmes biologiques, induisent l'oxydation de lipides ou lipoprotéines dans des conditions standardisées. L'activité antioxydante est déterminée à partir de la mesure de l'inhibition de cette oxydation. D'autres protocoles de dosage mesurent l'activité antioxydante par piégeage des radicaux libres, c'est-à-dire l'activité antiradicalaire (Test au DPPH° et à l'ABTS°+). Le test du pouvoir réducteur (Test de réduction du Fer) met en avant la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron alors que celui de la chélation des ions Fe<sup>2+</sup> repose sur la capacité d'une molécule à fixer les ions Fe<sup>2+</sup>.

Ces ions jouent un rôle important lors de la production des radicaux libres notamment lors de la réaction de Fenton, qui survient à chaque fois qu'une molécule d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est en contact d'ions Fe<sup>2+</sup> et qui est à l'origine de la production des radicaux hydroxyles (OH), un des

radicaux les plus réactifs. Le fer joue aussi un rôle dans la phase de propagation de la lipoperoxydation ainsi que dans la formation du radical O<sub>2</sub> (Huang *et al.*, 2005).

Les tests qui ont été réalisés dans le cadre de ce travail sont les suivants :

### 8.1. Le test de la capacité antioxydante totale

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo (V) de couleur verte (Prieto *et al.*, 1999).

### 8.2. Le test de piégeage du radical DPPH°

Le corps à doser est ajouté à une solution de 2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH°) qui est un radical stable et coloré. Le maximum de son absorption dans le visible se situe vers 515-517 nm, dans le méthanol et l'éthanol. La réduction de ce radical par un donneur d'atome H (AH) conduit à la formation de DPPH-H de couleur jaune et du radical (A°) (Gouveia et Castilho, 2012).

### 8.3. Le test de la réduction de fer

C'est une méthode basée sur la réaction chimique de réduction du Fer (III) présent dans le complexe K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en Fe (II). L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm (Oyaizu, 1986).

### 8.4. Le test d'inhibition de blanchiment du β-carotène

Dans ce système, le β -carotène, considéré comme une molécule cible, est exposé à des radicaux libres formés par oxydation de l'acide linoléique, en présence d'un piègeur de radicaux libres, c'est à dire l'extrait testé. C'est l'inhibition du blanchiment du β-carotène qui va être mesurée à 470 nm (Koleva *et al.*, 2002).

### 8.5. Le test de piégeage du radical ABTS°+

En réagissant avec le persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), l'ABTS [acide 2,2'- azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)] forme le radical ABTS°+, de couleur bleue à verte. L'ajout d'antioxydants va réduire ce radical et provoque une décoloration mesurée à 734 nm (Re *et al.*, 1999).

### 8.6. Le test de chélation de fer

La quantification de complexe ferrozine-Fe<sup>2+</sup> par spectrophotométrie à 562 nm dans un milieu de concentration connue en fer renseigne sur la quantité de fer non chélaté et donc sur la capacité des extraits à piéger cet élément (Zhao *et al.*, 2006).

# Matériel et Méthodes



### 1. Matériel végétal

#### 1.1. Origine géographique et périodique de récolte du sorgho blanc

Notre choix s'est porté sur la céréale du sorgho blanc (*Sorghum bicolor* L.), consommée par la population du sud d'Algérie, appartenant à la famille des poacées (graminée), connue sous le nom vernaculaire « draa ou bechna ». Les panicules du sorgho ont été récoltées au stade de maturité le mois d'octobre 2014, d'une exploitation située à la région d'Aougrou (120 km du nord d'Adrar et 70 km du sud de Timimoune).

Au laboratoire, les grains complets du sorgho sont séchés à l'abri de la lumière puis sont conservés dans des bocaux en verres hermétiquement fermés.

#### 1.2. Identification botanique

Le sorgho blanc a été identifié par l'INRA d'Adrar, c'est une variété sans tanins très consommée par la population du sud Algérien.



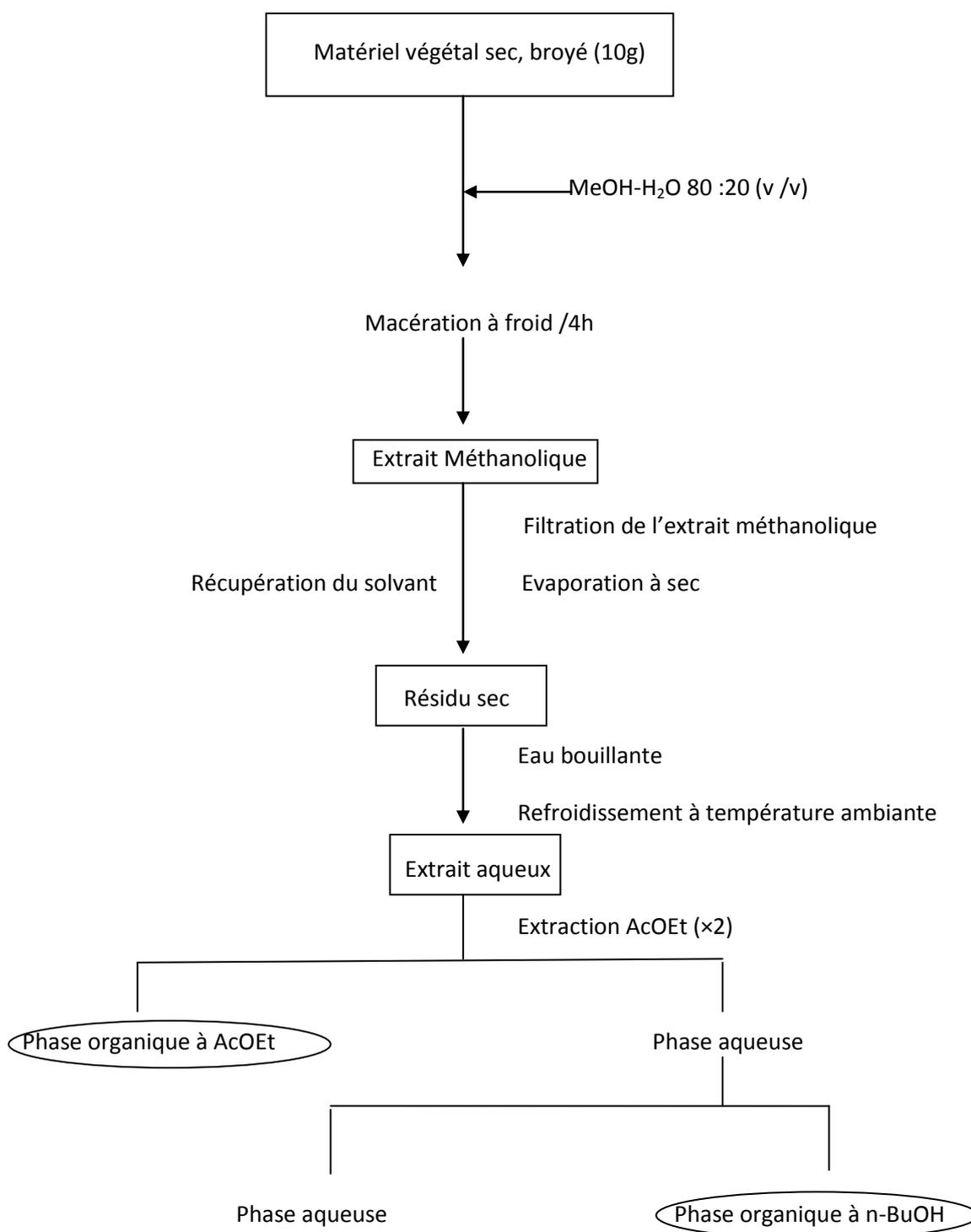
**Photo 03.** Photographie de quelques épis du sorgho (*Sorghum bicolor* L.)

### 2. L'extraction des flavonoïdes

L'extraction des flavonoïdes de Sorgho blanc est réalisée par la méthode décrite par **Bekkara et al., 1998** « fractions d'acétate d'éthyle et butanolique ».

Une masse de 10 gramme d'échantillons est mise en contact avec 100 millilitres de méthanol / eau (80/20) pendant 24 heures sous agitation. L'extrait méthanolique récupéré est ensuite évaporé à sec (T=45°C) à l'aide d'un rotavapeur type Buchi R-200. Le résidu sec obtenu est partagé entre 100 millilitres d'acétate d'éthyle et 100 millilitres d'eau distillée chaude dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation des deux phases, la phase d'acétate

d'éthyle est récupérée puis séchée par un évaporateur rotatif. Le résidu sec est repris par 6 ml de méthanol. La phase aqueuse issue de l'extraction avec l'acétate d'éthyle est partagée avec 100 millilitres du n-butanol. La phase butanolique est séchée au rotavapeur à 45°C. Le résidu sec pesé, est repris par 6 millilitres de méthanol (**Figure 6**).



**Figure 6:** Schéma d'extraction des flavonoïdes (Bekkara *et al.*, 1998).

### 3. Le rendement en extrait sec

Nous pouvons déterminer le rendement en extrait sec par le rapport entre le poids de l'extrait sec déjà calculé (en gramme), avec le poids du matériel végétal utilisé pour l'extraction en gramme. Les rendements sont calculés par rapport à 100g de matière végétale sèche.

$$\text{Rdt (\%)} = (P_1 - P_2 / P_3) \times 100$$

**P<sub>1</sub>** : poids du ballon après évaporation ;

**P<sub>2</sub>** : poids du ballons avant évaporation (ballon vide) ;

**P<sub>3</sub>** : poids de la matière végétale de départ.

### 4. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé en utilisant la méthode colorimétrique au 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.

#### Mise en œuvre pratique :

La quantification des flavonoïdes de nos extraits est réalisée par la méthode colorimétrique décrite par **Zhishen *et al.*, 1999 et reprimé Ardestani et Yazdanparast, 2007.**

500µl de l'extrait brut sont mélangés avec 2 ml d'eau distillée suivi de 150µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) à 15%. Après 6 minutes, 150µl de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub> . 6H<sub>2</sub>O) à 10% sont ajoutés au mélange, le tout est laissé pendant 6 minutes, ensuite, 2ml d'hydroxyde de sodium à 4% sont ajoutés aux tubes et le volume final est complété immédiatement à 5ml par de l'eau distillée.

Après 15 minutes, la lecture est faite à 510 nm contre un blanc au spectrophotomètre (PerkinElmer, Lambda 800).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme de matière végétale sèche.

### 6. Etude du pouvoir antioxydant

L'évaluation de l'activité antioxydante in vitro des fractions flavoniques (acétate d'éthyle et butanolique) de Sorgho blanc a été réalisée par trois méthodes à savoir : la réduction du fer et le piégeage du radical libre DPPH, la décoloration du bêta-carotène.

#### 6.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm (**bandonienne et al., 2002**) ; (**Pavlov et al., 2002**) ; (**Gazi et al., 2004**).

Le test consiste à mettre une solution méthanolique de DPPH de couleur violette à une concentration connue, en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire le radical DPPH. La forme réduite de couleur jaune n'absorbe plus ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde (**Majhenić et al., 2007**).

