

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة  
Constantine 1 - Frères Mentouri University  
Université Frères Mentouri - Constantine 1

Université Frères Mentouri de Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Écologie Végétale

جامعة الإخوة منتوري – قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم بيولوجيا وإيكولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et physiologie de la reproduction

N° d'ordre : .....

N° de série : .....

**Intitulé :**

---

**Contribution à une étude alimentaire, phytochimique et  
évaluation des activités biologiques des graines de deux  
variétés de mil (*Pennisetum glaucum*)**

---

Présenté par : M<sup>r</sup>. HAMMA Habib

Le : 22 Juin 2023

Jury d'évaluation :

Président : M<sup>r</sup>. CHIBANI Salih MCA – Université Frères Mentouri, Constantine 1

Encadreur : M<sup>me</sup>. CHAIB Ghania Professeur – Université Frères Mentouri, Constantine 1

Examinatrice : M<sup>me</sup>. ZEGHAD Nadia MCA – Université Frères Mentouri, Constantine 1

Année Universitaire : 2022/2023

## Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu, le Tout Puissant, de m'avoir donné le courage, la volonté et la force d'élaborer ce modeste travail.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance à mon encadreur M<sup>me</sup>. CHAIB Ghania, Professeur à l'Université des Frères Mentouri, Constantine 1, pour sa disponibilité, sa patience et surtout ses judicieux conseils. Merci infiniment pour les nombreuses heures investies dans la correction du présent manuscrit.

Je remercie M<sup>me</sup>. LABED Hanane, Doctorante à l'Université des Frères Mentouri, Constantine 1, d'avoir fournie le matériel végétal et d'avoir assisté et participé dans la réalisation de ce travail comme co-encadreur.

Mes remerciements s'adressent également à M<sup>me</sup>. ZEGHAD Nadia, MCA à l'Université des Frères Mentouri, Constantine 1, d'avoir accepté d'examiner ce présent travail et faire part de ses remarques et suggestions qui ne feront que rehausser sa valeur et sa la qualité.

Je tiens à présenter mes sincères et vifs remerciements à M<sup>r</sup>. CHIBANI Salih, MCA à l'Université des Frères Mentouri, Constantine 1, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'être président du jury.

Mes sincères remerciements et mes profondes gratitudees à M<sup>me</sup>. BEKRAR Amel épouse. HAMMA, Ingénieur d'état principal de soutien à la recherche au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine.

J'adresse mes remerciements aux personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire et spécialement au personnel du laboratoire de biochimie, laboratoire d'analyse des aliments, laboratoire d'analyse de qualité ainsi que le laboratoire de l'environnement du Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine.

Un grand merci à tous les fonctionnaires du CRBt, spécialement M<sup>r</sup>. BENSUISSI Chaouki, M<sup>lle</sup>. MEZIANI Lila, M<sup>lle</sup>. GALI Linda, M<sup>r</sup>. NORINE Hayder, M<sup>r</sup>. NOUI Yacine, M<sup>me</sup>. IKHLEF Assia, M<sup>me</sup>. FIALA Samah, M<sup>r</sup>. LACHELAH Hatem, M<sup>me</sup>. DERDOUR Mouna, M<sup>me</sup>. MAYOUNE Ibtisem, M<sup>r</sup>. HAMDIA Mahdi, M<sup>lle</sup>. MAGHEZZI Asma, M<sup>lle</sup>. MESBAH Rokia, M<sup>r</sup>. AIDI Bilel, M<sup>r</sup>. HOUASBIA Mourad, M<sup>me</sup>. SISSAOUI Samira, M<sup>me</sup>. CHAREB Noura et M<sup>me</sup>. OUFROUKH Karima.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour réaliser ce manuscrit, Je tiens à vous dire...

***Merci***

## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail...*

*À mes chers **parents**, le grand amour de ma vie, je vous remercie pour votre aide et votre soutien. Je ne pourrais jamais être à la hauteur de vos sacrifices et patience. Mon amour, ma tendresse et ma reconnaissance sont infinies. Je prie Dieu pour qu'il vous accorde une bonne santé et une longue vie.*

*Je le dédie aussi à toi, ma chère femme **Amel**. Je ne pourrai jamais te remercier assez pour ton aide, ta patience et tes encouragements.  
Merci infiniment, je t'aime très fort.*

*À mes petites princesses, la lumière de ma vie, A vous mes filles **Yousra & Lyne**, je vous aime très fort.*

*À mes chers frères **Yahia, Mustapha & Mouloud** ;*

*À mes chères sœurs **Malika, Fatima, Nora, Farida, Louiza & Lynda** ;*

*À mes nièces et neveux, je vous adore ;*

*À ma deuxième famille, mes beaux-parents **Sadek & Fatma**, mes belles sœurs **Sana, Manel & Wissal**, mes beaux-frères **Ahmed Ramy, Mohamed Amir** ;*

*À vous tous, je prie Dieu pour qu'il vous accorde santé, prospérité et longue vie.*

*Merci pour tout, Merci pour vos encouragements et soutien...*

**JE VOUS AIME TRÈS FORT**

*À tous mes amis et collègues, je vous remercie pour votre amitié, votre soutien et encouragements, surtout pour les beaux moments.*

*À tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment...*

**Habib**

***“Il faut laisser demain pour le travail  
de demain”***

*(Cité souvent par mon père)*

## Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
<b>Première partie : Recherche bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Le mil</b>	
Introduction	4
1. Généralités sur la plante	4
2. Description de la plante	4
2.1 Le système racinaire	5
2.1.1 Développement du système racinaire	6
2.2 La tige et les nœuds	6
2.3 Les feuilles et les nervures	7
2.4 L'inflorescence et la panicule	7
3. Développement de la plante	9
4. La fleur du millet perlé	10
5. La graine du millet perlé	11
6. Taxonomie, historique et origine du millet perlé	11
6.1 Taxonomie	11
6.2 Appellations du millet perlé à travers le monde	12
6.2.1 En Europe	12
6.2.2 En Afrique	12
6.2.3 En Asie	13
6.3 Origine et domestication du mil	13
7. Composition chimique des graines du mil	14
8. Rôles et utilisations du mil	15
8.1 Valeur fourragère du mil	15
8.2 Le mil comme biocarburant	16
8.3 La valeur médicinale du mil	16
8.3.1 Consommation du mil et la pellagre	16
8.3.2 Consommation du mil et l'anémie	16
8.3.3 Consommation du mil et la constipation	16
8.3.4 Consommation du millet perlé et le cancer	16
8.4 La valeur artisanale du mil	17
8.5 La valeur socioculturelle du mil	17
9. Les exigences environnementales du millet	17
10. Les contraintes à la production du mil	17
10.1 Les contraintes abiotiques	17
10.2 Les contraintes biotiques	17
10.2.1 Les maladies de champignons et de plantes parasites	18
10.2.1.1 Le mildiou	18
10.2.1.2 Le charbon	18

10.2.1.3	L'ergot de mil	18
10.2.1.4	Les Adventices	19
10.2.2	Les insectes	19
10.2.3	Les oiseaux	20
<b>Chapitre II : Les métabolites secondaires</b>		
Introduction		23
1.	Définition	23
2.	Classification des métabolites secondaires	24
2.1	Les alcaloïdes	24
2.2	Les terpènes	24
2.3	Les stérols	26
2.4	Les stéroïdes	26
2.5	Les saponines	27
2.6	Les composés phénoliques	27
2.6.1	Les non flavonoïdes	28
2.6.1.1	Les acides phénoliques	28
2.6.1.2	Les naphtoquinones	29
2.6.1.3	Les xanthones	29
2.6.1.4	Les stilbènes	30
2.6.1.5	Les lignanes et les lignines	31
2.6.1.6	Les coumarines	31
2.6.1.7	Les tanins	32
2.6.1.7.1	Les tanins hydrolysables	32
2.6.1.7.2	Les tanins condensés	33
2.6.2	Les flavonoïdes	33
2.6.2.1	Les flavanols	36
2.6.2.2	Les anthocyanes	36
2.6.2.3	Les flavanones	36
2.6.2.4	Les flavonols	36
2.6.2.5	Les isoflavones	37
2.6.2.6	Les flavones	37
2.6.2.7	Les chalcones	37
2.6.3	La biosynthèse des composés phénoliques	37
<b>Chapitre III : Le stress oxydatif, les antioxydants et les activités biologiques</b>		
Introduction		40
1.	Le stress oxydatif	40
2.	Les antioxydants	41
2.1.	Les défenses antioxydantes	42
2.2.	Lutter contre le stress oxydant	43
2.3.	Les effets antioxydants des métabolites secondaires du mil	43
3.	Les activités biologiques	44
3.1.	Le test de piègeage du radical DPPH (1,1 – diphényl – 2 – picrylhydrazyl ou : $\alpha$ , $\alpha$ – diphényl – $\beta$ – picrylhydrazyl)	44

3.2. Le test de la capacité antioxydante par l'ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))	45
3.3. Le test de chélation des ions ferreux de la ferrozine (C <sub>20</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub> )	46
3.4. Le test de réduction de l'ion cuprique ou méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity)	47
3.5. Le test de réduction du fer ferrique du complexe ((Fe <sup>3+</sup> )-TPTZ) ou FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	49
3.6. Le test de la réaction de l'ion ferreux (Fe <sup>2+</sup> ) avec la 1,10-phénanthroline	50
3.7. Le teste du pouvoir réducteur de Ag <sup>+</sup> ou SNL ou SNPAC (Silver nano particles ou Silver NanoParticle Antioxidant Capacity)	51

## Deuxième partie : Partie expérimentale

### Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel	54
1.1. Le matériel végétal	54
1.2. Les réactifs chimiques	54
1.3. Le matériel du laboratoire	54
2. Méthodes de travail	55
2.1. Préparation des extraits	55
2.1.1. La pesée	55
2.1.2. Le broyage et tamisage	55
2.1.3. L'extraction	56
2.2. Le rendement	59
2.3. Détermination de la composition physicochimique	59
2.3.1. Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche	59
2.3.2. Détermination du taux de cendres	60
2.3.3. Détermination du taux de la matière grasse	60
2.3.4. Détermination du taux de l'azote total et des protéines totales	61
2.3.5. Détermination de la teneur en sucres totaux	63
2.4. Détermination de la teneur en composés phénoliques	64
2.4.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux	64
2.4.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux	65
2.4.3. Détermination de la teneur en tanins	66
2.5. Étude des activités biologiques	66
2.5.1. Test de piégeage du radical 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH')	66
2.5.2. Test de piégeage de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS <sup>•+</sup> )	67
2.5.3. Test de chélation des ions ferreux (La ferrozine C <sub>20</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub> )	67
2.5.4. Test de la capacité antioxydante par réduction de l'ion cuprique (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity ou CUPRAC)	68
2.5.5. Test Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ou couramment reducing power.	68
2.5.6. Test de l'activité antioxydante par la phénanthroline	69
2.5.7. Test de Silver nano particles (SNL) ou Silver NanoParticle Antioxidant Capacity (SNPAC)	69

3. Analyse statistique -----	69
<b>Chapitre II : Résultats et discussion</b>	
1. Extraction et rendement -----	71
1.1. Les extraits -----	71
1.2. Comparaison entre les rendements des méthodes d'extraction -----	72
2. Détermination de la composition physicochimique -----	73
2.1. Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche -----	74
2.2. Détermination du taux de cendres -----	75
2.3. Détermination du taux de la matière grasse -----	76
2.4. Détermination du taux de l'azote total et des protéines totales -----	77
2.5. Détermination de la teneur en sucres totaux -----	78
3. Étude de la teneur en composés phénoliques -----	79
3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux -----	80
3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux -----	81
3.3. Détermination de la teneur en tanins -----	82
4. Comparaison des rendements en polyphénols des différentes méthodes d'extraction ----	83
5. Étude des activités biologiques -----	85
5.1. Le test de piégeage du radical DPPH (1,1 – diphényl – 2 – picrylhydrazyl ou : $\alpha$ , $\alpha$ – diphényl – $\beta$ – picrylhydrazyl) -----	85
5.2. Le test de la capacité antioxydante par l'ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) -----	87
5.3. Le test de chélation des ions ferreux de la ferrozine ( $C_{20}H_{12}N_4Na_2O_6S_2$ ) -----	89
5.4. Le test de réduction de l'ion cuprique ou méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) -----	90
5.5. Le test de réduction du fer ferrique du complexe (( $Fe^{3+}$ )-TPTZ) ou FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) -----	91
5.6. Le test de la réaction de l'ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ) avec la 1,10-phénanthroline -----	92
5.7. Le teste du pouvoir réducteur de $Ag^+$ ou SNL ou SNPAC (Silver nano particles ou Silver NanoParticle Antioxidant Capacity) -----	93
Conclusion -----	95
Liste des références -----	98
Annexes -----	124
Résumé	

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Les types de racines du millet perlé, leur temps de développement et leur persistance -----	6
<b>Tableau II</b> : Les phases de croissance du millet perlé et le temps nécessaire pour chaque phase-----	9
<b>Tableau III</b> : Composition chimique du grain de millet perlé comparativement à d'autres céréales -----	14
<b>Tableau IV</b> : La valeur nutritive du fourrage du millet comparée à celle du maïs -----	15
<b>Tableau V</b> : les différents insectes ravageurs du millet perlé -----	20
<b>Tableau VI</b> : Classification des terpènes -----	25
<b>Tableau VII</b> : Classification des composés phénoliques-----	28
<b>Tableau VIII</b> : Dérivés de l'acide benzoïque -----	29
<b>Tableau IX</b> : Dérivés de l'acide cinnamique -----	29
<b>Tableau X</b> : Les différents extraits obtenus-----	72
<b>Tableau XI</b> : Test t de Student de la composition élémentaire des deux variétés -----	74
<b>Tableau XII</b> : Test t de Student de la teneur en composés phénoliques des deux variétés ---	79
<b>Tableau XIII</b> : Test t de Student des activités biologiques des deux variétés -----	85

Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Le millet perlé -----	5
<b>Figure 2</b> : Les types de racines chez le mil-----	5
<b>Figure 3</b> : Le tallage du millet perlé-----	6
<b>Figure 4</b> : Variation génotypique de l'épaisseur, la longueur et la couleur des entre-nœuds -	7
<b>Figure 5</b> : Les poils et nervures de la feuille du millet perlé-----	7
<b>Figure 6</b> : La panicule de mil-----	8
<b>Figure 7</b> : Les grandes phases de croissance millet perlé -----	9
<b>Figure 8</b> : La fleur du mil -----	10
<b>Figure 9</b> : Les différentes couleurs des grains de millet perlé -----	11
<b>Figure 10</b> : Carte des preuves archéologiques de millet perlé-----	13
<b>Figure 11</b> : Carte du monde : production de millet par État -----	13
<b>Figure 12</b> : Le mildiou -----	18
<b>Figure 13</b> : Infections et parasites chez le mil -----	19
<b>Figure 14</b> : Le travailleur à bec rouge ( <i>Quelea quelea</i> ) -----	21
<b>Figure 15</b> : Lutte contre les oiseaux -----	21
<b>Figure 16</b> : Classification des métabolites secondaires -----	23
<b>Figure 17</b> : Les alcaloïdes -----	24
<b>Figure 18</b> : Unité de base des terpènes-----	25
<b>Figure 19</b> : La voie métabolique globale de la synthèse de différentes classes de terpènes --	25
<b>Figure 20</b> : Le cholestérol -----	26
<b>Figure 21</b> : Structure de la squalène, Cortisol et cholécalciférol-----	26
<b>Figure 22</b> : Saponine de soja -----	27
<b>Figure 23</b> : Deux isomères de naphtoquinones -----	29
<b>Figure 24</b> : Squelette de base et classification des xanthones -----	30
<b>Figure 25</b> : Le trans-resveratrol-----	31
<b>Figure 26</b> : Le matairesinol (lignane isolé à partir du vin rouge) -----	31
<b>Figure 27</b> : Les coumarines.-----	32
<b>Figure 28</b> : Exemple d'un acide hexahydroxydiphénique : l'isoterchebuline -----	33
<b>Figure 29</b> : Tanin condensé : prodelphinidine -----	33
<b>Figure 30</b> : Les flavonoïdes -----	35
<b>Figure 31</b> : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols-----	38
<b>Figure 32</b> : Origine des différents radicaux libres oxygénés -----	40
<b>Figure 33</b> : Les différentes cibles des EOA -----	41
<b>Figure 34</b> : Les classes des antioxydants naturels-----	42
<b>Figure 35</b> : Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA) dérivant de l'oxygène et systèmes de protection permettant de limiter l'effet toxique de ces espèces.-----	43
<b>Figure 36</b> : Mécanisme de réaction de la méthode DPPH -----	45
<b>Figure 37</b> : Mécanisme de réaction de la méthode ABTS -----	46
<b>Figure 38</b> : Mécanisme de réaction de la méthode de chélation des ions ferreux -----	47
<b>Figure 39</b> : Mécanisme de réaction de la méthode CUPRAC -----	48
<b>Figure 40</b> : Mécanisme de réaction de la méthode FRAP-----	49
<b>Figure 41</b> : Mécanisme de réaction de la méthode phénanthroline -----	50
<b>Figure 42</b> : Mécanisme de réaction de la méthode Silver NanoParticle Antioxidant Capacity -----	51
<b>Figure 43</b> : Les graines des deux variétés étudiées -----	54
<b>Figure 44</b> : La pesée des graines -----	55
<b>Figure 45</b> : Broyage et tamisage -----	56
<b>Figure 46</b> : Les étapes de l'extraction -----	57

---

<b>Figure 47</b> : Bain à ultrason -----	58
<b>Figure 48</b> : Montage Soxhlet -----	58
<b>Figure 49</b> : Les cendres -----	60
<b>Figure 50</b> : Extraction de la matière grasse à l'aide d'un appareil à système Soxhlet semi-automatique -----	61
<b>Figure 51</b> : Appareil Kjeldahl -----	62
<b>Figure 52</b> : Les étapes de dosage des sucres -----	63
<b>Figure 53</b> : Les dilutions de la variété jaune et de la variété gris-verdâtre -----	64
<b>Figure 54</b> : Lecteur de microplaques -----	65
<b>Figure 55</b> : Solution de l'éthanol contenant les graines broyées -----	71
<b>Figure 56</b> : Rendement de l'extraction -----	73
<b>Figure 57</b> : Taux de la matière sèche -----	75
<b>Figure 58</b> : Taux de cendres -----	76
<b>Figure 59</b> : Taux de la matière grasse -----	77
<b>Figure 60</b> : Taux des protéines totales -----	78
<b>Figure 61</b> : Teneur en sucres totaux -----	79
<b>Figure 62</b> : Teneur en polyphénols totaux -----	81
<b>Figure 63</b> : Teneur en flavonoïdes totaux -----	82
<b>Figure 64</b> : Teneur en tanins -----	83
<b>Figure 65</b> : Teneur en polyphénols totaux obtenus à partir de la variété jaune suivant les différentes méthodes d'extraction -----	84
<b>Figure 66</b> : Concentration de l'inhibition de la DPPH -----	86
<b>Figure 67</b> : Pourcentages de l'inhibition de la DPPH en fonction des concentrations. -----	87
<b>Figure 68</b> : Concentration de l'inhibition de l'ABTS -----	88
<b>Figure 69</b> : Pourcentages de l'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations. -----	88
<b>Figure 70</b> : Concentration de chélation des ions de fer de la ferrozine -----	89
<b>Figure 71</b> : Pourcentages de chélation des ions de fer de la ferrozine en fonction des concentrations -----	90
<b>Figure 72</b> : Concentration de la capacité antioxydante par réduction de l'ion cuprique -----	90
<b>Figure 73</b> : Absorbance des deux extraits à 450nm en fonction des concentrations de l'échantillon -----	91
<b>Figure 74</b> : Absorbance des deux extraits à 700nm en fonction des concentrations de l'échantillon -----	92
<b>Figure 75</b> : Concentration de l'activité antioxydante par la phénanthroline -----	92
<b>Figure 76</b> : Absorbance des extraits à 510nm en fonction des concentrations de l'échantillon -----	93
<b>Figure 77</b> : Absorbance des extraits à 423nm en fonction des concentrations de l'échantillon -----	93

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
°C	Degré celcius
µg	Microgramme
µL	Microlitre
ABTS	2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)
APG	Angiosperm Phylogeny Poster
Avant J.-C.	Avant Jésus-Christ
cm	Centimètre
CUPRAC	Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity
DPPH	α, α – diphényl – β – picrylhydrazyl
EAF	Équivalent d'Acide Ferulique
EAG	Équivalent Acide Gallique
EAO	Espèces oxygénées activées
EAT	Équivalent Acide Tannique
EC	Équivalent Catéchine
EG	Équivalent Glucose
EQ	Équivalent Quercétine
ER	Équivalent Rutine
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
g	Gramme
HPLC	Chromatographie Liquide de Haute Performance
ICRISAT	Institut international de recherche sur les cultures des zones tropicales semi-arides
IG	Indice de glycémie
IPGRI	International Plant Genetic Resources Institute
m	Mètre
M	Molarité
MS	Matière sèche
m <sup>2</sup>	Mètre carré
Mb	Million de Bases
Mbp	Méga paire de bases
mg	Milligramme
mL	Millilitre
mm	Millimètre
mm <sup>2</sup>	Millimètre carré
N	Normalité
nm	Nanomètre
RE	Équivalent Rutin
SNP	Silver Nanoparticles
VISOx	Méthode d'extraction au Soxhlet
TPTZ	2,4,6-tri(2-pyridyl)1,3,5-triazine
USDA	United States Department of Agriculture

# **Introduction**

## **Introduction**

Le millet perlé (*Pennisetum glaucum*) est une céréale résistante à la sécheresse qui sert d'aliment de base riche en nutriments en Afrique et en Asie. Le millet perlé, à l'instar des autres espèces de millet, est nommé la céréale des pauvres. Mais actuellement, il est produit, consommé et commercialisé par de nombreux pays développés, pas seulement pour sa résistance aux conditions climatiques, mais aussi pour ses bénéfices importants en diététique et pour combattre plein de maladies causées par le stress oxydatif et son utilisation fourragère.

Selon la bibliographie, Le mil, une céréale dite secondaire, est un très bon aliment en diététique, il a été découvert qu'il est le plus pauvre en sucres comparativement à beaucoup d'autres céréales tel que le blé et le maïs, par contre, il est plus riche en fibres en comparaison à ces derniers. De plus, ces céréales contiennent une quantité abondante de composés bioactifs à activité antioxydante qui sont essentiels pour la santé humaine.

La teneur du millet en métabolites secondaires est importante, de ce fait plusieurs recherches ont été faites sur les bienfaits des graines de cette plante, son contenu peut atténuer et fixer les radicaux libres, rétablir l'équilibre et éviter, ainsi, beaucoup de maladie tel que le diabète, les maladies inflammatoires et même les tumeurs cancéreuses.

Les objectifs de la présente étude sont de déterminer la composition en éléments physicochimiques (alimentaires), les composés phénoliques et les activités biologiques des graines de deux variétés de millet perlé (*Pennisetum glaucum*) cultivées dans la région d'Adrar (Algérie) durant la saison agricole 2020/2021.

C'est dans ce contexte notre travail s'articule à :

- Réaliser des extraits des graines des deux variétés,
- Identifier la méthode ayant le meilleur rendement en termes de quantité d'extrait brut et en termes de la teneur en polyphénols,
- Déterminer la teneur en matière sèche, matière minérale, matière grasse, protéines totales et sucres totales,
- Déterminer la teneur en métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes et tannins),
- Étudier la présence ou non de certaines activités biologiques des extraits obtenus.

**Première partie**  
**Partie recherche**  
**bibliographique**

# **Chapitre I**

## **Le millet**

## Introduction

Le millet a toujours été nommé la céréale des pauvres, il est largement cultivé et consommé dans les régions paucres. Il peut pousser dans des conditions de sécheresse et dans des sols non fertiles, sa culture n'est pas trop coûteuse. En plus, il contient des éléments assez importants pour le corps humain. Actuellement, il n'est plus une céréale des pauvres, mais aussi des riches, la preuve, il est cultivé, transformé et commercialisé par des puissances mondiales telle que les USA, la Russie, la Chine, l'Inde et d'autres pays de l'Afrique de l'Ouest notamment Nigeria et le Niger. Des études sont menées pour étudier sa morphologie, ses origines, sa domestication et les composants chimiques de sa graine et de ses feuilles et les bienfaits de ces derniers pour l'Homme et l'animal (Loumerem, 2004 ; Hamadou et al., 2017 ; ATLASOCIO, 2022).

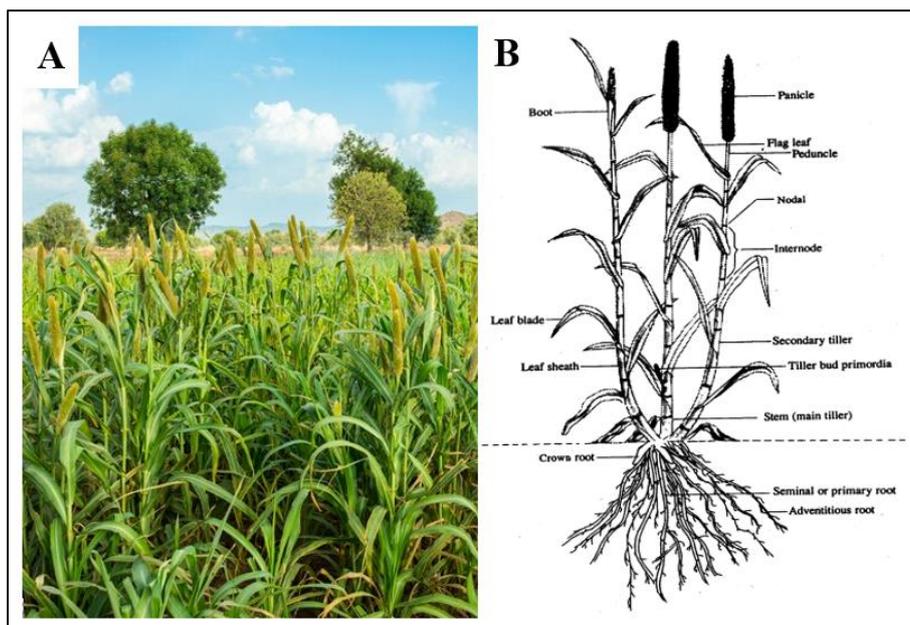
### 1. Généralités sur la plante

Le millet perlé ou mil à chandelle, scientifiquement nommé *Pennisetum glaucum*, plante cultivée pour l'alimentation humaine, animale et fourragère (Arora, 2003) en particulier dans les pays de l'Afrique et de l'Asie (Nambiar, 2011). Le mil a la capacité de survivre dans des conditions de sécheresse et de températures élevées, ce qui augmente encore son potentiel de culture dans les régions où le blé, le maïs et d'autres cultures céréalières ne résistent pas. (Soumya et al., 2016). De plus c'est une plante annuelle, estivale ayant une implantation rapide. (Agricultures et territoires, 2016). Le millet perlé est une espèce diploïde avec sept paires de chromosomes ( $2n = 14$ ). Son génome est d'une taille de 2400 Mpb. C'est une plante annuelle sexuée, hermaphrodite et allogame. (Rachie & Majmudar, 1980).

Beaucoup d'espèces sont confondues au millet perlé, notamment l'éleusine (*Eleusine coracana*), le millet commun (*Panicum miliaceum*), le millet des oiseaux (*Setaria italica*), le fonio blanc (*Digitaria exilis*), le fonio noir (*Digitaria iburua*), le fonio à grosses graines (*Brachiaria deflexa*), le Teff (*Eragrostis tef*) (FAO, 2000). Pour cela, une identification détaillée de la plante est nécessaire.

### 2. Description de la plante

Le millet perlé est une graminée feuillue dressée avec un bon tallage qui talle à partir de la base. (Figure 1). La longueur totale de la plante peut aller de 1,5 à 3m. Elle peut atteindre 4m pour certaines variétés. (Rachie & Majmudar, 1980 ; Maiti & Bidinger, 1981 ; Tara-Satyavathi, 2013 ; Kadidiatou, 2017 ; Newman et al., 2020).

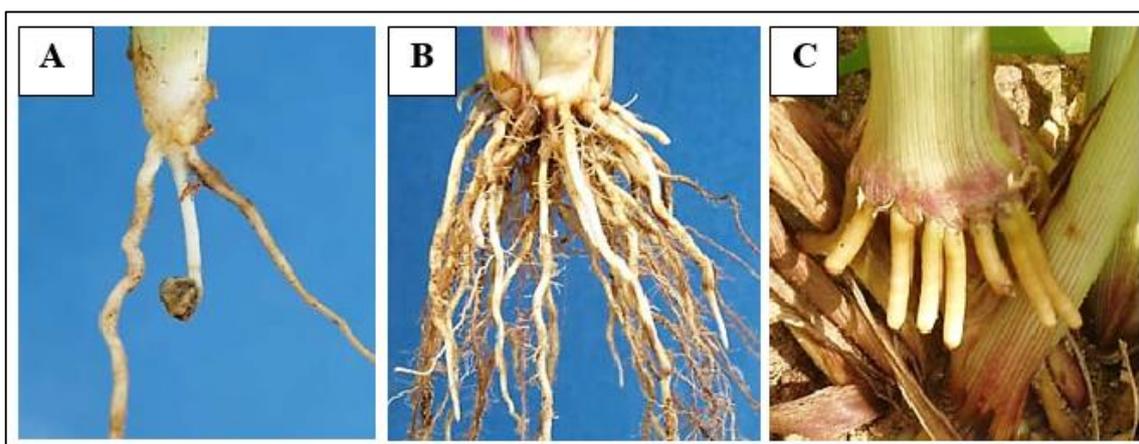


**Figure 1** : Le millet perlé.

**A** : Champ de mil, **B** : Structure de la plante (Tara-Satyavathi, 2013 ; Rickysoni, 2023).

## 2.1 Le système racinaire

Le mil a un type de système racinaire monocotylédone typique composé de trois types de racines : La racine séminale, ou la racine primaire (dérivée directement de la radicule), les racines adventives (se développent à partir de nœuds à la base de la tige), et les racines coronaires (ou du collet, qui proviennent de plusieurs nœuds inférieurs de la tige à fleur du sol ou un peu plus haut sur la surface du sol) (Figure 2). (Maiti & Bidinger, 1981 ; Tara-Satyavathi, 2013 ).



**Figure 2** : Les types de racines chez le mil.

**A** : racine primaire, **B** : racines adventives, **C** : racines coronaires (Tara-Satyavathi, 2013).

La racine de millet perlé peut pénétrer jusqu'à 180cm et atteindre une longueur totale de 1500m par m<sup>2</sup> de la surface cultivée et toucher 3000m par m<sup>2</sup> à la récolte avec une masse de 35g par m<sup>2</sup>. Dans les sols sablonneux, un plant de millet perlé mature peut étendre ses racines jusqu'à environ 3m pour absorber l'eau. Chez les plantes à tallage important, les racines ont plus

d'étalement horizontal que de pénétration profonde. Il a été observé que les génotypes tolérants à la sécheresse de début de saison (3 à 15 jours après le semis) ont 30% de longueur de racines en plus que les génotypes sensibles. (Tara-Satyavathi, 2013).

### 2.1.1 Développement du système racinaire

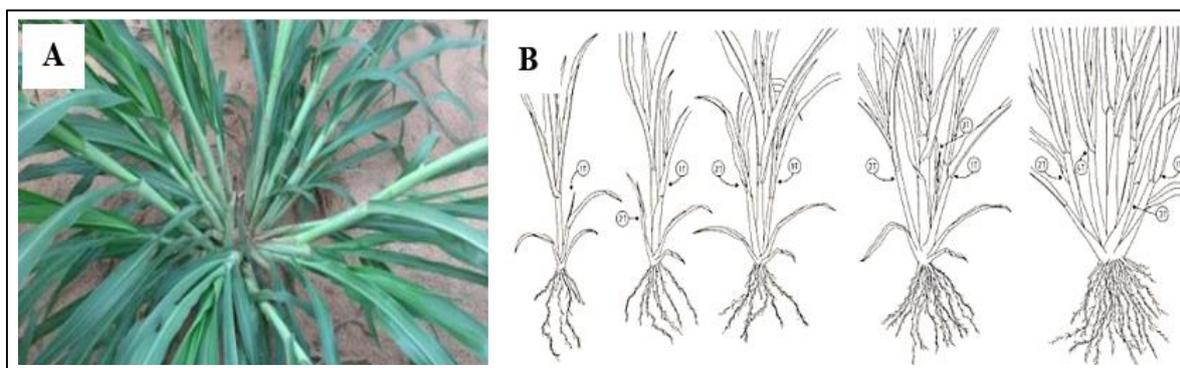
Le développement et la croissance des différents types de racines est résumé dans le tableau I (Tara-Satyavathi, 2013).

**Tableau I** : Les types de racines du millet perlé, leur temps de développement et leur persistance (Tara-Satyavathi, 2013).

Types	Temps de développement	Efficace jusqu'à
Primaires	Au bout de 4 jours	45-60 jours
Adventives	8 à 12 jours	Maturité
Couronne	30 à 40 jours	Maturité

## 2.2 La tige et les nœuds

La tige, de forme ronde ou ovale, a un diamètre de 0,5 à 1,5cm, elle peut atteindre 2,5cm. Elle est douce et fine au goût agréable ayant une très faible teneur en fibres. L'accumulation de matière sèche est augmentée dans la tige du mil long, ce qui limite l'augmentation du rendement en grain de ces types. Le mil a un bon tallage (**Figure 3**) qui part de la base de la plante, rarement par la tige. (Maiti & Bidinger, 1981 ; Tara-Satyavathi, 2013 ; Newman et al., 2020).



**Figure 3** : Le tallage du millet perlé. **A** : Le tallage ; **B** : Le développement de tiges: 1T= la première tige, 2T= la deuxième tige, etc. (Maiti & Bidinger, 1981 ; Tara-Satyavathi, 2013 ; Hamadou et al., 2017 ; Newman et al., 2020).

Les nœuds sont légèrement enflés. La longueur internodale augmente de la base de la tige vers le haut. Une seule feuille apparaît sur chaque nœud dans une orientation alternée. Il existe des variations génotypiques pour la croissance, l'épaisseur, la longueur et la couleur des entrenœuds des tiges (**Figure 4**) (Tara-Satyavathi, 2013).



**Figure 4 :** Variation génotypique de l'épaisseur, la longueur et la couleur des entre-nœuds (Tara-Satyavathi, 2013).

### 2.3 Les feuilles et les nervures

Les feuilles sont linéaires, de 20 à 100cm de long et de 0,5 à 7,5cm de large, généralement clairsemées à densément poilues ou glabres. La ligule est peu à densément poilues ou totalement glabres, les poils sont de 2 à 2,5mm de long. La feuille se compose d'une gaine foliaire et d'un limbe (Figure 5) (Tara-Satyavathi, 2013 ; Newman *et al.*, 2020). La nervure médiane peut ou non être proéminente. Les bords des feuilles portent de petites dents de scie. Les stomates sont présents sur les deux surfaces des feuilles en nombre égal, variant d'environ 45 à 96 stomates par mm<sup>2</sup>. Les génotypes à maturation précoce ont moins de feuilles avec une croissance et une émergence plus rapides qui aident à échapper à la sécheresse (Tara-Satyavathi, 2013).

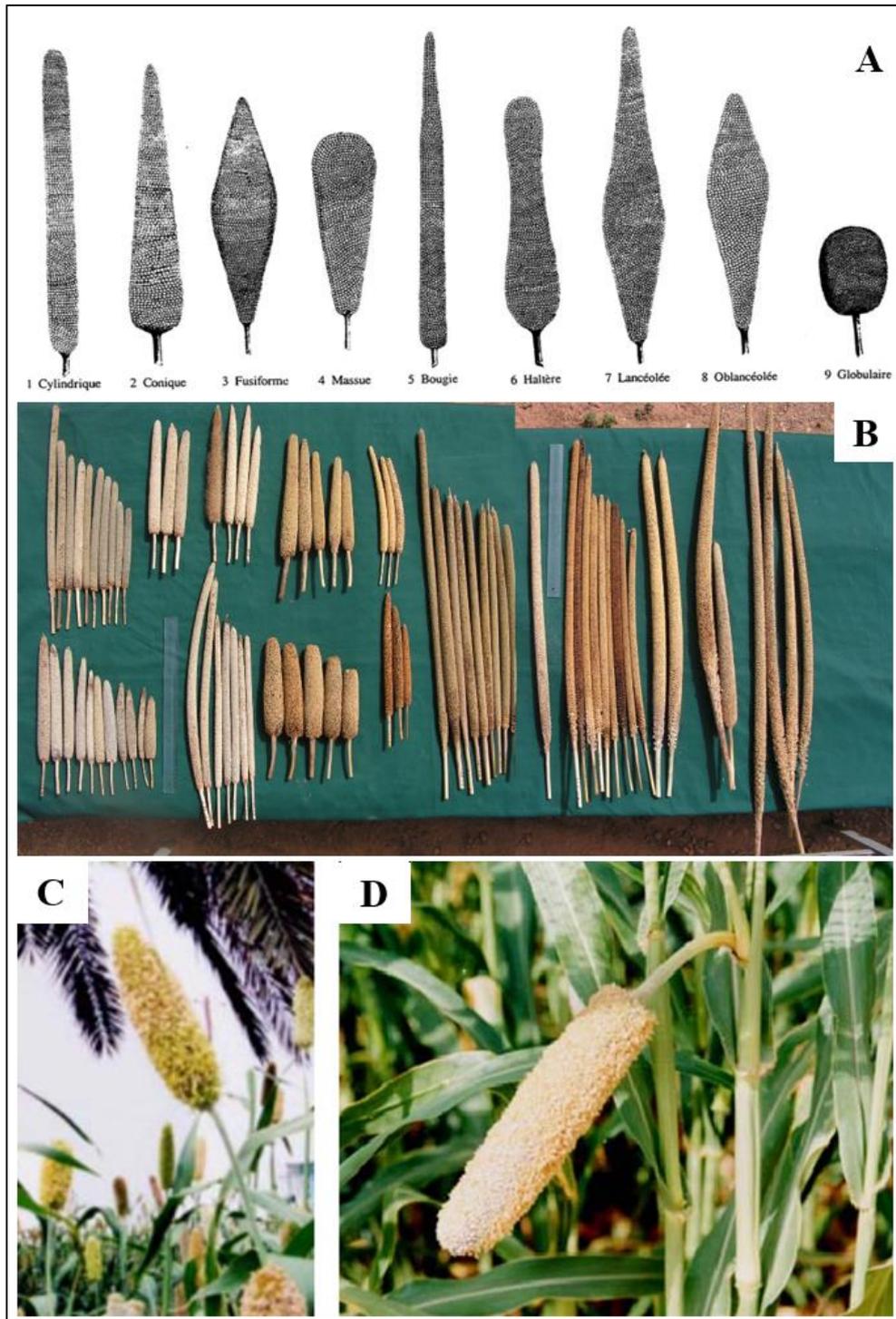


**Figure 5 :** Les poils et nervures de la feuille du millet perlé (Tara-Satyavathi, 2013).

### 2.4 L'inflorescence et la panicule

L'inflorescence est une seule grappe de 10 à 50cm de long qui ressemble à la fleur de la plante aquatique connue sous le nom de quenouille ou la massette (*Typha latifolia*). Le fruit (ou caryopse) est cylindrique appelé la panicule, elle peut prendre plusieurs couleurs selon la couleur des graines : blanc, nacré, verte, jaune, violet, bronze, brun, rouge ou rouge claire

(Newman *et al.*, 2020 ; Maiti & Bidinger, 1981). Selon le descripteur du mil, IBPGR & ICRISAT, (1993), On distingue 9 formes de panicules (Figure 6 A et B). Elle est soit verticalement fixée au sommet du chaume (Figure 6 C), soit penchée (Figure 6 D) et est recouverte de soies d'intensités différentes (Loumerem, 2004).



**Figure 6 :** La panicule de mil.

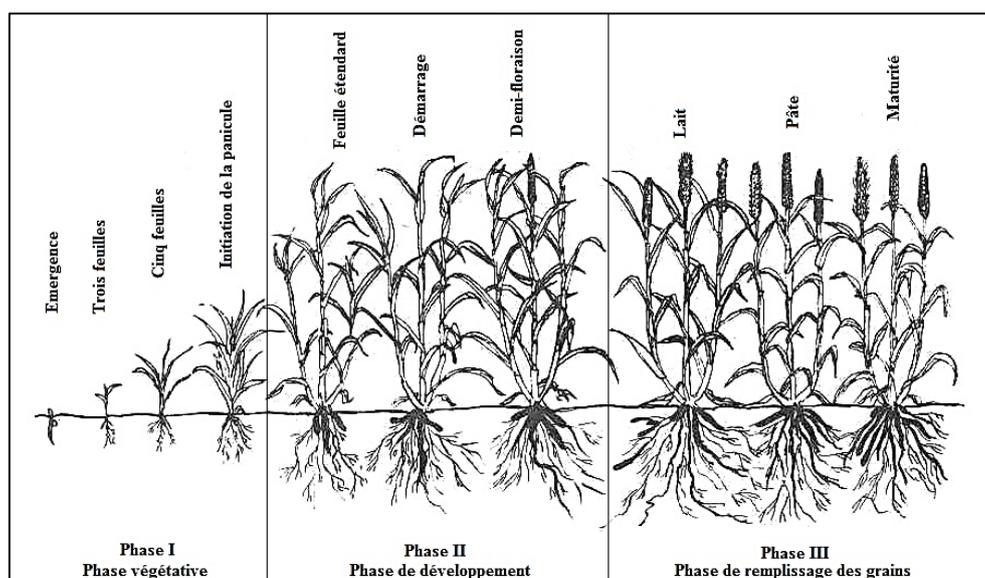
**A et B :** Les différentes formes et tailles ; **C :** Panicule verticale ; **D :** Panicule penchée (Maiti & Bisen, 1976 ; IBPGR & ICRISAT, 1993 ; Loumerem, 2004 ; Rai *et al.*, 2006 ; Tara-Satyavathi, 2013).

