République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ahmed DRAÏA - Adrar

Code :

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en :

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

Composition phytochimique et activité antioxydante de *Pennisetum glaucum* L.

Préparé par :

Melle. YOUSFI Djamila

Melle. KADI Naima

Melle. BAGUI Samia

Membres de jury d'évaluation :

Mr NANI Abdelhafid	**Président**	**MCA**	**Univ.Adrar**
Melle TEHAMI Wafâa	**Encadreur**	**MCB**	**Univ. Adrar**
Melle ATTOU Amina	**Examinateur**	**MCB**	**Univ. Adrar**

Année Universitaire : 2021/2022

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République algérienne populaire et démocratique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE AHMED DRAYA - ADRAR

BIBLIOTHÈQUE CENTRALE

Service de recherche bibliographique

N°.....B.C/S.R.B//U.A/2022

جامعة احمد دراية - ادرار

المكتبـــة المركـــزية

مصلحة البحث البيليوغرافي

الرقم.....م.م/م.ب.ب /ج.أ/2022

شهادة الترخيص بالإيداع

انا الأستاذ(ة): تهامي وفاء

المشرف مذكرة الماستر.

الموسومة بـــ : composition phytochimique et activité antioxydante de pennisetum glaucum L.

من إنجاز الطالب(ة): يوسفي-جميلة - مكاوي نعيمة

و الطالب(ة): بيقي سامية

كلية : العلوم والتكنولوجيا

القسم : علوم الطبيعة والحياة

التخصص: بيوكيمياء تطبيقية

تاريخ تقييم / مناقشة: 2022/06/22

أشهد ان الطلبة قد قاموا بالتعديلات والتصحيحات المطلوبة من طرف لجنة التقييم / المناقشة، وان المطابقة بين النسخة الورقية والإلكترونية استوفت جميع شروطها.

وبإمكانهم إيداع النسخ الورقية (02) والاليكترونية (PDF).

- امضاء المشرف:

Dr. TEHAMI Wafaa

ادرار في :.....

مساعد رئيس القسم:

مساعد رئيس قسم علوم الطبيعة والحياة
مكلف بالتدريس والتعليم في التدرج
أ. وافي عبد الرحمان

ملاحظة: لا تقبل أي شهادة بدون التوقيع والمصادقة

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier « Allah », notre créateur pour nous avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

En nous exprimant de la sorte, nous pensons tout particulièrement à notre Encadreur,
***Mme TEHAMI Wafâa**, Maitre de Conférences (B)à l'université d'Adrar, qui a bien voulu accepter de diriger ce travail. Nous lui remercions vivement pour sa disponibilité, ses orientations et la lecture de ce mémoire.*
Je tiens également à adresser mes sincères remerciements à
***Dr. NANI Abdelhafid**, Maître de conférences (A) à l'Université Ahmed DRAIA-Adrar*
*J'exprime mes vifs remerciements **Mme ATTOU Amina***
Maître de Conférences (B) à l'Université Ahmed DRAIA-Adrar

Nous remercions également tous les membres de laboratoire qui nous ont beaucoup aidés à réaliser ce travail dans des bonnes conditions.
Toute oeuvre qui résulte d'un effort humain est explicitement ou implicitement toujours le fruit d'une vaste collaboration. Ainsi, que tous ceux qui de près ou de loin ont pris une part active dans la réalisation de ce mémoire puissent trouver dans ces lignes l'expression de notre profonde gratitude

Dédicace

Au nom du DIEU clément et miséricordieux et que le salut de DIEU ,soit sur son prophète Mohammed

Je dédie ce travail, tout d'abord à mes parents qui m'ont soutenu tout au long de mes études par leur dévouement et abnégation

A mes soeurs (Fatima zouhra, imane) et mon frère lazher

A mon bonheur morsli mohammed selimane

A tous mes amis.

Djamila .

Dédicace

Avant tout, je remercie Dieu, le Miséricordieux de m'avoir donné le courage, la force et la patience pour réaliser ce mémoire.

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents Abdelkrim & Mariam Ghazaoui.

Mes sœurs et mes frères .

Tout ma famille.

Aux personnes qui m'ont toujours encouragé et ont cru en moi.

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire .

Naima

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail

A celui qui a été toujours la source de l'honneur, du courage

.et celui qui a fait de moi femme…. Merci papa

A celle qui m'a inculqué le goût de la vie et le sens de la .responsabilité ….Merci maman

Avec toute ma fidélité et tout mon amour pour vous, mes

.parents, je ne pourrai jamais égaler votre mérite

.Qu'Allah vous garde et vous protège

A mes frères : Ayoub et Aymen

Ames sœurs : Fatima, Nacera ,Fouzia et Asma

A les petits enfants : Faycel anis, Abdelrahim, Dorsaf

Pour leur soutien moral, leur complicité, leur présence

.A tout moment à mes cotés, et de m'avoir fait confiance

.A tout ma famille grande et petite

.A mes meilleurs amis chacun à son nom sans exeption

Samia

ملخص

يهدف عملنا إلى تقييم حبات الدخن " *Pennisetum glaucum* L." من خلال تحليل المستخلص الناتج عن النقع في نظام ثلاثي من المذيبات ، عن طريق الاختبارات النوعية والكمية للمستقبلات الثانوية وكذلك تقدير قدرتها المضادة للأكسدة. بعدة طرق لونية . أظهرت النتائج المسجلة بعد الفحص الكيميائي النباتي أن المستخلص يحتوي على البوليفينول والفلافونويد والثانات وألكلويدات والصابونين والتربينويدات والكومارين والمركبات المختزلة ووفقًا للمقايسات الكمية لمركبات البوليفينول والفلافونويد والثانات المكثفة بمتوسط 2.27 ± 0.142ملغ مكافئ حمض غاليك/ غ مادة جافة ؛ 0.50 ± 0.013 ملغ مكافئ كاتشين/ غ مادة جافة ؛ 1.70 ± 0.468 ملغ مكافئ كاتشين/ غ مادة جافة على التوالي. بالإضافة إلى ذلك ، أظهر مستخلص حبوب *P. glaucum* L. من منطقة أدرار قدرة كبيرة على مقاومة الجذور بواسطة اختبار الكسح الجذري (DPPH)، بتركيز مثبط (EC_{50}) يبلغ 0.04 ملغ / مل. إنه نفس الشيء بالنسبة لاختبار الحد من الحديد (FRAP) واختبار (ABTS) اللذين كانا مهمين.

الكلمات الرئيسية: *Pennisetum glaucum*L ، المستقبلات الثانوية ، إمكانات مضادات الأكسدة ، الفحص الكيميائي النباتي DPPH، FRAP، ABTS

Résumé

Notre travail a pour objectif d'évaluer les grains de millet « *Pennisetum glaucum* L. » en analysant l'extrait obtenu par macération dans un système ternaire de solvants, par des tests qualitatifs et quantitatifs de métabolites secondaires ainsi que l'estimation de son potentiel antioxydant par plusieurs méthodes colorimétriques. Les résultats enregistrés après le criblage phytochimique, ont montré que l'extrait renferme des polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponosides, terpénoïdes, coumarines et des composés réducteurs et selon les dosages quantitatifs des polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés, des teneurs moyennes de2,27 ± 0,142 mg EAG/g MS ; 0,50 ± 0,013mg EC/ g MS ; 1,70±0,468 mg EC/g MS ont été notées respectivement. En outre, l'extrait des grains de *P.glaucum* L. de la région d'Adrar, a présenté une capacité anti radicalaire considérable par le test de piégeage de radical DPPH, avec une concentration inhibitrice (EC_{50}) de 0,04mg/ml. Il est de même pour le test de réduction de fer (FRAP) et le test à l'ABTS qui ont été importante.

Mots clés: *Pennisetum glaucum* L. ,métabolites secondaires, potentiel antioxydant, criblage phytochimique, DPPH,FRAP,ABTS

.

Abstract

The objective of our work is to evaluate the millet cereal "*Pennisetumglaucum* L." by analyzing the extract obtained by maceration in a ternary system of solvents, by qualitative and quantitative tests of secondary metabolites as well as the estimation of its antioxidant potential by several colorimetric methods. The results recorded after phytochemical screening, showed that the extract contains polyphenols, flavonoids, tannins, alkaloids, saponosides, terpenoids, coumarins and reducing compounds and according to the quantitative assays of polyphenols, flavonoids and condensed tannins, average contents of 2.27 ± 0.142 mg EAG/g MS ; 0.50 ± 0.013mg EC/ g MS; 1.70±0.468 mg EC/g MS were noted respectively. In addition, the extract of *P.glaucum* L. grains from Adrar region, presented a considerable antiradical capacity by the DPPH radical scavenging test, with an inhibitory concentration (EC_{50}) of 0.04mg/ml. The same is true for the iron reduction test (FRAP) and the ABTS test which were significant.

Keywords: *Pennisetum glaucum* L. ,secondary metabolites, antioxidant potential, phytochemical screening, DPPH,FRAP,ABTS.

Liste des abréviations

ABTS	Acide 2,2-azino-bis(éthylbenzthiazoline-6-suplphonique
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EPG	Extrait de *Pennisetum glaucum* L.
$FeCl_3$	Chlorure de fer
EC	Equivalent catéchine
EAG	Equivalent acide gallique
FRAP	Ferric ion Reducing Antioxidant Power
EC_{50}	Concentration inhibitrice à 50%
$K_3Fe(CN)_6$	Ferricyanure de potassium
MS	Matière sèche
PM	plantes médicinales

Liste des tableaux

Tableau 1	Taxonomie de *Pennisetum glaucum* L.	5
Tableau 2	Composition chimique des grains du mil à chandelle	7
Tableau 3	Composition en aides gras (%) de l'huile du Millet Marocain	8
Tableau 4	Rendement obtenu de l'espèce étudiée	34
Tableau 5	Résultats de criblage phytochimique	36
Tableau 6	Concentrations en métabolites secondaires	37
Tableau 7	EC_{50} de l'EPG et les standards utilisés	39

Liste des figures

Figure 1	*Pennisetum glaucum L.* (photo prise dans une exploitation à Tsabit Wilaya d'Adrar)	6
Figure 2	Aliments locaux traditionnelles à base de millet perlé. a) Fura, Nigeria ; b) Porridge, Nigeria. c) Ladoo, Inde	9
Figure 3	Différentes classes de polyphénols.	10
Figure 4	Structure de base des flavonoïdes	11
Figure 5	Structure chimiques de l'acide gallique	11
Figure 6	Structure générale des tanins condensés	12
Figure 7	Structure des coumarines	12
Figure 8	Structures chimiques de quelques alcaloïdes	13
Figure 9	Le stress oxydant	14
Figure 10	Effet de stress oxydant au sein des pathologies	14
Figure 11	Sites de production intracellulaire des radicaux libres	16
Figure 12	lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du composant génétique des cellules	18
Figure 13	Antioxydants enzymatiques	20
Figure 14	Réseau des antioxydants	21
Figure 15	Grains (A) et poudre (B) de *Pennisetum glaucum* L	23
Figure 16	Refroidissement dans le dessiccateur	23
Figure 17	Macération de *P.glaucum* L. sous agitation	24
Figure 18	Dégraissage du filtrat	25
Figure 19	La gamme d'étalonnage des polyphénols	28
Figure 20	La gamme d'étalonnage des flavonoïdes	29
Figure 21	La gamme d'étalonnage des tanins condensés	29
Figure 22	Réduction de DPPH	30
Figure 23	Pouvoir antioxydant de l'extrait (test DPPH)	30
Figure 24	Réduction de fer	31
Figure 25	Pouvoir antioxydant de l'extrait (test FRAP)	32
Figure 26	Pouvoir antioxydant de l'extrait (test ABTS).	33
Figure 27	Teneurs humidité et en matière sèche des grains de *Pennisetum glaucum*L.	34
Figure 28	Activité antioxydante de l'extrait de *P.glaucum* L. avec les références utilisées	39
Figure 29	Cinétique du piégeage du radical DPPH par l'extrait méthanolique	40
Figure 30	Pouvoir réducteur sur le ferricyanure de potassium par l'extrait de *Pennisetum glaucum* L. et les étalons	41
Figure 31	Capacité de piégeage des cations de l'ABTS des grains de millet	42

Tables des matières

Remerciements I

Dédicaces II

Résumé III

Abstract IV

ملخص V

Liste des abréviations IV

Liste des tableaux IIV

Liste des figures IIIV

Introduction 1

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre I : Monographie de *Pennisetum glaucum L*

I.1. Historique **2**
I.*2.*Définition des plantes médicinale **2**
I.3. L'origine des plantes médicinale **2**
I.3.1. Plantes spontanées **3**
I.3.2 Les Plantes cultivées **3**
I.4. Les modes de préparation des plantes médicinales **4**
I.5 Généralités sur *Pennisetum glaucum* L **4**
I.1.5.Nomenclature de *Pennisetum glaucum* L **5**
I.2.5. Taxonomie **5**
I.6 Description botanique **6**
I.7 Répartition géographique **6**
I.8. Composition chimique **7**
I.9 Utilisations de *Pennisetum glaucum* L **8**
I.10 Propriétés biologiques de *Pennisetum glaucum* L **9**

Chapitre II : Les métabolites secondaires

II.1. Définition **10**
II.1.1. Les composés phénoliques **10**
II.1.1.1.Acides phénoliques **10**
II.1.1.2.Flavonoïdes **11**

II.1.1.3. Tanins **11**
II.1.1.4. Coumarines **12**
II.1.2. Les alcaloïdes **13**
II.1.3. Les Terpènes **13**

Chapitre III : Stress oxydant

III.1. Stress oxydant **14**
III.2. Les radicaux libres **15**
III.2.1.Les espèces dérivées de l'oxygène **15**
III.2.1.1 L'anion superoxyde (O) **15**
III.2.1.2.Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) **15**
III.2.1.3. Radicaux hydroxyles (OH^-) **15**
III.2.1.4.Les radicaux alkoxyle (RO) et peroxyle (ROO) **16**
III.2.1.5.Oxygène singulet ($^1O_2$) **16**
III.3. Formation des radicaux libres **16**
III.3.1.Formation intracellulaire **16**
III.3.2. Production extracellulaire **17**
III.4. Cibles biologiques des espèces réactives oxygénées **17**
III.4.1. Lipides **17**
III.4.2. Protéines **19**
III. 4.3. Acides nucléiques **19**
III.5. Les antioxydants **20**
III. 5.1. Antioxydants enzymatiques **20**
III.5.2. Antioxydants non enzymatiques **21**
III.6.Techniques d'évaluation du potentiel antioxydant des composés naturels **22**

Partie 2 : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1Le matériel végétal **23**
I.2. Détermination du taux d'humidité **23**
I.3Préparation de l'extrait **24**
I.4.Criblage phytochimique **25**
I.5. Dosage quantitatif des métabolites secondaires **27**
I.5.1Dosage des polyphénols totaux **27**
I.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux **29**
I.5.3. Dosage des tanins condensés **29**
I.6.Evaluation du potentiel antioxydant **31**
I.6.1. Test DPPH **31**
I.6.2.Test FRAP **32**
I.6.3.Test ABTS **33**

Chapitre II: Résultats et discussion

II.1.Détermination du taux d'humidité **34**
II.2. Le rendement d'extraction **34**
II.3.Criblage phytochimique **36**

II.4. Teneurs en métabolites secondaires **37**
II.4.1.Polyphénols **37**
II.4.2.Flavonoïdes **38**
II.4.3.Les tanins condensés **38**
II.5.Pouvoir antioxydant **39**
II.5.1.Test DPPH **40**
II.5.2.Test de FRAP **41**
II.5.3.Test ABTS **42**

Conclusion **43**
Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base comme la nourriture, l'abris et les vêtements et également pour ses besoins médicaux. (Eddouks*et al.,*2007).

L'utilisation des plantes dans les systèmes de médecine traditionnelle de nombreuses cultures a été largement documentée. Ces systèmes à base de plantes continuent de jouer un rôle essentiel dans les soins de santé et l'Organisation Mondiale de la Santé estime que 80 % des habitants de la planète continuent de s'appuyer principalement sur l'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques.