L'effet des extraits de Sorgho blanc sur le (DPPH) est mesuré par la procédure décrite par (**Atoui et al., 2005** ; **Benhammou et al., 2007**). Un volume de 50 µl de différentes concentrations de l'extrait exprimées en mg/ml est ajouté à 1.950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0.025 g/l) fraîchement préparée. L'absorbance est mesurée à 515 nm après 30 min d'incubation à la température ambiante. Les pourcentages d'inhibition (%) du radical DPPH sont calculés à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{DO}_{\text{témoin}} - \text{DO}_{\text{échantillon}}) / \text{DO}_{\text{témoin}}] * 100$$

Où : DO témoin : représente l'absorbance du contrôle sans extrait après 30 min.

DOéchantillon : représente l'absorbance en présence d'extrait après 30 min.

La variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations d'extrait nous a permis de calculer la concentration efficace (efficient concentration value : IC<sub>50</sub>). Cette dernière est définie comme la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration initiale du DPPH à 50 %.

➤ Calcul de l'activité antiradicalaire (Scavenging activity) :

L'activité anti-radicalaire est déterminée en calculant l'inverse des valeurs des IC<sub>50</sub> trouvées (**Maisuthisakul et al., 2007**).

$$A_{AR} = 1/IC_{50}$$

L'activité anti-radicalaire est comparée à celle de l'acide ascorbique.

### 6.2. Réduction du Fer : FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ).

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par **Oyaizu (1986)**.

En effet, 1 ml de différentes concentrations de chaque extrait est mélangé avec 2.5 ml de la solution tampon phosphate (0,2 M ; pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) à 1%. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 30 min. Après, 2.5 ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionné. Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10min. En suite, 2.5 ml du surnageant de chaque concentration est mélangé avec 2.5 ml de l'eau distillée et 500 $\mu\text{l}$   $\text{FeCl}_3$  (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type SpecordR 200 plus.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

L'acide ascorbique est utilisé comme un contrôle positif. Les expériences sont répétées deux fois.

### 6.3. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta-carotène ( *$\beta$ -carotene Bleaching method*)

Cette technique de spectrophotométrie dans l'ultraviolet consiste à mesurer, à 470 nm, la décoloration du  $\beta$ -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique.

La dispersion de l'acide linoléique et du  $\beta$ -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50 °C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induit un retard de la cinétique de décoloration du  $\beta$ -carotène. Cette méthode est sensible, rapide et simple s'agissant d'une mesure spectrophotométrique dans le visible. Elle présente également l'avantage de pouvoir être couplée à la chromatographie sur couche mince.

Cependant, l'oxydation induite par voie thermique est non contrôlée et donc non spécifique, ce qui conduit bien souvent à une variabilité des résultats (**Laguerre et al., 2007**).

En effet pour étudier l'activité antioxydante par la méthode de décoloration du  $\beta$ -carotène, nous avons choisi de travailler avec le protocole expérimental décrit par **Koleva et al., 2002**.

Pour préparer l'émulsion du  $\beta$ -carotène, 2 mg de ce dernier sont dissous dans 20 ml de chloroforme, puis 4 ml de cette solution est mélangé avec 40 mg d'acide linoléique purifié et 400 mg du Tween 40 (tous ces produits sont fournis par Fluka). Le chloroforme est évaporé

par un Rotavapor (BUCHI Rotavapor R-200) et le résidu obtenu est repris par 100 ml de peroxyde d'hydrogène à 30%.

3 ml de cette émulsion sont préparés, pour lesquelles 200 µl d'extraits bruts méthanoliques de nos échantillons étudiées ou d'antioxydant de référence (BHA) à la concentration 2,5 mg/ml sont ajoutés. Le mélange est bien agité et la lecture de l'absorbance à 470 nm se fait immédiatement à  $t_0$  contre un blanc qui contient l'émulsion sans le  $\beta$ -carotène.

Les tubes couverts sont placés dans un bain marie réglé à 50°C et la lecture de l'absorbance est faite à  $t_0$  et après incubation de 120 minutes.

Un contrôle négatif est réalisé en parallèle, comprenant 3 ml de l'émulsion du  $\beta$ -carotène et 200 µl de méthanol.

### Expression des résultats

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la décoloration du  $\beta$ -carotène en employant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [1 - (A_{\theta} - A_t / A_{\theta}^0 - A_t^0)] \times 100 \text{ (Ozsoy et al., 2008).}$$

**AA** : Activité antioxydante

$A_{\theta}$  : Absorbance de l'échantillon à  $t_0$ .

$A_t$  : Absorbance de l'échantillon après incubation de 120 minutes.

$A_{\theta}^0$  : Absorbance du contrôle négatif à  $t_0$ .

$A_t^0$  : Absorbance du contrôle négatif après incubation de 120 minutes.

# Résultats et Interprétation



### 1. Rendement en extrait sec

Le rendement a été déterminé par rapport à 100g de matériel végétal sec, les résultats ont été exprimés en pourcentage, le rendement de l'extraction par macération à froid est de 2.97% (tableau 3).

**Tableau 03** : Rendement d'extrait obtenu.

Extrait brut	Rendement (%)
Sorgho blanc	2.97

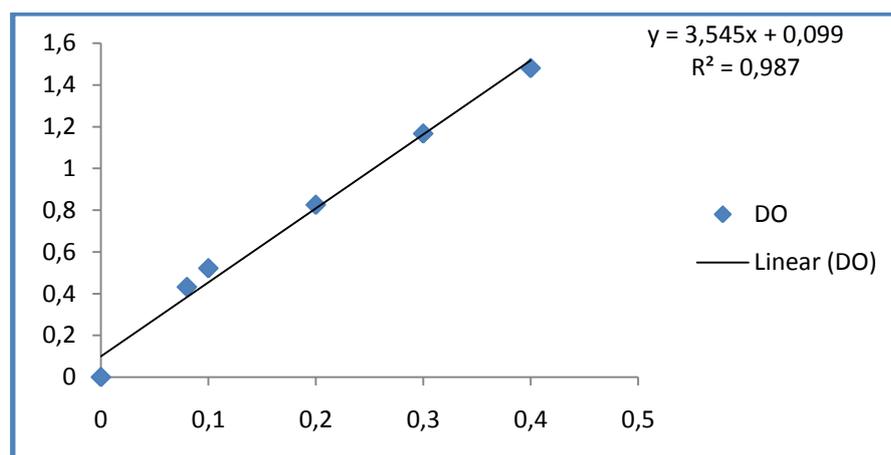
Ce résultat nous permet de conclure que le rendement d'extraction obtenu à partir du sorgho blanc est relativement faible.

### 2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques à activité antioxydante bien connue. Dans diverses études, l'activité antioxydante a été jugée assez élevée, lorsque les extraits de la plante sont riches en flavonoïdes (**Cakir et al., 2003**).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par **Zhishen et al (1999)**. La concentration des flavonoïdes est exprimée en équivalent gramme de catéchine. Elle est calculée selon l'équation:

$Y = A x + B$  obtenue à partir du graphique standard de cette dernière (Figure 7).



**Figure 7** : Courbe d'étalonnage de la catéchine (mg/ml).

La quantité des flavonoïdes de sorgho blanc est de **1.11 mg/ml** équivalent à la catéchine /100g. Cette teneur en flavonoïdes est relativement faible.

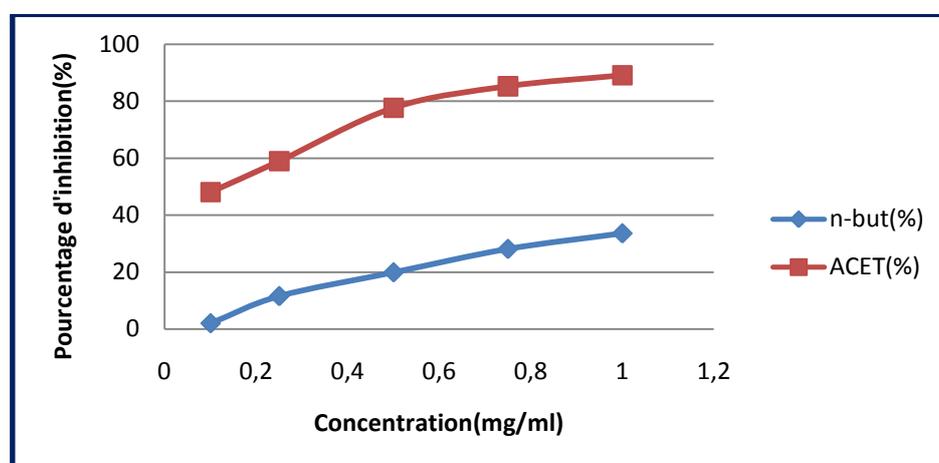
### 3. L'étude de l'activité antioxydante

Les flavonoïdes sont des molécules connues pour leurs propriétés antioxydantes (**Robak, 1988**). Afin d'évaluer cette activité antioxydante des extraits naturels de notre céréale, trois méthodes ont été adoptées qui sont: le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du Fer et la décoloration du bêta-carotène.

#### 3.1 Piégeage du radical libre DPPH

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (**Bozin et al., 2008**).

Dans cette étude, nous avons choisi d'étudier l'activité antioxydante des deux fractions : acétate d'éthyle et n-butanol de sorgho blanc afin de préjuger et localiser la fraction qui présente le plus d'activité. La figure suivante rapporte les pourcentages d'inhibition du radical DPPH calculés selon la formule donnée dans la partie matériel et méthodes (page 29) en fonction des concentrations utilisées de chaque extrait, avec les représentations graphiques.



**Figure 8** : pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle et de la fraction n-butanol

D'après la figure, la phase d'acétate d'éthyle a une activité plus élevée de piégeage du radical libre DPPH par rapport à celle de la phase n-butanol mais qui reste inférieure à celle du contrôle.

L'IC<sub>50</sub> est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Plus la valeur de IC<sub>50</sub> est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est grande (**Pokorny et al., 2001**).

D'après les résultats obtenus, on n'a pas pu calculer l'IC<sub>50</sub> ce qui signifie que les deux fractions flavoniques du sorgho blanc donne un pourcentage d'inhibition faible de piégeage du radical libre DPPH.