### 3. Développement de la plante

La biologie du millet perlé comprend toutes les caractéristiques de croissance et de développement, de la germination à la formation des graines (**Tableau II**). Ces caractéristiques comprennent trois phases de croissance bien définies, à savoir la phase végétative, la phase de la reproduction et la phase de remplissage des grains (**Figure 7**) (Begg, 1965 ; Maiti & Bisen, 1976 ; Gregory & Squire, 1979 ; Maiti, 1979 ; Fussell *et al.*, 1980 ; Kapoor & Yadav, 1980 ; Powers *et al.*, 1980 ; Maiti & Bidinger, 1981 ; Vanangamudi, 1987 ; Maiti, & Kairwal, 1999 ; Tara-Satyavathi, 2013).

**Tableau II** : Les phases de croissance du millet perlé et le temps nécessaire pour chaque phase (Maiti & Bidinger, 1981 ; Tara-Satyavathi, 2013).

Phases de croissance	Caractéristiques d'identification	Jours approximatifs après la levée
<b>Phases de croissance I</b>	Phase végétative	0-21
	Stade d'émergence	2-3
	Stade à trois feuilles	3-7
	Stade à cinq feuilles	7-14
	Stade d'initiation de la panicule	14-21
<b>Phases de croissance II</b>	Phase de développement paniculaire	21-42
	Stade de la feuille étendard	21-28
	Étape de démarrage	28-35
	Stade de demi-floraison	35-42
<b>Phases de croissance III</b>	Phase de remplissage des grains	42-77
	Stade de lait	42-49
	Stade de pâte	49-56
	Maturité physiologique	56-63

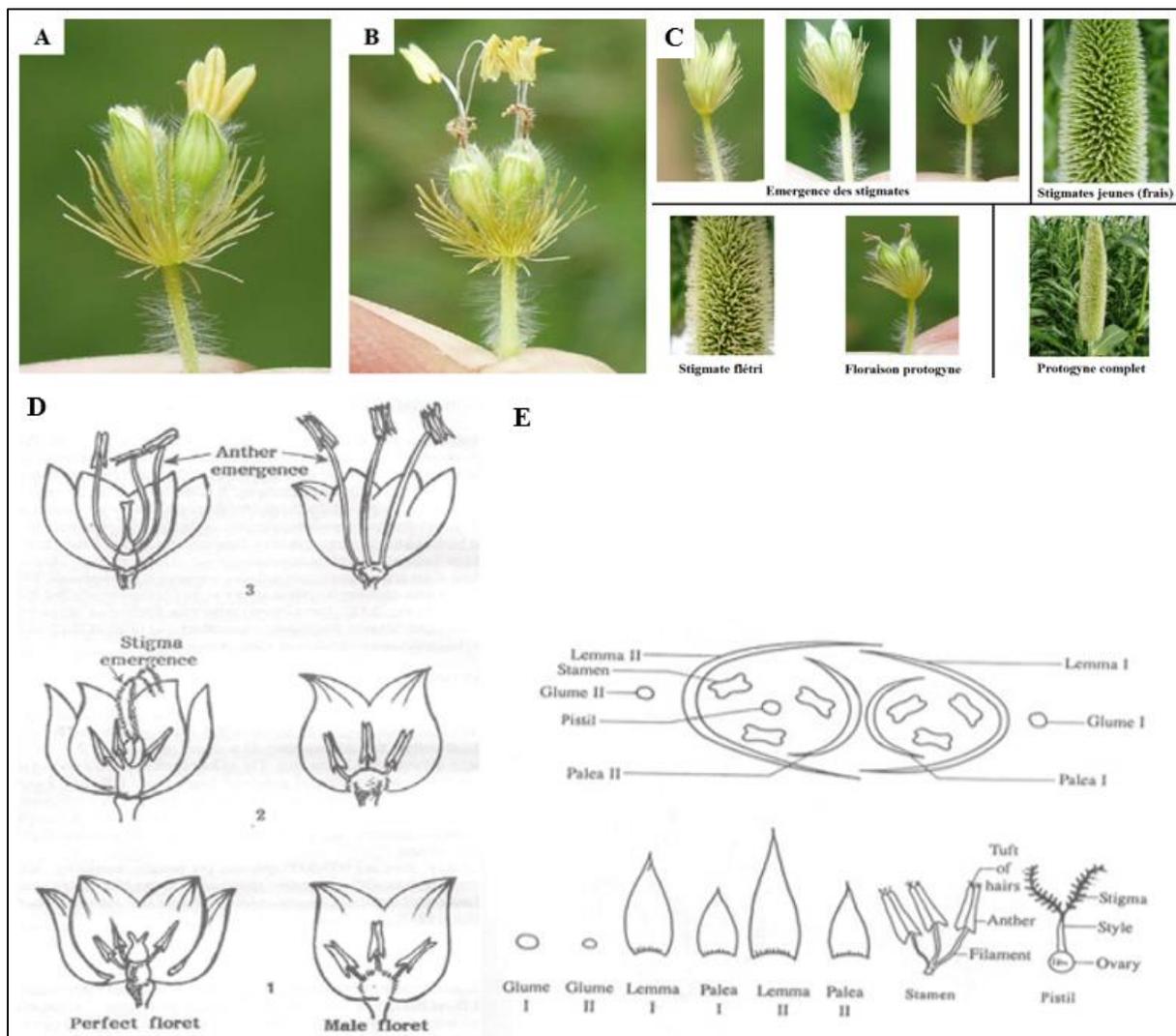


**Figure 7** : Les grandes phases de croissance millet perlé (Maiti & Bidinger, 1981 ; Tara-Satyavathi, 2013).

#### 4. La fleur du millet perlé

Chaque panicule peut former 870 à 3000 épillets avec une moyenne de 1600 épillets. Il y a plusieurs types d'épillets : uniflores, biflores, triflores, il y en a même jusqu'à six fleurs, mais généralement deux. La fleur inférieure est staminée et la fleur supérieure est hermaphrodite. (Figure 8 A et B) (Maiti & Bidinger, 1981 ; Tara-Satyavathi, 2013 ; Hamadou *et al.*, 2017).

Le millet perlé est une espèce protogyne. Les styles commencent à sortir deux à trois jours après l'émergence de la panicule. Dans les fleurs hermaphrodites, les stigmates émergents plus tôt que les anthères et donc les stigmates reçoivent le pollen de l'inflorescence d'autres plantes. Le temps nécessaire à l'émergence complète du stigmate varie de 2 à 3 jours et ils restent réceptifs pendant les deux à trois jours suivants (Figure 8) (Tara-Satyavathi, 2013).



**Figure 8 :** La fleur du mil.

**A :** La fleur mal ; **B :** La fleur hermaphrodite ; **C :** Émergence et réceptivité de la stigmatisation ; **D :** Composition de la fleur mal et hermaphrodite ; **E :** Le diagramme florale (Tara-Satyavathi, 2013).

## 5. La graine du millet perlé

Chaque épillet contient jusqu'à 3000 graine, La graine peut être ronde ou ovale, elle peut prendre plusieurs tailles (entre 2 à 3mm) et plusieurs couleurs (**Figure 9**) (**Hamadou et al., 2017 ; Les Céréales, 2023**).



**Figure 9** : Les différentes couleurs des grains de millet perlé (**Hamadou et al., 2017**).

## 6. Taxonomie, historique et origine du millet perlé

Les études qui entourent le mil nécessite une classification et identification de cette plante, car elle dispose de plusieurs sous espèces et plusieurs variétés.

Selon **N'Doye et al. (2002)**, les types de mil les plus communs sont : Le mil à chandelles ou Mil perlé : *Pennisetum glaucum*. Le mil commun ou mil proso : *Panicum miliaceum*. L'eleusine ou mil digital (finger millet) : *Eleusine coracana*. Le petit mil : *Panicum italica*. Le mil indigène : *Paspalum scrobilatum*. Le mil à grappe ou mil "queue de renard" : *Setaria italica*. Le mil japonais ou mil de Basse-cour : *Echinochloa crus-galli* (**Kadidiatou, 2014**).

### 6.1 Taxonomie

Le millet appartient au genre *Pennisetum*, famille des Poaceae (Gramineae), sous-famille des Panicoideae et tribu des Paniceae. Le genre *Pennisetum* comprend 140 espèces et sous espèces qui sont réparties dans les régions tropicale et subtropicale. (**Hamadou et al., 2017**). Le genre est subdivisé en cinq sections. Le millet perlé appartient à la section *Penicellariae*, qui se caractérise par la présence d'une mince touffe de poils au sommet des anthères et un nombre haploïde de chromosomes qui est égal à 7 ou un multiple de 7. Aussi, la section *Penicillaria* comprend, en plus des mils céréaliers cultivés, un certain nombre de formes d'aspect plutôt fourrager, que l'on ne trouve à l'état spontané qu'en Afrique (**Tostain & Marchais, 1993 ; Bezançon et al., 1997 ; Hamadou et al., 2017**).

D'autres lectures ont cité que le genre *Pennisetum* est regroupé en trois pools géniques, dont le pool primaire est mono spécifique et qui rassemble les trois sous espèces de *P. glaucum* qui s'interfécondent naturellement en donnant des descendances fertiles. Le pool secondaire est constitué de deux espèces *P. purpureum* et *P. squamulatum*, qui peuvent s'hybrider facilement avec *P. glaucum*. Le pool tertiaire regroupe les autres espèces du genre *Pennisetum*. (**Andrews, Rajewski, & Kumar, 1993 ; Hamadou et al., 2017**).

En simplifiant la taxonomie du millet perlé, **Brunken (1977)** a regroupé l'ensemble des mils (mil cultivé et mil sauvage) en une seule espèce biologique avec trois sous-espèces :

La première : *Pennisetum americanum* subsp. *americanum*, auquel appartiennent toutes les formes cultivées anciennement décrites sous l'appellation 'typhoïdes' ; Le deuxième : *P. americanum* subsp. *monodii* qui correspond au mil sauvage et auquel se rattachent les formes spontanées appelées anciennement *P. violaceum* Lam., *P. mollissimum* Hoscht et *P. ramosissimum* Steud. ; et la troisième : *P. americanum* subsp. *Stenostachum* qui regroupe toutes les formes intermédiaires entre les deux précédentes. (**Brunken, 1977 ; Kumar & Adrews, 1993 ; Hamadou et al., 2017**).

Selon **Cole et al., (2019)** dans APG IV, le millet perlé est classé comme suite :

Royaume : Plantae.  
 Clade : Monocots.  
 Clade : Commelinids.  
 Clade : Poales.  
 Famille : Poaceae.  
 Genre : *Pennisetum*.  
 Espèce : *Pennisetum glaucum*.

## 6.2 Appellations du millet perlé à travers le monde

À travers le monde, le mil prend plusieurs appellations locales, preuve de sa large répartition et utilisation. Suite à une entente entre **ICRISAT, IPGRI et USDA en 1986**, Il s'appelle dorénavant *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br (**Djidingar, 1990 ; Loumerem, 2004**). Bien que le nom de « mil » soit fréquent pour définir cette espèce, le terme « millet » est utilisé afin de désigner communément plusieurs espèces de mils (**Kadidiatou, 2014**).

### 6.2.1 En Europe

Français : mil, petit mil, mil perlé, mil à chandelle, mil d'Égypte, penicillaire ; Anglais : pearl millet, cat-tail millet, bulrush millet, spiked millet, candle millet (**Leonard & Martin, 1963 ; Bezançon et al., 1997 ; Van-Damme, 2003**).

### 6.2.2 En Afrique

Tchad : dokane ou dokona, ligui ; Mali : souna, tiotioni, sanio ; Niger : boudouma, ba angoure, haini, kirei, soumno, zongo ; Nigeria : gero (hausa), emeye (yoruba), maiwa ; Tunisie : droo, gssab ; Soudan : duhun, dukhon (**Leonard & Martin, 1963 ; Kumar & Appa-Rao, 1987 ; Clément et al., 1993 ; Lespinasse et al., 1993 ; Dendy, 1995 ; Appa-Rao et al., 1996 ; Rai et al., 1997**).

### 6.2.3 En Asie

Inde : bajara, bajira, bajri (hindi), sajje, chin yü-ku, bajri, sajja, cumbu, ganti ; Pays arabes : dochn ou duchn (Leonard & Martin, 1963 ; Kumar & Appa-Rao, 1987 ; Dendy, 1995 ; Appa-Rao et al., 1996 ; Rai et al., 1997).

### 6.3 Origine et domestication du mil

Des études archéologiques ont démontré que l'utilisation du millet perlé date de 3000 ans avant J.-C. au Nord du Mali. Le millet perlé existait dans sa forme sauvage il y a 5000 ans avant J.-C. dans la même région, ceci indique que l'Homme a exercé la domestication il y a environ 3000 ans avant J.-C. (Figure 10) (D'Andrea et al., 2001 ; Manning et al., 2011 ; Fuller et al., 2021).

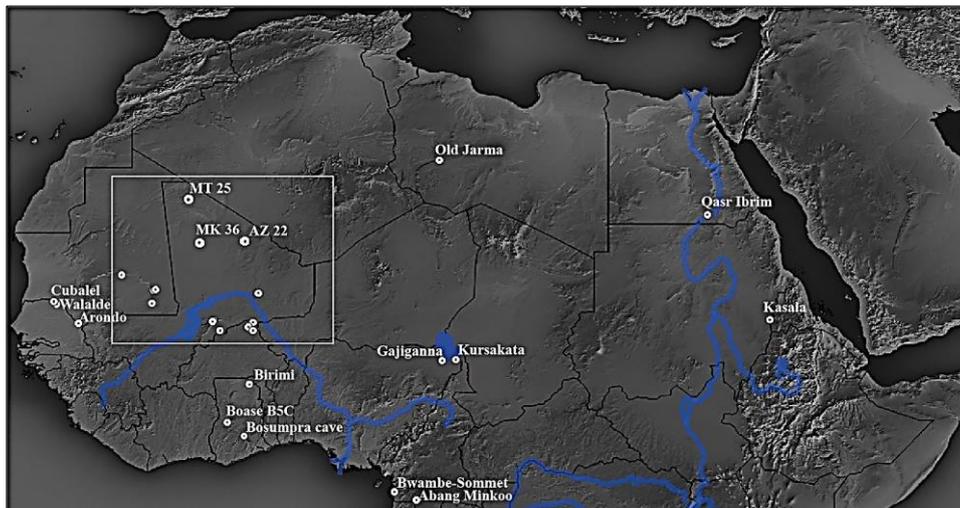


Figure 10 : Carte des preuves archéologiques de millet perlé (Fuller et al., 2021).

Le mil domestiqué en Afrique de l'Ouest s'est propagé rapidement pour atteindre l'Inde 3000 ans avant J-C où différents cultivars ont été mis au point faisant de cette région le 2<sup>ème</sup> centre de diversification qui se place après le Sud de l'Afrique de l'Ouest. Actuellement, le mil est produit par plusieurs pays vu ses bienfaits importants (Figure 11) (Marchais et al., 1993 ; Manning et al., 2010 ; Hamadou et al., 2017 ; ATLASOCIO, 2022).

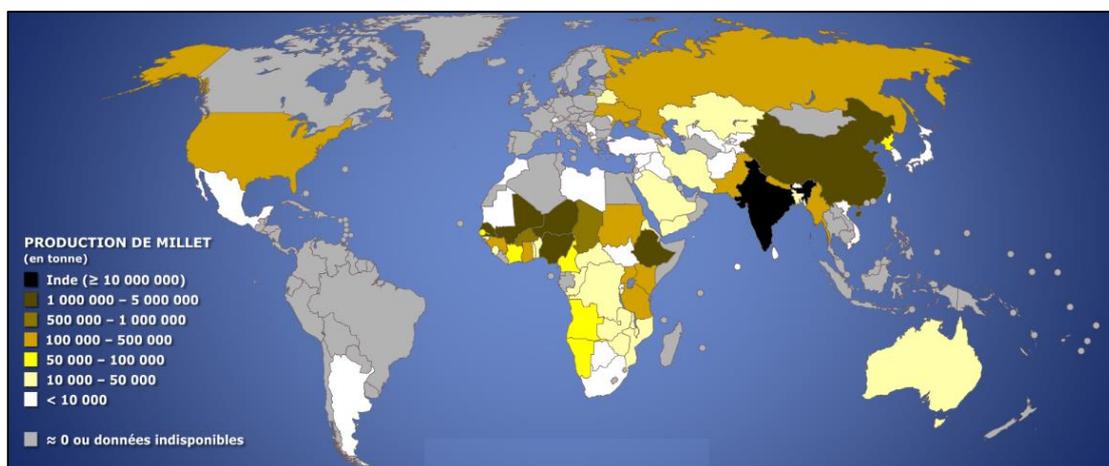


Figure 11 : Carte du monde : production de millet par État (ATLASOCIO, 2022).

## 7. Composition chimique des graines du mil

Comparé aux autres céréales telles que le riz, le blé et le maïs, le millet perlé a une valeur nutritionnelle élevée (**Tableau III**). Il pourrait bien remplacer le maïs, le sorgho et le blé dans la ration des volailles (**Andrews et al., 1993 ; Amadou et al., 2013 ; Hamadou et al., 2017**).

**Tableau III** : Composition chimique du grain de millet perlé comparativement à d'autres céréales (par 100g de matière sèche) (**Rooney & McDonough, 1987 ; Loumerem, 2004 ; Nambiar, 2011 ; Hamadou et al., 2017**).

Constituants	Mil	Blé	Riz	Sorgho	Maïs
Acide folique (mg)	45,5	36,6	8	20	-
Calcium (mg)	42	41	10	25	9
Carbohydrates (g)	67,5	71,2	78,2	72,6	24,6
Cendres (g)	2,3	-	-	-	-
Cuivre (mg)	0,5	-	-	-	-
Cystine (%)	1,8	-	-	-	-
Fer (mg)	8	5,3	0,7	4,1	1,1
Fibres (g)	1,2	1,2	0,2	1,6	1,9
Humidité (g)	10,0	-	-	-	-
Leucine (%)	9,5	-	-	-	-
Lysine (%)	3,2	-	-	-	-
Magnésium (mg)	137	138	90	171	40
Manganèse (mg)	0,8	-	-	-	-
Matières grasses (g)	5,0	1,5	0,5	1,9	0,9
Méthionine (%)	1,8	-	-	-	-
Minéraux (mg)	2,3	1,5	0,6	1,6	0,8
Niacine (mg)	2,3	5,5	1,9	3,1	0,6
Phénylalanine (%)	4,1	-	-	-	-
Phosphore (mg)	296	306	160	222	121
Potassium (mg)	418,0	-	-	-	-
Protéines (g)	11,6	11,8	11,6	10,4	4,7
Riboflavine (mg)	0,25	0,17	0,06	0,13	0,17
Sodium (mg)	10,9	17,1	-	7,3	51,7
Thiamine (mg)	0,33	0,45	0,06	0,37	0,11
Thréonine (%)	3,3	-	-	-	-
Tryptophane (%)	1,4	-	-	-	-
Tyrosine (%)	3,0	-	-	-	-
Valeur énergétique (Kc)	353,0	-	-	-	-
Valine (%)	4,9	-	-	-	-
Vitamine A (RE)	132	64	0	47	32
Vitamine C (mg)	0	0	0	0	6
Zinc (mg)	3,1	2,7	1,4	1,6	-

## 8. Rôles et utilisations du mil

Le mil représente une céréale de base pour les populations des zones arides et semi-arides. En outre, la valeur énergétique du mil est l'une des plus élevées parmi les céréales (Nambiar, 2011). Ainsi, le mil fait objet de multiples usages selon les zones géographiques et les pratiques socioculturels. Ces usages vont de la transformation du grain comme ressource alimentaire ou médicinale à la valorisation de la paille (chaume) comme œuvres d'art ou comme fourrage en passant par les usages comme biocarburant ou bois de chauffage. (Hamadou et al., 2017).

### 8.1 Valeur fourragère du mil

Le mil fourrager est une culture populaire aux États-Unis et en Australie, avec une utilisation de plus de 10 hybrides pour différentes caractéristiques : rendement élevé, plusieurs coupes par saison, une qualité supérieure, une tolérance aux maladies et à la sécheresse et une valeur nutritive élevée (Tableau IV). En outre, le mil fourrager ne produit pas de l'acide prussique, cause d'intoxication aiguë chez les animaux. Au Niger, après la récolte des panicules de mil, la paille qui en reste connaît une multitude d'usages dans l'alimentation du bétail (Jaster et al., 1985 ; Andrews et Kumar, 1992 ; Hanna & Gupta, 1999 ; Nantoumé et al. 2000 ; Banks & Stewart, 2003 ; Bouchard et al., 2011 ; Soumana et al., 2016).

**Tableau IV** : La valeur nutritive du fourrage du millet comparée à celle du maïs (Nantoumé et al. 2000 ; Banks & Stewart, 2003).

Éléments	Millet	Mais
Acid detergent fiber (ADF) (g/kg MS)	313-425	295
Calcium (g/kg MS)	2,1	2,9
Cellulose brute (g/kg MS)	458	418
Cendres (g/kg MS)	157	80
Dégradabilité (g/kg MS)	640-690	730
Énergie nette de lactation (Mcal/kg)	1,3-1,5	2,3
Fibres (g/kg MS)	90-180	86
Lignine (g/kg MS)	35-63	49
Matière organique (g/kg MS)	843	920
Matière sèche (g/kg brut)	891	899
Matières azotées totales (g/kg MS)	39	22
Neutral detergent fiber (NDF) (g/kg MS)	580-685	540
Phosphore (g/kg MS)	2,2	0,7

## 8.2 Le mil comme biocarburant

Les biomasses utilisées pour la fabrication d'éthanol peuvent se distinguer en fonction de la matière première, soit les biomasses amylacées, sacchariques et cellulosiques. La biomasse cellullosique, dont le millet perlé sucré fait partie, est avantageuse du fait que l'efficacité de la fermentation et le bilan énergétique sont supérieurs à ceux des biomasses amylacées. Le millet sucré a été dès lors saisi pour produire de l'éthanol au Canada (**Bernardes, 2012**).

## 8.3 La valeur médicinale du mil

Le millet perlé attire beaucoup l'intention grâce à ses effets thérapeutiques (**Hanane, 2013**). La richesse des grains de mil en calories fait d'ailleurs que sa consommation est spécialement recommandée aux enfants, aux convalescents, aux personnes âgées et aux femmes enceintes (**Békoye, 2011**).

### 8.3.1 Consommation du mil et la pellagre

Le contenu minéral global du millet perlé est de 2,3 mg/100g, ce qui est élevé par rapport aux céréales couramment consommées. Il est riche en vitamines B, en potassium, phosphore, magnésium, fer, zinc, cuivre et manganèse (**Ramulu & Rao, 2003**). Les noyaux mûrs des grains de mil séchés ne contiennent pas de vitamine C et les vitamines B sont concentrées dans la couche d'aleurone et le germe. Le retrait de la coque par décorticage réduit les niveaux de thiamine, riboflavine et niacine d'environ 50% dans la farine. La teneur en niacine dans les graines de mil décortiquées est toujours importante. C'est pourquoi la maladie de la carence en vitamine B3, la pellagre, n'a pas été trouvée dans les zones où la consommation du mil est très importante (**Léder, 2004 ; Nambiar et al., 2011**).

### 8.3.2 Consommation du mil et l'anémie

La consommation du mil est également très indiquée pour les personnes souffrant d'anémie à cause de sa richesse en fer (**Amadou et al., 2013**). Le millet perlé contient une quantité élevée de fer et de zinc (**Nin, 2003**), qui peut aider à augmenter le taux d'hémoglobine. Cependant, la présence de plusieurs non-nutriments tels que les phytates et les polyphénols peut diminuer la biodisponibilité du fer (**Sharma & Kapoor, 1996 ; Nambiar et al., 2011 ; Hanane, 2013**).

### 8.3.3 Consommation du mil et la constipation

La teneur élevée en fibres du mil peut être largement utilisé pour préparer des aliments pour les personnes qui ont besoin d'alimentation riche en fibres, en particulier, il est utile dans le traitement de l'obésité et des problèmes de constipation (**Ramulu & Rao, 2003**).

### 8.3.4 Consommation du millet perlé et le cancer

Le mil contient un niveau élevé de composés phénoliques antioxydants, notamment les flavonoïdes, pouvant inhiber le développement des tumeurs. Par conséquent, il peut avoir des propriétés anticancéreuses. Ces composés sont concentrés dans le péricarpe et les testas. Étant donné que traditionnellement, l'ensemble du grain du mil est moulu, les produits fabriqués à base de la farine offriraient des bienfaits pour la santé par les flavonoïdes et les phénols (**Nambiar et al., 2011**).

#### 8.4 La valeur artisanale du mil

Dans les zones de production du mil notamment en Afrique, il est observé après la récolte des panicules, que les tiges sont utilisées pour servir de combustible ou pour la confection de nombreux œuvres d'arts entrant dans la construction des greniers, des maisons, des portes ou des lits traditionnels (Hamadou et al., 2017).

#### 8.5 La valeur socioculturelle du mil

Le mil fait l'objet de diverses considérations sociales dans certaines sociétés africaines qu'il s'agisse du suivi des itinéraires techniques de sa production (semis, entretiens, récolte) ou dans sa consommation en tant que céréale alimentaire de base dans ces sociétés. Ainsi, il est observé comme tradition dans les sociétés Djerma-Songhaï et Haoussa du Niger, que le jeune marié prélève 1 à 2 voire 3 sacs de mil pour donner à sa belle-famille pendant les congés de maternité de sa femme (Hamadou et al., 2017).

### 9. Les exigences environnementales du millet

Le millet est une plante à jour court quoi qu'il existe des variétés indifférentes à la longueur du jour (Vietmeyer, 1996). Il exige, pour son développement, une somme de température de 20 à 25°C. Ses températures de germination sont de 10-12°C au minimum, 37-44°C à l'optimum et 44-50°C au maximum (Loumerem, 2004). Le millet est une céréale plus tolérante à la sécheresse que le sorgho et le maïs et peu exigeante sur la nature du sol. Le millet se caractérise par une forte aptitude à mettre en place des mécanismes physiologiques qui lui permettent de tolérer la sécheresse. (Bezançon et al., 1997 ; Moumouni et al., 2015).

### 10. Les contraintes à la production du mil

Le mil, comme la plupart des plantes et cultures céréalières, rencontre une gamme de contraintes qui peuvent mettre en péril la production de grains, et de ce fait son rendement. Ces contraintes sont d'ordre biotique et abiotique. (Kadidiatou, 2014).

#### 10.1 Les contraintes abiotiques

Le mil est une plante qui s'adapte aux terres marginales. Cependant, les zones semi-arides où il est fréquemment cultivé présentent une variation importante du point de vue pluviométrique. À titre d'exemple, au Niger, cette variabilité va de 200-800 mm/an. Les sols qui caractérisent ces zones sont généralement sableux ou argilo-sableux, légers, ferrugineux et surtout très pauvres en matières organiques (Sivakumar et al., 1993) et en phosphore. La variabilité des dates de semis en début de campagne, le semis à sec en cas de retard des pluies, les sécheresses possibles en cours de campagne et le peu d'intrants apportés au sol par les paysans constituent des contraintes importantes dans la croissance de la plante. En dehors de ces pressions s'y ajouter les contraintes biotiques. (Kadidiatou, 2014).

#### 10.2 Les contraintes biotiques

Elles englobent les maladies virales, fongiques et autres ennemis ravageurs.

### 10.2.1 Les maladies de champignons et de plantes parasitaires

Plusieurs champignons et parasites sont dévastateurs pour la culture du mil, on peut citer les plus couramment observés ci-dessous.

#### 10.2.1.1 Le mildiou

Provoqué par un champignon, *Sclerospora graminicola*, il constitue l'une des principales maladies du mil qui sévit dans les zones tropicales arides. La maladie a été rapportée pour la première fois par **Butler (1907)**. Dans certaines régions, elle cause de 10 à 50 % de perte de rendement chez le mil (**Kumar & Manga, 2011**) et se caractérise par la transformation partielle ou totale de l'épi en organes foliacés (**Figure 12**) ou la mort totale de la plante (**Kadidiatou, 2014**). Les méthodes de lutte contre le mildiou sont de trois types : techniques culturales (travail du sol, alternance de semis), lutte chimique (fongicides) et résistance de la plante hôte (amélioration de la variété et sélection) (**Singh et al., 1993**).



**Figure 12** : Le mildiou.

Différents types de difformité (l'épi de gauche est sain) (**Kadidiatou, 2014**).

#### 10.2.1.2 Le charbon

Le charbon du millet est la deuxième cause de perte de rendement. Cependant, son impact sur les rendements est variable d'une zone à une autre et d'une année à l'autre. La maladie est due à *Tolyposporium penicillariae*, un champignon largement répandu dans le monde. Il provoque des pertes directes des grains en les remplaçant par des sores de charbon. Ces pertes de rendement s'élèvent jusqu'à 30 % (**Thakur & King, 1988b**). La maladie se caractérise par la transformation des grains de mil en glomérules verdâtres puis noirs à maturité (**Figure 13 A1 et A2**). On lutte principalement contre le charbon en utilisant des variétés résistantes ou tolérantes ou en arrachant et en brûlant les plantes atteintes. (**Kadidiatou, 2014**).

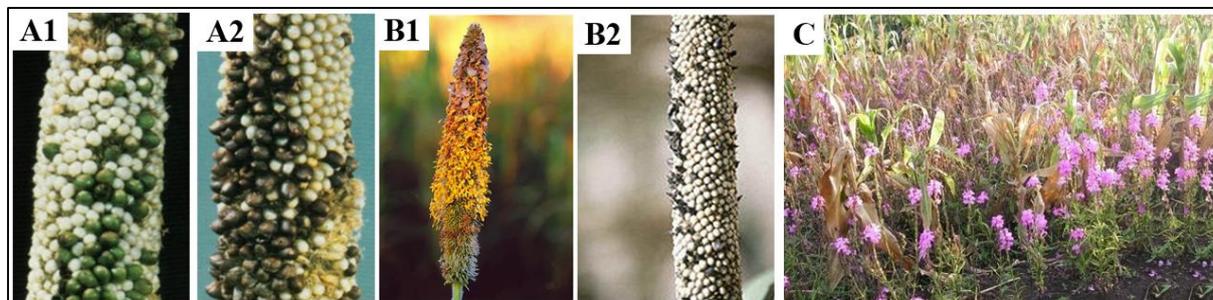
#### 10.2.1.3 L'ergot de mil

L'ergot de mil, causé par *Claviceps fusiformis*, est très répandu en Asie et en Afrique. Il est parfois très dévastateur. La maladie, observable au stade de la floraison, diminue le

rendement en grains en les remplaçant par des sclérotés contenant un exsudat sucré mais toxique, ce qui rend le produit impropre à la consommation (**Figure 13 B1 et B2**). Les pertes peuvent atteindre 58 à 70 % (**Thakur & King, 1988a**). Comme pour le charbon, la lutte contre l'ergot du mil est basée principalement sur l'utilisation de variétés résistantes ou tolérantes ou sur l'arrachage et le brûlage des plantes atteintes.

#### 10.2.1.4 Les Adventices

En zone sahélienne, *Striga hermonthica*, constitue un des facteurs non négligeables, responsables de la baisse du rendement du millet. C'est une plante parasite s'attaquant à une large gamme de céréales (**Figure 13 C**). Elle infeste plus de 40 % des superficies de production céréalière et cause une perte de rendement comprise entre 90 et 100 %. Il est possible de lutter contre la Striga en augmentant la fertilité du sol par les techniques culturales et par l'utilisation de cultivars résistants (**Hess & Ejecta, 1992 ; Wilson et al., 2000 ; Wilson et al., 2004 ; Amadou, 2009**).



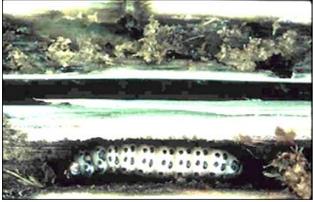
**Figure 13** : Infections et parasites chez le mil.

**A1 et A2** : Infection par le charbon ; **B1 et B2** : Ergot de mil ; **C** : Infestation par *Striga hermonthica* (**Thakur & King, 1988b ; Kadidiatou, 2014**).

#### 10.2.2 Les insectes

La mineuse de l'épi, *Heliocheilus albipunctella*, le foreur de tige *Coniesta ignefusalis*, les insectes floricoles tels que *Dysdercus völkeri* et *Spilostethus pandurus* ainsi que les acridiens (*Schistocerca gregaria*) (**Tableau V**) ont aussi une incidence importante sur la production. Pour lutter contre les attaques de ces divers insectes, on utilise généralement l'arrachage et le brûlis des plants atteints, les pratiques culturales, la fumigation des champs, le développement de variétés tolérantes et les insecticides (**Cheke et al., 1980 ; Krall et al., 1995 ; Youm et al., 1998 ; Youm & Owusu, 1998 ; Loumerem, 2004 ; Derreumaux, 2008 ; Kadidiatou, 2014**).

Tableau V : les différents insectes ravageurs du millet perlé (Kadidiatou, 2014).

Nom scientifique	Nom commun	Photo
<i>Heliocheilus albipunctella</i>	La mineuse de l'épi. (Ruparao et al., 2019)	
<i>Coniesta ignefusalis</i>	Foreur de tige (Kadidiatou, 2014)	
<i>Dysdercus völkeri</i>	Punaise (Wikiniger, 2018)	
<i>Spilostethus pandurus</i>	Punaise rouge (Kadidiatou, 2014)	
<i>Schistocerca gregaria</i>	Criquet pèlerin (Kadidiatou, 2014)	

### 10.2.3 Les oiseaux

Parmi les oiseaux ravageurs du millet, l'espèce *Quelea quelea*, ou travailleur à bec rouge (Figure 14), attaque le millet surtout au stade pâteux et parfois au stade laiteux des grains (Rachie & Majmudar, 1980). C'est un oiseau qui se présente en colonie et peut causer d'énormes dégâts. La solution pour ce ravageur c'est de construire une structure recouverte de grillage en plastique (Figure 15) ou installer des épouvantails (Kadidiatou, 2014).



**Figure 14 :** Le travailleur à bec rouge (*Quelea quelea*). (Kadidiatou, 2014)



**Figure 15 :** Lutte contre les oiseaux (Loumerem, 2004).

L'importance du millet combinée aux contraintes auxquelles est soumise cette céréale fait apparaître la nécessité de l'améliorer. Car c'est le meilleur moyen pour lutter contre les contraintes biotiques et abiotiques. Prospector dans le domaine de la génétique semble à l'heure actuelle l'une des plus grandes options d'amélioration. (Kadidiatou, 2014).

**Chapitre II**  
**Les métabolites**  
**secondaires**

## Introduction

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec son entourage, tels que les parasites, les pathogènes et les prédateurs, mais aussi les pollinisateurs et les disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires (Krief, 2003).

### 1. Définition

Les métabolites secondaires sont des composés phytochimiques indirectement impliqués dans les processus vitaux de bases (la croissance, la division cellulaire, la respiration, la photosynthèse, la reproduction), contrairement aux métabolites primaires. Ils vont avoir des fonctions spécifiques en réponse à une adaptation à un environnement (Macheix *et al.*, 2005 ; Li-Marchetti & Quenum, 2020). Certains des principaux rôles pour la plante sont :

- > La protection des plantes contre ravageurs et pathogènes
- > L'allélopathie (compétition plante-plante)
- > La symbiose plante-microbe au niveau des nodules racinaire
- > La couleur, l'odeur et le goût. Ils peuvent donc servir d'attractifs pour les pollinisateurs.

Les métabolites secondaires présents dans les plantes ont une forte utilisation en médecine pour prévenir diverses maladies qui vont de la migraine au cancer. (Rooney & Mc. Donough, 1987 ; Vietmeyer, 1996 ; Li-Marchetti & Quenum, 2020).



**Figure 16** : Classification des métabolites secondaires. (Labbani, 2021)

Actuellement, nous avons pu décrire plus de 20.0000 métabolites secondaires classés selon leurs appartenances chimiques (Labrani, 2021).

## 2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs classes : Les alcaloïdes, les terpènes, les stérols, les stéroïdes, les saponines et les composés phénoliques (Nsemi, 2010).

### 2.1 Les alcaloïdes

Les composés azotés se divisent en deux groupes : les acides aminés (qui n'appartiennent pas aux métabolites secondaires) et les alcaloïdes. Ces derniers sont des composés organiques naturels hétérocycliques avec un atome d'azote comme hétéroatome. Ce sont des substances à caractère alcalin. Les alcaloïdes constituent un des groupes de métabolites secondaires contenant de 10000 à 12000 différentes structures (Stöckigt, 2002 ; Nsemi, 2010).

Dotés d'une structure moléculaire complexe, beaucoup d'entre eux sont toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), mais d'autres sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine) (Figure 17), sédatifs (atropine) et anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine). La morphine a été le premier alcaloïde isolé dans l'opium (vers 1805). Puis on découvrit la strychnine (en 1818) (Nsemi, 2010).

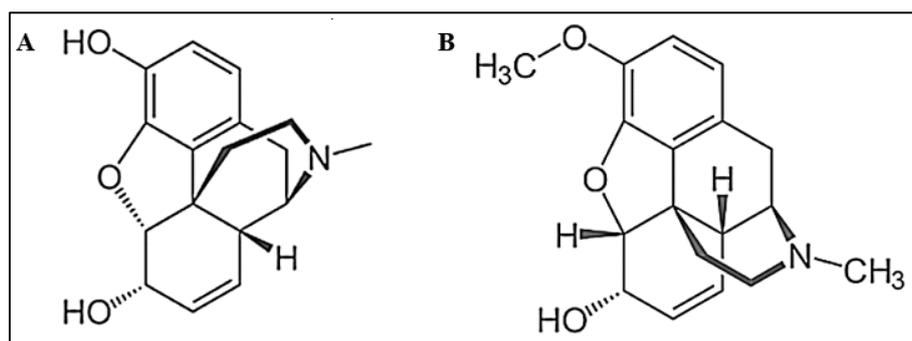
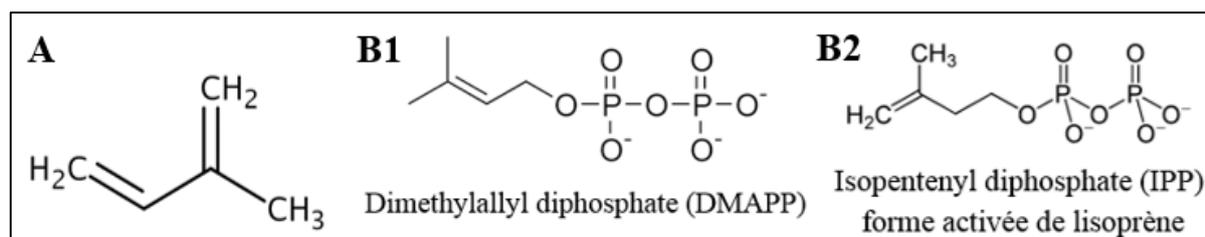


Figure 17 : Les alcaloïdes.

(A) : La morphine, (B) : La codéine (Le-Quan-Sang, 2005 ; Michenot, 2018).