De ce fait, la recherche de substances naturelles est un thème porteur depuis quelques années et l'industrie pharmaceutique moderne qui est toujours à la recherche de nouveaux composés actifs en vue de les exploiter et les utiliser à des fins utiles, s'inspire encore largement de métabolites secondaires végétaux tels que les polyphénols, les alcaloïdes et les huiles essentielles(Gurib, 2006).

Les plantes de la famille des poacées sont des sources d'antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médical. Elles sont utilisées comme antihypertenseur, antidiabétique, anti-inflammatoire, vermifuge, antiulcéreux, diurétique et antioxydant (Fatima *et al*., 2018).

Dans notre pays et dans bien d'autres, le millet perlé(*Pennisetumglaucum* L.)est utilisé de génération en génération pour traiter et prévenir la fragilité osseuse et les fractures. Un large champ d'investigations est à entreprendre pour découvrir et exploiter les vertus de cette graine (Kaddafi*et al*., 2015).

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de millet perlé (*Pennisetum glaucum* L.) en principes actifs ainsi qu'à l'évaluation du potentiel antioxydant par différents tests colorimétriques et ce dans le cadre d'une contribution à une meilleure connaissance de cette plante médicinale de la région d'Adrar.

De ce fait, la partie expérimentale de notre étude porte sur :

- ✓ Des analyses phytochimiques préliminaires qui ciblent différentes familles de métabolites secondaires.
- ✓ La quantification de polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés.
- ✓ L'évaluation du pouvoir antiradicalaire par différents tests : DPPH, FRAP et ABTS.

Partie 1

Revue bibliographique

Chapitre I

La plante médicinale

I.1. Historique

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et survie de l'humanité. Elle sont un patrimoine sacré et précieux et constituent une réponse de choix pour fournir à l'organisme, de façon naturelle, les substances nécessaires pour maintenir son équilibre vital (Adouane,2016).

I.2.Définition des plantes médicinale

Les plantes médicinales (PM) sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins un partie possède des propriétés médicamenteuses (Sanago, 2006).

Les plantes médicinales sont des plantes dont un des organes (feuille, écorce) possède des vertus curative et parfois toxique selon son dosage. Les plantes médicinales sont les plantes utilisées en phytothérapie pour leurs principes actifs, elles peuvent être vendues en herboristerie, en pharmacie, avec ou sans prescription selon la réglementation du pays (Ramli,2013).

Les plantes médicinales sont utilisées par l'homme depuis prés de 7000 ans et que certains animaux les consomment aussi dans un but thérapeutique. Environ 35000 espèces de la plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne, les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important, Les espèces végétales d'intérêt médicinales sont impliquées dans différents secteurs à l'état brut ou sous formes d'huiles, extraits, solutions aqueuses ou organiques (Adouane,2016).

I.3. L'origine des plantes médicinale

Elle porte sur deux origine à la fois. En premier lieu les plantes spontanées dites (sauvage) ou (de cueillette), puis en second les plantes cultivées.

I.3.1. Plantes spontanées

Elle furent les seules utilisées autre fois et représentent encore aujourd'hui un pourcentage notable du marché. Leur répartition dépend du sol et surtout du climat. On peut répertorier les principaux facteurs influençant leur développement ci-après :

- Le sol : son influence sur la pousse des plantes est définie par ce que l'on nomme les

conditions édaphiques. Les plantules se développent efficacement et naturellement dans le sol qui leur est le plus favorable.

- Le climat: Les conditions climatiques exercent une part importante sur la répartition des plantes médicinales. C'est en fait un ensemble de plusieurs facteurs qui constitue le climat et ceux-ci vont donc permettre un développement plus ou moins poussé de la plante jeune.
- La température moyenne,mais aussi les écarts de températures: sont très importante pour la répartition des plantes médicinales(Chabrier,2010).

I.3.2 Les Plantes cultivées

Les plantes médicinales sont cultivées pour plusieurs avantages en effet évidents :

- Disponibilité des plantes sans besoin d'aller dans la foret pour détruire les espèces.
- Apports substantiels de revenus pour les paysans qui les cultivent.
- Disponibilité prévisible des plantes médicinales au moment voulu et en quantité voulue.
- Disponibilité et protection des plantes actuellement rares ou en voie de disparition dans la nature.
- Contrôle plus facile de la qualité, de la sécurité et la propreté des plantes.
- La teneur en principes actifs d'une plante médicinale varie avec l'organe considéré, mais aussi avec l'âge de plante, l'époque de l'année et l'heure de la journée.

  Il y a donc une grande variabilité dont il faut tenir compte pour récolter au moment le plus opportun (Sadallah & Laidi,2018).

I.4. Les modes de préparation des plantes médicinales

Les différents modes de préparations sont :

a. Infusion

Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes (Sofowora, 2010).

b. Décoction

On fabrique les décoctions en mélangeant le macérat et le solvant à température ambiante. On chauffe ensuite lentement le mélange ou on le fait bouillir pendant un laps de temps variable. D'une part, on ne peut préparer de décoction lorsque la chaleur détruit les ingrédients actifs. D'autre part, la chaleur peut accentuer les effets de certains ingrédients actifs. (Lori & Devan, 2005).

c. Macération

La macération est préparée en plaçant la matière végétale avec la totalité du liquide d'extraction dans un récipient fermé, et en le laissant reposer pendant 7 jours, en le secouant de temps à autre. Le contenu est alors filtré avant de presser le marc. Les extraits liquides ainsi obtenus sont mélangés. La préparation est clarifiée par précipitation ou filtration (Sofowora,2010).

d. Cataplasme

Le cataplasme s'obtient en broyant la plante fraîche et en l'appliquant ensuite la zone à traiter. Afin d'éviter que le cataplasme n'adhère (entre autres sur une plaie), il vaut mieux appliquer lui-ci à travers un morceau de gaze. Les plantes doivent être parfaitement propres avant d'être broyées, et doivent même être trempées dans une solution antiseptique neutre si elles doivent être appliquées sur une plaie et qu'elles ne sont pas elles-mêmes antiseptiques. On peut aussi faire des cataplasmes chauds, en utilisant des plantes cuites (Morigane, 2007).

e.Poudre

La poudre s'obtient en pulvérisant une plante, soit au moulin à café, soit au mortier et au pilon, avec du gros sucre en guise de meule (attention de retirer la masse de sucre pour le calcul des doses). Vous pouvez faciliter la pulvérisation en passant la plante au four à feu très doux pendant Quelques instants (Morigane, 2007).

e .Huile

On obtient l'huile en laissant macérer à température douce (voire tiède) pendant 3 semaines, la moitié d'un bocal rempli de plantes fraîches ou sèches ou de racines broyées, dans de l'huile remplissant le reste du bocal. Remuez de temps en temps le mélange, puis décantez le tout, et mettez l'huile dans un flacon. L'huile rancit vite, il faut donc en faire peu à la fois, et en refaire souvent (Morigane,2007).

I.5 Généralités sur *Pennisetum glaucum* L.

Les céréales sont consommées par l'homme depuis des milliers d'années et elles jouent un rôle important dans notre alimentation en tant que principale source d'énergie (Dias-Martins *et al.,* 2018).L'utilisation des céréales dans la préparation des aliments est en augmentation en raison du fait qu'elles contiennent des composés phytochimiques dotés de bienfaits nutritionnels (Owheruo *et al.,* 2019).

Le mil est une céréale cultivée depuis plus de 3500 ans dans tout le Sahel et les pays tropicaux d'Afrique de l'Ouest. Originaire du Niger et du Mali, sa culture s'est diffusée en

Afrique équatoriale puis vers l'Inde, notamment grâce à une adaptation génétique à différents climats, un des facteurs clés de la domestication et de la diffusion des plantes cultivées(Vigouroux, 2009).En Algérie sa culture est surtout répandue au Sud-ouest du pays. Dans la région d'Adrar, il est anciennement cultivé partout dans les oasis de différentes régions (Touat, Gourara et Tidikelt) (Rahal-Bouziane*et al.,* 2006).

I.1.5.Nomenclature de *Pennisetum glaucum* L.

Le mil est connu sous différents noms vernaculaires dans le monde.

En arabe : نبات البشنة (الذخن)

En français : mil a chandlle.

En anglais : pearl millet.

I.2.5. Taxonomie

Le terme « *mil* » regroupe un ensemble de graminées alimentaires qui ont pour caractéristique commune la petitesse de leurs grains.

Le mil appartient au genre *Pennisetum*, famille des *Poaceae* (Gramineae), sous famille *Panicoideae* et tribu des *Paniceae*. Le genre *Pennisetum* est constitué par 140 espèces et sous-espèces qui sont reparties dans les régions tropicale et subtropicale. Il est divisé en cinq sections (Brunken, 1977 ; Pernès, 1984; Tostain & Marchais, 1994; Do, 1993; Hacker, 1995; Bezançon *et al.,* 1997; Rai *et al.,* 1997).

Selon (Dabre, 2008), l'espèce *Pennisetum glaucum* L. appartient à la classification illustrée dans (Tableau 1) ci-dessous :

Tableau 1 : Taxonomie de *Pennisetum glaucum* L.

Règne	***Plantae***
Division	*Magnoliophyta*
Classe	*Liliopsida*
Ordre	*Cyperales*
Famille	*Poaceae*
Sous famille	*Panicoidae*
Section	*Pennicillariae*
Genre	*Pennisetum*
Espèce	*Pennisetum glaucum L.*

I.6 Description botanique

Le millet est une graminée annuelle. C'est l'unique espèce diploïde avec x =7 (2n = 14 chromosomes)(Tostain & Marchais, 1993).C'est une plante bisexuée, hermaphrodite, allogame préférentielle grâce à une protogynie prononcée (Andrews *et al.,* 1993 ; Do, 1994). Le millet a un port érigé et possède des tiges épaisses.Des racines adventices partent des nœuds de la base de chaque tige. Le tallage est important et peut aller jusqu'à 40 tiges par plante (Vietmeyer, 1996). Habituellement, il a une croissance rapide et atteint une hauteur moyenne de 1,5 à 3 m (Figure 1). La plante développe des panicules cylindriques compactes de 2 à 3 cm de large et 15 à 60 cm de long capable de produire entre 500 et 2000 graines par panicule. Ses graines sont de forme ovale, semblable à une perle, d'où il tire son nom. Les grains mesurent de 3 à 4 mm de long et sont nettement plus gros que les autres espèces de millet. En général, 1 000 graines de millet perlé ont un poids moyen de 8 g, soit près de trois fois le poids du millet commun (FAO, 1995 ; Dias-Martins *et al.,* 2018).

Figure 1 : *Pennisetum glaucum* L.

(Photo prise dans une exploitation à Tsabit Wilaya d'Adrar)

I.7 Répartition géographique

L'Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) estime que les pays en développement surtout en Afrique et en Asie produisent 94% de la production mondiale du millet, estimée à 28 millions de tonnes. A l'échelle du continent Africain, la production de millet est estimée à 70% et elle provient de l'Ouest dont les principaux pays sont, par ordre d'importance décroissante : le Nigeria, le Niger, le Burkina, le Tchad et le Mali, la Mauritanie et Sénégal. L'Est assure également une grande partie de la production notamment le Soudan et l'Ouganda. Le mil est cultivé pour la production de grains, essentiellement en Inde et en Afrique de l'Ouest, ce qui constitue de loin son utilisation la plus importante. Il est cultivé pour la

production de fourrage, aux Etats-Unis s, en Australie et en Afrique du Sud, et des hybrides fourragers (Charrier *et al.,* 1997).

I.8. Composition chimique

Les grains de millet perlé peuvent être transformés et consommés comme ingrédients dans des aliments diversifiés. On les appelle « nutri-céréales » en raison de leur teneur élevée en protéines, fibres, minéraux et acides gras, ainsi que de leurs propriétés antioxydants (Dias-Martins *et al.,* 2018).

La composition chimique est présentée dans le (Tableau 2) (Adeola & Orban, 1995).

Tableau 2 : Composition chimique des grains du mil à chandelle (Adeola &Orban, 1995).

Nutriment	Grains du millet			
	Mil variété A	Millet variété B	Millet C	Mil
Matière sèche %	89,08	90,12		
Protéine brute %	10,03	12,06		11,8
Energie brute %	4132,00	4307,00		353,0
Fibre %	3,84	3,62		1,9
Minéraux mg/kg				
Phosphore	3148,00	3343,00	0,00	339,0
Fer	40,00	51,00	0,003	9,80
Magnésium	1239,00	1351,00		114,0
Calcium	153,00	208,00	0,211	37,0
Acides aminés %				
Acide aspartique	0,83	0,91		
Acide glutamique	1,90	2,16		
Tyrosine	0,38	0,41		3,0
Valine	0,58	0,65		4,9

L'analyse comparative du mil à chandelle commercialisé au marché marocain et celui de la Tunisie (Tableau 3).

Tableau 3 : Composition en acides gras (%) de l'huile du Millet Marocain (Ben Mustapha *et al,* 2014).

Acide gras du mil	Acide gras du mil Marocain (%) (Ben Mustapha , 2014)	Acide gras du Tunisien(%)
Acide Palmitique	0,63	17,64
Acide Stéaritique	4,66	3,89
Acide Oléique	38,39	30,82
Acide Linoléique	36,61	45,78
Acide Linolénique	2,06	1,84

I.9 Utilisations de *Pennisetum glaucum* L.

La consommation de mil varie d'un pays à l'autre. Elle est plus élevée en Afrique, où le mil est une denrée de base essentielle. En Asie, l'utilisation du mil en alimentation humaine est importante dans certaines régions de l'Inde et de la Chine. Il est considéré comme un aliment très énergétique, nutritif, recommandé pour les enfants et les personnes âgées ou en convalescence et également les animaux (Claire, 2012).

Cette céréale est utilisée dans l'alimentation humaine et à l'alimentation animale pour la qualité de son fourrage(Govindaraj *et al.,* 2010 ; Upadhyaya *et al.,* 2007 ;Haussmann *et al.,* 2006). Dans l'alimentation humaine en Afrique et en Inde (Smith, 1996), les grains de mil permettent de préparer de nombreux plats traditionnels. Cultivé en Côte d'Ivoire sur une superficie de 95000 ha pour une production annuelle de 66000 t, le mil est transformé en couscous, beignets, tôh, bouillie, bière et autres préparations (Béninga, 2007).

Ils sont également un aliment alternatif pour les cœliaques et les personnes sensibles au gluten (Dias-Martins *et al.,* 2018).

Il y a peu d'autres formes d'utilisation du mil. De petites quantités d'éleusine sont utilisées par des brasseries commerciales (Claire, 2012).

Figure 2 : Aliments locaux traditionnelles à base de millet perlé. a) Fura, Nigeria ; b) Porridge, Nigeria. c) Ladoo, Inde. (Adebiyi *et al.,* 2016), (Filli *et al.,* 2013).

I.10 Propriétés biologiques de *Pennisetum glaucum* L.

De nombreuses études ont montré que les graines de céréales contiennent des composés variés tels que les β-glucanes, les lignanes et les phytostéroles qui jouent un rôle important dans la prévention des cancers du sein, de la prostate, du cancer colorectal et d'autres cancers (Kaur *et al,* 2012).

Les grains du mil grâce à leur richesse en phénols et en flavonoïdes sont dotés d'effets antioxydant et anti-inflammatoire manifestes (Kaddafi *et al,* 2015).Les activités anti-oxydantes et anti-inflammatoires sont essentielles dans le traitement et la prévention de la sénescence, des cancers... Il a été démontré que l'activité antioxydante des composés phénoliques du millet joue un rôle important contre la peroxydation des liposomes induite par la lumière UVA (Chandrasekara & Shahidi, 2011). Les bioactivités de ces plantes peuvent être attribuées aux différents composants phénoliques et des ions ferreux trouvés dans les extraits des grains du mil à chandelle (Chandrasekara & Shahidi, 2011).

Ont rapporté que la consommation des grains entiers des millets montrent un intérêt thérapeutique contre l'athérosclérose, le choc ischémique, le diabète et l'insulinorésistance (Nani *et al.,* 2011),avec un effet hypothyroïdien (Nagarathna & J, 2013).

