



République Algérienne Démocratique et populaire

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

N° d'ordre
N° de série

**FACULTE DES SCIENCE
ET SCIENCES DE L'INGENIEUR**

Département de Génie des Procédés

**Mémoire
Présenté pour l'obtention du diplôme de
MAGISTER**

Spécialité : Chimie

Option : Chimie organique physico-chimie et moléculaire

Présenté par

Hadbaoui Zineb

Thème

**Etude de l'activité antioxydante des fractions
lipidiques, protéiques et phénoliques
des graines de sorgho local**

Soutenu publiquement le /06/2007

Devant le jury composé de :

Mr M.SAIDI	Professeur	Université de Ouargla	Président
Mr T.LANEZ	Professeur	Université de Ouargla	Examineur
Mr M B.NADJEMI	Professeur	E.N.S Kouba .Alger	Examineur
Mr M.YOUSFI	Maitre de conférences	Université de Laghouat	Rapporteur

Année Universitaire 2006/2007

*A ma très chère mère
A mes chères sœurs et mes frères
A mon groupe de travail*

Remerciements

Ce travail que j'ai l'honneur de présenter a été exécuté et mené à bien grâce au dévouement exceptionnel de mon encadreur Mr *M.YOUSFI* qui a dirigé au sens mon travail et m'a permis d'atteindre humblement mon but.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur *D.BENBARTAL*, professeur à l'université de L'aghouat et responsable du Laboratoire des Sciences Fondamentales de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et de la confiance qu'il a mise à mon égard . Je remercie également Mr *A.DJERRIDANE* pour l'aide qu'il m'a apporté ,et pour l'assistance par des conseils toujours objectifs et éclairés .

Je remercie également .Madame *Isabelle BONBARDA* du laboratoire de phytochimie de Marseille, de m'avoir fait les analyses spectroscopiques.

Mes vifs remerciements vont à l'adresse de tout les membres du jury pour avoir accepté de lire et d'évaluer le présent travail notamment Mr *M.SAID* comme président du jury et Mr *T.LANEZ*, Mr *B.NADJEMI* pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant d'être examinateurs.

Mes remerciements vont aussi à tous mes amis et notamment mes intimes qui m'ont continuellement soutenus dans ma vocation et m'ont aidé surtout dans les moments les plus difficiles.

J'aimerais enfin exprimer mon éternelle reconnaissance à mes parents, à mes soeurs et frères, tout en leurs exprimant mon affection particulière, pour m'avoir constamment soutenu durant mes études et notamment dans les moments difficiles.

Bien que toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce travail trouvent ici mes sincères remerciements.

ملخص

زيت حبوب الذرة الرفيعة يحتوي على كمية معتبرة من الأحماض الدهنية غير مشبعة C₁₈ حوالي 85% من المجموع الكلي للأحماض الدهنية. كما تبين من خلال التحليل كروماتوغرافيا السائلة ذات الضغط العالي بأن كلا من عيني الذرة الرفيعة البيضاء و الحمراء تحتوي على أحماض أمينية أساسية خاصة ليزين الذي تتراوح قيمته بين 127.84 مغ/غ بالنسبة ذرة رفيعة الحمراء و 78.03 مغ/غ بالنسبة لذرة الرفيعة البيضاء. إضافة إلى ذلك دراسة المستخلصات الفينولية لكلتا العينتين تبين أنهما غنية بالمركبات الفلافونويدية. بعد الحصول على المستخلصات الليبيدية البروتينية و الفينولية تطرقنا لدراسة الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال اختبارين كيميائيين الأول تثبيط الجذور الحرة DPPH و الاختبار الثاني مضاد للأكسدة موليبيدات الفوسفات .

قد بين نشاط فعالية تثبيط الجذور الحرة للمستخلصات الفينولية أكثر منه في المستخلصات البروتينية و الليبيدية بالنسبة لاختبار DPPH .

غير أن المستخلصات البروتينية تأتي في المرتبة الأولى بالنسبة لاختبار موليبيدات الفوسفات تتبع بالمستخلصات الفينولية ثم

الليبيدية

. وجود علاقة طردية بين كمية الفينولات والفعالية المضادة للأكسدة بالنسبة للأختبارين من جهة و بين الاختبارين الكيميائيين موليبيدات

الفوسفات من DPPH جهة أخرى

الكلمات المفتوحة البشنة, الليبيد, البروتين, الفينول, DPPH , نشاط مضاد للأكسدة

Résumé

L'analyse des acides gras des fractions lipidiques par CPG a montré que les huiles des graines du sorgho contiennent des acides gras insaturés en C₁₈ (85% des acides gras totaux).

Les tourteaux renferment des acides aminés essentiels en particulier la lysine sa valeur est variée de 127.84 mg/g dans le sorgho rouge et 78.03 mg/g dans le sorgho blanc.

L'analyse par CLHP des extraits phénoliques montre que les deux variétés du sorgho sont riches en composés flavonoidiques.

L'étude de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques du grain de sorgho nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antioxydant de cette graine. L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par deux tests chimiques DPPH et Molybdate phosphate.

Concernant le test DPPH, il montre que l'activité antioxydante des extraits phénoliques est plus forte que celle des extraits protéiques et lipidiques. Alors que les extraits protéiques se place en premier ordre dans le test Molybdate phosphate suivi par les extraits phénoliques puis lipidiques.

Des corrélations positives ont été trouvées entre la quantité des phénols totaux et le pouvoir antioxydant déterminé par les deux tests d'une part et entre les deux tests chimiques DPPH et Molybdate Phosphate d'autre part.

Mots clés : Sorgho, lipide, protéine, phénol, DPPH, activité antioxydante.

Liste des figures

Figure.I.1 : Grain de sorgho blanc	3
Figure.I.2 : Grain de sorgho rouge	3
Figure.I.3 : Comparaison des charges opérationnelles des cultures de sorgho et de maïs	12
Figure.II.1 : Triglycéride	16
Figure.II.2 : Glycérophospholipides	17
Figure.II.3 : Sphingolipide	17
Figure.II.4 : Terpenoides	18
Figure.III.1 : Chromatogramme CPG des esters méthyliques des acides gras d'huile brute de Sorgho blanc	40
Figure.III.2 : Chromatogramme CPG des esters méthyliques des acides gras d'huile brute de Sorgho rouge	40
Figure.III.3 : Chromatogramme CPG des esters méthyliques des acides gras d'huile chloroformique de Sorgho rouge	41
Figure.III.4 : Chromatogramme CPG des esters méthyliques des acides gras d'huile chloroformique de Sorgho blanc	41
Figure.III.5 : La courbe d'étalonnage de l'Albumine	44
Figure.III.6 : Chromatogramme CLHP des acides aminés standard	49
Figure.III.7 : Chromatogramme CLHP des acides aminés du Sorgho blanc	50
Figure.III.8 : Chromatogramme CLHP des acides aminés de Sorgho rouge	52
Figure.III.9 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique	57
Figure. III.10 : Chromatogramme CLHP des phénols totaux du sorgho blanc	57

Figure.III.11: Chromatogramme CLHP des phénols totaux du sorgho rouge	57
Figure. IV.1 : Variation du pouvoir antioxydant (I%) en fonction de la concentration des extraits lipidiques	64
Figure.IV.2 : Classement décroissant des extraits lipidiques et des composés de références selon leurs IC ₅₀	65
Figure.IV.3 : Variation du pouvoir antioxydant (I%) en fonction de la concentration des extraits protéiques	66
Figure.IV.4 : Classement décroissant des extraits proPtéiques et des composés de références selon leurs IC ₅₀	67
Figure.IV.5 : Variation du pouvoir antioxydant (I%) en fonction de la concentration des extraits phénoliques	68
Figure.IV.6 : Variation du pouvoir antioxydant (I%) en fonction de la concentration des extraits aqueuses	69
Figure.IV.7 : Classement décroissant des extraits Phénoliques et des composés de références selon leurs IC ₅₀	71
Figure.IV.8 : Classement décroissant des fractions aqueuses et des composés de références selon leurs IC ₅₀	71
Figure.IV.9 : La courbe d'étalonnage de la vitamine E	72
Figure.IV.10: La corrélation entre le taux des phénols et les différents tests chimiques	75
Figure.IV.11: La corrélation entre le test DPPH et le test Molybdate phosphate.	76

Liste des tableaux

Tableau.I.1 : Composition biochimique de grains du sorgho	6
Tableau.I.2 : Composition minérale du sorgho (mg/100g)	8
Tableau.I.3 : productions mondiales du sorgho	14
Tableau.II.1 : Espèces actives de l'oxygène	28
Tableau.II.2 : Les quatre principaux types d'antioxydants végétaux	33
Tableau.III.1 : Teneur en huile des grains étudiés	37
Tableau.III.2 : Poids des huiles des grains extrait par flash chromatographie	38
Tableau.III.3 : Composition en acides gras des huiles étudiées	42
Tableau.III.4 : Pourcentage massique des protéines	45
Tableau.III.5 : Composition en acides aminés	47
Tableau.III.6 : Quantité des phénols totaux des fractions phénoliques et phase aqueuse (mg/100g)	52
Tableau.III.7 : L'analyse des extraits phénoliques du Sorgho blanc par CLHP.	55
Tableau.III.8 : L'analyse des extraits phénoliques de Sorgho rouge par CLHP.	56
Tableau.IV.1 : Résultats du test DPPH (fraction lipidique g/l)	64
Tableau.IV.2 : Résultats du test DPPH (fraction protéique mg/ml)	66
Tableau.IV.3 : Résultats du test DPPH (fraction phénolique et aqueuse g/l)	70
Tableau.IV.4 : Résultats du test Molybdate Phosphate (fraction lipidique & protéique mM)	73
Tableau.IV.5 : Résultats du test Molybdate Phosphate (fraction phénolique & aqueuse mM)	73

Liste des abréviations

ABTS	2,2 Azinobis (-3-ethyl benzothioazoline-6-Sulfonic Acide)
AGMI	Acide Gras Mono-Insaturé
AGPI	Acide Gras Ply-Insaturé
AGS	Acide Gras Saturé
AOM	Active Oxygen Method
BHA	Buthylhydroxyanizole
BHT	Buthylhydroxtoluéne
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CLHP	Chromatographie Liquide à Haute Pression
CPG	Chromatographie Phase Gazeuse
DPPH	Diphényl-2-Picryl Hydrazyl
EMAG	Ester Méthylique d'Acide Gras
FRAP	Ferric Reducing Antioxydant Power
LM	Linoléate de Méthyle
PAC	Politique Agricole Commune
PBS	Phosphate Buffer Solution
PI	Période d'Induction
PITC	N-phénylthiocarbonyle
TROLOX	6-hydroxy 2,5,7,8 tétraméthylchromane 2 carboxy cyclique acid
UV	Ultra-Violet

Sommaire

Introduction générale	1
Première partie (aperçu Bibliographique)	
Chapitre - I- Etude générale sur le sorgho	
I.1 Introduction	3
I.2 Caractéristiques botaniques	3
I.3 Description	4
I.4 Les grains et leurs structure	4
I.5 Composition biochimique	6
I.5.1 Matière sèche	6
I.5.1.1 Les glucides	6
I.5.1.2 Les protéines	7
I.5.1.3 Les lipides	7
I.5.1.4 Les sels minéraux	7
I.5.1.5 Vitamines	8
I.5.2 Eau	8
I.6 Propriétés physiques	9
I.7 Inhibition nutritionnels et facteurs toxiques	9
I.7.1 Phytates	9
I.7.2 Polyphénols	10
I.8 Utilisation du Sorgho	11
I.9 Aspect économique	11
I.10 La production mondiale	13
Chapitre - II- Généralités sur les lipides, les protéines et l'activité antioxydante	
II.1 Les lipides	16
II.1.1 Définitions	16
II.1.2 Les lipides simples et complexes	16
a) Les lipides simples	16
b) Les lipides complexes	16
II.1.3 Classification des lipides	17
a) Les triglycérides	17
b) Les glycérophospholipides	17
c) Les sphingolipides	18

d) Les terpenoïdes	19
II.1.4 Le rôle biologique des lipides	20
II.2 Les acides gras	20
II.2.1 Définition	20
II.2.2 Classification des acides gras	20
a) Les acides gras saturés	20
b) Les acides gras insaturés	20
c) Les acides gras cycliques	21
II.2.3 Le rôle biologique des acides gras	21
II.3 Les protéines	23
II.3.1 Définition	23
II.3.2 Structure des protéines	23
II.3.3 Le rôle biologique des protéines	23
II.4 Les acides aminés	24
II.4.1 Définition	24
II.4.2 Principaux acides aminés	24
II.4.3 Propriétés des acides aminés	24
II.4.4 Le rôle biologique des acides aminés	25
II.5 Origine et production des radicaux libres	26
II.5.1 Le radical libre	26
II.5.2 Les radicaux libres oxygénés	27
II.5.3 Le stress oxydatif	29
a) Oxydation des protéines	29
b) Oxydation de l'ADN	29
c) Oxydation lipidiques	29
II.6 Les systèmes de protection contre les radicaux libres	31
II.6.1 Définition d'un antioxydant	31
II.6.2 Principaux antioxydant	31
a) Les antioxydants synthétiques	31
b) Les antioxydants naturels	31
II.6.3 Sources des antioxydants	35

Deuxième partie (travail Expérimental)

Chapitre - III- Extraction et quantification des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques

III.1 Traitement des échantillons	37
III.1.1 Extraction des lipides	37
a) Résultats et discussions	37

III.1.2 Analyse des acides gras	38
a) Extraction des huiles par flash chromatographique	38
b) Préparation des esters méthyliques	39
c) Résultats et discussions	39
III.1.3 Extraction des protéines	44
a) Dosage des protéines	44
b) Préparation de la courbe d'étalonnage des protéines	44
c) Résultats et discussions	45
III.1.4 Analyse des acides aminés	46
a) Hydrolyse des protéines	46
b) Identification des acides aminés	46
c) Résultats et discussions	46
III.1.5 Extraction des composés phénoliques	51
a) Quantification des composés phénoliques	51
b) Résultats et discussions	52
III.1.6 Analyse des composés phénoliques par CLHP	54
a) Résultats et discussions	55
Chapitre - IV-Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits de la graine du Sorgho	
IV.1 Mesure de résistance	59
IV.2 Mesure du pouvoir antioxydant en systèmes modèles	60
IV.3 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits du Sorgho	63
IV.3.3 Test DPPH	63
a) Détermination quantitative du pouvoir antiradicalaire	64
a.1) Les extraits lipidiques	64
a.2) Les extraits protéiques	66
a.3) Les extraits Phénoliques	68
IV.3.2 Test Molybdate phosphate	72
a) Résultats et discussions	72
IV.3.3 Recherche d'une corrélation	75
Conclusion générale	78
Bibliographie	81
Annexe	90

INTRODUCTION

Introduction générale

De nombreuses recherches ont mis en évidence le rôle des phénomènes oxydatifs dans l'initiation de maladies aussi différentes que l'artériosclérose, les problèmes inflammatoires, cardiaques, pulmonaires, les cancers, le processus de vieillissement. De telles maladies apparaissent lorsque les mécanismes de défense contre les radicaux libres, dont dispose l'organisme, sont submergés. Il est donc nécessaire, à ce moment la, d'aider le corps à lutter contre ces agressions.

L'usage des grains ou des plantes pour leurs vertus curatives s'est créé, répondu et transmis dans les plus anciennes civilisations connues. Il s'agit d'une des manifestations d'effort immémorial de l'homme pour comprendre et utiliser la nature, répondant ainsi à une de ses plus anciennes inquiétudes, celle qui naît de la maladie et la souffrance [1].

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 riches en polyphénols [2]. Or, ces substances ont une activité anti-radicaux libres, 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 le vieillissement et le cancer [3].

Très abondant et de coût très limité, le sorgho nous a semblé intéressant comme possible source antioxydant [4], la richesse principale du Sorgho est l'amidon [5].

La caractéristique du sorgho est sa résistance à la chaleur car les dizaines de variétés de cette espèce poussent dans les régions les plus chaudes en Algérie (région de Ain Salah). Les raisons de choix du sorgho tiennent d'une part à la végétation de cette espèce dans nos régions sahariennes et d'autre part à des données ethnopharmacologiques indiquant leur utilisation contre certaines maladies et également en nutrition.

Dans le cadre de cette étude, les capacités matérielles mises à notre disposition, nous ont permis de mettre en place une stratégie de recherche pour l'étude phytochimique de deux variétés de Sorgho locales.

La première partie consiste à une étude bibliographique, elle comporte deux chapitres

Le premier chapitre, on s'intéresse à donner quelques connaissances concernant les grains du sorgho.

Dans le deuxième chapitre, nous définissons les lipides, les protéines et leurs rôles biologiques, la définition des radicaux libres et différents systèmes de protection contre les radicaux libres. La deuxième partie consiste en une étude expérimentale, elle comporte deux chapitres. Le premier chapitre est concerné la quantification et l'identification des fractions lipidiques protéiques et phénoliques. Le deuxième chapitre est consacré à l'évaluation de l'activité antioxydante, nous avons utilisé également deux tests chimiques sont utilisés, l'un est le test DPPH qui permet d'évaluer la capacité antiradicalaire nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libres.

L'autre permettant de mesurer la capacité réductrice présente dans nos extraits, c'est le test Molybdate phosphate.

Nous avons essayé par la suite de comparer les résultats obtenus par les différents tests utilisés pour établir des corrélations entre ces méthodes.

Aperçu Bibliographique

Chapitre I
Etude générale sur le Sorgho

I.1 Introduction

Le sorgho est- depuis des siècles d'importantes denrées alimentaires de base dans les régions tropicales semi-arides d'Asie et d'Afrique. Il reste la principale source d'énergie, de protéines, de vitamines et de sels minéraux pour des millions d'habitants parmi les plus pauvres de ces régions [6]

Le sorgho pousse dans des environnements difficiles. Il est cultivé par une multitude de petits agriculteurs dans de nombreux pays, avec des ressources en eau limitées et généralement sans application d'engrais ou d'autres intrants. Comme il est essentiellement consommé par les groupes défavorisés, on l'appelle souvent «céréales secondaires» ou «cultures du pauvre» [6]

I.2 Caractéristiques botaniques du Sorgho [6].

Nom scientifique : Sorgho bicolor (L)

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

Tribe : Andropogoneae

Famille: Poaceae

Spécier : Sorghum bicolor (L)

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

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

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

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

Hauteur: 1 à 3m.

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

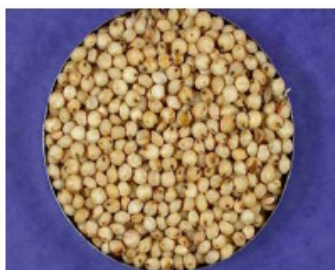


Figure I.1 **Grain de sorgho blanc**

Figure I.2 **Grain de sorgho rouge**

I.3 Description

Le sorgho grain ressemble au maïs. Son appareil racinaire plus profond lui permet cependant de mieux résister à la sécheresse.

C'est une plante de 1 à 3 mètres de haut, à tige cylindrique pleine portant une inflorescence terminale en panicule compacte. Celle-ci regroupe des épillets d'une ou deux fleurs bisexuées. La graine est un caryopse de 4 mm environ. A maturité, son taux d'humidité est encore relativement élevé (25 à 30 %) et la récolte doit être séchée rapidement.

Cette plante contient un glucoside, la durrhine, qui est toxique car elle entraîne la formation d'acide cyanhydrique. La teneur en durrhine diminue au fur et à mesure de la croissance et surtout après la floraison. Il est préférable de cuire les grains à la vapeur avant de les consommer[6]

I.4 Les grains et leurs structures

Les grains de sorgho sont caractérisés par une diversité considérable de couleurs, de formes, de dimensions et de certains éléments anatomique.

Les principaux éléments anatomiques sont le péricarpe, le germe ou embryon et l'endosperme. le péricarpe est comme un sac, lié par un seul point d'attache à l'endosperme. Dans ces grains de type utricule, le péricarpe se détache facilement, laissant l'endosperme intérieur protégé par l'enveloppe de la graine ou testa. Les grains de sorgho sont du type caryopse, où le péricarpe est complètement fusionné avec l'endosperme.

La distribution relative des trois principaux éléments varie, la répartition selon le poids est de 6 pour cent pour le péricarpe, 84 pour cent pour l'endosperme et 10 pour cent pour le germe[6]

Péricarpe

Le péricarpe est la structure extérieure du caryopse et se compose de trois sous couches: l'épicarpe le mésocarpe et l'endocarpe, l'épicarpe est lui-même divisé en épiderme et hypoderme. Dans le caryopse du sorgho, l'épiderme est composé de cellules épaisses, allongées et rectangulaires, dont la surface extérieure est revêtue de cutine. Un pigment est Souvent présent dans l'épiderme. L'hypoderme est composé de cellules légèrement plus petites que l'épiderme, et son épaisseur varie entre une et trois couches de cellules. Le mésocarpe est la partie intermédiaire et la couche la plus épaisse du péricarpe de sorgho, mais son épaisseur varie beaucoup selon les génotypes.

La résistance du sorgho à la moisissure est fonction de la finesse du mésocarpe. Les grains qui présentent un mésocarpe épais sur un endosperme dur sont choisis de préférence lorsqu'on veut décortiquer en pilant à la main. L'endocarpe, sous-couche intérieure du péricarpe, se compose de cellules transversales et d'une couche de cellules tubulaires qui transportent l'humidité dans le grain. Au cours de la mouture à sec du sorgho, il y a rupture à l'endroit des couches de cellules transversales et tubulaires [6].

Endosperme

L'élément le plus volumineux du grain de céréale est l'endosperme, qui est un important tissu de réserve. Il se compose d'une couche d'aleurone ou assise protéique et de zones périphériques cornées et farineuses.

le sorgho, l'aleurone est constitué d'une seule couche de cellules, qui se situe juste en dessous de l'enveloppe de la graine ou spermoderme. Les cellules d'aleurone sont riches en sels minéraux, en vitamines du complexe B et en huile; elles contiennent quelques enzymes hydrolysantes.