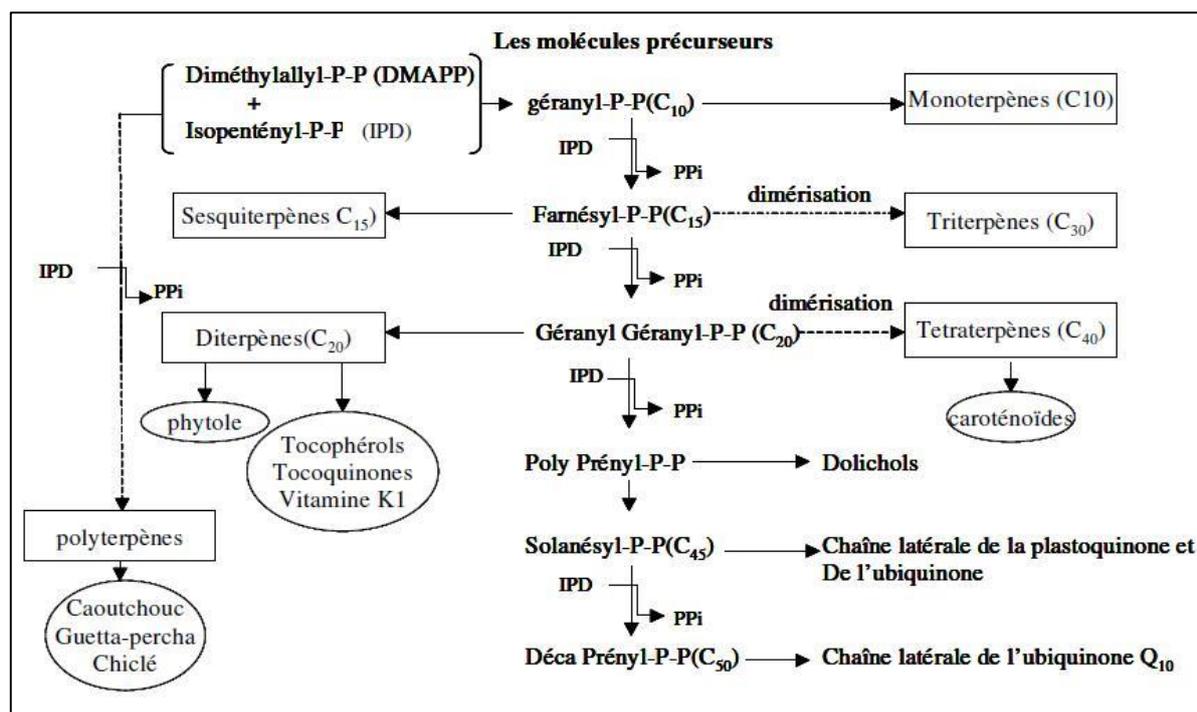
### 2.2 Les terpènes

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures. Ce sont des dérivés de l'isoprène  $C_5H_8$  (Figure 18 A) ayant pour formule de base des multiples de celle-ci  $(C_5H_8)_n$ , produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine. (Nsemi, 2010). Le (n) peut atteindre 100 et plus (caoutchouc). Leur nom vient de la turpentine, la plante dans laquelle ils ont été identifiés la première fois. Ils existent très peu chez les animaux (squalène chez les requins). Les terpènes dérivent de la polymérisation/cyclisation de précurseurs uniques en C5 : Le diméthylallyl diphosphate (DMAPP) (Figure 18 B1) et l'isopentenyl diphosphate (IPP) (Figure 18 B2), ce dernier est une forme activée de l'isoprène. La (Figure 19) résume la voie métabolique globale de biosynthèse des terpènes. Les terpènes sont classés selon la valeur du (n) comme dans le tableau VI. (Chibani, 2023).



**Figure 18 :** Unité de base des terpènes.

**A :** L'unité isoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) ; **B1 :** Diméthylallyl diphosphate (DMAPP) ; **B2 :** Isopentényl diphosphate (IPP) (Nsemi, 2010 ; Chibani, 2023).



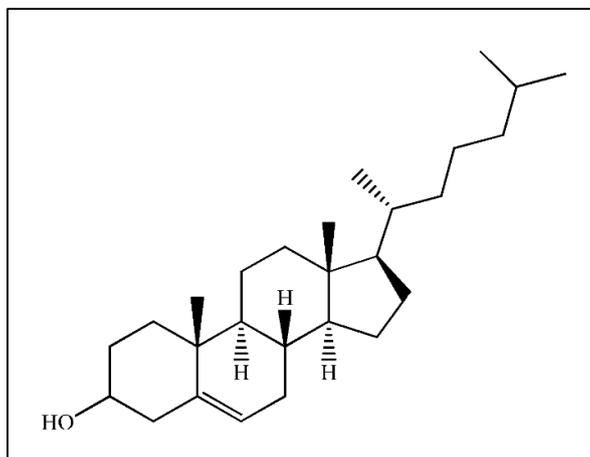
**Figure 19 :** La voie métabolique globale de la synthèse de différentes classes de terpènes (Chibani, 2023).

**Tableau VI :** Classification des terpènes (Chibani, 2023).

Nom	Nombre de carbones	Valeur de n	Exemples
Hémiterpènes	5	n=1	Composé volatil
Monoterpènes	10	n=2	Géranylpyrophosphate
Sesquiterpènes	15	n=3	Farnésylpyrophosphate
Diterpènes	20	n=4	Phytol (linéaire), rétinol et le rétinol (cycliques)
Sesterpènes	25	n=5	3,7,11,15,19-pentaméthyleicosane
Triterpènes	30	n=6	Squalène
Tetraterpènes	40	n=8	Caroténoïdes, apocaroténoïdes, diapocaroténoïdes, mégastigmanes
Polyterpènes	>40	n>8	Prénylchoinones : Vitamines K <sub>1</sub> , K <sub>2</sub> et E.

### 2.3 Les stérols

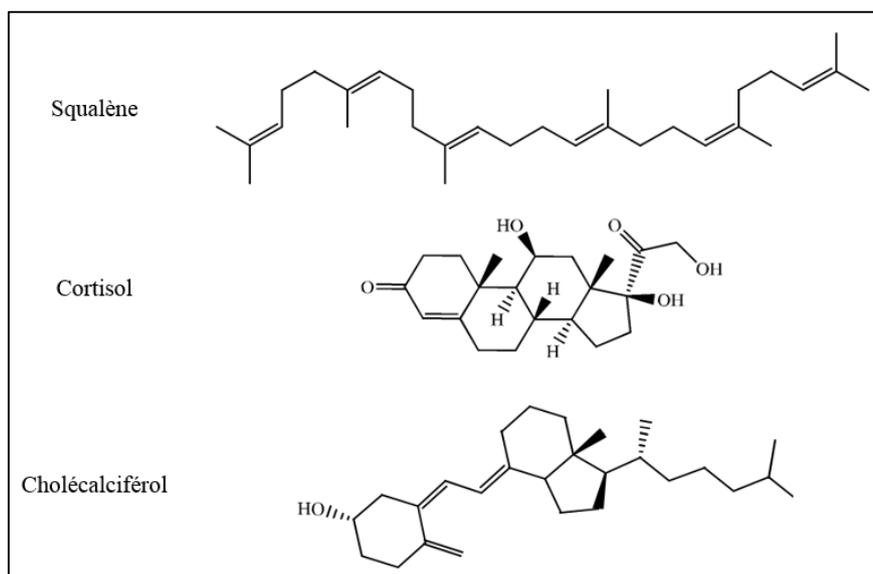
Ce sont des dérivés des phytostérols. Ces composés sont naturellement présents dans la fraction lipidique des plantes. Ils ne sont pas synthétisés par le règne animal, ils ne peuvent être apportés que par l'alimentation. Leur structure générale est composée de 4 cycles. Plusieurs études ont démontré que les phytostérols réduisent l'absorption du cholestérol dans l'intestin grêle. L'exemple le plus courant de stérol est le cholestérol (**Figure 20**) (Nsemi, 2010).



**Figure 20** : Le cholestérol (Nsemi, 2010).

### 2.4 Les stéroïdes

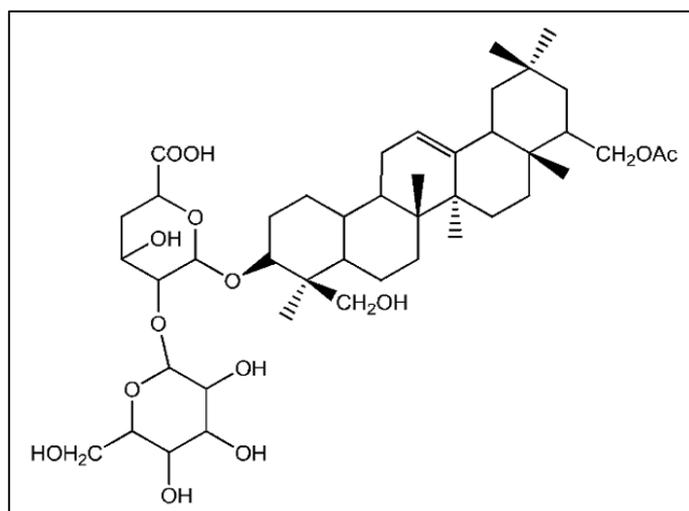
Les stéroïdes constituent un groupe de lipides dérivant de triterpénoïdes (lipides à 30 atomes de carbones), majoritairement le squalène (**Figure 21**). Ils se caractérisent par un noyau stérane hydrophobe (ex. : cortisol) partiellement ou totalement hydrogéné. Habituellement, les carbones C10, C13 sont liés à un groupe méthyle et le carbone C17 est lié à un groupe alkyle. En médecine le terme «stéroïde» fait référence aux hormones stéroïdiennes. Dans un contexte sportif, «stéroïde» est habituellement employé pour désigner les stéroïdes anabolisants (Nsemi, 2010).



**Figure 21** : Structure de la squalène, Cortisol et cholécalciférol (Nsemi, 2010).

## 2.5 Les saponines

Le nom saponine dérive du mot latin «sapo», qui signifie savon, car ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Fondamentalement, on distingue les saponines stériques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux biosynthétiquement de l'oxyde de squalène (**Manach et al., 2004**). La saponine de soja est un exemple (**Figure 22**).



**Figure 22** : Saponine de soja (**Nsemi, 2010**).

De nombreuses revues rapportent que les saponines existent dans les plantes sous forme biologiquement active et sont impliquées dans la phyto-protection antimicrobienne. Les propriétés biologiques de ce métabolite secondaire sont utilisées en médecine traditionnelle, dans l'industrie pharmaceutique vu leur activité anticancéreuse et anti tumorale et dans l'industrie alimentaire et cosmétique. Les applications des saponines s'étendent même à l'agriculture, avec utilisation pour l'assainissement des sols et pesticides naturels (**Hostettman & Marston, 1995 ; Kim et al., 1995 ; Osbourn, 1996a ; Osbourn, 1996b ; Nebeling, 2002 ; Park et al., 2005 ; Kobayashi et al., 2006 ; Chen et al., 2008 ; Chapagain et al., 2007 ; Manase, 2013 ; Wojciechowski, 2013**).

## 2.6 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes proposées par **Harborne (1980) (Tableau VII)**. Ces composés se différencient, d'abord, par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines ou autres métabolites secondaires) (**Macheix et al., 2005**).

Le terme « polyphénols » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols (**Macheix et al., 2005**).

**Tableau VII** : Classification des composés phénoliques (**Harborne, 1988 ; Macheix et al., 2005**).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	Phénols simples (Monophénols)	Catéchol	Acacia à cachou
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Pomme de terre, pomme, Citrus
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C6-C1-C6	Xanthones	Mangiferine	
C6-C2-C6	Stilbènes	Resveratrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes		
	Flavonols	Kaempferol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs
	Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fleurs, fruits rouges
	Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
	Flavanones	Naringénine	Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzeine	Soja, pois
(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C6-C3) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, noyau des fruits
C6-C3-C6	Biflavonoides	Amentoflavone	
(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tannins et tanins condensés		Raisin rouge, kaki

### 2.6.1 Les non flavonoïdes

Ce groupe comprend plusieurs composés parmi lesquels on distingue les acides phénoliques, les naphtoquinones, les xanthones, les stilbènes, les lignanes et lignines, les coumarines et les tanins (**Nsemi, 2010**).

#### 2.6.1.1 Les acides phénoliques

On distingue deux principales classes d'acides phénoliques (**Tableaux VIII et IX**) : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Les dérivés de l'acide benzoïque sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxy cinnamiques sont très présents. (**Macheix et al., 2005**).

Tableau VIII : Dérivés de l'acide benzoïque (Nsemi, 2010).

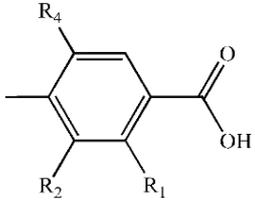
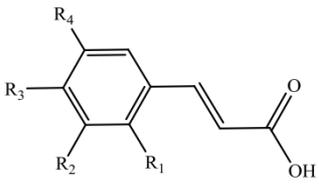
Formule générale	Composé	R1	R2	R3	R4
	Ac. Benzoïque	H	H	H	H
	Ac. Salicylique	OH	H	H	H
	Ac. P-hydroxy-benzoïque	H	H	OH	H
	Ac. Gallique	H	OH	OH	OH
	Ac. protocatéchique	H	OH	OH	H

Tableau IX : Dérivés de l'acide cinnamique (Nsemi, 2010).

Formule générale	Composé	R1	R2	R3	R4
	Ac. Cinnamique	H	H	H	H
	Ac. o-coumarique	OH	H	H	H
	Ac. m-coumarique	H	OH	H	H
	Ac. p-coumarique	H	H	OH	H
	Ac. caféique	H	OH	OH	H

### 2.6.1.2 Les naphtoquinones

Ce sont des dérivés d'oxydation du naphthalène. Ce sont des structures chimiques présentes dans un certain nombre de substances naturelles, par exemple la vitamine K, la juglone du noyer (*Juglans regia*), la lawson du henné (*Lawsonia inermis*), la plumbagone des droseras (*Drosera rotundifolia*). Certains isomères des naphtoquinones présentent une certaine, d'autres sont utilisés comme colorants (Académie Nationale de Pharmacie, 2023).

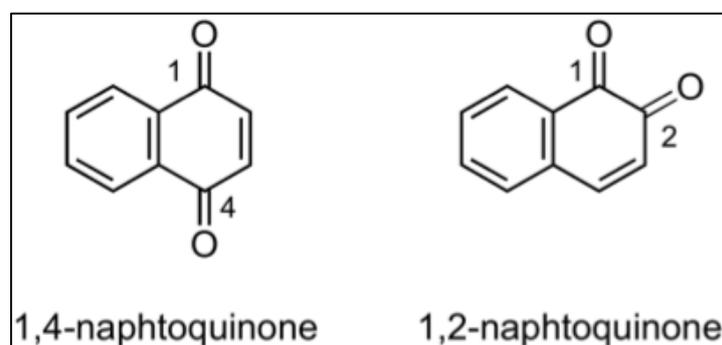
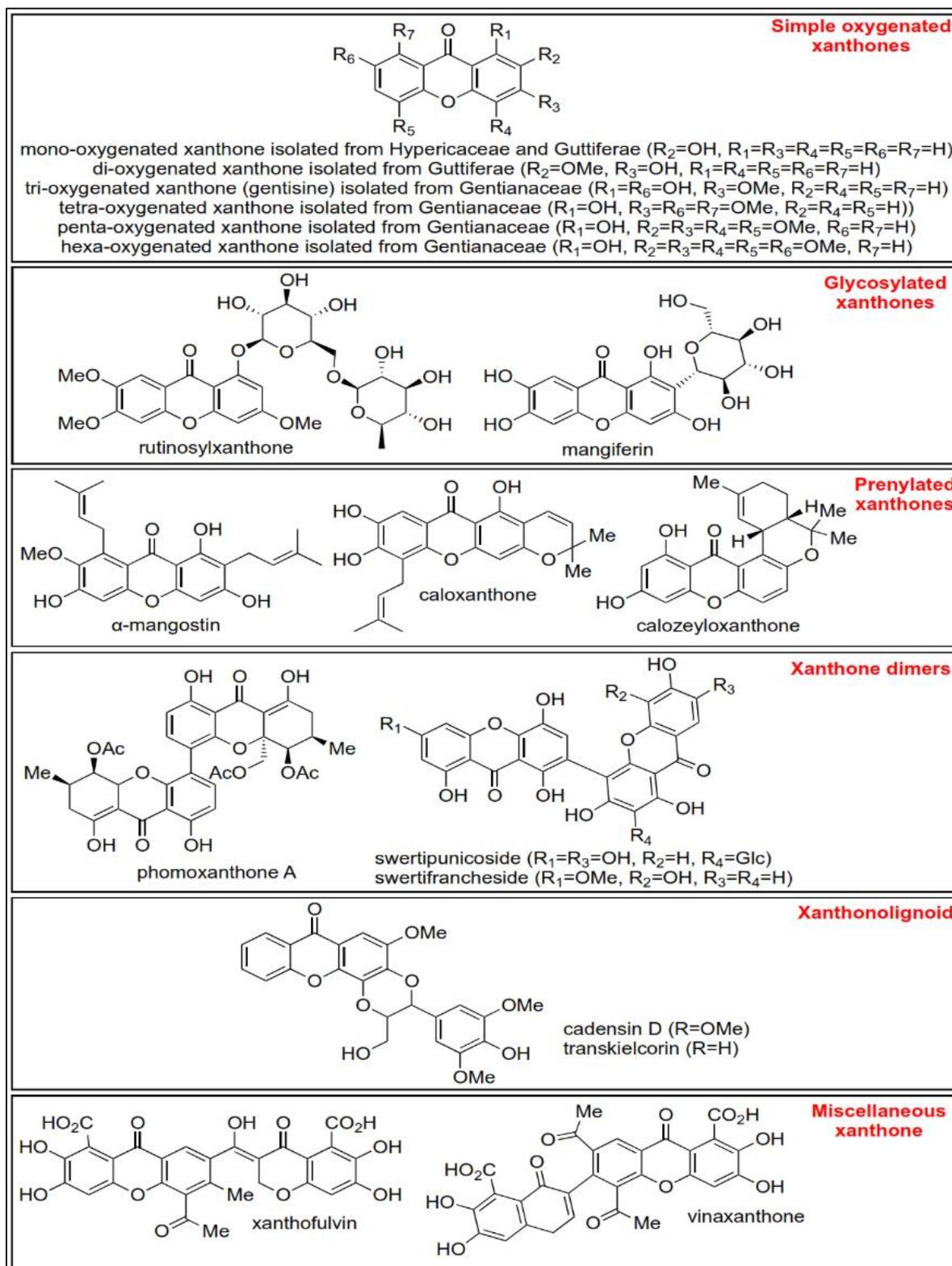


Figure 23 : Deux isomères de naphtoquinones (Académie Nationale de Pharmacie, 2023)

### 2.6.1.3 Les xanthones

C'est une famille constituée des composés polyphénoliques généralement isolés dans les plantes supérieures et dans les microorganismes répondant à une structure de base (C6-C1-C6). Des études touchant plusieurs types de cellules animales ont prouvé que les xanthones ont des effets anticancéreux. La structure de base, la classification et la structure chimique de certains xanthones les plus communs sont schématisés dans la figure 24 (Han et al., 2006 ; Shao et al., 2008 ; Huang et al., 2010 ; Lee et al., 2010 ; Xu et al., 2011 ; Zhang et al., 2012 ; Song et al., 2015 ; Barbosa et al., 2016 ; Tang et al., 2016 ; Yang et al., 2017 ; Miladiyah et al., 2018 ; Wei et al., 2018 ; Kaennakam et al., 2019 ; Yuanita et al., 2019 ; Zamakshshari et al. 2019 ; Ataci et al., 2020 ; Oanh et al., 2021 ; Wang et al., 2021 ; Yehezkiel et al., 2021).



**Figure 24** : Squelette de base et classification des xanthones (Yehezkiel et al., 2021).

#### 2.6.1.4 Les stilbènes

Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine, parmi ces composés on trouve le trans-resveratrol (**Figure 25**) qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales (Macheix, 2005 ; Nsemi, 2010).

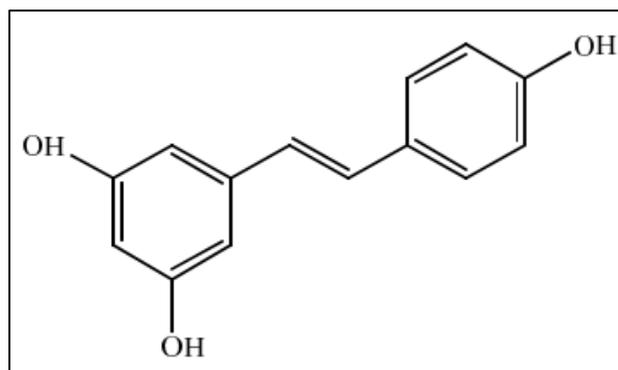


Figure 25 : Le trans-resveratrol (Nsemi, 2010).

### 2.6.1.5 Les lignanes et les lignines

Les lignanes répondent à une représentation structurale de type  $(C_6-C_3)_2$ , l'unité  $(C_6-C_3)$  est considérée comme un propylbenzène (Nsemi, 2010). Les lignanes se trouvent essentiellement dans les graines d'oléagineux. (Macheix, 2005).

Quatre groupes de lignanes peuvent être cités : Les lignanes : se trouvent souvent dans le bois des Gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les Angiospermes. Les néolignanes : surtout présents chez les espèces primitives (Magnoliales, Pipérales). Les "oligomères" : condensation de 2 à 5 unités phénylpropaniques, et enfin les norlignanes avec un squelette en C17 (Krief, 2003).

Quant aux lignines, ils constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les alcools *p*-coumarique, coniférique et sinapique. (Jutiviboonsuk et al., 2005).

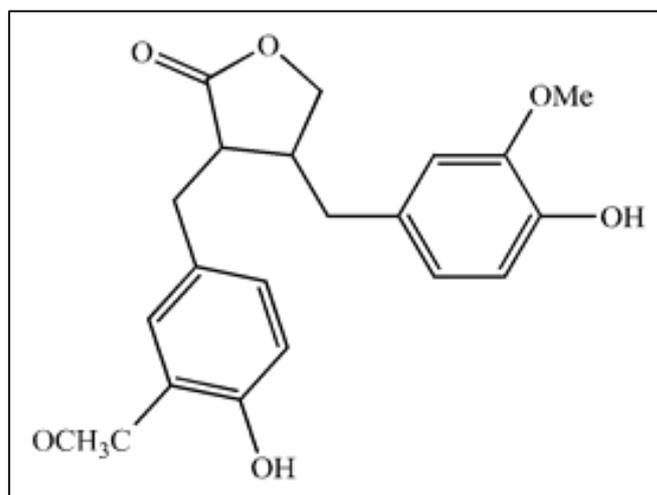


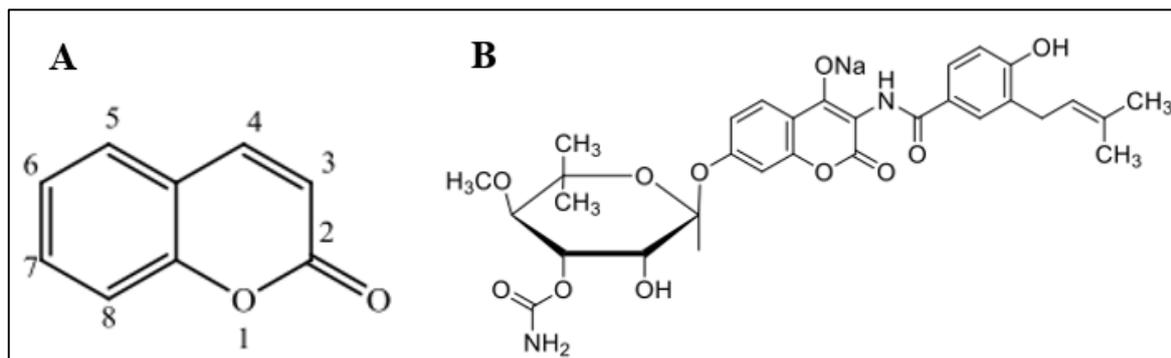
Figure 26 : Le matairesinol (lignane isolé à partir du vin rouge) (Nsemi, 2010).

### 2.6.1.6 Les coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone (Figure 27 A). Ils ont été isolés pour la première fois par Vogel en 1820 dans le *Coumarouna odorata*. Aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et de micro-organismes. Dans les plantes, on les rencontre chez

les Apiacées, les Astéracées, les Fabacées, les Rosacées, les Rubiacées, les Rutacées et les Solanacées (Vogel, 1820 ; Sakagami *et al.*, 2005 ; Stefanachi, 2018).

Du point de vue structural, ils sont classés en coumarines simples avec des substituants sur le cycle du benzène, les furanocoumarines, les pyranocoumarines et les coumarines substitués en position 3 et/ou 4 (Sakagami *et al.*, 2005 ; Nsemi, 2010 ; Batista *et al.*, 2021). La coumarine et certains de ses dérivés sont devenus des médicaments tel que la novobiocine (antibiotique) (Figure 27 B), qui est un puissant inhibiteur de l'ADN-gyrase bactérienne (Stefanachi *et al.*, 2018).



**Figure 27 :** Les coumarines.

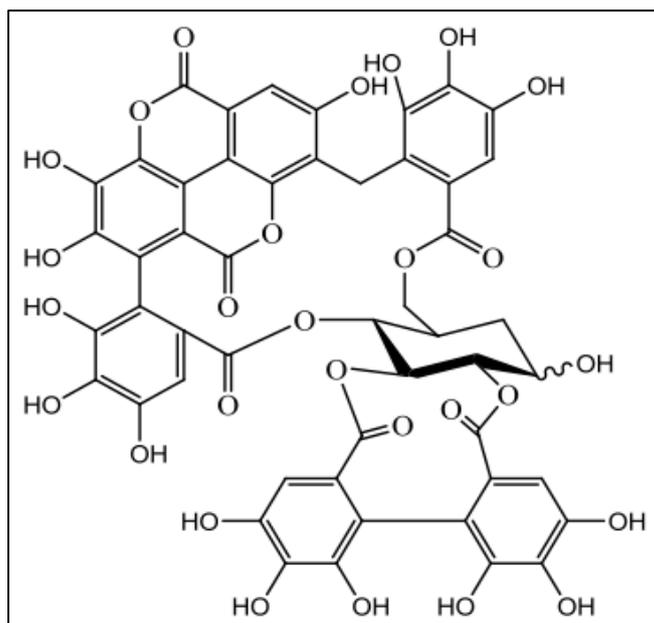
**A :** Structure de base des coumarines (le benzo-2-pyrone) ; **B :** La novobiocine (Stefanachi *et al.*, 2018).

### 2.6.1.7 Les tanins

Le terme tanin est dérivé de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Ce sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux. Diverses expériences ont prouvé que les tanins, ont une action analgésique et anti-inflammatoire. On distingue les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Alkurd *et al.*, 2008 ; Ojewole, 2008 ; Hamma, 2009 ; Nsemi, 2010).

#### 2.6.1.7.1 Les tanins hydrolysables

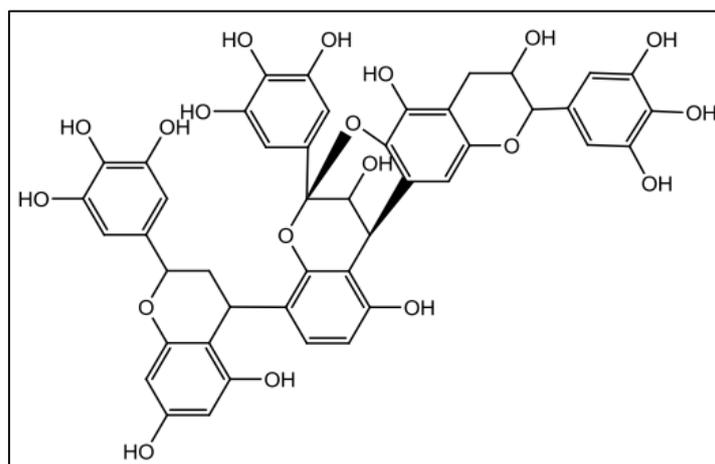
Ces tanins sont des dimères de l'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle, Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique (Figure 28). Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (Conrad, 1998 ; Nsemi, 2010).



**Figure 28** : Exemple d'un acide hexahydroxydiphénique : l'isoterchebuline (Nsemi, 2010).

#### 2.6.1.7.2 Les tanins condensés

Appelés aussi pro-anthocyanidines ou procyanidines, ce sont des polyphénols de masse molaire élevée (Wollgast & Anklam, 2000 ; Dykes & Rooney, 2006). Selon Ming-Hsuan *et al.* (2016), ces composés auront une capacité anti radicalaire et des propriétés de modulation des maladies chroniques (Nsemi, 2010).



**Figure 29** : Tanin condensé : prodelphinidine (Nsemi, 2010).

#### 2.6.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont un groupe de composés polyphénoliques produits dans les plantes en tant que métabolites secondaires. Les flavonoïdes sont largement présents dans les fruits, les légumes et autres cultures vivrières. Ils s'accumulent généralement dans les vacuoles des cellules végétales sous forme de glycosides. (Gentile *et al.*, 2018 ; Williamson *et al.*, 2018 ; Guven *et al.*, 2019 ; Nan *et al.*, 2022).

Dans leur structure chimique, les flavonoïdes ont trois anneaux (C6-C3-C6) comme squelette de base étiquetés A, B et C (**Figure 30**). Sur la base de degré d'oxydation de l'hétérocycle central, les flavonoïdes sont généralement classés en sept sous-classes : les flavonols, les flavones, les isoflavones, les anthocyanidines, les flavanones, les flavanols et les chalcones (**Nan et al., 2022**).

Les bienfaits de ces composés sont très nombreux, ils ont des propriétés antioxydantes, anti inflammatoires, veinotoniques, anti tumorales, analgésiques, antiallergiques, antispasmodiques, antibactériennes, hépato protectrices, ostrogéniques et/ou anti-ostrogéniques. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. D'autres études montrent que les flavonoïdes réduisent la coagulation du sang et luttent contre l'athérosclérose et réduisent le risque de la thrombose (**Masquelier et al. 1979 ; Bruneton, 1993 ; Okamura et al., 1993 ; Hollman et al., 1996 ; Saloum, 1996 ; Middleton et al., 2000 ; Wollgast et al., 2000 ; Nebeling, 2002 ; Romani et al., 2003 ; Ito et al., 2005 ; Kubata et al., 2005 ; Macheix et al., 2005 ; Sannomiya et al., 2005 ; Verschoyle et al., 2006 ; Kim et al., 2009 ; Nsemi, 2010 ; Gentile et al., 2018 ; Williamson et al., 2018 ; Guven et al., 2019 ; Nan et al., 2022**).

Squelette de base	(a)																																																																					
	<p style="text-align: center;">(C6-C3-C6)</p>																																																																					
Structure chimique	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr style="background-color: #f4a460;"> <th>(b) Flavanol</th> <th>Anthocyanidin</th> <th>Flavanone</th> <th>Flavonol</th> <th>Isoflavone</th> <th>Flavone</th> <th>Chalcone</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr style="background-color: #ffff00;"> <th>Flavanol</th> <th>Anthocyanin</th> <th>Flavanone</th> <th>Flavonol</th> <th>Isoflavone</th> <th>Flavone</th> <th>Chalcone</th> </tr> <tr> <td>catechin</td> <td>cyandin</td> <td>naringenin</td> <td>kaempferol</td> <td>biochanin A</td> <td>apigenin</td> <td>naringenin</td> </tr> <tr> <td>epicatechin</td> <td>delphinidin</td> <td>eriodictyol</td> <td>quercetin</td> <td>formononetin</td> <td>baicalein</td> <td>chalcone</td> </tr> <tr> <td>gallo-catechin</td> <td>pelargonidin</td> <td>hesperetin</td> <td>myricetin</td> <td>daidzein</td> <td>luteolin</td> <td>eriodictyol</td> </tr> <tr> <td>epigallocatechin</td> <td>malvidin</td> <td>pinocembrin</td> <td>rutin</td> <td>genistein</td> <td>diosmetin</td> <td>chalcone</td> </tr> <tr> <td>epigallocatechin gallate</td> <td>petunidin</td> <td>prunin</td> <td>robinin</td> <td>glycitein</td> <td>tangeretin</td> <td>pinocembrin</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>chalcone</td> </tr> </tbody> </table>							(b) Flavanol	Anthocyanidin	Flavanone	Flavonol	Isoflavone	Flavone	Chalcone								Flavanol	Anthocyanin	Flavanone	Flavonol	Isoflavone	Flavone	Chalcone	catechin	cyandin	naringenin	kaempferol	biochanin A	apigenin	naringenin	epicatechin	delphinidin	eriodictyol	quercetin	formononetin	baicalein	chalcone	gallo-catechin	pelargonidin	hesperetin	myricetin	daidzein	luteolin	eriodictyol	epigallocatechin	malvidin	pinocembrin	rutin	genistein	diosmetin	chalcone	epigallocatechin gallate	petunidin	prunin	robinin	glycitein	tangeretin	pinocembrin							chalcone
(b) Flavanol	Anthocyanidin	Flavanone	Flavonol	Isoflavone	Flavone	Chalcone																																																																
Flavanol	Anthocyanin	Flavanone	Flavonol	Isoflavone	Flavone	Chalcone																																																																
catechin	cyandin	naringenin	kaempferol	biochanin A	apigenin	naringenin																																																																
epicatechin	delphinidin	eriodictyol	quercetin	formononetin	baicalein	chalcone																																																																
gallo-catechin	pelargonidin	hesperetin	myricetin	daidzein	luteolin	eriodictyol																																																																
epigallocatechin	malvidin	pinocembrin	rutin	genistein	diosmetin	chalcone																																																																
epigallocatechin gallate	petunidin	prunin	robinin	glycitein	tangeretin	pinocembrin																																																																
						chalcone																																																																
Source	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>(c)</th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>abricot, pêche, pomme, cacao, vin rouge, thé, noix de pécam, prune, cerise</td> <td>vin rouge, myrtilles, raisins, myrtille, sureau, chou violet, tomate, aubergine</td> <td>orange, citron vert, citron, pamplemousse</td> <td>thé vert, asperges, chocolat noir, oignon, brocoli, poireaux, chou frisé, huile d'olive, baies</td> <td>soja, tofu, légumineuses, pueraria, pois chiche</td> <td>céréales, huiles végétales, céleri, poivron, camomille, persil, carotte, blé, piment rouge</td> <td>gingembre, mûre, soja, agrumes, pomme</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>							(c)							abricot, pêche, pomme, cacao, vin rouge, thé, noix de pécam, prune, cerise	vin rouge, myrtilles, raisins, myrtille, sureau, chou violet, tomate, aubergine	orange, citron vert, citron, pamplemousse	thé vert, asperges, chocolat noir, oignon, brocoli, poireaux, chou frisé, huile d'olive, baies	soja, tofu, légumineuses, pueraria, pois chiche	céréales, huiles végétales, céleri, poivron, camomille, persil, carotte, blé, piment rouge	gingembre, mûre, soja, agrumes, pomme																																																	
(c)																																																																						
abricot, pêche, pomme, cacao, vin rouge, thé, noix de pécam, prune, cerise	vin rouge, myrtilles, raisins, myrtille, sureau, chou violet, tomate, aubergine	orange, citron vert, citron, pamplemousse	thé vert, asperges, chocolat noir, oignon, brocoli, poireaux, chou frisé, huile d'olive, baies	soja, tofu, légumineuses, pueraria, pois chiche	céréales, huiles végétales, céleri, poivron, camomille, persil, carotte, blé, piment rouge	gingembre, mûre, soja, agrumes, pomme																																																																

Figure 30 : Les flavonoïdes.

(a) : structure de base, (b) : classes de flavonoïdes et quelques exemples, (c) : sources riches en flavonoïdes (Nan et al., 2022).

### 2.6.2.1 Les flavanols

Les flavanols, également connus sous le nom de flavan-3-ols, sont caractérisés par le groupe hydroxyle lié à la position 3 du cycle C. L'absence de double liaison entre les positions 2 et 3 les différencie de nombreux autres flavonoïdes. Les flavanols sont des monomères. Ils sont abondants dans divers fruits, notamment les pommes, les cerises, les prunes, les abricots et les baies, et en particulier dans les peaux de fruits (**Figure 30**) (Nan *et al.*, 2022). Il a été confirmé que les flavanols facilitent l'amélioration permanente de la fonction endothéliale et préviennent le développement de maladies cardiovasculaires (Sanchez *et al.*, 2018 ; Guven *et al.*, 2019).

### 2.6.2.2 Les anthocyanes

Les anthocyanes sont instables et sont généralement présentes sous forme d'anthocyanines sous la forme glycosylées. Ce sont des pigments qui donnent aux fleurs et aux fruits leur couleur. À ce jour, plus de 650 composés anthocyaniques ont été identifiés dans les plantes. Les formes les plus abondantes sont la delphinidine, la cyanidine, la pétonidine, la péonidine, la malvidine et la pélargonidine. Ils sont abondants dans les fruits et les légumes (**Figure 30**). Ils jouent un rôle d'antioxydant. Ils piègent notamment les espèces azotées. En plus ils décomposent le cholestérol, améliorent l'acuité visuelle et la préviennent les maladies cardiovasculaires chez l'Homme. Ils sont utilisés également comme colorants alimentaires (Harbone, 1967 ; Teng *et al.*, 2017 ; Krga, 2018 ; Pan *et al.*, 2019 ; Soares *et al.*, 2019 ; Iorizzo *et al.*, 2020 ; Tena *et al.*, 2020 ; Zeng *et al.*, 2020 ; Cruz *et al.*, 2021 ; Houghton *et al.*, 2021 ; Nan *et al.*, 2022).

### 2.6.2.3 Les flavanones

Les flavanones, également appelées dihydroflavones, ont un cycle C saturé ce qui les repousse des autres flavonoïdes. Les flavanones se trouvent presque exclusivement dans les agrumes (Rutacées) (**Figure 30**). Le type aglycone est caractéristique des flavanones d'agrumes, ces composés donnent au jus et à l'écorce des agrumes un goût amer. Les flavanones les plus représentatives sont l'hespéridine et la naringine dans les oranges, l'ériodictyol dans les citrons et la naringénine dans le pamplemousse. La naringénine peut fonctionner comme anti-inflammatoire. La naringine peut augmenter l'activité de nombreuses enzymes antioxydantes, améliorant considérablement la fonction du système immunitaire. Il est supposé que les flavanones aident à récupérer une fonction thyroïdienne altérée (Liu *et al.*, 2017b ; Karim *et al.*, 2018 ; Chen *et al.*, 2020b ; Miler *et al.*, 2020 ; Nan *et al.*, 2022).

### 2.6.2.4 Les flavonols

Les flavonols, également connus sous le nom de 3-hydroxyflavone, sont caractérisés par plusieurs substitutions spécifiques dans les cycles A et B, qui sont reliés par une chaîne à trois carbones. Les positions 5 et 7 sur le cycle A des flavonols sont remplacées par des groupes hydroxyle. Comparés aux autres flavonoïdes, les flavonols contiennent plus de groupes OH tel que la quercétine. Ils sont présents dans les cellules épidermiques des tissus végétaux et filtrent certaines longueurs d'onde solaires nocives pour protéger l'ADN (Martínez-Lüscher *et al.*, 2019). Ils sont abondants dans certains légumes et fruits comme le brocoli, les oignons, les asperges et les pommes (**Figure 30**) (Duan *et al.*, 2021). Ils présentent des activités

antioxydante, cardioprotectrice, antibactérienne, antivirale et anticancéreuse (Cui *et al.*, 2019 ; Rather & Bhagat, 2020 ; Vitelli-Storelli *et al.*, 2020 ; Nan *et al.*, 2022).

#### 2.6.2.5 Les isoflavones

Les principales sources d'isoflavones sont le soja. Cette classe de flavonoïdes s'accumule généralement dans les plantes légumineuses. Disponibles aussi dans la luzerne et les pois chiches, et en petites quantités dans de nombreux fruits, légumes, noix et céréales (**Figure 30**) (Kim & Kim, 2020). Ils ont une structure moléculaire similaire aux œstrogènes animaux, elles fonctionnent également comme des phytoestrogènes (Kuligowski *et al.*, 2017). En plus des effets antioxydants et anti cancer, ils suppriment l'activation excessive des cellules immunitaires et retardent l'hypersensibilité (Brodowska, 2017) comme ils sont utilisée pour soulager les troubles hormonaux chez la femme et luttent contre le cholestérol sanguin (Vidal France, 2014 ; Nan *et al.*, 2022).

#### 2.6.2.6 Les flavones

Les flavones sont l'une des plus grandes classes de flavonoïdes, ils portent un substituant phényle (**Figure 30**). La plupart des flavones sont présents dans le céleri, le thé, le poivron rouge et les oranges. Les deux principales flavones comestibles sont l'apigénine et la lutéoline (Wang *et al.*, 2019a). L'apigénine est un piègeur de radicaux libres et un régulateur de la défense antioxydante des cellules pancréatiques (Wang *et al.*, 2017b), le prétraitement par ce flavone peut réduire efficacement l'inflammation contre le cancer, les maladies cardiovasculaires et la neuro inflammation (Ginwala *et al.*, 2019 ; Nan *et al.*, 2022).