De plus, l'apport élevé en fibres céréalières est constamment associé à une diminution du risque de développer le diabète (Willet *et al.,* 2002).

Chapitre II

Les métabolites secondaires

II.1. Définition

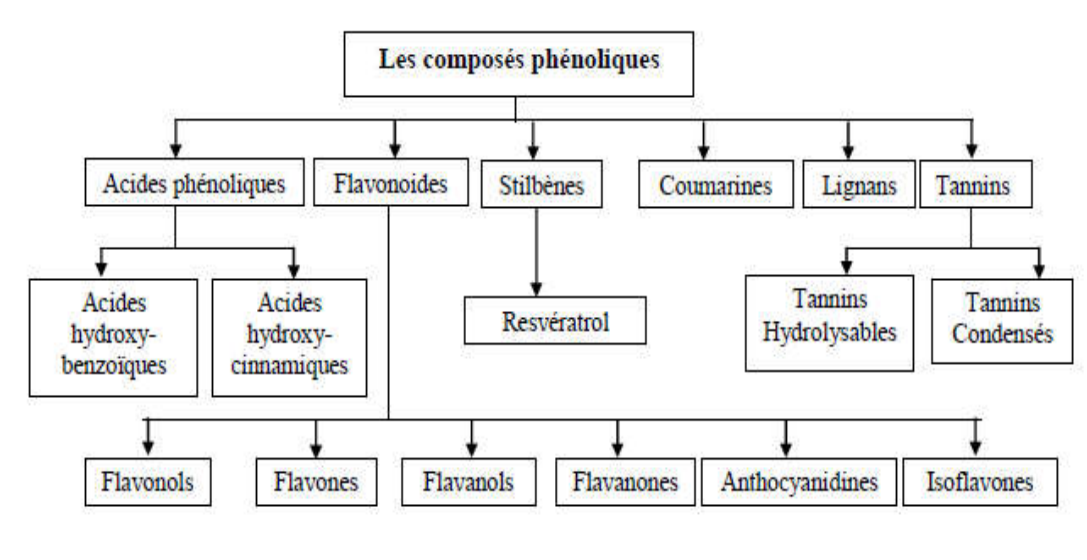
Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophies (Boudjouref, 2011). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (Newman & Cragg, 2012).

Les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois grande classe : Les composés phénolique, trepénoïdes , stéroïdes et alcaloïdes (Hennebelle et *al* .,2004).

II.1.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal.(Yusuf,2006).

Caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside.etc (Bruneton,1999). La grande majorité de composés phénoliques dérivent de l'acide cinnamique formé par la voie du shikimate (Gorham,1977).



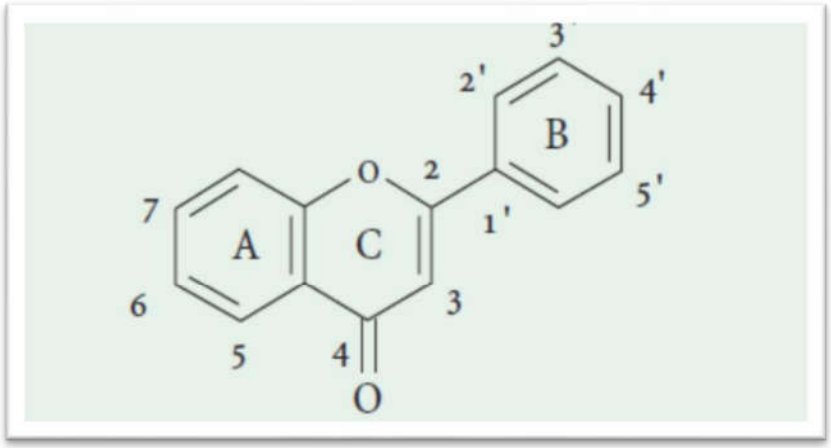
Différentes classes de polyphénols.

II.1.1.1.Acides phénoliques

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols, Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (Haslam,1994).Ces composés sont dérivés de deux sous groupes distingués les acides hydroxycinnamiques et les acides hydroxybenzoïques (Yezza& Bouchama,2014).

II.1.1.2.Flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, ‹‹jaune›› en latin) désigne une très large gamme decomposés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz ,2006).Ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires.(Havsteen,2002). La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de dégrée d'hydroxylation et de méthoxylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (Yao et *al*., 2004).

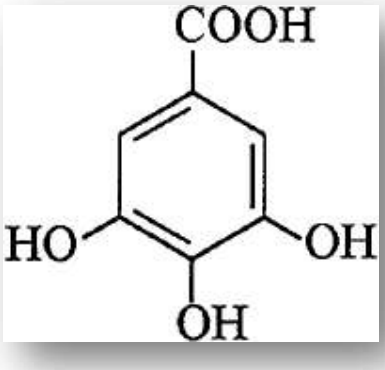


Structure de base des flavonoïdes (Ghedira,2005).

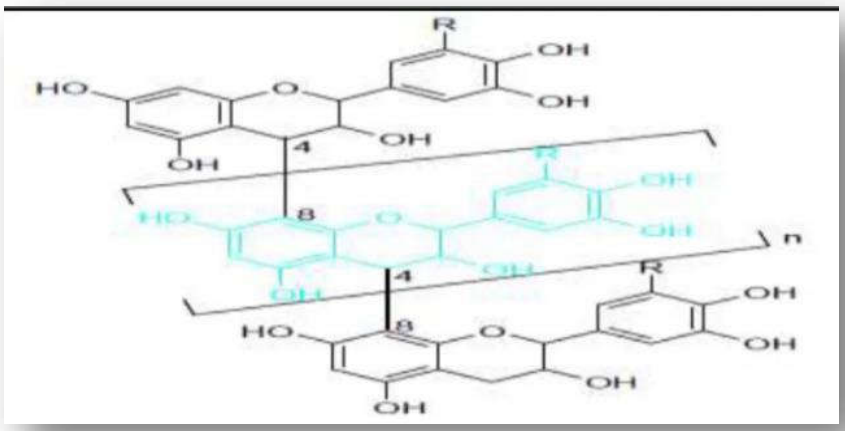
II.1.1.3. Tanins

Ce sont des composés phénoliques capables de se lier aux protéines en solution et de précipiter (Silanikove et *al*., 2001). Grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (Khenaka,2011)et d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (Haslam,1998).

Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins : Tanins hydrolysables ce sont des esters de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique, associés à un polyol (habituellement le glycose) (Clifford,2000).Les tanins condensées Résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavanes (flavanes ol-3, flavane ol-4, flavane diol –3,4) .Ils sont désignés aussi sous le nom de tanins « catéchiques ». Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes de végétaux, Gymnospermes et fougères compris (Sereme et *al.,* 2010).



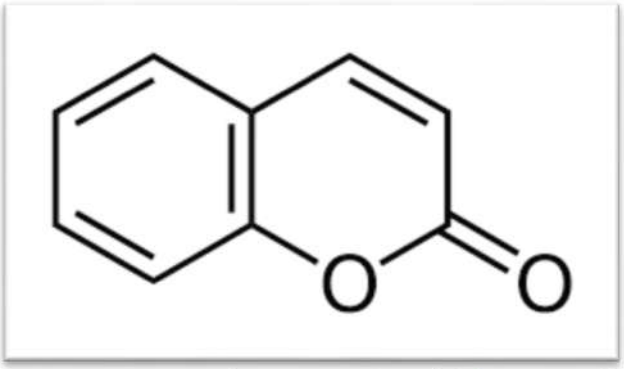
Structure chimiques de l'acide gallique (Bruneton, 2009).



Structure générale des tanins condensés (Gilbert & Norris, 1968).

II.1.1.4. Coumarines

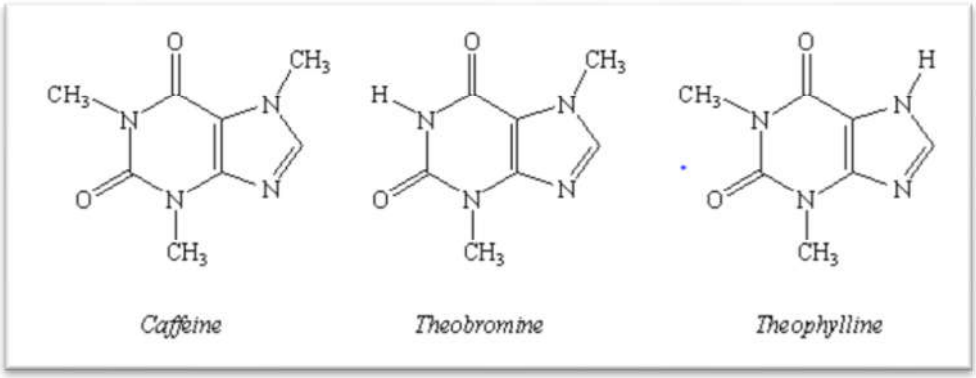
Ce sont des substances naturelles, organiques et aromatiques constituées de neuf atomes de carbone caractérisées par le noyau 2H-1- benzopyrane-2-one(Mpondo et *al*., 2015). Elles existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau (Bruneton,1999).



Structure des coumarines (Richter,1993)

II.1.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote (Schauenberg&paris ,2005).de propriétés pharmacologiques marquées. A l'état naturel, ils sont généralement salifiés par les acides organiques ou combinés à des tanins (Bruneton ,2009).les alcaloïdes présentent diverses activités à faible dose, analgésiques , anesthésiques locaux , antibactérienne , anticancéreuse (Hocquemiller et *al.*, 1982).



Structures chimiques de quelques alcaloïdes (Bruneton,2009).

II.1.3. Les Terpènes

Le terme terpène inventé par Kekulé, vient de leur origine historique de l'arbre de térébinthe (Ayad,2008). Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones, ces composés sont d'origine végétale (Malecky,2005). L'unité de base des terpènes concerne les monoterpènes C_{10} (2 unités), les sesquiterpènes C_{15} (3unités), les diterpènes C_{20} (4 unités), les sesterpènes C_{25} (5 unités), les triterpènes et stéroïdes C_{30} (6 unités), les tetraterpènes C_{40} (8unités) et les polyterpènes (C_{10})n avec n>8(Richter,1993).

Chapitre III

Stress oxydant

III.1. Stress oxydant

Le terme de stress oxydant peut se définir par la rupture de l'homéostasie redox. C'est-à-dire qu'une surproduction d'espèces radicalaires, ROS, NOS etc., ou alors un déficit des mécanismes de défense antioxydantes (enzymatiques ou non), ou enfin la combinaison de ces deux phénomènes aboutit à une surexposition des molécules biologiques cibles vis-à-vis des réactions oxydatives dommageables (Scandalios, 2002).

Figure 9 : Le stress oxydant.

En effet, l'accumulation d'entités oxydatives hautement réactives est généralement cytotoxique. Ainsi, une installation chronique d'un stress oxydant, comme c'est le cas dans de nombreuses pathologies comme le cancer, le diabète, les maladies neuro-dégénératives etc., peut à terme provoquer d'importantes altérations cellulaires et tissulaires.

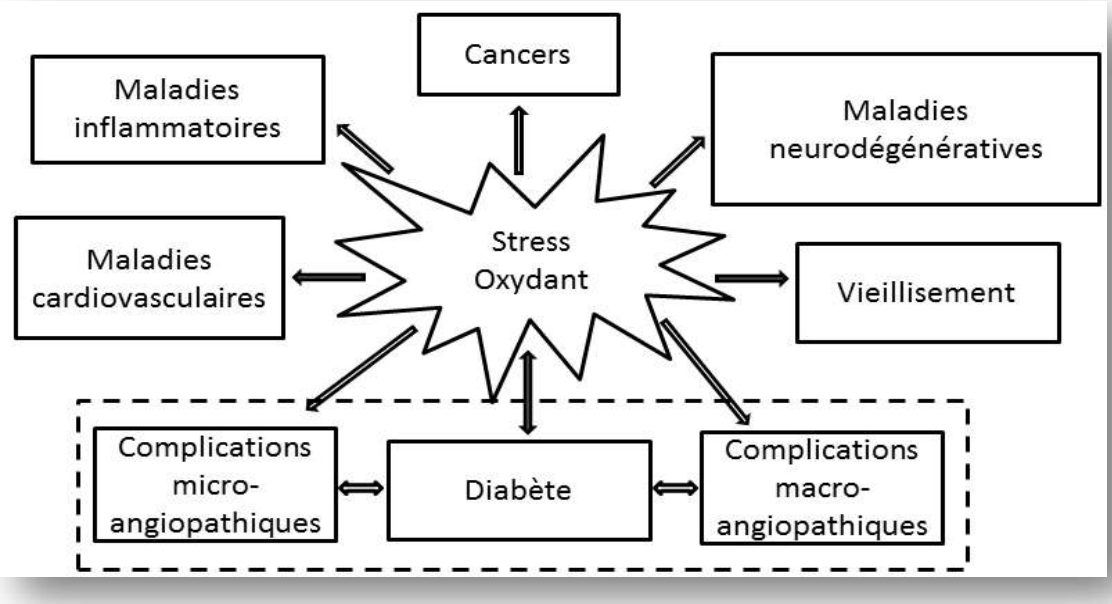


Figure 10 : Effet de stress oxydant au sein des pathologies.

III.2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont de type instable et/ou à forte force oxydante, de sorte qu'on peut les distinguer par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique externe. Parmi tous les types d'oxygène réactif **(ROS)**, on peut distinguer: les radicaux primaires, qui ont un rôle physiologique particulier, à savoir: l'anion superoxyde **($O2^{-}$),** le radical hydroxyle **(OH)**, le monoxyde d'azote **(NO),** et les radicaux peroxyle **(ROO)** et radical alcoxyle **(RO);**les radicaux secondaires, résultant de l'interaction de radicaux primaires avec des entités biochimiques cellulaires (lipides, protéines, glucides), tels que l'oxygène singulet$^{1}O_2$, le peroxyde d'hydrogène **(H_2O_2)** et le nitroperoxyde**(ONOOH)** (Favier, 2003).

III.2.1.Les espèces dérivées de l'oxygène

Les espèces dérivées de l'oxygène comme le peroxyde d'hydrogène, ne sont pas desradicaux libres mais elles sont aussi réactives et peuvent jouer le rôle des précurseursradicaux.

L'ensemble de ces radicaux libres et leurs précurseurs sont appelés des espèces réactives d'oxygène (*ERO*).

III.2.1.1 L'anion superoxyde (O_2^{-})

Il résulte de l'acceptation d'un électron par une molécule d'oxygène à l'état fondamental. Grâce à un catalyseur ou à un apport énergétique, il peut acquérir une charge négative et produire le super anion lorsque l'oxygène est apparié à l'un de ses électrons libres. 02 la durée de vie du radical superoxyde est de 10 à 2 secondes (Cano*et al*.,2007). In vivo, le superoxyde dismutase (SOD) se dégrade en oxygène et en peroxyde d'hydrogène.

III.2.1.2.Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

N'a pas un seul électron stable et le peroxyde d'hydrogène ne peut donc pas être considéré comme un radical (Reilly*et al*., 1990). Cependant, sa toxicité provient de son pouvoir oxydant et de sa capacité à produire des radicaux libres d'oxygène tels que les radicaux hydroxyles et l'anion superoxyde.

III.2.1.3. Radicaux hydroxyles (OH^{-})

Les radicaux hydroxyles sont des radicaux très réactifs (durée de vie 10-6 secondes) et hautement toxiques, ayant la capacité d'attaquer les structures organiques les plus stables à une vitesse constante très élevée (Reilly*et al*., 1990 ; Clavel*et al*.,1985).Le radical hydroxyle se formelors de la réduction du peroxyde d'hydrogène à partir de la pointe des métaux de transition, des traces ferreuses Fe(II), ou

Cu(II), pouvant conduire à la formation du radical hydroxyle par réduction du peroxyde d'hydrogène. "Réaction de Fenton" (Reilly*et al*., 1990 ; Clavel *et al*.,1985).