### 3.2 Réduction du Fer : FRAP

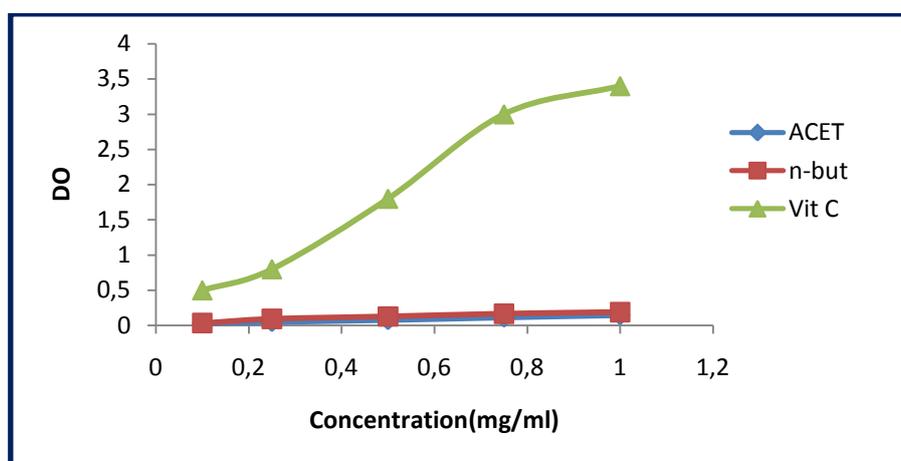
C'est une analyse de l'activité antioxydante, basée sur la capacité des réductants (flavonoïdes) présents dans un milieu donné à réduire le Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup>. En effet, la formation de Fe<sup>2+</sup> peut être suivie par spectrophotométrie en mesurant la densité de la couleur bleu du complexe ferreux du milieu réactionnel à 700 nm.

L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Ozturk et al., 2007**).

Dans notre travail, nous avons opté pour tester les deux fractions extraites à partir du sorgho blanc : acétate d'éthyle et n-butanol afin de localiser la fraction la plus active.

Les résultats obtenus sont explorés en traçant les graphes des absorbances obtenus en fonction des différentes concentrations utilisées pour les deux fractions.

La figure 9, regroupe les pouvoirs réducteurs des deux fractions comparées à celui de la vitamine C (antioxydant de référence), testés vis-à-vis du fer .



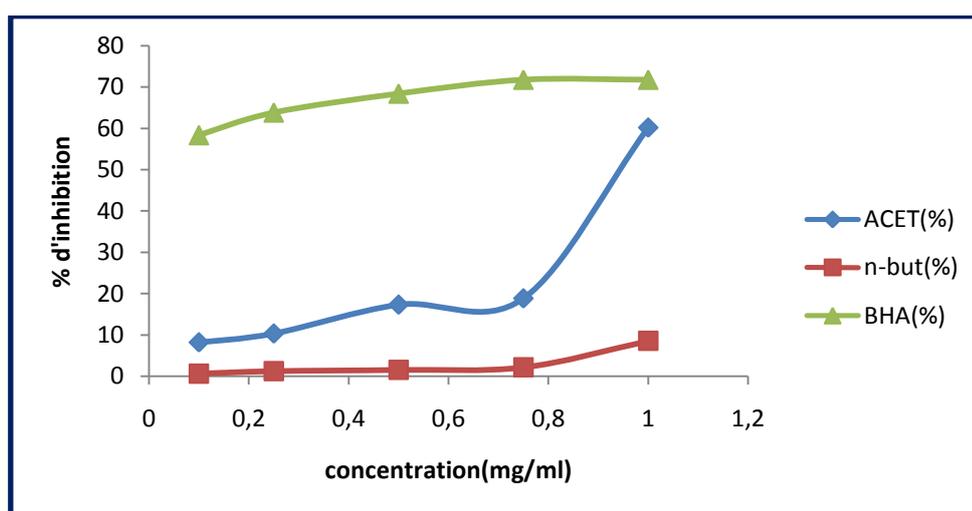
**Figure 9** : pouvoir réducteur des deux extraits testés par la méthode FRAP comparé avec l'acide ascorbique

Le sorgho blanc a montré une capacité à réduire le fer largement inférieure à celle de la vitamine C, cela explique que les deux fractions étudiées sont probablement faible en composés oxygénés qui possèdent un caractère réducteur remarquable vis-à-vis des ions ferreux  $Fe^{3+}$ .

### 3.3 Activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta-carotène

Dans ce teste, l'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux peroxydes qui attaquent les onze doubles liaisons du  $\beta$ -carotène, ce qui entraine une décoloration de ce dernier mesuré sepectrophotométriquement à 470 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutralisé les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchiment du  $\beta$ -carotène (**Kubola et al., 2008**).

Les résultats de l'effet antioxydant de notre échantillon sur l'auto-oxydation de l'acide linoléique sont représentés dans le graphe ci-dessous (figure 10)



**Figure 10 :** Activité antioxydante des deux extraits de sorgho avec le BHA comme antioxydant de référence.

Nous remarquons d'après la figure, la faible activité de l'extrait n-butanol qui présente un effet relativement négligeable concernant l'inhibition de la décoloration du  $\beta$ -carotène.

En revanche, l'extrait d'acétate d'éthyle présente une activité importante à la concentration 1 mg/ml, légèrement inférieure à celle du BHA, ce qui signifie, probablement, un pouvoir relativement proche vis-à-vis de l'inhibition de la décoloration du  $\beta$ -carotène à la même concentration.

# Discussion

Les composés phénoliques sont les métabolites secondaires les plus couramment trouvés dans les aliments d'origine végétale (**Joseph et al., 2007 ; Ramos, 2007**). Ainsi la capacité des plantes et certains aliments dérivés des plantes à réduire le risque de maladies chroniques associé à la présence de métabolites secondaires, qui ont été connus pour exercer une vaste gamme d'activité biologique. En générale, ces métabolites ont une faible puissance comme composés bioactifs par rapport aux médicaments pharmaceutiques, mais comme ils sont ingérés régulièrement dans le cadre du régime, ils peuvent avoir un effet physiologique notable à long terme (**Espin et al., 2007**). Notamment, ces produits sont recherchés en raison de leur synergie, leur sécurité, leur statut économique, et ils ont moins d'effets secondaires à doses faibles que de nombreux médicaments couramment prescrits dans le traitement de certains symptômes pathologiques (**Raskin et al., 2002**).

A la récolte, les grains de céréales se trouvent à l'état de dormance, le métabolisme cellulaire se situe dans ses conditions de base. Les composés phénoliques présents alors dans un grain ne constituent que des molécules « starters » ou précurseurs. Ces derniers se trouvent principalement dans les tissus qui restent encore vivants de la graine : la couche d'aleurone du son et le scutellum du germe. D'après **Quattrochio et al., 2006**, au départ, les enzymes du métabolisme primaire peuvent déjà avoir produit de petites quantités de plusieurs flavonoïdes simples, du fait d'un manque de spécificité complète pour le substrat de ces enzymes.

Les composés phénoliques de la graine ont un rôle important dans sa défense au cours de sa maturation et de sa germination. La reprise de la respiration et du processus métabolique, les « starters » vont initier les voies de biosynthèse et seront par la suite diversifiés.

Les facteurs environnementaux (climat, lumière) peuvent jouer aussi un rôle important dans cette différence. D'autres facteurs peuvent influencer le contenu phénolique : la nature du matériel végétal investigué, la méthode d'extraction, la taille des particules de l'échantillon, les conditions, le temps du stockage et la présence des substances d'interférences telles que les cires, lipides et chlorophylle (**Knežević et al., 2012**).

Les composés phénoliques des céréales ont la particularité d'être beaucoup plus liés aux parois cellulaires (jusqu'à 80%) (**Liyana-Pathirana et Shahidi, 2007 ; Verma et al., 2009**) et jouent ainsi un rôle structural. Pour cela, l'extraction de ce type de matériel végétal nécessite préalablement une hydrolyse (acide, basique, ou enzymatique). Celle-ci a été évitée pour empêcher la modification chimique de nos molécules.

L'intérêt porté aux composés phénoliques n'est pas seulement d'ordre quantitatif. **Vitaglione et al., 2008** indiquent qu'une présence continue d'une concentration relativement faible en

composés phénoliques peut avoir des potentiels bénéfiques pour la santé en comparaison avec une observation immédiate d'un pic de concentration élevée en antioxydant dans le plasma après l'ingestion des aliments riches en composés phénoliques libres. Les composés phénoliques liés aux parois cellulaires sont résistants à l'action des enzymes humaines, et peuvent survivre dans l'estomac et l'intestin grêle et ainsi peuvent atteindre le côlon. La microflore du côlon peut libérer les composés phénoliques liés à travers la fermentation et ainsi fournir des éléments bénéfiques pour la santé dans le côlon ou autres tissus après leur absorption (**Oliveira et al., 2009**).

Afin d'évaluer le dosage des flavonoïdes totaux et des propriétés antioxydantes de la céréale étudiée, nous avons procédé à l'extraction des graines du sorgho blanc qui a été effectué par l'extrait méthanolique 80 %. Sachant que les composés phénoliques sont constitués de 3 grandes familles : Acides phénolique, flavonoïdes et tanins (**Beta, 2003 ; Dicko et al., 2006 ; Dykes et al., 2006**).

Le choix du mélange méthanol/eau à 80/20, considéré comme un mélange à polarité élevée, a été choisi pour la réalisation des extractions. Ce choix est basé sur les résultats de plusieurs travaux antérieurs qui ont montré que le rendement d'extraction augmente de manière significative avec l'utilisation d'éthanol aqueux ou du méthanol aqueux par rapport à des extractions aux solvants organiques purs (**Vazquez et al., 2008; Mussatto et al., 2011**). Plus précisément, l'addition d'eau à 20% aux solvants polaires améliore l'extraction des composés phénoliques en particulier à l'éthanol, le méthanol ou l'acétone (**Robards et Antolovich, 1997; Trabut, 2006**). Ce comportement peut être expliqué par le fait que la présence de l'eau déstabilise les parois cellulaires. Par conséquent, en pénétrant plus profondément dans la matrice végétale, le solvant peut entrer au contact avec une quantité plus grande du soluté, favorisant ainsi l'extraction. D'autre part, la diminution du taux d'extraction à des concentrations plus faibles de 50% peut être attribuée à la diminution de la capacité du solvant, devenant de plus en plus pauvre en alcool (**Penchev et al., 2010; Mussatto et al., 2011**).

Après évaporation à sec, l'extrait sec a été pesé pour déterminer le poids résultant et le rendement a été calculé par rapport à 100g de matériel végétal à sec. On a obtenu un rendement faible de **2.95 % (P/P)**, il est difficile de comparer ce résultat avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de la variété, de l'espèce, de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, ainsi qu'à l'origine géographique du sorgho (**Lee et al., 2003**).

Pour la teneur en composés phénoliques (flavonoïdes) on a quantifiée les flavonoïdes par un dosage calorimétrique au trichlorure d'aluminium et la soude (**Li et al., 2007**), le dosage des composé flavonoïque à été calculé à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine et exprimé en milligrammes d'équivalent catéchine par gramme de sorgho blanc, qui nous a permis de déduire que le sorgho blanc à une concentration en flavonoïdes estimée à **1.11 mg/ml**. Il existe très peu de travaux sur les flavonoïdes du sorgho blanc. Nous avons estimé de comparer nos résultats avec ceux de l'étude faite par **Naczk et Shahidi, 2006** sur le millet qui montre que ce dernier présente une teneur en flavonoïde qui varie entre **0.8 et 2.6 mg/ml** dans l'extrait de l'acétone, et il a constaté que l'acétone est rapporté à être un meilleur solvant d'extraction (solvants polaires).