L'endosperme périphérique se distingue par ses longues cellules rectangulaires qui forment un ensemble compact et contiennent d'amidon et des corps protéiques imbriqués dans la matrice protéique. L'amidon de ces cellules n'est donc pas facilement disponible

pour la digestion par les enzymes, à moins que la protéine qui lui est associée soit également réduite. La matrice protéique est en général une glutéline soluble dans l'alcali, et les corps protéiques sont des prolamines solubles dans l'alcool, qui représentent la plus forte proportion des protéines totales du grain[6].

Germe

L'axe embryonnaire et le scutellum sont les deux parties principales du germe. Le scutellum est un tissu de réserve riche en lipides, protéines. Enzymes et sels minéraux. L'huile présente dans le germe de sorgho est riche en acides gras polyinsaturés et analogues à l'huile de maïs [6].

I.5 Composition biochimique

Les grains constitués d'eau et de matière sèche .La matière sèche se décompose elle même en matière minérale (macro éléments,silice,chlorure,phosphate ,sulfate ...et alio éléments cuivre,fer,manganèse ,iode...) et en matière organique dans laquelle on distingue :les glucides,les lipides,les protides et les vitamines[6]

I.5.1Matiere sèche

Nous parlerons de la matière organique et notamment des éléments principaux que sont les glucides,les lipides et les protides. Tableau (I.1)

Tableau I.1 – Composition chimique de graines du sorgho

Céréale	Protéine (g)	Matière grasse	Glucide (g)	Cendres (g)	Fibre brute	Energie (kcal)
Sorgho	10,4	3,1	70,7	1,6	2,0	329

I.5.1.1 Les matières glucidiques

-Les holosides

L'amidon est une substance énergétique présente en grande quantité dans les céréales. Il est présent sous forme de granules dans les cellules de l'albumen, organe de réserve qui

forme l'essentiel de la masse du grain. Le pourcentage d'amidon dans un grain à 12 % d'humidité est d'environ 63 % (sorgho) [6]

La cellulose est un autre holoside, principal constituant des parois cellulaires. Elle est surtout importante au niveau du péricarpe.

-L'hémicellulose

Les tanins contenus dans les enveloppes du sorgho est également des hétérosides qui renferment des composés cycliques du type benzène ou phénol qui ne sont pas digestibles et peuvent même être antinutritionnels. Ceci explique la nécessité du décorticage préalablement à la mouture [6]

I.5.1.2 Les Protéines

La deuxième composante principale des grains de sorgho est la protéine. La teneur en protéines du sorgho est influencée à la fois par les facteurs génétiques et environnementaux. Dans le sorgho, la variabilité est importante, probablement parce qu'on le cultive dans des conditions agroclimatiques diverses qui influent sur la composition du grain [6]. Les fluctuations de la teneur en protéines s'accompagnent généralement de changements de la composition en acides aminés des protéines. On a observé une grande variabilité de la composition en acides aminés essentiels de la protéine de sorgho est variée, la teneur en lysine de 71 à 212 mg par gramme [6]

I.5.1.3 Les lipides

La teneur en matière grasse brute du sorgho est de 3 pour cent, 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 pour cent 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 pour cent) que la normale. Les variations de la teneur en matière grasse du grain peuvent être attribuées partie aux différents systèmes de solvant utilisés pour l'extraction de la matière grasse qu'il contient. Price et Parson ont signalé que la fraction lipidique neutre

était de 86,2 pour cent, les glycolipides représentant 3,1 pour cent et les phospholipides 10,7 pour cent dans la matière grasse du sorgho.

La composition en acides gras de la matière grasse du sorgho (49 pour cent d'acide linoléique, 31 pour cent d'acide oléique, 14 pour cent d'acide palmitique, 2,7 pour cent d'acide linoléique, 2,1 pour cent d'acide stéarique) était analogue à celle du blé, mais plus Insaturée [6]

I.5.1.4 Les sels minéraux

Dans la graine de sorgho, les sels minéraux sont inégalement répartis, et leur concentration est surtout forte dans le germe et le spermoderme .Pederson et Eggum ont démontré qu'il y avait diminution des teneurs en sels minéraux tels que le phosphore, le fer, le zinc et le cuivre, lorsqu'on diminuait les taux d'extraction à la mouture des farines de sorgho. De même, le perlage de la graine pour éliminer le spermoderme fibreux se traduisait

par une réduction considérable de la teneur du sorgho en sels minéraux. Ces études ont cependant révélé aussi que la disponibilité du fer in vitro mesurée par le pourcentage de fer ionisable dans le fer total était plus élevée dans la graine perlée.

Ils ont également observé que le pourcentage de fer soluble et ionisable était plus élevé dans les gruaux préparés à partir de sorgho décortiqué mécaniquement que dans ceux préparés à partir de graines broyées de façon traditionnelle à l'aide d'un mortier et d'un pilon. [6]

Tableau I.2 : Composition minérale du sorgho (mg/100g) [6]

Graine	Mg	Ca	Fe	Zn	Cu	Mn	Mo	Cr
Sorgho	171	15	4,2	2,5	0,44	1,15	0.06	0,017

Cette augmentation de la disponibilité de fer a été attribuée en partie à l'efficacité d'élimination de l'enveloppe riche en phytates par la mouture mécanique et en partie par

la destruction plus importante des phytates au cours du trempage des graines avant décorticage.

I.5.1.5 Vitamines

Le sorgho constitue en général de riches sources de vitamines du complexe B. Certaines variétés de sorgho à endosperme jaune contiennent du bêta carotène qui pourrait être transformé en vitamine A par le corps humain. VanEtten et Wiebe ont isolé les caroténoïdes du sorgho et identifié la lutéine, la zéaxanthine et le bêta carotène

On a également trouvé dans la graine de sorgho des quantités détectables d'autres vitamines solubles dans la matière grasse, à savoir D, E et K. Le sorgho tel qu'il est généralement consommé n'est pas source de vitamine C [6]

I.5.2 Eau

L'eau a un rôle physique. Elle maintient les structures cellulaires, et permet le transport de gaz, de sel minéraux de colloïdes et assure une bonne conductibilité thermique. Elle a également un rôle chimique important et intervenant dans les hydrolyse et surtout en facilitant les réactions du métabolisme. A une certaine teneur dans le grain, elle va favoriser les attaques par les micro-organismes

Lorsque on parle d'un sorgho à 12% d'humidité cela signifie que dans 100g de produit brut il y a 12g d'eau [6]

I.6 Propriétés physiques des grains [6]

- Porosité

Une masse de grains constitue un matériau poreux où 30 % à 40 % du volume est occupé par des «vides» (air interstitiel). Ce pourcentage de «vide» est fonction de la taille des grains; il sera plus réduit si les grains sont plus petits... Ces «vides» permettront de faire traverser la masse de grains par un courant d'air (ventilation).

- Conductibilité thermique

Une masse de grains freine la transmission de la chaleur et agit souvent comme un isolant thermique. Une variation de température à la surface d'un lot ne sera ressentie que longtemps après et fortement atténuée à l'intérieur du lot.

- Hygroscopicité

Une masse de grain freine la transmission de la chaleur et agit souvent comme un isolant thermique. Une variation de température à la surface d'un lot ne sera ressentie que longtemps après et fortement atténuée en profondeur.

- Ecoulement

Mis en mouvement, les grains se comportent comme un matériau fluide. Au repos, la masse de grains prend une position d'équilibre définie par l'angle du talus naturel

I.7 Inhibiteurs nutritionnels et facteurs toxiques

I.7.1 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. 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.

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 phytates, de la fibre et du tanin avec le son lors du perlage [6]

I.7.2 Polyphénols

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 des polyphénols monomères flavane-4-ol, sont appelés anthocyanidines. Les deux flavonoïdes identifiés comme abondants dans les graines de sorgho sont le lutéophorol et l'apiphorol. Jambunathan et al ont observé que la teneur en flavane-4-ol de la graine correspondait à une résistance à la moisissure plutôt qu'aux oiseaux [6]

On a constaté que certaines variétés de sorgho à forte teneur en tanin étaient résistantes aux oiseaux]; donc le sorgho confère un avantage agronomique de résistance aux oiseaux car dans certaines régions, on a signalé des pertes annuelles de production céréalière allant jusqu'à 75 pour cent ou parfois plus [6]

Si les tanins confèrent un avantage agronomique, on a constaté qu'ils avaient des effets négatifs sur la qualité nutritionnelle de la graine [6] On a observé un retard de croissance chez les poussins alimentés avec des sorghos à forte teneur en tanin.

Il n'existe pas de preuve directe des effets antinutritionnels des tanins alimentaires chez l'homme.

Des efforts considérables ont été déployés pour élaborer des méthodes d'amélioration de la qualité nutritionnelle du sorgho résistant aux oiseaux [6]. Les tanins et les polyphénols associés sont concentrés dans l'enveloppe de la graine et peuvent être éliminés par la mouture. Cependant, on a constaté que la méthode traditionnelle de broyage au mortier et au pilon aussi bien que la mouture mécanique entraînaient pertes considérables

d'éléments nutritifs et que la farine qui en résultait présentait un rendement et une qualité nutritionnelle médiocres [6]

I.8 Utilisation

- Alimentation humaine : le sorgho est une culture vivrière dans de nombreux pays d'Afrique et d'Asie. le sorgho peut se consommer en grain à l'instar du riz, ou être réduit en farine. Dans les pays occidentaux il entre dans la composition de biscuits pour le goûter [6].
- Alimentation animale : principalement dans les pays occidentaux.
- Utilisations médicinales : Sorgho bicolore, a 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[7].

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 . [8,9,10]

I.9 Aspect économique [11]

" Si, dans le passé, les aides accordées aux oléo protéagineux rendaient la culture de tournesol plus rentable que celle de sorgho, la nouvelle **PAC (Politique Agricole Commune)** devrait modifier la donne, et notamment dans les zones dans lesquelles les rendements en tournesol sont limités. Dans le cadre de la nouvelle PAC, le sorgho dispose en effet de nouveaux atouts agro économiques.

En étant peu exigeante en eau et en intrants, cette culture est tout à fait compétitive comparée au maïs irrigué. Elle retrouve un regain d'intérêt en système sec ou irrigué et son introduction dans les rotations permet de diversifier les assolements.

Une culture compétitive par rapport aux cultures d'été dominantes

Une enquête technique- économique, réalisée par ARVALIS-Institut du végétal en collaboration avec Pro-Sorgho, la FNPSMS et l'AGPB auprès d'une vingtaine de producteurs, montre que les marges brutes dégagées par le sorgho dans le cadre de la nouvelle PAC justifient sa place dans les assolements du sud de la France .Gros plan sur les résultats de cette enquête.

L'objectif de cette étude était de mieux connaître, dans le contexte de la nouvelle PAC, les attraits économiques du sorgho. Pour cela, les marges brutes de la culture ont été comparées à celles du maïs et du tournesol, cultures avec lesquelles il entre en concurrence directe dans le choix des assolements. Les expérimentations ont été menées sur les années de référence 2002, 2003, 2004 chez un panel d'agriculteurs répartis dans les trois principaux bassins de production : le Sud-Ouest, la vallée du Rhône, et le Poitou-Charentes. Tous les producteurs possédaient déjà une bonne expérience de la conduite du sorgho.

En première approche, cette étude souligne que le sorgho en système irrigué affiche des rendements sensiblement supérieurs à ceux obtenus en système sec. La culture présente un réel intérêt à être menée en système irrigué d'autant que ses exigences en eau sont relativement modestes.

En conduite irriguée, la compétitivité du sorgho a été comparée à celle du maïs. Deux cultures dont la valeur moyenne de l'aide découplée est identique (122 euros /ha) et qui affichent des prix de vente analogues (91 euros /ha pour le sorgho et 95 euros /ha pour le maïs).

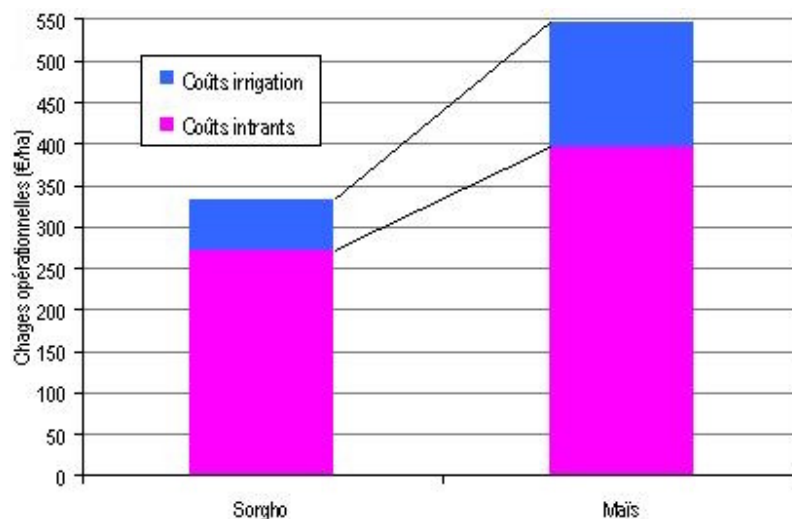


Figure I.3 - Comparaison des charges opérationnelles des

Cultures de sorgho et de maïs [11]

Les charges opérationnelles liées à la production de sorgho sont nettement inférieures à celles enregistrées dans le cas du maïs (figure 1). Le coût des intrants s'établit à 260 euros dans le cas du sorgho contre 400 euros pour le maïs. Les différences s'expliquent principalement par l'importance montants des postes semences et insecticides pour la culture de maïs.

Avec des besoins en eau moyens de l'ordre de 126 mm sur les trois années d'étude - alors qu'ils étaient en moyenne de 303 mm d'eau dans le cas du maïs, les charges d'irrigation du sorgho sont inférieures à celle du maïs.

Au total, les charges opérationnelles du sorgho sont de l'ordre de 330 euros/ha dans le cas du sorgho alors qu'elles dépassent 530 euros dans le cas du maïs. Cette différence de charge permet de compenser les différences de rendement qui existent entre ces deux cultures [11].

I.10 La production mondiale

Les cinq plus gros producteurs de sorgho dans le monde (sont les Etats-Unis (25 pour cent), l'Inde (21,5 pour cent), le Mexique (près de 11 pour cent), la Chine (9 pour cent) et le Nigeria (près de 7 pour cent), les statistiques mondiales du sorgho présentées dans le tableau(I.3) .

Sur la superficie totale consacrée au sorgho dans le monde, plus de 80 pour cent se situent dans les pays en développement. En Afrique, le sorgho est cultivé dans une large ceinture qui s'étend de l'Atlantique à l'Ethiopie et à la Somalie, bordée par le Sahara au nord et la forêt équatoriale au sud. Cette zone s'étend à travers les parties les plus sèches de l'Afrique orientale et australe, où les précipitations sont trop faibles pour que la culture du

maïs réussisse. En Afrique subsaharienne, le sorgho est la deuxième céréale en importance après le maïs. [12]

Grâce à leur rendement plus élevé par unité de superficie, ce sont l'Amérique du Nord et l'Amérique centrale qui produisent la plus forte quantité de sorgho (37 pour cent de la production totale). En Amérique centrale et du Sud, le sorgho est cultivé dans les parties les plus sèches du Mexique, d'El Salvador, du Guatemala et du Nicaragua, dans les plaines sèches de l'intérieur de l'Argentine, les zones sèches du nord de la Colombie, le Venezuela, le Brésil et l'Uruguay. En Amérique du Nord, le sorgho est cultivé dans certaines parties des plaines du centre et du sud des Etats-Unis où les précipitations sont faibles et irrégulières. Le Kansas, le Texas, le Nebraska et l'Arkansas sont les principaux Etats producteurs, avec environ 80 pour cent de la production totale des Etats-Unis.

En Asie, le sorgho est largement cultivé en Inde, en Chine, au Yémen, au Pakistan et en Thaïlande. En Europe, sa production est limitée à quelques régions de France, d'Italie, d'Espagne et de pays du sud-est. En Océanie, l'Australie est le seul producteur important: la culture se concentre dans le Queensland et le nord du New South Wales, qui produisent environ 95 pour cent de la quantité totale. [12]

Tableau I.3 : Productions mondiales du sorgho [12]

	2007: production prévue			2006: production réelle		
produit	superficie cultivée (ha)	rendement moyen (kg/ha)	production prévue (kg)	superficie cultivée (ha)	rendement moyen (kg/ha)	production réelle (kg)
sorgho	902 681	770	695 064 370	682 548	959	654 563 532

Chapitre II
Généralité sur les lipides ,les protéines
et l'activité antioxydante

II-1-Les lipides

II-1-1 Définition

Les lipides sont des biomolécules organiques insolubles dans l'eau, on va les extraire des cellules ou tissus par des solvants non polaires tel que le chloroforme, hexane, l'éther, le benzène. Il existe différentes classes de lipides, mais leurs propriétés communes résultent des chaînes hydrocarbonées (carbone + hydrogène) qui constituent la majeure partie de leur structure. Ces lipides présentent plusieurs fonctions biologiques importantes, ils remplissent des fonctions structurales essentielles en tant que composant majeur des biomolécules membranaires. Ils servent de combustibles pour la cellule et pour cela ils interviennent dans des réactions d'oxydation dans la cellule, un rôle de protection à la surface d'un grand nombre d'organisme, ils peuvent être aussi des constituants de la surface cellulaire et participer à la reconnaissance des cellules et joue un rôle d'immunité cellulaire ; enfin certaines substances telles vitamines et hormones, sont classés parmi les lipides et ces substances sont douées d'une intense activité biologique. [13]

II-1-2 Les lipides simples et complexes

a) Les lipides simples [14]

Les lipides simples encore appelés homolipides sont des corps ternaires (C, H, O). Ils sont des esters d'acides gras que l'on classe en fonction de l'alcool :

- acylglycerols** (ou glycérodes) sont des esters du glycérol.
- cerides** sont des esters d'alcool à longues chaînes (alcool gras).
- stérides** sont des esters de stérols (alcool polycyclique).

b) Les lipides complexes [14]

Ces hétérolipides contiennent des phosphates, sulfates ou glucides. Ils sont classés par rapport à la molécule qui fixe les acides gras:

Soit le glycérol qui se distingue des acyglycerols par l'hétéro groupe et qui sont subdiviser en:

- glycérophospholipides
- glyceroglycolipides.

Soit une base sphingoides (dialcool aminé) qui définit les sphingolipides.

II-1-3 Classification des lipides

a) Les triglycérides [14]

Les triglycérides ou plus exactement les triglycerols sont les triples esters d'acides gras et de glycerols. Il s'agit de molécules très hydrophobes, constituant une forme de réserve de l'énergie très courante dans le règne animal, 90 à 95 % des graisses alimentaires sont ingérés sous la forme de triglycérides (TG).

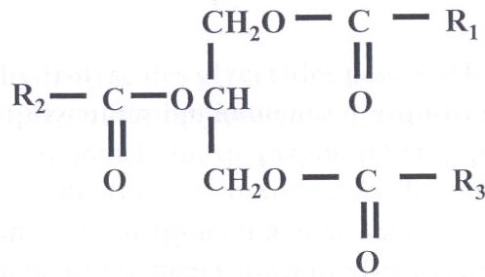


Figure II.1 Triglycéride [14]

b) Les glycérophospholipides [14]

Les glycérophospholipides ou phospholipides sont des dérivés de l'acide phosphatidique. Les deux premiers atomes de carbone du glycérol portent par une liaison ester les chaînes aliphatiques d'acide gras, tandis que le troisième carbone est estérifié à un groupement phosphoryle lié lui-même par une autre liaison ester à un alcool, qui peut être du glycérol, de l'inositol, de l'éthanolamine ou ses dérivés la choline et la serine. Le carbone du glycérol porte un acide gras saturé à 16 ou 18 atomes de carbone, tandis que le carbone 2 est lié à un acide gras insaturé de 16 ou 18 atomes de carbone.

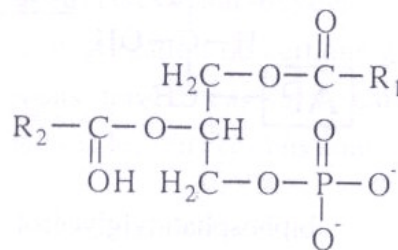


Figure II.2 : Glycérophospholipides [14]

c) Les sphingolipides [14]

Les sphingolipides sont constituée d'un acide gras et d'un alcool aminé, la sphingosine, ainsi que dans certains cas d'un substituant qui peut être de la choline ou un groupement de nature glucide. Ils sont caractérisés par une liaison amide formée suite à la réaction entre le groupement aminé de la sphingosine et le groupement carboxyle de l'acide gras. Les sphingolipides sont tout comme les glycérophospholipides des constituants des membranes biologiques mais dans une moindre mesure.

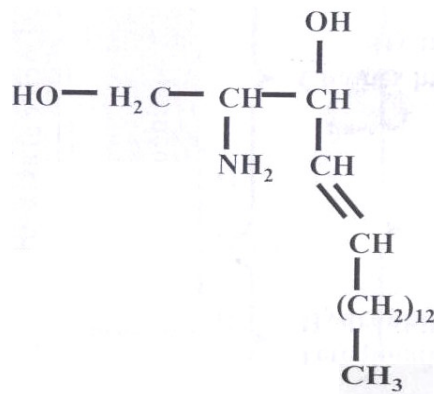


Figure II.3 : Sphingolipide [14]

d) Les terpénoïdes [14]

L'unité de base des terpénoïdes est l'isoprène. La condensation de 4 de ces unités donne naissance aux précurseurs des vitamines A, E et K, tandis que la liaison de 6 unités donne le squalène, précurseur du cholestérol et des stéroïdes.

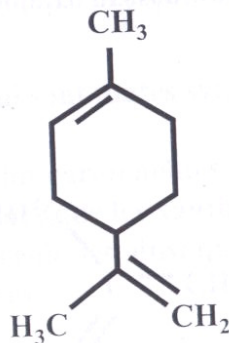


Figure II.4 Terpénoïdes [14]

II-1-4 Le rôle biologique des lipides

Les graisses sont indispensables au corps car, ce sont des composés énergétiques puisque l'oxydation d'un 1g de lipide libère une énergie de 38 kj .également elles constituent des réserves sous forme de triglycéride (dans les tissus adipeux sous cutanés), puisque 8 kj de triacylglycérol, réserve habituelle de l'adulte sont équivalent au 40 kj de glycogène hydraté.