III.2.1.4.Les radicaux alkoxyle (RO) et peroxyle (ROO)

Sont produits par l'action des radicaux libres oxygénés sur les chaînes d'acides gras polyinsaturés. Leurs radicaux sont moins réactifs mais plus sélectifs que les radicaux hydroxyles car ils permettent à la réaction en chaîne de se diffuser lors de l'oxydation des lipides (Emerik *etal*., 1986).

III.2.1.5.Oxygène singulet ($^1O_2$)

L'alimentation électrique (chaleur, rayonnement ultraviolet, gamma) peut faire passer l'oxygène de son état fondamental (état triplet $^3O_2$) à un état excité (état singulet, $^1O_2$) distinct avec une durée de vie très courte (10-6 secondes) (Laguerre *et al*., 2007).

III.3. Formation des radicaux libres

III.3.1.Formation intracellulaire

La production des ERO découle de plusieurs sources possibles mais est essentiellement d'origine enzymatique. Il s'agit principalement de la NAD(P)H oxydase membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire (Mazat et Ransac, 2010).

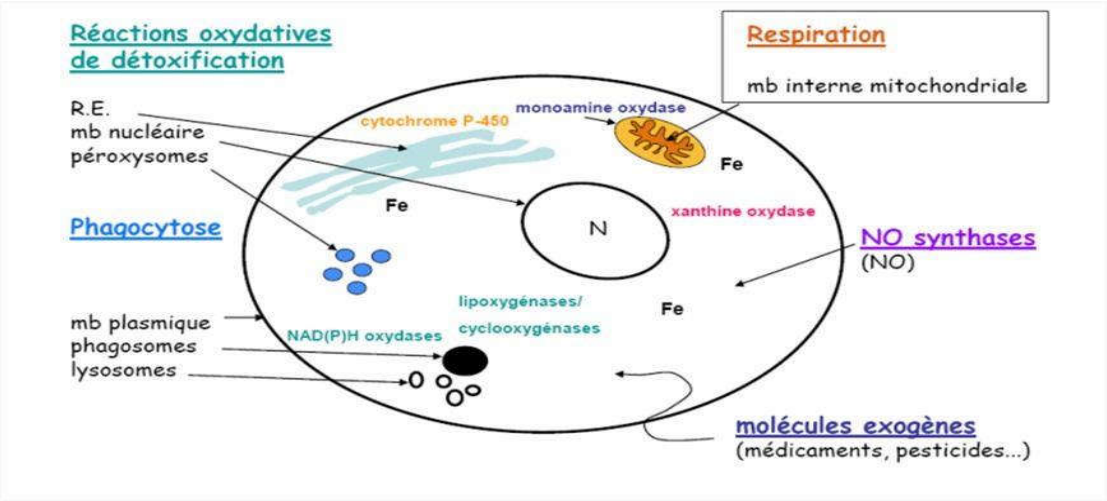


Figure 11 : Sites de production intracellulaire des radicaux libres (Serteyn *et al*., 2003).

III.3.2. Production extracellulaire

L'environnement et le mode de vie sont également responsables de la création et de l'accumulation des radicaux libres dans l'organisme. Les facteurs environnement auxincluant des agents cancérogènes non-génotoxiques peuvent directement, ou indirectement, être impliqués dans la génération de radicaux libres (xénobiotiques, activation desleucocytes,etc). Les rayonnements UV induisent la synthèse de l'$O_2^{\bullet-}$, OH•, $^1O_2$ et d'H_2O_2(John, 2014).

L'oxyde d'azote et le dioxyde d'azote présents dans le mode de vie (tabagisme,radiations ionisantes, champs électriques, polluants industriels, etc), ainsi qu'une alimentation «chimique » (raffinée, riche en graisses saturées et en sucre, consommation d'alcool, etc), sontautant d'éléments favorisant la genèse de radicaux libres (John., 2014).

III.4. Cibles biologiques des espèces réactives oxygénées

La surproduction des radicaux libres et des différentes espèces réactives produits à partir des sources endogènes et exogènespeut conduire au dommage des composants cellulaires et à l'altération des fonctions cellulaires, de plus les effets toxiques des radicaux libres peuvent conduire à la mort cellulaire. Les cibles biologiques des radicaux libres sont en grande partie les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Carocho *et al.*, 2018).

III.4.1. Lipides

Les lipides membranaires sont les cibles les plus susceptibles à l'action des ERO et des radicaux libres à cause de la présence des lipides insaturés ; l'acide linoléique et l'acide arachidonique (Zielinski et Pratt, 2017). L'abstraction d'un atome d'hydrogène à partir d'une molécule d'acide gras polyinsaturé initie le processus de la peroxydation lipidique. Un atome d'hydrogène est pris d'une deuxième molécule d'acide gras polyinsaturé résultant en un nouveau radical libre (Taso *et al.*, 2019). Ces radicaux peuvent déclencher une chaine de réactions de peroxydation au niveau des acides gras des phospholipides membranaires, conduisant à l'altération de la membrane et la perte de l'organisation de sa structure de bicouche lipidique qui est nécessaire à la fonction des enzymes liées et des récepteurs (Gavric *et al.*, 2017).

III.4.2. Protéines

Les radicaux libres sont capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes des protéines. Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH), dont le site actif contient le groupement Fe-S sontégalement très sensibles à l'inactivation par l'$O2^{\bullet-}$, les modifications structurales des protéines

et/ou l'altération de la fonction sont les conséquences majeures (Hematyar *et al.*, 2019).Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes, elles vont alors former des amas anormaux dans ou autour des cellules.Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzymes, canaux et récepteurs), et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (Rosenfeld *et al.*, 2018).

III. 4.3. Acides nucléiques

Les acides nucléiques sont des molécules très sensibles à l'attaque des ERO. L'attaque radicalaire se manifeste soit directement en entraînant l'oxydation des bases et engendrant un grand nombre de bases modifiées, soit elle cible la liaison entre la base et le désoxyribose créant un site abasique, soit cible le sucre lui-même créant une coupure de simple brin (Van Houten *et al.*, 2019).

Les lésions non réparées vont perturber les mécanismes de réplication de l'ADN et entraîner soit des erreurs de lecture et de synthèse par des ADN polymérases aboutissant à une mutation ponctuelle dans le génome, ou une impossibilité de copie de l'ADN qui aboutira à la mise en route du suicide programmé des cellules par l'apoptose.

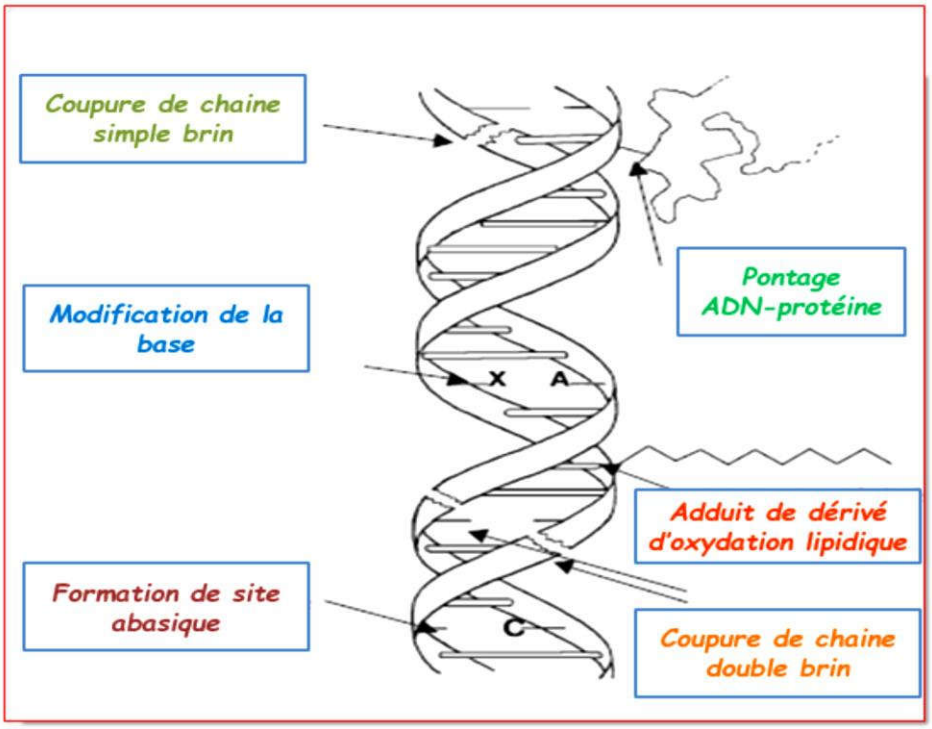


Figure12 : lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du composant génétique des cellules

III.5. Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les radicaux libres. Il comprend plusieurs

lignes de défenses qui visent à prévenir la formation des radicaux libres, les neutraliser quand ils sont déjà formés, réparer leurs dégâts et/ou prévenir les conditions favorables à leur formation, comme par exemple, en bloquant/séquestrant les atomes de fer, qui agissent comme des catalyseurs dans la formation de radicaux libres (réaction de Fenton). Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif (Dias, 2019).

Les antioxydants agissent de plusieurs manières. Leur mécanisme d'action peut être direct ou indirect, en tant que partie de la structure d'enzymes et/ou **cofacteurs** d'enzymes antioxydantes.

Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal (homéostasie physiologique).

III. 5.1. Antioxydants enzymatiques

a. Superoxyde dismutase (SOD)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde par une réaction de **dismutation**, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit trois isoenzymes:

La Cu/Zn-SOD$_1$cytosolique

La Mn-SOD$_2$mitochondriale

La Cu/Zn-SOD$_3$, qui diffère par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. La SOD$_3$ est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (Okado-Matsumoto & Fridovich, 2001 ; Sturtz *et al.*, 2001).

a.*Catalase (CAT)*

La catalase est une enzyme capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire(Ighodaro et Akinloye, 2018).Présente dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Les catalases sont localisées dans les peroxysomes, cette compartimentation l'empêche d'être un accepteur pour l'H2O2 formé dans le cytosol et les mitochondries (Awad *et al.*, 2018).

b. Glutathionperoxydase (GPx)

La (GPx) est une sélénoprotéine qui réduit respectivement le H_2O_2 et le ROOH en H_2O et ROH, et oxyde le *glutathion réduit* (GSH) en *disulfure de glutathion* (GSSG) (Benhar, 2018).

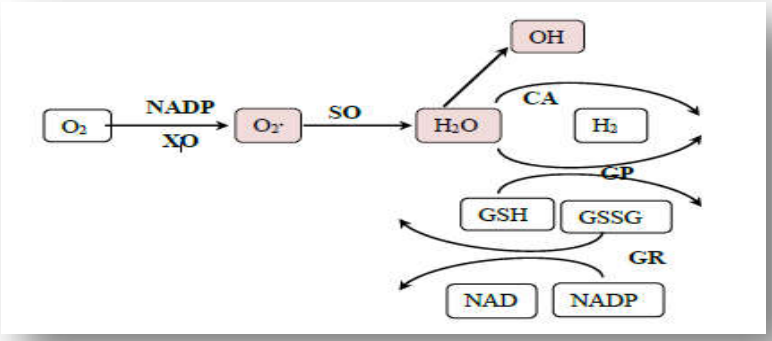


Figure 13 : Antioxydants enzymatiques

(Ulrich et Jakob, 2019).

III.5.2. Antioxydants non enzymatiques

a. Les polyphénols

Les polyphénols végétaux attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétésantioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydationlipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxyles. Ils sont aussi capables depiéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices. Les polyphénols ont une activitéantioxydant importante, plus élevée par exemple que celle de la vitamine E (Delattre *et al*., 2005).

b .*La vitamine C*

La vitamine C Appelée aussi l'acide l'ascorbique, c'est un antioxydant hydrosoluble, qui se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire. Elle peut piéger directement l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, le radical hydroxyle $HO^{\bullet}$, l'oxygène singulet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase (Evans, 2000). En plus, elle permet régénération de la forme non radicalaire de la vitamine E. La vit C a notamment un rôle antioxydant au niveau des tissus oculaires, en particulier la rétine, où elle participe à la dégradation du l'H_2O_2 (Ohla *etal.*, 2005). Elle peut recycler l'α-tocophérol pour aider à prévenir l'oxydation des lipides (Chandan *et al*., 1994). L'acide ascorbique peut agir en tant qu'un antioxydant seulement en absence de métaux de transitions sous forme libre (Evans, 2000).

c.Les caroténoïdes

Sont des pigments liposolubles jaunes, orangée à rouge, synthétisés par les plantes et les microorganismes. En plus de leur activité de provitamine A, les caroténoïdes sont généralement de bons capteurs des radicaux hydroxyles et peroxyles ce qui les rend susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique (Zuluaga *et al.*, 2017). En outre, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capter l'oxygène singulet ($^1O_2$) en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (Eggersdorfer et Wyss, 2018).

d.La vitamine E

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols (α, β, γ, δ) et les tocotriénols (α, β, γ, δ) D'un point de vue biologique, l'isomère α-tocophérol est le plus active, son caractère hydrophobe lui permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où il joue un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxyles ($ROO^{\bullet}$) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique.

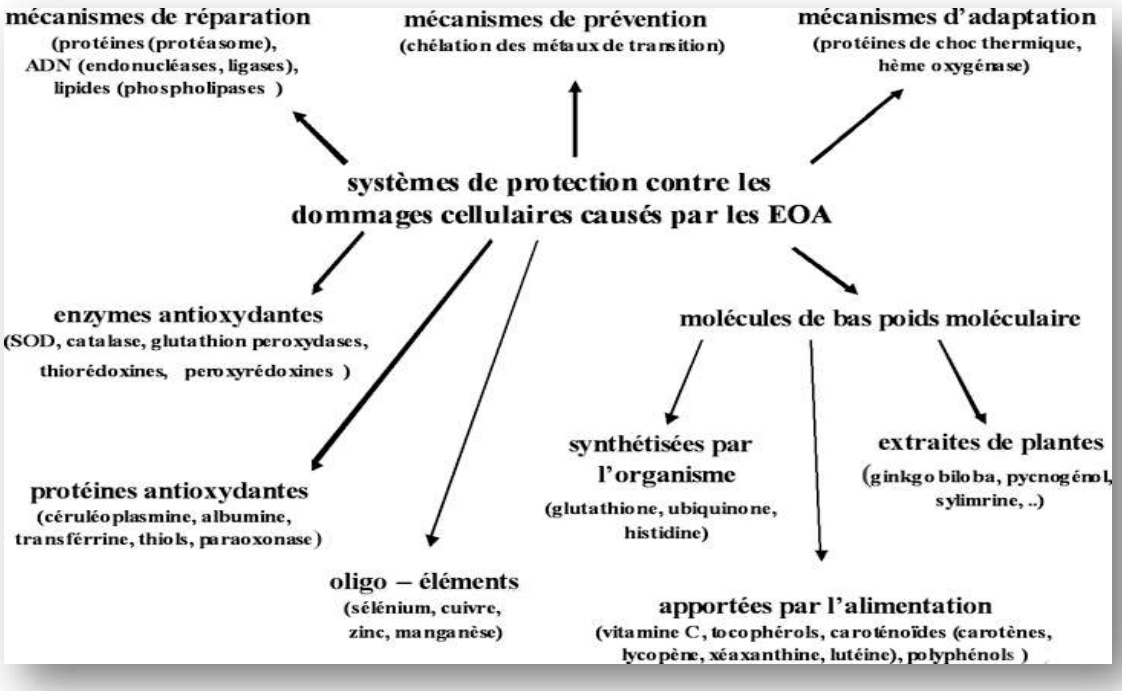


Figure 14 : Réseau des antioxydants (Defraigne et Pincemail, 2008).

III.6.Techniques d'évaluation du potentiel antioxydant des composés naturels

Parmi ces méthodes, on peut citer, TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power), DPPH (Radical Scavenging Capacity Assay). Selon le radical utilisé, la réaction a lieu avec des cinétiques plus ou moins rapides. Dans le cas du DPPH, une durée importante est nécessaire pour aboutir à l'épuisement des antioxydants par leur oxydation, témoignant ainsi d'une cinétique très lente. Dans l'exemple du radical cation $ABTS^{\bullet+}$, impliqué dans la méthode TEAC, en quelques minutes, la majorité des molécules antiradicalaires ont réagi, rendant cette technique très appréciable de par sa rapidité. En revanche, les essais basés sur l'ET reflètent en réalité la capacité réductrice des molécules, ne décrivant qu'une partie du mécanisme anti-oxydant possible (Huang*et al.*, 2005).