Selon l'étude faite par **Ragaee et al., 2006** sur le millet, la teneur en flavonoïde a été estimée à **4.2 mg/ml** dans l'extrait de méthanol, cette valeur est supérieure par rapport à celle de **Naczk et Shahidi, 2006** d'où il a trouvé une valeur estimée à **2.6 mg/ml**, comme il a soulevé que les flavonoïdes sont relativement mieux extraits dans des solvants de méthanol et de l'acétone eau pour la même étude. Ce qui n'est pas le cas avec nos résultats, d'où nous avons constaté que notre extrait présente une teneur plus ou moins faible en flavonoïdes par rapport aux études précédentes sur le millet.

Cependant on insiste à quelques différences entre nos résultats et ceux obtenus par **Naczk et Shahidi, 2006** et **Ragaee et al., 2006** qui ont révélé la présence des tanins qui sont totalement absent dans notre extrait, cette différence pourrait s'expliquer par la durée d'extraction ou le mode d'extraction, et par la présence ou l'absence de la classe des tanins pour les céréales.

La mise en évidence du tanin dans notre céréale étudiée n'a révélé aucune trace de ce dernier ce qui confirme que l'échantillon étudié est une variété du Sorgho blanc sans tanins. Selon l'hypothèse de **Dykes et al., 2006** faite sur les espèces du Sorgho, la variété du Sorgho blanc étudiée peut être classée dans la catégorie de type I. Trois type de Sorgho existent : les sorghos de type I dont la teneur en tanins est inférieur à **0.02 %**, le type II compris entre **0.02 et 0.19 %** et le type III situé entre **0.4 et 3.5 %** (**Dykes et al., 2006**). Les sorghos riches en tanins sont une source d'antioxydants, substances intéressantes à faible dose pour la santé humaine. Leur désavantage se situe au niveau des interactions tanins-protéines, particulièrement pour les sorghos des groupes II et III. Ces interactions affectent la digestibilité des protéines et des hydrates de carbone, en inhibant ainsi les enzymes comme les amylases. Il faut reconnaître qu'actuellement beaucoup d'aliments traditionnels et les boissons alcoolisées sont fait à partir de sorgho à tanins (**Awika et al., 2004**).

Ces différences peuvent être attribuées aussi au type de cultivar, l'origine géographique, le degré de maturité et les conditions de stockage, mais aussi les tests analytiques. En effet, dans la plupart des études citées, des différences ont été observées en ce qui concerne le temps d'extraction et le solvant utilisé pour l'extraction phénolique (**Chougui et al., 2013**).

Il est à noter un intérêt croissant aux antioxydants naturels d'origine végétale en raison de leurs capacités biologiques prometteuses pour protéger le corps humain contre les effets néfastes des radicaux libres, pour retarder la progression de plusieurs maladies chroniques et éviter le rancissement des aliments par l'oxydation des lipides.

Les évaluations des propriétés antioxydantes des composés naturels sont très importantes grâce à leurs utilisations en médecine, dans les secteurs alimentaires et en cosmétiques (**Mishra et al., 2012**). Plusieurs méthodes ont été développées (plus d'une vingtaine) qui sont généralement basées sur les réactions d'oxydo-réduction et la capacité des composés phénoliques d'agir comme agents réducteurs ou donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électron (**Stalikas, 2007**).

Pour cette raison, trois techniques spectrophotométriques ont été choisies pour évaluer la capacité antioxydante (DPPH, FRAP et  $\beta$ -carotène), qui permettent de mesurer la capacité de piégeage du radical libre DPPH, la puissance de réduction du fer et le pourcentage d'inhibition du blanchiment du  $\beta$ -carotène, du sorgho blanc. Les deux méthodes FRAP et DPPH sont largement utilisées pour évaluer l'activité antioxydante dans les aliments et les systèmes biologiques (**Frankel et Meyer, 2000**).

Le radical DPPH stable est généralement utilisé comme un substrat pour évaluer l'activité antioxydante des extraits bioactifs (**Wong et Kitts, 2006**). Cette technique met en évidence si les composés phénoliques ont pu libérer un électron de leur groupe hydroxyle pour piéger le radical DPPH en fonction des différentes concentrations (**Maisuthisakul et al., 2007**).

Le pouvoir antioxydant de réduction ferrique (FRAP) mesure la capacité réductrice des antioxydants contre les effets oxydatifs des espèces réactives de l'oxygène. Ce dosage est basé sur la capacité des antioxydants à réduire la forme ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) à la forme ferreuse ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Par conséquent, la réduction peut être déterminée par mesure de la formation du bleu de Prusse de Perl à 700 nm (**Chung et al., 2002 ; Gülcin et al., 2010**).

La méthode d'évaluation de l'activité antioxydante par la décoloration du  $\beta$ -carotène est une méthode spectrophotométrique qui permet de suivre, à 470 nm, la décoloration du  $\beta$ -carotène (**Moure et al., 2000**). Le  $\beta$ -carotène subit une décoloration rapide en l'absence d'un antioxydant qui aboutit à une réduction de l'absorbance de la solution d'essai avec le temps de réaction (**Khadri et al., 2008**), cela est dû à l'acide linoléique qui produit des hydroperoxydes

pendant son incubation à 50°C (**Kubola et Siriamornpun, 2008**), ces dernières attaquent les insaturations du  $\beta$ -carotène, et en conséquence, la couleur caractéristique de ce dernier disparaît (**Khadri et al., 2008**). **Deba et al., 2008** suggèrent que l'activité antioxydante des polyphénols extraits des plantes réside dans le fait que ces derniers ont la capacité de donner des atomes d'hydrogène aux radicaux libres issus de l'oxydation de l'acide linoléique et, par conséquent, stoppent l'attaque de ces radicaux sur le  $\beta$ -carotène. Dans le même contexte, **Mayachiew et Devahastin, 2008** dans leur publication, attribuent aux polyphénols leur pouvoir antioxydant, dans ce type de méthode, à leurs propriétés redox qui incluent le piégeage des radicaux libres, l'inhibition de l'oxygène singulet et leur pouvoir de céder leurs atomes d'hydrogène.

En effet, l'extrait flavonique du Sorgho révèle un pouvoir antioxydant faible de piégeage du radical libre DPPH. Nous n'avons pas pu exprimer cette activité en  $IC_{50}$  ce qui signifie que le sorgho blanc donne un pourcentage faible de piégeage du radical libre DPPH, ces résultats sont en accord avec les travaux de (**Karamak et al., 2002**) sur les extraits des embryons et des caryopses du sorgho qui sont marqués par une faible réduction qui caractérise tous les extraits (**Marie Eve, 2005**), contrairement aux résultats obtenus par (**Abbe`s et al., 2013**) affirmant que l'activité antioxydante mesurée chez les grains de sorgho présente une activité intéressante de piégeage du radical libre DPPH.

Une grande partie de la littérature réfère aux composés phénoliques un effet antioxydant direct, qui agissent comme des piègeurs des espèces réactives de l'oxygène (ERO) grâce à la capacité de leur groupe hydroxyle de donner l'hydrogène (**Rice-Evans et al., 1996 ; Okawa et al., 2001 ; Galati et O'Brien, 2004**).

Concernant la puissance de réduction du fer le sorgho blanc a montré une capacité à réduire le fer largement inférieure à celle de la vitamine C, les deux fractions étudiées sont faibles en composés oxygénés qui possèdent un caractère réducteur remarquable vis-à-vis des ions ferreux  $Fe^{3+}$ .

Contrairement aux résultats obtenus par (**Oyaizu, 1986**) qui affirment que la variété du sorgho (Jowar) possède une bonne affinité avec les ions  $Fe^{3+}$ .

Nous constatons que le pouvoir réducteur des extraits montre une évolution en fonction de la concentration. Il ressort de ces données que les extraits de notre espèce présentent une capacité très faible par rapport à la vitamine C. Une forte activité antioxydante peut être due aux fortes teneurs en composés phénoliques et à la présence d'autres constituants ou familles de composés en petites quantités ou à une synergie entre eux et à la position du OH sur le noyau phénolique. Selon **Godon, 1991** le pourcentage d'inhibition, augmente avec la substitution

des mono phénols avec le groupement hydroxyle en position ortho. La substitution du groupe hydroxyle est plus efficace qu'avec le groupement méthoxy.

Pour la décoloration du bêta-carotène l'extrait d'acétate d'éthyle inhibe le blanchissement du  $\beta$ -carotène à la concentration de 1mg/ml, cette capacité antioxydante du sorgho blanc, due principalement, à leur profil chimique modérément riche en composé oxygénés. En outre une étude réalisée par **Anoma et al., 2012** montre que le sorgho a une activité antioxydante plus élevée.

Le BHA reste le meilleur antioxydant suivi par la fraction d'acétate d'éthyle et le n-butanol reste en dernier par sa faible activité antioxydante. Cette diminution s'explique par l'attaque de la molécule de  $\beta$ -carotène par les hydroperoxydes de l'acide linoléique, par conséquent elle subit une décoloration rapide en l'absence d'antioxydants (**Kubola et Siriamornpun, 2008**).

Cette méthode nous permet donc de voir la capacité des antioxydants présents dans le mélange réactionnel à stabiliser les hydroperoxydes lipidiques et par conséquent voir s'ils sont aptes à prévenir l'oxydation lipidique. Comme ces hydroperoxydes peuvent s'attaquer au  $\beta$ -carotène, ainsi qu'à d'autres composés comme les lipides (acides gras polyinsaturés), les protéines et même les acides nucléiques (**Kubola et Siriamornpun, 2008 ; Sharififar et al., 2009**).

Les résultats obtenus par ces trois systèmes pour tester l'activité antioxydante à savoir : l'étude de la capacité du piégeage du radical DPPH, l'étude du pouvoir réducteur par la méthode de la réduction du fer (FRAP) et la méthode de la décoloration du  $\beta$ -carotène, sont dues principalement aux composés phénoliques, et plus particulièrement aux flavonoïdes présents dans les végétaux, puisqu'on a utilisé un mélange de solvant spécifique à leurs extractions, et aussi parce que beaucoup d'auteurs confirment leur contribution à cette activité (**Ding et al., 2008 ; Iacopini et al., 2008 ; Vasco et al., 2008 ; Alén\_Ruiz et al., 2009 ; Borneo et al., 2009**).

Sachons que les flavonoïdes sont connus par leurs activités antiradicalaire et antioxydante, les extraits du sorgho contenant un mélange de ces composés ont donné des résultats plus ou moins faibles, on peut conclure que les résultats ont prouvé que l'activité antioxydante du sorgho dépend non seulement du contenu phénolique total mais que les composés phénoliques peuvent agir en synergie, antagonisme ou peuvent indépendamment affecter toute l'activité du mélange (**Iacopini et al., 2008**).

L'utilisation de divers systèmes expérimentaux a prouvé que les capacités antioxydantes des flavonoïdes sont dues à leurs propriétés redox qui se traduisent dans les capacités de donner des électrons et des hydrogènes, en plus de leurs potentiels à chélater les ions métalliques pro-oxydantes et leurs capacités de protection des systèmes de défenses antioxydants (**Harborne et Williams, 2000 ; Atmani *et al.*, 2009**). En effet, les études actuelles portant sur les polyphénols connaissent un grand essor. Une grande partie d'entre elles a été réalisée afin d'informer et de sensibiliser les consommateurs et les pouvoirs publics sur l'intérêt de la consommation des produits végétaux riches en polyphénols, antioxydants naturels aux forts potentiels antioxydants et cytoprotecteurs. Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leurs implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que le cancer, les maladies cardio-vasculaires, l'ostéoporose ainsi que les maladies chroniques telles que l'obésité et le diabète (**Edmond, 2003**).