[15]

Les lipides jouent aussi un rôle structural formant de bicouche membranaire, en plus ils possèdent un rôle fonctionnelle comme les hormone lipophile les prostaglandines .ils fournirent des vitamines liposolubles comme médiateurs cellulaire.

Dans le sang les lipides plasmatique sont sous forme des lipoprotéines ,les protéines associés au apolipoprotéines ont à la fois un rôle vecteur et rôle enzymatique dans le métabolisme lipidique [16]

II.2 Les acides gras

II.2.1 Définition

Les acides gras sont des acides carboxyliques R-COOH dont le radical R est une chaîne aliphatique de type hydrocarbure de longueur variable qui donne à la molécule son caractère hydrophobe (gras).

La grande majorité des acides gras naturels présentent les caractères communs suivants:

- monocarboxylique
- chaîne linéaire avec un nombre pair de carbones
- saturé ou partie non saturé avec un nombre de double liaisons maximal de 6. [17]

II.2.2 Classification des acides gras

Les acides gras sont classés en trois groupes essentiels selon leur structure chimique:

a) Les acides gras saturés

Une série continue d'acides gras de nombre de carbone pair (4 à plus de 30) a été isolée des lipides source animale végétal et microbienne.

Pour les plantes supérieures et les animaux, les acides gras les plus communs ont de 14 à 20 carbones avec nette prédominance de ceux à 16 ou 18 carbones.

Les acides gras dont le nombre de carbones est supérieur à 24 sont trouvés dans le lait des mammifères et bien sûr dans le beurre.

Les acides dont le nombre de carbones est supérieure à 24 sont essentiellement des composants des cires protectrices synthétisées par des plantes, des bactéries et des insectes.

Les acides gras les plus courants sont : [17]

Acide palmitique : C16 : O, CH₃ (CH₂)₁₄COOH

Acide stéarique : C18: O, CH₃ (CH₂)₁₆COOH

Acide arachidique: C20: O, CH₃ (CH₂)₁₈COOH

b) Les acides gras insaturés

Ils présentent plus de la moitié des acides gras des plantes et des animaux, ils possèdent :

Une double liaison : acides monoéniques ou monoinsaturés. [17]

Acide palmitoléique C16 : 1, C₁₆H₃₀O₂

Acide oléique C18 : 1, C₁₈H₃₄O₂

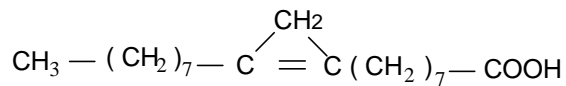
Ou plusieurs doubles liaisons : ils sont polyéniques ou polyinsaturés

Acide linoléique C18 : 2, C₁₈H₃₂O₂

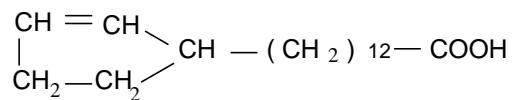
Acide linoléinique C18: 3, C₁₈H₃₀O₂

c) Les acides gras cycliques

Sont rarement rencontrés, ils consistent : [17]



Acide sterculiques : (Octyle-2- cyclopropényl) 8 octanoïque)



Acide chaulmoogrique : (Cyclopentényl) 13 tridécanoïque)

II.2.3 Rôle biologique des acides gras

Les acides gras jouent un rôle énergétique et de réserve. Parmi les acides gras on distingue les acides gras essentiels qui sont indispensables au corps humain. Dans le cas de carence en ces acides se manifestent plusieurs maladies parce que l'homme est incapable de les synthétiser. Parmi les acides gras essentiels, on peut citer:

- ❖ L'acide polyinsaturé (n-6) [AGPI n-6] série linoléique qui possède une fonction reproductrice et fonction cellulaire (favorise la différenciation de l'épiderme) et la régulation des lipides du plasma abaissent le cholestérol LDL athérogène.
- ❖ L'acide polyinsaturés (n-3) [AGPI n-3] série α -linoléique possède une neurosensorielle (fonction spécifique dans le développement de la rétine, du cerveau et du système nerveux, fonction plaquettaire (les AGPI n-3 sont des antiagrégants plaquettaires). Les acides gras AGPI n-3 possèdent des fonctions anti-inflammatoires, précurseurs de nombreuses molécules aux fonctions de signalisation

inter et intracellulaires impliqués dans les réactions inflammatoires. Ils diminuent la synthèse de cytokine proinflammatoire.

Ces deux types d'acides gras possédant des autres rôles communs, ils entrent dans la composition des phospholipides membranaires plus la molécule est insaturée à longue chaîne plus elle est souple. Autre rôle peuvent être attribués à ce type d'acide gras comme la prévention contre certaines maladies cardiovasculaires [18].

Les autres acides gras se répartissent entre acides gras saturés (AGS) ou acides gras monoinsaturés (AGMI), selon leur structure chimique. Une consommation excessive en acides gras saturés (AGS) fait augmenter les taux de Cholestérol total et de lipides sanguins; elle accroît en outre l'agrégation plaquettaire. Si l'acide stéarique (C18:0) est de ce point de vue, considéré comme (neutre) puisque il se transforme rapidement par un métabolisme en acide oléique C18:1. [19]

Les acides myristique (C14:0) et palmitique (C16:0) plus particulièrement mis en cause dans les facteurs de risques des maladies cardio-vasculaires sont toujours l'objet d'études. [17]

La réduction de leur consommation abaisse donc le cholestérol plasmatique, surtout lorsqu'on même temps on augmente la consommation d'acide linoléique, le principal acide gras à l'effet hypocholestérolémiant.

II.3 Les protéines

II.3.1 Définition

Les protéines sont l'élément de base de toutes cellules vivantes ; elles constituent la seule source d'azote, élément chimique indispensable à la vie.

Les protéines contiennent les quatre éléments C, H, O, N un grand nombre contient de soufre sont des grandes molécules ou des macro molécules de masses molaires supérieures à 10^4 formé par la condensation d'un grand nombre d'unité cent cent environ à plusieurs milliers appelées des aminoacides [20]

II.3.2 Structure des protéines

Le niveau de base de la structure des protéines, appelé « structure primaire », est la séquence linéaire des acides aminés. Toutefois, une protéine ne garde jamais une forme strictement linéaire. L'énergie contenue dans les liaisons hydrogène, les ponts disulfures, l'attraction entre les charges positives et négatives, et les radicaux hydrophobes ou hydrophiles, imposent à la protéine une structure secondaire en hélice alpha ou en feuillet bêta. Les molécules deviennent encore plus compactes en adoptant une structure tertiaire. Lorsqu'une protéine est constituée de plus d'une chaîne polypeptidique, comme l'hémoglobine et certaines enzymes, on dit qu'elle a une structure quaternaire. [21]

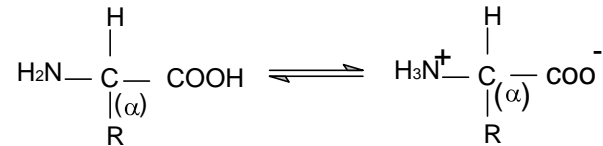
II.3.3 Rôle biologique des protéines

Les protéines possèdent un rôle structurelle et fonctionnelle et de réserve "il n y a pas de vie sans eau mais non plus sans protéine". Du point de vue qualitatif les protéines participent à tout l'événement physiologique. Elles jouent un rôle essentiel dans les fonctionnements des cellules vivantes. Les enzymes sont des protéines catalyseurs biologique elles ont un rôle clef dans toutes les réactions qui se déroulent à l'intérieur de la cellule (synthèse des métabolites, formation des composé riches en énergie, élimination des déchets et des toxines). Les histones dans les chromosomes participent au contrôle de l'expression génétique. L'actine et myosine protéine de contraction musculaire [22]

II.4 Les acides aminés

II.4.1 Définition

Les acides aminés sont des molécules que l'on a dénombrées à vingt. Ils ont tous en commun une structure formée par un groupe d'atomes dans lequel on distingue une fonction amine (**NH₂**) et une fonction acide carboxylique (**COOH**) portées par le même carbone. [23]



II.4.2 Principaux acides aminés

La vingtaine d'acides aminés codés se distinguent par la nature du radical R, appelée chaîne latérale.

On a coutume de les classer en fonction de ce radical en :

-acides monoamines monocarboxyliques aliphatiques ou R est un radical hydrocarboné (glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine et proline).

-acide monoamine monocarboxyliques aliphatiques hydroxylés ou R possède une fonction alcool primaire ou secondaire (serine, thréonine, hydroxyproline)

-acide aminés carboxyliques soufrés ou R contient du soufre (cystéine, cystine et méthionine).

-acide monoaminés dicarboxyliques ou R présente une fonction carboxylique (acide aspartique et glutamique).

-acide monocarboxyliques dibasiques ou R possède un groupement fonctionnel basique : amine, imidazole ou guanidyle (lysine, histidine et arginine) [24]

II.4.3 Propriétés des acides aminés

- ♦ **Caractère amphotère:** les acides α amine possède un groupement carboxylique, groupement amine sur même atome de carbone, ils répondant donc à la définition des ampholytes le mode de dissociation de deux groupements ionisables est fonction de PH.

- ◆ **Solubilité:** les acides aminés solubles dans l'eau à des degrés divers seul le tyrosine et cystéine sont fortement soluble. Elle est faible dans l'éthanol sauf pour le proline et hydroxy proline, et très faible ou nulle dans les solvants organiques apolaires.
- ◆ **Absorption dans l'UV :** Les solutions des acides aminés présentent un fort pouvoir absorbant au dessous de 190 nm. [24]

II.4.4 Rôle biologique des acides aminés

- Jouent un rôle métabolique important en tant que précurseur à d'autres constituants cellulaires.
- Ces sont des unités des bases des protéines.
- Participent à des réactions conduisant à la synthèse des composés importants pour l'organisme (protéines, pigment, hormones, nucléotides....ect)
- Ils peuvent être dégradés et rejoindre ainsi le métabolisme glucidique ou lipidique, d'où la notion d'un acide aminé glycoformateur et cétoformateur. [20]

La formation de radicaux libres dans le corps humain peut causer des dommages aux cellules et engendrer des pathologies, telles le cancer et les maladies neurodégénératives comme la Maladie d'Alzheimer ou la Maladie de Parkinson. Pour une meilleure compréhension de la formation de ces radicaux, deux échelles ont été associées: l'échelle cellulaire et l'échelle moléculaire. Par la suite, il a été abordée l'étude des systèmes de défense de notre organisme contre les radicaux libres: les antioxydants.

Que sont les radicaux libres et quel rôle jouent-ils dans les maladies dégénératives? Il est important de répondre à ces questions si nous désirons comprendre l'utilité des suppléments nutritionnels.

II.5 origine et production des radicaux libres

II.5.1 Le radical libre

Radicaux libres, en physiologie ou en médecine, toute molécule contenant un ou plusieurs électrons libres. Un électron libre est un électron qui occupe à lui tout seul une orbitale atomique ou moléculaire, il peut être considéré comme un fragment de molécule. Les radicaux sont souvent très réactifs, ils ont donc une durée de vie très limitée.

Les premiers radicaux libres organiques furent identifiés par Gomberg en 1900, ce qui fit penser que les radicaux libres pouvaient jouer un rôle important dans le domaine de la biologie. En 1966, Slater émit l'hypothèse selon laquelle une réaction avec un radical libre était à l'origine de l'effet toxique du tétrachlorure de carbone sur les cellules du foie ; ainsi naquit la théorie selon laquelle les radicaux libres jouaient un rôle majeur dans la dégénérescence des tissus. [25]

Les radicaux libres, dérivés du métabolisme, sont produits dans toutes les cellules, même si certaines en fabriquent des quantités plus importantes (par exemple les macrophages pendant la phagocytose). Les principaux radicaux libres présents dans les cellules aérobies, notamment les cellules humaines, sont l'oxygène, les ions superoxydes, les radicaux hydroxyles, le peroxyde d'hydrogène et les métaux de transition. Les radicaux libres présents dans la cellule oxydent les molécules (molécules se trouvant à l'intérieur des cellules, en particulier des lipides), ce qui provoque la mort des cellules. Toutefois le corps humain possède des mécanismes de défense contre les effets des radicaux libres. Ce sont les enzymes qui dégradent les peroxydes et les métaux de transition et des protéines ou d'autres molécules qui emprisonnent les radicaux libres. [25]

L'étude des radicaux libres n'est pas facile en raison de leur très courte durée de vie. Ils réagissent généralement très vite avec d'autres molécules. Le rôle qu'ils jouent dans un certain

nombre de pathologies est reconnu depuis quelques années. Cela expliquerait pourquoi certains métaux de transition tels que le nickel et le chrome sont cancérogènes dans certaines conditions. Les radicaux libres seraient également impliqués dans l'athérosclérose, les atteintes hépatiques, les maladies pulmonaires, les affections rénales, le diabète et le vieillissement. Il est toutefois souvent difficile de savoir si les radicaux libres sont à l'origine d'une pathologie ou s'ils ne sont que la conséquence de la présence de l'agent responsable de la pathologie [26]

II.5.2 Les radicaux libres oxygénés

Les espèces actives de l'oxygène produites en faibles quantités lors du métabolisme de l'oxygène, sont des messagers secondaires importants impliqués dans l'activation de diverses voies de signalisation intracellulaires. Produites en trop grandes quantités, ces espèces vont attaquer les constituants de la cellule, menaçant l'intégrité cellulaire. [27]

Les différentes formes actives de l'oxygène, molécules de petite taille non carbonées sont énumérées dans le tableau (II.1)

Tableau II.1: Espèces actives de l'oxygène [28]

<i>Nom</i>	<i>Symbole chimique</i>	<i>Commentaires</i>
Les radicaux libres de l'oxygène		
Anion superoxyde	O_2^-	Il a une faible action oxydative, mais peut générer des radicaux plus réactionnels.
Radical hydroxyle	OH^\cdot	Il est très réactif.
Radical peroxyde	ROO^\cdot	
Oxyde nitrique	NO^\cdot	Il est formé avec l'arginine (un acide aminé chargé, basique) par un oxyde nitrique activé par le calcium (Ca^{2+}), il interagit avec le radical hydroxyle pour former la peroxyntite. Il est présent en concentration élevée dans le cerveau où il est un neuromédiateur. Il peut être utilisé par des cellules immunitaires pour "tuer" des microbes ou des cellules dangereuses. Il est également un polluant atmosphérique, produit par les gaz d'échappement des voitures, qui sont responsables des pluies acides.
Peroxyntite	$ONOO^\cdot$	Il peut oxyder certaines substances tel que la méthionine (un acide aminé non polaire qui entre dans la composition des protéines et des enzymes), ou peut encore réagir avec la SOD pour "nitrater" la tyrosine un autre acide aminé, polaire cette fois. Ces deux acides aminés font partie des huit acides que

		l'être humain est incapable de les synthétiser lui-même et doit les avoir dans son alimentation.
Radical nitrosyle	ONOOH·	Il se décompose en radical hydroxyle.
Les espèces réactives de l'oxygène		
Oxygène singulet	¹ O ₂	L'oxygène singulet sera extrêmement réactif et sa durée de vie sera très limitée.
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂	Il est aussi appelé dioxyde de dihydrogène, ou eau oxygénée. Le peroxyde de votre pharmacie en est composé à 3% ; à cause de sa très forte action oxydante, il est dilué dans 97% d'eau.

II.5.3 Le stress oxydatif

Le stress oxydant peut se définir comme un déséquilibre dans la balance entre des producteurs de radicaux libres (pro-oxydants) et protections contre radicaux libres

(Antioxydants).L'ADN, les lipides membranaires ou encore les protéines sont des cibles privilégiées de ces oxydations.

Ce déséquilibre est du soit à une surproduction d'espèces radicalaires, soit à un affaiblissement des défenses antiradicalaires de l'organisme [29].

a) Oxydation des protéines

La fonction et l'activité des protéines sont profondément affectées par n'importe quelle altération de leur structure complexe particulièrement l'oxydation .En général, les protéines oxydées sont inactives.

Dans ces conditions d'augmentations du stress oxydatif, les cellules peuvent être incapable d'éliminer l'accumulation des proteines oxydées, ce qui conduit aux dégats proteiques observés dans differantes maladies.

b) Oxydation de l'ADN

Comme les protéines ,l'ADN est vulnérable aux dégâts oxydatifs,mais il existe des mécanismes enzymatiques sophistiqués pour réparer les dégâts sur l'ADN [30].Sans de tels mécanismes ,la stabilité génomique serait très faible .la plupart des dégâts oxydatifs sur l'ADN sont ainsi corrigés sans créer de maladie ,mais les dégâts sur l'ADN peuvent être utilisés comme marqueurs de stress oxydatifs.les dégâts sur l'ADN peuvent résulter en des cassures de brunes,des enchaînement croisés protéines-ADN et des modifications de bases.chacune de ces réactions est potentiellement mutagène et peut bloquer la réplication de l'ADN.ces facteurs peuvent en partie expliquer l'augmentation du risque retrouvée chez les patients diabétiques ,cancéreux [31].

c) Oxydation lipidique

La peroxydation lipidique (lipoperoxydation), définie par la détérioration oxydative de AGPI, est un phénomène où des radicaux libres servent de médiateurs. Ce phénomène produit à l'intérieur de la membrane, par un mécanisme de réaction en chaîne conduisant à la libération de lipoperoxydes et d'aldehydes instables. Ceux-ci sont susceptibles de perpétuer dans le temps et à distance une "agression radicalaire". Ces produits d'oxydation peuvent être cytotoxiques, chimiotactiques et avoir ainsi de nombreuses actions dommageables [32]

Il est important de noter que la peroxydation lipidique est un processus biochimique qui se produit dans les cellules normales dans les conditions physiologiques. Elle agirait comme un régulateur de la division cellulaire. Son action est cependant parfois déstabilisante et destructrice sur les phospholipides des membranes cellulaires. Il en résulte de nombreuses altérations aux conséquences parfois irréversibles. [33]

Les altérations dues à la lipoperoxydation sont:

- Changement de la bicouche phospholipidique.
- Changement des membranes et des organes cellulaires.
- Changement dans le métabolisme et le comportement.

Le processus de la lipoperoxydation comprend la déshydrogenation d'une molécule d'acide gras (par capture d'atomes d'hydrogène, électron plus proton) qui devient radicalaire, suivie de la fixation d'une molécule d'oxygène est entretenue par la présence d'oxygène.

II.6 Les systèmes de protection contre les radicaux libres

La production de radicaux libres est contrebalancée par des systèmes antioxydants assurant le maintien de l'état biologique. De nombreuses situations peuvent cependant entraîner l'apparition en excès de ces espèces chimiques. Les agents antiradicalaires sont des capteurs de radicaux qui agissent avec eux plus vite que ne ferait le substrat à protéger ou interrompent les chaînes de réaction radicalaires [34]

II.6.1 Définition d'un antioxydant

Les antioxydants sont des substances endogènes ou exogènes capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme. Le corps produit des antioxydants, et on en trouve également dans plusieurs aliments. Les principaux antioxydants sont les vitamines C et E, les caroténoïdes et le sélénium. Également, les antioxydants permettent de faire en sorte que nos produits alimentaires conservent leur goût, couleur et demeurent longtemps comestibles.

II.6.2 Principaux antioxydants

a) Les antioxydants synthétiques

Cette famille de substances antioxydants est relativement limitée, puisqu'elle correspond à des corps étrangers au biologique (humain comme animal), donc biologiquement suspects. C'est la raison pour laquelle ces molécules ont fait l'objet de nombreuses publications, dont les données toxicologiques sont parfois contradictoires [35]

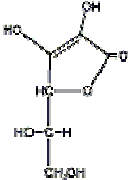
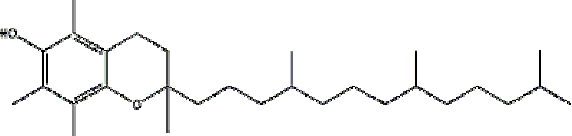
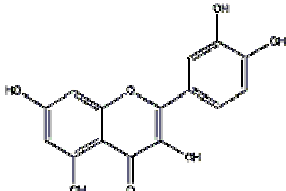
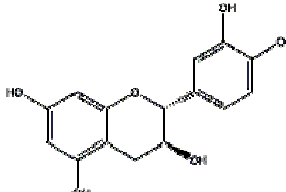
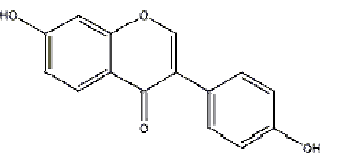
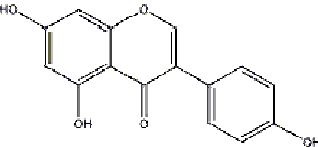
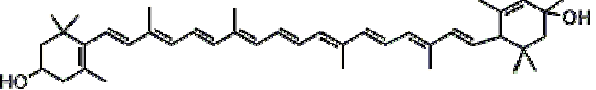
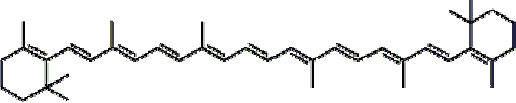
- Le Butylhydroxytoluène (B.H.T).
- Le Butylhydroxyanisole (B.H.A).
- L'acide isoascorbique.

b) Les antioxydants naturels

L'utilisation empirique d'antioxydants naturels est une pratique très ancienne pour la conservation des vivres. La recherche de nouveaux antioxydants naturels, connaît depuis ces dernières années un regain d'intérêt, car les antioxydants synthétiques actuellement utilisés, notamment le B.H.T et le B.H.A ne seraient pas dépourvus de toxicité.