Toutefois, toutes ces méthodes basées sur la mise en évidence d'une réactivité chimique ne suffisent pas pour confirmer une bio-activité. En effet, il est indispensable de confirmer l'activité biologique par d'autres méthodes adaptées utilisant des modèles biologiques *in vitro* et/ou *in vivo*.

Partie2

Revue experimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

I.1 Le matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est les grains *Pennisetum glaucum* L. qui a été acheté du marché local. L'échantillon après nettoyage et séchage a été réduit en poudre puis stocké dans des flacons en verre à l'abri de l'humidité jusqu'à utilisation.

Figure15 : Grains (A) et poudre (B) de *Pennisetum glaucum* L.

I.2. Détermination du taux d'humidité

- **Principe**

La teneur en eau est la différence entre le poids de l'échantillon avant et après la dessiccation dans une étuve à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids pratiquement constant (Audigier *et al.*, 1980).

- **Mode opératoire**

2g de la matière végétale en poudre ont été étuvée (Memmert UF110) à 105°C pendant 3h puis refroidis dans un dessiccateur afin d'éviter toute reprise d'humidité.

Figure 16 : Refroidissement dans le dessiccateur.

Trois répétions ont été réalisées, dont la moyenne représenterait le taux d'humidité.

- **Expression des résultats**

Le taux d'humidité de exprimé en pourcentage, est calculé selon la formule suivante **:**

Taux d'humidité (%) = [(P2-P3) / (P2-P1)] x 100

Dont

P1 : Masse de la capsule vide en g.

P2 : Masse de la capsule avec l'échantillon avant séchage en g.

P3 : Masse de la capsule avec l'échantillon après séchage en g.

A partir du taux d'humidité nous avons pu déterminer le taux de la matière sèche qui est donné par la formule ci-dessous :

Taux de matière sèche (%) =100 - Taux d'humidité (%)

I.3Préparation de l'extrait

L'extraction a été effectuée selon la méthode décrite par (Liyana-Pathirana & Shahidi, 2006) avec de légères modifications.

✓ Elle consiste à faire une macération dans un système ternaire de solvants (méthanol-acétone-eau) (7 /7/6 V/V/V) sous agitation pendant 5h (Figure 17).

Figure17 : Macération de *P. glaucum* L. sous agitation.

- ✓ Ensuite, le mélange a été filtré puis dégraissé en utilisant l'hexane à volume égale, dans une ampoule à décanter (Figure17).
- ✓ La phase organique a été évaporée à sec à 45 °C.
- ✓ L'extrait sec est récupéré avec méthanol.

Figure 18 : Dégraissage du filtrat.

I.4.Criblage phytochimique

Afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux familles chimiques des métabolites secondaires, nous avons réalisé des tests phytochimiques spécifiques fondés sur des réactions de coloration, de turbidité ou de précipitations.

- **Détection des polyphynols**

2ml de l'extrait ont été mélangés avec quelques gouttes d'une solution alcoolique de $FeCl_3$ à 2% (Bidie *et al*., 2011).

- L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols (Bidie *et al*., 2011).

- **Détection des flavonoïdes**

Traiter une solution aqueuse de l'extrait avec une solution d'hydroxyde d'ammonium à 10% (Karumi *et al*., 2004).

- La fluorescence jaune indique la présence de flavonoïdes.

- **Détection des Tanins**

1ml de l'extrait a été mélangé avec 10ml d'eau distillée puis filtré. A 5ml de ce dernier, 3 gouttes de$Fecl_3$à 1% ont été ajoutées (Karumi *et al*., 2004).

- Un précipité bleu-noir ou vert confirme la présence de tanins galliques ou catéchiques respectivement.

- **Les Saponosides**

10ml de l'extrait est agité pendant 15 secondes dans un tube à essai puis laissé au repos pendant 15 minutes (N'Guessan *et al.*, 2009).

- Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1cm indique la présence des saponosides.

- **Détection des Terpénoïdes**

0,8 ml de chloroforme et 1,2 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés à 2 ml de l'extrait (Khan *et al.*, 2011).

- La formation d'un anneau marron-rouge indique la présence des terpénoïdes.

- **Détection des Quinones**

À 1g de poudre du matériel végétal on ajoute 10ml de chloroforme et on chauffe pendant 5min au bain marie. Le filtrat obtenu est complété à 10ml par le chloroforme. 1ml de l'extrait chloroformique est agité en présence de 1ml d'ammoniaque dilué à 50% (Bekro *et al.*, 2008).

- Une coloration allant du rouge ou violet indique une réaction positive.

- **Détection des alcaloïdes**

Les alcaloïdes ont été testés en utilisant 0,5ml de HCl à1% ajouté à 1,5 ml de l'extrait puis on ajout 3 gouttes du réactif de Wagner (Maria John *et al.*, 2015).

Réactif de Wagner :

Iodure de potassium …. 2g

Iode……1 ,27g

ED……..……100ml

- Un précipité crème indique la présence des alcaloïdes.

- **Détection des Coumarines**

Mettre environ 1g de l'échantillon humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec du papier filtre imbibé avec une solution de méthanol. Le papier filtre est examiné sous lampe UV (254nm) (Dolron *et al.*, 2003).

- Une coloration de jaune fluorescent indique la présence des coumarines.

- **Détection des Anthocyanes**

Quelques gouttes d'ammoniaque (dilué ½) sont ajoutées à 5ml d'infuser (Mawyrbékoua Békro *et al.*, 2008).

- La réaction donne une coloration bleue en présence d'anthocyanes.

- **Détection des huiles et graisses fixes**

Ajouter quelques gouttes de solutions alcooliques d'hydroxyde de potassium 0,5N à une petite quantité d'extrait avec une goutte de phénolphtaléine. Ensuite, chauffer le mélange au bain-marie pendant 2 h (Kokate, 1999).

- La formation de savon ou la neutralisation partielle d'alcali indique la présence des huiles et graisses fixes.

- **Détection des Stérols et polyterpènes**

5ml d'extrait est évaporé. Le résidu est dissout à chaud dans 1ml d'anhydride acétique, puis reprit dans un tube à essai dans lequel sont ajoutés 0.5 ml d'acide sulfurique concentré (Edeoga *et al*., 2005).

- L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive.

I.5. Dosage quantitatif des métabolites secondaires

I.1.5 Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

Les polyphénols totaux ont été déterminés selon la méthodes de Folin-Ciocalteu décrite par Li *et al*, (2006).

- **Mode opératoire**

- À0,5 ml de l'extrait nous avons ajouté 2,5 ml du réactif Folin-Ciocalteu dilué (1/10), ensuite 2 ml de Na_2 CO_3 à 7,5% ont été ajoutés.
- Le mélange est agité et incubé à l'obscurité pendant 1h à 20°C. Puis les absorbances ont été mesurées à 765nm.
- La courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant une gamme de concentrations d'acide gallique allant de 0,024 - 0,21 mg/ml.
- La teneur en polyphénols a été exprimée en milligrammes équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (Slinkard & Singleton, 1977).

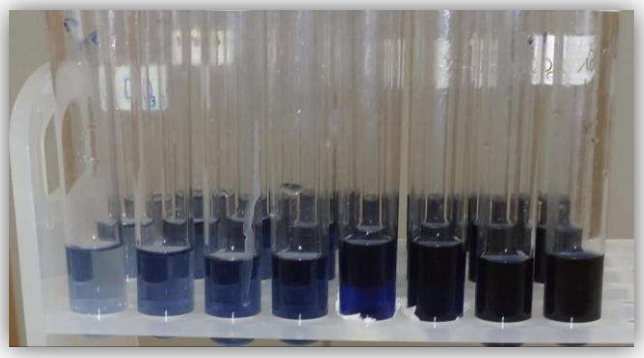


Figure19 : La gamme d'étalonnage des polyphénols

I.5.2. Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le chlorure d'aluminium AlCl3 avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle (C=O) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs, AlCl3 peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes (Chang *et al.,* 2002).

- **Mode opératoire**

➢ Un volume de 250 µl d'extrait à concentration définie est mélangé avec 1,25ml eau distillée et 75 µl d'une solution de $NaNO_2$ à 5%.

➢ Le mélange est incubé pendant 6 minutes à température ambiante,

➢ Auquel on ajoute ensuite 150 µl d'une solution de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 10%.

➢ Un deuxième temps de repos (5 minutes) est nécessaire avant d'ajouter 500 µl de NaOH (1M).

➢ Le volume final est porté à 2500µl et est soigneusement mélangé. L'absorbance est immédiatement lue à 510 nm.

➢ Une gamme étalon à la catéchine (à des concentrations de 0 à 800 µg/ml) est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires (Dewanto *et al.,* 2002).

Figure20 :La gamme d'étalonnage des flavonoïdes.

I.5.3. Dosage des tanins condensés

- **Principe**

Cette méthode est basée sur la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés qui va engendrer la formation de complexes rouges (Schofield *et al.,* 2001). Ces complexes rouges sont formés grâce à la capacité de la vanilline à transformer les tanins en anthocyanidols (Sun *et al.,* 1998).

- **Mode opératoire**

✓ 400 µL d'extrait sont mise dans des tubes, auxquels sont ajoutés 3000 µL de réactif vanilline (4% de vanilline dans le méthanol).

✓ 1500µL d'acide chlorhydrique concentré à 37% sont ensuite ajoutés.

✓ Le mélange bien agité est incubé à l'obscurité pendant 20 min à température ambiante

✓ Gamme d'étalonnage la solution mère est préparée comme suite :

✓ 5 mg de catéchine sont pesés, puis mélangés avec 10 ml du méthanol à 99,6%

✓ A partir de cette solution mère, nous avons préparé des dilutions filles suivantes : 0,5- 0,45 - 0,4 - 0,3 - 0,2 - 0,1 - 0,05 mg/ml.

✓ La lecture de l'absorbance des différentes concentrations est faite contre un blanc à 500 nm (Julkunen-Titto, 1985).

Figure 21 : La gamme d'étalonnage des tanins condensés

I.6.Evaluation du potentiel antioxydant

I.6.1. Test DPPH (2.2'-diphényl-1-picrylhydrazyl)

- **Principe**

Le DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), est un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517nm. Cette couleur disparait rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entrainant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sánchez-Moreno, 2002).

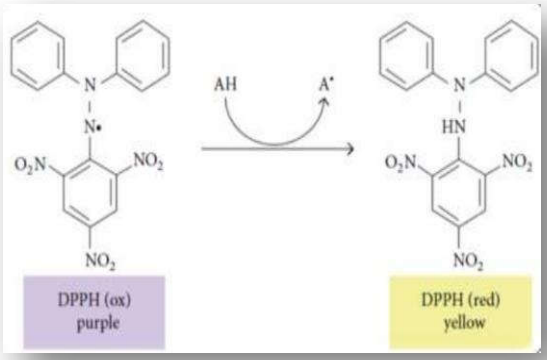


Figure 22 : Réduction de DPPH (Teixeira *et al.*, 2013).

- **Mode opératoire**

Une solution méthanolique (100µl) de chaque extraits à différentes concentrations (0,4-0,3-0,2-0,1-0,05-0,025-0,0125) mg/ml est ajoutée à 2 ml de la solution méthanolique de DPPH à 2,5 mM. L'absorbance est mesurée à 517 nm après 30 minutes d'incubation à l'abri de la lumière et à 37°C. un témoin négatif (sans extrait). Le % d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

A partir de l'extrait brut , préparer une solution mère de 0,5 mg/ml (Nicklisch & Waite, 2014).

PI (%) = (DO témoin – DO extrait / DO témoin) × 100

Dont

- **PI :** pourcentage d'inhibition (%).
- **DO témoin:** densité optique du témoin négatif.

• **DO extrait:** densité optique de l'extrait

Figure 23 : Pouvoir antioxydant de l'extrait (test DPPH).

I.6.2. Test de FRAP

• **Principe**

La méthode FRAP est basée sur la réaction de réduction de fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe K3Fe(CN)6 en fer ferreux (Fe^{2+}) par un antioxydant, la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) à la couleur bleue - vert du fer ferreux (Fe^{2+}). L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm (Chung *et al.,* 2002).

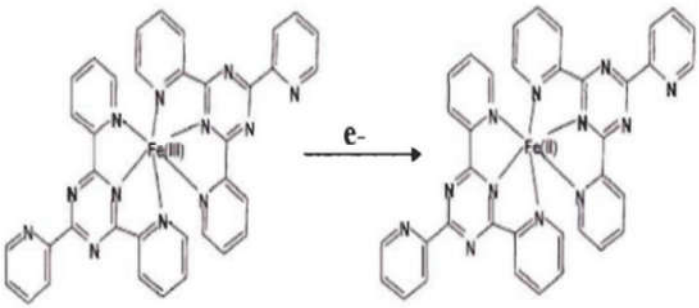


Figure 24 : Réduction de fer (Prior *et al.,* 2005).

• **Mode opératoire**

✓ Prélever 0,5 ml de chaque extrait à différentes concentrations.

✓ Mélanger à 1.25 ml d'une solution tampon phosphate à 0,2 M (pH= 6,6) et 1,25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%.

✓ Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante.

✓ 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min.

✓ 1,25 ml du surnageant sont ajoutés à 1,25 ml d'eau distillée et 250 µl d'une solution de chlorure de fer ($FeCl_3$) à 0,1%.

✓ La lecture des absorbances se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 700nm.

✓ Le contrôle positif est représenté par une solution d'antioxydant standard, l'acide ascorbique l'acide gallique dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons (Oyaizu *et al.,* 1986).

Figure 25: Pouvoir antioxydant de l'extrait (test FRAP).

I.6.3Test ABTS

- **Principe**

Cette méthode ABTS est basée sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cationique ABTS+ (2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) de coloration bleu verte en le transformant en ABTS-H+ incolore, par un donneur d'hydrogène (Antolovich *et al.,* 2002).

- **Mode opératoire**

Ce test a été réalisé selon la méthode de Re et ses collaborateurs (1999) avec de légères modifications. Le radical libre $ABTS^{\cdot}$ présente une coloration bleu vert sombre, la réduction de ce dernier conduit à une décoloration du bleu de la solution $ABTS^{\cdot}$.

✓ On a préparé le radical ABTS en faisant réagir la solution ABTS (7 mM) avec du persulfate de potassium (2,45 mM).

✓ Puis laisser reposer le mélange à l'obscurité à température ambiante pendant 12 à 16 h avant utilisation.

✓ Pour le test, la solution $ABTS^{\cdot}$ a été diluée en utilisant le méthanol (80%) jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0,70 ± 0,02 à 734 nm.

✓ Après l'ajout de 2ml d'$ABTS^{\cdot}$ dilué à 80µl d'échantillon, la lecture de l'absorbance a été prise 5 min après le mélange initial.

✓ Le contrôle positif est représenté par des solutions d'antioxydants standards (trolox et l'acide ascorbique) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que l'échantillon.

✓ Cette activité est donnée en pourcentage d'inhibition du radical ABTS$^{\cdot}$, qui est calculé selon

la formule suivante :

$$PI\ (\%) = (A0 - A_E)/A0 * 100$$

Dont

PI: Pourcentage d'inhibition du radical ABTS.

A_0:densité optique du blanc.

A_E: densité optiquede l'extrait (EPG).

Figure 26 : Pouvoir antioxydant de l'extrait (test ABTS).

Chapitre II

Résultats et discussion

II.1.Détermination du taux d'humidité

L'appréciation de la teneur en matière sèche repose sur la détermination du taux d'humidité contenue dans l'échantillon à analyser, cette humidité qui reste un indice très important, donne une idée sur la qualité de notre échantillon, elle accélère la germination et favorise le développement des microorganismes lors du stockage.