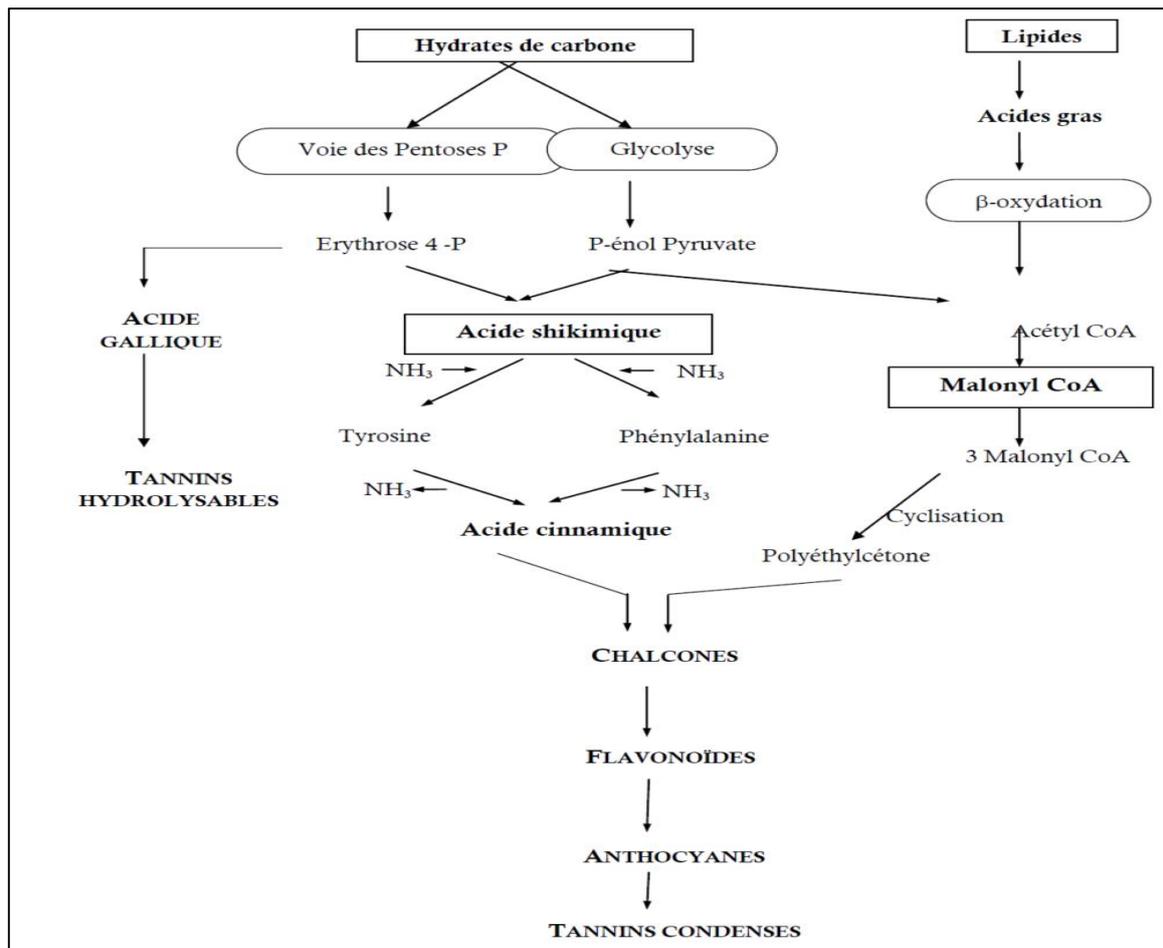
#### 2.6.2.7 Les chalcones

Les chalcones sont des flavonoïdes naturels à chaîne ouverte (**Figure 30**). Ces produits bioactifs sont largement distribués dans les familles Fabaceae, Moraceae, Zingiberaceae et Cannabaceae (Yang *et al.*, 2021). Ils présentent un large éventail d'effets antioxydants, antibactériens, vermifuges, antiulcéreux, antiviraux, anti protozoaires et anticancéreux (Goyal *et al.*, 2021). Les chalcones sont des précurseurs des flavonoïdes et des isoflavonoïdes (Zhou *et al.*, 2021 ; Nan *et al.*, 2022).

### 2.6.3 La biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent un groupe important de métabolites secondaires. La plupart des molécules phénoliques sont formées à partir de deux acides aminés aromatiques, tyrosine et phénylalanine. Ces acides aminés sont formés de façons variables suivant les végétaux (Macheix *et al.*, 2005).

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales : La voie de l'acide schikimique et la voie de l'acide malonique (**Figure 31**) (Dewick, 1995 ; Richter, 1993 ; Chaouche, 2014).



**Figure 31 :** Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Chaouche, 2014).

Il est important de citer que les composés phénoliques ont un rôle très essentiel dans la régénération des sols pollués. Ce processus était ignoré jusqu'à tout récemment et il consiste en la biotransformation des matières organiques dans le sol à l'aide des composés phénoliques (Lemieux & Germain, 2002 ; Nsemi, 2010).

**Chapitre III**  
**Le stress**  
**oxydatif, les**  
**antioxydants et**  
**les activités**  
**biologiques**

## Introduction

De nombreuses études faites à propos des radicaux libres, le stress oxydatif et l'activité antioxydante des aliments. La détection de l'activité antioxydante ainsi que des composés antioxydants spécifiques peut être effectuée avec un grand nombre de dosages différents, tous avec des avantages et des inconvénients. (Carocho & Ferreira, 2013).

### 1. Le stress oxydatif

La chaîne respiratoire mitochondriale, dans laquelle les êtres aérobies puisent leur énergie, joue un rôle capital dans la cellule. Cette activité mitochondriale fournit à la cellule une source d'énergie importante, mais environ 0,4 à 4% d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des espèces oxygénées activées (EOA). Celles-ci sont soit des radicaux libres comme l'anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$ , ou le radical hydroxyle  $OH^{\cdot}$ , soit des molécules comme le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  ou l'oxygène singulet  $O_2$  (Figure 32). Les métaux comme le fer et le cuivre agissent comme catalyseurs dans la formation du radical hydroxyle (Favier, 2003 ; Haleng et al., 2007 ; Valéry et al. 2007).

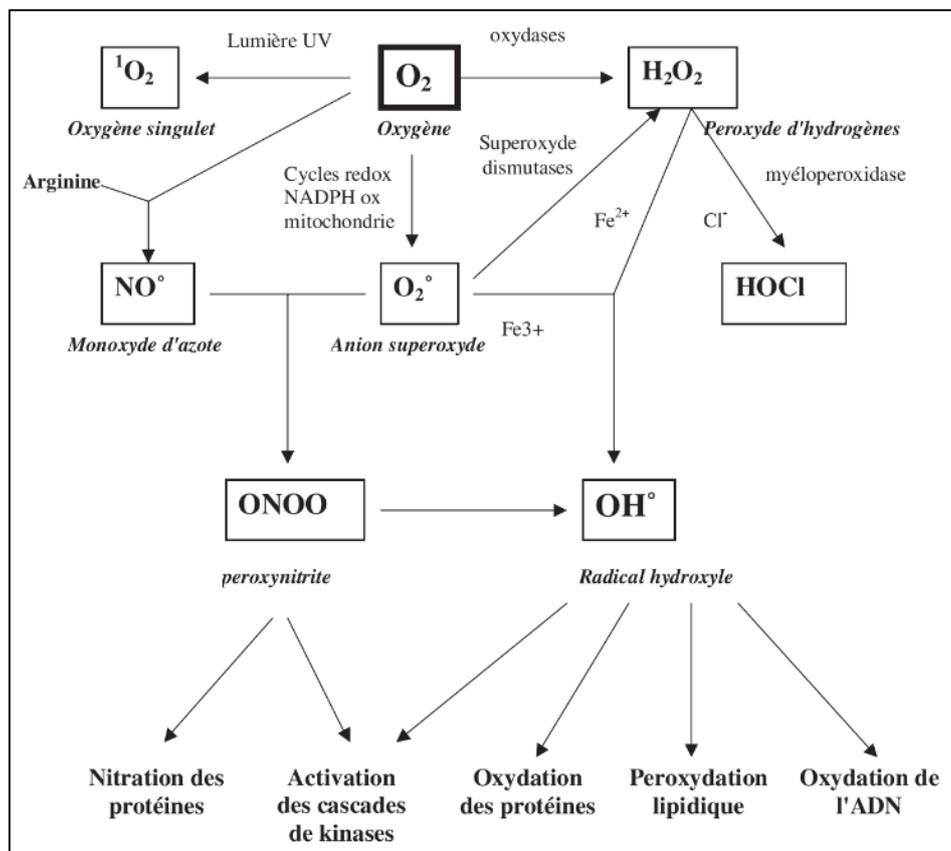
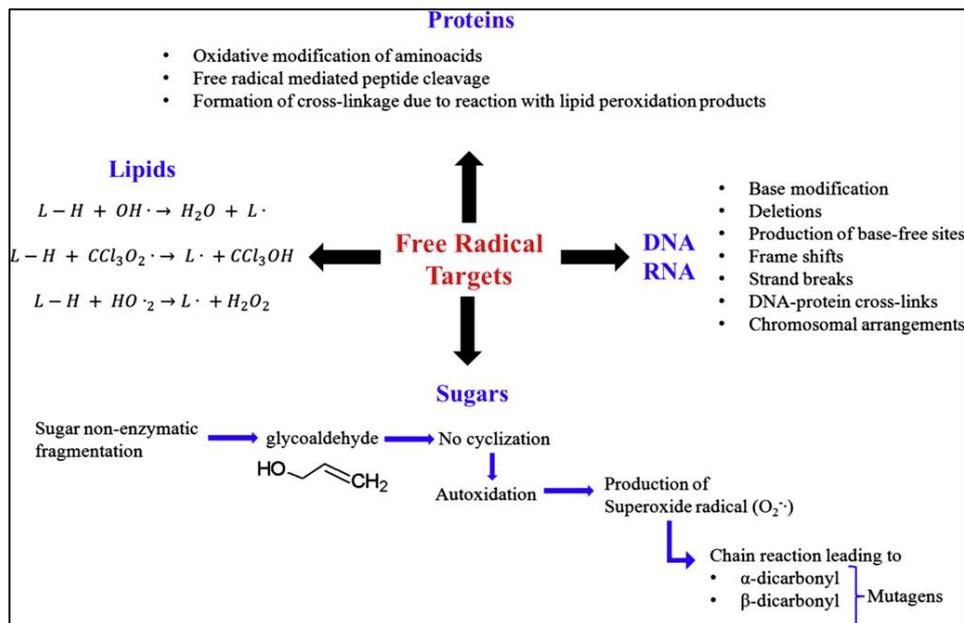


Figure 32 : Origine des différents radicaux libres oxygénés (Favier, 2003).

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme. Le mode de vie et nos habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme

(Favier, 2003 ; Haleng et al., 2007). Le stress oxydant est un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires, comme il aggrave d'autres maladies telles que l'arthrose, la polyarthrite rhumatoïde et les arthropathies microcristallines (la goutte) (Montagnier et al. 1998 ; Favier, 2003 ; Valéry et al. 2007).

Les radicaux oxygénés pourraient même être les premiers responsables de l'activation des kinases en cas de réponse à des agressions comme l'irradiation, les cytokines inflammatoires ou les carcinogènes chimiques. Les principales cibles des EOA sont : l'ADN, les protéines, les lipides membranaires, et les lipoprotéines (Figure 33) (Droge, 2002 ; Favier, 2003 ; Haleng et al., 2007 ; Valéry, 2007).



**Figure 33 :** Les différentes cibles des EOA (Pietta, 2000 ; Ratnam et al., 2006 ; Godman et al., 2011 ; Carocho et al., 2013).

Le rôle des EOA est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, les EOA ont des rôles importants comme dans l'apoptose, la fécondation (spermatozoïde – ovule), le maintien du tonus vasculaire, la neurotransmission et la fonction rénale. Formés en trop grande quantité, les EOA deviennent pathologiques (Favier, 2003 ; Haleng et al., 2007 ; Valéry et al., 2007).

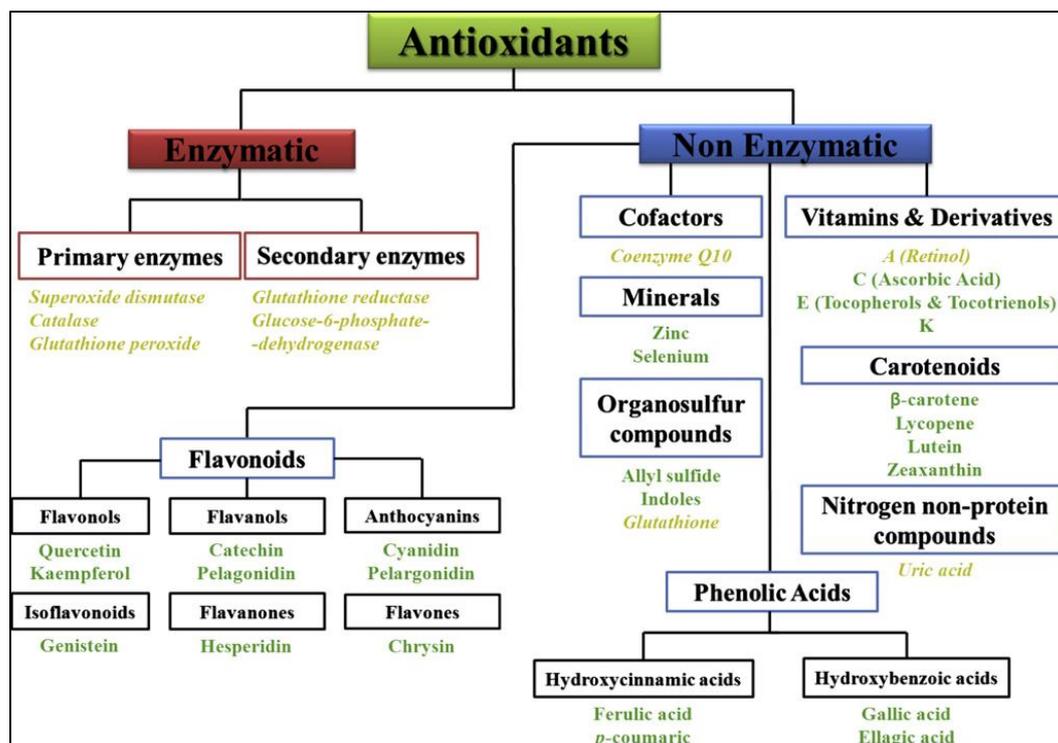
## 2. Les antioxydants

Halliwell & Gutteridge (1995) ont défini les antioxydants comme « toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou inhibe de manière significative l'oxydation de ce substrat », mais, plus tard en 2007, ils l'ont défini comme « toute substance qui retarde, prévient ou supprime les dommages oxydatifs d'une molécule cible" (Halliwell, 2007). La même année, Khlebnikov et al. (2007) ont défini les antioxydants comme « toute substance qui élimine directement les EOA ou agit

indirectement pour réguler à la hausse les défenses antioxydantes ou inhiber la production des EOA».

Une autre propriété d'un antioxydant est la capacité, après piégeage du radical, à former un nouveau radical stable lors d'une oxydation supplémentaire (Halliwell, 1990).

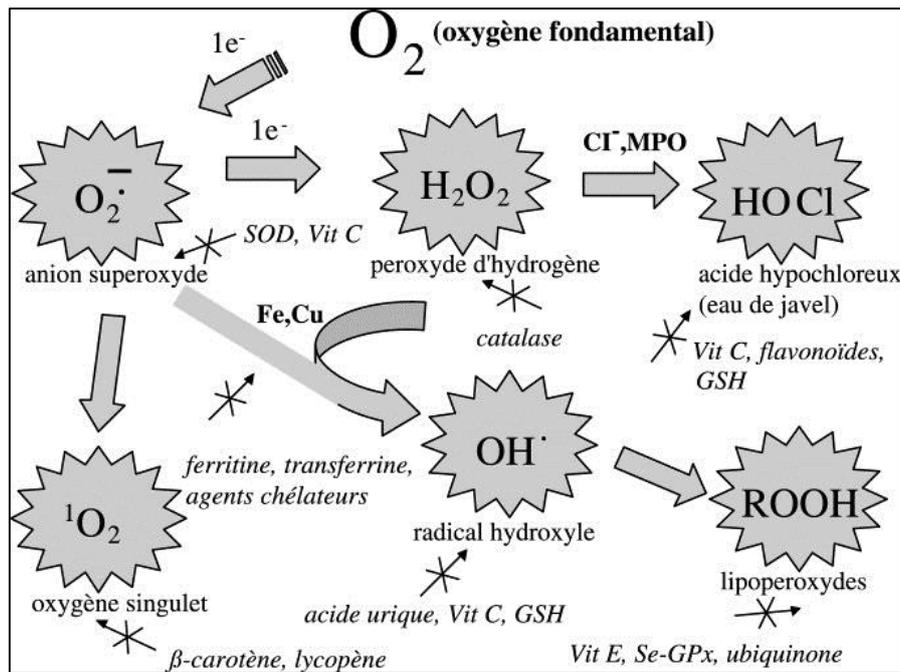
Le système antioxydant humain est divisé en deux grands groupes, antioxydants enzymatiques et oxydants non enzymatiques (Figure 34) (Carocho et al., 2013).



**Figure 34 :** Les classes des antioxydants naturels (Pietta, 2000 ; Ratnam et al., 2006 ; Godman et al., 2011 ; Carocho et al., 2013)

## 2.1. Les défenses antioxydantes

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes (Figure 35). On distingue deux sources d'antioxydants (endogène et exogène) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. À cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Favier, 2003 ; Haleng et al., 2007 ; Valéry et al., 2007).



**Figure 35 :** Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA) dérivant de l'oxygène et systèmes de protection permettant de limiter l'effet toxique de ces espèces.

**GSH :** glutathion, **Cl<sup>-</sup>** : anion chlorure ; **MPO :** myéloperoxydase, **SOD :** super oxyde dismutase, **Se-GPX :** glutathion peroxydase sélénio-dépendante (Pincemail et al., 2002 ; Haleng et al., 2007).

## 2.2. Lutter contre le stress oxydant

On peut lutter contre le stress oxydant en adaptant un régime alimentaire adéquat riche en vitamines et en substances antioxydantes, prendre en supplémentation antioxydants naturels et de synthèse (Favier, 2003 ; Valéry et al., 2007). Les flavonoïdes dans les systèmes alimentaires agissent comme des piègeurs de radicaux libres (Barreira et al., 2008 ; Sahari & Ardestani, 2015).

## 2.3. Les effets antioxydants des métabolites secondaires du mil

Sayah en 2013 a réalisé une étude qui a démontré que les composés phénoliques des graines du millet perlé cultivé au sud Algérien ont des pouvoirs antioxydants. Également, Nani et al., (2019), ont démontré que les polyphénols des grains de mil en provenance de la Wilaya de Adrar (Algérie) peuvent être candidats pour la prévention et le traitement de l'ostéosarcome (tumeur osseuse). Pour le système immunitaire, Le même chercheur, en 2015, a prouvé que les polyphénols et les lipides du millet perlé provenant de la même région ont des effets immunosuppresseurs. Ces résultats plaident en faveur de l'utilisation du régime de millet perlé pour le traitement des maladies associées à une activation soutenue du système immunitaire comme les maladies auto-immunes (Nani et al., 2015).

Une autre étude lancée par Krishnan et al. (2022) affirme que les composés phénoliques des grains de 12 génotypes de millet perlé provenant de différentes régions climatiques de l'Inde, inhibent les enzymes clés impliqués dans l'hyper glycémie poste prandiale et régulent la captation hépatique du glucose. Sachant que le stress oxydant est l'un des facteurs

potentialisant l'apparition de diabète (Montagnier *et al.*, 1998 ; Favier, 2003). Pareillement, Marmouzi *et al.* (2016), ont démontré que les composés phénoliques des grains de mil cultivé au Maroc ont des propriétés antioxydantes et antibactériennes importantes.

### 3. Les activités biologiques

#### Généralités

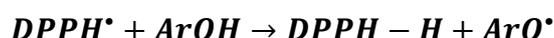
Beaucoup de méthodes sont utilisés pour détecter l'activité antioxydante des substrats. À savoir les techniques spectrométriques, dont la DPPH (1,1 – diphényl – 2 – picrylhydrazyl ou :  $\alpha, \alpha$  – diphényl –  $\beta$  – picrylhydrazyl), l'ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)), la méthode CUPRAC (Cupric ion reducing antioxidant capacity), la technique FRAP (ferric reducing antioxidant power), la méthode de la chélation des ions ferreux (la ferrozine), la technique de la phénanthroline et la méthode SNL ou SNPAC (Silver nano particles ou Silver NanoParticle Antioxidant Capacity). Ces techniques spectrométriques reposent toutes sur la réaction d'un radical, cation radicalaire ou complexe avec une molécule antioxydante et sont interprétés après une lecture de l'absorption grâce au lecteur de microplaques ou à l'aide d'un spectrophotomètre. Il en existe d'autres méthodes pour mesurer la capacité antioxydante, telles que les techniques électrochimiques, la méthode des bio senseurs, les méthodes chromatographiques à savoir la GC (Gas Chromatography) et la HPLC (high performance liquid chromatography) (Pisoschi & Negulescu, 2011 ; Moharram & Yousef, 2014 ; Sadeer *et al.*, 2020 ; ).

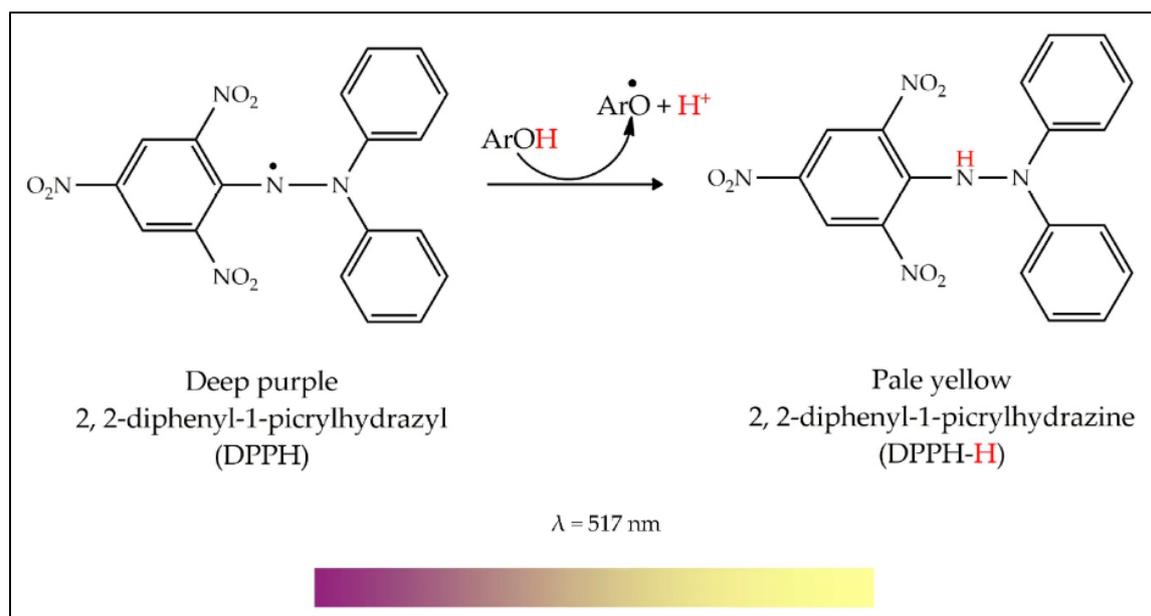
L'étude de l'activité antioxydante d'un extrait ne doit pas être fondée sur la base d'un seul modèle de test antioxydant. En pratique plusieurs tests *in vitro* doivent être réalisés pour évaluer les activités antioxydantes avec les échantillons d'intérêt. (Badarinath *et al.*, 2015 ; Sahari & Ardestani, 2015).

#### 3.1. Le test de piègeage du radical DPPH (1,1 – diphényl – 2 – picrylhydrazyl ou : $\alpha, \alpha$ – diphényl – $\beta$ – picrylhydrazyl)

La molécule 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl ou  $\alpha, \alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH<sup>\*</sup>) est caractérisée comme un radical libre stable à cause de l'électron de réserve sur l'ensemble de la molécule. La délocalisation de l'électron donne naissance à la couleur violet foncé (Figure 36) caractérisée par une bande d'absorption en solution d'éthanol centrée à environ 517nm. Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée à celle d'un substrat (AH) qui peut donner un atome d'hydrogène, cela donne alors la forme réduite avec la perte de cette couleur violette (Pisoschi & Gheorghe, 2011 ; Alam *et al.*, 2013 ; Ramona *et al.*, 2022). Par conséquent, la diminution de l'absorbance dépend linéairement de la concentration en antioxydant (Thaipong *et al.*, 2006 ; Pisoschi *et al.*, 2009 ; Pisoschi & Gheorghe, 2011).

La réaction chimique est comme la suivante (Sadeer *et al.*, 2020) :





**Figure 36 :** Mécanisme de réaction de la méthode DPPH (Alam *et al.*, 2013 ; Sadeer *et al.*, 2020 ; Ramona *et al.*, 2022).

La décoloration agit comme un indicateur de l'efficacité antioxydante et peut être rapportée comme IC-50, qui est définie comme la concentration de l'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration initiale de DPPH de 50% (Dawidowicz *et al.*, 2015 ; Zhong et Shahidi, 2015).

#### *Les Avantages*

Technique simple, efficace et rapide (30 minutes), elle est stable. Peut quantifier les antioxydants dans des systèmes biologiques complexes, même avec des antioxydants faibles. Efficace pour les composés thermiquement instables, car le piégeage des radicaux est mesuré à température ambiante. Très sensible et précise. Une bonne corrélation avec des composés bioactifs (phénols, flavonoïdes). (Bondet *et al.*, 1997 ; Kim *et al.*, 2002 ; Kedare *et al.*, 2015 ; Sadeer *et al.*, 2020).

#### *Les inconvénients*

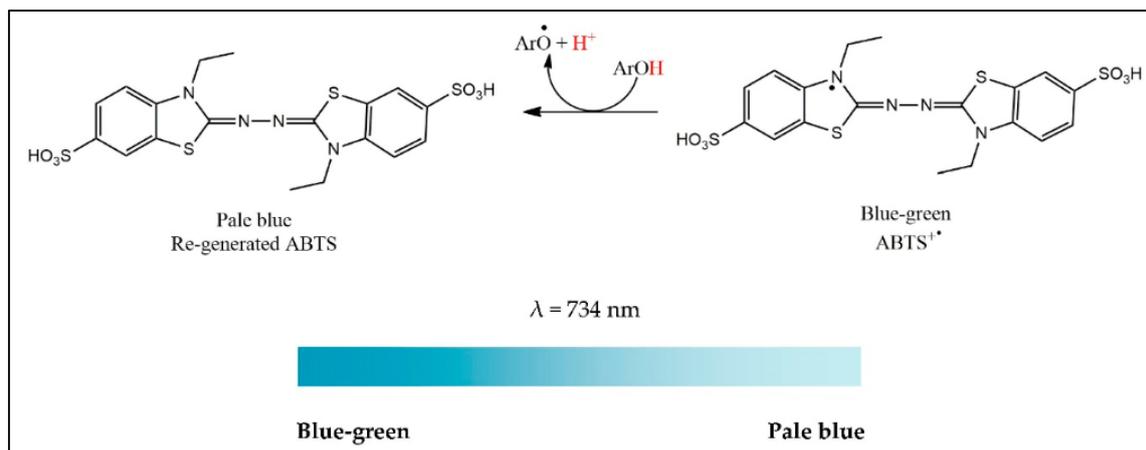
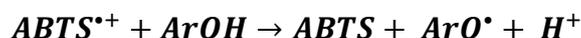
On ne peut réaliser des tests que sur les solvants organiques (lipophiles). La DPPH a tendance à réagir avec les autres radicaux présents dans les échantillons testés. Impossibilité de réaliser des tests *in vivo* vu l'absence de radicaux libres DPPH chez les êtres vivants. La DPPH est sensible à la lumière. (Kim *et al.*, 2002 ; Min *et al.*, 2002 ; Kedare *et al.*, 2015 ; Schaich *et al.*, 2015 ; Granato *et al.*, 2018 ; Sadeer *et al.*, 2020).

### **3.2. Le test de la capacité antioxydante par l'ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))**

Ou encore nommée Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC). Le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> qui absorbe à 743nm (donnant une couleur bleu vert) est formé par la perte d'un électron par l'atome d'azote de l'ABTS<sup>•+</sup>. En présence d'un antioxydant (donneur d'hydrogène), ce dernier réduit l'ABTS<sup>•+</sup> en ABTS et le décolore (Figure 37) (Seeram *et al.*,

2006 ; Pisoschi & Gheorghe, 2011 ; Alam *et al.*, 2013 ; Vuolo *et al.*, 2019). Le premier test ABTS a été décrit en 1997 par Miller & Rice-Evans. Cette technique a été utilisée pour déterminer la teneur en antioxydants de différents extraits (Pellegrini *et al.*, 2003 ; Pisoschi & Gheorghe, 2011).

La réaction chimique est comme la suivante (Sadeer *et al.*, 2020) :



**Figure 37** : Mécanisme de réaction de la méthode ABTS (Sadeer *et al.*, 2020).

### Les Avantages

Le radical cationique ABTS est soluble dans les milieux organiques et aqueux. Stable pendant plusieurs jours à l'obscurité et à température ambiante. Il a une bonne corrélation avec les composés phénoliques (Re *et al.*, 1999 ; Kim *et al.*, 2002 ; Sadeer *et al.*, 2020).

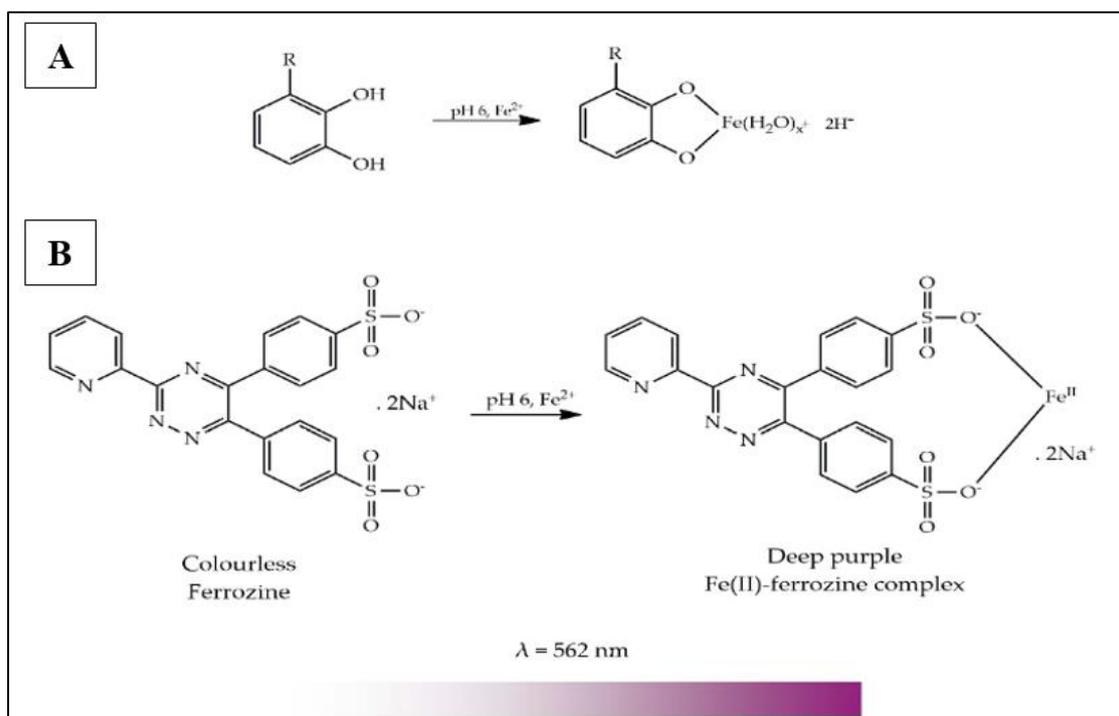
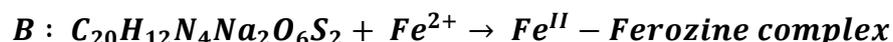
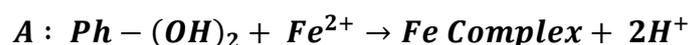
### Les inconvénients

Le radical ABTS<sup>•+</sup> n'existe pas dans la nature. Réaction lente pour la génération du radical ABTS. Comme la DPPH, Le radical ABTS<sup>•+</sup> présente un encombrement stérique élevé autour de son atome centré sur l'azote (Magalhães *et al.*, 2008 ; Sadeer *et al.*, 2020).

### 3.3. Le test de chélation des ions ferreux de la ferrozine (C<sub>20</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>)

Le test de chélation des ions ferreux est réalisé selon la méthode décrite par Dinis *et al.* en 1994. Dans des conditions légèrement acides (pH 6), les composés phénoliques (Ph-OH) ne peuvent se lier qu'à une fraction de Fe<sup>2+</sup>, tandis que les ions Fe<sup>2+</sup> restants peuvent réagir avec la ferrozine pour former un complexe ion ferreux-ferrozine qui est stable, soluble dans l'eau et de couleur rouge ou violet foncé (Figure 38-A). En présence d'un chélateur, la formation du complexe est entravée, entraînant une perte de la couleur rouge ou violet foncé (Figure 38-B). La mesure de cette diminution de couleur par spectrophotométrie donne une estimation de la capacité de liaison du chélateur. Le complexe ion ferreux-ferrozine présente une absorbance maximale à 562nm. Plus la valeur d'absorbance est élevée, plus la concentration du complexe ion ferreux-ferrozine est élevée et plus la capacité de liaison du chélateur est faible (Aparadh *et al.*, 2012 ; Santos *et al.*, 2017 ; Sadeer *et al.*, 2020).

La réaction chimique est comme la suivante (Sadeer *et al.*, 2020) :



**Figure 38** : Mécanisme de réaction de la méthode de chélation des ions ferreux (La ferrozine C<sub>20</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>) (Sadeer *et al.*, 2020).

### Les avantages

Réactifs facilement disponibles et pas chers, ça demande une instrumentation simple (Santos *et al.*, 2017 ; Sadeer *et al.*, 2020).

### Les inconvénients

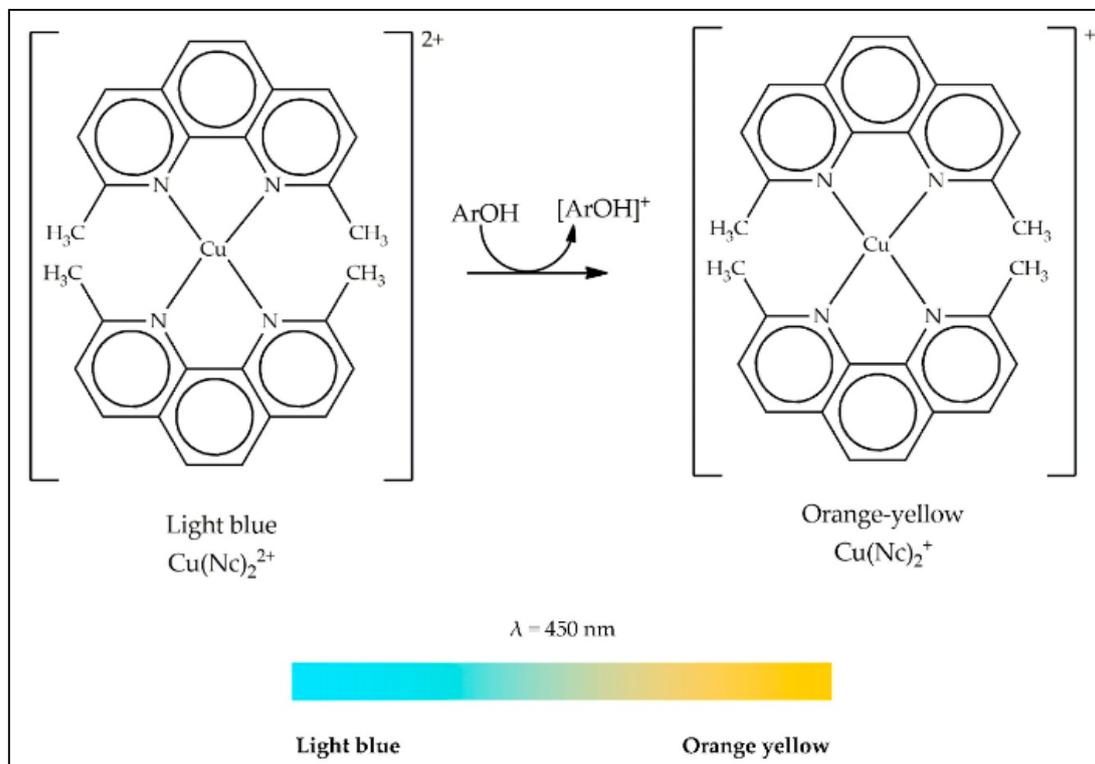
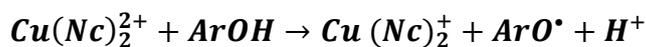
Non spécifique, car ce dosage ne réagit pas seulement avec les composés phénoliques mais également avec les peptides et les sulfates présents dans le milieu. Parfois, les résultats du dosage des composants bioactifs totaux (phénoliques, flavonoïdes) ne sont pas corrélés avec les résultats de la chélation des métaux (Sadeer *et al.*, 2020).

### 3.4. Le test de réduction de l'ion cuprique ou méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity)

Le réactif oxydant de la méthode CUPRAC, le bis (neocuproïne) copper (II) chloride [Cu(II)-Nc], réagit avec les métabolites secondaires [Ar(OH)<sub>n</sub>] de manière où les protons libérés peuvent être tamponnés avec la solution tampon d'acétate d'ammonium (AcNH<sub>4</sub>) relativement concentrée. Dans cette réaction, les groupes réactifs Ar-OH des polyphénols sont oxydés en quinones et Cu(II)-Nc est réduit en chélate Cu(I)-Nc très coloré en jaune-orange présentant une

absorption maximale à 450nm (**Figure 39**) (**Pisoschi & Gheorghe, 2011 ; Alam et al., 2013 ; Ramona et al., 2022**).

La réaction chimique est comme la suivante (**Sadeer et al., 2020**) :



**Figure 39** : Mécanisme de réaction de la méthode CUPRAC (**Sadeer et al., 2020 ; Ramona et al., 2022**).

### *Les avantages*

Les réactifs sont moins chers, relativement stables et plus accessibles que les réactifs DPPH et ABTS, rapide, elle peut cribler des échantillons lipophiles et hydrophiles. Le dosage est effectué à pH 7, qui est proche du pH physiologique. Montre une bonne corrélation avec de nombreux composés phénoliques (**Apak et al., 2005 ; Sadeer et al., 2020**).

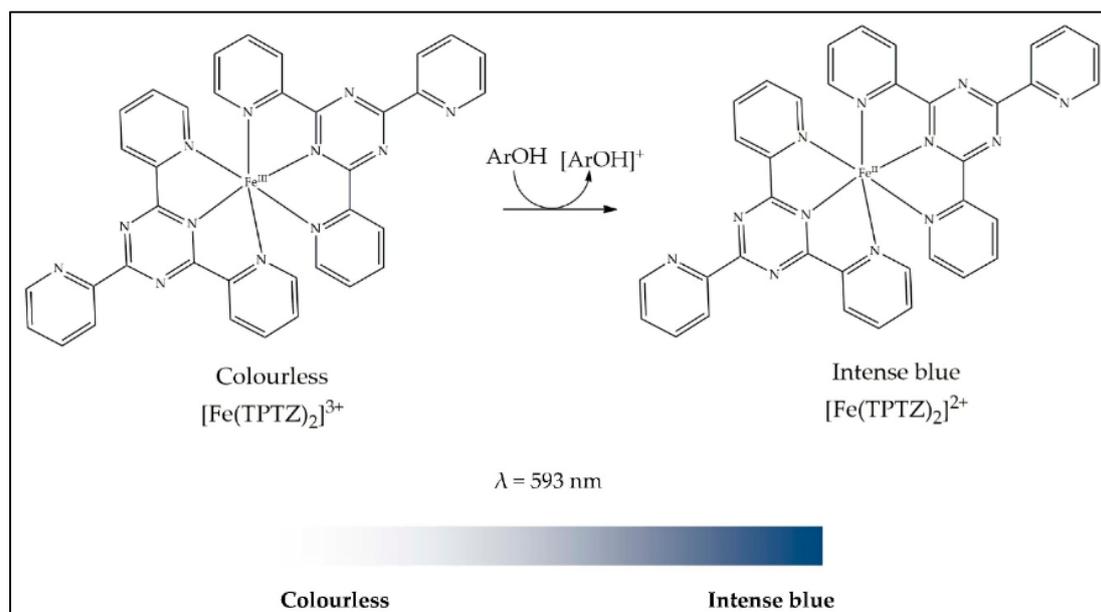
### Les inconvénients

Impossible de mesurer les enzymes antioxydantes car parfois elle nécessite une incubation à des températures élevées (Apak *et al.*, 2005 ; Sadeer *et al.*, 2020).

### 3.5. Le test de réduction du fer ferrique du complexe ((Fe<sup>3+</sup>)-TPTZ) ou FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

La méthode FRAP (ferric reducing antioxidant power) repose sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique Fe<sup>3+</sup> du complexe ion ferrique-(2,4,6-tri(2-pyridyl)1,3,5-triazine) ((Fe<sup>3+</sup>)-TPTZ) en fer ferreux Fe<sup>2+</sup> à faible pH. La liaison du complexe formé, le (Fe<sup>2+</sup>)-TPTZ, crée une couleur bleu marine très intense (Figure 40). Cette réduction est suivie en mesurant la variation d'absorption à 593nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. L'absorbance est utilisée pour déterminer la quantité de fer réduite et sera corrélée avec la quantité d'antioxydants (Gil *et al.*, 2002 ; Pellegrini *et al.*, 2003 ; Thaipong *et al.*, 2006 ; Pisoschi *et al.*, 2011 ; Alam *et al.*, 2013 ; Shi *et al.*, 2022).

La réaction chimique est comme la suivante (Sadeer *et al.*, 2020) :



**Figure 40** : Mécanisme de réaction de la méthode FRAP (Sadeer *et al.*, 2020 ; Shi *et al.*, 2022).

### Les Avantages

Instrumentation simple et peu coûteuse. Hautement reproductible et sensible. Elle peut dépister un large éventail d'échantillons biologiques, qu'ils soient aqueux ou organiques. Une bonne corrélation est généralement observée avec le test de piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Benzie et Strain, 1996a ; Benzie et Strain, 1996b ; Berker *et al.*, 2007 ; Choirunnisa, 2016 ; Sadeer *et al.*, 2020).