# Conclusion



Les dernières décennies sont marquées par l'intérêt particulier porté à la mise en valeur des céréales à intérêt médicinale comme source de substances bioactives naturelles.

De ce fait, de nombreuses études s'intéressent, de plus en plus, aux effets thérapeutiques des antioxydants d'origine naturelle.

Les flavonoïdes constituent une famille de composés qui sont omniprésents dans le règne végétal. Les nombreuses propriétés des flavonoïdes relatives à la santé, largement décrites dans des études épidémiologiques, sont principalement basées sur leurs activités antioxydantes : ils peuvent piéger les radicaux libres, inhiber les enzymes responsables de la formation des radicaux libres et même ce sont des chélateurs de certains ions métalliques.

Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'étude du pouvoir antioxydant des extraits des flavonoïdes (phase acétate d'éthyle et phase n-butanol) du sorgho (*Sorghum bicolor* L.) par les trois méthodes utilisées (DPPH, FRAP et  $\beta$ -carotène), afin de localiser la fraction qui représente l'activité la plus élevée.

Par la méthode d'extraction des flavonoïdes choisie, la céréale sélectionnée dans notre étude a présenté un rendement en extraits secs relativement faibles estimés à 2.97% (P/P) par contre le dosage des flavonoïdes a donné une valeur estimée à 1.11 mg/ml équivalent à la catéchine /100g.

Cette approche nous a amené à déduire, que la fraction d'acétate d'éthyle a l'avantage de présenter une activité plus importante par rapport à celle du n-butanol et ce pour les deux techniques (DPPH et  $\beta$ -carotène) mais qui reste inférieure aux antioxydants de références.

Par contre cette même fraction extraite à partir du sorgho blanc a présenté une activité antioxydante négligeable comparée à celle de l'acide ascorbique dans le cas de réduction de fer FRAP.

Ces résultats sont à estimer d'un œil critique, l'activité d'un extrait ou d'une fraction étant due à l'activité intrinsèque des composantes actives et de leur quantité relative, un résultat négatif peut être la conséquence de la présence d'une faible quantité de produits actifs dans l'extrait que d'une grande quantité de produits non actifs.

Au-delà des résultats obtenus, il est souhaitable de compléter et d'approfondir ce travail par une étude phytochimique avancée afin d'isoler et identifier les différents flavonoïdes présents dans le sorgho blanc ayant une activité antioxydante et les purifier en utilisant des techniques chromatographiques et des techniques de spectrométrie de masse et de spectroscopie pour l'identification.

Il serait aussi judicieux de tester les différentes molécules isolées *in vivo* sur différents modèles biologiques, afin de trouver une application thérapeutique des molécules actives isolées.

# Référence bibliographique



- Abbe`s F., Kchaou C., Blecker M., Ongena G., Lognay H., Attia S., Besbes S., 2013.** Effect of processing conditions on phenolic. pp 56-62.
- Albayrak S., Sagdic O., Aksoy A., Hamzaoglu H., 2008.** Antimicrobial and antioxidant activities of Helichrysum species from the Mediterranean region of Turkey. *Asian Journal of Chemistry*.20: 3143- 3152.
- Alén-Ruiz F., García-Falcón M.S., Pérez-Lamela M.C., Martínez-Carballo E., Simal-Gándara J., 2009.**Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencía and Brancellao red wines, *Food Chemistry*.113: 53–60.
- Ali S.S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sharanabasava H., Sahu A., Bora U., 2008.** Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int*.41: 1–15.
- Almajano M.P., Carbó R., López Jiménez J. A., Gordon M.H., 2008.**Antioxidant and Antimicrobial activities of tea infusions, *Food Chemistry*.108: 55–63.
- Anoma C., Marian N., Fereidoon S., 2012.**Effect of processing on the antioxidant activity of millet grains *Food chemistry*.133: 1-9.
- Aruoma O.I., 1998.** Free radicals, oxidative stress and antioxydants in human health and disease. *J. Am. Oil Chem. Soc.*75 : 199-212.
- Asiedu J.J., 1991.** La transformation des produits agricoles en zone tropicale : approche technologique. Paris : Karthala.6: 165-170.
- Asquith T.N., Butler L.C., 1986.** Interaction of condensed tannins with selected proteins. *Phytochemistry*. 25: 1591-1593.
- Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbach N., Atmani D., 2009.**Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants, *Food Chemistry*. 112: 303- 309.
- Atoui A., Mansouri A., Boskou G., Kefalas P., 2005.** Tea and herbal infusions: Their antioxydant activity and phenolic propfile, *Food Chemistry*.89: 27-36.
- Aurousseau B., 2002.** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim.*15 (1): 67-82.
- Awika J.M., 2000.** Sorghum phenols as antioxidants. M.S. Thesis. Texas A&M University: College Station, TX. 9: 524-530.
- Awika J.M., Rooney L.W., 2004.** Sorghum phytochemicals and theirpotential impact on human health. *Phytochemistry*. 65: 1199-1221.

**Bahorun T., 1997.** Substances naturelles actives la flore mauriciennes une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Mauritius. pp 83 -94.

**Bandoniene D., Murkovic M., Pfannhauser W., Venskutonis P.R., Gruzdiene D., 2002.** Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and online HPLC-DPPH methodes. Eur. Food Res. Technol. 214: 143-147.

**Basile A., Ferrara L., Del Pezzo M., Mele G., Sorbo S., Bassi P., Montesano D., 2005.** Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart, Journal of Ethnopharmacology. 102: 32–36.

**Bate-Smith E.C., 1969.** Luteoforol (3',4,4',5,7-pentahydroxyflavan) in *Sorghum vulgare* L. Phytochemistry. 8: 1803-1810.

**Bekkara F., Jay M., Viricel M.R., 1998.** Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba* cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudation, J. Plant And Soil. 203 : 27-36.

**Benhammou N., Atik Bekkara F., Panovska T.K., 2007.** Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf., Advances in Food Sciences. 29 (3): 155-161.

**Benzie I.F.F., Strain J.J., 1996.** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239: 70-76.

**Bérubé-Gagnon J., 2006.** Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *piceamariana*. Mémoire comme exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables. Quebec. pp 30-36.

**Beta T., Corke H., Taylor J.R.N., Rooney L.W., 1999.** Effect of steeping treatment on pasting and thermal properties of sorghum starches. Cereal Chem. 78(3) : 303-306.

**Beta T., 2003.** Anti-nutrients or anti-oxidants in cereal grains: an evaluation of the composition and functionality of phenolic compounds with special reference to sorghum and barley. In: Belton P.S. & Taylor J.R.N., eds. Pretoria, South Africa, paper. 11:1-9.

**Bolton J.L., Trush M.A., Penning T.M., Dryhurst G., Monks T. J., 2000.** Role of quinones in toxicology. Chem. Res. Toxicol. 13: 135.

- Borneo R., León A.E., Aguirre A., Ribotta P., Cantero J.J., 2009.** Antioxidant capacity of medical plants from provence of Córdoba (Argentina) and there in vitro testing in a model food system, Food Chemistry. 112 : 664-670.
- Bourgou S, Ksouri R, Bellila A, Skandrani I, Falleh H, Marzouk B. 2008.** Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. Comptes Rendus Biologies. 33(1): 48- 55.
- Boyd B., Ford C., Koepke M.C., Gary K., Horn E., Mc Analley S., Mc Analley B., 2003.** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. Glycoscienc and Nutrition. 4(6) : 7.
- Bozin B., Mimica-Dukic N., samojlik I., Goran A., Igetic R., 2008.** Phenolics as antioxydants in garlic ( *Allium sativum* L., Alliaceae). Food Chemistry. 111: 925-929.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food. Sci. Technol. 28 : 25–30.
- Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec & Doc - Lavoisier, Paris. 147p.
- Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médecinales, 3e edition, Edition Lavoisier TEC et DOC. pp 56-66.
- Burns R.E., 1971.** Method for estimation of tannin in grain sorghum. Agron. J. 63: 511-512.
- Butler L.G., Riedl D.J., Lebryk D.G., Blytt H.J., 1984.** Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specificity and significance. J. Am. OilChem. Soc. 61: 916-920.
- Butler L.G., Rogler J.C., Mehansho H., Carlson D.M., 1986.** Dietary effects of tannins. In V. Cody & E. Middleton, éd. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical pharmacological and structure activity relationships. pp 141 - 157.
- Butler L.G., 1988.** The role of polyphenols in the utilization of ICRISAT-mandated grain crops and applications of biotechnology for improve dutilization. In Biotechnology in tropical crop improvement. Proceedings of the International Biotechnology Workshop, Patancheru, Inde, 12-15 janvier 1987. pp 147-152..
- Cakir A., Mavi A., Ytldirim A., Duru M. E., Harmandar M., Kazaz C., 2003.**

isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *Journal of Ethnopharmacology*. pp 73-83.

**Cao G.H., Alessio H.M., Cutler R.G., 1993.** Oxygen-Radical Absorbency Capacity Assay for antioxidants. *Free Radical Biol Med*. 14: 303-311.

**Chanterau J., Nicou R., 1991.** Le sorgho. Paris, France, éditions Maisonneuve et Larouss. 225p.

**Charfi D., 1995.** Effet des eaux usées traitées sur les caractéristiques physico-chimiques du sol et sur la physiologie de quelques espèces végétales cultivées au périmètre d'Elhajeb (Sfax). Thèse en écologie végétale, Fac. Sci. de Sfax. 4: 569-577.

**Chebil L., 2006.** Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia*: études cinétique, structurale et conformationnelle. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Lorraine. INPL, Nancy. 9:526-533.

**Cos P., Ying L., Calomme M., Hu J.P., Cimanga K., Van-poel B., Pieters L., Vlietinck J., Berghe D., 1998.** Structure activity relation ship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. 61: 71-76.

**Chougui N., Tamendjari A., Hamidj W., Hallal S., Barras A., Richard T., Larbat R., 2013.** Oil composition and characterization of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. *Food Chem*. 139: 796-803.

**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. *J Agri Food Chem*. 50: 2454-2458.

**Cuyckens F., Claeys M., 2004.** Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *Journal of Mass Spectrometry*. 39(4): 1-15.

**Deba F., Xuan T.D., Yasuda M., Tawat S., 2008.** Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oil from *Bidens pilosa* L. Var. *Radiata*. *Food Chem*. 19: 356-362.

**De Moffarts B., Kirschvink N., Pincemail J., Lekeux P., 2005.** Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Annales de Médecine Vétérinaire*. 149(1) :1-9.