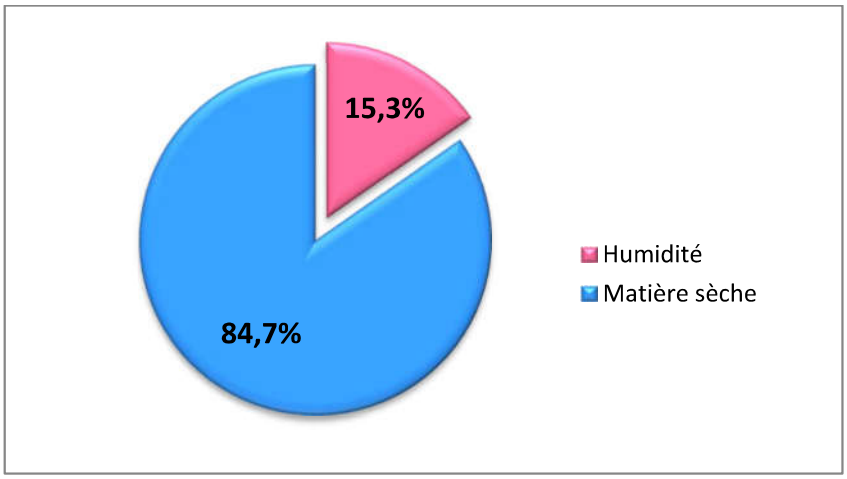


Figure 27: Teneurs humidité et en matière sèche des grains de *Pennisetum glaucum* L.

L'analyse du taux d'humidité du millet a révélé une proportion de 15,3 %à partir de cette valeur nous avons pu déterminer le pourcentage en matière sèche (MS) qui a été estimé à 84,7%.La teneur en eau trouvée dans notre échantillon, est légèrement supérieure à celle enregistrée par Obi et ses collaborateurs (2016) et Cerighelli (1955) avec des taux moyens de 11% et 12% respectivement. Cela est probablement lié à la date de récolte des échantillons.

II.2. Le rendement d'extraction

La préparation de l'extrait de notre échantillon a été réalisée en utilisant la méthode de macération dans un système de solvant ternaire (méthanol-acétone-eau). Le rendement est reporté dans le (Tableau 4).

Tableau 4 : Le rendement obtenu de l'espèce étudiée.

Echantillon	Rendement (%)
Grains de *Pennisetum glaucum* L. en poudre	**10**

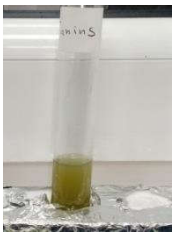
D'une façon générale le rendement d'extraction varie en fonction de différents facteurs tels que la température, solvant d'extraction et la composition en principes actifs (Nani, 2017).

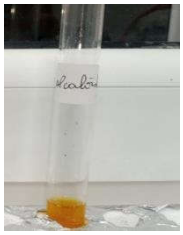
II.3.Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par des réactions de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés. Les résultats de ce criblage sont regroupés dans le (Tableau 5)

Dans les grains de millet, la recherche des polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes,saponosides, terpénoïdes, coumarines et composés réducteurs s'est montrée positive, hormis la détection des stérols, anthocyanes et quinones s'est avérée négative.

Tableau 5: Résultats decriblage phytochimique.

Groupes chimiques	Résultats	Observations
Polyphénols	++	
Flavonoïdes	++	
Tanins	++	
Saponosides	++	

Terpénoïdes	+	
Quinones	-	
Alcaloïdes	+	
Coumarines	+	
Anthocyanes	-	
Détection des huiles	++	

Stérols et poyterpènes	-	

++ Présence modérée, + Faible, - Absent.

II.4. Teneurs en métabolites secondaires

II.4.1.*Polyphénols*

L'estimation quantitative des polyphénols de l'extrait des grains de *P.glaucum*L., a été basée en se référant à la méthode de Folin Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent acide gallique par g de matière sèche (mg EAG/g MS). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation R^2= 0,9871 (Annexe).

À partir de la courbe d'étalonnage, on a enregistré une concentration de 2,27 ± 0,14 mg EAG /gMSen polyphénols totaux (Tableau 6) de l'extrait de *Pennisetum glaucum* L. par macération dans un système de solvant ternaire, cette teneur est supérieure à celle trouvée par (Sanna et *al.,* 2006) qui ont rapporté un taux de 1,387± mg EAG/g contenus dans l'extrait méthanolique des grains de millet originaire de Canada, aussi celle trouvée par Nani et *al.,* (2015) avec une teneur de 1,66 mg EAG/g.

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une espèce à une autre, cela peut être attribué aux facteurs climatiques et environnementaux (la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies (Ebrahimi et *al.,*2008). Aussi au patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement (Miliauskas et *al.,*2004) et enfin à la méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur en métabolites secondaires (Lee et *al.,* 2003).

Tableau 6 : Concentrations en métabolites secondaires.

Extrait	Polyphénols (mgEAG /gMS)	Flavonoïdes (mg EC/gMS)	Tanins condensés (mg EC /gMS)
EPG	**2,27 ±0,142**	**0,50 ±0,013**	**1,70±0,468**

Les valeurs représentent la moyenne ± Ecart type.

II.4.2.Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine avec un coefficient de corrélation R^2 = 0,9963. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent catéchine par g de matière sèche (mg EC/g MS) (Annexe).

L'extrait de millet renferme une quantité de 0,50 ± 0,013mg EC/g MS de flavonoïdes, cette teneur est inférieure en comparaison avec les résultats trouvés par Marmouzi et ses collaborateurs (2018) de différentes variétés des grains de millet du Maroc qui ont montré que les extraits sont riches en flavonoïdes avec des teneurs de 0,75 ±0,30 à 15,60 ±2,74 mg ER/g de poids sec.

Une étude faite sur l'extrait méthanolique des grains de millet de Nigeria, révèle une quantité en flavonoïdes de 0,34 mg/g (Ibidapo, et *al*., 2019).

Les grains de millet perlé sont considérés comme un aliment du pauvre et une source de composés bioactifs tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes (Nambiar et *al*.,2012).

II.4.3.Les tanins condensés

La teneur en tanins condensés a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage (la catéchine sert de standard) avec un coefficient de corrélation R^2 =0,990. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent catéchine par g de matière sèche (mg EC/g MS) (Annexe).

D'après les résultats obtenus (Tableau 6), on constate une teneur appréciable de tanins condensés estimée à 1,70±0,46 mg EC/g MS, Cette dernière peut être comparé avec la teneur enregistrée par Owheruo et *al*.,(2018) qui est de 0,88 ± 0,28 mg EC/g MS.

La différance entre les taux trouvés peut être dû au mode d'extraction et au solvant d'extraction utilisés.

Néanmoins, peu d'études se sont concentrées sur l'évaluation phytochimique et les activités biologiques de l'espèce *P.glaucum* L.

II.5.Pouvoir antioxydant

II.5.1.Test DPPH

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

L'activité antioxydante de l'extrait de millet vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par un virement de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517nm.

Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti - radicalaires (Majhenic et *al.*,2007).

D'après les résultats présentés dans la (Figure 28), on constate que la capacité de réduction du radical libre DPPH par l'extrait testé, la plus élevée (84,31 %) à une concentration de 0,5 mg/ml qui est comparable avec les antioxydants de référence utilisés (90% et 75,11%) pour l'acide ascorbique et l'acide gallique respectivement.

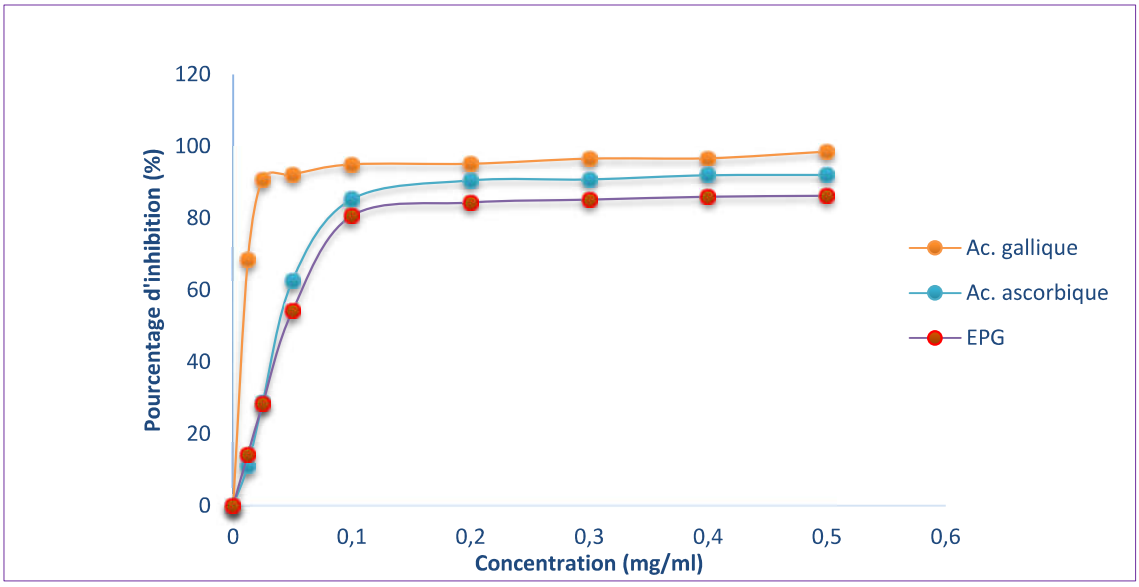


Figure 28: Activité antioxydante de l'extrait de *P.glaucum* L. avec les références utilisées.

Nos résultats révèlent que l'extrait des grains de *P.glaucum* L. possédé une bonne activité antioxydante qui présente une concentration d'inhibition de 50% de l'activité du radical DPPH (EC_{50}) de 0,045 mg /ml.

Tableau 7 : EC_{50} de l'EPG et les standards utilisés.

	Ac. gallique	Ac. ascorbique	EPG
EC_{50}(mg/ml)	0,013	0,040	0,045

Nous avons remarqué que les antioxydants de référence ont des capacités anti radicalaires différentes, d'ailleurs l'acide gallique se révèle l'antioxydant le plus puissant parmi les antioxydants de référence utilisés avec une valeur d'EC_{50} de 0,013 mg /ml et la vitamine C avec une valeur de 0,040 mg / ml.

Le suivi de la cinétique de la réaction (Figure 29) nous a permis de repérer l'extrait qui réagit rapidement avec le radical DPPH, nous avons remarqué que la couleur violette vire en fonction du temps et la diminution de l'absorbance est propotionnelle à la vitesse de la neutralisation du radical DPPH.

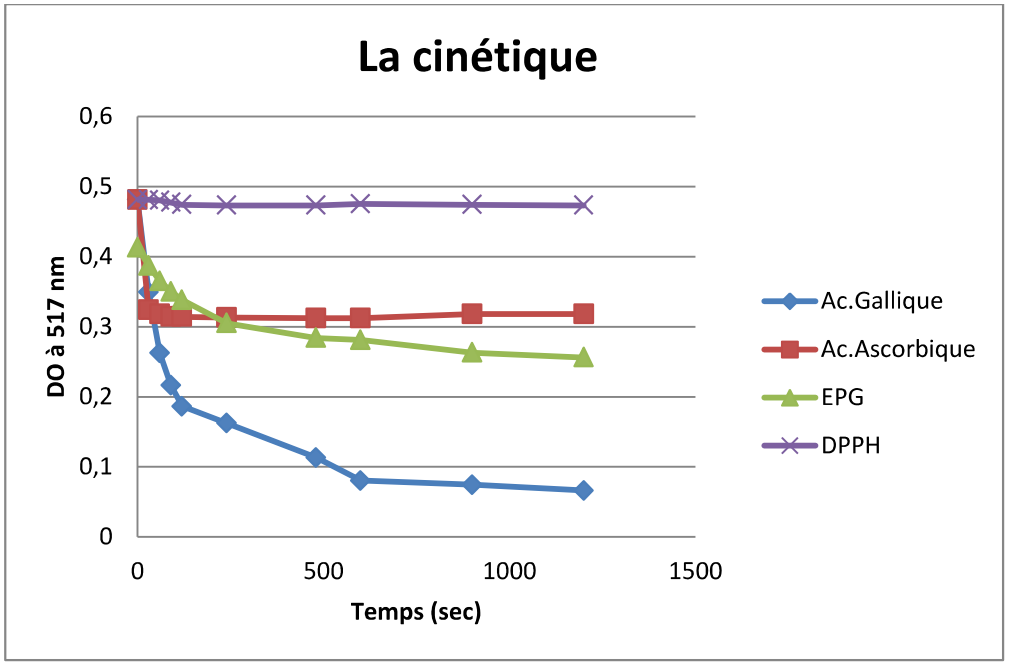


Figure 29 : Cinétique du piégeage du radical DPPH par l'extrait méthanolique.

Les composés phénoliques comme les flavonoïdes sont considérer comme les contributeurs majeurs à la capacité antioxydante des plantes (Li et *al*.,2007).La détermination de la teneur en phénols totaux et en flavonoïdes à partir d'extrait à base de plantes est nécessaire pour étudier le potentiel des plantes pour la prévention contreles maladies et est la première étape dans la détermination de l'activité antioxydante des extraits des plantes (Tosun et *al*.,2009).

Les métabolites secondaires semblent être de bons candidats pour l'activité antioxydante, du fait de la présence de nombreux hydroxyles pouvant réagir avec les radicaux libres (Zouhri et *al*., 2017).

II.5.2.Test de FRAP

Par ce test, on peut évalue la capacité d'un composé à transformer le Fe^{3+} en Fe^{2+}en donnant un électron. (Addab et *al*., 2020). Cette caractéristique constitue un important mécanisme du potentiel antioxydant, plus l'absorbance mesurée à 700 nm augmente plus le pouvoir réducteur de l'extrait est élevé.

La (Figure 30) ci-dessous montre les DO lues lors du test de réduction par l'extrait, l'acide gallique et l'acide ascorbique.

Visiblement l'acide ascorbique réduit plus rapidement et plus efficacement le ferricyanure de potassium, suivi de l'acide gallique puis notre extrait testé. L'activité réductrice de EPG, s'avère être intermédiaire, cela a été confirmé par l'étude effectuée par Marmouziet al.,(2018).

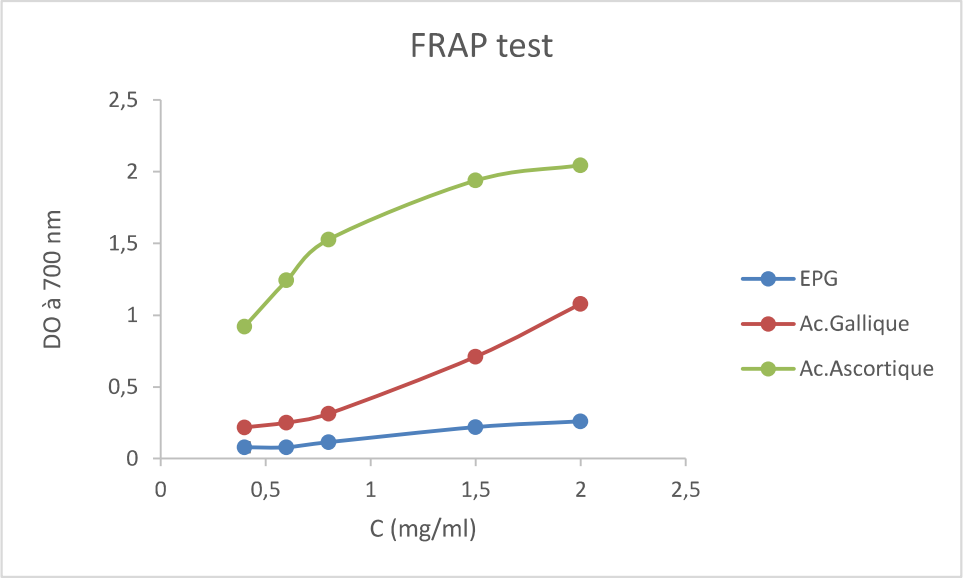


Figure 30 : Pouvoir réducteur sur le ferricyanure de potassium par l'extrait de *Pennisetum glaucum* L. et les étalons.