### Les inconvénients

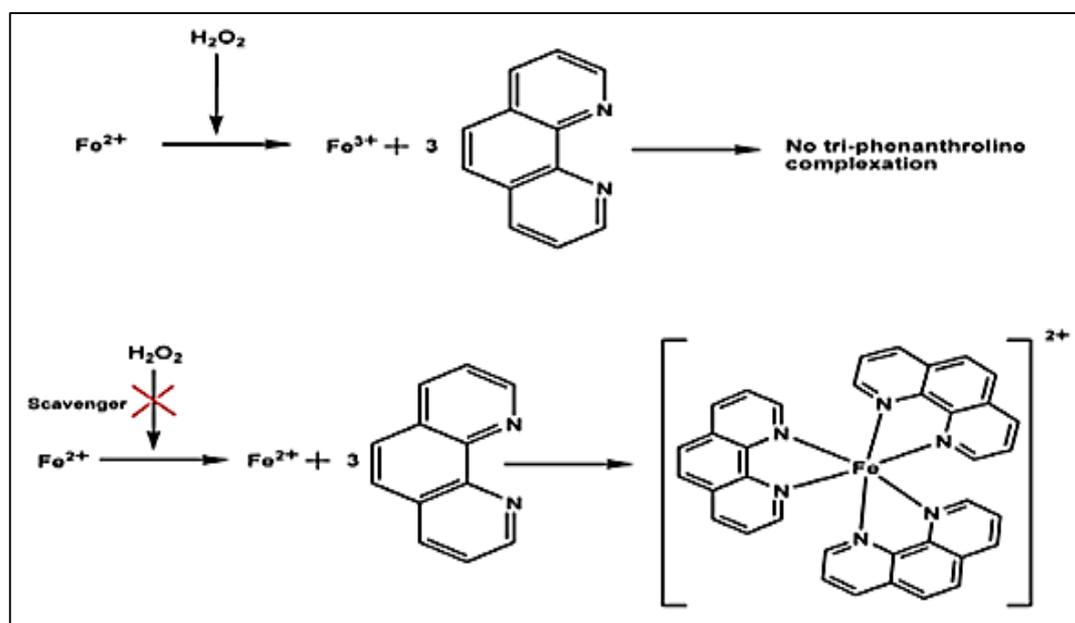
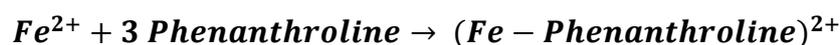
La non spécificité (Benzie et Strain, 1996a ; Sadeer et al., 2020).

### 3.6. Le test de la réaction de l'ion ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) avec la 1,10-phénanthroline

Ce dosage est basé sur la réaction de l'ion ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) avec la 1,10-phénanthroline. L'ion ferreux forme spécifiquement un complexe de tri-phénanthroline rouge-orange qui absorbe au maximum entre 508 à 510nm. Ce test est utilisé depuis longtemps pour la mesure quantitative du fer dans divers échantillons. On sait que si du peroxyde d'hydrogène est ajouté au tube avant l'ajout de 1,10-phénanthroline, il oxydara tous les ions ferreux en ions ferriques qui sont incapables de former un complexe rouge-orange avec la 1,10-phénanthroline (Figure 41), ainsi on constate une diminution de l'absorbance. Cette notion est exploitée pour la détermination de  $\text{H}_2\text{O}_2$  dans les échantillons (Mukhopadhyay et al., 2016).

Plus simplement, il est connu que le complexe Fe-phénanthroline donne une coloration rouge-orange. Si, dans la solution nous avons des radicaux libres OH, donc il n'y aura pas de complexes Fe-phénanthroline car ces radicaux sont liés aux ions de fer et la phénanthroline ne trouvera pas d'ions de fer pour former le complexe Fe-phénanthroline de couleur rouge-orange. (Mukhopadhyay et al., 2016).

La réaction chimique est comme la suivante (Mukhopadhyay et al., 2016) :

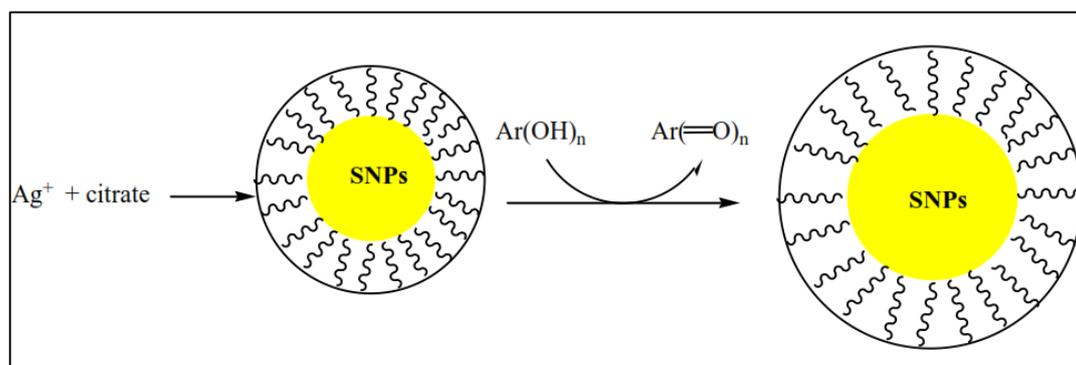


**Figure 41** : Mécanisme de réaction de la méthode phénanthroline (Mukhopadhyay et al., 2015).

Jusqu'à Août 2008, il n'y avait que Berker et al. (2007) qui ont utilisé la méthode de la 1,10-phénanthroline pour le dosage des capacités antioxydantes de différents antioxydants et leurs mélanges, ils étaient les premiers et les seuls (Szydłowska-Czerniak et al., 2008).

### 3.7. Le teste du pouvoir réducteur de $\text{Ag}^+$ ou SNL ou SNPAC (Silver nano particles ou Silver NanoParticle Antioxidant Capacity)

La technique été nommée « *Silver NanoParticle Antioxidant Capacity* » SNPAC par l'équipe de recherche de **Özyürek et al., (2012)**. La méthode SNPAC ou SNP porte sur la réduction des ions  $\text{Ag}^+$  par les antioxydants en existence de graines d'argent stabilisées au citrate trisodique ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) en nanoparticules d'argent sphériques  $\text{Ag}^0$ . Ce qui va façonner une bande d'absorption de résonance plasmonique de surface (SPR) de SNP très intense à 423nm (**Figure 42**). L'absorbance permet la détection spectrophotométrique de la présence ou pas d'une activité antioxydante. En raison de leur petite taille (1-100nm) et de leur surface spécifique très élevée, les nanoparticules d'argent (SNP) ont attiré beaucoup d'attention et ont trouvé des applications dans divers domaines, notamment la médecine, la catalyse, l'ingénierie textile, la biotechnologie, la bio-ingénierie, le traitement des eaux, l'électronique et l'optique (**Khaydarov et al., 2009**).



**Figure 42** : Mécanisme de réaction de la méthode Silver NanoParticle Antioxidant Capacity (**Özyürek et al., 2012**).

**Deuxième partie**  
**Partie**  
**expérimentale**

# **Chapitre I**

# **Matériel et**

# **méthodes**

Notre travail a été effectué au niveau du laboratoire d'analyse des aliments, laboratoire de biochimie, laboratoire de contrôle de qualité et le laboratoire de l'environnement du Centre de Recherche en Biotechnologies (CRBt) à Constantine, du 29 Janvier au 30 Mars 2023.

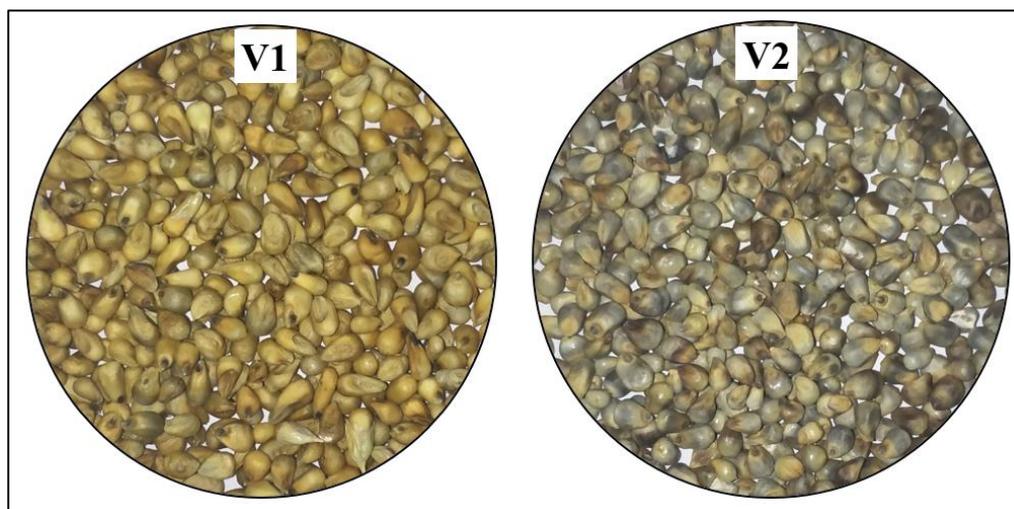
Le présent travail a pour but de réaliser un extrait de deux variétés de millet perlé *Pennisetum glaucum* provenant de la région de Adrar (Algérie), de comparer trois méthodes d'extraction, de déterminer la composition physicochimique, doser les métabolites secondaires (composés phénoliques : les polyphénols totaux, les flavonoïdes totaux et les tanins) et d'étudier les activités biologiques de ces dernier.

## 1. Matériel

### 1.1. Le matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des graines de deux variétés de millet perlé *Pennisetum glaucum* qui ont été fournies par M<sup>me</sup>. LABED Hanane, Doctorante à l'Université des Frères Mentouri de Constantine. Les graines proviennent de la région d'Adrar (Algérie) où elles ont été récoltées l'année 2021 (saison agricole 2020/2021).

Les gaines de la première variété V1 sont de couleur jaune ayant des formes allongé à ovale, et les graines de la seconde variété V2 ont une couleur gris-verdâtre et de formes ovale à arrondie (**Figure 43**).



**Figure 43** : Les graines des deux variétés étudiées.

### 1.2. Les réactifs chimiques

Les produits chimiques utilisés dans ce travail (**Tableau I, Annexe 1**) ont été fournis par le magasin des produits chimiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université des Frères Mentouri de Constantine. D'autres réactifs ont été procurés du CRBt.

### 1.3. Le matériel du laboratoire

Afin de réaliser l'étude au niveau du CRBt, du matériel scientifique et de laboratoire a été utilisé (**Tableau II, Annexe 1**).

## 2. Méthodes de travail

### 2.1. Préparation des extraits

Des étapes minutieuses ont été suivies pour préparer les échantillons afin d'avoir un meilleur rendement et des résultats plus exactes que possible.

#### 2.1.1. La pesée

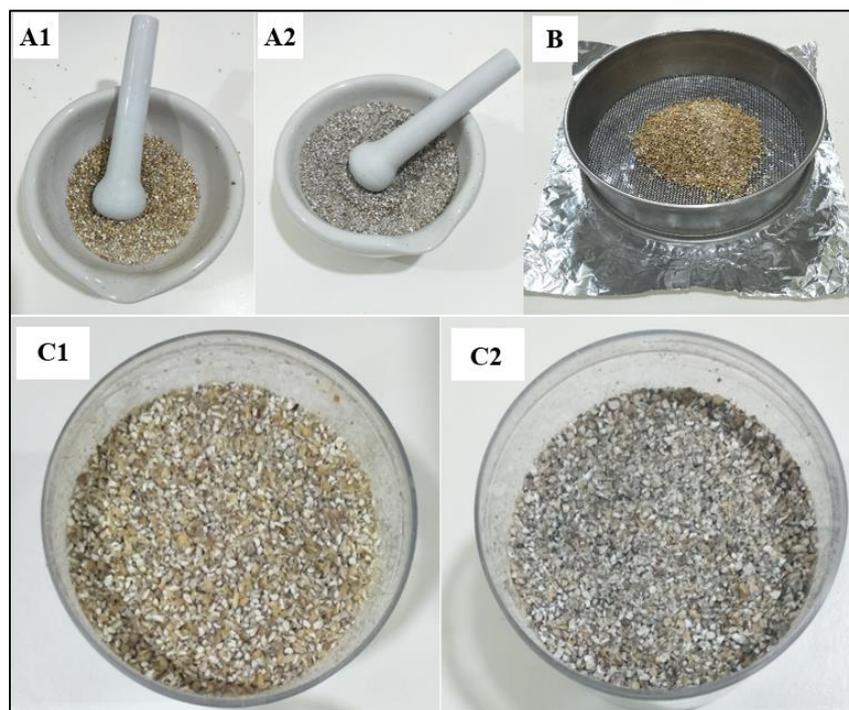
En vue de les broyer, 100g de graines de chaque variété ont été pesé grâce à une balance de précision (**Figure 44**) (**Tableau II, Annexe 1**).



**Figure 44** : La pesée des graines.

#### 2.1.2. Le broyage et tamisage

Sans lavage préalable, les graines des deux variétés ont été broyées, chacune à part, à l'aide d'un mortier à piston jusqu'à avoir une farine fine (entre 0,5 et 1,25mm) (**Figure 45 A1 et A2**). Les farines obtenues ont été tamisées avec un tamis de diamètre 1,25mm (**Figure 45 B**) (**Tableau II, Annexe 1**), la farine emprisonnée par le tamis a été broyée et tamisée de nouveau jusqu'à ce que tout le résultat de broyage passe par le tamis. La farine obtenue (**Figure 45 C1 et C2**) a été sauvegardée à l'air ambiant, dans des boîtes fermées, au niveau du laboratoire 5 au CRBt.



**Figure 45 :** Broyage et tamisage.

### 2.1.3. L'extraction

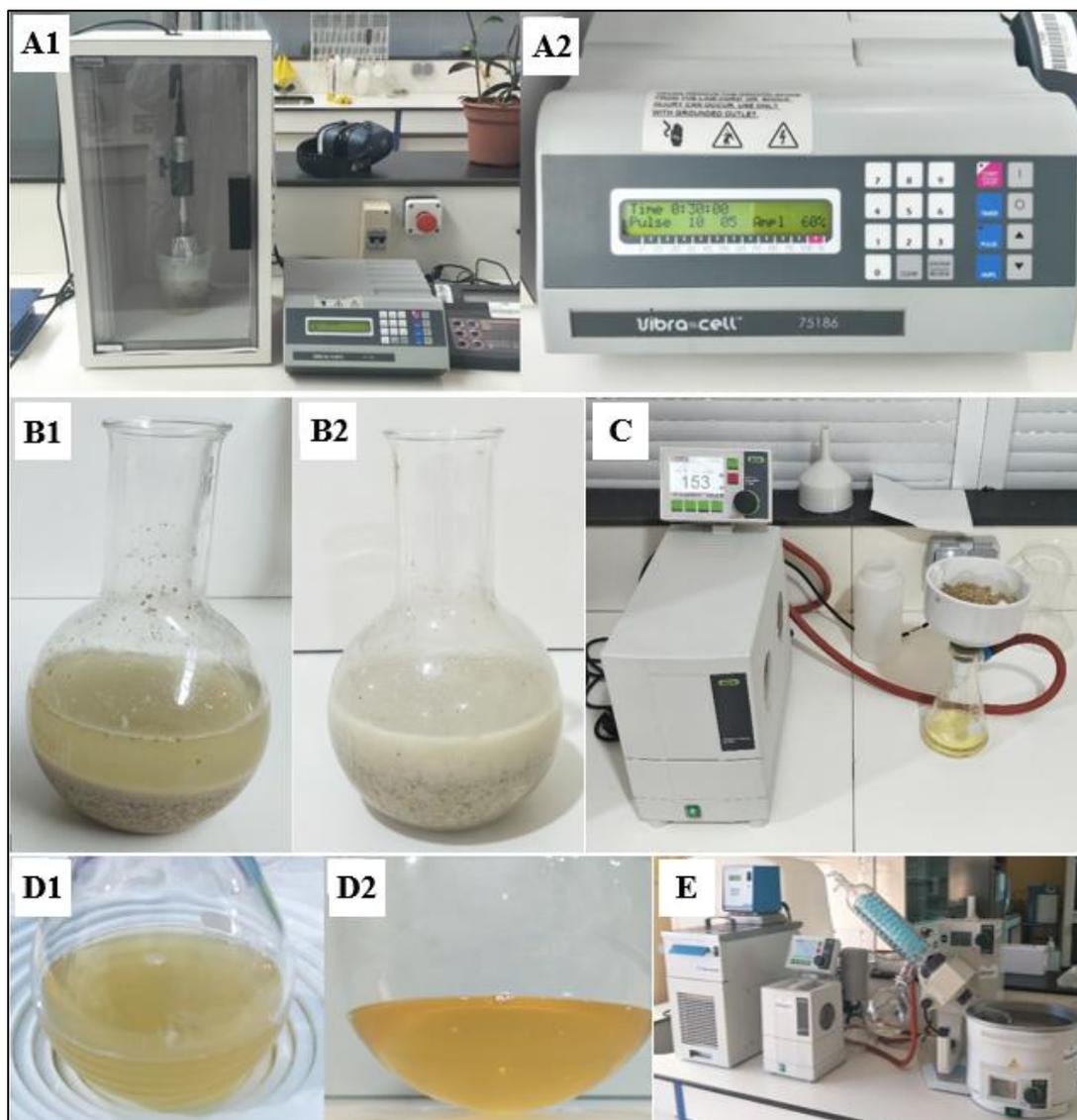
Nous avons réalisé trois méthodes d'extraction pour la variété jaune afin d'étudier le rendement de chaque méthode en terme d'extrait brut et en terme de composés phénoliques (polyphénols).

Pour la première méthode, une quantité de 50g de farine a été versée dans une fiole, 70mL de l'éthanol à 50/50 (v/v) ont été ajoutés. Les deux mélanges obtenus ont été soumis au sonificateur (ou sonicateur, appelé aussi homogénéiseur ultrasonique ou processeur à ultrasons) (**Figure 46 A1**) (**Tableau II, Annexe 1**) en gardant la température de la solution à 25°C, en utilisant des glaçons et en l'agitant légèrement chaque 5 minutes. Le sonificateur a été paramétré comme suite : temps : 30 minutes (10 secondes ON, 5 secondes OFF), amplitude : 60% (**Figure 46 A2**).

Après 30 minutes au sonificateur, on a obtenu un mélange (**Figure 46 B1 et B2**) qui semble avoir changé d'aspect pour les deux variétés, nous avons constaté qu'il est devenu blanchâtre.

Le mélange obtenu a été filtré grâce à une pompe à vide (**Tableau II, Annexe 1**) en utilisant une fiole Büchner et un entonnoir Büchner et un papier filtre fin (**Figure 46 C**). Nous avons remarqué une variation de la couleur des filtras obtenus (**Figure 46 D1 et D2**).

Le filtras a été mis dans un ballon préalablement pesés, le poids ( $P_0$ ) a été ainsi noté. Le ballon a été mis dans le rotavapeur (**Tableau II, Annexe 1**). Nous avons mis le rotavapeur sous les paramètres suivants : température de bain marie fixée à 38°C sous pression de 58bar en modulant la vitesse de rotation jusqu'à évaporation totale (**Figure 46 E**).

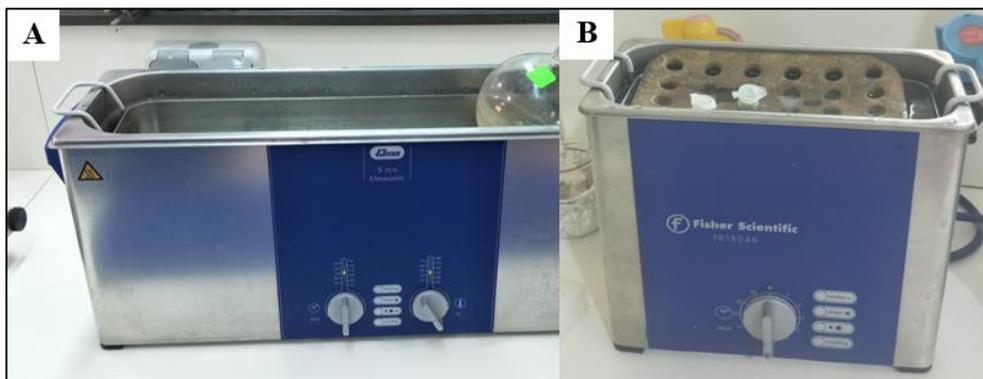


**Figure 46 :** Les étapes de l'extraction.

Après évaporation totale (environ 4 heures), nous avons obtenu l'extrait brut. Nous avons pesé le ballon une autre fois, par la même balance, pour noter le poids ( $P_1$ ), puis nous avons déposé l'extrait dans une boîte de pétri, recouverte et sauvegardé à l'abri de la lumière à température ambiante au niveau du Laboratoire 5 au CRBt. L'extrait obtenu a été nommé (V1T1).

Pour la deuxième méthode, nous avons suivi les mêmes étapes précédentes en modulant seulement le temps d'exposition aux ultrasons à 45 au lieu de 30 minutes. L'extrait obtenu a été nommé (V1T2).

Pour décoller l'extrait facilement des parois du ballon, nous avons utilisé un bain à ultrason pour ballons (**Figure 47 A**). Pour dissoudre l'extrait dans l'éthanol rapidement (préparation des dilutions), nous avons utilisé un à bain ultrason pour tubes Eppendorf (**Figure 47 B**) (**Tableau II, Annexe 1**).



**Figure 47** : Bain à ultrason. **A** : Pour les ballons ; **B** : pour tubes Eppendorf.

La troisième méthode a été réalisée grâce au Soxhlet comme suite : une quantité de 350mL de méthanol a été ajoutée à 20g de graines broyées de la variété jaune dans un ballon, préalablement pesé ( $P_0$ ), puis nous avons installé le ballon sur un montage Soxhlet (Extracteur de Soxhlet) (**Tableau II, Annexe 1**) avec les paramètres suivants : température de bain marie 150°C pendant 4 heures (**Figure 48**).

Le mélange obtenu après 4 heures a été évaporé au rotavapeur précédemment utilisé en gardant la température du bain marie à 40°C et la pression à 156bar et en modulant la vitesse de rotation au besoin jusqu'à obtention de l'extrait final (évaporation totale). Le ballon contenant l'extrait a été pesé avec la même balance, le poids ( $P_1$ ) a été noté. L'extrait obtenu par cette méthode a été nommé (V1Sox).

Pour la variété gris-verdâtre, nous avons suivi exactement les étapes décrites dans la première méthode appliquées à la variété jaune, l'extrait obtenu a été nommé (V2T1).



**Figure 48** : Montage Soxhlet.

## 2.2. Le rendement

Pour calculer le rendement des différentes méthodes d'extraction, nous avons noté, pour chaque étape d'extraction, le poids des graines utilisés ( $P_g$ ), le poids du ballon vide ( $P_0$ ) et le poids du ballon contenant l'extrait ( $P_1$ ).

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et est calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{(P_1 - P_0)}{P_g} \times 100$$

Où :

**R** : Le rendement en (%)

**P<sub>0</sub>** : Poids du ballon vide (g).

**P<sub>1</sub>** : Poids du ballon rempli (g).

**P<sub>g</sub>** : Poids des graines utilisées (g).

## 2.3. Détermination de la composition physicochimique

Les caractères physicochimiques étudiés sont : le taux de la matière sèche et d'humidité, le taux de cendres, le taux de la matière grasse, le taux d'azote total et des protéines totales et la teneur en sucres totaux. Pour cela, et sans lavage préalable, des graines des deux variétés ont été broyées grâce au blender (**Tableau II, Annexe 1**), puis les manipulations ont été réalisées.

### 2.3.1. Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche

Pour la détermination du taux de la teneur en eau et de la matière sèche dans les graines des deux variétés de mil, la méthode décrite par **Audigié et al. (1980)** a été suivie. Une quantité de 1g de chaque variété est séchée dans une étuve (**Tableau II, Annexe 1**) à 105°C. La diminution du poids est suivie par pesée jusqu'à la stabilisation. Le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{(P_{Avant} - P_{Après})}{P_{Échantillon}} \times 100$$

Où :

**H (%)** : Taux d'humidité en pourcentage.

**P<sub>Avant</sub>** : Poids de l'échantillon avant mise à l'étuve en (g).

**P<sub>Après</sub>** : Poids de l'échantillon après mise à l'étuve en (g).

**P<sub>Échantillon</sub>** : Poids de la prise d'essai en (g).

La teneur en matière sèche est calculée selon la formule suivante :

$$MS (\%) = 100 - H (\%)$$

### 2.3.2. Détermination du taux de cendres

Afin de détecter la teneur en cendres, la technique décrite par **Audigié et al. (1980)** a été suivie. Ainsi, les cendres (**Figure 49**) ont été obtenues par calcination à 525°C dans un four à moufle (**Tableau II, Annexe 1**), jusqu'à l'obtention d'une cendre blanchâtre. La teneur en cendres est exprimée en pourcentage (%) et est calculée selon la formule :

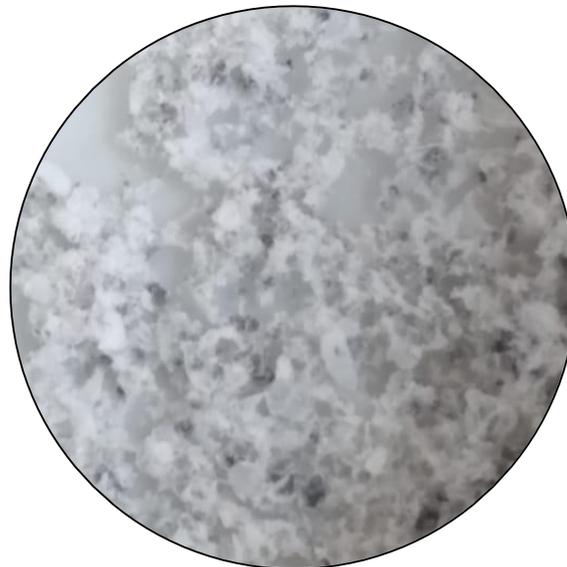
$$\text{Cendres (\%)} = \frac{P_0 - P_1}{P_e} \times 100$$

Où :

**P<sub>0</sub>** : Poids de l'échantillon avant calcination (g).

**P<sub>1</sub>** : Poids de l'échantillon après calcination (g).

**P<sub>e</sub>** : Poids de la prise d'essai (g).



**Figure 49** : Les cendres.

### 2.3.3. Détermination du taux de la matière grasse

Le taux de la matière grasse est déterminé conformément aux méthodes officielles de l'**AOAC (2010)**, Une quantité de 1g d'échantillon de chaque variété a été placée dans une cartouche en cellulose d'un système d'extraction Soxhlet semi-automatique (**Figure 50**) (**Tableau II, Annexe 1**). Puis, 25mL d'hexane sont ajoutées dans des creusets en aluminium préalablement lavés, séchés et tarés (**P<sub>0</sub>**). L'extraction se fait par ébullition du solvant et condensation de ses vapeurs par un réfrigérant. Cette extraction dure environ 1 heure. Ensuite, les creusets sont mis dans l'étuve réglée à 105°C durant 24 heures pour éliminer complètement le reste du solvant. Les creusets sont ultérieurement refroidis dans un dessiccateur et pesés de nouveau (**P<sub>1</sub>**).

La teneur en matière grasse est exprimée en pourcentage (%) et calculée selon la formule suivante :

$$MG (\%) = \frac{(P_1 - P_0)}{P_e} \times 100$$

Où :

$P_e$  : Prise d'essai de l'échantillon.

$P_0$  : Poids du creuset vide.

$P_1$  : Poids du creuset après l'extraction (contenant l'extrait gras).



**Figure 50** : Extraction de la matière grasse à l'aide d'un appareil à système Soxhlet semi-automatique.

#### 2.3.4. Détermination du taux de l'azote total et des protéines totales

À l'aide d'un appareil Kjeldahl (**Figure 51**) (**Tableau II, Annexe 1**), l'azote total est déterminé par la méthode de Kjeldahl (suivant le protocole fourni par le fournisseur de l'appareil Kjeldahl : FOSS Scino Co., Ltd.).

Dans les matras de minéralisation, 0,5g de l'échantillon sont mélangées avec 0,5g de sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4$ ), puis 10mL d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentré sont ajoutés. Les mélanges sont laissés réagir 15 minutes à froid puis portés, dans le bloc de minéralisation à  $420^\circ\text{C}$  jusqu'à digestion complète (mélange limpide) (dans notre cas, la digestion a pris plus de 5 heures). Après la digestion, les matras sont laissés refroidir. Dans chaque matras, 50mL d'eau distillée ( $\text{H}_2\text{O}$ ) et 50mL de l'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) à 35% sont ajoutés, puis sont laissés réagir pendant 10 minutes. Le contenu des matras est ensuite transvasé dans les tubes de distillation.

Durant l'étape de distillation, chaque tube est introduit dans le bloc de distillation, où les vapeurs chargées d'ammoniac (qui sont dégagés sous l'effet de vapeur d'eau bouillante injectée dans les tubes) sont récupérées dans des erlenmeyers de 100mL contenant 25mL de solution

d'acide borique ( $H_3BO_3$ ) à 4% et 3 gouttes de l'indicateur coloré de Tashiro (mélange de rouge de méthyle 0,2% et bleu de méthylène 0,1%). La présence d'ammoniac dans le milieu est indiquée par l'apparition de la coloration jaune claire dans les erlens. L'étape de distillation est arrêtée lorsque le volume de la solution dans les erlens atteint 100mL (environ 3 minutes de distillation).

L'ammoniac dégagé par l'échantillon (récupéré dans les erlens) est mesuré par titration avec une solution d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) à 0,05N. La neutralisation est achevée lorsque la coloration vire vers le rose. Le volume ( $V_{\text{Échantillon}}$ ) de l'acide sulfurique consommé est alors enregistré. Un blanc est aussi réalisé dans les mêmes conditions sans échantillon, et le volume d'acide sulfurique consommé pour le blanc est aussi enregistré ( $V_{\text{Blanc}}$ ). La teneur en azote est exprimée en pourcentage (%) et est calculée par la formule suivante :

$$\text{Azote total (\%)} = \frac{(V_{\text{échantillon}} - V_{\text{Blanc}})}{P} \times S \times 14,007 \times 100$$

Où :

$V_{\text{Échantillon}}$  : Volume de  $H_2SO_4$  consommé lors de la titration de l'échantillon (mL).

$V_{\text{Blanc}}$  : Volume de  $H_2SO_4$  consommé lors de la titration du blanc (mL).

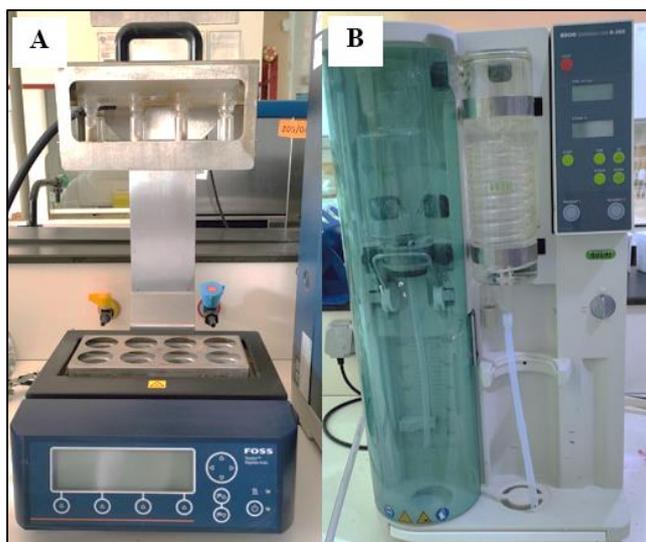
$S$  : Normalité de  $H_2SO_4$  utilisé pour la titration (N).

$P$  : Prise d'essai d'échantillon (g).

La teneur en azote libéré est multipliée par un facteur de conversion pour déduire la teneur en protéines totales. Le facteur de conversion varie entre les espèces. Pour le mil, il équivaut à 6,25.

Le résultat est calculé selon la formule ci-dessous et est exprimé en pourcentage puis converti en gramme par 100 gramme de matière sèche (g/100g MS).

$$\text{Teneur en protéines totaux} = \text{Azote total} \times 6,25$$



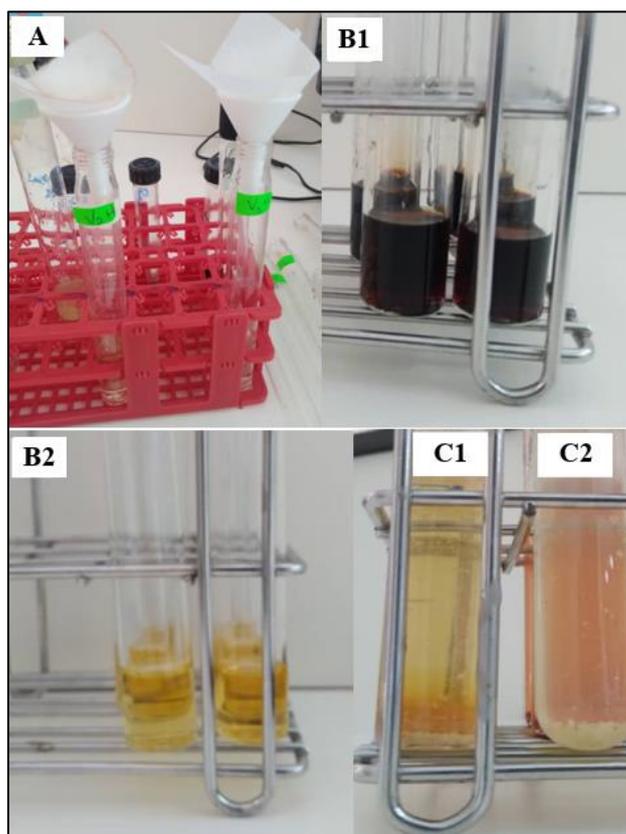
**Figure 51** : Appareil Kjeldahl : **A** : Unité de minéralisation ; **B** : Unité de distillation.

### 2.3.5. Détermination de la teneur en sucres totaux

Les sucres totaux sont déterminés par la méthode phénol-acide sulfurique, appelée communément la méthode du **Dubois et al. (1956)**.

Les sucres, à chaud en présence d'acide fort, se déshydratent et forment des dérivés furaniques (furfural dans le cas de pentoses et hydroxyméthylfurfural dans le cas d'hexoses), qui se condensent avec le phénol pour donner un complexe jaune-orangé dont le maximum d'absorption est entre 480 et 490nm.

Une hydrolyse a été réalisée pour libérer les sucres constitutifs des polysaccharides présents dans les échantillons de mil. Une prise d'essai de 0,2g d'échantillon en poudre est hydrolysée avec 10mL d'une solution d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) à 0,5M, puis portée à 105°C pendant 3 heures. Après refroidissement, l'hydrolysate est filtré (**Figure 52 A**) via papier filtre fin et le filtrat est récupéré dans des tubes à essai en verre. L'étape suivante consiste à mélanger une quantité de 0,3mL du filtrat (dilué à 1%) avec 0,3mL de solution de phénol (5%, P/V) et 1,5mL d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) concentré, le contenu a été bien mélangé (**Figure 52 B1 et B2**) puis incubé à 105°C pendant 5 minutes (**Figure 52 C1 et C2**). Les tubes ont été gardés à l'obscurité pendant 30 minutes (refroidissement et développement de la coloration). L'absorbance est ensuite mesurée à 490nm.



**Figure 52** : Les étapes de dosage des sucres.

**A** : La filtration ; **B1** : Filtrat sans dilution, **B2** : Filtrat avec dilution à 1% ; **C1** : Résultat de la variété jaune après incubation ; **C2** : Résultats de la variété gris-verdâtre après incubation.

La teneur en sucres totaux est déterminée en référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec le glucose (**Figure 1, Annexe 2**) selon l'équation suivante :

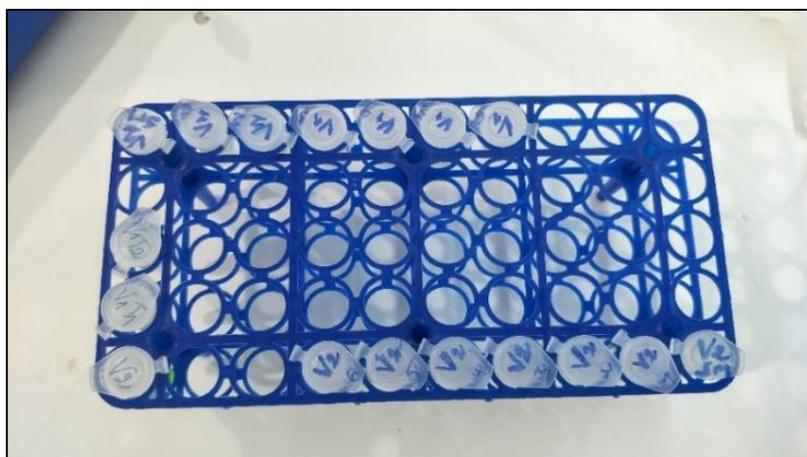
$$y = 5,3516 x$$

$$R^2 = 0,9955$$

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent glucose par millilitre (mg EG/mL) puis convertis en gramme d'équivalent glucose par 100 gramme de matière sèche (g EG/100g MS).

#### 2.4. Détermination de la teneur en composés phénoliques

Pour réaliser ces dosages, une quantité de 1mg d'extrait de chaque variété étudiée a été dilué dans 1mL d'éthanol, différentes dilutions de cette solution mère ont été préparées (**Figure 53**). Pour chaque manipulation, trois répétitions ont été réalisées. Un blanc est aussi préparé pour chaque manipulation, dans les mêmes conditions, et en trois répétitions.



**Figure 53** : Les dilutions de la variété jaune et de la variété gris-verdâtre.

##### 2.4.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La méthode utilisée est celle rapportée par Müller *et al.* (2010) réalisée à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu. Ce dernier est composé d'acide phospho-tungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phospho-molybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) qui se réduisent, par les composés phénoliques et dans un milieu basique, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la coloration bleue produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait.

Un volume de 20 $\mu$ L de chaque dilution est mélangé avec 100 $\mu$ L du réactif de Folin-Ciocalteu récemment préparé (1:10). Une quantité de 75 $\mu$ L de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à 7,5% est additionnée. Un blanc est préparé de la même manière et dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (éthanol). Le mélange réactionnel est laissé à l'obscurité durant 2 heures à température ambiante. L'absorbance de la coloration bleue développée est mesurée au lecteur de microplaques à 765nm (**Figure 54**) (**Tableau II, Annexe 1**).

Le dosage a été fait pour les trois extraits de la variété jaune (V1T1, V1T2 et V1Sox) et l'extrait de la variété gris-verdâtre (V2T1).



**Figure 54** : Lecteur de microplaques.

La teneur en composés phénoliques est déterminée en référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique (**Figure 2, Annexe 2**) selon l'équation suivante :

$$y = 0,0034x + 0,1044$$

$$R^2 = 0,9972$$

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EAG/mg}$ ), puis convertis en milligramme équivalents d'acide gallique par 100 grammes de matière sèche ( $\text{mg EAG}/100\text{g MS}$ ).

#### 2.4.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée en utilisant la technique colorimétrique décrite par **Choi et al. (2006)** avec de fines modifications.

Les flavonoïdes peuvent être dosés en utilisant l'une de leurs propriétés structurales : la chélation des cations métalliques. Dans un milieu contenant des ions  $\text{Al}^{3+}$ , les flavonoïdes se complexent avec ces cations grâce à leurs groupements hydroxyles, en formant une coloration jaune dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans l'extrait.

Ainsi,  $20\mu\text{L}$  de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 5% sont ajoutés à  $50\mu\text{L}$  de chaque dilution déjà préparée, puis on additionne  $20\mu\text{L}$  de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 10% et  $100\mu\text{L}$  d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ). Un blanc est préparé de la même manière et dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant l'éthanol. Une incubation pendant 40 minutes à température ambiante a été réalisée, l'absorbance est mesurée au lecteur de microplaques à  $415\text{nm}$ .

Le dosage a été fait pour l'extrait de la variété jaune (V1T1) et la variété gris-verdâtre (V2T1).

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée en référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec la quercétine (**Figure 3, Annexe 2**) selon l'équation suivante :

$$y = 0,005x + 0,0399$$

$$R^2 = 0,9988$$

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalents de quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EQ/mg}$ ), puis convertis en milligramme équivalents de quercétine par 100 grammes de matière sèche ( $\text{mg EQ}/100\text{g MS}$ ).

### 2.4.3. Détermination de la teneur en tanins

Le taux des tanins condensés a été déterminé selon la technique décrite par **Broadhurst & Jones (1978)**. Nous avons déposé  $10\mu\text{L}$  de chaque dilution dans les puits d'une microplaque, nous avons ajouté  $160\mu\text{L}$  de la vanilline à 4% et  $80\mu\text{L}$  de HCl. Après incubation à température ambiante pendant 20 minutes, nous avons procédé à la lecture à l'aide d'un lecteur de microplaques à  $500\text{nm}$  face à un blanc préparé à la catéchine.

Le dosage a été fait pour l'extrait de la variété jaune (V1T1) et la variété gris-verdâtre (V2T1).