Les multiples atouts santé des fruits et légumes sont liés à leur faible teneur calorique, à leur richesse en fibres, minéraux, vitamines et autres micronutriments. Certains de ces micronutriments, apparaissent de plus en plus clairement comme essentiels au fonctionnement en participant à la protection de notre organisme contre les cancers, les maladies cardio-vasculaires et les autres maladies dégénératives. C'est le cas des antioxydants dont les fruits et légumes constituent l'une des principales sources alimentaires. Les principaux antioxydants végétaux sont au nombre de quatre (tableau II.2). L'homme ingère avec ses aliments environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E et l'on estime que les fruits et légumes contribuent pour moitié à ces apports. [36]

Tableau II.2. Les quatre principaux types d'antioxydants végétaux

 <p>Ascorbique acide</p>	 <p>Alpha tocophérol</p>
<p>Vitamine C</p>	<p>Vitamine E</p>
 <p>Quercétine, un flavonol</p>  <p>Catéchine, un flavonol</p>  <p>Génistéine, une isoflavonol</p>  <p>Daidzéine, une isoflavone</p>	 <p>B- carotène</p>  <p>Lutéine</p>
<p>Polyphénols</p>	<p>Caroténoïdes</p>

- ✓ La vitamine C ou acide Ascorbique est une espèce chimique hydrosoluble, c'est-à-dire soluble dans l'eau. Il s'agit d'un antioxydant particulièrement efficace contre les dommages créés dans l'organisme par les radicaux libres. Même si la plupart des mammifères peuvent synthétiser cette vitamine, l'organisme humain en a perdu la capacité au cours de l'évolution. Il doit donc la puiser chaque jour dans les aliments tels que les fruits et légumes. Certains fruits et légumes, en particulier crus, sont particulièrement riches en vitamine C : poivron rouge, orange, citron, pamplemousse, framboise, fraise, brocoli, tomate, etc... À côté de ses propriétés antioxydantes, la vitamine C est aussi un micronutriment essentiel [37]
- ✓ Les tocophérols sont des composés liposolubles (solubles dans un corps gras) qu'on regroupe sous le terme de vitamine E. Le tocophérol regroupe quatre substances : l'alpha-tocophérol (le plus actif), le bêta-tocophérol, le gamma-tocophérol et le delta-tocophérol. Antioxydant, la vitamine E contribue à neutraliser les radicaux libres qui peuvent s'accumuler dans les membranes lipidiques et tissus gras de l'organisme, et elle joue un rôle essentiel dans la protection de la membrane cellulaire. De façon générale, les huiles végétales, les noix, les graines et les légumes à feuilles vertes sont de bonnes sources de vitamine E [38]
- ✓ Les caroténoïdes sont de longues molécules très hydrophobes et colorées (jaune à rouge) et possédant un système de liaisons doubles conjuguées. Dans les caroténoïdes, on distingue les carotènes des xanthophylles. Les carotènes sont constitués uniquement de carbone et d'hydrogène ; les xanthophylles contiennent en plus des atomes d'oxygène [39,40]
- ✓ La Quercétine molécule naturelle présente dans de nombreux légumes et particulièrement abondante dans les oignons (35-120 mg par 100 g de matière fraîche) le thé ou la peau des pommes [41]
- ✓ La catéchine et les molécules apparentées sont les principaux Polyphénols du thé. Une tasse (100 mL) peut en contenir jusqu'à 200 mg. Ces molécules sont aussi présentes dans de nombreux fruits et notamment le raisin [42]
- ✓ Les isoflavones (génistéine et daidzéine) sont les principaux flavonoïdes du soja et les apports alimentaires sont donc particulièrement importants dans les pays d'Extrême-Orient (environ 30-40 mg.jour⁻¹). Les consommations sont

négligeables en Europe à l'exception des consommateurs de lait de soja (certains nourrissons, etc...). Les isoflavones sont très étudiées pour leurs propriétés pseudo oestrogéniques [43,44]

II.6.3 Sources des antioxydants

L'étude des constituants des plantes médicinales se justifie par les services qu'elles rendent dans une multitude d'affection chronique. Elle assurent une médication plus douce dans des maladies à évolution assez lente, permettant une utilisation prolongée, évitant les effets indésirables. Au contraire, la chimiothérapie constitue un traitement assez brutal, utile principalement dans les affections aiguës, avec des effets secondaires imprévus.

Les plantes les plus étudiées et utilisées dans ce domaine sont les épices et les herbes aromatiques. La plus part des espèces qui ont une forte activité antioxydante appartiennent à la famille des lamiacées: c'est des romarin, sauge, thym, sarriette, basilic...

Selon le type de mesure du pouvoir antioxydant, on observe des classements d'activité différents pour ces herbes aromatiques; le romarin et la sauge sont toutefois toujours situés en tête. L'utilisation directe des plantes étant assez difficile à cause de leur goût, odeur et compatibilité avec les formulations alimentaires, ce sont surtout des extraits qui sont employés. Les seuls extraits naturels commercialisés sont, à ce jour essentiellement produits à partir du romarin. L'activité antioxydante de cette plante est principalement due à la présence d'acides phénoliques, l'acide rosmarinique essentiellement et de terpènes phénoliques: acide carnosique, carnosol et autres dérivés.

On connaît aujourd'hui l'activité antioxydante d'un nombre très élevé d'autres plantes et de parties de plantes. Berst et Cuvelier les ont passées en revue [45]:

- Parmi les graines, on peut citer les germes de riz, le soja, l'orge, le sorgho.
- Les feuilles de luzerne, orge, épinard, café et surtout thé vert, qui est très riche en catéchines et dont des extraits antioxydants sont commercialisés au Japon.
- Les huiles essentielles de thym, de girofle, de menthe
- Les huiles de palme, de coco, d'olive où on retrouve des quantités importantes d'acides phénoliques
- Des parties de fruits et légumes: le vert des oignons, la peau de pomme, la peau de pomme de terre, très riche en acides phénoliques, la peau et les pépins de poivron, les pépins de raisin, les fraises et les prunes entières riches en flavonoïdes

Travail Expérimental

Chapitre III
Extraction et quantification des fractions lipidiques,
protéiques et phénoliques

III.1 Traitement des échantillons

Les deux échantillons de Sorgho sont récoltés de la région de Ain Salah au mois d'octobre 2005. Avant toute procédure expérimentale, les échantillons sont bien broyés avec un mortier manuel et conservé à l'abri de la lumière et de l'humidité.

III.1.1 Extraction des lipides

L'extraction des lipides a été réalisée en utilisant le montage de soxhlet pour une durée de 6 heures à l'aide de l'hexane comme solvant. [46,47]. Après séchage sur du sulfate de sodium anhydre et la filtration, l'hexane est évaporé sous pression réduite à 50 °C [48]. On obtient les extraits .

a) Resultat et discussion

Le tableau III.1 regroupe les résultats obtenus.

Tableau III.1. Teneur en huile des grains étudiés

échantillon	Sorgho blanc	Sorgho rouge
Masses		
Masse total (g)	61.23	64.57
Masse de l'huile (g)	3.75	4.22
Teneur %	6.13%	6.54%

Les extraits lipidiques obtenus présentent une odeur agréable, un aspect solide à la température ambiante et de couleur jaune foncé.

A la lumière des résultats donnés dans le tableau (III.1) les teneurs en huiles dans les deux espèces étudiées sont très voisines, on note 6.13% dans le sorgho blanc et 6.54% dans le sorgho rouge. Si nous comparons nos résultats par rapport à ceux cités dans la littérature [6], on peut dire que les espèces étudiées sont riches en matière grasse. Toutes fois les teneurs obtenus sont faibles comparativement aux huiles végétales alimentaires comme les huiles : olive, tournesol, soja et arachide (20-42%) [49]. Donc on peut classer les graines de sorgho parmi les graines pauvres en matière grasse.

III.2 Analyse des acides gras des lipides

Les acides gras étant les constituants essentiels des glycérides, c'est par leur connaissance que l'analyste peut déterminer les caractéristiques d'identité des corps gras selon :

La présence ou non de certains acides gras.

Les proportions des acides gras entre eux.

Les acides gras peuvent être analysés sous forme libre, mais généralement se sont analysés après leur transformation en leur ester méthylique d'acides gras (EMAG) qui sont plus volatils.

Comme nous l'avons déjà énoncé au dessus que l'aspect des huiles brutes est solide. Cet aspect est peut-être dû à la présence des cires. Ces cires gênent toute procédure expérimentale comme : effectuer une CCM, détermination des indices physico-chimiques. Nous avons essayé d'éliminer ces cires en adoptant deux méthodes ; la première est la cristallisation des cires à froid dans l'éthanol, alors que la deuxième est de purifier l'huile brute de ces cires par "flash chromatography " sur Gel de silice. La composition en acides gras a été déterminée dans les deux fractions ; huile brute et l'extrait chloroformique

a) Extraction des huiles par flash chromatographie

Une quantité déterminée de l'huile brute extraite de sorgho rouge ou sorgho blanc est mélangé avec 5g de gel de silice .ce mélange est filtrée en ajoutant 35 ml de CHCl_3 dans un filtre de buchner.

Le filtrat obtenu est vaporisé sous pression réduite afin d'éliminer CHCl_3 .

Tableau III.2. Masses des huiles des grains extrais par flash chromatographie

Echantillon	Sorgho blanc	Sorgho rouge
Masses		
Masse total de huile brute (g)	1.87	4.65
Masse de l'extrait par CHCl_3 (g)	1.76	2.92

b) Préparation des esters méthyliques

Les techniques de préparation des esters méthyliques sont relativement nombreuses [9]. nous avons choisie la méthode générale au tri fluorure de bore BF_3 dans le méthanol. Cette méthode comporte deux étapes consistent à préparer les EMAGs, la saponification et l'estérification puis les analyser par CPG [50].

Saponification

Dans un ballon de capacité de 100 mL, on pèse 200 mg de l'huile brute et purifiée, on ajoute 10 ml de solution hydroxyde méthanolique de Potassium (KOH), celui ci est adapté au réfrigérant et porté à une ébullition à reflux pendant 30mn.

Estérification

L'estérification est réalisé en ajoutant par le haut de réfrigérant 5 ml d'une solution méthanolique à 20% de BF_3 , le mélange est maintenu encore à reflux pendant 10 mn. Après refroidissement, en ajoute 10ml d'eau distillée.

Les esters méthyliques sont extraits de la fraction aqueuse par de l'hexane. La phase organique est lavée plusieurs fois par de l'eau jusqu'à la neutralisation. Après le séchage sur sulfate de sodium anhydre Na_2SO_4 , le solvant est filtré, puis évaporé sous pression réduite.

Les EMAG ainsi obtenus sont conservés au réfrigérateur jusqu'a leur analyse.

Analyse par CPG

Nous avons utilisé une chromatographie Delsi gaz chromatography muni d'un détecteur à ionisation de flamme FID.

-colonne capillaire Mega 10, longueur 30m, diamètre interne 0.32 mm, épaisseur de phase 0.25 μm .

-Programmation de température de 150 $^\circ\text{C}$ à 200 $^\circ\text{C}$ 0 raisons de 2 $^\circ\text{C}/\text{min}$.

-Température de l'injecteur à 220 $^\circ\text{C}$.

-Température de détecteur à 220 $^\circ\text{C}$.

-Gaz vecteur : azote à la pression de 34 Kpa.

c) Résultats et discussions

L'identification des différents esters méthyliques d'acides gras contenus dans nos huiles a été faite par la co-injection dans les mêmes conditions chromatographiques des esters méthyliques de référence d'acides gras.

A partir des chromatogrammes (figures III.1, III.2, III.3, III.4), nous avons obtenu les résultats consignés dans le tableau (III.3)

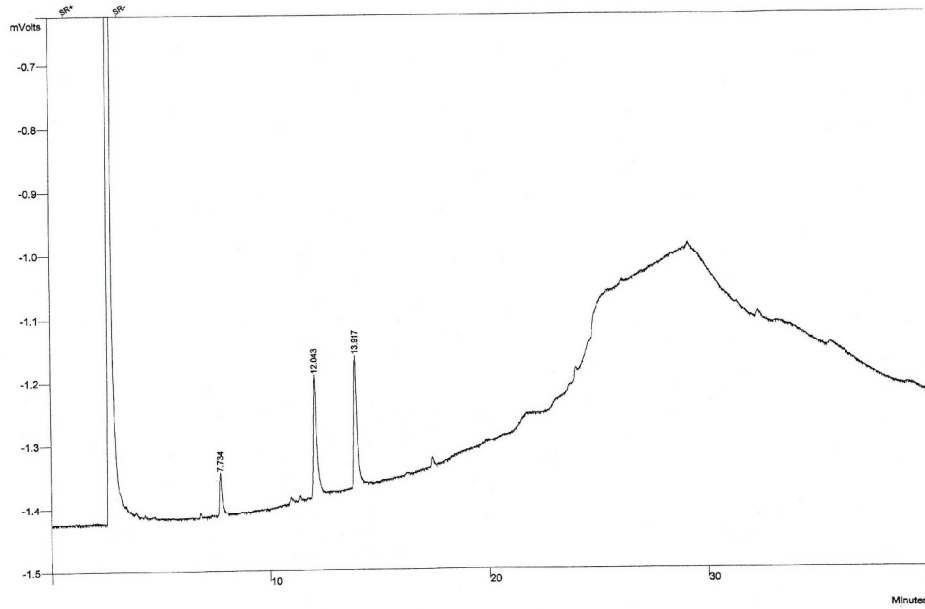


Figure III.1. Chromatogramme CPG des esters méthyliques des acides gras d'huile brute de Sorgho blanc

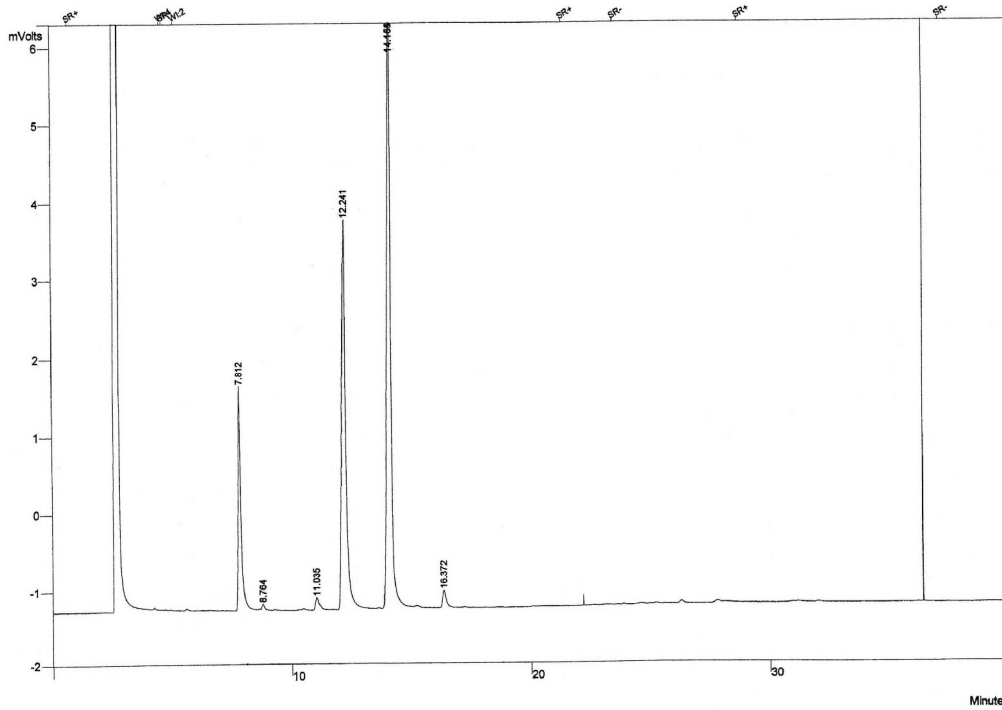


Figure III.2. Chromatogramme CPG des esters méthyliques des acides gras d'extrait brute de Sorgho rouge

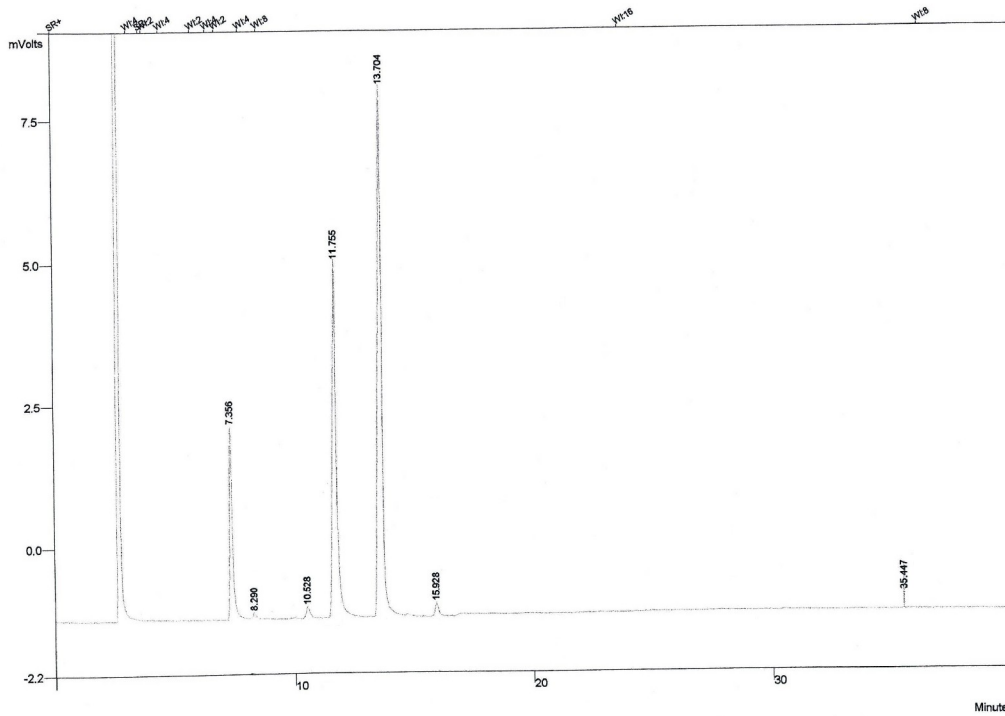


Figure III.3. Chromatogramme CPG des esters méthyliques des acides gras d'extrait chloroformique de l'huile de Sorgho blanc

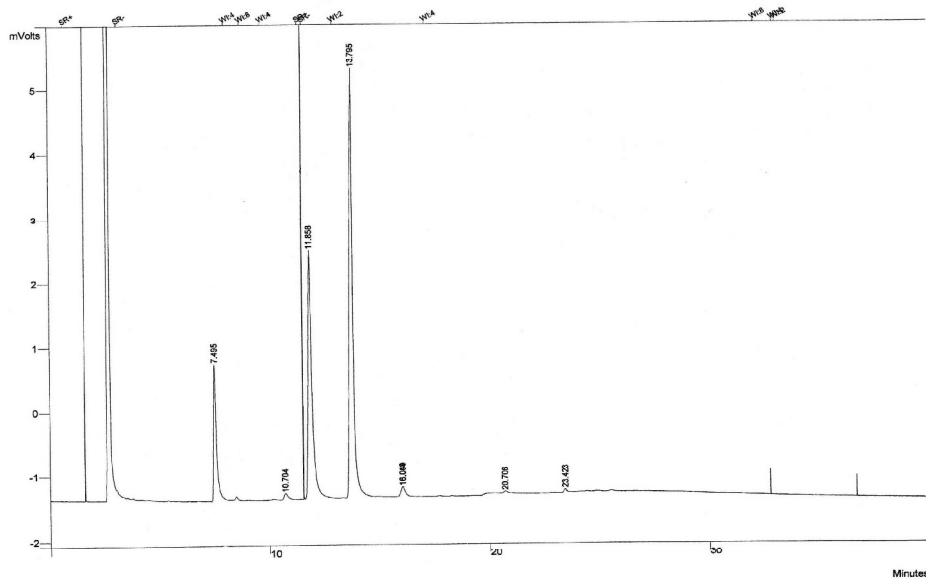


Figure III.4. Chromatogramme CPG des esters méthyliques des acides gras d'extrait chloroformique de l'huile de Sorgho rouge

Tableau III.3. Composition en acides gras des huiles étudiées

	Huile brute		Extrait Chloroformique De l'huile	
	Sorgho blanc	Sorgho rouge	Sorgho blanc	Sorgho rouge
C16 :0	12.4	13.99	12.70	11.3
C16 :1	/	0.30	0.40	/
C18 :0	/	1.05	1.05	0.9
C18 :1	42	32.21	34.54	29.2
C18 :2	45.6	51.07	50.00	53.70
C18 :3	/	1.37	1.17	1.37
C20 :3	/	/	/	0.94
C21 :0	/	/	/	/
C22 :2	/	/	/	0.90
Total	100	99.99	99.86	98.31
AGS	12.4	15.04	13.75	12.2
AGI	87.6	84.95	86.11	86.11
AGI/AGS	7.06	5.64	6.26	7.06

Les résultats montrent une présence des acides gras habituels rencontrés dans les huiles végétales alimentaires connues à savoir les acides : palmitique, oléique et linoléique. Nous notons que les huiles contiennent de plus d'autres acides gras à proportions comme le stéarique de 0.9 à 1.05% et linoléique de 1.17 à 1.37%.

D'une façon générale ces huiles sont caractérisées par leur richesse en acides gras mono et diinsaturés, elles sont de type oléique – linoléiques. Ces acides gras représentent dans les quatre cas plus de 85% des acides gras totaux.

Nous remarquons également que l'acide linoléique est majoritaire dans les tous les fractions lipidiques ce qui donne à ces huiles une diététique très importante car cet acide

gras est connu comme acides gras essentiels. Rappelons que les acides gras essentiels comme les acides : linoléique, linoléique et l'arachidonique ne sont synthétisés par l'organisme humain et doivent être apportés par l'alimentation. .

On peut donc conclure que ces quatre huiles ont une valeur diététique intéressante due à leur forte teneur en acides gras insaturé (oléique, linoléique) comme dans le cas des huiles de tournesol soja et maïs [49]. Le rapport élevé des acides insaturés par rapport aux acides gras saturés confère aux huiles une grande stabilité .

La composition de nos huiles en acides gras est semblable à celle trouvée dans la littérature

49 pour cent d'acide linoléique, 31 pour cent d'acide oléique, 14 pour cent d'acide palmitique, 2,7 pour cent d'acide linoléique, 2,1 pour cent d'acide stéarique était analogue à celle du blé, mais plus Insaturée [6]

III.1.3 Extraction des protéines

L'extraction des protéines a été réalisée en par deux solvants à savoir :

- Na Cl 0.5M
- H₂O

A partir de deux grammes de tourteaux délipidés, les protéines sont extraites par macération à froid pendant 48 heures et en utilisant 100 mL de solvants. Après filtration, le volume de l'extrait est ajusté à 130 mL par de l'eau distillée.

a) Dosage des protéines

Le dosage est basé sur la présence des liaisons peptidiques. Cette méthode est couramment utilisé pour sa rapidité et sa simplicité. Les liaisons peptidiques forment avec le réactif de Gornall un complexe stable de coloration violette qui absorbe de la lumière visible à 540 nm.