II.5.3.Test ABTS

Ces méthodes est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'$ABTS^{+}$. L'activité antioxydant de notre extrait vis-à-vis du radical $ABTS^{+}$a été apprécié selon le procédé spectrophotométrique en suivant la réduction de radical, celle-ci se traduit par un changement de couleur.

L'analyse qualitative et quantitative phytochimique de l'extrait des grains de *Pennisetum glaucum* L., présentait une activité antioxydante dépendante de la concentration sur le radical $ABTS^+$. Les résultats obtenuss ont présentés en pourcentage d'inhibition à différentes concentrations (0,00625 à 0,1 mg/ml), la vitamine C et le trolox sont utilisés comme standards de référence (Figure 31).

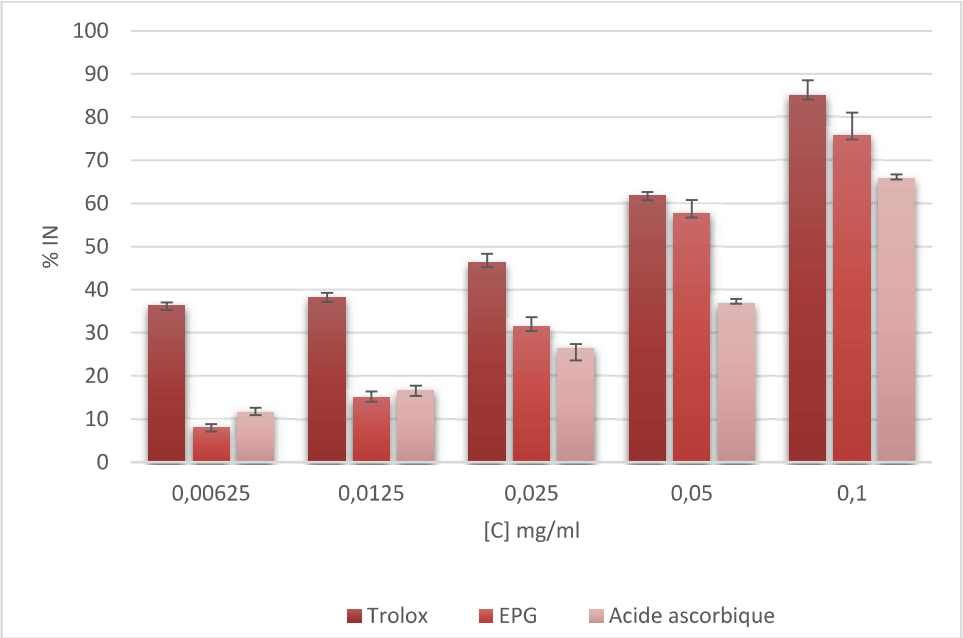


Figure 31 : Capacitéde piégeage des cations de l'ABTS des grains de millet.

On note que les grains de *P.glaucum* L. possèdent un pourcentage d'inhibition de radical $ABTS^+$ correspond à 75,86% ±5,17 à une concentration de 0,1 mg/ml.

L'extrait a présenté une activité intéressante dans le piégeage du radical ABTS. Cette activité anti radicalaire est attribuée aux teneurs élevées, dans l'extrait composés phénoliques, et en flavonoïdes et tanins. L'activité de l'extrait à piéger le piégeage l'ABTS, est lié probablement par la stéréochimie de la molécule ABTS qui est plane et facile à être neutralisé (Wasowski et *al*., 2013).

Conclusion

Conclusion

Les produits naturels sont et restent toujours une source inépuisable de structures complexes et diverses. Un grand nombre de plantes contiennent des substances actives ayant des propriétés thérapeutiques.

La présente étude a pour objectif d'évaluer la composition chimique et l'activité antioxydante par différents tests de l'espèce *Pennisetumglaucum*L.du SaharaAlgérien.

Des tests préliminaires ont permis de mettre en évidence différentes familles de métabolites secondaires contenus dans les grains de *P. glaucumL.*à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les coumarines, les terpénoïdes, les huiles et saponosides.

D'autre part, les dosages quantitatifs de polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés de l'extrait des grains préparé en utilisant un système ternaire de solvants (méthanol, acétone,eau), a révélé que ces grains renferment des teneurs appréciables de ces composés.

L'analyse du potentiel antioxydant *in vitro* de notre extrait par le test de piégeage du radical libre DPPH s'est montrée modérée avec une concentration inhibitrice (EC_{50}) de 0,045mg/ml. Nous avons également enregistré que les grains ont un pouvoir important de réduction de fer évalué par le test de FRAP et il 'est de meme pour le test de l'ABTS.

Il ressort de cette étude, que les grains de millet sont riches qualitativement et quantitativement de principes actifs qui sont douées d'activité antioxydante appréciable.

Il serait toutefois intéressant d'approfondir les investigations phytochimiques et biologiques de cette plante afin d'isoler les molécules responsables des activités biologiques ainsi la mise en valeur de l'exploitation de l'huile essentielle, ce qui permettra d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes.

Références bibiographiques

Références bibliograghique

A M. Dias-Martinsa, K F. Pessanhaa, SPachecob,J S. Rodriguesc, C W Carvalhob. 2018. Potential use of pearl millet (*Pennisetum glaucum(L.)* R. Br.) in Brazil: Food security, processing, health benefits and nutritional products. *Food Research International*: 109 :175–186.

Addab N., Fetni S., Hamlaoui F., Zerguine A., Mahloul K. 2020. Evaluation comparative de l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques des feuilles d'Olea europaea L. de l'Est Algérien. J Fac Med Or, Vol 4, N 2 (9).

Adebiyi, J., Obadina, A., Adebo, O., Kayitesi, E. 2016. Produits fermentés et maltés à base de millet en Afrique : Expédition d'aliments traditionnels/ethniques vers des produits industriels à valeur ajoutée. *Critical reviews in Food Science and nutrition* (juste acceptée), 00-00.

Adeola O., Orban J. 1995. "Chemical Composition and Nutrient Digestibility of Pearl Millet (Pennisetum glaucum) Fed to Growing Pigs." J Cereal Sci ; 22: 177-184.

Adouane S. 2016. Etude ethnobotanique des plants médicinaux dans la région Méridionale des Aurès.Mémoire de magistère en sciences agronomiques : Option Agriculture et environnement en régions arides. Université Mohamed Khider -Biskra-Algérie ; p 26– 29.

Andrews DJ, Rajewski, JF and Kumar K A: 1993. Pearl millet, New feed grain crop. In "News crops. Wiley, New York. J. Janick and J.E. Simon (éds)," pp. 198208.

Audigier, Y., Mazarguil, H., Gout, R., Cros, ., 1980 :Structure-activity relationships of enkephalin analogs at opiate and enkephalin receptors: Correlation with analgesia, European Journal of Pharmacology, Volume 63, Issue 1, Pages 35-46.

Awika J.M., Rooney L.2004. "Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health." Phytochemistry ; 65(9): 1199-1221

Ayad R., 2008 : recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce zygophyllum cornutum, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. P35-39, 40, 47.

Beecher, G.R. and Khachik, F. 1992 Qualitative Relationship of Dietary and Plasma Carotenoids in H uman Beings. Beyond Deficiency: New Views on the Function and Health Effects of Vitamins, New York Academy of Sciences, February 9-12,;P-3

Ben Mustapha M., Bousselmi M., Jerbi T., Ben Bettaieb N., Fattouch S.2014. "Gamma radiation effects on microbiological, physic-chemical and antioxidant properties of Tunisian millet (Pennisetum Glaucum L.R.Br.)." Food Chem ; 154: 230-237.

Béninga MB. 2007. Génétique, amélioration et vulgarisation du mil: Pennisetum glaucum (L.) R. Br. (Poaceae), en Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat d'Etat en Sciences, Université de Cocody, Abidjan, 179 p.

Bezançon G, J.F. Renno., K. Anand Kumar1997. Le mil. Pages 457-482 in André Charrier, M. Jacquot, S. Hamon et D. Nicolas (éds). l'amélioration des plantes tropicales. CIRAD et ORSTOM

Bouakaz I., 2006.Etude phytochimique de la plante Genista Microcephala. Mémoire de magister, Batna.

Boudjouref M., 2011- Etude de l"activité antioxydante et antimicrobienne d"extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., Igic, R. 2008. Phenolics as antioxidants in garlic (Allium sativum L., Alliaceae), Food Chemistry, 111, 925-929.

Bruneton J., 1999- Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed.Technique et Documentation. 3éme ed, Paris. France. 1120p.

Bruneton, J. 2009. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier.

Butterfield, D.A., Pocernich, C.B. & DRAKE, J. 2002. Elevated gluthatione as atherapeutic strategy in Alzheimer's disease. Drug. Disc.Res. Vol. 56: 428-37.

Cerighelli R. 1955. Cultures tropicales (tome I): plantes vivrières. Librairie J-B. Baillière& Fils, 19, Haute feuille: 635 pp

Chandrasekara A., Shahidi F.2011. "Antiproliferative potential and DNA scission inhibitory activity of phenolics from whole millet grains."J functional foods ; 3: 159-170.

Chang, C., Yang, M., Wen, H., Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Analaysis, 10, 178-182.

Chung Y.C., Chang C.T., Chao W.W., Lin C.F., Chou S.T. 2002. Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by Bacillus subtilis IMR-NK1. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 : 2454-2458.

Claire K. 2012 Céréale : millet et sorgho, le mil (chapitre 10/13), Dossier in Future science (http://www.futura-sciences.com/magazines/nature/infos/dossiers/d/botanique-cerealemillet-sorgho-mil-1069/)

Clifford M N 1999 Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea,*Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida*, 41 (5), 393-397.

Dabre E. E 2008 Inventaire et importance des insects ravageures du mil *Pennisetum glaucum* (Leek) R. Br. En zone sahelienne de Borkina Faso, Mémoire d'ingéniurat en agronomie, Université POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO-Borkina Faso.

Davies, M.J., Gopinathan, V. et Milner, A.A. (1993) « Novel methods for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. » Clin.Sci, 84: 407-412.

Deaton, C.M., Marlin, D.J. 2003. Exercise-associated oxidative stress, Clinical Techniques in Equine Practice. Vol. 2(3): 278 -291.

Delattre, J., Beaudeux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. 2005. Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques). Tac & doc

Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., Liu, R. H. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry,* 50(10), 3010-3014.

Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., Yousefzadi M. 2008 Essential oil composition and antimibacterial activity of *Thymus caramanicus*at different phonological stages. *Food chemistry.,*110: 927-931.

Eddouks M., Ouahidi M.L., Farid O., Khalidi A. et Lemhadri A. 2007. L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabéte au maroc. Phytothérapie. (5): 194-203.

Erlund, I. 2004. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin .Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. Nutritionresearch, 24(10), 851-874.

Fatima, I., Kanwal, S., &Mahmood, T. 2018. Evaluation of biological potential of selected species of family Poaceae from Bahawalpur, Pakistan. *BMC complementary and alternative medicine*, *18*(1), 1-13**.**

Filli, K. B., Nkama, I., Jideani, V. A., Ibok, I. U. 2013. Effet des variables de procédé sur les propriétés d'hydratation et l'acceptabilité des mélanges de millet et de soja extrudés pour la fabrication de fura. *British Food Journal, 115*(6),884- 898.

Gaziano JM. and Hennekens CH. **1995** Antioxidant vitamins in the prevention of coronary artery disease. Cont.Int.Med., , 7: 9-14.

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

Gilbert B. L., Norris D. M., 1968- Achemical basis for bark beetle(scolytus) distinction between host and non-host trees. *J Insect physiol*. Vol.(14): 1063-1068.

Gorham J., 1977- Lunularic acid and related compounds in liverworts,algae and hydrangea. *Phytochemistry*. Vol. (16):249-253.

Goudable, J. & Favier, A . 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition clinique et metabolisme . Vol.11(2): 115-120.

Govindaraj M, Shanmugasundaram P, Muthah AR.2010. Estimates of genetic parameters for yield and yield attributes in elite lines and popular cultivars of India's pearl millet. African Journal of Agricultural Research, 5(22): 3060-3064.

Gurib-Fakim, A. 2006. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, *27*(1), 1-93**.**

Haslam E., 1994- Natural polyphenols (vegatable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat*. *Prod*. Vol. (11): 41-66

Haslam E., 1998- Practical Polyphenolics: From Structure to MolecularRecognition and Physiological Action. Ed. Cambridge University Press,Cambridge. UK. 422p.

Haussmann B, Boubakar A, Boureima SS, Vigouroux Y. 2006. Multiplication and preliminary characterization of West and Central African Pearl Millet Landraces. SAT ejournal / ejournal.icrisat.org. Vol 2.

Havsteen, B. H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & therapeutics*, *96*(2-3), 67-202.

Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F., 2004- Polyphénols végétaux,sources, utilizations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif.*Phytothérapie*. Vol (1): 3-6.

Hocquemiller, R., Cave, A., Jacquemin, H., Touche, A., & Forgacs, P. 1982. Alcaloides des annonacées. Xxxvi (alcaloides de l'*Annona crassiflora* mart). *Plantes medicinales et phytotherapie*. Tome XVI, 1, p. 4-6

Ibidapo, O., Henshaw, F., Shittu, T., &Afolabi, W. 2019. Bioactive components of malted millet (Pennisetumglaucum), Soy Residue "okara" and wheat flour and their antioxidant properties. *International Journal of Food Properties*, *22*(1), 1886-1898.

Julkunen-Titto, R. 1985 Phenolics constituents in the leaves of northern willos: Methods for the analysis of certain phenolics. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 33, 213-217. doi:10.1021/jf00062a013.

Kirkman, H.N., Rolfo, M., Ferraris, A.M. & Gaetani, G.F. 1999. Mechanisms of protection of catalase by NADPH .Kinetics and stochiometry. J Biol Chem. Vol. 274:13908- 13914.

Krishnaiah , D. , Sarbatly , R. , Nithyanandam , R. 2011 .A review of the antioxidant potential of medicinal plant species . Food biopro proces 89 : 217-233 . 115 sur 148.

Kaddafi A., Daoudy K., Marmouzi I. and al.2015. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts of pearl millet Pennisetum glaucum L. Jcpr , 7(6), 1-6.

Kaur KD, J. A., Sabikhi L, Singh A.K.2012. ("Significance of coarse cereals in health and nutrition: a review." J Food Sci Technol ; 51(8): 1429-1441.

Khenaka k., 2011- Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l"ovin. Thése de Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri- Constantine. Algérie. 81p.

Laguerre, M., López-Giraldo, L. J., Lecomte, J., Pina, M., & Villeneuve, P. 2007. Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, *14*(5), 278-292.

Landrum JT, et al. **1997** A One Year Study of the Macular Pigment: The Effect of 140 Days of a Lutein Supplement. Exp Eye Res,; 65:57-62

Landrum, John T., et al. **1997**The Macular Pigment: A Possible Role in Protection From Age-Related Macular Degeneration. Advances in Pharmacology,;38:537-555.

Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., Lee C.Y. 2003 Cocao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*.,**51** : 7292-7295.

Li Y., Guo C., Yang J., Wei J., Xu J. and Cheng S., 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food Chem. 96: 254-260.

Linford, N.J., Schriner, S.E. & Rabinovitch, P.S. 2006. Oxidative Damage and Aging: Spotlight on Mitochondria .Cancer Res. Vol . 66(5): 2497-2499.

Liyana-Pathirana C. M., Shahidi F, 2006. Importance Of Insoluble-Bound Phenolics To Antioxidant Properties Of Wheat. Journal Of Agricultural And Food Chemistry, 54, 1256–1264.

Lori L. et Devan N. 2005. Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec VIH. Anadian AIDS Treatment Information Exchange.

Majhenic L., kerget M.S., Knez Z. ; 2007. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry, 104, 1258-1268.

Malecky M., 2005 : Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, AgroParisTech. p 9, 13-19, 20, 27.

Marmouzi, I., Ali, K., Harhar, H., Gharby, S., Sayah, K., El Madani, N., ...&Faouzi, M. E. A. 2018. Functional composition, antibacterial and antioxidative properties of oil and phenolics from

Moroccan Pennisetumglaucum seeds. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *17*(3), 229-234.