La teneur en tanins condensés est déterminée en référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec la catéchine (**Figure 4, Annexe 2**) selon l'équation suivante :

$$y = 1,5683x - 0,0091$$

$$R^2 = 0,9996$$

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme d'équivalent de catéchine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EC/mg}$ ), puis convertis en milligramme d'équivalent de catéchine par 100 grammes de matière sèche ( $\text{mg EC}/100\text{g MS}$ ).

## 2.5. Étude des activités biologiques

Pour étudier les activités biologiques des extraits obtenus, une quantité de  $4\text{mg}$  d'extrait de chaque variété étudiée a été dilué dans  $1\text{mL}$  d'éthanol, différentes dilutions de cette solution mère ont été préparées. Pour chaque manipulation, trois répétitions ont été réalisées. Un blanc est aussi préparé pour chaque test, en trois répétitions et dans les mêmes conditions.

### 2.5.1. Test de piégeage du radical 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH')

Pour le test DPPH, le protocole décrit par **Blois (1958)** a été suivi avec optimisation. L'activité anti-radicalaire des deux extraits de la variété jaune et de la variété gris-verdâtre a été déterminée en utilisant le radical libre 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH'). En effet, les composés à activité anti-radicalaire piègent le DPPH' en lui cédant un atome d'Hydrogène, ce qui conduit à une décoloration qu'on peut suivre par spectrophotométrie à  $517\text{nm}$  (**Popovici et al. 2009**).

De ce fait, un volume de  $40\mu\text{L}$  de chaque dilution de l'extrait est ajouté à  $160\mu\text{L}$  de solution méthanolique de DPPH à 6% (**Annexe 3**). Un témoin (blanc) est préparé en parallèle en remplaçant les  $40\mu\text{L}$  d'échantillon par de l'éthanol. Après incubation de 30 minutes à

température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est déterminée à 517nm dans un lecteur de microplaques.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction du radical DPPH<sup>•</sup> selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition de la DPPH (\%)} = \frac{(A_t - A_e)}{A_t} \times 100$$

Où :

$A_t$  : Absorbance de témoin (blanc).

$A_e$  : Absorbance de la solution qui contient l'échantillon.

### 2.5.2. Test de piégeage de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS<sup>•+</sup>)

Ce test est déterminé selon la méthode de **Re et al. (1999)** avec une amélioration. En présence d'un antioxydant (donneur d'hydrogène) qui réduit l'ABTS<sup>•+</sup> en ABTS et le décolore, entraînant la perte de sa couleur bleu-vert (**Seeram et al., 2006**).

La solution ABTS a été préparée au préalable (**Annexe 3**). Un volume de 160µL de la solution de l'ABTS préparée a été ajouté à 40µL de chaque dilution de notre extrait. Le blanc est préparé en parallèle suivant le même protocole en remplaçant l'extrait par l'éthanol. Après 10 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 734nm à l'aide d'un lecteur de microplaques.

Le pourcentage de l'activité anti radicalaire est calculé suivant la formule :

$$\text{Inhibition de l'ABTS (\%)} = \frac{1 - A_e}{A_t} \times 100$$

Où :

$A_t$  : Absorbance de témoin (blanc).

$A_e$  : Absorbance de la solution qui contient l'échantillon.

### 2.5.3. Test de chélation des ions ferreux (La ferrozine C<sub>20</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>)

Le test de chélation des ions ferreux est réalisé selon la méthode décrite par **Dinis et al. (1994)** avec de fins changements.

Dans des conditions légèrement acides (pH 6), les composés phénoliques (Ph-OH) ne peuvent se lier qu'à une fraction de Fe<sup>2+</sup>, tandis que les ions Fe<sup>2+</sup> restants peuvent réagir avec la ferrozine pour former un complexe ion ferreux-ferrozine qui est stable, soluble dans l'eau et de couleur rouge ou violet foncé et ayant une absorbance maximale à 562nm. En présence d'un chélateur, la formation du complexe est entravée, entraînant une perte de la couleur rouge ou violet foncé. La mesure de l'absorbance à 562nm donne une estimation de la capacité de liaison du chélateur.

Les solutions ont été préparées d'avance (**Annexe 3**). Dans chaque puits d'une microplaque, 40µL éthanol sont déposés, puis on ajoute 40µL de chaque dilution de l'extrait suivi de 40µL de  $Fe^{2+}$ , après on additionne 80µL de ferrozine. On attend 10 minutes et on passe à la lecture à 562nm à l'aide de lecteur de microplaques.

#### 2.5.4. Test de la capacité antioxydante par réduction de l'ion cuprique (Cupric ion

##### Reducing Antioxidant Capacity ou CUPRAC)

L'activité antioxydante par réduction cuprique, nommé en abrégé CUPRAC a été déterminée selon la méthode d'**Apak et al. (2004)** avec optimisation. Le principe étant que le réactif oxydant, le bis (neocuproine) copper (II) chloride, réagit avec les polyphénols de manière où les protons libérés peuvent être tamponnés avec la solution tampon d'acétate d'ammonium ( $AcNH_4$ ) relativement concentrée. Dans cette réaction, les groupes réactifs Ar-OH des polyphénols sont oxydés et le réactif oxydant est réduit et est très coloré en jaune présentant une absorbance maximale à 450nm (**Pisoschi & Gheorghe, 2011**).

Les réactifs ont été préparés auparavant (**Annexe 3**). Dans un puits d'une microplaque, On met 40µL de chaque dilution de l'extrait, on ajoute 60µL de la solution ( $S_1$ ) puis 50µL de la solution ( $S_3$ ) et enfin on complète par 50µL de la solution  $S_2$ . Un blanc a été préparé en parallèle en mettant de l'éthanol à la place de la solution contenant l'échantillon. Après une heure de temps et à l'aide d'un lecteur de microplaques, l'absorbance a été enregistrée à 450nm.

Les résultats ont été calculés à titre de A-05 correspondant à la concentration indiquant une absorbance de 0,50, ces résultats sont exprimés en (µg/mL).

#### 2.5.5. Test Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ou couramment reducing power

L'activité Reducing power est déterminée par la méthode d'**Oyaizu (1986)** avec une légère optimisation.

La méthode FRAP (ferric reducing antioxidant power) repose sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  du complexe ion ferrique-(2,4,6-tri(2-pyridyl)1,3,5-triazine) ( $(Fe^{3+})$ -TPTZ) en fer ferreux  $Fe^{2+}$  à faible pH. La liaison du complexe formé, le  $(Fe^{2+})$ -TPTZ, crée une couleur bleu marine très intense. Cette réduction est suivie en mesurant la variation d'absorption à 593nm.

Dans chaque puits d'une microplaque, on dépose 10µL de chaque dilution de l'extrait, puis 40µL de phosphate buffer (pH 6,6) et 50µL de potassium ferricyanide ( $K_3[Fe(CN)_6]$  à 1%) sont ajoutés.

Les plaques sont ensuite incubées à l'étuve à 50°C pendant 20 minutes. Puis on ajoute 50µL de tri-chloro acetic acid (TCA) à 10%, puis 40µL de  $H_2O$  et enfin on complète avec 10µL de ferric chloride ( $FeCl_3$ ) à 0,1%. La lecture est faite à 700nm grâce à un lecteur de microplaques.

Les résultats ont été calculés à titre de A-05 correspondant à la concentration indiquant une absorbance de 0,50, ces résultats sont exprimés en (µg/mL).

### 2.5.6. Test de l'activité antioxydante par la phénanthroline

Ce dosage est basé sur le principe que le complexe Fe-phénanthroline donne une coloration rouge-orange. Si, dans la solution nous avons des radicaux libres OH, donc il n'y aura pas de complexes Fe-phénanthroline car ces radicaux sont liés aux ions de fer et la phénanthroline ne trouvera pas d'ions de fer pour former le complexe Fe-phénanthroline de couleur rouge-orange (Mukhopadhyay *et al.*, 2016). L'absorbance maximal est mesurée à 510nm.

Les solutions sont antérieurement préparées (Annexe 3). L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka (2008) avec optimisation. Brièvement, 10µL de chaque dilution de l'extrait sont mélangés à 50µL de FeCl<sub>3</sub> à 0,2%, puis on ajoute 30µL de phénanthroline à 0,5% et 110µL de éthanol dans chacun des puits de la microplaque. Après avoir soumis les mélanges à une incubation à l'obscurité pendant 20 minutes, l'absorbance est mesurée à 510nm grâce au lecteur de microplaques. En parallèle, un blanc a été préparé, à la BHT, dans des mêmes conditions.

Les résultats ont été calculés à titre de A-05 correspondant à la concentration indiquant une absorbance de 0,50, ces résultats sont exprimés en (µg/mL).

### 2.5.7. Test de Silver nano particles (SNL) ou Silver NanoParticle Antioxidant Capacity (SNPAC)

L'activité métal chélate est déterminée selon la méthode de Özyürek (2012). Le principe consiste en la réduction de l'Ag<sup>+</sup> en nanoparticules d'argent sphériques Ag<sup>0</sup> à la présence d'un antioxydant. L'absorbance à 423nm permet la détection de la présence ou pas d'une activité anti oxydante.

Une quantité de 20µL de chaque dilution de l'extrait a été mise dans les puits d'une microplaque, puis 130µL de solution SNP ont été ajoutées, suivies par 50µL de H<sub>2</sub>O. Dans une étuve. On a incubé les mélanges à 25°C pendant 30 minutes. Après nous avons réalisé une lecture à 423nm grâce au lecteur de microplaques.

Les résultats ont été calculés à titre de A-05 correspondant à la concentration indiquant une absorbance de 0,50, ces résultats sont exprimés en (µg/mL).

## 3. Analyse statistique

Le test t de Student a été effectué pour deux échantillons indépendants pour chaque variable analysé. Les résultats sont exprimés en moyenne ± une erreur standard des triplicatas. Des p-value (bilatérale) ( $p \leq 0,05$ ) ont été obtenues. Tous les calculs ont été effectués au moyen du logiciel XLSTAT® Version 2016.02.28451 sur Windows® 7. Les valeurs de IC-50 et A-05 ainsi que les représentations graphiques ont été réalisées à l'aide de MS-Excel 2013.

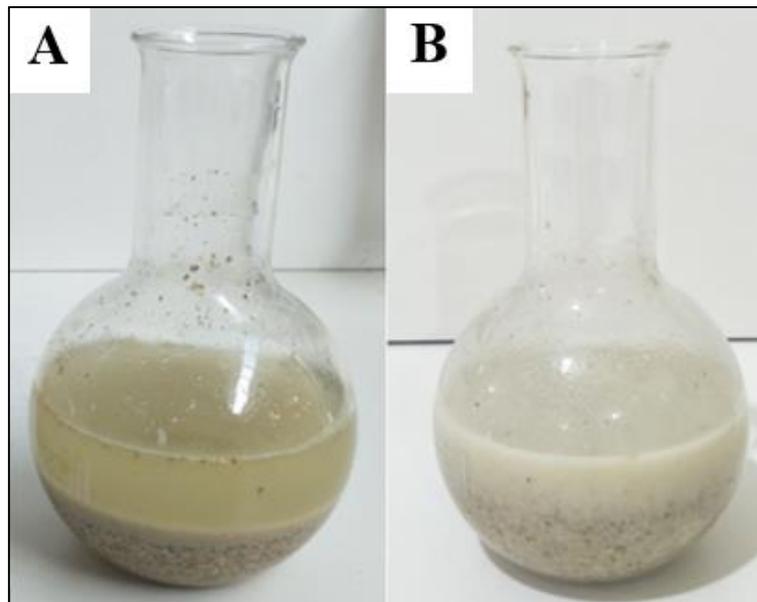
# **Chapitre II**

# **Résultats et discussion**

## 1. Extraction et rendement

### 1.1. Les extraits

Il a été observé que la solution de l'éthanol contenant l'échantillon a changé de couleur. Avant passage au sonificateur, elle était claire, mais après soumission au sonificateur elle est devenue blanchâtre (**Figure 55 A et B**). Le changement est dû à l'éclatement des cellules suite à la formation d'une bulle de cavitation à proximité de la surface du matériel végétal, l'effondrement de cette bulle, suite à un cycle de compression, provoque un micro jet qui se dirige vers la matrice végétale et la déchirure de la paroi de la cellule et puis la libération du contenu de la cellule (**Chemat et al., 2011**).

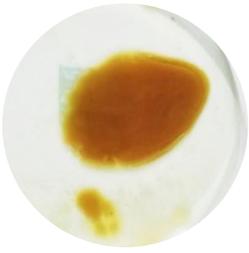


**Figure 55** : Solution de l'éthanol contenant les graines broyées.

Les extraits solides obtenus ont des aspects et des couleurs différentes, le **tableau X** résume les caractéristiques, l'aspect et le rendement de l'extraction.

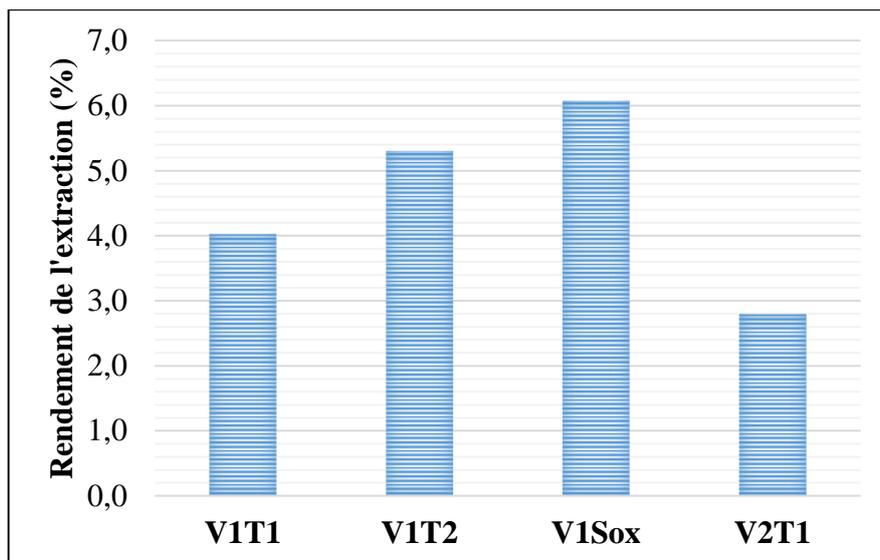
Le changement de l'aspect et la couleur d'un extrait à un autre est expliquée par le fait que la méthode d'extraction et les solvants utilisés ont une influence sur la contenance de l'extrait obtenu (**Ben-Salah et al., 2021**).

Tableau X : Les différents extraits obtenus.

Variété et méthode d'extraction	Solvant	Photo	Aspect	Couleur	Rendement (%)
La variété jaune au sonificateur pendant 30 minutes amplitude 60%. (V1T1)	70mL éthanol 50/50 (v/v).		Pâteux	Marron claire	4,02
La variété jaune au sonificateur pendant 45 minutes amplitude 60%. (V1T2)	70mL éthanol 50/50 (v/v).		Pâteux	Marron foncé	5,30
La variété jaune au Soxhlet (V1Sox)	350mL méthanol pur.		Pâteux	Marron foncé	6,07
La variété gris-verdâtre au sonificateur pendant 30 minutes amplitude 60%. (V2T1)	70mL éthanol 50/50 (v/v).		Pâteux	Marron claire	2,80

### 1.2. Comparaison entre les rendements des méthodes d'extraction

Le rendement de différentes méthodes d'extraction appliquées sur les graines de la variété jaune et l'extraction au sonificateur de la variété gris-verdâtre sont exprimées dans la **figure 56**.



**Figure 56** : Rendement de l'extraction exprimé en (%).

La **figure 56** nous renseigne que le rendement augmente proportionnellement avec la durée d'application des ultrasons. La méthode d'extraction au Soxhlet donne le meilleur rendement ( $V1Sox > V1T1 > V1T2$ ).

Le rendement de l'extrait V1T1 était de 4,02%, celui de l'extrait V1T2 était de 5,30%. Tandis que l'extrait V1Sox a donné 6,07%. On déduit que la technique d'extraction a une influence importante sur le rendement.

En comparant le rendement des deux variétés, on constate que le rendement est de 4,02% pour la variété jaune (V1T1) et 2,80% pour la variété gris-verdâtre (V2T1) sachant que les méthodes d'extraction sont identiques pour chacune des deux variétés.

Dans une étude menée par **Bourgou et al. (2016)**, différents types d'extractions sur *Euphorbia helioscopia*, ont montré que l'extraction au sonificateur, en utilisant l'éthanol 70% comme solvant, offre un meilleur rendement que l'extraction au soxhlet en utilisant le même solvant (éthanol 70%). Ainsi la méthode d'extraction et le solvant utilisé doivent être adaptés pour chaque matériel végétal afin d'obtenir le meilleur rendement.

## 2. Détermination de la composition physicochimique

L'étude statistique test t de Student réalisée par XLSTAT pour deux échantillons indépendants a montré que les résultats de la matière sèche ont une différence non significative ( $p = 0.514$ ), alors que les autres résultats ont une différence significative ( $p < 0.05$ ) (**Tableau XI**).

**Tableau XI** : Test t de Student de la composition élémentaire des deux variétés.

Variable	Échantillon	M (Moyenne)	Écart- type	p-value	Signification
Matière sèche (%)	Variété jaune	90,35	0,08	= 0,514	Non significatif
	Variété gris-verdâtre	90,40	0,07		
Cendres (%)	Variété jaune	1,12	0,11	= 0,006	Significatif
	Variété gris-verdâtre	1,78	0,19		
Matière grasse (g/100g MS)	Variété jaune	4,55	0,04	< 0,0001	Significatif
	Variété gris-verdâtre	3,12	0,01		
Sucres totaux (g EG/100g MS)	Variété jaune	59,80	1,15	< 0,0001	Significatif
	Variété gris-verdâtre	42,09	0,53		
Protéines totaux (%)	Variété jaune	8,75	0,09	< 0,0001	Significatif
	Variété gris-verdâtre	5,48	0,31		

Pour réaliser les analyse physicochimiques, les graines des deux variétés ont été broyées à l'aide d'un blinder de laboratoire (**Tableau II, Annexe 1**).

### 2.1. Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche

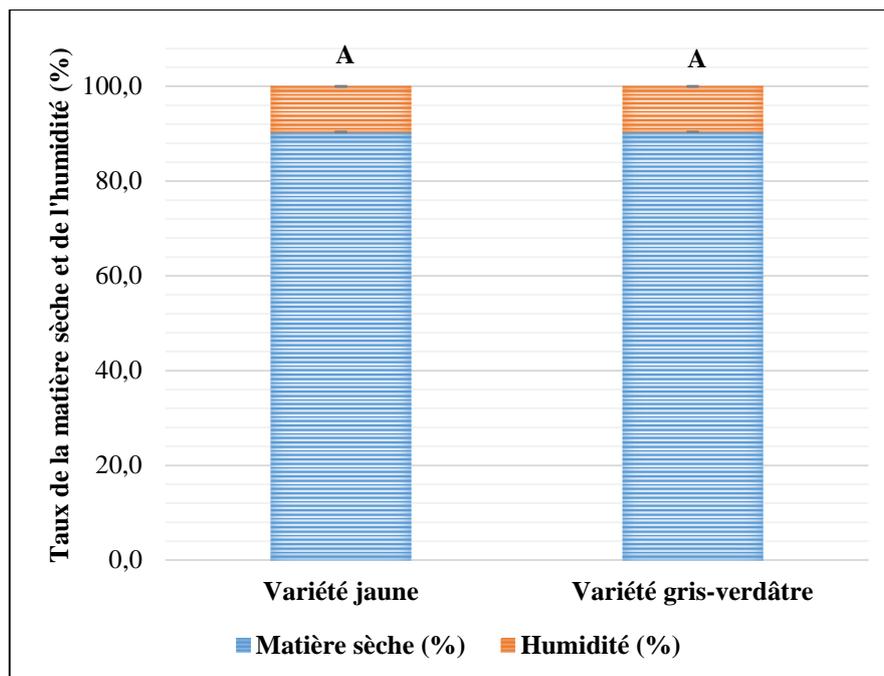
Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 57**. L'analyse statistique du taux de matière sèche n'a pas révélé de différence significative entre les deux variétés de mil étudiés ( $p=0,514$ , Test t de Student).

Le taux de matière sèche de la variété jaune est de  $90,35 \pm 0,08$  %, alors que pour la variété gris-verdâtre est de  $90,40 \pm 0,07$  %.

**Rooney & McDonough (1987)**, indiquent une valeur de 90%. D'autre part, **Goudar et al. (2023)**, indiquent une activité d'eau basse équivaut à  $0.67 \pm 0.09$  % chez le millet perlé, alors que **Békoyé (2011)** a trouvé des quantités de matière sèche qui varient entre 89,60 et 91,20% dans 10 cultivars de différentes régions climatiques de la côte d'Ivoire. Ceci indique que le climat a une influence importante sur la teneur en humidité.

**Marmouzi et al. (2016)** ont trouvé  $89,01 \pm 0,15$  % de matière sèche dans une variété de millet perlé cultivée au Maroc.

Un taux d'humidité bas prolonge la durée de conservation, selon **CODEX ALIMENTARIUS (1989)** et **Bildstein et al. (2008)**, les graines de mil peuvent être conservées, au maximum, 24 mois dans un baril fermé.



Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0.05$ ) (A>B).

**Figure 57** : Taux de la matière sèche exprimé en (%).

## 2.2. Détermination du taux de cendres

Les résultats des taux de cendres sont représentés dans la **figure 58**. L'analyse statistique du taux de cendres a montré une différence significative entre les deux variétés de mil ( $p = 0,006$ , Test t de Student).

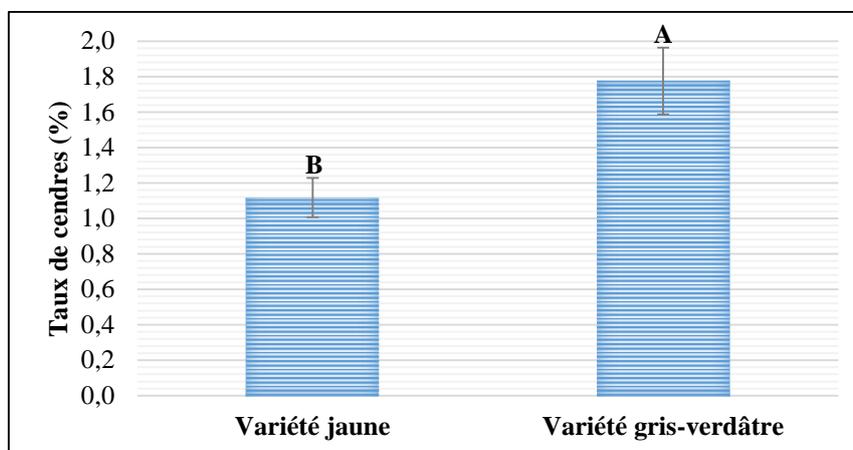
Le taux de cendres chez la variété jaune est de  $1,12 \pm 0,11$  %, il est donc inférieur que chez la variété gris-verdâtre là où il atteint  $1,78 \pm 0,19$  %. La variété gris-verdâtre est plus riche, en matière minérale, que la variété variété jaune.

Un chercheur, **Békoyé (2011)**, a discerné des quantités de cendre allant de 1,6 à 1,9% dans 10 cultivars de *Pennisetum glaucum* provenant de différentes régions climatiques de la Côte d'Ivoire. Cela témoigne que le taux de la matière minérale diffère d'une variété à une autre.

Une étude réalisée par **Goudar et al. (2023)** indique que le millet perlé contient  $2,70 \pm 0,31$  % de matière minérale. Ce qui est supérieur à la valeur trouvée dans les deux variétés étudiées. Alors que chez *Panicum sumatrense*, une autre espèce de millet nommée petit millet, il a détecté un taux de matière minérale égale à  $4,77 \pm 0,26$  %. Cela affirme que le taux de la matière minérale diffère d'une espèce à une autre.

Tandis que **Saldivar, (2003), Premavalli, (2012), Hassan et al., (2021) et Ramashia et al. (2021)** ont trouvé 2,2% de cendres dans le millet perlé.

Selon une étude menée par **Godon & Loizel (1997)** ainsi celle de **Godon & Willm (1991)**, le taux de cendres des céréales inique la valeur minérale. **Godon (1978)** expose dans son étude que le taux de cendres et la répartition des minéraux dans la graine sont influencés par plusieurs facteurs (génétiques, climatiques, pédologiques et traitement technologiques).



Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0,05$ ) (A>B).

**Figure 58** : Taux de cendres exprimé en (%).

### 2.3. Détermination du taux de la matière grasse

Les résultats des taux de la matière grasse sont représentés dans la **figure 59**. L'analyse statistique du taux de la matière grasse a montré une différence significative entre la variété jaune et la variété gris-verdâtre ( $p < 0,0001$ , Test t de Student).

Le taux de la matière grasse chez la variété jaune est supérieur à celui chez la variété gris-verdâtre, ainsi il est de  $4,55 \pm 0,04$  g/100g MS chez la première variété et de  $3,12 \pm 0,01$  g/100g MS chez la deuxième. Les deux variétés s'avèrent pauvres en matière grasse.

**Hulse et al. (1980)** ont déterminé une quantité de 4,8 g/100g MS de matière grasse chez le millet contre 1,5 g/100g MS pour le blé et 0,5 g/100g MS dans le riz, 1,9 g/100g MS dans le sorgho et 0,9 g/100g MS chez le maïs. Tandis que **Lender (2004)** et **Nambiar et al. (2011)** ont trouvé 5,0 g/100g MS dans le mil.

**Békoyé (2011)**, dans 10 cultivars de *Pennisetum glaucum* provenant de différentes régions climatiques de la côte d'Ivoire, a marqué un taux de matière grasse partant de 1,8 à 7,58%. Ce qui démontre que le climat a une très forte influence sur le taux de la matière grasse.

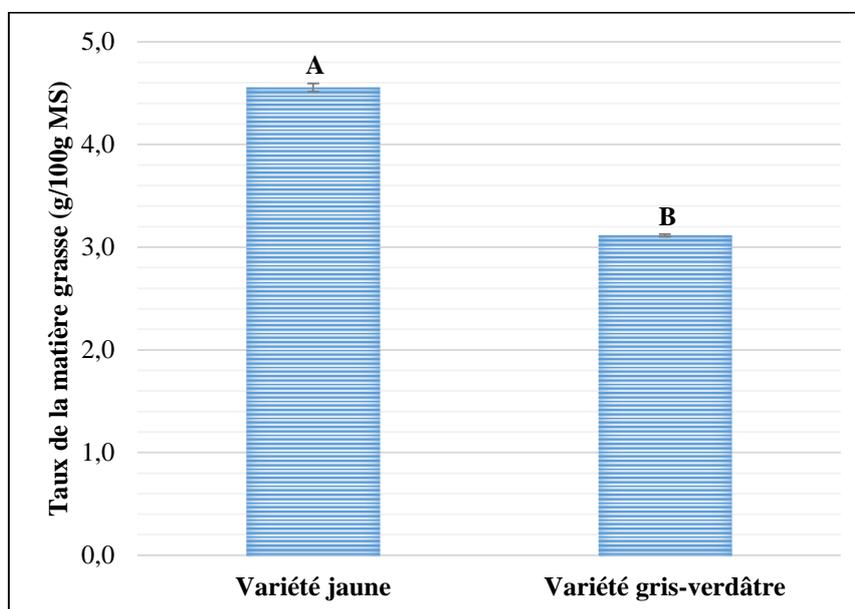
Dans une variété cultivée au Maroc, **Marmouzi et al. (2016)** ont déterminé 4,5 g/100g MS de matière grasse dans le millet perlé de la région d'Adrar (Algérie), ils ont cité : l'acide palmitique, l'acide palmitoleic, l'acide stearic, l'acide oleic, l'acide linoleic, l'acide linolenic et l'acide arachidic. **Nani et al., (2015)** a trouvé exactement la même composition dans la variété de la région d'Adrar (Algérie) avec l'acide gonodoïque et l'acide behenic en plus.

Marmouzi *et al.* (2016) a trouvé  $6,45 \pm 0,12$  g/100g MS de matière grasse dans une variété de millet perlé cultivée au Maroc.

Également Saldivar, (2003), Premavalli, (2012), Hassan *et al.*, (2021) et Ramashia *et al.* (2021) ont trouvé une valeur de matière grasse allant de 4,8 à 5 g/100g MS dans les graines de la même espèce *P. glaucum*.

L'équipe de Goudar (2023), ont déterminé un taux de matière grasse égale à  $4,28 \pm 0,08$  g/100g MS dans les graines du millet perlé. Ce qui est très proche au taux que nous avons trouvé chez variété jaune. Par contre, le même chercheur et son équipe, ont trouvé, dans le millet kodo (*Paspalum scrobiculatum*) une quantité de  $3,22 \pm 0,64$  g/100g MS, une valeur très proche de la valeur trouvée dans la variété gris-verdâtre.

On peut déduire que les graines de millet, y compris les deux variétés étudiées, sont riches en matière grasse par rapport à d'autres céréales.



Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0,05$ ) ( $A > B$ ).

**Figure 59 :** Taux de la matière grasse exprimé en (g/100g MS).

#### 2.4. Détermination du taux de l'azote total et des protéines totales

Concernant les protéines totales, les résultats sont élaborés dans la **figure 60**. Le test t de Student du taux de la matière grasse a divulgué une différence significative entre les deux variétés en question ( $p < 0,0001$ , Test t de Student).

Les variétés étudiées ont un taux de protéines totales équivalent à  $8,75 \pm 0,09$  et  $5,48 \pm 0,31$  g/100g MS pour la variété jaune et la variété gris-verdâtre respectivement, on peut constater que cette dernière est pauvre en protéines par rapport à la première variété.

Plusieurs auteurs ont étudié le taux des protéines des graines de millet perlé, deux études différentes menées par Hulse *et al.* (1980) et Rooney en 1987 ont déterminés 11,8 g/100g MS,

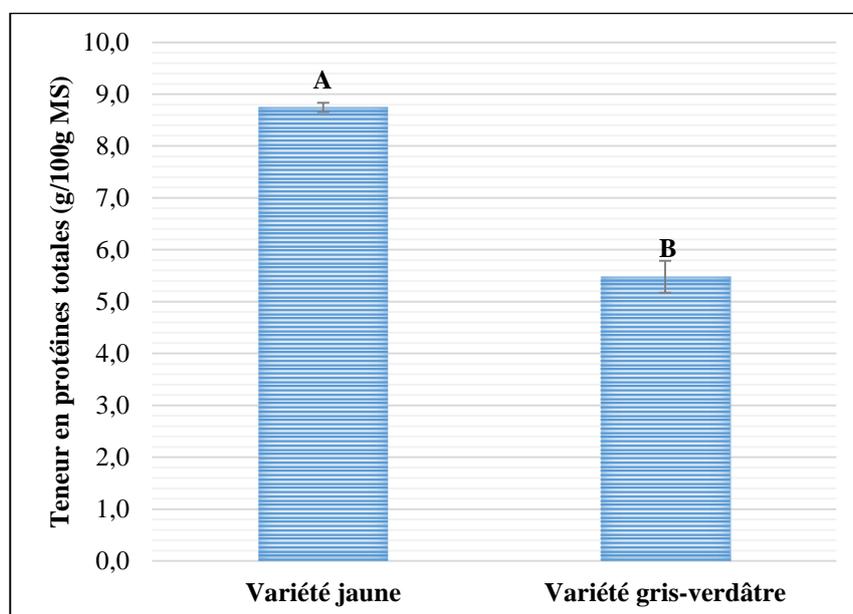
**Lender (2004)** a trouvé 11,0 g/100g MS, tandis que **Békoyé (2011)** a marqué des taux de protéines totales variant de 6,45 à 9,90 g/100g MS dans 10 variétés de mil, de la même espèce que nous avons étudiée, cultivées dans de différentes régions de la Côte d'Ivoire. Quant à **Nambiar et al. (2011)** ils ont détecté 11,6 g/100g MS.

**Marmouzi et al. (2016)** a trouvé  $10,84 \pm 0,22$  g/100g MS de protéines totales dans une variété de millet perlé cultivée au Maroc.

Encore, **Saldivar, (2003), Premavalli, (2012), Hassan et al., (2021) et Ramashia et al. (2021)** ont apporté un taux de protéines totales entre 11,6 et 11,8 g/100g MS dans les graines de mil *P. glaucum*.

Enfin, **Goudar et al. (2023)**, il a évalué un taux de  $11,86 \pm 0,14$  g/100g MS dans les graines du millet perlé.

Comparativement à d'autres céréales, et selon les références, le millet perlé est le céréale le plus riche en protéines (**Hamadou et al., 2017**).



Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0,05$ ) (A>B).

**Figure 60** : Taux des protéines totales exprimé en (g/100g MS).

## 2.5. Détermination de la teneur en sucres totaux

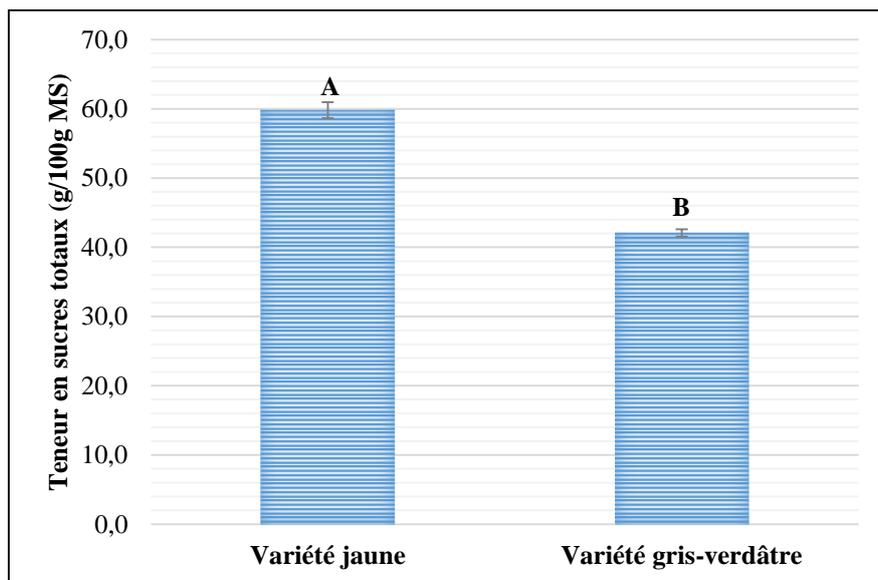
Les résultats du dosage des glucides totaux dans les graines des deux variétés de mil sont présentés dans la **figure 61**. Les deux variétés de mil contiennent des teneurs en glucides totaux significativement différentes ( $p < 0,0001$ , test de Student).

La variété jaune contient  $59,80 \pm 1,15$  g EG/100g par contre la variété gris-verdâtre, c'est moins, elle enferme  $42,09 \pm 0,53$  g EG/100g de sucres totaux. **Roony (1997)** a quantifié un taux de 70,0 g/100g MS. Des études à propos des taux de glucides totaux dans les graines de millet

perlé ont démontré qu'il contient 67,5 g/100g MS contre 71,2 g/100g MS pour le blé, 78,2 g/100g MS pour le riz et 72,6 g/100g MS pour le sorgho (Nambiar *et al.*, 2011).

Un taux variable entre 67,0 et 67,5 g/100g MS de sucres totaux a été détecté dans les graines du millet perlé (*Pennisetum glaucum*) par Saldivar, (2003), Premavalli, (2012), Hassan *et al.*, (2021) et Ramashia *et al.* (2021).

On constate que le millet perlé est pauvre en sucres, notamment les deux variétés étudiées qui proviennent de la région d'Adrar (Algérie), ce qui fait de ces céréales un bon régime contre les autres céréales (Vietmeyer, 1996).



Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0.05$ ) (A>B).

**Figure 61** : Teneur en sucres totaux exprimé en (g/100g MS).

### 3. Étude de la teneur en composés phénoliques

L'étude statistique test t de Student réalisée par XLSTAT pour deux échantillons indépendants a montré que les résultats de la teneur en composés phénoliques ont tous une différence significative (Tableau XII).

**Tableau XII** : Test t de Student de la teneur en composés phénoliques des deux variétés.

Variable	Échantillon	M (Moyenne)	Écart -type	p-value	Signification
Polyphénols (mg EAG/100g MS)	Variété jaune	112,442	2,956	< 0,0001	Significatif
	Variété gris-verdâtre	65,278	1,714		
Flavonoïdes (mg EQ/100g MS)	Variété jaune	64,668	6,245	< 0,0001	Significatif
	Variété gris-verdâtre	28,056	3,497		
Tanins (mg EC/100g MS)	Variété jaune	0,122	0,003	< 0,0001	Significatif
	Variété gris-verdâtre	0,085	0,002		

### 3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Les résultats du dosage des polyphénols totaux sont représentés dans la **figure 62**. Les analyses statistiques montrent une différence significative entre la variété jaune et de la variété gris-verdâtre ( $p < 0,0001$ , Test t de Student).

Nous avons pu détecter un taux de polyphénols totaux équivalent à  $112,44 \pm 2,96$  mg EAG/100g MS dans les graines de la variété jaune et  $65,28 \pm 1,71$  mg EAG/100g MS dans les graines de la variété gris-verdâtre.

Plusieurs auteurs ont étudié la teneur en polyphénol des graines de millet. **Chethan & Malleshi (2007)** ont trouvé des taux variant de  $300 \pm 1$  à  $500 \pm 1$  mg EAG/100g MS chez deux variétés d'éléusine blanche (une variété de millet) et entre  $1300 \pm 2$  à  $2300 \pm 2$  mg EAG/100g MS chez 8 génotypes d'éléusine teintée cultivés en Inde.

**Nambiar et al. (2012)** ont déterminé un taux de polyphénols totaux allant de 268,5 à 420 mg EAG/100g MS dans les graines de 5 variétés de millet perlé (*Pennisetum glaucum*) cultivées en Inde.

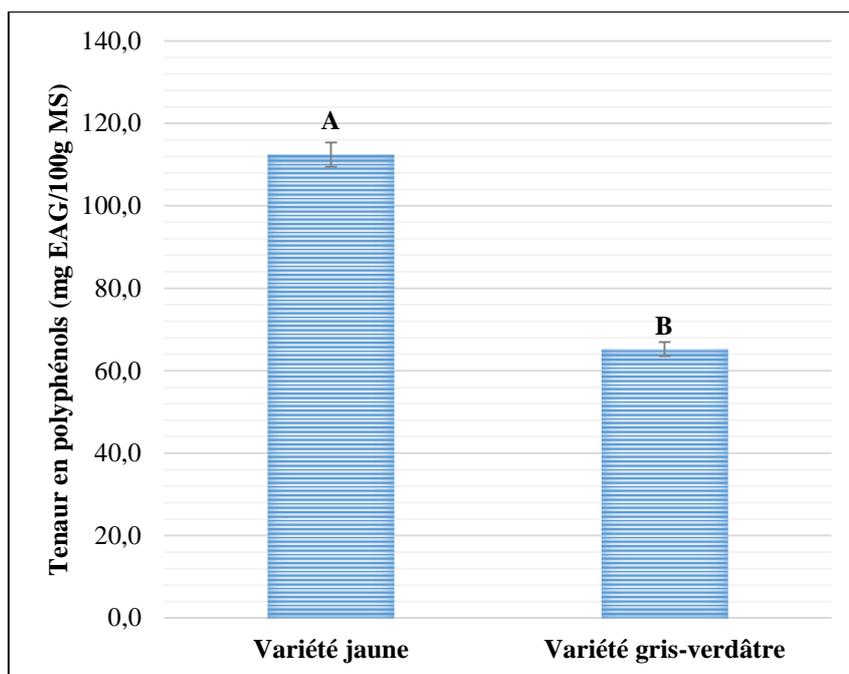
**Nani et al. (2012)** ont quantifié un taux de 1660 mg GAE/g de MS dans les graines d'une variété de millet perlé obtenue de la région de Ouled Aïssa (174 Km au Nord de Adrar et à 70Km au Nord-Ouest de Timimoune). En 2014, **Hithamani & Srinivasan** ont détecté un taux de polyphénols égal à 10,2 mg EAG/g MS dans les graines du millet perlé de l'Inde.

**Marmouzi et al. (2016)** ont trouvé un taux de polyphénols dans les différentes fractions qui varie entre 419 et 2278 mg EAG/100g MS dans une variété de millet perlé cultivé au Maroc. Tandis que **Anis & Sreerama (2020)**, ont trouvé un taux de polyphénols égale à 4500 mg EAF/100g MS dans le millet de Japon (*Echinochloa frumentacea*) cultivée en Inde où il a détecté l'acide gallique, l'acide 3,4-dihydroxy benzoïque, l'acide vanillique, l'acide caféique, l'acide ferulique et l'acide *p*-coumarique.

**Krishnan et al., (2022)**, en étudiant 12 variétés de millet perlé de différentes régions climatique de l'Inde, ont trouvé un taux variant entre 380,38 et 393,52 mg FAE/100g MS

La différence entre les résultats obtenus et ceux des autres travaux réalisés peut être liée à la méthode d'extraction et les solvants utilisés (**Ragaee et al., 2006 ; Marmouzi et al., 2016**), l'espèce et le génotype en question jouent un grand rôle aussi.

Les analyses des graines du mil en utilisant la chromatographie liquide de haute performance (HPLC) ont montré que la teneur en composés phénoliques est plus élevée dans les graines du mil jaune que dans celles des autres couleurs (**Rooney & McDonough, 1987 ; Vietmeyer, 1996 ; Loumrem, 2004**).



Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0.05$ ) (A>B).

**Figure 62** : Teneur en polyphénols totaux exprimée en (mg EAG/100g MS).

### 3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

Les résultats du dosage des polyphénols totaux sont représentés dans la **figure 63**. Les analyses statistiques montrent une différence significative entre les deux variétés de mil étudiées ( $p < 0,0001$ , Test t de Student).

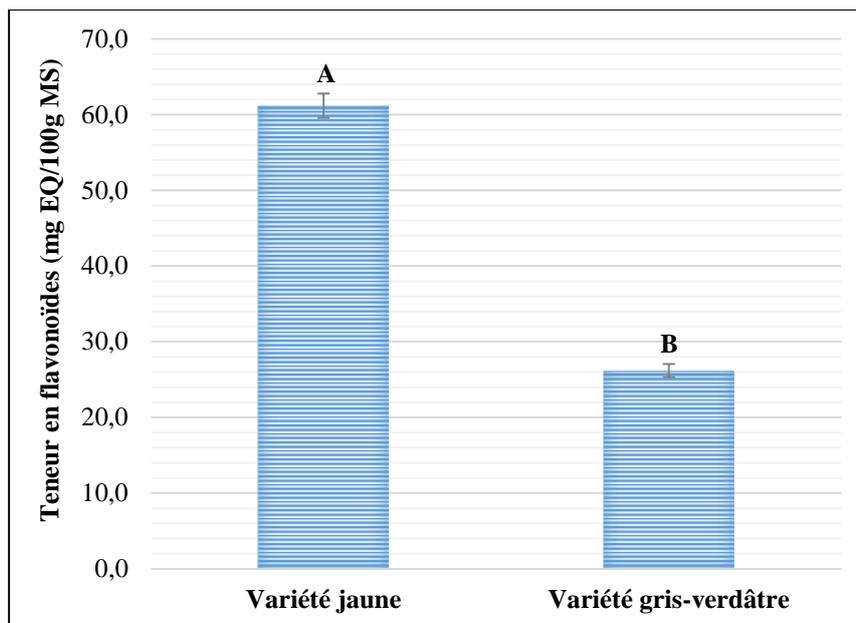
Dans notre étude, nous avons pu évaluer le teneur en flavonoïdes totaux de la variété jaune et de la variété gris-verdâtre à  $61,18 \pm 1,61$  et  $26,19 \pm 0,86$  mg EQ/100g MS respectivement.

**Anis & Sreerama (2020)** ont détecté un taux de flavonoïdes totaux égal à 8700 mg EC/100g MS dans la variété qu'ils ont étudié.

**Marmouzi et al. (2016)** ont quantifié un taux de flavonoïdes totaux dans les différentes fractions qui varie de 750 à 1560 mg ER/100g MS dans une variété de millet perlé cultivé au Maroc. Alors que **Anis & Sreerama (2020)**.

Parmi les flavonoïdes disponibles dans les graines de millet perlé, on peut citer : la myricétine, daidzein, luteoline, naringénine, apigénine, kaempferol, tricine, acacétine, luteoline (**Nambir et al., 2012 ; Anis & Sreerama, 2020**).

La différence entre les résultats obtenus et ceux des autres auteurs peut être liée à la méthode d'extraction suivie (**Ragae et al., 2006 ; Marmouzi et al., 2016**).



Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0.05$ ) (A>B).

**Figure 63 :** Teneur en flavonoïdes totaux exprimée en (mg EQ/100g MS).

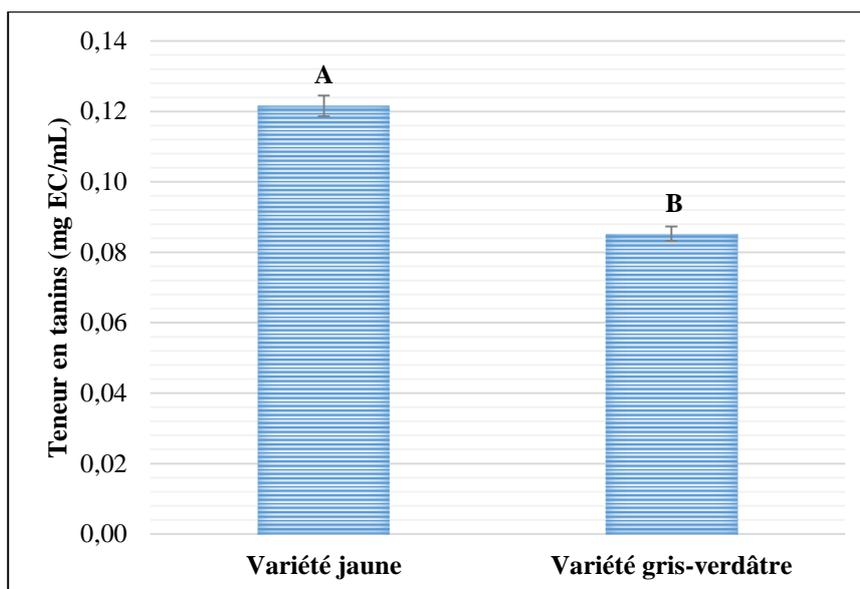
### 3.3. Détermination de la teneur en tanins

Les résultats du dosage des tanins sont représentés dans la **figure 64**. Les analyses statistiques présentent une différence significative entre les deux variétés de mil étudiées ( $p < 0,0001$ , Test t de Student).

La variété jaune contient  $0,122 \pm 0,003$  mg EC/100g MS alors que la variété grise verdâtre contient  $0,085 \pm 0,002$  mg EC/100g MS, une quantité trop faible par rapport aux autres composés phénoliques.

**Pushparaj & Urooj (2014)** ont trouvé  $0,23 \pm 0,01$  g EAT/100g MS dans une variété de millet perlé dite Kalukumbo (*Pennisetum typhoideum*) cultivé en Inde. Aussi, **Panwar et al. (2016)** ont trouvé une quantité de tanins qui varie entre 2,05 et 2,62 mg EC/100g MS dans le millet perlé qui pousse dans l'Himalaia en Inde. Par contre, dans le millet de Japon qui pousse dans la même région, ils ont quantifié un taux qui varie entre 3,25 et 3,96 mg EC/100g MS.

**Ofosu et al. (2020)** ont déterminé un taux de  $50,50 \pm 3,83$  mg EC/100g MS de tanins dans les graines d'une variété de millet perlé cultivée à la Coré du Sud.



Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0,05$ ) ( $A > B$ ).

**Figure 64** : Teneur en tanins exprimée en (mg EC/100g MS).

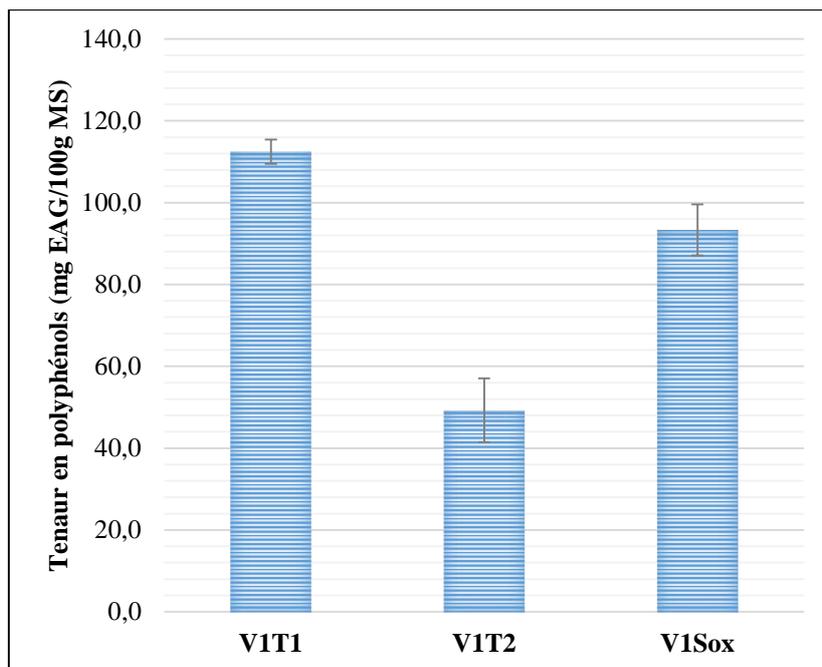
#### 4. Comparaison des rendements en polyphénols des différentes méthodes d'extraction

Des tests ont été réalisés pour déterminer quelle méthode d'extraction qui est la plus rentable en termes de de polyphénols, pour cela, la variété jaune a été soumise à plusieurs méthodes d'extraction.

La **figure 65** montre la teneur en polyphénols totaux exprimée en mg EAG/100g MS, où on peut déduire que la meilleure méthode qui donne le rendement le plus élevé en polyphénols est la première (V1T1) où nous avons eu un taux de  $112,42 \pm 2,96$  mg EAG/100g MS, bien qu'elle a donné le plus faible rendement en extrait. En deuxième position, vient la troisième méthode (V1Sox) qui a délivré un taux de polyphénols totaux équivalent à  $93,33 \pm 6,27$  mg EAG/100g MS bien qu'elle a offert un rendement d'extrait le plus élevé. Alors que la deuxième méthode induit à l'obtention du taux le plus bas qui est égal à  $49,26 \pm 7,79$  mg EAG/100g MS, soit : (V1T1 > V1Sox > V1T2).

Cette relation inversement proportionnelle entre le taux des polyphénols et le rendement peut être expliquée par le fait que l'exposition prolongée aux ultrasons agit négativement sur la teneur en polyphénols.

**Chethan & Malleshi (2007)** ont démontré que la stabilité des polyphénols est influencée aussi par le pH.



**Figure 65 :** Teneur en polyphénols totaux obtenus à partir de la variété jaune suivant les différentes méthodes d'extraction exprimée en (mg EQ/100g MS) (V1T1 >V1Sox>V1T2).

L'équipe de **Ben-Salah (2021)** a réalisé une étude sur un arbuste dioïque vivace (*Ephédra alata var alenda*), ils ont extrait les composés phénoliques des racines, feuilles, fleur mâle et fleur femelle en utilisant plusieurs solvants par macération (méthanol, éthanol, acétone et eau). Les résultats ont démontré que la teneur en composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes) dépend de la méthode d'extraction suivie, de la nature du solvant et aussi de la partie de la plante étudiée.

Puisqu'elle nous a fourni le rendement en polyphénols le plus élevé, nous avons adopté la première méthode d'extraction pour la variété jaune et nous avons utilisé l'extrait (V1T1). Bien que cette méthode nous ait fourni le rendement en extrait le plus faible.

Pour la variété gris-verdâtre, nous avons adopté aussi la première méthode d'extraction (V2T1) pour le reste des manipulations, et ceci en partant du principe que les graines du millet de couleur jaune sont plus riches en composés phénoliques que les graines ayant d'autres couleurs (**Rooney & McDonough, 1987 ; Vietmeyer, 1996 ; Loumrem, 2004**).

## 5. Étude des activités biologiques

Selon (Badarinath *et al.*, 2015 ; Sahari & Ardestani, 2015), L'étude de l'activité antioxydante d'un extrait ne doit pas être fondée sur la base d'un seul modèle de test antioxydant, mais il faut réaliser plusieurs tests pour mieux évaluer les activités antioxydantes de l'extrait en question.

L'étude statistique test t de Student réalisée par XLSTAT pour deux échantillons indépendants a montré que les résultats des activités biologiques ont tous une différence significative (Tableau XIII).

**Tableau XIII** : Test t de Student des activités biologiques des deux variétés.

Variable	Échantillon	M (Moyenne)	Écart type	p-value	Signification
IC-50 DPPH ( $\mu\text{g/mL}$ )	Variété jaune	389,47	2,84	= 0,003	Significatif
	Variété gris- verdâtre	378,76	0,05		
IC-50 ABTS ( $\mu\text{g/mL}$ )	Variété jaune	467,99	2,61	< 0,0001	Significatif
	Variété gris- verdâtre	209,01	2,94		
IC-50 ferrozine ( $\mu\text{g/mL}$ )	Variété jaune	249,33	5,22	< 0,0001	Significatif
	Variété gris- verdâtre	465,09	8,55		
A-05 CUPRAC ( $\mu\text{g/mL}$ )	Variété jaune	311,31	6,70	= 0,001	Significatif
	Variété gris- verdâtre	242,78	11,07		
A-05 FRAP ( $\mu\text{g/mL}$ )	Variété jaune	-	-	-	-
	Variété gris- verdâtre	-	-		
A-05 Phen. ( $\mu\text{g/mL}$ )	Variété jaune	99,03	5,28	= 0,002	Significatif
	Variété gris- verdâtre	73,69	3,66		
A-05 SNPAC ( $\mu\text{g/mL}$ )	Variété jaune	-	-	-	-
	Variété gris- verdâtre	-	-		

### 5.1. Le test de piégeage du radical DPPH (1,1 – diphenyl – 2 – picrylhydrazyl ou : $\alpha$ , $\alpha$ – diphenyl – $\beta$ – picrylhydrazyl)

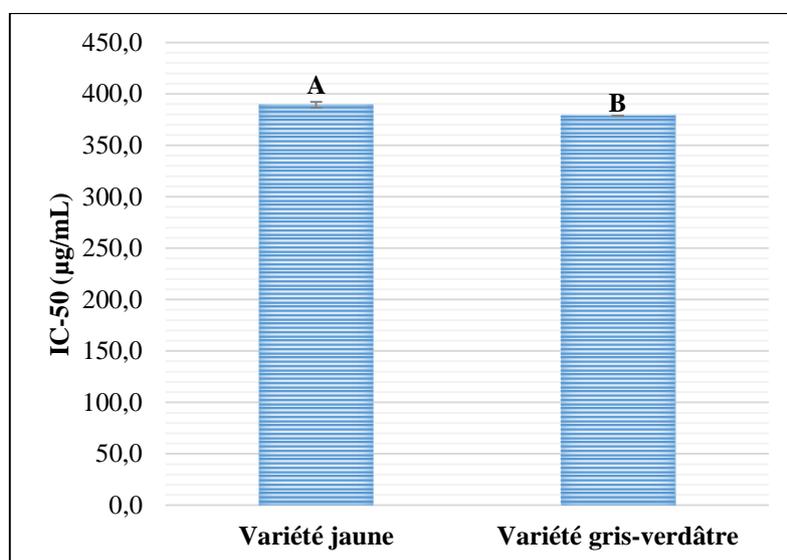
Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 66**. L'analyse statistique de la concentration de l'inhibition de la DPPH (IC-50) a révélé une différence significatives entre les deux variétés de mil étudiés ( $p=0,003$ , Test t de Student).

La concentration d'inhibition se définit comme étant la concentration de l'extrait nécessaire pour piéger 50% de radical DPPH\* contre un blanc (éthanol). Les résultats obtenus

pour la concentration d'inhibition de la DPPH sont de  $389,47 \pm 2,84$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) pour la variété jaune et de  $378,76 \pm 0,051$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) pour la variété gris-verdâtre. Les deux valeurs sont proches.

**Ofosu et al. (2020)**, en étudiant différentes espèces de millet, à savoir le millet du Japon (*Echinochloa esculenta*), éleusine (*Eleusine coracana*), millet (*Pennisetum glaucum*) et le panis (*Setaria italica*) ont déterminé des taux IC-50 de la DPPH égales à 359,6, 436,25, 554,3 et 572,9  $\mu\text{g/mL}$  respectivement. On constate que la IC-50 de nos deux variétés se situe entre celles du millet du Japon et celle de l'éleusine.

**Abedin et al. (2022)** ont étudié l'activité de piégeage des radicaux libres DPPH du panis (une espèce de millet). La IC-50 était de  $2293,66 \pm 11,67$   $\mu\text{g/mL}$  dans l'extrait éthanolique,  $2238,00 \pm 19,46$   $\mu\text{g/mL}$  dans l'extrait méthanolique et  $2311,67 \pm 15,82$   $\mu\text{g/mL}$  dans l'extrait de l'acétone. Cette espèce de millet a un pouvoir inhibiteur faible par rapport à nos deux variétés étudiées.

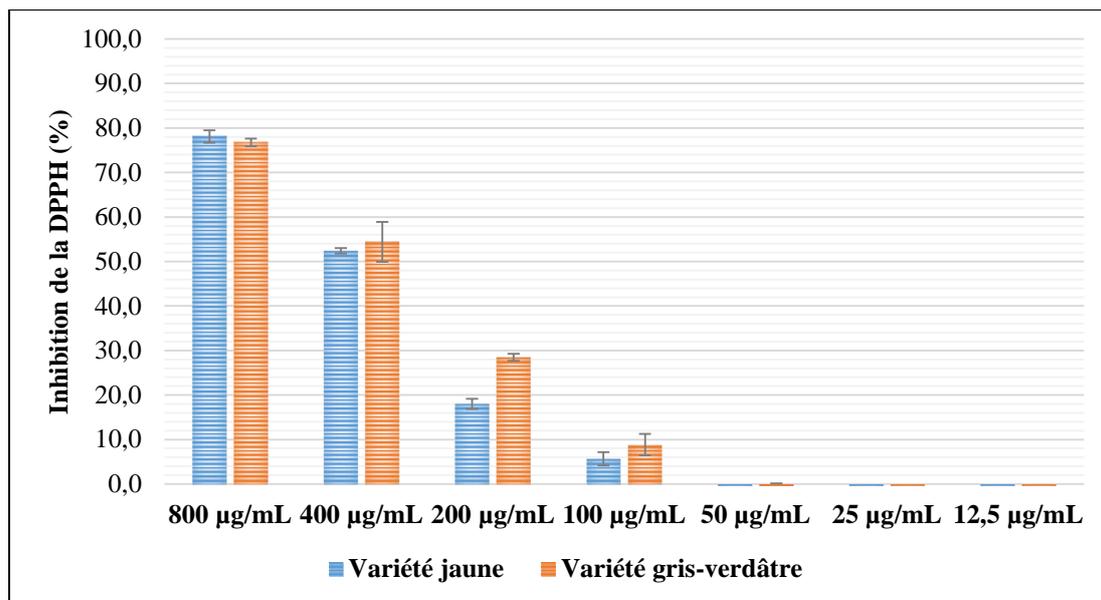


Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0,05$ ) (A>B).

**Figure 66 :** Concentration de l'inhibition de la DPPH exprimée en ( $\mu\text{g/mL}$ ).

Le pourcentage d'inhibition est inversement proportionnel à la concentration d'inhibition qui piège 50% de radical DPPH. La **figure 67** montre les pourcentages d'inhibition de la variété jaune et de la variété gris-verdâtre en fonction des dilutions. On peut constater que la variété gris-verdâtre a plus de pourcentage d'inhibition que la variété jaune. On constate aussi que ce pourcentage diminue en fonction de la diminution de la concentration de l'extrait. Il est aux alentours de 78% pour les deux variétés à une concentration de 800  $\mu\text{g/mL}$  et est nul à moins de 50  $\mu\text{g/mL}$ .

En étudiant les activités biologiques d'une variété de millet perlé provenant de Nigeria (récolte de l'année 2019), **Bello et al. (2022)** ont évalué le pourcentage d'inhibition de la DPPH égal à 20% à des concentrations de 50 et 100  $\mu\text{g/mL}$ , ce qui est supérieur aux pourcentages d'inhibitions obtenus dans cette étude correspondants aux mêmes concentrations.



**Figure 67** : Pourcentages de l'inhibition de la DPPH en fonction des concentrations.

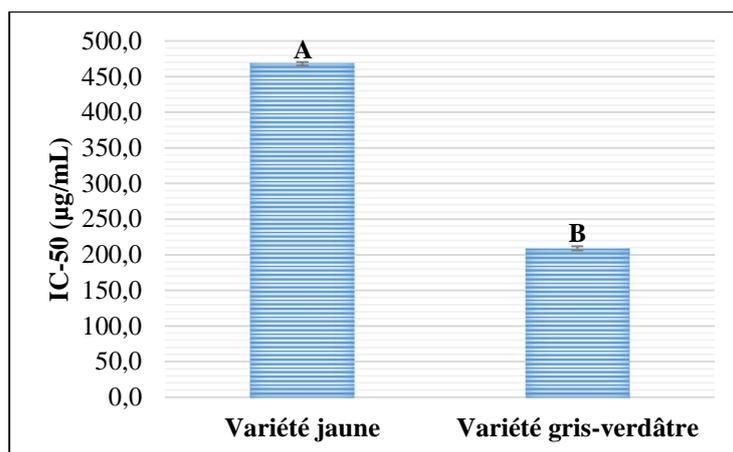
## 5.2. Le test de la capacité antioxydante par l'ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))

Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 68**. L'analyse statistique de la concentration de l'inhibition de l'ABTS (IC-50) a révélé une différence significative entre la variété jaune et la variété gris-verdâtre ( $p < 0,0001$ , Test t de Student).

Le résultat obtenu pour la concentration d'inhibition de l'ABTS de la variété jaune est de  $467,99 \pm 2,614$  µg/mL et  $209,01 \pm 2,94$  µg/mL pour la variété gris-verdâtre. Le pouvoir de piégeage de radical ABTS de la variété gris-verdâtre est plus important que celui de la variété jaune.

Différentes espèces de millet étudiées par l'équipe de chercheurs d'**Ofosu (2020)**, ont révélé des valeurs de IC-50 de l'ABTS égales à 362,40, 381,65, 410,35 et 422,35 µg/mL qui correspondent au millet du Japon (*Echinochloa esculenta*), élusine (*Eleusine coracana*), millet (*Pennisetum glaucum*) et le panis (*Setaria italica*) respectivement.

On peut remarquer que la variété gris-verdâtre a un pouvoir de piégeage de l'ABTS supérieur à celui de millet du Japon, alors que le pouvoir de piégeage de la variété jaune est inférieur à celui du panis évalué par **Ofosu et al. (2020)**.

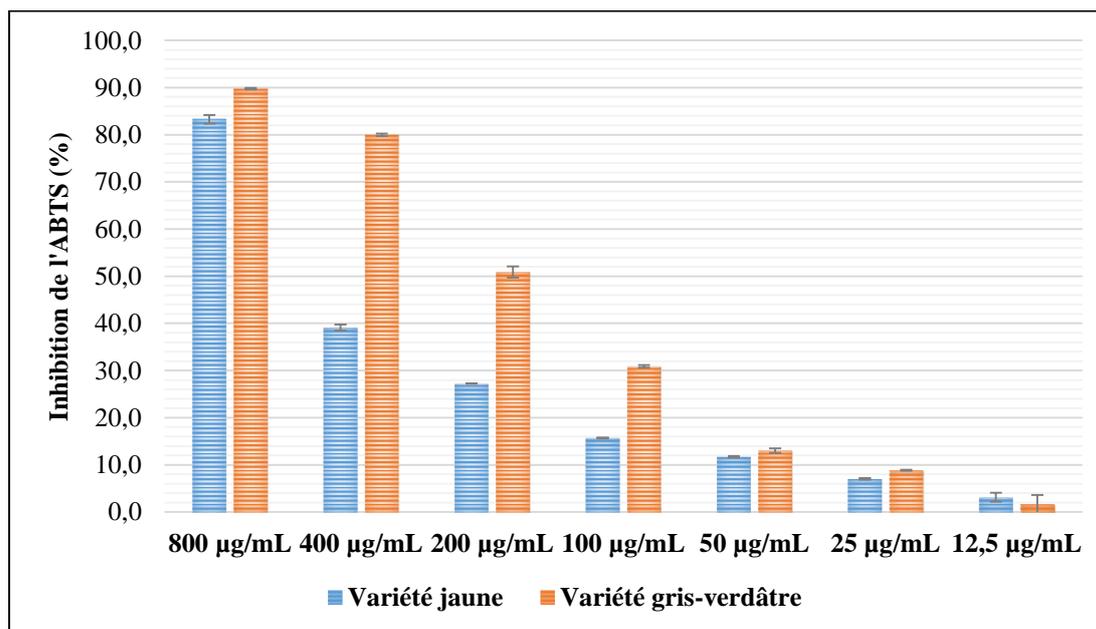


Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0.05$ ) ( $A > B$ ).

**Figure 68** : Concentration de l'inhibition de l'ABTS exprimée en (µg/mL).

La **figure 69** illustre les pourcentages d'inhibition des deux variétés en fonction des dilutions. On peut percevoir que la variété gris-verdâtre a plus de pourcentage d'inhibition que la variété jaune. On constate aussi que ce pourcentage diminue en fonction de la diminution de la concentration de l'extrait. Il est de 89,74% pour la variété gris-verdâtre et 83,26% pour la variété jaune à une concentration de 800 µg/mL et est presque nul à 12,5 µg/mL pour les deux variétés.

**Bello et al. (2022)** ont étudié les activités biologiques d'une variété de millet perlé provenant de Nigeria (récolte de l'année 2019), et ils ont trouvé un pourcentage d'inhibition de l'ABTS égal à 18 et 20% à des concentrations de 50 et 100 µg/mL respectivement, un résultat qui est proche de la valeur trouvée dans les graines de la variété jaune, alors qu'il est inférieur à la valeur trouvée dans celles de la variété gris-verdâtre à des mêmes concentrations.

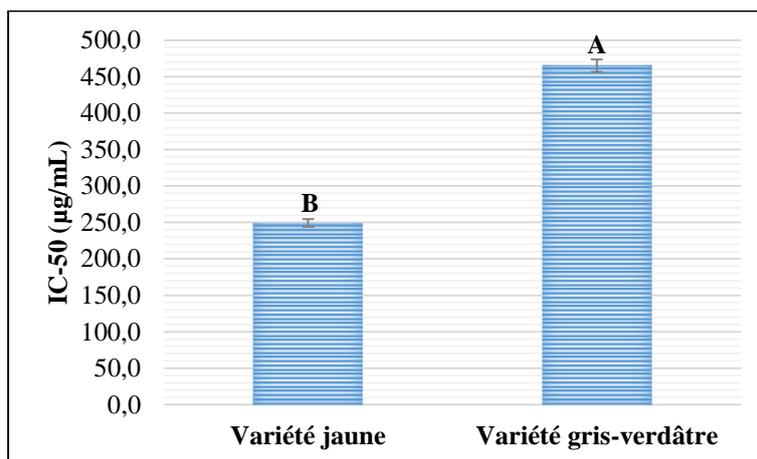


**Figure 69** : Pourcentages de l'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations.

### 5.3. Le test de chélation des ions ferreux de la ferrozine ( $C_{20}H_{12}N_4Na_2O_6S_2$ )

Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 70**. L'analyse statistique de la concentration de chélation de l'ion de fer (ferrozine) a démontré une différence significative entre la variété jaune et la variété gris-verdâtre ( $p < 0,0001$ , Test t de Student).

Les valeurs de la IC-50 de la variété jaune ( $249,33 \pm 5,22 \mu\text{g/mL}$ ) sont beaucoup inférieures à celles de la variété gris-verdâtre ( $465,09 \pm 8,55 \mu\text{g/mL}$ ). Ainsi, la variété jaune a plus de pouvoir de chélation des ions de fer de la ferrozine. Cela peut être justifié par la richesse de la variété jaune en composés phénoliques.

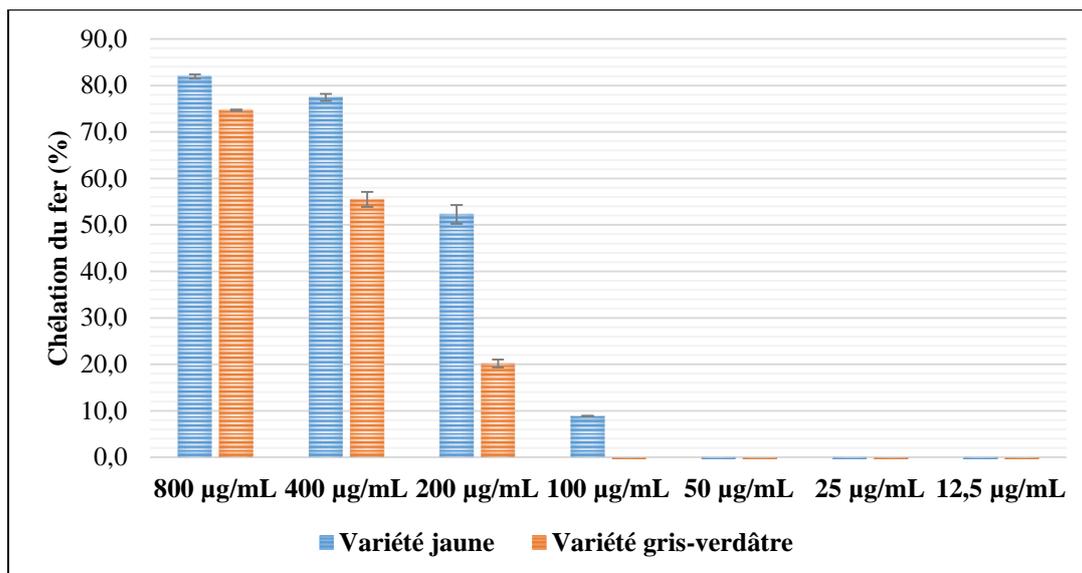


Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0,05$ ) ( $A > B$ ).

**Figure 70** : Concentration de chélation des ions de fer de la ferrozine exprimée en ( $\mu\text{g/mL}$ ).

La **figure 71** montre les concentrations d'inhibition des deux variétés en fonction des dilutions. On peut remarquer que la variété jaune a plus de pourcentage de chélation de fer que la variété gris-verdâtre. On constate aussi que ce pourcentage diminue en fonction de la diminution de la concentration de l'extrait. Il est de 81,93% pour la variété jaune et de 74,68% pour la variété gris-verdâtre à une concentration de 800  $\mu\text{g/mL}$ . À 100  $\mu\text{g/mL}$ , il est de 8,89% pour la variété jaune et nulle pour la variété gris-verdâtre.

**Jayalaxmi et al. (2018)** ont déterminé un pourcentage maximal de chélation de fer de la ferrozine équivalent à 90% dans l'extrait des graines d'une variété de millet perlé commercialisée en Inde.

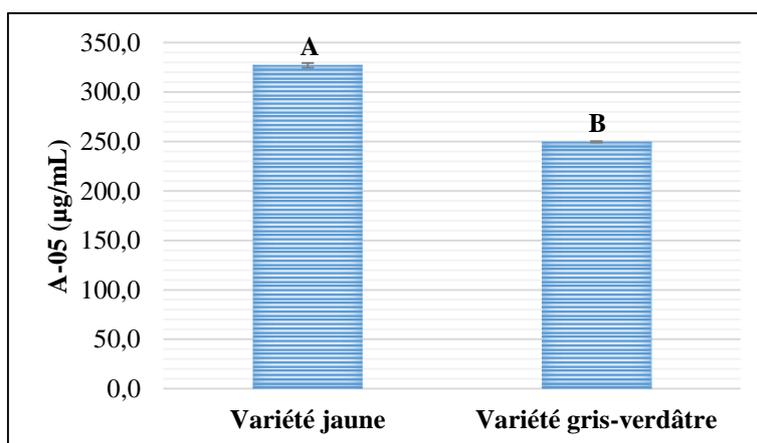


**Figure 71 :** Pourcentages de chélation des ions de fer de la ferrozine en fonction des concentrations.

#### 5.4. Le test de réduction de l'ion cuprique ou méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity)

Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 72**. L'analyse statistique de la concentration indiquant une absorbance égale à 0,50 (A-05) des deux variétés a démontré une différence significative entre la variété jaune et la variété gris-verdâtre ( $p < 0,0001$ , Test t de Student).

La valeur de A-05 de la variété jaune est de  $326,94 \pm 2,44$  µg/mL et de  $249,56 \pm 0,69$  µg/mL pour la variété gris-verdâtre. On constate que la variété gris-verdâtre a plus de pouvoir réducteur de l'ion cuprique que la variété jaune. Ces valeurs correspondent à la concentration indiquant une absorbance égale à 0,50.

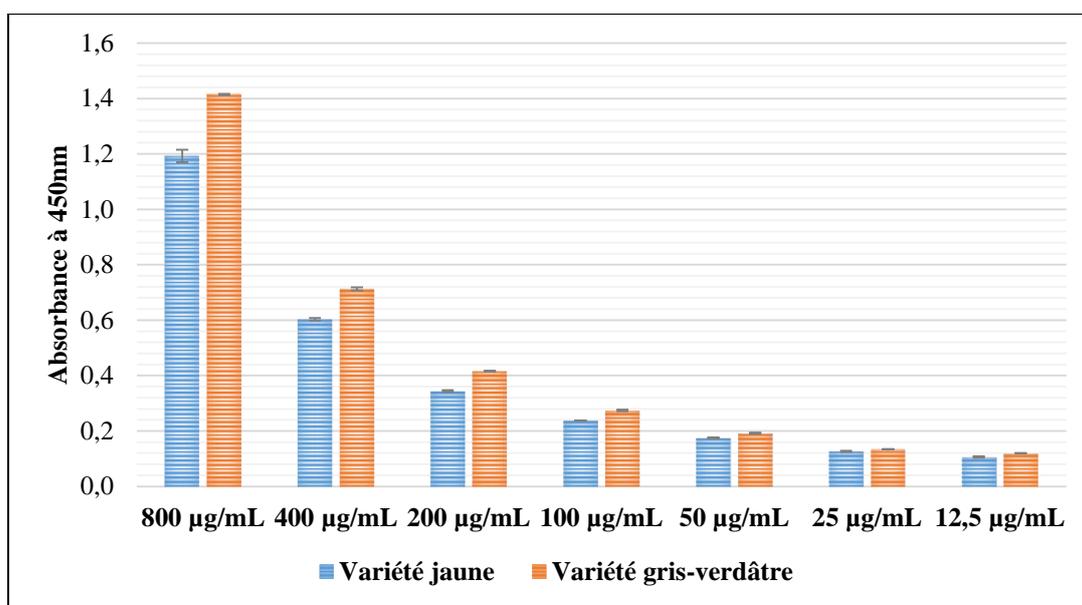


Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p < 0,05$ ) (A>B).

**Figure 72 :** Concentration de la capacité antioxydante par réduction de l'ion cuprique exprimée en (µg/mL).

La **figure 73** montre les absorbance à 450nm des deux variétés en fonction des dilutions. On remarque que la variété gris-verdâtre atteint 1,41 à 800 µg/mL, alors que la variété jaune touche une absorbance de 1,19.

L'absorbance est inversement proportionnelle avec le pouvoir réducteur de l'ion cuprique, plus l'absorbance augmente, plus le pouvoir réducteur de l'échantillon diminue. Ainsi, l'absorbance des deux échantillons diminue et prend ses valeurs minimales à 12,5 µg/mL.



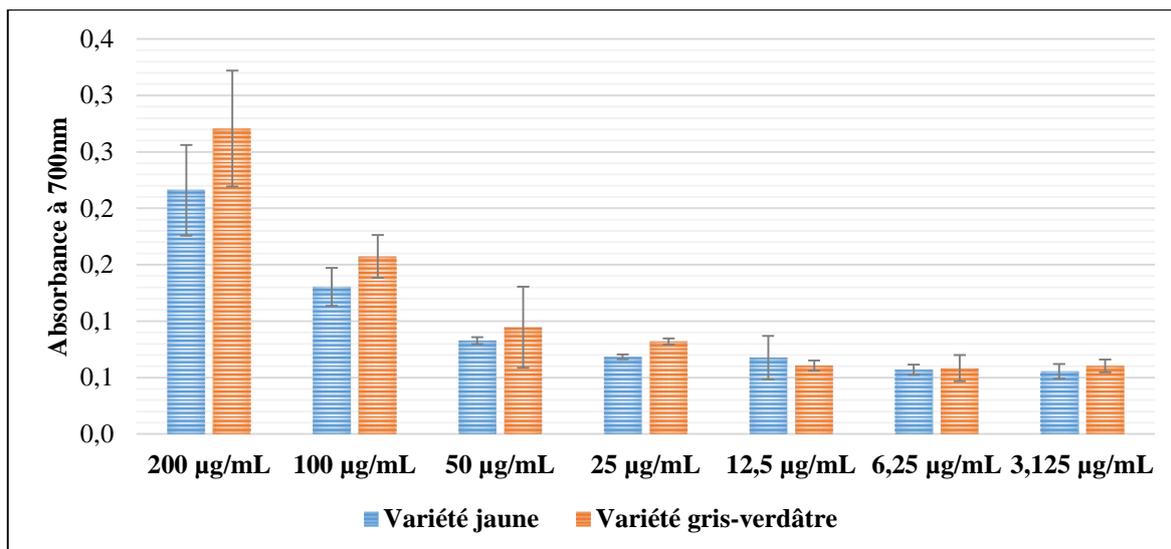
**Figure 73** : Absorbance des deux extraits à 450nm en fonction des concentrations de l'échantillon.

### 5.5. Le test de réduction du fer ferrique du complexe ((Fe<sup>3+</sup>)-TPTZ) ou FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Pour les variétés en question dans cette étude, la valeur de l'absorbance maximale à concentration maximale (800 µg/mL) est de 0,27 pour la variété gris-verdâtre et de 0,22 pour la variété jaune. La valeur 0,5 n'est pas atteinte. Donc les deux échantillons n'ont pas de pouvoir réducteur du fer. Les absorbances diminuent en diminuant les concentrations de l'échantillon jusqu'à atteindre 0,056 et 0,06 pour la variété jaune et la variété gris-verdâtre respectivement (**Figure 74**).

**Pushparaj & Urooj (2014)** ont étudié le pouvoir réducteur du fer des extraits des graines du millet perlé cultivé en Inde, ils ont trouvé une absorbance, à 700nm, égale à 0,32, ceci à concentration maximale de l'extrait (600 µg/mL).

**Abedin et al. (2022)** ont trouvé une absorbance, à 700nm, égale à 0,3289 dans l'extrait éthanolique des graines de panis cultivé au Bengladeche à une concentration de 500 µg/mL.

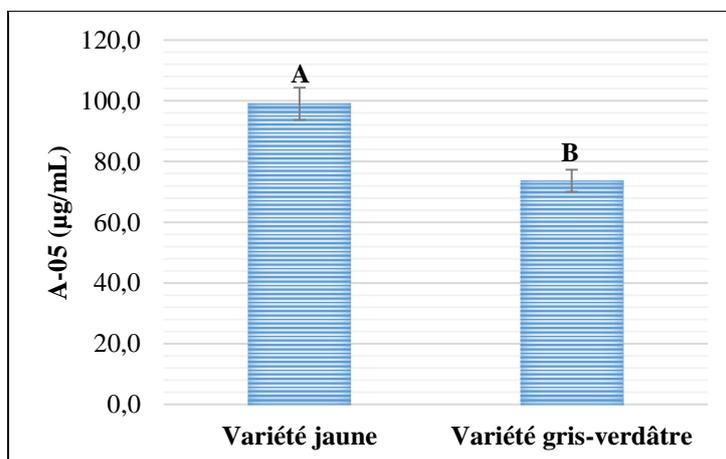


**Figure 74 :** Absorbance des deux extraits à 700nm en fonction des concentrations de l'échantillon.

### 5.6. Le test de la réduction de l'ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ) avec la 1,10-phénanthroline

Les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 75**. L'analyse statistique de la concentration indiquant une absorbance égale à 0,50 (A-05) des deux variétés a démontré une différence significative entre la variété jaune et la variété gris-verdâtre ( $p=0,002$ , Test t de Student).

Les résultats indiquent que la variété jaune a un pouvoir réducteur le plus bas avec une A-05 égale à 99,03 µg/mL contre 73,69 µg/mL pour la variété gris-verdâtre.

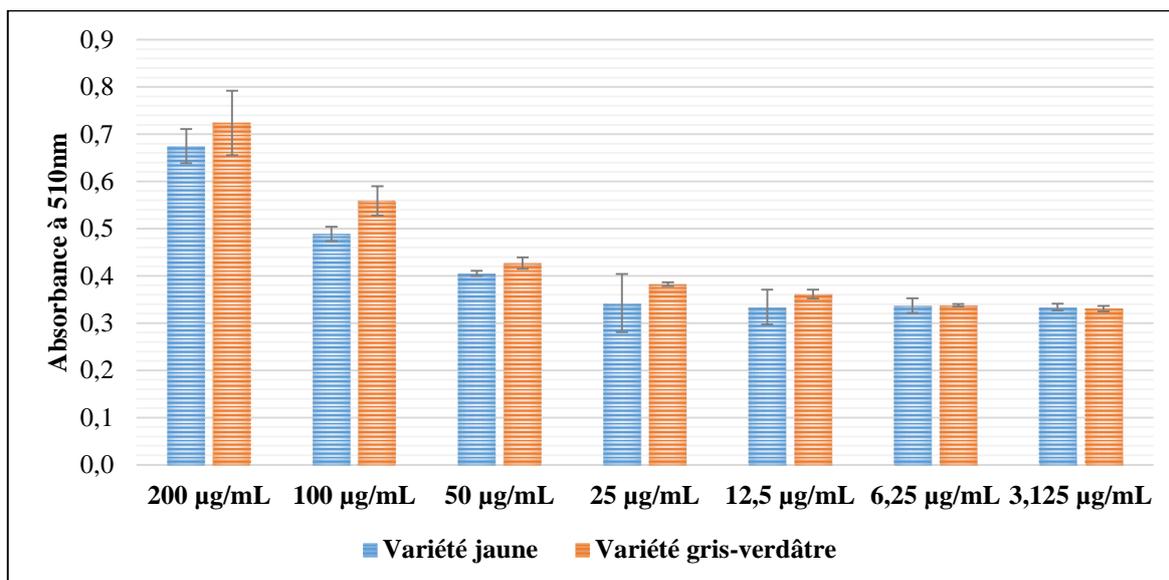


Les barres verticales représentent les écarts types. Des lettres majuscules différentes indiquent des valeurs significativement différentes : Test t de Student pour des échantillons indépendants ( $p<0,05$ ) (A>B).