Le réactif de Gornall composé de sulfate de cuivre (coloration bleu du réactif dû aux ions (Cu²⁺), hydroxyde de sodium et le tartrate double de sodium et potassium qui chélate les ions de (Cu²⁺) pour éviter leur précipitation en milieu très alcalin d'hydroxyde cuivre insoluble et en présence de l'iodure de potassium pour éviter la réduction de cuivre [51].

b) Préparation de la courbe d'étalonnage de protéine

A partir d'une solution mère d'albumine humaine de concentration de 20g/l on prépare des solutions filles à des concentrations de 2g/l jusqu'à 20g/l [52].

A une quantité de 1ml de chaque solution, on ajoute 5ml de réactif de Gornall, après incubation pendant 30mn à l'obscurité. Les valeurs de l'absorbance sont lues contre un blanc à l'aide d'un spectromètre à 540nm.

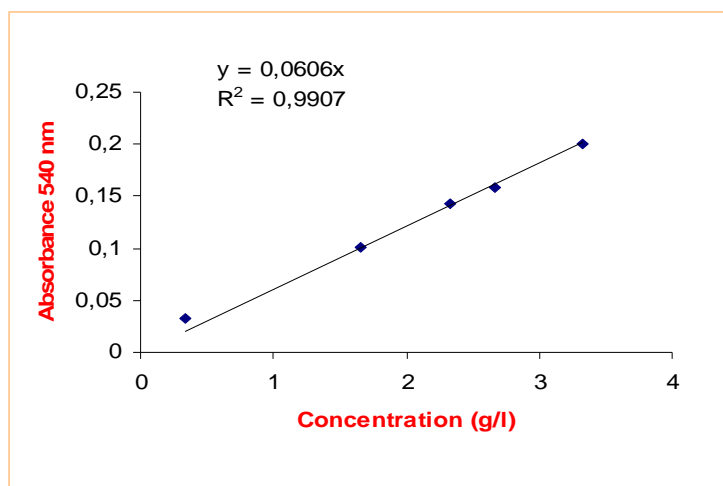


Figure III.5 La courbe d'étalonnage de l'albumine

c) Résultats et discussions :

A l'aide de la courbes d'étalonnage de l'albumine figure (III.5), on détermine les pourcentages massiques des solutions protéiques

D'après les valeurs du tableau (III.4), on remarque que la teneur en protéines est importante dans les deux espèces de sorgho et varie d'une espèce à l'autre. Les teneurs sont respectivement 44.4% et 22% dans le sorgho blanc et le sorgho rouge dans le cas ou le chlorure de sodium est utilisé comme solvant. Le pourcentage des protéines atteint une valeur importante dans le sorgho rouge lorsque l'extraction est réalisée par de l'eau distillée.

Tableau III.4. Pourcentage massique des protéines dans les tourteaux étudiés (g/100g)

Extraits	NaCl	H2O
-Sorgho blanc	44.4	44.5
-Sorgho rouge	22.0	60.0

Si on compare nos résultats avec ceux de la littérature (12.70g/100g) [53].on trouve qu'il y a une différence importante. Cette grande différence peut-être attribuée à : origine géographique, le climat, espèce étudiée, méthodes d'extraction et les méthodes d'analyses et de quantification.

III.1.4 Analyse des acides aminés

a) Hydrolyse des protéines

Une quantité de 0.5g de tourteau délipidé est hydrolysée par 10 mL d'acide chlorhydrique HCl (6N / H₂O), pendant 24 heures à température 110 °C .Après refroidissement on filtre la solution puis on lave le résidu 3 fois par de l'eau distillée. La solution aqueuse ainsi obtenue est évaporée sous pression réduite. Le résidu est repris une dernière fois dans 10 mL d'eau distillée, conservé au réfrigérateur.

b) Identification des acides aminés

L'analyse des acides aminés individuels est réalisée par chromatographie liquide à haute pression CLHP en utilisant une colonne apolaire de type RP₁₈ et un détecteur UV à 254 nm.

Mode opératoire

On prend 500 µl de la solution des acides aminés provenant du sorgho rouge ou sorgho blanc.

- Une quantité 100µl de surnageant est dérivatisée par 20 µl de réactif PITC. Après 20 mn le mélange est séché, puis repris dans 500µL d'une solution tampon de PBS.
- Une quantité de 20µl est injectée dans l'appareil.

c) Résultats et discussions

L'identification des acides aminés de chaque échantillon a été basée sur la comparaison de leurs temps de rétention avec ceux des acides aminés de référence préparés et analysés avec la même façon que celle décrite dans les échantillons [54]. A partir des chromatogrammes des acides aminés de références (figure III.6), des échantillons étudiés (figures III.7, III.8), nous regroupons les résultats dans le tableau (III.5)

Tableau III.5 Composition en acides aminés des tourteaux

en g dans 100g de protéine étudiés et leurs masses

Acides aminés	Sorgho blanc	Sorgho rouge
* Thréonine	0.142	0.20
* Tryptophane	1.30	0.54
* Valine	2.00	2.09
* Méthionine	0.153	0.07
* Isoleucine	0.77	0.43
*Leucine	0.43	0.60
* Phénylamine	0.60	0.13
* lysine	7.80	12.78
Aspartique	1.32	1.19
Glutamique	0.45	0.35
Serine	0.37	0.26
Glycine	0.02	0.01
Histidine	0.18	0.11
Arginine	7,40	0.47
Alanine	0.06	/
Proline	0.28	0.13
Tyrosine	0.38	0.18
Cystine	0.405	1.02
AAT (mg/ g)	16.89	20.57
AAET (mg/ g)	126.72	16.82
AAET / AAT	0.74	0.81

AAT : Acides Aminés Totaux**AAET** : Acides Aminés Essentiels Totaux

A la lumière des résultats du tableau (III.5), on remarque que les deux échantillons du sorgho renferment la majorité des acides aminés connus. Egalement on trouve les acides aminés essentiels dans les deux variétés du sorgho. Le sorgho rouge contient une quantité en acides aminés essentiels plus que le sorgho blanc 16.82 mg/g dans le sorgho rouge et 12.67 mg/g dans le sorgho blanc.. Les quantités des acides aminés essentiels varient d'un échantillon à l'autre.

Si on compare les teneurs des acides aminés essentiels dans les deux types de sorgho, on remarque que lysine est l'acide aminé essentiel le plus abondant, sa valeur varie de 12.78mg /g dans le sorgho rouge à 7.80mg/g dans le sorgho blanc. La teneur en lysine est comparable avec la littérature [6].

Le second acide aminé essentiel le plus abondant est la Valine ou les teneurs sont de 2.09mg/g, dans le sorgho blanc et 2.00mg/g dans le sorgho rouge. Le Tryptophane est l'acide aminé essentiel qui est vient en troisième position de point de vue quantité pour le sorgho blanc 1.30 mg/g par contre dans le sorgho rouge, le leucine est dans la troisième position sa teneur est 6mg/g. Les autres acides aminés essentiels sont aussi présents mais avec des quantités moins faibles et très variables. Le taux des acides aminés essentiels dans les deux types du sorgho est 81% dans le sorgho rouge et 74% dans le sorgho blanc.

Ces résultats montrent clairement que les grains de sorgho peuvent être utilisés comme source des acides aminés essentiels. Les deux variétés de grains étudiés contiennent les 8 acides aminés essentiels connus dans différentes proportions.

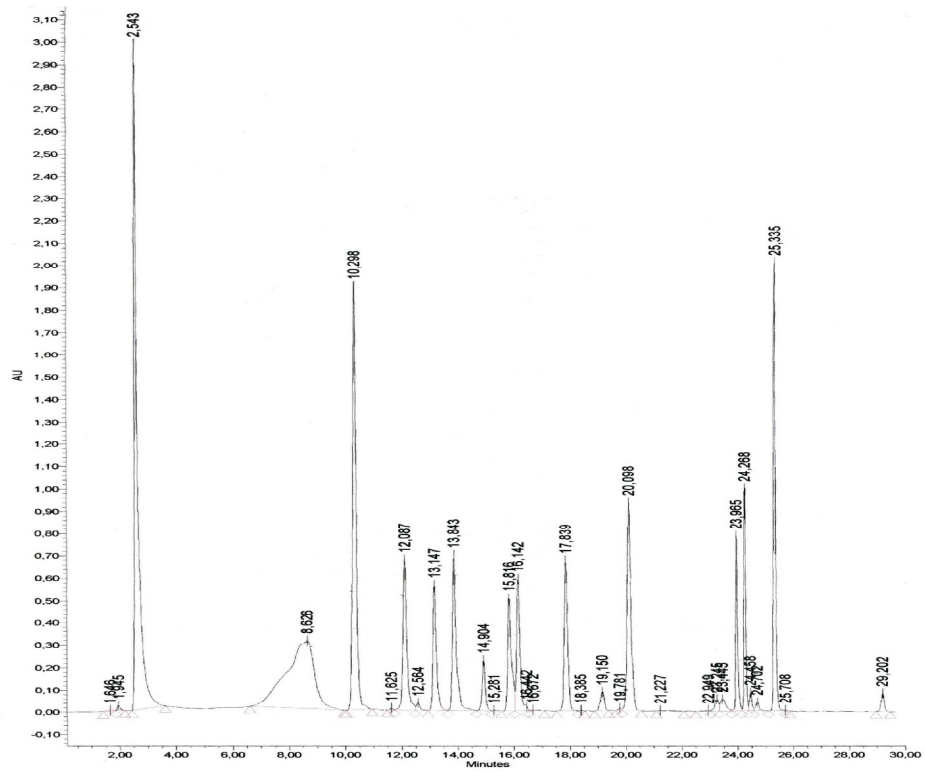


Figure.III.6 : Chromatogramme CLHP des acides aminés standard

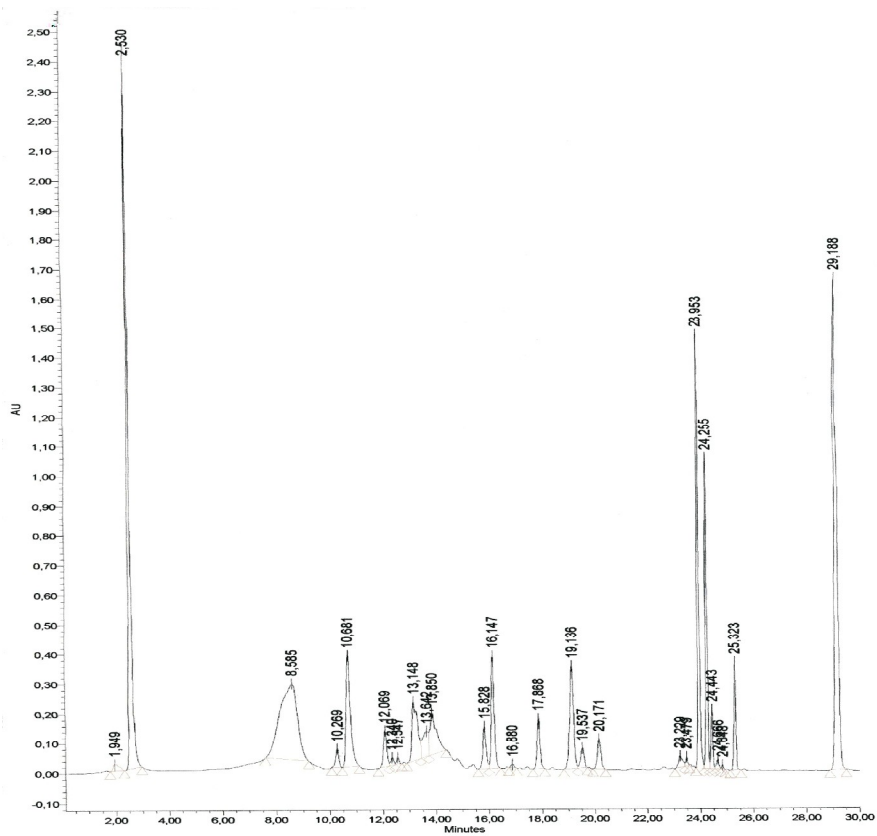


Figure.III.7 : Chromatogramme CLHP des acides aminés du Sorgho blanc

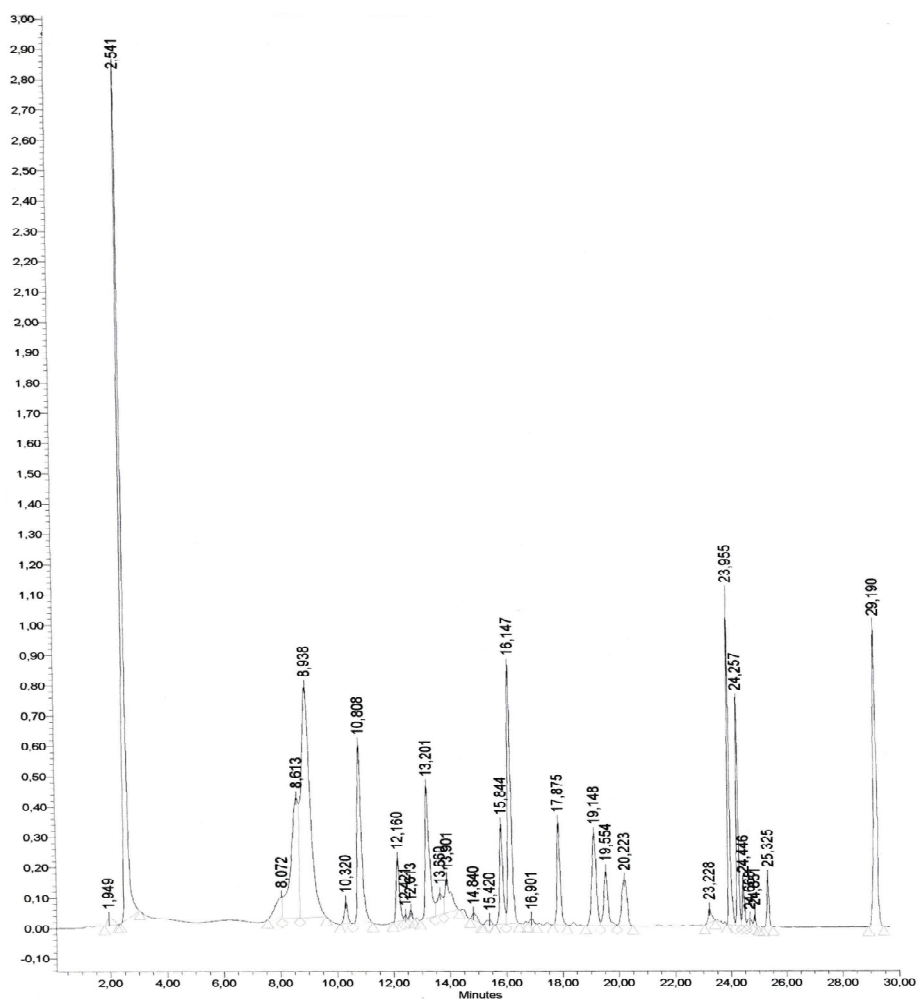


Figure.III.8 : Chromatogramme CLHP des acides aminés du Sorgho rouge

III.1.5 Extraction des composés phénoliques

A partir d'une quantité bien déterminée 5g de matière végétale delipidé macéré dans 100ml d'un mélange hydro alcoolique (Méthanol/eau)(80/20 :V/V) pendant 48 heures à température ambiante.

La même opération est faite avec le solvant acétone (70/30, V/V). Après filtration le solvant est évaporé sous pression réduite. Les composés phénoliques sont extraits par 3x30 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont regroupées puis séchées sur sulfate de sodium anhydre et évaporées sous pression réduite. Les résidus obtenus sont

solubilisés dans 5ml de méthanol et conservés au frais. Il faut noter aussi que les phases aqueuses restantes après extraction des phénols sont conservés pour des éventuelles analyses comme quantification des phénols totaux et l'activité antioxydante.

a) Quantification des composés phénoliques

Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de SINGLETON et Ross en 1965 avec réactif de Folin Ciocalteu [55]. Le réactif est formé d'acide phosphomolybdique $H_3PM_{12}O_{42}$ et l'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ qui sont réduits par les phénols en oxydes bleus de Tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}). La coloration des oxydes est mesurée dans le spectre visible à 760 nm ce qui nous a permis de lier l'absorbance en fonction de la concentration des composés phénoliques réducteurs.

Courbe d'étalonnage

Une courbe d'étalonnage a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de concentrations massiques allant de 0.08 jusqu'à 0.3 mg/ml.

A 100µl de chaque solution, on ajoute 500µl du réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillé. Après incubation pendant deux minutes 2ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 20% sont ajoutés.

Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 30 mn à température ambiante.

L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760nm contre un blanc.

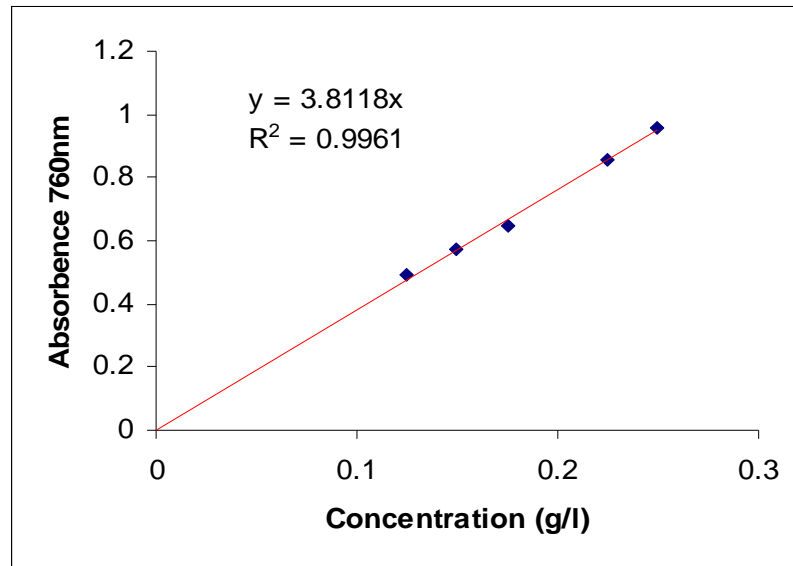


Figure III.9 La courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les extraits phénoliques des deux échantillons sont traités de la même façon que celle décrite dans la préparation de courbe d'étalonnage. A partir de cette courbe figure (III.9) nous avons pu déterminer la quantité des phénols totaux exprimée en milligrammes par gramme de la matière sèche équivalente en acide gallique.

b) Résultats et discussions :

Tableau III.6.Quantité des phénols totaux dans la fraction Phénolique et la phase aqueuse (mg/100g)

	Fraction phénolique dans La phase organique		Fraction phénolique dans la Phase aqueuse	
	MeOH/Eau	Acétone/Eau	MeOH/Eau	Acétone/Eau
-Sorgho blanc	19.2	18.1	40.4	49.8
-Sorgho rouge	31.11	24.94	206.88	349.15

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau (III.6). Ces résultats indiquent que la teneur en phénols totaux est plus élevée dans le sorgho rouge et cela quelque soit le

solvant d'extraction utilisé. On remarque aussi que la teneur en composés phénoliques dans la fraction aqueuse dans les deux espèces est aussi élevée et que les valeurs obtenues sont beaucoup plus importantes que celles trouvées dans la fraction organique, par exemple la teneur en phénols de la fraction organique dans le sorgho rouge varie de 24.94 à 31.11 mg/100g selon le solvant utilisé, par contre la teneur en ces composés varie de 349.15 mg/100g à 206.88 mg/100g dans les fractions aqueuses. Nous pensons que ces valeurs élevées en phénols dans les fractions aqueuses sont dues à la présence d'autres composés qui sont solubles dans l'eau comme les sucres et les protéines et qui interfèrent dans la mesure de l'absorbance ; c'est que les fractions aqueuses ne contiennent pas seulement que les composés phénoliques.

III.6-Analyse des composés phénoliques par CLHP [56].

Nous avons tentés d'identifier les composés phénoliques dans les extraits du sorgho. Pour ce faire nous avons analysé les extraits phénoliques par CLHP.

Nous avons analysé l'extrait phénolique du sorgho par CLHP. Cette analyse nous permet d'identifier les composés phénoliques individuels contenus dans l'extrait phénolique. L'analyse est réalisée par un appareil Agilent 1100 en utilisant une colonne RP18 et une détection par spectrophotomètre UV-Visible à barrette d'iode. Le solvant utilisé est un mélange d'eau acidifiée par l'acide orthophosphorique (A) à 1% et l'acétonitrile (B). Le programme de l'élution est le suivant

t (min)	B%
0	5
5	5
30	33
40	100
45	100

Le débit de la phase mobile est de 1ml/min. L'enregistrement des chromatogrammes est réalisé à deux longueurs d'ondes $\lambda=280\text{nm}$ et $\lambda=340\text{nm}$, caractéristiques des composés phénoliques. Les chromatogrammes ainsi obtenus sont montrés dans la Figure (III.10,III.11)

L'identification des composés polyphénoliques de chaque plante a été basée sur la comparaison de leurs temps de rétention et spectres d'UV-Visible, avec ceux des polyphénols de référence ainsi préparés. Les tableaux (III.7,III.8) regroupent les différents résultats obtenus dans cette analyse.