Miliauskas. G., Venskutonis P.R., Van Beek T.A. 2004 Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*., 85 : 231-237.

Morigane.2007. Grimoire des plantes,192 pages http://www.histoireebook.com/index.php?post/Morigane-Grimoire-des-Plantes.

Mpondo, E. M., Yinyang, J., & Dibong, S. D. 2015. Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, *85*(1), 7804-7823.

Nagarathna P.K.M., J. D.2013. "Study on Antithyroid Property of Some Herbal Plants." Int J Pharm Sci Rev Res ; 23(2): 203-211.

Nambiar VS; Sareen N; Daniel M; Gallego EB. *Functional Foods in Health and Disease*, 2012, 2, 264.

Nani A., B. M., Soualem Z., Ghanemi F.Z., Borsali N., Amamou F.2011"Study of the impact of millet (Pennisetum glaucum) on the glucidic metabolism in diabetic rats." Annals of Biological Research ; 2(4): 21-23.

Nani A.2017. Effets des polyphénols de mil sur le cancer de l'os et son mode d'action sur le système immunitaire

Newman D.J., Cragg G.M., 2012 – Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod*. Vol. (75): 311-335.6.

Nicklisch SCT., Waite JH 2014. *Optimized DPPH assay* in a *detergent-based buffer system* for *measuring antioxidant activity* of *proteins*. Methods X 1, 233–238.

Nomura K, Imai H, Koumura T, Kobayashi T and Nakagawa Y 2000 Mitochondrial phospholipidhydroperoxide glutathione peroxidase inhibits the release of cytochrome c from mitochondria by suppressing theperoxidation of cardiolipin in hypoglycaemia-induced apoptosis. Biochem J 351, 183-193.

Obi, O. F., Ezeoha, S. L., &Egwu, C. O. 2016. Evaluation of air oven moisture content determination procedures for pearl millet (Pennisetumglaucum L.). *International Journal of Food Properties*, *19*(2), 454-466.

Owheruo JO, Ifesan BOT, Kolawole AO. 2019 Physicochemical properties of malted finger millet (*Eleusine coracana*) and pearl millet (*Pennisetum glaucum*). *Food Sci Nutr*.;7:476–482.

Oyaizu M 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Japanese Journal of Nutrition 44: 307-315.

Powers SK and Lennon SL 1999 Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. Proc Nutr Soc 58, 1025-1033

Prior R.L., Wu X., Schaich K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in foods and dietary supplements. J. Agric. Food. Chem., 53:4290-302.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. et Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improvised ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, 26, 1231-1237.

Rahal-Bouziane H, Mossab-Bouaboud K, Kharsi M. 2006. Fourrages Cultivés des oasis du Touat, Gourara et Tidikelt : caractéristique ethnobotaniques, morphologiques et valeur alimentaire. pp39.

Rai K.N., S. Appa Rao ., K.N. Reddy 1997. Pearl millet. Pages 243-258 in D. fuccillo, L. Stapleton (éds), Biodiversity in trust. Cambridge University Press.

Ragaee S, El-Sayed M, Abdel-Aal& Maher N. 2006. Antioxydant activity andnutrientcomposition of selected cereals for food use. Food chemistry, 98: 32-38.

Richter, G. 1993. Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. Éd. Presses polytechniques et universitaire Romandes.

Ramli I. 2013 - Etude in vitro de l'activité anti-Leishmanienné de certaines plantes.

Sadallah A. et Laidi R. 2018. Étude Ethnobotanique de certaines plantes médicinales dans la région d'Ain bessem et Sour el ghozlane (Bouira) (Doctoral dissertation, Université de Bouira.

Sanago R. 2006. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali).

Sanchez-Moreno C., 2002. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. Food Science and Technology International 8: 121-137.

Santos MS., Meydani SN., Leka L., Wu D., Fotouhi N., Meydani M., Hennekens CH. And Gaziano JM. **1996**Natural killer cel activity in elderly men is enhanced by beta-carotene supplementation. Am.J.Clin.Nutr., 64 : 772-777.

Schauenberg P., paris F., 2005- Guide des plantes médicinales.Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2éme édition. Ed. Delachauxet Niestlé, Neuchâtel. Suisse. 396 p**.**

Schofield, P., Mbugua, D. M., Pell, A. N. 2001. Analysis of condensed tannins: a review. Animal feed science and technology, 91(1-2), 21-40.

Sereme A.J., Millogo-Rasolodimby S., Guinko M. and Nacro. (2010). Anatomy and Tannins Concentration in Tannins Producing species of Burkina Faso. Journal Des Sciences. 10 : 24 – 32.

Silanikove, N., Perevolotsky, A., & Provenza, F. D. 2001. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, *91*(1), 69-81.

Slinkard, J., Singleton, V.L., 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. Am. J. Enol. Viticult. 28, 49–55.

Smith IF. 1996. Sorghum and millets: Proceedings of the Symposia. International Association for Cereal Science and technology, Vienna, 171197.

Sofowora A. 2010. *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. KARTHALA Editions.

Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., Spranger, I. 1998. Critical factors of vanillin assay forcatechins and proanthocyanidins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(10), 4267-4274.

Talwar, Dinesh, et al. **1997** Effect of Inflammation on Measures of Antioxidant Status in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer. *, American Journal of Clinical Nutrition,;66:1283-1285

Teixeira J., Gaspar A., Garrido E.M., Garrido J., Borges F. 2013. Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. BioMed Research International, 1-11.

Tostain S and Marchais L: 1993. Evaluation de la diversité génétique des mils (Pennisetum glaucum (L.) R. Br.) Au moyen de marqueurs enzymatiques et relations entre formes sauvages etcultivées. In "Serge Hamon (éds). Le mil en Afrique 'diversité génétique et agrophysiologie: potentialités et contraintes pour l'amélioration génétique et l'agriculture" (ORSTOM, ed.), pp. 33-56. Serge Hamon, Paris, France.

Tosun, M., Ercisli, S., Sengul, M., Ozer, H., Polat, T. &Ozturk, E. 2009. Antioxidant properties and total phenolic content of eight Salvia speciesfrom Turkey. *Biological Research, 42(2),* 175-181. doi: /S0716-97602009000200005.

Upadhyaya HD, Reddy KN, Gowda CLL.2007. Pearl millet germplasm at ICRISAT genebank-status and impact. SAT ejournal / ejournal.icrisat.org. Vol 3.

Vietmeyer N D: 1996. "Lost crops of Africa," National academy press Washington, D.C, Grains, Washington, D.C.

Vigouroux Y. Le mil, aliment du futur au Sahel. IRD. 2009. Fiche n°325

Willett W., M.. J., Liu S.2002. "Glycemic index, glycemic load, and risk of type 2 diabetes." Am J Clin Nutr ; 76: 274-280.

Wasowski, C., Loscalzo, L. M., &Marder, M. 2013. Neuropharmacology In vitro binding affinities of a series of flavonoids for m-opioid receptors. Antinociceptive effect of the synthetic flavonoid 3,3-dibromo flavanone in mice, 72.

Yao l.H., Jiang Y.M., Shi J., Tomas-Barberan F.A., Datta N.,Singanusong R., Chen S.S., 2004- Flavonoids in Food and their health benefits. Plant. *Food Hum. Nutr*. Vol (59) : 113-122.

Yezza S., et Bouchama S., 2014: index des métabolites secondaires végétaux, université kasdi merbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences biologiques.47 pages **.**

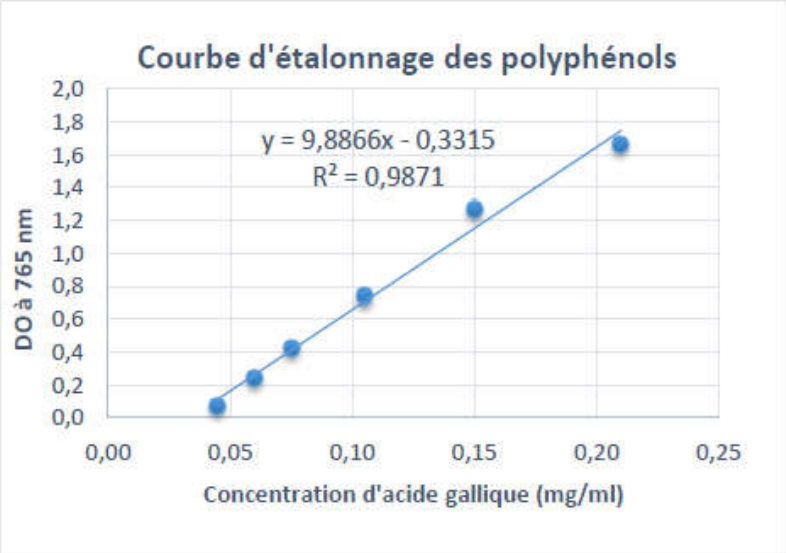
Yusuf Y., 2006 : Trends Food Sci. Tech. p17, 64-71.

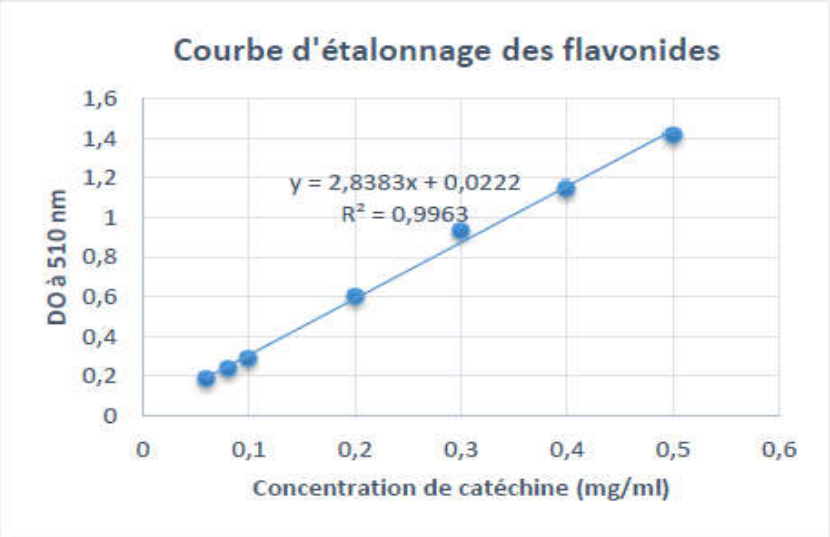
Zouhri, A., Bousfiha, A., &Aarab, L. 2017. Évaluation des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et photoprotectrices des lipides de Lawsoniainermis. *Phytothérapie*, *15*(2), 6

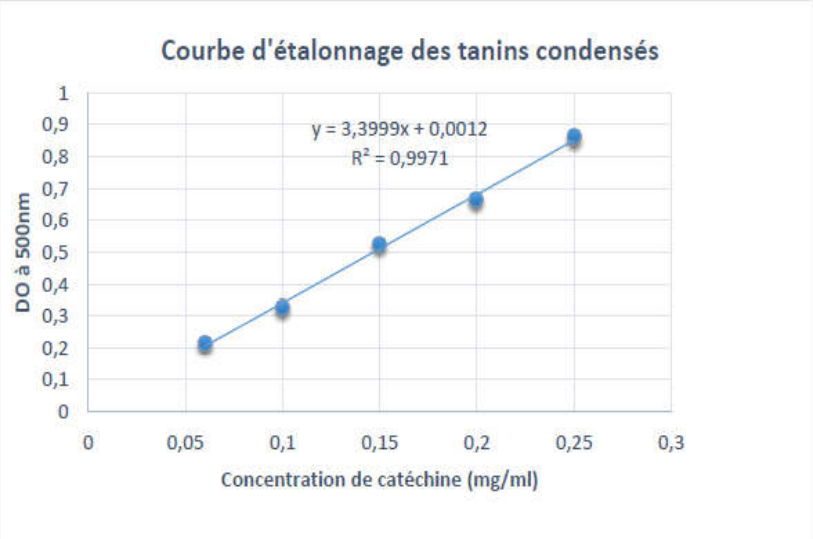
.

Annexes

Courbes d'étalonnages







ملخص

يهدف عملنا إلى تقييم حبات الدخن " *Pennisetum glaucum* L." من خلال تحليل المستخلص الناتج عن النقع في نظام ثلاثي من المذيبات ، عن طريق الاختبارات النوعية والكمية للمستقبلات الثانوية وكذلك تقدير قدرتها المضادة للأكسدة. بعدة طرق لونية . أظهرت النتائج المسجلة بعد الفحص الكيميائي النباتي أن المستخلص يحتوي على البوليفينول والفلافونويد والثانات وألكلويدات والصابونين والتربينويدات والكومارين والمركبات المختزلة ووفقًا للمقايسات الكمية لمركبات البوليفينول والفلافونويد والثانات المكثفة بمتوسط 2.27 ± 0.142ملغ مكافئ حمض غاليك/ غ مادة جافة ؛ 0.50 ± 0.013 ملغ مكافئ كاتشين/ غ مادة جافة ؛ 1.70 ± 0.468 ملغ مكافئ كاتشين/ غ مادة جافة على التوالي. بالإضافة إلى ذلك ، أظهر مستخلص حبوب *P. glaucum* L. من منطقة أدرار قدرة كبيرة على مقاومة الجذور بواسطة اختبار الكسح الجذري (DPPH)، بتركيز مثبط (EC_{50}) يبلغ 0.04 ملغ / مل. إنه نفس الشيء بالنسبة لاختبار الحد من الحديد (FRAP) واختبار (ABTS) اللذين كانا مهمين.

الكلمات الرئيسية: *Pennisetum glaucum* L ، المستقبلات الثانوية ، إمكانات مضادات الأكسدة ، الفحص الكيميائي النباتي DPPH، FRAP، ABTS

Résumé

Notre travail a pour objectif d'évaluer les grains de millet « *Pennisetum glaucum* L. » en analysant l'extrait obtenu par macération dans un système ternaire de solvants, par des tests qualitatifs et quantitatifs de métabolites secondaires ainsi que l'estimation de son potentiel antioxydant par plusieurs méthodes colorimétriques. Les résultats enregistrés après le criblage phytochimique, ont montré que l'extrait renferme des polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponosides, terpénoïdes, coumarines et des composés réducteurs et selon les dosages quantitatifs des polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés, des teneurs moyennes de2,27 ± 0,142 mg EAG/g MS ; 0,50 ± 0,013mg EC/ g MS ; 1,70±0,468 mg EC/g MS ont été notées respectivement. En outre, l'extrait des grains de *P.glaucum* L. de la région d'Adrar, a présenté une capacité anti radicalaire considérable par le test de piégeage de radical DPPH, avec une concentration inhibitrice (EC_{50}) de 0,04mg/ml. Il est de même pour le test de réduction de fer (FRAP) et le test à l'ABTS qui ont été importante.

Mots clés: *Pennisetum glaucum* L ,métabolites secondaires, potentiel antioxydant, criblage phytochimique, DPPH,FRAP,ABTS

Abstract

The objective of our work is to evaluate the millet cereal "*Pennisetumglaucum* L." by analyzing the extract obtained by maceration in a ternary system of solvents, by qualitative and quantitative tests of secondary metabolites as well as the estimation of its antioxidant potential by several colorimetric methods. The results recorded after phytochemical screening, showed that the extract contains polyphenols, flavonoids, tannins, alkaloids, saponosides, terpenoids, coumarins and reducing compounds and according to the quantitative assays of polyphenols, flavonoids and condensed tannins, average contents of 2.27 ± 0.142 mg EAG/g MS ; 0.50 ± 0.013mg EC/ g MS; 1.70±0.468 mg EC/g MS were noted respectively. In addition, the extract of *P.glaucum* L. grains from Adrar region, presented a considerable antiradical capacity by the DPPH radical scavenging test, with an inhibitory concentration (EC_{50}) of 0.04mg/ml. The same is true for the iron reduction test (FRAP) and the ABTS test which were significant.

Keywords: *Pennisetum glaucum* L. ,secondary metabolites, antioxidant potential, phytochemical screening ,DPPH,FRAP,ABTS.