- Dicko M.H. et al., 2005.** Evaluation of the effect of germination on phenolic compounds and antioxidant activities in sorghum varieties. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2581-2588.
- Dicko M.H. et al., 2006.** Sorghum grain as humanfood in Africa: relevance of content of starch and amylase activities. *Afr. J. Biotechnol.* 5(5) : 384-395.
- Ding Z.T., Fang Y.S., Tai Z.G., Yang M.H., Xu Y.Q., Li F., Cao Q.E., 2008.** Phenolic content and radical scavenging capacity of 31 species of ferns, Short report, *Fitoterapia.* 79: 581–583.
- Doherty C., Faubion J.M., Rooney L.W., 1982.** Semi automated determination of phytate in sorghum and sorghum products. *Cereal Chem.* 59: 373-378.
- Dufour J.P., Mélotte L., Srebrnik S., 1992.** Sorghum malts for the production of a lagerbeer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 50 : 110-119.
- Dykes L., Rooney L.W., 2006.** Sorghum and millet phenols and antioxidants. *J Cereal Sci.* 44: 236-251.
- Earp C.F., Akingbala J.O., Ring S.H., Rooney L.W., 1981.** Evaluation of several methods to determine tannins in sorghums with varying kernel characteristics. *Cereal Chem.* 58 : 234-238.
- Edmond D.S.C., Susan L. P.T., David T., Felson M.D., 2003.** Function and Back Symptoms in Older Adults. *J Am Geriatr Soc.* 51(12): 1702–1709.
- Elicoh-Middleton Jr., Chithan K., Theoharis C., 2000.** Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental therapeutics.* 4(52): 673-751.
- Emmambux N.M., Taylor J.R.N., 2003.** Sorghum kafirin interaction with various phenolic compounds. *J. Sci. Food Agric.* 83 : 402-407.
- Eggum B.O., Christensen K.D., 1975.** Influence of tannin on protein utilization in feeds tuffs with specialre t`erence to barley. In *Breeding for seed protein improvement using nuclear techiques*, Vienne, Agence internationale de l'énergie atomique. pp 135-143.
- Erah P.O., Ayuba G.I.,2004.** Effect of Jobelyn, a Nigerian herbal extract on the cellular immunity of persons living with HIV/AIDS, *Book of abstracts of the 5th Annual National*

Scientific Conference of the National Association of Academic Pharmacists held in Jos. pp 6-7/ 28-31.

**Esslinger H.M., Narziss L., 2005.** Beer . Weinheim, Germany : Wiley-VCH Verlag Gmb. 4:564-571.

**Espin J.C., Garcia-Conesa M.T., Tomas-Barberan F.A., 2007.** Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochem.* 68: 2986–3008.

**Favier A., 2003.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* pp 108-115.

**Ferrari J., 2002.** La contribution a la connaissance du métabolisme secondaire de thymulaceae et investigation photochimique de l'une d'elle : *Gnidia in volucrata* Steud.Ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne. 457p.

**Frankel N.F., Meyer A.S., 2000.** The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J Science Food Agri.* 80: 1925-1941.

**Fritch H., Griesbach H., 1975.** Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haplopappus gracilis*. *Phytochem.* 14: 2437-42.

**Galati G., O'Brien J.P., 2004.** Potential toxicity of flavonoids and others dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radic Biol Med.* 37: 283-287.

**Gazi M.R., Kanda K., Yasuda M., Kato F., 2004.** Optimisation of cultural conditions and some properties of radical scavenging substances from *sporobolomyces salmon color*. *Pak Journal Biol.sci.* 7: 1365-1370.

**Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V.M., Azzolini Ana E.C.S., Fonseca Maria J.V., 2003.** Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the Cheiluminescence Method. *AAPS Pharm Sci.* 5 (2) : 1-5.

**Ghedira K., 2005.** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.* 3(4) : 162-169.

**Godon B., Willm C.L., 1991.** Les industries de première transformation des céréales. *Coll. Agro. Alimentaire.* Lavoisier. pp 78-91.

**Gouveia SC., Castilho PC., 2012.** Helichrysum monizii Lowe: Phenolic Composition and Antioxidant Potential. *Phytochemical Analysis*.s. 23(1): 72-83.

**Griffths D.W., 1985.** The inhibition of digestive enzymes by polyphenolic compounds. *Exp. Biol. Med.* 199: 504-516.

**Guignard J., 1996.** *Biochimie Végétal.* Edition Lavoisier, Paris. pp 175-192.

**Gülçin E., Kirecci E., Akkemik E., Topal E., Hisar O., 2010.** Antioxidant and antimicrobial activities of an aquatic plant: Duckweed (*Lemna minor* L.). *Turk J Biol.* 34: 175 - 188.

**Hahn D.H., Rooney L.W., Earp C.F., 1984.** Tannins and phenols of sorghum. *Cereal Foods World.* 29 : 776-779.

**Halliwell B., 1994.** Free radicals, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence? *The Lancet.* 344 (8924): 721-724.

**Hamaker B.R. et al., 1995.** Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method. *Cereal Chem.*72: 583-588.

**Harborne J.B., 1989 .** Recent advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Rep.* 25 (7): 85-109.

**Harborne J. et Williams C., 2000.** Advances in Flavonoid Research since 1992, *Phytochemistry* . 55: 481- 504.

**Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J., 2002.** Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships, *Journal of Nutritional Biochemistry.* 13: 572-584.

**Heller W., Forkmann G., 1993 .** The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. *Secondary Plant Products.* Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London. pp 399-425

**Huang D., Ou B., Prior R.L., 2005.** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 53 :1841-1856.

**Hubert Richard.,1998.** *Biochimie de l'aliment, acides aminés et oligopeptides ENSIA.*156 p.

**Hutzler P., Fishbach R., Heller W., Jungblut T.P., Reuber S., Schmitz R., Veit M., Weissenböck G. et Schnitzler J.P., 1998.** Tissue localisation of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. *Journal of experimental botany*. 49 (323) : 953-965.

**Iacopini P., Baldi M., Storchi P., Sebastiani L., 2008.** Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions, *Journal of Food Composition and Analysis*. 21: 589– 598.

**Jacques B., André R., 2004.** *Biochimie métabolique* Ed ellipses. Paris. p 217-225.

**Jaques-Henry., 2001.** *biochimie générale* 9<sup>ème</sup> édition DUNOD ,paris. 254p.

**Jha P., Flather M., Lonn E., Farkouh M., Yusuf S., 1995 .** The antioxidant vitamins and cardiovascular disease. A critical review of epidemiologic and clinical trial data. *Ann. InternMed*. 123: 860.

**Joseph T.B., Wang S.W., Liu X., Kulkarni K.H., Wang J., Xu H., Hu M., 2007.** Disposition of flavonoids via enteric recycling: enzyme stability affects characterization of prunetin glucuronidation across species, organs, and UGT isoforms. *Mol Pharm*. 4: 883-894.

**Karamak I., Sahin F., Güllüce M., Öğütçü H., Sengül M., Adıgüzel A., 2002.** Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 85(2-3): 231-235.

**Karppinen S., Myllymaki O., Forssell P., Poutanen K., 2003.** Fructan content of rye and rye products. *Cereal Chemistry*. 80: 168 171.

**Kehrer J.P. and Smith C.V., 1994.** Free radicals in the biology: sources, reactivates, and roles in the etiology of human diseases. *Nat. Antioxidants*. Frei B. Academic Press: New York. pp 56-64.

**Khadri A., Serrlheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Neffati M., Smiti S., Araújo M.E.M., 2008.** Antioxidant and antiacetyl cholin esterase activities of essential oil from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC-MS and <sup>13</sup>C-NMR. *Food Chem*. 109: 630-637.

**Knežević S.V., Blazekwic B., Stefan M.B., Babac M., 2012.** Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. In “Phytochemicals as nutraceuticals-global approaches to their role in nutrition and health. Edition Venketeshwer Rao. 9: 155-180.

- Koleva II., Teris AB., Jozef PH., Linssen AG., Lyuba NE., 2002.** Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemistry Analysis*.13(1): 8-17.
- Kubola J., Siriamornpun S., 2008.** Phenolic contents and antioxidant activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro, *Food chemistry*. 110: 881-890.
- Kumaran A., Karunakaran RJ., 2007.** In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT Food Sci Technol*. 40(2): 344-352.
- Laguerre M., López-Giraldo L.J., Lecomte J., Pina M., Villeneuve P., 2007.** Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante, *Fondamental, OCL*. 14 (5) : 278-292.
- Lahouel M., 2005.** Interaction flavonoïdes-mitochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine.56p.
- Larreta-Garde V., 1997.** Enzymes en agroalimentaire. Paris : Lavoisier Tec & Doc.p 52-65.
- Lasztity R., 1996.** Sorghumproteins. In: Lasztity R., ed. *The chemistry of cerealproteins*. 2nd ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.p 227-248.
- Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., Lee C.Y., 2003.** Cocoa Has More Phenolic Phytochemical and a higher antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J Agric Food Chem* .51: 7292-7295.
- Li C.Y., Jackson R.M., 2002.** Reactive species mechanisms of cellular hypoxiareoxy genation injury. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol*. 282: 227-241.
- Li HJ., Deinzer ML., 2007.** Tandem mass spectrometry for sequencing proanthocyanidins. *Analytical Chemistry*. 79(4):1739-1748.
- Liyana-Pathirana C.M., Shahidi F., 2007.** Antioxidant and free radical scavenging activities of whole wheat and milling fractions. *Food Chemistry* . 101: 1151-1157.
- Macheix J.J., Fleurit A., Billot U., 1990 .** Fruits phenolics. CRC Inc Boca a ton Florida. 378p.
- Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand, C., 2005 .** Les composés phénoliques des végétaux .collection biologie Presses polytechnique et universitaires romandes. Lausanne.

- Macheix J.J., Fleurit A., P. SARNI- MANCHADO., 2006 .** Composés phénoliques dans la plante – structure, biosynthèse, répartition et rôles. Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier, Paris.154p.
- Maisuthisakul P., Suttajit M., Pongsawatmmit R., 2007.** Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some Thai indigenous plants, Food Chemistry.100: 1409- 1418.
- Majhenić L., Skerget M., Knez Z., 2007.**Antioxydant and antimicrobial activity of guarana seed extracts, Food Chemistry.104: 1258-1268.
- Marc Fr., Davin A., Deglene-Benbrahim L., Ferrand C. et al., 2004.** Methodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. Erudit, M/S : médecine sciences. 20(40) : 458-463.
- Marfak A., 2003.** Radiolyse Gamma des Flavonoides. Etude de Leur Reactivite avec les Radicaux issus des Alcools : Formation de Depsides. Docteur de l'universite de limoges Spécialité : Biophysique, Universite de Limoges, Ecole Doctorale Sciences Biologie Santé, Faculté de Pharmacie. p 220.
- Marie-Ève S., 2005.** Historique de fibres alimentaires. Collection Mémoires et thèses électroniques. Université LAVAL.p 45.
- Martin F., 2003.** Vannin-1, un nouveau régulateur moléculaire du stress oxydant et de l'inflammation. Thèse de Doctorat de l'Université de la Méditerranée, centre de l'immunologie de Marseille- Luminy NCERM U 136-CNRS MR6102. pp17-19.
- Martinez-Cayuela M., 1995.** Oxygen free radicals and humain disease. Biochem. 77: 147-161.
- Mayachiew P., Devahastin S., 2008.** Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. LWT. 41: 1153-1159.
- McMillan W.W., Wiseman B.R., Burns R.E., Harris H.B., Greene G.L., 1972.** Bird resistance in diverse germplasm of sorghum. Agron. J. 64: 821 -822.
- Mehansho H., Butler L.G., Carlson D.M., 1987.** Dietary tannins and salivaryprolinerichproteins: interactions, induction and defense mechanisms. Annu. Rev. Nutr. 7: 423-440.