Les déterminations des caractéristiques spectrales des pics chromatographiques fournies par le détecteur spectrophotomètre à barrette de diodes nous ont permis seulement de déduire la nature des polyphénols existants dans les extraits de plantes. En ce qui concerne l'identification des substances phénoliques en se referant aux phénols standards utilisés .

a) Resultats et discussions

Les résultats obtenus sont regroupés dans les tableaux (III.7, III.8)

Tableau **III.7** : Résultats d'analyse des extraits phénoliques de Sorgho blanc par CLHP

t (min)	Taux relatif	Longueur d'onde(nm)	Famille
23.48	0.52	260	hydroxybénzoïques
24.10	42.75	220,325	flavonoides
24.991	8.88	220,235	flavonoides
26.81	0.31	225,280	flavonoides
27.99	2.42	225,320	flavonoides
31.50	6.83	230,330	flavonoides
31.70	6.88	240,325	flavonoides
43.33	0.60	252	hydroxybénzoïque

Tableau **III.8** Résultats d'analyse des extraits phénoliques de Sorgho rouge par CLHP.

t (min)	Taux relatif	Longueur d'onde(nm)	Famille
23.51	2.83	260	hydroxybénzoïque
24.00	10.35	220,325	flavonoïde
26.20	4.79	220,320	flavonoïde
26.55	38.36	225,280	flavonoïde
27.83	3.87	300	hydroxycinnamique
29.30	8.96	210,280	flavonoïde
29.92	1.98	300	hydroxycinnamique
31.17	4.12	225,329	flavonoïde
36.12	6.26	280	hydroxybénzoïque
43.41	2.58	250	hydroxybénzoïque

D'après les chromatogrammes Figure (III.10,III.11) ,il est possible d'accéder à la composition de la famille polyphénoliques de sorgho rouge et sorgho blanc.

Tous les chromatogrammes correspondant aux extraits phénoliques montrent que la majorité des pics identifiés sont les flavonoïdes (98% pour le sorgho blanc et 79% pour le sorgho rouge).D'autre part ,on a pu caractériser quelques pics qui appartiennent à la famille de hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique.

On peut également constater que les méthodes spectrométriques y compris le dosage des phénols totaux sont des méthodes efficaces pour la quantification de ces substances.

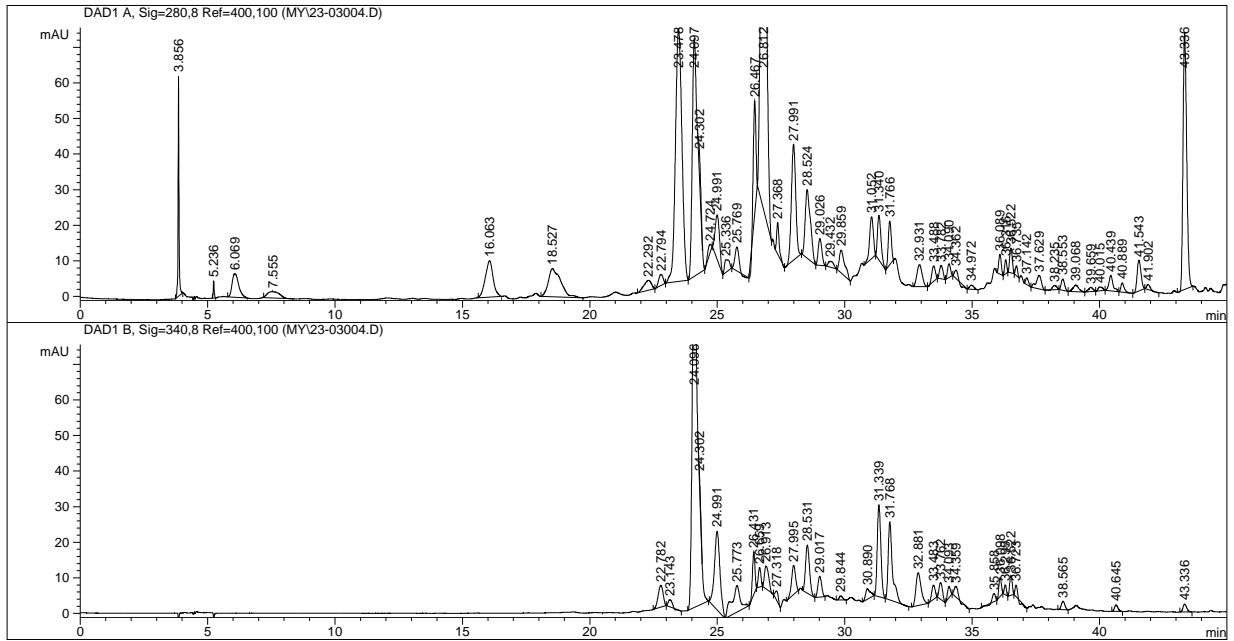


Figure III.10 : Chromatogramme CLHP des phénols totaux du sorgho blanc

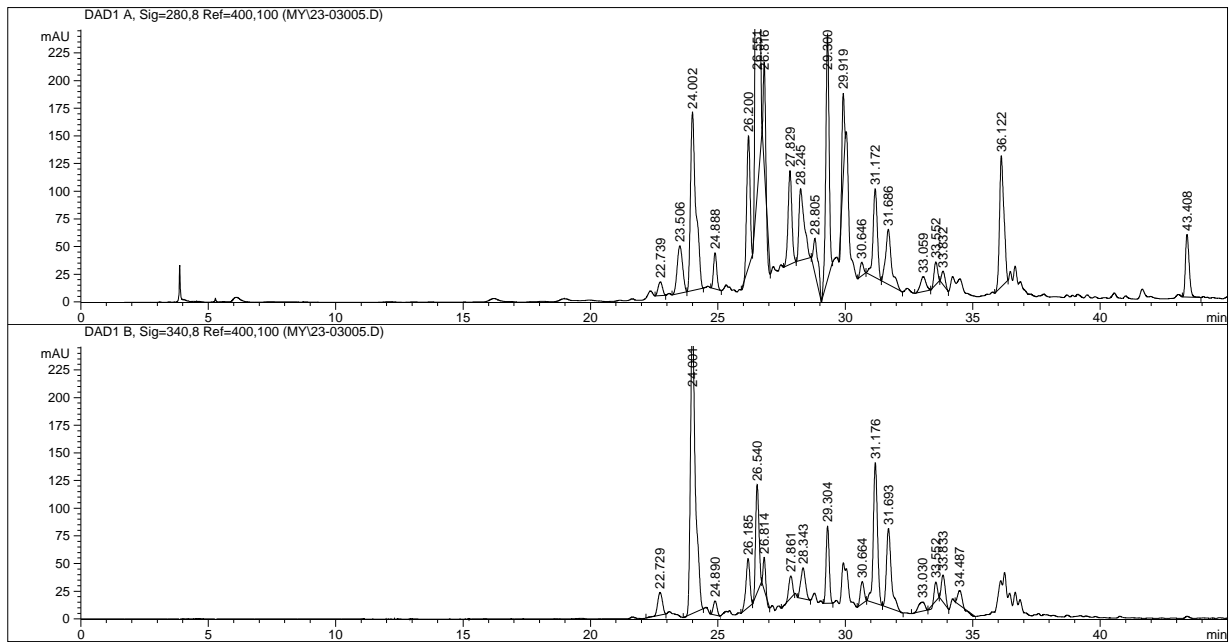


Figure III.11 : Chromatogramme CLHP des phénols totaux du sorgho blanc

Chapitre IV
Evaluation du pouvoir antioxydant
du Sorgho

EVALUATION DU POUVOIR ANTIOXYDANT

L'évaluation du caractère antioxydant d'un extrait ou d'un fluide biologique est importante si on veut apprécier sa capacité de défense contre le stress oxydant.

Différentes méthodes applicables à de propriété ont été développées .Le principe de toutes ces méthodes est de générer (un taux constant et connu) des radicaux libres à afin d'étudier la capacité d'un composé ou d'une substance à inhiber cette production de radicaux.

Dans le test de inhibition, l'action des antioxydants induit une phase de latence, l'exhaustion du pouvoir antioxydant correspondant à un changement de signal, comme une chimiluminescence, une fluorescence ou une quantité d'oxygène consommé.

Le but principal des tests accélères est donc surtout de comparer l'efficacité de composes antioxydants vis-à-vis d'un produit alimentaire pharmaceutique ou cosmétique.

IV.1 Mesure de résistance

- **Test au four Sehaal**

L'échantillon à tester est placé dans un four thermostaté à 63C° ou 70C° et analysé à intervalles réguliers par dosage des hydroperoxydes. On mesure la période d'induction (PI) qui précède l'apparition de la rancidité.

Les conditions de ce test permettent d'accélérer le vieillissement des produits tout en respectant le processus normal d'oxydation .Il est jugé parmi les meilleurs tests existants par Frankel [57].Le principal désavantage de la méthode réside dans la difficulté d'extraire quantitativement la matière grasse et de minimiser les pertes lors de la methylation .De plus, elle ne renseigne pas sur le stade d'oxydation atteint [58]

- **Test de Swift ou AOM (Active Oxygen Method)**

L'oxydation est réalisée par un bullage d'air dans la matière grasse, chauffée à 98°C

L'état d'oxydation est mesuré par PI.

A des températures supérieures à 60-70°C, la vitesse de décomposition des peroxydes devient plus élevée que celle de leur formation : les résultats obtenus avec ce test sont donc critiquables [59].

- **Test de Rancimat et OSI**

Les tests sont basés sur le même principe que dans le test de SWIFT mais ici l'échantillon est chauffé de 98 à 110°C sous courant d'air ; l'air en sortie, chargé de volatils formés pendant l'oxydation, est recueilli dans un tube d'eau déionisée. On mesure l'augmentation de conductivité de l'eau, due à la présence, parmi les volatils, d'acides organiques (notamment l'acide formique).

Un inconvénient important est qu'il est difficile par cette méthode de mesurer le pouvoir antioxydant de composés volatils, tels le BHA et le BHT, car ils sont entraînés par le courant d'air hors de l'huile protégée [60]. De plus, la formation d'acides volatils correspondant à un stade avancé de l'oxydation, qui ne se produit généralement pas dans les aliments. Les périodes d'induction mesurées sont souvent plus longues qu'avec la mesure du taux de peroxydes.

IV.2 Mesures du pouvoir antioxydant en systèmes – modèles

De nombreux systèmes – modèles ont été mis au point pour mesurer rapidement l'activité antioxydante de molécules pures ou d'extraits végétaux. Ils sont pour la plupart basés sur l'oxydation poussée (haute température, irradiation U.V., utilisation de catalyseurs) d'un substrat lipidique simple, en milieu apolaire ou émulsionné. La disparition de ce dernier, la consommation d'oxygène ou la co-oxydation d'autres substances, comme le β -carotène sont mesurés au cours du temps en absence d'antioxydants.

Les remarques faites à propos des tests accélérés sont valables aussi pour la plupart de ces systèmes : température élevée, grande disparité des conditions opératoires, difficulté d'exploitation des résultats. S'il est vrai que les valeurs d'activités antioxydantes mesurées ne sont pas directement comparables d'un test à l'autre, les ordres de classement des différentes substances et les relations structures-activités proposées sont, néanmoins, habituellement en bon accord.

Parmi les tests existants, on peut citer ceux qui ont été mis au point dans les laboratoires de recherche, qui utilisent comme substrat le linoléate de méthyle (test LM) ou un radical stable; test DPPH, test ABTS, test FRAP, test Molybdate Phosphate.

- **Test LM**

En présence ou en absence d'antioxydants, la disparition du linoléate de méthyle, soumis à une oxygénation intensive à 110°C en milieu dodécane, est suivie par CPG [61]

Le dosage du substrat d'oxydation est, en ce cas, simple car l'acide gras méthyle est directement injectable en CPG, le test est rapide (moins d'une journée).

Néanmoins, la température utilisée est très élevée et le milieu apolaire ne permet pas la solubilisation de certains composés phénoliques.

- **Test DPPH**

Dans ce test, le substrat d'oxydation est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule d'antioxydant, se transforme en DPPH –H, cette réduction peut être suivie par spectrophotométrie en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm. Le système est très utilisé car rapide, facile et non coûteux. [62]

- **Test ABTS⁺**

Dans la méthode de Miller et Rice [63], le substrat d'oxydation est un radical cation stable qui, en réagissant avec une molécule d'antioxydant, se transforme en ABTS-H⁺ avec perte de son absorbance caractéristique à 734 nm. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu aqueux de PBS, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Le système est très utilisé car rapide, facile et non coûteux.

Dans ce test, on remarque que, suivant leur nature, les antioxydants présentent des comportements différents: on observe, en fait, des cinétiques rapides, intermédiaires et lentes selon le temps nécessaires pour atteindre un plateau dans la réaction avec le ABTS-H⁺, le pouvoir antiradicalaire est calculé sur la base de pourcentage de ABTS⁺ restant quand le plateau est atteint.

- **Test FRAP**

Le test Ferric Reducing/Antioxydant Power (FRAP) utilise les antioxydants réducteurs

dans une réaction redox colorimétrique. La réduction à base P^H du complexe tripyridyltriazine ferrique à forme ferreuse qui a une couleur bleue intense est mesurée à 593nm en milieu acide. La réaction est non spécifique: tout couple redox possédant un potentiel redox inférieur à celui du couple Fe^{III} / Fe^{II} . La variation d'absorbance est ainsi directement liée au pouvoir réducteur total des antioxydants présents dans le milieu [64]

- **Test Molybdate Phosphate**

L'analyse de Molybdate Phosphate est un essai direct qu'on emploie principalement pour mesurer la possibilité et la puissance des antioxydants non enzymatique.

Cette méthode dépend de la réduction du Molybdate (VI) au Molybdate (V) et la formation d'un complexe de Molybdate Phosphate de couleur verte, qui est détectée par spectrophotométrie en mesurant le changement de l'absorption à 695 nm [65]

IV.3 Evaluation de l'activité antioxydant des extraits du sorgho

Les tests proposés pour la mise en évidence du pouvoir antioxydant et antiradicalaire de nos extraits lipidiques, protéiques et phénoliques, ont été réalisés par deux tests chimiques: _

IV.3.1 Test DPPH

La réduction du radical libre DPPH[•] (1,1 DiPhenyl-2-Picryl Hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquées par la présence des extraits.

Le DPPH[•] est initialement violet, se décolore lorsque on lui associe avec un proton. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques [62]

Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances de nos extraits.

Différents volumes de chaque extrait lipidique, protéique ou phénolique dilués sont additionnés à 1mL d'une solution de DPPH[•] de concentration 250µM préparée dans le méthanol (pour l'huile le DPPH est préparé dans l'éthanol) .Le mélange réactionnel a été agité immédiatement, puis maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes à une température ambiante pour que la réaction s'accomplisse .La densité optique de la solution obtenue est lue par rapport à un blanc à 517 nm.

Le pouvoir antiradicalaire est définie comme la concentration de l'inhibiteur nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libres IC₅₀ .De même nous avons calculé le IC₅₀ de la vitamine C ainsi du trolox afin de les comparer avec ceux des extraits lipidiques,protéiques et phénoliques.

La relation d'inhibition

$$I\% = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100$$

A_0 : Absorbance moyenne du radical seul.

A_i : Absorbance du radical libre en présence d'antioxydant après trente minutes de contact .

I% : pourcentage d'inhibition.

a) Détermination quantitative du pouvoir antiradicalaire

Afin de déterminer le pouvoir antiradicalaire des extraits et des composés de références (l'acide ascorbique et le trolox), nous avons tracé les courbes de la variation du pourcentage d'inhibition (I %) en fonction de la concentration massique (g/l). Figures (IV.1, IV.3, IV.5 et IV.6)

a-1) Extraits lipidiques :

La figure (IV.1) montrent la variation du taux d'inhibition I% en fonction de la concentration dans les extraits lipides du sorgho. A partir de ces deux courbes nous avons pu calculer les valeurs de IC_{50} de chaque extrait (tableau III.1).

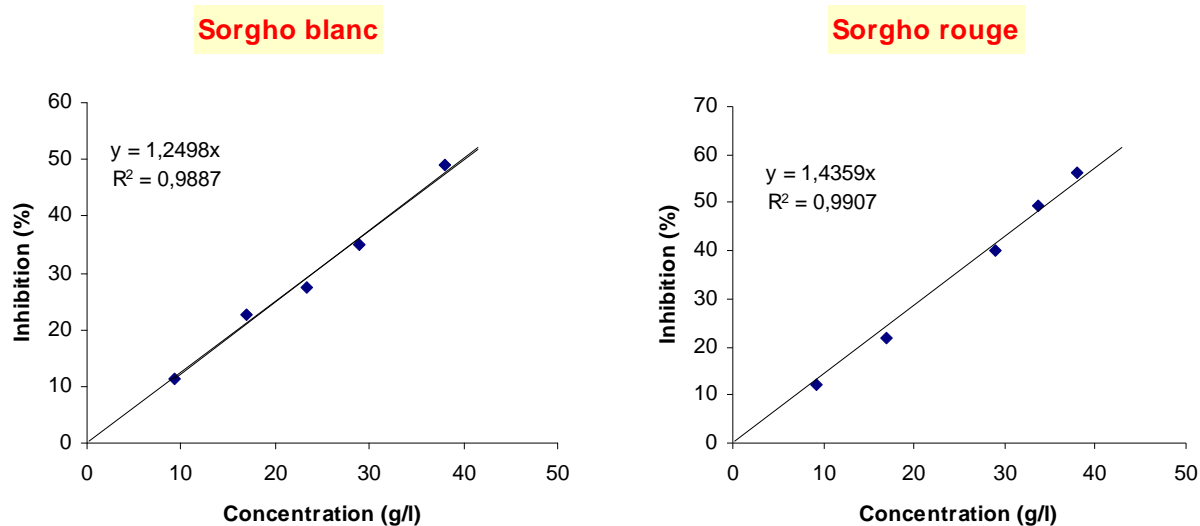


Figure IV.1 : Variation du pouvoir antioxydant (I%) en fonction de la concentration des extraits lipidiques

Tableau IV.1 : Résultats du test DPPH (fraction lipidique g/l)

EXTRAIT	IC_{50} (g/l)
-Sorgho rouge	34.82
-Sorgho blanc	40.00

-Vitamine C	0.75
-Trolox	0.066

Nous remarquons que l'extrait lipidique du sorgho rouge possède un pouvoir antiradicalaire (34.82 g/l) plus fort que du sorgho blanc (40.00g/l).

Nous appelons que plus la valeur de IC_{50} est faible plus l'extrait est puissant vis-à-vis aux radicaux libres. Toutefois les deux extraits lipidiques du sorgho présentent un pouvoir antiradicalaire plus faible que le trolox et de l'acide ascorbique.

Le pouvoir antiradicalaire du trolox est 562 fois plus fort que les extraits lipidiques, par contre l'acide ascorbique n'est que 46 fois plus puissant que les extraits (figure III.2).

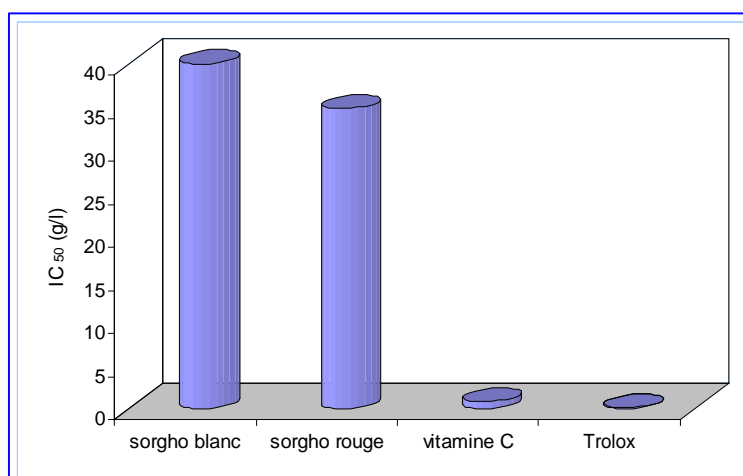


Figure IV.2 : Classement décroissant des extraits lipidiques et des composés de références selon leurs IC_{50}

a-2) Les extraits protéiques

Pour évaluer l'activité antiradicalaire des extraits protéiques du sorgho, nous avons suivi la même procédure utilisée dans le cas des extraits lipidiques. Les courbes (figure IV.3) donnant la variation de l'inhibition en fonction de la concentration nous permis de déterminer les valeurs de IC₅₀ de chaque extrait (tableau III.2).

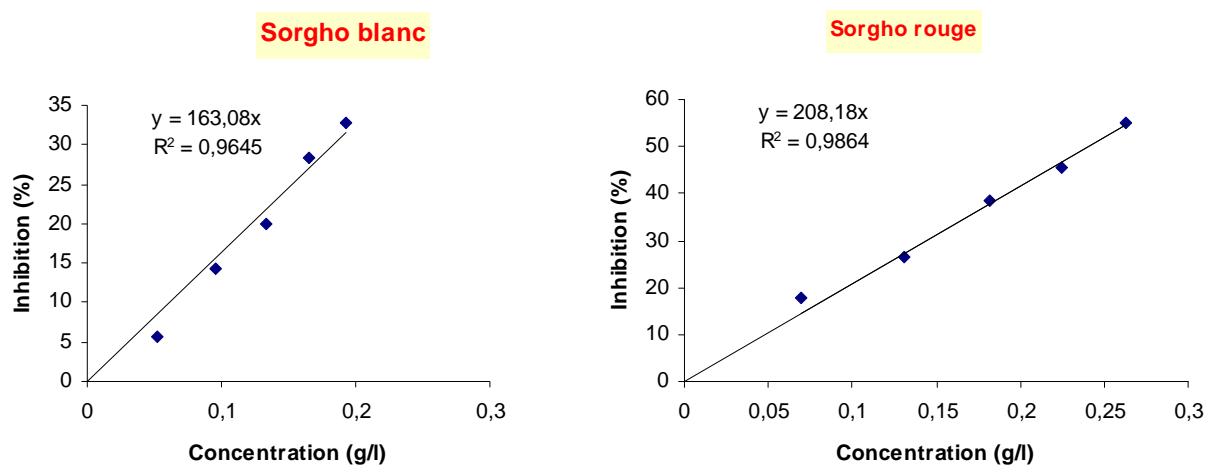


Figure IV.3 : Variation du pouvoir antioxydant (I%) en fonction de la concentration des extraits protéiques

Tableau IV.2 : Résultats du test DPPH (fraction protéique g/l)

EXTRAIT	IC ₅₀ (g/l) Eau
-Sorgho rouge	0.24
-Sorgho blanc	0.31
-Vitamine C	0.75
-Trolox	0.066

L'analyse des résultats obtenus montre que le pouvoir antiradicalaire du sorgho rouge (0.24 g/l) est toujours supérieur à celui du sorgho blanc (0.31g/l).

Chaque extrait protéique possède un pouvoir antiradicalaire puissant par rapport à l'acide ascorbique.

La valeur moyenne de l'activité antiradicalaire des extraits protéiques du sorgho est 3 fois plus forte que celle de l'acide ascorbique. En revanche le trolox est 4 fois plus puissant que les extraits protéiques (figure III.4)

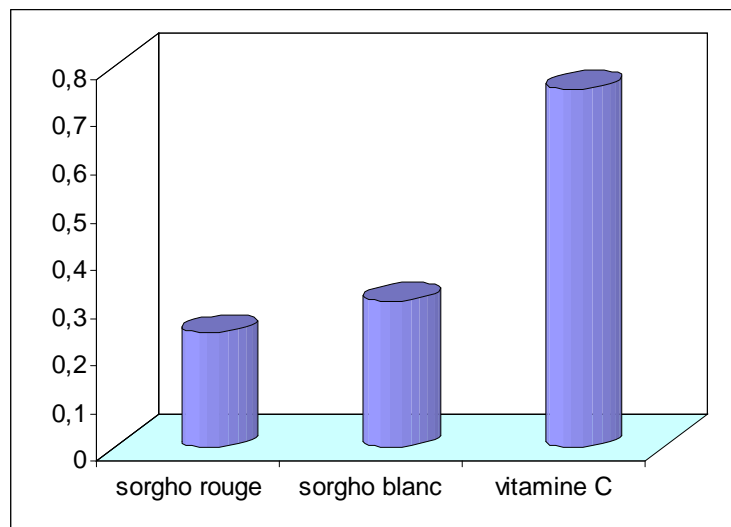


Figure IV.4 : Classement décroissant des extraits protéiques et des composés de références selon leurs IC₅₀

a-3) Les extraits phénoliques

L'activité antiradicalaire des extraits phénoliques a été évaluée de la même façon que celles des extraits lipidiques et protéiques. Les courbes de la variation du pourcentage d'inhibition

(I %) en fonction de la concentration en phénols totaux (g/l) exprimée en équivalent en acide gallique (figures IV.5, IV.6) a permis de calculer les valeurs de IC_{50} de chaque extrait.

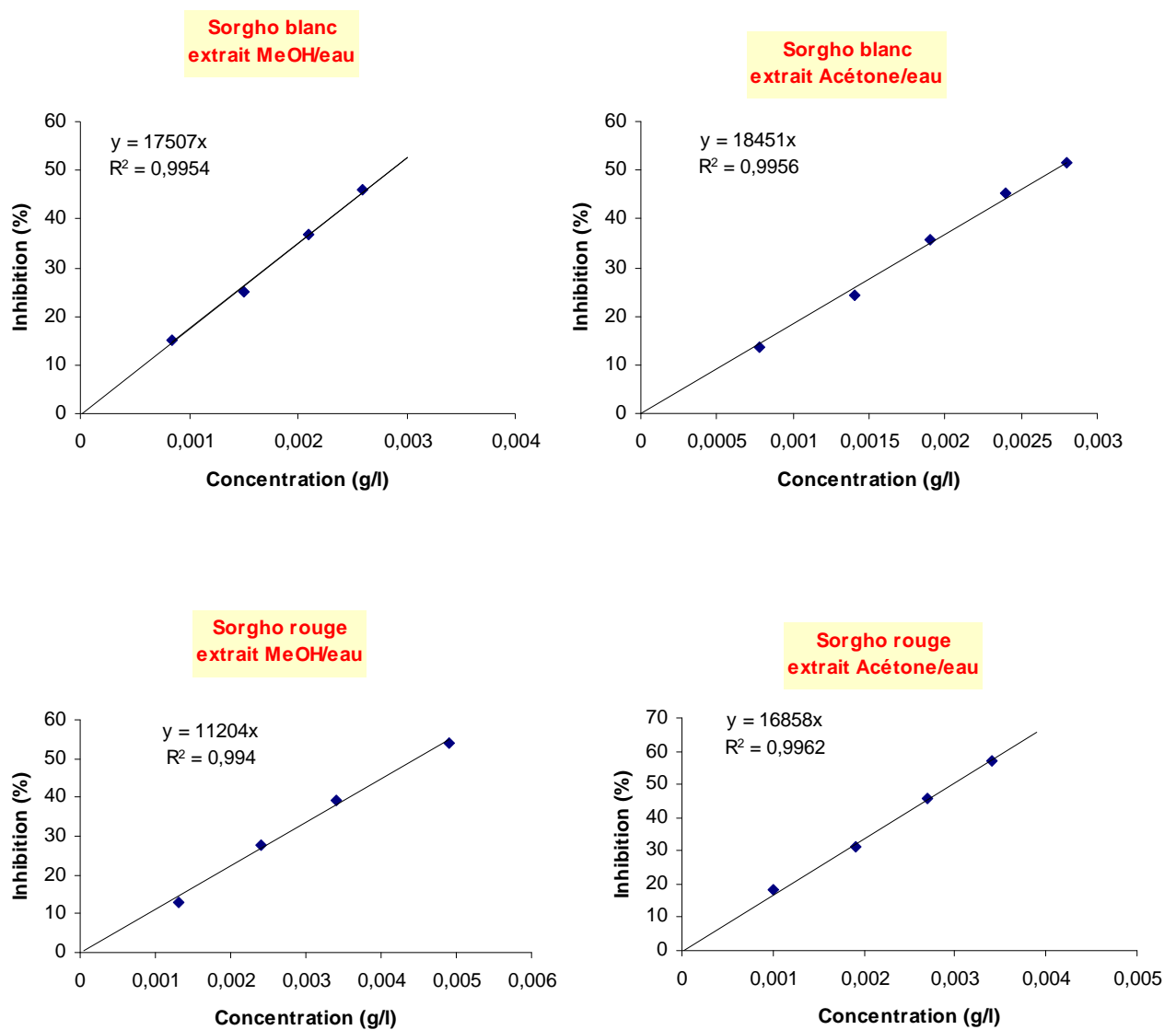


Figure IV.5 : Variation du pouvoir antioxydant (I%) en fonction de la concentration des extraits phénoliques dans deux phases organiques

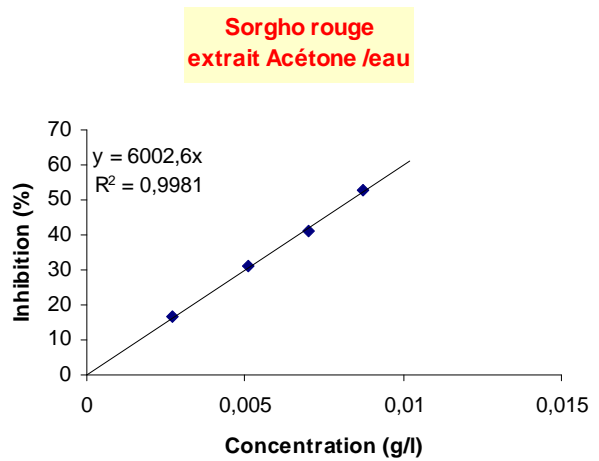
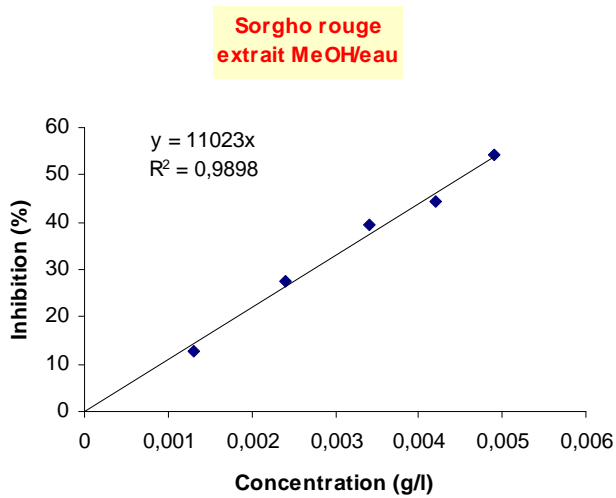
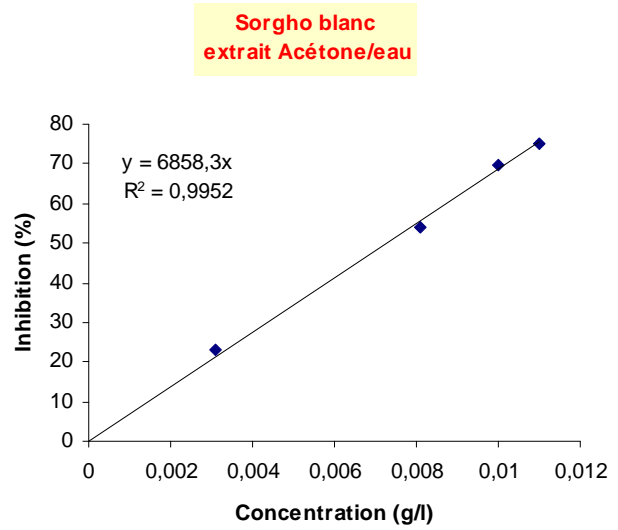
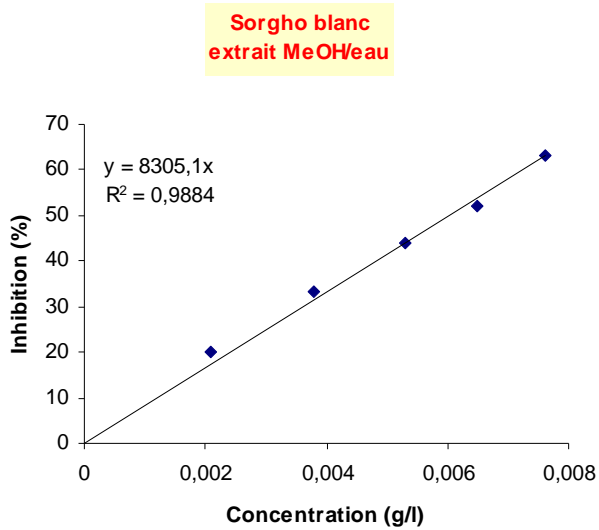


Figure IV.6 : Variation du pouvoir antioxydant (I%) en fonction de la concentration des fractions phénoliques aqueuses

Tableau IV.3 : Résultats du test DPPH (fraction phénolique et aqueuse g/l)

	Phase organique		Phase aqueuse	
	IC ₅₀ (g/l) Méthanol/Eau	IC ₅₀ (g/l) Acétone/Eau	IC ₅₀ (g/l) Méthanol/Eau	IC ₅₀ (g/l) Acétone/Eau
Sorgho rouge	0.0044	0.003	0.0096	0.0083
Sorgho blanc	0.0028	0.0027	0.0076	0.006
Vitamine C	0.75		0.75	
Trolox	0.066		0.066	

On remarque d'après les valeurs consignées dans le tableau (IV.3) que l'extrait phénolique du sorgho blanc possède une activité antiradicalaire plus forte que le sorgho rouge et cela quelque soit le solvant d'extraction. Il faut noter ici que l'activité antiradicalaire de l'extrait acétonique (0.003 g/l) dans le cas du sorgho rouge est une fois et demi plus forte que celle de l'extrait méthanique (0.0044 g/l).

Par contre dans le cas du sorgho blanc le solvant n'a pas d'influence sur la valeur de IC₅₀.

Afin de comparer le pouvoir antiradicalaire des extraits phénoliques avec les fractions aqueuses (figures III.6) , nous avons aussi testé le pouvoir antiradicalaire de ces derniers. Les résultats montrent que les fractions aqueuses sont trois fois moins puissantes que ceux des extraits phénoliques.

Tous les extraits montrent une capacité antiradicalaire plus forte par rapport aux composés phénoliques de références (l'acide ascorbique et le trolox), à titre d'exemple les extraits phénoliques du sorgho blanc sont 278 et 25 fois plus puissant que l'acide ascorbique et le trolox respectivement (figures IV.7, IV.8).

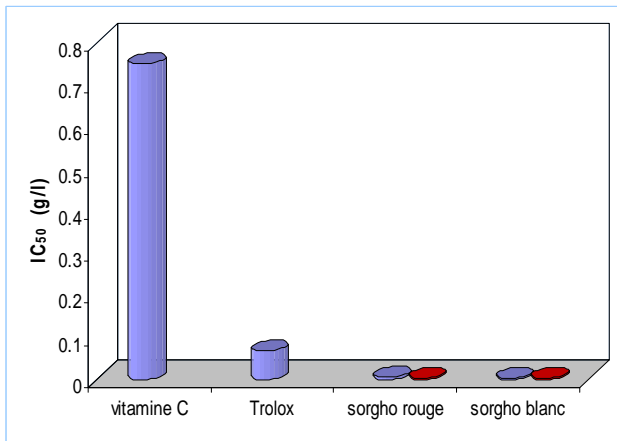


Figure IV.7: Classement décroissant Phénoliques et des composés de références selon leurs IC₅₀

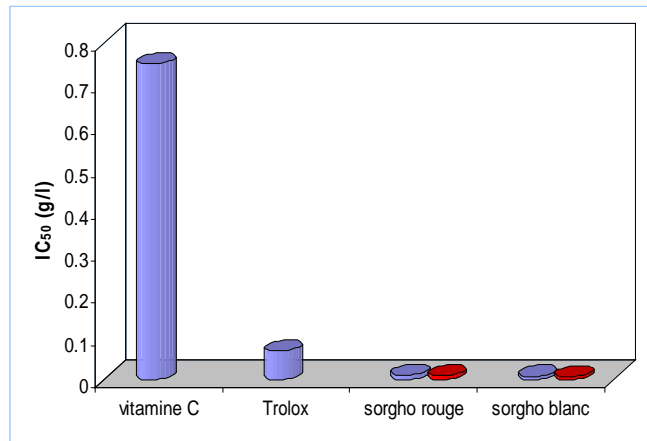


Figure IV.8: Classement décroissant des extraits des fractions aqueuses et des composés de références selon leurs IC₅₀

En conclusion, et si nous comparons l'activité de tous les extraits étudiés, on peut dire que les extraits phénoliques sont les plus actifs suivit des extraits protéiques, et en fin les extraits lipidiques. Ce résultat est prévu car les composés phénoliques présentent une activité antiradicalaire incontestable.

IV.3.2 Test Molybdate Phosphate

Ce test nous a permis d'évaluer le statut antioxydant, en utilisant les antioxydants présents dans les extraits comme réducteurs dans une réaction redox colorimétriques, l'analyse de molybdate phosphate est réalisée en suivant le protocole décrit comme suit : On prépare 100 ml d'un mélange des trois solutions suivantes :

- 0,6 M acide sulfurique
- 28 mM phosphate sodium
- 4 mM molybdate ammonium [65]

200 µl de chaque extrait dilué sont ajoutés à 2ml de la solution précédente. Le mélange est placé dans un bain marie à une température de 95 C° pendant 90 min, après refroidissement l'absorbance est mesurée à 695 nm.

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits est comparée par rapport à la vitamine E qui est utilisée comme antioxydant dans l'industrie agroalimentaire.

Il est nécessaire de mettre en évidence l'efficacité de cet antioxydant de référence à ce test et cela en traçant une courbe d'étalonnage de la vitamine E.

L'activité antioxydante de nos extraits est déterminée en équivalant à la vitamine E.

a) Résultats et discussions

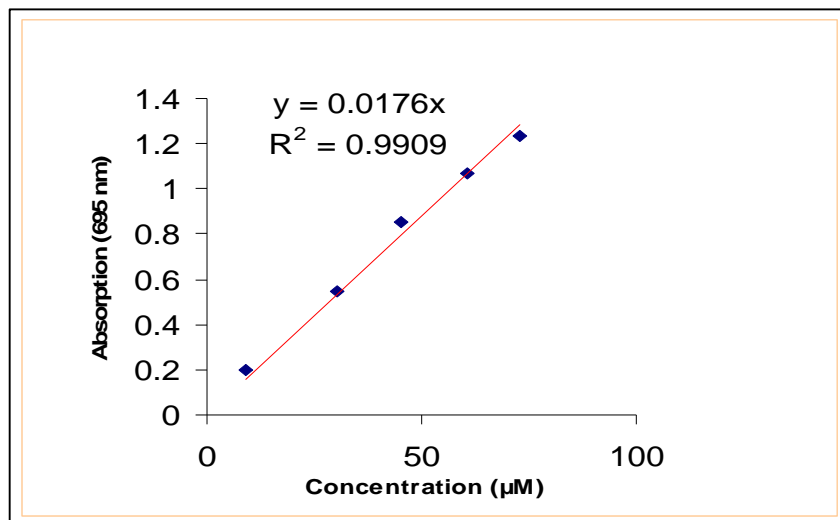


Figure IV .9 : La courbe d'étalonnage de la vitamine E

L'activité antioxydante de chaque extrait est déterminée à deux dilutions différentes, puis elle est calculée en utilisant la courbe d'étalonnage de la vitamine E (Figure IV.9). Les

coefficients de l'activité antioxydante (les concentrations en mM) sont exprimés en équivalent de la vitamine E. Les résultats sont regroupés dans les tableaux (IV.4, IV.5)

Tableau IV.4 : Résultats du test Molybdate Phosphate
(Fraction lipidique & protéique mM)

	Fraction lipidique	Fraction protéique
Sorgho rouge	4.830	0.026
Sorgho blanc	3.044	0.027
Vitamine C	0.605	

Tableau IV.5: Résultats du test Molybdate Phosphate
(fraction phénolique & aqueuse mM)

Solvant Variété	Fraction phénolique		Fraction aqueuse	
	C (mM) MeOH/eau	C (mM) Acétone/eau	C (mM) MeOH/eau	C (mM) Acétone/eau
Sorgho rouge	3.212	2.510	2.61	2.54
Sorgho blanc	2.420	2.090	1.29	1.33
Vitamine C	0.605		0.605	

Pour les extraits lipidiques, on note que le sorgho blanc possède une activité antioxydante plus importante que le sorgho rouge, alors que la vitamine C est six fois plus antioxydante que les deux extraits. Les extraits protéiques possèdent des pouvoirs

antioxydants très proches. Par contre les activités antioxydantes des extraits phénoliques varient en fonction du solvant d'extraction utilisé. L'extrait méthanolique du sorgho blanc est plus actif que le sorgho rouge, tandis que les extraits acétoniques montrent des activités très voisines. Les fractions aqueuses sont plus puissantes que les extraits phénoliques, et présentent entre eux des activités antioxydantes similaires.

En conclusion, on peut dire que les fractions protéiques des deux variétés de sorgho étudiées possèdent des pouvoirs antioxydants certains car leurs coefficients de l'activité antioxydante est 26 fois plus supérieure que l'acide ascorbique, alors que les extraits lipidiques et phénoliques sont à peu près 6 fois moins que l'acide ascorbique. Ces résultats sont tout à fait contraires aux résultats obtenus par le test DPPH. Cette contradiction est due certainement aux types des tests utilisés et le mécanisme des réactions mises en jeux.

IV.3.3 Recherche d'une corrélation

On a tenté de chercher une corrélation entre le pouvoir antioxydant des extraits phénoliques et le taux en composés phénoliques. Tous les extraits montrent une bonne corrélation linéaire de coefficient de l'ordre 0.75 (Figure III .10).

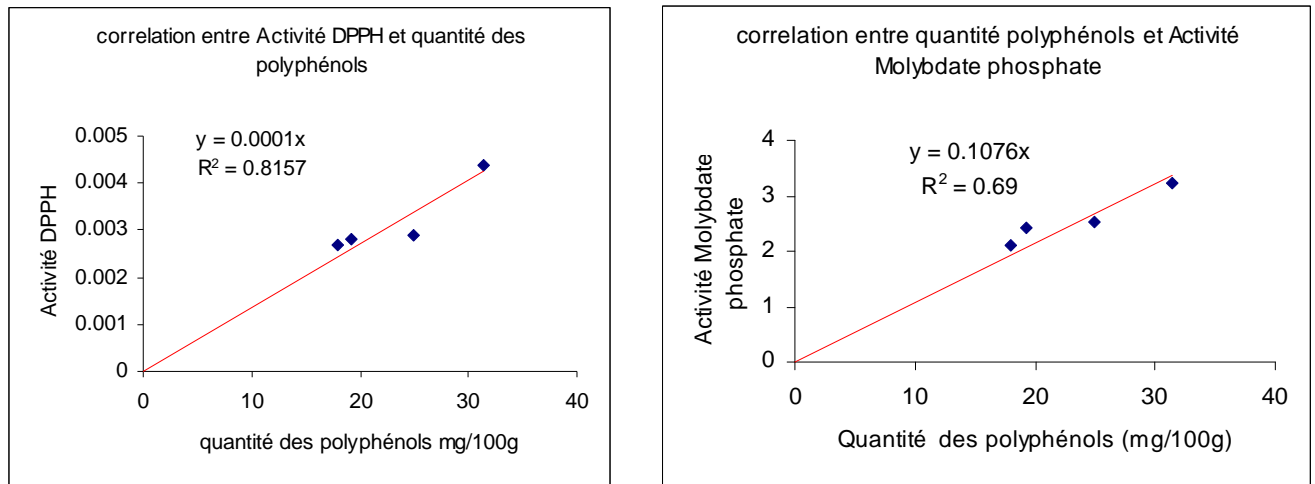


Figure IV .10 : La corrélation entre le taux des phénols et les différents tests chimiques

Une autre corrélation a été trouvée entre les deux tests de l'évaluation de l'activité antioxydante (Figure III.11).

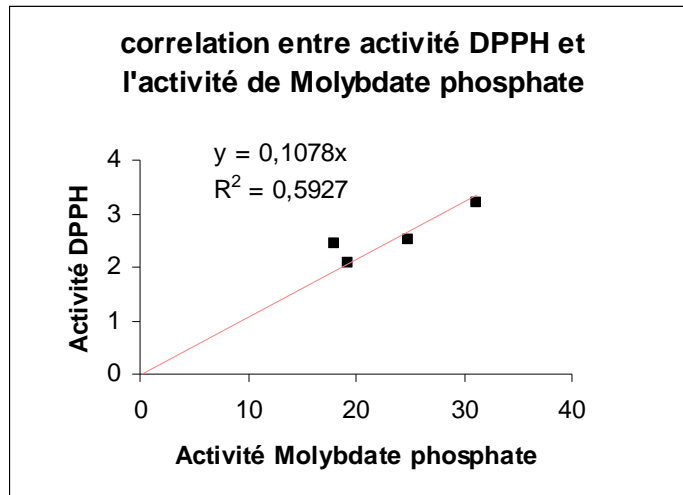


Figure IV .11 : La corrélation entre le test DPPH et le test Molybdate phosphate

Le coefficient de corrélation est de l'ordre de 0.59. Ce qui montre une bonne affinité et peut être le même mode d'action.