- Miller N.J., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A., 1993 .** A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci.* 84: 407-412.
- Mishra A.K., Dubey N.K., 1994.** Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Applied AND environmental microbiology.* 6 (4) : 1101-1105.
- Miura K. et Nakatani N., 1964.** Antioxidant activity of vegetal extracts. I. Flavone aglycons, *J. Food.* 29 ; 27-33.
- Morel Y., Barouki R., 1999.** Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J.* 34 : 481-496.
- Morton J.F., 1970.** Tentative correlations of plant usage and esophageal cancer zones. *Econ. Bot.* 24: 217-226.
- Moure A., Franco D., Sineiro J., Dominguez H., Nunez ML., Lema JM., 2000.** Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants. *J Agri Food Chem.* 48:3890-3897.
- Murty D.S., Renard C., 2001.** Sorghum. In: *Crop production in tropical Africa.* Brussels: DGIC, Ministry of Foreign Affairs, External Trade and International Cooperation. 145p.
- Mussatto SI., Ballesteros L.F., Martins S., Teixeira J.A., 2011.** Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology.* 83:173-179.
- Nacro M., Millogo-rasolodimbi., 1993.** *Plantes tinctoriales et plantes à tanins du Burkina Faso.* Ed. Scientifica, Amiens. p 86.
- Nacz M., Shahidi F., 2006.** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J Pharm Biomed Anal.* 41:1523–1542.
- Ogbonna A.C., Obi S.K.C., Okolo B.N., 2004.** Optimization of proteolytic activities in malted sorghum. *Process Biochem.* 39 : 711-716.

- Okawa M., Kinjo J., Nohara T., Masateru O., 2001.** DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Biol. Pharm. Bull.* 24: 1202-1205.
- Oliveira A.C., Valentim I.B., Goulart M.O.F., Silva C.A., Bechara E.J.H., Trevisan M.T.S., 2009.** Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova.* 32 (3) : 689-702.
- Ono E., Hatayama M., Isono Y., Sato T., Watanabe R., Yonekura-Sakakibara K., Fukuchi-Mizutani M., Tanaka Y., Kusumi T., Nishino T., Nakayama T., 2006.** Localization of a flavonoid biosynthetic polyphenol oxidase in vacuoles. *Plant J.* 45: 133-43.
- Oyaizu M., 1986.** Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition.* 44: 307-315.
- Özkan G., Kuleaoan H., Çelik S., Göktürk R.S., Ünal O., 2007.** Screening of Turkish endemic *Teucrium montbretii* subsp. *pamphylicum* extracts for antioxidant and antibacterial activities, *Food Control.* 18: 509-512.
- Ozsoy N., Can A., Yanardag R., Akev N., 2008.** Antioxidant activity of *Smilax excels* L. leaf extracts, *Food Chemistry.* 110: 571-583.
- Ozturk M., Aydogmus-Ozturk F., Duru M.E., Topçu G., 2007.** Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry.* 103: 623-630.
- Pavlov A., Kovatcheva P., Georgiev V., Koleva I., Ilieva M., 2002.** Biosynthesis and radical scavenging activity of betalains during the cultivation of red beet (*Beta vulgaris*) hairy root cultures. *Natur.Forsch.* 57: 640-644.
- Penchev P., Angelov G., Condoret JS., 2010.** Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de lamélisse (*Melissa officinalis* L.). *Revue de génie industriel.* 5: 115-123.
- Pereira R.M.S., Andrades N.E.D., Paulino N., Sawaya A.C.H.F., Eberlin M.N., Marcucci M.C., Favero G.M., Novak E.M., Bydlowski S.P., 2007.** Synthesis and Characterization of a Metal Complex Containing Naringin and Cu, and its Antioxidant, Antimicrobial, Anti-inflammatory and Tumor Cell Cytotoxicity, *Molecules.* 12: 1352-1366.
- Piquemal G., 2008.** Les flavonoïdes (en ligne) : [http://www.detoursante.com/index.php?Option=com\\_content&view=article&id=166&Itemid=215](http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215).

- Pietta P.G., 2000 .** Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products.*, 63: 1035-1042.
- Popov I., Lewin G., Baehr R., 1987.** Photochemiluminescent detection of antiradical activity. I. Assay of superoxide dismutase. *Biomed Biochim Acta.* 46: 775–779.
- Prieto P., Pineda M., Aguilar M., 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2): 337-341.
- Quattrocchio F., Baudry A., Lepiniec L., Grotewold E., 2006.** The regulation of Flavonoid Biosynthesis. In « the Science of Flavonoids ». *Grote wold E.* 5: 97-122.
- Radhakrishnan M.R., Sivaprasad J., 1980.** Tannin content of sorghum varieties and their role in iron bioavailability. *J. Agric. Food Chem.* 28: 55-57.
- Ragae S., Abdel-Aal E.M., Noaman M., 2006.** Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chem.* 98:32-38.
- Rahman I., 2002.** Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: antioxidant therapeutic. *L'actualité chimique.* pp 108-115.
- Ramos S., 2007.** Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *J Nutr Biochem.* 18: 427-442.
- Raskin I., Ribnicky D.M., Komarnytsky S., Ilic N., Poulev A., Borisjuk N., Brinker A., Moreno D.A., Ripoll C., Yakoby N., O'Neal J.M., Cornwell T., Pastor I., Fridlender B., 2002.** Plants and human health in the twenty-first century. *Trends in Biotechnology.* 20: 522-531.
- Re R, Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine.* 26(9-10): 1231-1237.
- Remesy C., Manach C., Demigne C., Texier O., Regerat F., 1996.** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Méd. Nut.* 32 (1):17-27.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G., 1996.** Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med.* 20: 933-956.
- Robak J., Gryglewski R. J., 1988 .** Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemical pharmacology.* pp 837-841.

- Robards K., Antolovich M., 1997.** Analytical chemistry of fruit bio-flavonoids: a review. *Analyst.*,122(2): 11-34.
- Rostango H.S., 1972.** Nutritive evaluation of sorghum grains in C hicks. Thèse de doctorat. Purdue University, West Lafayette, Indiana, Etats-Unis.pp 56-68.
- Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A., 1998.** Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Sci. Technol. Int.* 4: 391-399.
- Sanchez-Moreno C., 2002.** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Sci Tech Int.* 8(3): 121-137.
- Sang Y et al., 2008.** Structure and functional properties of sorghum starches differing in amylose content. *J. Agric. Food Chem.* 56: 6680-6685.
- Sankara Rao D.S., Deosthale Y.G., 1980.** Effect of pearling on mineral and trace element composition and ionizable iron content of sorghum. *Nutr. Rep. Int.* 22: 723-728.
- Salunkhe D.K., Jadhav S.J., Kadam S.S., Chavan J.K., 1982.** Chemical, biochemical and biological significance of polyphenols in cereals and legumes. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 17: 277-305.
- Salunkhe D.K., Chavan J.K.; Kadam S.S., 1990.** Dietary tannins: consequences and remedies. Boca Raton, Floride, Etats-Unis, CRC Press.5:45-52.
- Salvador M., Victoriano H., Rosa-Maria G., José-Luis R., Maria del Carmen R., 2007.** Inhibition of pro-inflammatory enzymes by inuviscolide, asesquiterpene lactone from *Inula viscosa*, *Fitoterapia.* 78: 329-331.
- Scalbert A., 2004.** Fruits et légumes, polyphénols et santé. Laboratoire des maladies métaboliques et micronutriments, INRA, Centre de recherche de Clermont-Ferrand.
- Scherer R., Godoy H.T., 2009 .** Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem.* 112: 654–658.
- Seeram N.P., Henning S.M., Zhang Y., Suchard M., Li Z., Heber D., 2006.** Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist in urine for up to 48 hours. *J. Nutr.* 136 (10): 2481-5.

- Sen CK, Packer L. 2000.** Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 72 (2), 653-669.
- Serna-Saldívar S., Rooney L.W., 1995.** Structure and chemistry of sorghum and millets. In: Dendy D.A.V., ed. *Sorghum and millets: chemistry and technology.* St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemists. pp 69-124.
- Sharififar F., Dehghn-Nudeh G., Mirtajaldini M., 2009.** Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chem.* 112: 885-888.
- Singleton V.L., Kratzer F.H., 1973.** Plant phenolics. In *Toxicants.* Washington, DC, National Research Council, National Academy of Sciences. pp 309-345.
- Smith A.R., Shenvi S.V., Widlansky M., Suh J.H., Hagen T.M., 2004.** Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Curr. Med. Chem.* 11:1135- 1146.
- Stalikas CD, 2007.** Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science.* 30(18): 3268-3295.
- Taylor J.R.N., Belton P.S., 2002.** Sorghum. In: Belton P.S. & Taylor J.R.N., eds. *Pseudo cereals and less common cereals: grain properties and utilisation potential.* Berlin, Germany: Springer. pp 25-79.
- Taylor J.R.N., Schober T.J. & Bean S.R., 2003.** Novel food and non-food uses for sorghum and millets. *J. Cereal Science.* 44: 252-271.
- Tharanathan R.N., Mahadevamma S., 2003.** Grain legumes a boon to human nutrition. *Trends in Food Science and Technology.* 14 : 507- 518.
- Trabut L., 2006.** *Noms indigènes des plantes d'Afrique du Nord.* Edition Ibis Press Paris. 139 p.
- Traoré T., 2004.** Changes in nutrient composition, phytate and cyanide contents and amylase activity during cereal malting in small production units in Ouagadougou (Burkina Faso). *Food Chem.* 88: 105- 114.
- Tripton K.W., Floyd E.M., Marshall J.G., McDevitt J.B., 1970.** Resistance of certain grain sorghum hybrids to bird damage in Louisiana. *Agron. J.* 62: 211- 213.