Conclusion générale

Conclusion Générale

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés de contribuer à la valorisation des potentialités des espèces locales de graines de céréales. Compte tenu des caractéristiques botaniques, physiologiques d'une part et de son intérêt économique, scientifique d'autre part.

Dans la première partie de cette étude, nous avons axé notre travail sur les extractions, quantifications et identifications des lipides, protéines et des phénols des espèces étudiées.

Pour l'extraction des lipides la teneur en huile est faible 6.13% dans le sorgho blanc et 6.54% dans le sorgho rouge, l'analyse des esters métalliques par CPG, nous a confirmé que les acides gras insaturés (oléique et linoléique) sont les plus prépondérants, avec un taux de 85% dans les huiles.

L'évaluation des tourteaux des grains étudiés en protéines est aussi déterminée. Les valeurs trouvées des taux en protéines indiquent que la teneur est très importante dans les deux espèces de sorgho et varie d'un groupe à l'autre. Les teneurs sont respectivement 44.4% et 22% dans le sorgho blanc et le sorgho rouge dans le cas où le chlorure de sodium est utilisé comme solvant. Le pourcentage des protéines atteint une valeur importante dans le sorgho rouge lorsque l'extraction est réalisée par de l'eau distillée. En parallèle, l'analyse quantitative et qualitative des acides aminés réalisée par CLHP, l'étude montre l'existence des 8 acides aminés essentiels. La quantité des acides aminés varie de 168.42 mg/g dans le sorgho rouge et 126.72 mg/g dans le sorgho blanc.

Pour évaluer la teneur en phénols totaux dans les deux variétés en adaptant la méthode Singleton et Ross, le réactif Folin Ciocalteu, les résultats nous ont confirmé que les espèces étudiées sont riches en polyphénols entre 18.1mg/g et 31.41mg/100g en équivalant à l'acide gallique.

D'après le profil chromatographique des extraits phénoliques effectué par chromatographie liquide à haute performance, nous avons classé les composés

phénoliques par trois classes selon leurs squelette à savoir : les acides benzoïques (entre 1.24% pour le sorgho blanc et 11.67% pour le sorgho rouge) les acide hydroxycinnamiques (entre 5.85% pour le sorgho rouge) et les flavonoides (entre 68.07% pour le sorgho blanc et 66.58% pour le sorgho rouge)

Dans la deuxième partie, nous avons consacré notre étude à l'évaluation du caractère antioxydant de nos extraits lipidiques, protéiques et phénoliques. En appliquant deux tests chimiques à savoir le test DPPH et le test Molybdate phosphate.

Dans le test DPPH les extraits phénoliques sont les plus actifs suivit des extraits protéiques, et en fin les extraits lipidiques. Ce résultat est prévu car les composés phénoliques présentent une activité antiradicalaire certaines.

Par contre dans le test de Molybdate de phosphate, les fractions protéiques possèdent des pouvoirs antioxydant très important plus que les fractions phénoliques et lipidiques.

L'ensemble de ce travail a permis donc de mieux appréhender l'intérêt de l'étude des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques des grains de sorgho local, ainsi d'évaluer le pouvoir antioxydant des différents extraits. Cette étude préliminaire nous confirme que le sorgho est une source importante des antioxydants . Ce résultat nous encourage à poursuivre l'étude d'autres variétés de sorgho cultivés dans la région de Ain Salah et d'essayer de purifier et caractériser les molécules à intérêt biologique que renferme le sorgho.

Bibliographie

Bibliographie

[1]	Le sorgho et les mils dans la nutrition humaine Organisme des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome 1995.
[2]	Williamson EM, Synergy and other interactions in phytomedecines
[3]	Miura, K. et Nakatani, N. Antioxidant activity of vegetal extracts. I. Flavone aglycons, <i>J. Food Sci</i> , V29, (1964), 27-33
[4]	Kehrer, J.P. and Smith, C.V. 1994. Free radicals in the biology: sources, reactivates, and roles in the etiology of human diseases. <i>Nat. Antioxidants</i> . Frei B. Academic Press: New York.
[5]	Awika, J.M. 2000. Sorghum phenols as antioxidants. M.S. Thesis. Texas A&M University: College Station, TX.
[6]	Serna-Saldivar, S.O., and Rooney, L.W. 1995. Structure and chemistry of sorghum and millets. Pages 69-82 in: <i>Sorghum and Millets Chemistry and Technology</i> . D.A.V. Dendy, (ed.) AACC, Inc: St. Paul, MN.
[7]	
[8]	Erah P.O., Ayuba G.I., 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, 28-31 July 2004, p. 6-7.
[9]	Karppinen, S., Myllymaki, O., Forssell, P., & Poutanen, K. (2003). Fructan content of rye and rye products. <i>Cereal Chemistry</i> , 80, 168–171.
[10]	Rieckhoff, D., Trautwein, E. A., Malkki, Y., & Erbersdobler, H. F. (1999). Effect of different cereal fibers on cholesterol and bile acid Metabolism in the Syrian golden hamster. <i>Cereal Chemistry</i> , 76, 788–795.
[11]	Tharanathan, R. N., & Mahadevamma, S. (2003). Grain legumes – a boon to human nutrition. <i>Trends in Food Science and Technology</i> , 14, 507–518.
[12]	FAO 2004 département de l'agriculture, de la biosecurité, de la nutrition et de la protection des consommateurs (AG)
[13]	Agreste conjecture grandes cultures Août 2006 n°06.

[14]	D .Voet et J.G .Voet, Biochimie, P 56 – 69, 2 ^{ème} Eddition , 1998
[15]	Olle.M Analyse des corps gras.Technique de l'Ingénieur, P5, P3325 décembre 1996 paris
[16]	oléagineux corps gras lipides, Corps gras, nutrition et santé, question d'actualité bordeaux, volume 7 N° 1 janvier 2000
[17]	J. P. Helme, Revue Française des corps gras ,The essential fatty acids, the importance of the long chain polyunsaturated fatty acids of the n-6 and n-3 families, Paris, Mars 1986
[18]	ITERG, Rôle biologique et Nutritionnel des lipides et leurs principaux constituants Institut des corps gras, 2003
[19]	Marléne Frénot et Elisabeth Vierling biochimie des aliments diététique du sujet bien portant 2 ^{ème} édition doin éditeur cndp centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine 2001.
[20]	LUCIE FERMONT , jouy – en – josas , revue française des corps gras Cholestérol acides gras essentiels et athérosclérose , octobre 1986
[21]	Calet .C et Vedronne ,l'approvisionnement protéique des hommes et des animaux aspect nutritionnelles économiques et réglementation en protéine végétal page 2,2 ^{ème} édition lavoisire et TEC .DOC 1996 ,France
[22]	Marlene Frenot- Elisabeth Vierhing , Biochimie des aliments diététique du sujet bien portant, sciences des aliments série d'énergie par GY leyrat PP 79 – 125, 1997
[23]	Jaques-Henry biochimie générale 9 ^{ème} édition DUNOD ,paris.2001
[24]	B.Godon, Protéine végétale, collection science et technique Agroalimentaire, Lavoisier, TEC et DOC, 2 ^{ème} édition, 1996
[25]	Hubert Richard, Biochimie de l'aliment, acides aminés et oligopeptides ENSIA. 1998
[26]	Aurousseau. B, 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., 2002, Vol 15, pp 67-82.
[27]	Alain Favier le stress oxidant intéret conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.L'actualité chimique,p501-512,2003.
[28]	Y.R.DAI, C.M.GAO, Q.L.LAI, Y.YIN planta medica, 1987, 53(3), 309-310.
[29]	Duval. C , oxydation des lipoprotéines de faibles densités implication de la mitochondrie et de la prolifération cellulaire, thèse de doctorat, Soutenue le 12 Décembre 2002.
[30]	J.F.Lesgards.Contribution à l'étude du staut antioxidant de l'homme..Aspects chimiques et biochimiques ,these de doctorat,université d'Aix-Marseille,sepmtembre 2000,2-12.
[31]	A.Rehman,J.Nourooz,W.Moller et al.Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mallitus.FEBS letts,1999,448,120-122

[32]	A.R.Collins, J.Brown, M.Bogdanov et Al.comparison of differents methods of measuring 8-oxogunine as a marker of oxidative damage.Free Radical .Res, 2000, 32,333-341.
[33]	J.Emerit,J.Fechner,A.Gall,la presse Mondiale,1986,15 (16),751-754.
[34]	G.Erenel,D.Erbas,A.Aricioglu,Materia Polona ,1993,1(85),37-43
[35]	A.Crastes de Paulet.Ann.Biol .Clin ,1990,48,323-330T.
[36]	S.M.BARLOW.toxicological aspects of antioxydants used as food addives.In: Food antioxydants,Hudson B.J.F.(ed.),Elseveir ,Amsterdam ,1990,253-307.
[37]	Cuendet .M, recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : thèse de doctorat,24 mars ,2000.
[38]	Drake IM, Davies MJ, Mapstone NP, Dixon MF, Schorah CJ, White KL, Chamers DM, Axon AT, Ascorbic acid may protect against human gastric cancer by scavenging mucosal oxygen radicals, <i>Carcinogenesis</i> 1996, Vol 17, pp 559-562.
[39]	Vitamine E et fonctionnement du cerveau, European Journal of Neuroscience, 2000, Vol 12, pp 4541-4546
[40]	Winston. D, Jacqueline A, Bêta-carotène, département de médecine interne, hôpital de Newton-Wellesley, université de Harvard et médecine intégratrice de rédacteur médical aîné, Boston, Mars 2001
[41]	Daniel W. Cramer, Hannah Kuper, Bernard L. Harlow, Linda Titus-Ernstoff, Carotenoids, antioxidants and ovarian cancer risk in pre- and postmenopausal women, <i>International Journal of Cancer</i> , 2001, Vol 94, N°1, pp 128-134.
[42]	Nicolas R, La valse des polyphénols, 1st International Conference on Polyphenols and Health organisée par l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), 18-21 novembre 2003, Vichy (France).
[43]	Mary Ellen Camire et Michael. P, Added Phenolic Compounds Enhance Lipid Stability in Extruded Corn, <i>J of Food Sci.</i> , 1998, Vol 63, N°3.
[44]	Cao. G, Sofic. E, et Antérieur. R, Comportement antioxydant et prooxydant des flavonoïdes: rapports d'activité de structure, <i>Radical Libre Biol, Et Med</i> , 1997, Vol 22, N°5, pp 749-760.
[45]	? man, P., Nilsson, M., and Andersson, R, Positive Health Effects of Rye, <i>Cereal Foods World</i> , 1997, Vol 42, pp 684-688.
[46]	C.Berset, M.E.Cuvelier Méthode d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et de mesure du pouvoir antioxydant. <i>Sci Aliments</i> , 1996, 16,219-245.
[47]	M. Naudet, <i>Manual oils and fats</i> , volume 1, PP 67-90, A- Karleskind Editio 1995
[48]	S.Cocallemen .Marie Farines, Heidi Fail, j .Soulier, <i>Revue française des corps gras</i> , Etude de l'huile de graine d'aubergine, <i>Solanum Melongena (L.) Solanaceae</i> ,32 année, N°3, mars 1988

[49]	C.O.Eromosele, I.C. Eromosele, Fatty acid compositions of seed oils of <i>Haematostaphis barteri</i> and <i>Ximenia Americana</i> , Vol 82, PP303-304 Federal University of technology Nigeria, Sep 2001
[50]	Karleskind, 1992 manuels des corps gras Edition Technique et Documentation Lavoisier, 1992, Paris.
[51]	Olle.M Analyse des corps gras.Technique de l'Ingénieur, P5, P3325 décembre 1996 paris
[52]	G.Mallet , Caterine Dimitriades , Revue française des corps gras, Apport des techniques de dérivatisation à la séparation des esters d'acides gras par CPG capillaire,32année, PP11 – 12 Marseille , nov- déc 1985
[53]	M.Gravriolare, C.Schwartz,Gravriolovie,j.Wallach,M.j.Maginat, Manipulation d'analyse biochimique, PP 157 – 168 collection dirigé par J . Figarella,F. Zonszain . 1996
[54]	J.S.Noll, D.H.Simmonds and W. Busmuk, Modified Biuret Reagent for determination of protein, J.A.O.C.S, university of Manitoba, Winnipeg,Canada, 1974
[55]	E.W.Lusas, Food Uses of Peanut Protein, Texas A and M University, college station, Texas, Mars 1979
[56]	Chafez. B.I, Condensed tannins in tropical forages, thèse Ph. D, Cornell University, Ithaca, NY, USA,1996.
[57]	Romani. A, Pinelli. P, Mulinacci. N, Vincieri. F.F et Tattini. M, Identification and Quantification of Polyphenols in Leaves of <i>Myrtus communis</i> L., Chromatographia, 1999, Vol 49, N°1-2, pp. 17-20
[58]	E.FRANKEL .In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids Trends food Sci technol,1993,4,2203-225.
[59]	C.BERSET ,M.E CUVELIER.Methode d'évaluation de degre d'oxydation des lipids et de mesure du pouvoir antioxidant.Sci.Aliments?1996,16,219-245.
[60]	J.B.Rossel.L.Measurement of rancidity In: rancidity in foods J.C.Allen and R.J Hamilton (eds).Elsevier, Amesterdam, 1989, 23-52.
[56]	S.E.Hill Comparisons Measuring oxidative stability.INFORM, 1994, 5, 104-109.
[57]	M.E.Cuvelier, C, Berset, H.Hichard.Use for a new test for determining comparative antioxidant activity of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene
[58]	Sa nchez Moreno, C.2002.Review: methods used to evaluate the free radical scavenging

	activity in Foods Sci.Tech.Int,8(3):121-137
[59]	N.J.MILLER, C.RICE EVANS, M.J.DAVIES, VGOPINATHAN AND A MILNER.A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neoates, Clin.Sci,1993, 239,70-76.
[60]	I.F.F.BENZIE.J.J STAIN. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay, Anal Biochem, 1996, 239, 70-76
[61]	Prieto P.Pineda M and Aguilar M(1999),spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex:specific applicationto the determination of vitamin E Anal .Biochem.269m337-341.

Annexe

Les principaux acides gras saturés

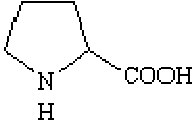
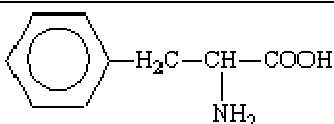
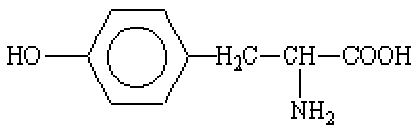
Acide	Nom systématique	Symbole chimique	formule
Laurique	Dodécanoïque	C 12 : 0	$C_{12}H_{24}O_2$
Myristique	Tétradécanoïque	C 14 : 0	$C_{14}H_{28}O_2$
Palmitique	Hexadécanoïque	C 16 : 0	$C_{16}H_{32}O_2$
Stéarique	Octadécanoïque	C 18 : 0	$C_{18}H_{36}O_2$
Arachidique	Eicosanoïque	C 20 : 0	$C_{20}H_{40}O_2$

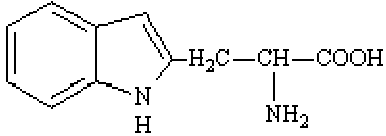
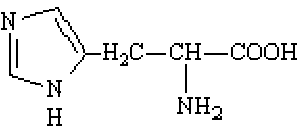
Behénique	Docasanoïque	C 22 : 0	C ₂₂ H ₄₄ O ₂
Lignocérique	tétracosanoïque	C 24 : 0	C ₂₄ H ₄₈ O ₂

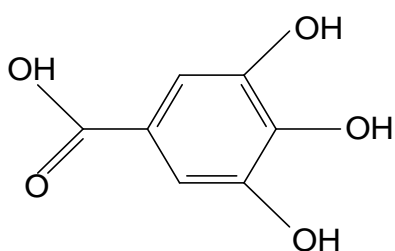
Les principaux acides gras insaturés

Acide	<i>Nom systématique</i>	Symbole	formule
Myristoléique	Cis9tétradéca-noïque	C14 : 1	C ₁₄ H ₂₆ O ₂
Palmitoléique	Cis9hexadéca-noïque	C16 : 1	C ₁₆ H ₃₀ O ₂
Oléique	Cis9octadéca-noïque	C18 : 1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
Vaccénique	11transoctadé-canoïque	C18 : 1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
Linoléique	Cis9cis12octa-décatriénoïque	C18 : 2	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
Linoléinique	Cis9cis12cis15Octadécatriénoïque	C18 : 3	C ₁₈ H ₃₀ O ₂
Arachidonique	Cis5cis8cis11cis14écosapentaénoïque	C20 : 4	C ₂₀ H ₃₂ O ₂
Erucique	Cis 13 docasénoïque	C22 : 1	C ₂₂ H ₃₄ O ₂

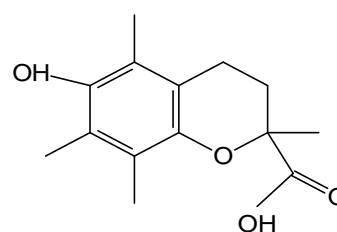
Liste des principaux acides aminés

Nom	Formule	Symbole	Masse molaire (g.mol ⁻¹)
glycine ou glycolle	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Gly	75.07
Alanine	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Ala	89.09
Valine	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{HC}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Val	117.15
Leucine	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{HC}-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Leu	131.17
Isoleucine	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{H}_2\text{C}-\text{HC}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Ile	131.17
Sérine	$\begin{array}{c} \text{HOH}_2\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Ser	105.09
Thréonine	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{HC}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Thr	119.12
Méthionine	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{H}_2\text{C}-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Met	149.21
Cystéine	$\begin{array}{c} \text{HS}-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	CySH	121.16
Proline		Pro	115.13
Phénylalanine		Phe	165.19
Thyrosine		Tyr	181.19

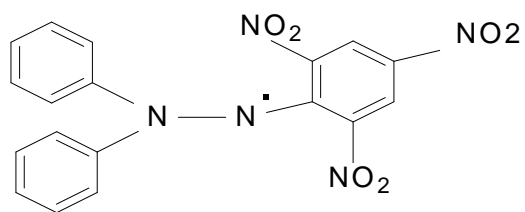
Tryptophane		Try	204.23
acide Aspartique	$\text{HOOC}-\text{H}_2\text{C}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Asp	133.10
acide Glutamique	$\text{HOOC}-\text{H}_2\text{C}-\text{H}_2\text{C}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Glu	147.13
Lysine	$\text{H}_2\text{N}-(\text{H}_2\text{C})_4-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Lys	146.19
Arginine	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{NH}}{\text{C}}-\text{HN}-(\text{H}_2\text{C})_3-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Arg	174.20
Histidine		His	155.16
Asparagine	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{H}_2\text{C}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Asn	132.12
Glutamine	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Gln	146.15



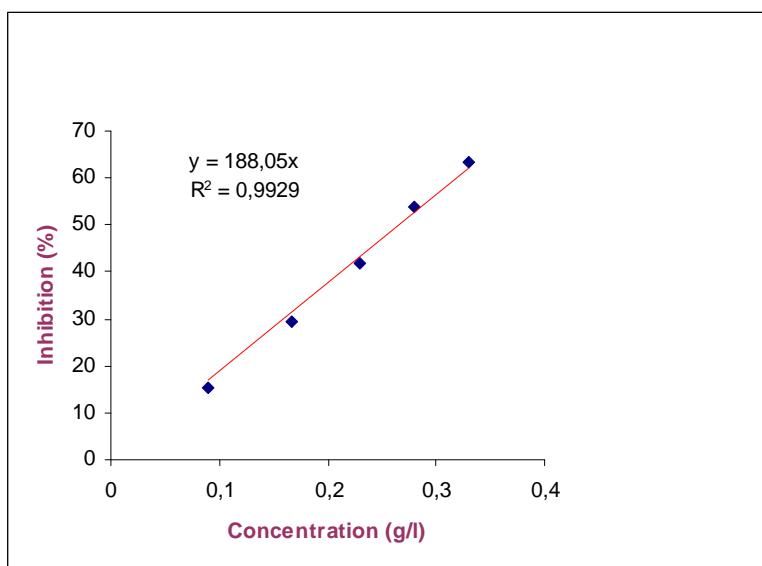
Acide gallique



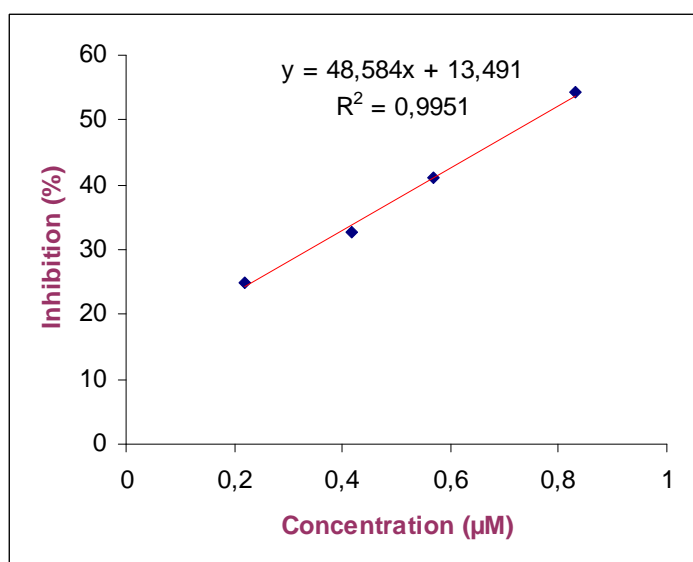
Trolox (Acide 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetraméthylchromane-2-carboxylique)



Structure chimique du DPPH



La courbe de test DPPH de Trolox



La courbe de test DPPH de Vitamine C