- Toufektsian M-C., Lorgeril M., Nagy N., Salen P., Donati M.B., Giordano L., Mock H-P., Peterek S., Matros A., Petroni K., Pilu R., Rotilio D., Tonelli C., Leiris J., Boucher F., Martin C., 2008.** Chronic Dietary Intake of Plant-Derived Anthocyanins Protects the Rat Heart against Ischemia-Reperfusion Injury. *Journal of Nutrition*. 138: 747-752.
- Urquiaga I., Leighton F., 2000.** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*. 33 (2) : 55-64.
- Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., 2006 .** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol Interact*. 160: 1-40.
- Vanderhaegen B., Neven H., Verachtert H., Derdelinckx G., 2006.** The chemistry of beeraging *Food Chem*. 95(3): 357-381.
- Vasco C., Ruales J., Kamal-Eldin A., 2008.**Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador, *Food Chemistry*. 111: 816-823.
- Vazquez G, Fontenla E, Santos J, Freire MS, Gonzalez-Alvarez J, Antorrena G, 2008.** Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial crops and products*. 28(3): 279-285.
- Verhoeyen M.E., Bovy A., Collins G., Muir S., Robinson S., De Vos C.H.R., Colliver S., 2002.** Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthesis pathway. *Journal of experimental botany*. 53 (377) : 209 -210.
- Verma B., Hucl P., Chibar R.N., 2009.** Phenolic acid composition and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolysed wheat bran fractions. *Food Chemistry*. 116: 947-954
- Virot S., 2004.** Les petites protéines de stress de leur rôle dans la mort cellulaire. Etude de leur fonction chaperon à travers l'exemple de la mutation R120G de l' $\alpha$ - $\beta$ -cristalline. Thèse de doctorat, université Claude Bernard-Lyon. 5 : 478-485.
- Vitaglione P., Napolitano A., et Fogliano V., 2008.** Cereal dietary fiber: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Food and Technology*. 19; 451-463.
- Walker J.E.M., Saraste M.J., Runswick., Gay NJ., 1982.** Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *Embo J*. 1 (8): 945-51.
- Wang C., Mitchell H.C., Barham H.N., 1959.** The phytin content of sorghum grain. *Trans. Kans. Acad. Sci*. 62: 208-211.

**Waniska R.D., 2000. Technical and institutional options for sorghum grain mold management. In: Chandrashekar A., Bandyopadhyay R. & Hall A.J.,**

**Watterson J.J., Butler L.G., 1983.** Occurrence of an unusual leucoanthocyanidin and absence of proanthocyanidins in sorghum leaves. *J. Agric. Food Chem.* 31: 41-45.

**Wayner D. D. M., Burton G. W., Ingold K. U., Locke S., 1985.** Quantitative measurement of the total peroxyl radical-trapping antioxidant capacity of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS Letters.* 187: 33-37.

**Williamson EM,** Synergy and other interactions in phyto medicine.

**Winston G.W., Regoli F., Dugas A. J., Fong J. H., Blanchard K. A., 1998.** A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radical Biol. Med.* 24: 480-493

**Wong P.Y.Y., Kitts D.D., 2006.** Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chem.* 97: 505-515.

**Yu-Ling L., Yang JH., Mau J.L., 2008.** Antioxidant properties of water extracts from *Monascus* fermented soybeans. *Food Chemistry.* 106(3): 1128-1137.

**Zhao H., Dong J., Lu J., Chen J., Li Y., Shan L., 2006.** Effect of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 54(19): 7277-7286.

**Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W., 1999.** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry.* 64 (4): 555-559.

**Zoubidi CH., 2004.** Etudes des antioxydants dans le *rosmarinus officinalis*. Labiatea., thèse de magister soutenu à l'université de Ourgla.



# Annexes

**Annexe 1 :** Les rendements (%) des deux fractions flavonoïque du sorgho blanc

<b>fraction</b>	<b>Rendements %</b>
<b>Fraction acétate d'éthyle</b>	0.76 %
<b>Fraction butanolique</b>	0.42 %

**Annexe 2 :** Valeurs moyennes de l'absorbance de la courbe d'étalonnage de la catéchine.

<b>Concentration mg/ml</b>	<b>0</b>	<b>0.08</b>	<b>0.1</b>	<b>0.2</b>	<b>0.3</b>	<b>0.4</b>
<b>Moyenne de l'absorbance à 510 nm</b>	0	0.4314	0.5212	0.825	1.1661	1.4795

**Annexe 3 :** Valeurs du piégeage du radical DPPH. Exprimées en densités optique (D.O) par Les deux extraits du sorgho blanc, en fonction des concentrations (mg/ml)

<b>Concentration mg/ml</b>	<b>0.1</b>	<b>0.25</b>	<b>0.5</b>	<b>0.75</b>	<b>1</b>
<b>ACET (%)</b>	48.02	58.88	77.63	85.19	89.03
<b>n-but (%)</b>	1.97	11.51	19.85	28.07	33.55

**Annexe 4 :** Valeurs du pouvoir réducteur exprimées en densités optique (D.O) par les deux extraits du sorgho blanc, pour les différentes concentrations étudiées.

<b>Concentration mg/ml</b>	<b>0.1</b>	<b>0.25</b>	<b>0.5</b>	<b>0.75</b>	<b>1</b>
<b>ACET</b>	0.026	0.047	0.075	0.111	0.143
<b>n-but</b>	0.033	0.093	0.127	0.165	0.188

**Annexe 5** : Valeurs moyennes de l'absorbance de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique selon la méthode de FRAP.

<b>Concentration (mg/ml)</b>	<b>0.1</b>	<b>0.25</b>	<b>0.5</b>	<b>0.75</b>	<b>1</b>
<b>Moyenne de l'absorbance à 700nm</b>	<b>0.5</b>	<b>0.8</b>	<b>1.8</b>	<b>3</b>	<b>3.4</b>

**Annexe 6** : Valeurs de l'activité antioxydante de la décoloration de la  $\beta$ -carotène exprimées en densités optique (D.O) par les deux extraits du sorgho blanc.

<b>Concentration mg/ml</b>	<b>0.1</b>	<b>0.25</b>	<b>0.5</b>	<b>0.75</b>	<b>1</b>
<b>ACET</b>	8.2	10.33	17.32	18.84	60.18
<b>n-but</b>	0.6	1.21	1.51	2.12	8.51

## Résumé

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause, en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. En effet, les flavonoïdes, composés naturels largement répartis dans le règne végétal, sont reconnus pour leur activité antioxydante et demeurent, à ce jour, peu exploités par l'industrie aussi bien pharmaceutique qu'alimentaire.

Les travaux présentés dans ce mémoire contribuent à l'étude du pouvoir antioxydant des flavonoïdes extraits à partir de la céréale du sorgho blanc du sud d'Algérie. Le sorgho blanc (*Sorghum bicolor* L.) espèce très connue comme source antioxydante de métabolite secondaire, elle est la cinquième céréale mondiale en termes de production après le blé, le riz, le maïs et l'orge. Le choix de cette céréale secondaire dans cette étude est dû au fait qu'elle possède des vertus thérapeutiques et qu'elle a été peu investiguée par rapport aux autres comme le blé ou l'orge.

Le sorgho blanc étudié a présenté des teneurs en flavonoïdes, estimé à 1.11mg/ml équivalent à la catéchine par 100g de la matière sèche.

L'activité antioxydante des deux fractions (acétate d'éthyle et n-butanol) a été évaluée par trois méthodes: le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du fer et l'inhibition de la décoloration du bêta-carotène.

Les résultats obtenus ont montré une activité élevée de la fraction d'acétate d'éthyle par rapport à la fraction butanolique par les deux techniques de DPPH et  $\beta$ -carotène, mais qui reste inférieure à l'antioxydant de référence (BHA).

Par contre, la fraction butanolique a présenté un pouvoir réducteur de fer plus élevé par rapport à celui de la fraction acétate d'éthyle. Cet effet reste négligeable devant la vitamine C.

**Mots clés :** *Sorghum bicolor* L., flavonoïdes, Activité antioxydante, DPPH, FRAP,  $\beta$ -carotène.

## Abstract

The use of synthesis antioxidant molecules is being dangerous anyway, because of the potential toxicological risks. Indeed, new source of natural antioxidant molecules are required. The flavonoids, natural compounds largely present in the vegetable kingdom, are recognized for their antioxidant activity and still little exploited by different industry (especially pharmaceutical and food industry).

The work presented in this thesis contributes to the study of the antioxidant activity of flavonoids extracted from the sorghum grain of southern Algeria, sorghum species is well known as an important source of secondary metabolites it is the world's fifth major cereal in terms of production after wheat, rice, maize and barley. The choice of this coarse cereal in our study is due to the fact that it has been poorly investigated comparing to others such as wheat or barley.

The *Sorghum bicolor* L, of this study presented content of flavonoids 1.11 mg/ml.

The antioxidant activity of two fractions (ethyl acetate fraction and the butanolic fraction) was evaluated using different antioxidant assays, including: DPPH free radical scavenging activity, reducing power, and the  $\beta$ -carotene bleaching method.

The results showed that the ethyl acetate fraction had a high antioxidant activity than the butanolic fraction by DPPH and  $\beta$ -carotene bleaching method, but it remains below the reference antioxidant (BHA).

However, the butanolic fraction presented a higher power report to that of the ethyl acetate fraction this effect is negligible to the vitamin C.

**Key words:** *Sorghum bicolor* L., flavonoids, antioxidant activity, DPPH, FRAP,  $\beta$ -carotene.

## المخلص

يضع العديد من الباحثين الجزيئات المركبة المضادة للاكسدة موضع نظر لما قد تسببه من تسممات، فلذلك يتم الان البحث عن جزيئات بديلة يمكن استخدامها دونما مخاطر محتملة على الصحة يكون مصدرها طبيعيا و تحديدا من النباتات .

من بين المركبات الطبيعية المتواجدة بشكل واسع في المملكة النباتية، تمتلك الفلافونويدات خصائص مضادة للاكسدة، التي تظل الى يومنا هذا، قليلة الاستثمار في مختلف الصناعات الغذائية منها و الصيدلانية على وجه الخصوص.

العمل المقدم في هذه الدراسة تساهم في دراسة النشاط المضاد للاكسدة لمركبات الفلافونويد المستخرج من حبوب الذرة الرفيعة في جنوب الجزائر. تعتبر الذرة الرفيعة مصدر رئيسي من المركبات الثانوية و هي خامس اكبر من حيث حبوب الانتاج العالمي بعد القمح و الارز و الذرة و الشعير. اختيار مثل هذه الحبوب الثانوية في هذه الدراسة يرجع الى حقيقة ان لديها خصائص علاجية و انه تم التحقق فيما يتعلق بالقمح و الشعير.

محتوى ذرة الرفيعة فيما يخص الفلافونويدات 1.11 mg/ml

تمت دراسة النشاط المضادة للاكسدة بواسطة 3 طرائق: تثبيط الجذر الحر DPPH, ارجاع الحديد و تثبيط ازالة لون البيتاكاروتين.

اظهرت النتائج المتحصل عليها من مستخلص خلاص الايتيل يملك نشاط عالي للاكسدة مقارنة لمستخلص الكحول البوتيلي بواسطة طريقتين تثبيط الجذر DPPH و تثبيط ازالة لون البيتاكاروتين و لكن تبقى منخفضة بالنسبة الى BHA.

كما اظهرت النتائج القدرة الارجاعية للحديد لمستخلص الكحول البوتيلي كانت معتبرة مقارنة بمستخلص خلاص الايتيل. هذا التأثير يبقى ضعيف بالنسبة للفيتامين C.

**الكلمات المفتاحية :** حبوب الذرة الرفيعة، الفلافونويدات، النشاط المضاد للاكسدة، DPPH، ارجاع الحديد، البيتاكاروتين.