**Figure 75 :** Concentration de l'activité antioxydante par la phénanthroline.

La **figure 76** montre les absorbance à 510nm des deux variétés en fonction des dilutions. On remarque que la variété gris-verdâtre atteint 0,72 à 800 µg/mL, alors que la variété jaune atteint une absorbance de 0,67 à la même concentration. Les absorbances diminuent en

diminuant les concentrations jusqu'à 6,25  $\mu\text{g/mL}$  de concentration de l'échantillon là où les absorbances des deux variétés se stabilisent à 0,34.

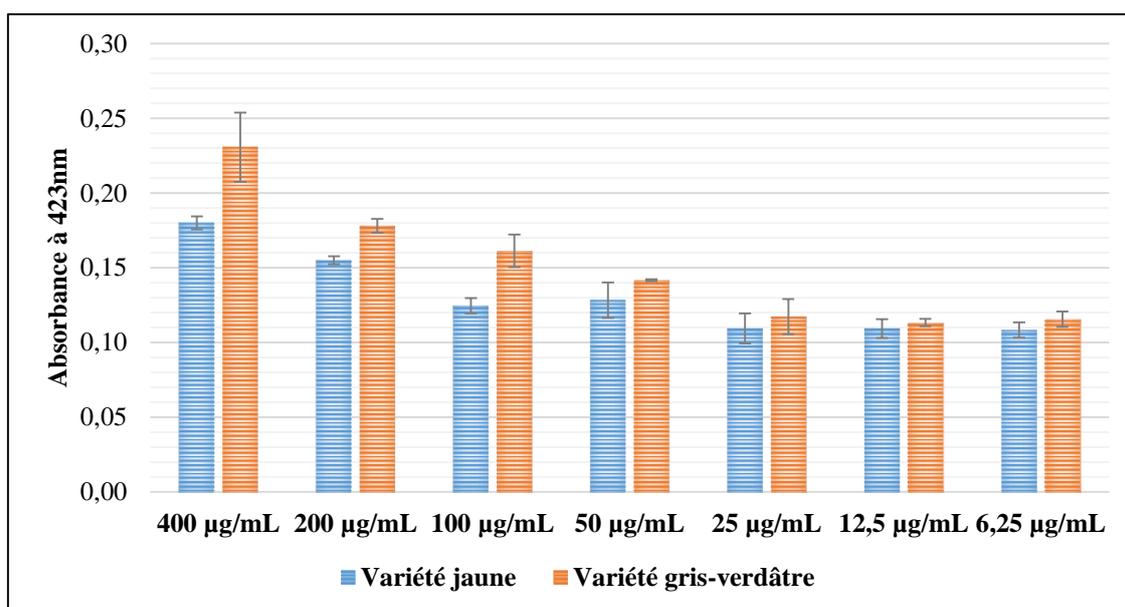


**Figure 76 :** Absorbance des extraits à 510nm en fonction des concentrations de l'échantillon.

### 5.7. Le teste du pouvoir réducteur de $\text{Ag}^+$ ou SNL ou SNPAC (Silver nano particles ou Silver NanoParticle Antioxidant Capacity)

Dans notre étude, la valeur de l'absorbance maximale à concentration maximale (800  $\mu\text{g/mL}$ ) est de 0,23 pour la variété gris-verdâtre et 0,18 pour la variété jaune. La valeur 0,5 n'est pas touchée. En conséquence les deux échantillons n'ont pas de pouvoir réducteur de l' $\text{Ag}^+$  en nanoparticules d'argent.

L'absorbance diminue en diminuant les concentrations de l'échantillon jusqu'à ce qu'elle soit stabilisé aux alentours de 0,12 pour les concentrations 25, 12,5 et 6,25  $\mu\text{g/mL}$  (**Figure 77**).



**Figure 77 :** Absorbance des extraits à 423nm en fonction des concentrations de l'échantillon.

# **Conclusion**

## Conclusion

Ce travail a été effectué au niveau du laboratoire d'analyse des aliments, laboratoire de biochimie, laboratoire de contrôle de qualité et le laboratoire de l'environnement du Centre de Recherche en Biotechnologies (CRBt) à Constantine. Il consisté à réaliser des extraits des graines de deux variétés de millet perlé (*Pennisetum glaucum*) cultivées dans la région d'Adrar (Algérie) durant la saison agricole 2020/2021. La première variété est jaune, l'autre est gris-verdâtre. L'étude des extraits consiste à identifier la composition physicochimique (cendre, humidité, matière grasse, sucres totaux et protéines totales) et la teneur en composées phénolique (phénols totaux, flavonoïdes totaux et tannis) et l'étude de certaines bio-activités (DPPH, ABTS, ferrozine, CUPRAC, phénanthroline, FRAP et SNP).

Nous avons réalisé aussi une comparaison entre trois méthodes d'extraction pour les graines de la variété jaune afin de déterminer quelle est la méthode la plus rentable en termes d'extrait brut et en composés phénoliques. Dans la première méthode nous avons utilisé le sonificateur en appliquant les paramètres suivants : amplitude 60%, temps 30 minutes (10 secondes ON, 5 Secondes OFF) avec l'éthanol 50/50 (v/v) comme solvant (V1T1), dans la seconde méthode nous avons utilisé le même sonificateur avec les mêmes paramètres mais pendant 45 minutes au lieu de 30 minutes (V1T2). Dans la dernière méthode nous avons utilisé le Soxhlet avec du méthanol pur (V1Sox).

Les résultats en terme de rendement de l'extrait brut ont révélé que ce dernier est plus important avec la méthode Soxhlet (Rendement V1Sox = 4,02%), vient en deuxième position le rendement obtenu par la méthode au sonificateur pendant 45 minutes (Rendement V1T2 = 5,30%) et en dernier vient la méthode au sonificateur pendant 30 minutes (Rendement V1T1 = 6,07%) soit : V1Sox > V1T2 > V1T1.

Pour la variété gris-verdâtre nous avons opté pour la première méthode d'extraction, ainsi nous avons obtenu un rendement égale à 2,80%.

Les analyses physicochimiques, les taux de matière la sèche, de cendres, de matière grasse, de sucres totaux et de protéines totales dans les graines de la variété jaune étaient de  $90,35 \pm 0,08$  %,  $1,12 \pm 0,11$  %,  $4,55 \pm 0,04$  g/100g MS,  $59,80 \pm 1,15$  g EG/100g MS et  $8,75 \pm 0,09$  % respectivement. Tandis que pour la variété gris-verdâtre ils étaient de  $90,40 \pm 0,07$  %,  $1,78 \pm 0,19$  %,  $3,12 \pm 0,01$  g/100g MS,  $42,09 \pm 0,53$  g EG/100g MS et  $5,48 \pm 0,31$  % respectivement.

On peut déduire que la variété jaune était plus riche en matière grasse, en protéines totales et en sucres totaux que la variété gris-verdâtre. Alors qu'ils ont des taux presque identiques de la matière sèche et de la matière minérale (cendres).

Les taux de polyphénols, flavonoïdes et tanins pour la variété jaune étaient de  $112,442 \pm 2,956$  mg EAG/100g MS,  $64,668 \pm 6,245$  mg EQ/100g MS et  $0,122 \pm 0,003$  mg EC/100g MS respectivement, quant à la variété gris-verdâtre, ils étaient de  $65,278 \pm 1,714$  mg EAG/100g MS,  $28,056 \pm 3,497$  mg EQ/100g MS et  $0,085 \pm 0,002$  mg EC/100g MS respectivement. On peut observer, ainsi, que la variété jaune était plus riche en métabolites secondaires que la variété gris-verdâtre.

En comparant les méthodes d'extraction appliquées pour les graines de la variété jaune en terme de la teneur en polyphénols, le classement a été comme suite : V1T1>V1Sox>V1T2. Ce qui nous a poussé à adopter la première méthode d'extraction pour les graines de la variété gris-verdâtre.

Les tests réalisés pour détecter les activités biologiques ont démontré que les extraits des graines des deux variétés de mil étudiées ont une concentration d'inhibition de la DPPH qui sont presque égaux ( $389,47 \pm 2,84 \mu\text{g/mL}$  pour la variété jaune et  $378,76 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$  pour la variété gris-verdâtre). Pour l'ABTS, la variété gris-verdâtre a plus de pouvoir inhibiteur avec une IC-50 égale à  $209,01 \pm 2,94 \mu\text{g/mL}$  contre  $467,99 \pm 2,61 \mu\text{g/mL}$  pour la variété jaune. Le teste de la ferrozine a indiqué que la IC-50 de la variété jaune est plus importante que celle de la variété gris-verdâtre ( $249,33 \pm 5,22 \mu\text{g/mL}$  pour la variété jaune et  $465,09 \pm 8,55 \mu\text{g/mL}$  pour la variété gris verdâtre).

Le teste de réduction de l'ion cuprique (CUPRAC) a démontré que la variété gris-verdâtre a plus de pouvoir de réduction que la variété jaune ( $311,31 \pm 6,70 \mu\text{g/mL}$  pour la variété jaune et  $242,78 \pm 11,07 \mu\text{g/mL}$  pour la variété gris verdâtre). De même pour le teste de la phénanthroline qui a démontré aussi que le pouvoir de réduction de l'ion ferreux est plus important chez la variété gris-verdâtre que chez la variété jaune ( $99,03 \pm 5,28 \mu\text{g/mL}$  pour la variété jaune et  $73,69 \pm 3,66 \mu\text{g/mL}$  pour la variété gris verdâtre).

Par contre, le test du pouvoir réducteur du fer ferrique  $\text{Fe}^{3+}$  du complexe (( $\text{Fe}^{3+}$ )-TPTZ) (FRAP) et le pouvoir réducteur de l' $\text{Ag}^+$  (SNP) étaient négatifs.

# **Liste des références**

## Liste des références

- Abedin, M. J., Abdullah, A. T. M., Satter, M. A., & Farzana, T. (2022). Physical, functional, nutritional and antioxidant properties of foxtail millet in Bangladesh. *Heliyon*, 8(10), e11186. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11186>
- Abioye, V. F., Babarinde, G. O., Ogunlakin, G. O., Adejuyitan, J. A., Olatunde, S. J., & Abioye, A. O. (2022). Varietal and processing influence on nutritional and phytochemical properties of finger millet: A review. *Heliyon*, 8(12), e12310. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12310>
- Académie Nationale de Pharmacie. (2023). Naphtoquinone, Pharmacognosie. Récupéré sur Académie Nationale de Pharmacie: Académie Nationale de Pharmacie. <http://dictionnaire.acadpharm.org/w/Naphtoquinone> Consulté le 04-06-2023.
- Adeola, O. & Orban, J. I. (1994). Chemical composition and nutrient digestibility of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) fed to growing pigs. *J. Cereal Science*, Vol. 22. pp. 177-184.
- Agricultures et territoires. (2016). Millet perlé. Meuse : Chambre d'agriculture.
- Alam, Md. & Bristi, Nusrat & Rafiquzzaman, Md. (2013). Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 21. 143–152. [10.1016/j.jsps.2012.05.002](https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002).
- Alkurd A., Hamed, T.R. & Al-Sayyed, H., (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 4: 265 - 274.
- Amadou, B. (2009). Identification of marker-trait associations for resistance to *Striga hermonthica* (Del.) Benth. Segregating in a wild x cultivated pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] Mapping population of F3 progenies. Thèse de maîtrise, Spécialisation Systèmes et Techniques Innovants pour un Développement Agricole Durable (STIDAD). Montpellier-SupAgro, Montpellier.
- Amadou, I., Gounga, M., & Le, G.-W. (2013). Millets : Nutritional composition, some health benefits and processing - A Review. *Emir. J. Food Agric*. Vol. 25, 501-508.
- Amblard-Pison, S. (1996). Greniers néolithiques sur pilotis du Sahara méridional (Dhars Tichitt et Oualata, Mauritanie). *L'Anthropologie*. Vol 100, Num 2-3. (pp. 356-365.). Publications Elsevier. U.P.R. 311, C.N.R.S., 1 place Aristide Briand, 92195 Meudon, France.
- Andrews, D.J. & Kumar, K.A. (1992). Pearl millet for food, feed, and forage. *Advances in Agronomy*. Vol. 48. pp. 89-139.
- Andrews, D.J., Rajewski, J.F. & Kumar K.A. (1993). Pearl millet, New feed grain crop. In "News crops. Wiley, New York. J. Janick and J.E. Simon (éds)". pp. 198-208.

- Ângela Giovana Batista, Juliana Kelly da Silva-Maia & Mário Roberto Maróstica, (2021). Chapter 11 - Generation and alterations of bioactive organosulfur and phenolic compounds, Editor(s): Delia B. Rodriguez-Amaya, Jaime Amaya-Farfan, Chemical Changes During Processing and Storage of Foods, *Academic Press*.
- Anis, M. A., & Sreerama, Y. N. (2020). Inhibition of protein glycoxidation and advanced glycation end-product formation by barnyard millet (*Echinochloa frumentacea*) phenolics. *Food chemistry*, 315, 126265. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126265>
- AOAC International William Horwitz & George W. Latimer. (2010). Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. 18Th ed. 2005 revision 3 ed. Gaithersburg MD: AOAC International.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E. & Altun, M. (2005). Total antioxidant capacity assay of human serum using copper(II)-neocuproine as chromogenic oxidant: The CUPRAC method. *Free Radic. Res.*, 39, 949–961.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970–7981.
- Aparadh, V., Naik, V. & Karadge, B. (2012). Antioxidative properties (TPC, DPPH, FRAP, metal chelating ability, reducing power and TAC) within some Cleome species. *Ann. Bot.*, 2, 49–56.
- Appa-Rao, S., Mengesha, M., & Reddy, K. (1996). Diversity in pearl millet germplasm from Cameroon. *Genetic resources and crop evolution*, vol. 43, 173-178.
- Arora, P. S. (2003). Content and HCl-extractability of minerals as affected by acid treatment of pearl millet. *Food Chemistry*, Vol. 80 No. 1 (pp. 141-144). Quadram Institute Bioscience, NR4 7UA, Norwich, United Kingdom.
- Ataci, N., Kazancioglu, E.O., Kalindemirtas, F.D., Kuruca, S.E. & Arsu, N. (2020). The interaction of light-activatable 2-thioxanthone thioacetic acid with ct-DNA and its cytotoxic activity: Novel theranostic agent. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 239, 118491.
- ATLASOCIO. Mis à jour le 16/07/2022 consulté le 06/06/2023. Carte du monde : production de millet par État. Récupéré sur L'ATLAS SOCIOLOGIQUE MONDIAL: <https://atlasocio.com/cartes/recherche/selection/production-millet.php>
- Audigié, C. I., Figarella, J. et Zonszain, F. (1978) : Manipulation d'analyses biochimique, Doin Editeurs, Paris, France, 240 p.
- Badarinath, A.V., RAO, K.M., Chetty, C.M.S., Ramkanth, V., Rajan, T.V.S. & Gnanaprakash, K., (2010). A review on in-vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. *Int. J. PharmTech Res.* 2 (2), 1276–1285.

- Banks, S., & Stewart, T. (2003). Forage pearl millet. Ontario Ministry of Agriculture. Canada.
- Barbosa, J., Lima, R., Sousa, D., Gomes, A., Palmeira, A., Seca, H., Choosang, K., Pakkong, P., Bousbaa, H., Pinto, M.M., et al. (2016). Screening a small library of xanthenes for antitumor activity and identification of a hit compound which induces apoptosis. *Molecules*, 21, 81.
- Barreira GCM, Ferreira ICFR, Oliveira MBPP & Pereira JA. (2008). Antioxidant activity and bioactive compounds of ten Portuguese regional and commercial almond cultivars. *Food Chem Technol*, 46: 2230-35.
- Begg, J. (1965). The growth and development of a crop of bulrush millet (*Pennisetum typhoides* S&H). *Indian Journal of Agricultural Sciences* 65 (pp. 341-349). Indian Council of Agricultural Research. Krishi Bhavan, Dr. Rajendra Prasad Road, New Delhi-110001.
- Békoye, B.M., & Dadié, A. (2015). Evaluation des Pertes en Grains de Mil dues aux Insectes. *European Scientific Journal*. Vol. 11.
- Békoye, BM. (2012). Caractérisation chimique et minérale des grains de mil [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] de Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 5. 2039. 10.4314/ijbcs.v5i5.25.
- Ben-Salah, I., Smaoui, A., Mahmoudi, H. & Ouerghi, Z. (2021). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante chez *Ephedra alata alenda*. *Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*. Volume 14, Issue 10 Ser. II. pp, 23-30.
- Benzie, I.F. & Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239, 70–76.
- Benzie, I.F.F. & Strain, J.J. (1999) Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. In *Methods in Enzymology*, Academic Press: Cambridge, MA, USA, Volume 299, pp. 15–27.
- Berker, K.I., Guclu, K., Tor, I. & Apak, R. (2007). Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*, 72, 1157–1165.
- Bernardes ADP (2012). Rendement en biomasse et en sucres et valeur nutritive du millet perlé sucré et du sorgho sucré en fonction de la date de récolte et du délai entre le hachage et le pressage du fourrage (Doctoral dissertation, Université Laval). [www.theses.ulaval.ca/2012/29074/29074.pdf](http://www.theses.ulaval.ca/2012/29074/29074.pdf).
- Bezançon, G., Renno, J., & Anand, K. (1997). Le mil. Dans A. Charrier, M. Jacquot, S. Hamon, & D. Nicolas, *L'amélioration des plantes tropicales* (pp. 457-482). CIRAD et ORSTOM.

- Bezançon, G., Renno, J., & Anand, K. K. (1997). Le mil. Dans M. André Charrier, S. Hamon, & D. Nicolas, *L'amélioration des plantes tropicales* (pp. 457-482). CIRAD et ORSTOM.
- Bezançon, G., Renno, J.F., & Anand, K.K. (1997). Le mil. In "L'amélioration des plantes tropicales." (M. J. André Charrier, S.Hamon et D. Nicolas, ed.), pp. 457-482. CIRAD et ORSTOM.
- Bildstein, M., Lohmann, M., Hennigs, C., Krause, A., & Hilz, H. (2008). An enzyme-based extraction process for the purification and enrichment of vegetable proteins to be applied in bakery products. *European Food Research and Technology*, 228 (2), 177–186. 10.1007/s00217-008-0921-z.
- Blench, R. (2006). *Archeology, language and the African past*. Rowman & Little Field Publisher (Altamira Presse). New York, Toronto, Oxford.
- Blench, R. (2012). The contribution of vernacular names for pearl millet to its early history in Africa and Asia. RIHN Symposium 'Small millets in Africa and Asia' Tokyo September 19-20th, 2010 (p. 12). Kay Williamson Educational Foundation. 8, Guest Road. Cambridge CB1 2AL. United Kingdom.
- Blois M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable *Free Radical*. *Nature*, 4617 (181): 1119-1200.
- Bondet, V., Brand-Williams, W. & Berset, C. (1997). Kinetics and Mechanisms of antioxidant activity using the DPPH\_free radical method. *LWT Food Sci. Technol.*, 30, 609–615.
- Bouchard, A., Vanasse, A., Seguin, P. & Bélanger, G. (2011). Yield and composition of sweet pearl millet as affected by row spacing and seeding rate. *Agronomy Journal*. Vol. 103, pp. 995-1001.
- Bourgou, S., Serairi Beji, R., Medini, F. & Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 28(12), pp, 1649-1655.
- Broadhurst, Ric & Jones, William. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 29. 788 - 794. 10.1002/jsfa.2740290908.
- Brodowska, K. M. (2017). Natural flavonoids: Classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *European Journal of Biological Research*, 7, 108–123. <https://doi.org/10.5281/zenodo.545778>
- Bruneton, J., (1993). *Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales*. Paris, France: Lavoisier. 278 - 279p.
- Brunken, J. (1977). A systematic study of Pennisetum sect. Pennisetum (gramineae). *American journal of botany*. Vol 64.2 (pp. 161-176). Botanical Society of America. USA.

- Butler, E.J. (1907). Some diseases of cereals caused by *Sclerospora gramonocola*. Mem.Dep. Agric. India, Bot. Ser. Vol. 2, pp, 1-24.
- Chaouche, T. (2014). Thèse de Doctorat en Biologie option Biochimie : Contribution à l'étude des activités anti oxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Telemcen: Faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et de l'univers. Département de biologie, laboratoire des produits naturels. Université Abou Bakr Bekr Belkaid.
- Chapagain, B. P., Wiesman, Z. & Tsror, L. (2007). *In vitro* study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. *Industrial Crops and Products*, 26:109–15.
- Cheke, R.A., Fishpool, L.D.C., & Ritchie, J. M. (1980). An ecological study of the egg-pod of *Oedaleus senegalensis* (Krauss) (Orthoptera: Acrididae). *J. Nat. Hist.* Vol. 14, pp, 363-371.
- Chemat, F., Huma, Z. & Khan, M.K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 18, 813-835.
- Chen, Q., Wang, D., Tan, C., Hu, Y., Sundararajan, B., & Zhou, Z. (2020b). Profiling of flavonoid and antioxidant activity of fruit tissues from 27 Chinese local citrus cultivars. *Plants*, 9, 196. <https://doi.org/10.3390/plants9020196>
- Chen, W.-J., Hsiao, L.-C. & Chen, K. K. (2008). Metal desorption from copper (II)/nickel(II)-spiked kaolin as a soil component using plant-derived saponin biosurfactant. *Process Biochemistry*, 43:488–98.
- Chethan, S. & Malleshi, N.G., (2007). Finger millet polyphenols: Optimization of extraction and the effect of pH on their stability, *Food Chemistry*, Volume 105, Issue 2, Pages 862-870, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.012>.
- Chibani, S. (2023). Les terpènes. Cours de Chimiotaxonomie. Département de biologie et écologie végétale, faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Constantine 1, 7.
- Choi, Y., S.M. Lee, J. Chun, H.B. Lee & J. Lee. (2006). Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom, *Food Chemistry*, Volume 99, Issue 2, Pages 381-387, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.004>.
- Choirunnisa, A. (2016). Comparison of five antioxidant assays for estimating antioxidant capacity from three *Solanum sp.* extracts. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 9, 123–128.
- Clément, J., Bezançon, G., & Billard, G. (1993). Prospections des mils cultivés et des mils sauvages de l'Afrique de l'ouest. Dans H. Serge, *Le mil en Afrique 'diversité génétique et agro-physiologie: potentialités et contraintes pour l'amélioration génétique et l'agriculture'* (pp. 9-19). ORSTOM Editions, Paris, France.

- Codex Alimentarius. (1989). General standard for soy protein products. *Codex alimentarius, international food standard*.
- Cole Theodor, Hilger Hartmut, Stevens Peter. (2019). Angiosperm phylogeny poster (APP) – Flowering plant systematics. *PeerJ Preprints* 7:e2320v6 <https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.2320v6>
- Conrad J, Vogler B., Klaiber I., Roos G., Walter U. & Kraus W. (1998). Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry* 48: 647 - 650.
- Cruz, L., Basílio, N., Mateus, N., De Freitas, V., & Pina, F. (2021). Natural and synthetic flavylum-based dyes: The chemistry behind the color. *Chemical Reviews*, 122, 1416–1481. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00399>
- D'Andrea, A., Klee, M., & Casey, J. (2001). Archaeobotanical evidence for pearl millet (*Pennisetum glaucum*) in sub-Saharan West Africa. *Antiquity*. Vol. 75 (pp. 341-348). Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.
- Dawidowicz, Wianowska, & Olszowy, (2012), Kedare & Singh, (2011), Musa, Abdullah, Kuswandi, & Hidayat, (2013) dans zhong Y, 2015 - *Methods for the assessment of antioxidant activity in food*.
- Dendy, V. (1995). Sorghum and the millets: production and importance. Dans A. David, & V. Dendy, *Sorghum and millets chemistry and technology* (pp. 11-26 ). Inc. St Paul, Minnesota, USA. : American association of cereal chemists.
- Derreumaux, V. (2008, 06 04). Les punaises "rouge et noir". vendredi 5 décembre 2008. Récupéré sur le Monde des Insectes: <https://www.insecte.org/spip.php?article72>
- Dewick, P.M., (1995). The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*, 12(6): 579-607.
- Dinis, P., Pineda, M. & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantity of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of Vitamin E. *Anal. Biochem.* 269, 337–341
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., Almeida, L.M. (1994). Action of phenolic derivatives (Acetaminophen, Salicylate, and 5-Aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.*, 315, 161–169.
- Djidingar, R. (1990). Evaluation des performances des hybrides Topcross (CMS et variétés) chez le mil, *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. Rapport de stage pour l'obtention de la Maîtrise ès-sciences agronomiques. Université de Ni.
- Droge W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function, *Cellular Physiol. Rev.*, 82, p. 47.

- Duan, Y., Eduardo Melo Santiago, F., Rodrigues dos Reis, A., de Figueiredo, M. A., Zhou, S., Thannhauser, T. W., & Li, L. (2021). Genotypic variation of flavonols and antioxidant capacity in broccoli. *Food Chemistry*, 338. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127997>
- Dubois M., Gilles K.A, Hamilton. J.K, Rebers P.T., & Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- Dykes L. & Rooney L.W., (2006). Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of cereal Sciences* 44: 236 - 241.
- FAO (2000). Production yearbook. Food and Agricultural Organization, Rome. Alimentation et agriculture. Production et santé animales par J.W. Czerkawski, J.D. Dargie, L.E. Ed QVIST, M.C.N. Jayasuriya. FAO.
- Favier A., 2006. Stress oxydant et pathologies humaines, *Annales Pharmaceutiques Françaises*, Volume 64, Issue 6, 2006, Pages 390-396, ISSN 0003-4509, [https://doi.org/10.1016/S0003-4509\(06\)75334-2](https://doi.org/10.1016/S0003-4509(06)75334-2).  
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003450906753342>)
- France Terme, République Française. (2013, 09 15). France Terme. Récupéré sur France Terme: <https://www.culture.fr/franceterme/terme/COGB150>
- Fuller, D., Barron, A., Champion, L., Dupuy, C., Commelin, D., Raimbault, M., & Denham, T. (2021). Transition From Wild to Domesticated Pearl Millet (*Pennisetum glaucum*) Revealed in Ceramic Temper at Three Middle Holocene Sites in Northern Mali. *Afr Archaeol Rev.* Vol. 38, 211–230.
- Fussell, L., Pearson, C., & Norman, M. (1980). Effect of temperature during various growth stages on grain development and yield of *Pennisetum americana*. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 31 (pp. 621-633). Oxford University Press, Society for Experimental Biology. Oxford, Royaume-Uni.
- Gentile, D., Fornai, M., Pellegrini, C., Colucci, R., Blandizzi, C., & Antonioli, L. (2018). Dietary flavonoids as a potential intervention to improve redox balance in obesity and related co-morbidities: A review. *Nutrition Research Reviews*, 31, 239–247. <https://doi.org/10.1017/S0954422418000082>.
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., & Kader, A.A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids and vitamin C contents of nectarine, peach and plum cultivars from California. *J Agric Food Chem* 50:4976-4982.
- Ginwala, R., Bhavsar, R., Chigbu, D. G. I., Jain, P., & Khan, Z. K. (2019). Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin. *Antioxidants*, 8, 35. <https://doi.org/10.3390/antiox8020035>

- Godman, M., Bostick, R.M., Kucuk, O. & Jones, D.P., (2011). Clinical trials of antioxidants as cancer prevention agents: past, present and future. *Free Radic. Biol. Med.* 51, 1068–1084.
- Godon, B., & Loizel, W. (1997). Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales, 2ème édition. *Tec & Doc*. Lavoisier, 198 p.
- Goudar, G., Manne, M., Sathisha, G. J., Sharma, P., Mokalla, T. R., Kumar, S. B., & Ziouzenkova, O. (2023). Phenolic, nutritional and molecular interaction study among different millet varieties. *Food Chemistry Advances*, 2 , Article 100150. 10.1016/J.FOCHA.2022.100150 .
- Goyal, K., Kaur, R., Goyal, A., & Awasthi, R. (2021). Chalcones: A review on synthesis and pharmacological activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 11, 001–014. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2021.11s101>
- Granato, D., Shahidi, F., Wrolstad, R., Kilmartin, P., Melton, L.D., Hidalgo, F.J., Miyashita, K., van Camp, J., Alasalvar, C., Ismail, A.B., et al. (2018). Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban *in vitro* screening methods. *Food Chem.*, 264, 471–475.
- Gregory, P., & Squire, G. (1979). Irrigation effect on roots and shoots of pearl millet (*Penisetum typhoides*). *Experimental Agriculture*, Vol. 15 (pp. 161-168). Cambridge University Press, Cambridge, Royaume-Uni.
- Guyen, H., Arici, A., & Simsek, O. (2019). Flavonoids in our foods: A short review. *Journal of Basic and Clinical Health Sciences*, 3, 96–106. <https://doi.org/10.30621/jbachs.2019.555>.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10), 628-638.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M., (1995). The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic. Biol. Med.* 18, 125–126.
- Halliwell, B., (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.* 9, 1–32. Pietta, P., 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63, 1035–1042.
- Halliwell, B., (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans.* 35, 1147–1150.
- Hamadou, M., Soumana, I., Chaïbou, M., Oumarou, S., & Kindomihou, V. (2017). Potentialités fourragères du mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br) : Revue de littérature. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2017. Vol.34, Issue 2. ISSN 2071-7024 (pp. 5424-5447). Pakistan Agricultural Scientists Forum (PAS FORUM). Pakistan.
- Hamma Habib (2009). Activité anti inflammatoire des extraits de plantes médicinales. Mémoire en vue de l'obtention d'un Diplôme d'Études Supérieures en Biologie Moléculaire et Cellulaire option Biochimie. Département de Biologie Physico-Chimique. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. Bejaia. p.p. 68.

- Han, Q., Yang, L., Liu, Y., Wang, Y., Qiao, C., Song, J., Xu, L., Yang, D., Chen, S. & Xu, H. (2006). Gambogic acid and epigambogic acid, C-2 epimers with novel anticancer effects from *Garcinia hanburyi*. *Planta Med.*, 72, 281–284.
- Hanane, S. (2013). Le pouvoir antioxydant des polyphénols de l'espèce *Pennisetum glaucum* (millet) du sud de l'Algérie. Thèse. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, Algérie.
- Hanna Górska-Warsewicz, K. R. (2023). Economic importance of nutritional and healthy cereals and/or cereal products. Developing Sustainable and Health Promoting Cereals and Pseudocereals (pp. 433-450). Academic Press, Department of Food Market and Consumption Research, Institute of Human Nutrition Sciences, Warsaw University of Life Sciences, Warsaw, Poland.
- Hanna, W. & Gupta, SK. (1999). Breeding for forage. I. S. Khairwal, K. N. Rai, D. J. Andrews, G. Harinarayana, eds. Pearl millet breeding, *Science Publishers*, Enfiled, N.H., pp. 303-316.
- Harbone, J.B. (1967). Comparative biochemistry of the flavonoides. Academic press. New York, 1-130 p.) (Brouillard R, 1986. The flavonoids Advances. Research science: 525-538 p.
- Harborne, J. (1988). The Flavonoids, Advances in Research since 1980. New York, USA: Springer New York, NY. p.p. 621. ISBN : 978-0-412-28770-1. DOI : <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2913-6>.
- Hassan, Z.M., Sebola, N.A. & Mabelebele, M. (2021). The nutritional use of millet grain for food and feed: a review. *Agric. Food Secur.* 10, 16.
- Hernández-Rodríguez Patricia, Pabón Baquero Ludy & Rodríguez Larrota Harold. (2019) Chapter 14 - Flavonoids: Potential Therapeutic Agents by Their Antioxidant Capacity, Editor(s): Maira Rubi Segura Campos, *Bioactive Compounds*, Woodhead Publishing, Pages 265-288, ISBN 9780128147740, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00014-1>.
- Hess, D. E., & Ejeta, G. (1992). Inheritance of resistance to *Striga* in sorghum genotype SRN39. *Plant Breed.* Vol. 109 pp, 233-241.
- Hithamani, Gavirangappa & Srinivasan, Krishnapura. (2014). Effect of domestic processing on the polyphenol content and bioaccessibility in finger millet (*Eleusine coracana*) and pearl millet (*Pennisetum glaucum*). *Food Chemistry.* 164. 55–62. [10.1016/j.foodchem.2014.04.107](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.107)
- Höhn, A., Kahlheber, S., Neumann, K., & Schweizer, A. (2008). Settling the rain forest: the environment of farming communities in southern Cameroon during the first millennium BC. Dynamics of Forest Ecosystems in Central Africa during the Holocene: Past-Present-Future. *Palaeoecology of Africa.* Vol. 28 (pp. 29-41). Institute of Archaeological Sciences. Johann Wolfgang Goethe University. Frankfurt am Main. Germany.

- Hollman P.C., Hertog M.G., & Katan M.B., (1996). Role of dietary flavonoids in protection against cancer and coronary heart disease. *Biochem. Soc. Trans.* 24, 785- 9.
- Hostettmann, K., & Marston, A. (1995). Saponins, (Chemistry pharmacology of natural products). Cambridge : Cambridge University Press.
- Houghton, A., Appelhagen, I., & Martin, C. (2021). Natural blues: Structure meets function in anthocyanins. *Plants*, 10, 726. <https://doi.org/10.3390/plants10040726>
- Huang, Z., Yang, R., Guo, Z., She, Z. & Lin, Y. (2010). A new xanthone derivative from mangrove endophytic fungus No. ZSU-H16. *Chem. Nat. Compd.*, 46, 348–351.
- Hulse, J.H., Laing, E.M. & Pearson, O.E. (1980). Sorghum and the millets: their composition and nutritive value, Academic Press.
- IBPGR & ICRISAT. (1993). Descriptors for Pearl millet. ISBN 92-9043-136-9 (p. 43). Via delle Sette Chiese 142 00145 Rome Italy.
- Ibrahima, O., Cédric, M., Jean-Louis, P., & Yves, V. (2008). Phylogeny and origin of pearl millet (*Pennisetum glaucum* [L.] R. Br) as revealed by microsatellite loci. Theoretical and Applied Genetics volume 117 (pp. 489–497). Springer Science+Business Media, Berlin, Allemagne.
- Ilias Marmouzi, Kaddafi Ali, Hicham Harhar, Said Gharby, Karima Sayah, Nadia El Madani, Yahia Cherrah & My El Abbes Faouzi, (2016). Functional composition, antibacterial and antioxidative properties of oil and phenolics from Moroccan *Pennisetum glaucum* seeds, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, Volume 17, Issue 3, Pages 229-234, ISSN 1658-077X, <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.04.007>.
- Iorizzo, M., Curaba, J., Pottorff, M., Ferruzzi, M. G., Simon, P., & Cavagnaro, P. F. (2020). Carrot anthocyanins genetics and genomics: Status and perspectives to improve its application for the food colorant industry. *Genes*, 11, 906. <https://doi.org/10.3390/genes11080906>
- Iorizzo, M., Curaba, J., Pottorff, M., Ferruzzi, M. G., Simon, P., & Cavagnaro, P. F. (2020). Carrot anthocyanins genetics and genomics: Status and perspectives to improve its application for the food colorant industry. *Genes*, 11, 906. <https://doi.org/10.3390/genes11080906>
- Irena Krga, (2018). Role des anthocyanes et des métabolites sur la fonction des cellules endothéliales et plaquettes humaine *in vitro*.. Sciences agricoles. Université Clermont Auvergne. Français. ffNNT : 2018CLFAS004ff. fftel-02280890f
- Ito, C., Itoigawa M., Onoda S., Hosokawa A., Ruabgrungsi N., OkudaT., Tokuda H., Nishino, H. & Furukawa, H. (2005). Chemical constituents of *Murraya siamensis*: three coumarins and their anti- tumor promoting effect. *Phytochemistry* 66: 567 -572.
- Jaster E.H., Fisher, C.M. & Miller, D.A. (1985). Nutritive value of oatlage, barley/pea, pea, oat/pea, pearl millet, and sorghum as silage ground under double cropping forage system for dairy heifers. *J. Dairy Sci* Vol, 68, pp, 2914–2921.

- Jayaraman, K. (2002). Natural 'golden millet' rivals 'golden rice'. *Science and Development Network* (SciDevNet).
- Joël Pincemail, Karine Bonjean, Karine Cayeux & Jean-Olivier Defraigne (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante, *Nutrition Clinique et Métabolisme*, Volume 16, Issue 4, Pages 233-239, ISSN 0985-0562.
- Jutiviboonsuk A., Zhang H., Tan T.G., Ma C., Van Hung N., Cuong N.M., Bunyaphatsara N., Soejarto D.D. & Fong H.H.S., (2005). Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry* 66: 2745 – 2751
- Kadidiatou, H. (2014). Construction d'une carte génétique pour le mil, *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br., par une approche de génotypage par séquençage (GBS). Mémoire en vue de l'obtention d'une Maîtrise en biologie végétale (p. 93). Université Laval, Québec, Canada.
- Kaennakam, S., Mudsing, K., Rassamee, K., Siripong, P. & Tip-pyang, S. (2019). Two new xanthenes and cytotoxicity from the bark of *Garcinia schomburgkiana*. *J. Nat. Med.*, 73, 257–261.
- Kahlheber, S., Bostoen, K., & Neumann, K. (2009). Early plant cultivation in the Central African rain forest: first millennium BC pearl millet from South Cameroon. *Journal of African Archaeology* (pp. 253-272). Brill Publishers on behalf of the Goethe University Frankfurt. Germany.
- Karim, N., Jia, Z., Zheng, X., Cui, S., & Chen, W. (2018). A recent review of citrus flavanone naringenin on metabolic diseases and its potential sources for high yield-production. *Trends in Food Science & Technology*, 79, 35–54. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.06.012>
- Kedare, S.B., Singh, R.P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J. Food Sci. Technol.*, 48, 412–422.
- Khairwal, I., Kapoor, R., & Yadav, H. (1980). Seed dormancy and its genetic basis in pearl millet. *Seeds and Farms*. Vol. 6, (pp. 25-28). India.
- Khaydarov, R.R., Khaydarov, R.A., Estrin, Y., Evgrafova, S., Scheper, T., Endres, C. & Cho, S. Y. (2009). *Nanomaterials: Risks and Benefits*, Linkov, I., Steevens, J., Eds., *Springer*: Dordrecht, The Netherlands, pp 287-297.
- Khlebnikov, A.I., Schepetkin, I.A., Domina, N.G., Kirpotina, L.N. & Quinn, M.T., (2007). Improved quantitative structure–activity relationship models to predict antioxidant activity of flavonoids in chemical, enzymatic, and cellular systems. *Bioorg. Med. Chem.* 15, 1749–1770.
- Kim, D.-O., Lee, K.W., Lee, H.J. & Lee, C.Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic. *phytochemicals*. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3713–3717.
- Kim, D.-S., Chang, Y.-J., Zedk, U., Zhao, P., Liu, Y.-Q. & Yang, C.-R. (1995). Dammarane saponins from *Panax ginseng*. *Phytochemistry*, 40:1493–7.

- Kim, J.Y., Lim, H.J., Lee, D.Y., Kim, D.H., Jeon, R. & Ryu, J.H., (2009). *in vitro* anti-inflammatory activity of lignans isolated from *Magnolia fargessii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 19: 937 -940.
- Kim, M. A., & Kim, M. J. (2020). Isoflavone profiles and antioxidant properties in different parts of soybean sprout. *Journal of Food Science*, 85, 689–695. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15058>
- Kobayashi, K., Teruya, T., Suenaga, K., Matsui, Y., Masuda, H. & Kigoshi, H. (2006). Isotheasaponins B1–B3 from *Camellia sinensis* var. *sinensis* tea leaves. *Phytochemistry* 67:1385–9.
- Krall, S., Youm, O., & Kogo, S.A. (1995). Panicle insect pest damage and yield loss in pearl millet. *Dans* Panicle insect pests of sorghum and pearl millet: proceedings of an International Consultative Workshop. ICRISAT Centre Sahélien, Niamey, du 4 au 7 octobre 1993. *Sous la direction de* K.F. Nwanze et O. Youm. ICRISAT Center, Patancheru. p.135-145.
- Krishnan Veda, Piyush Verma, Supriyo Saha, Bhupinder Singh, T. Vinutha, R.R. Kumar, Ankur Kulshreshta, S.P. Singh, Tara Sathyavathi, Archana Sachdev & Shelly Praveen, (2022). Polyphenol-enriched extract from pearl millet (*Pennisetum glaucum*) inhibits key enzymes involved in postprandial hyper glycemia ( $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase) and regulates hepatic glucose uptake, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, Volume 43, 102411, ISSN 1878-8181, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102411>.
- Kubata, B.K., Nagamune, K., Murakami, N., Merkel, P., Kabututua, Z., Martin, S.K., Kalulug, T.M., Mustakuk, H., Hoshida, M., Ohnishi-kameyama, M., Kinoshita, T., Duszenko, M. & Uradea, Y., (2005). *Kola acuminata* proanthocyanidins: a class of antitrypanosomal compounds effective against trypanosome brucei. *International Journal for Parasitology* 35: 91- 103.
- Kuligowski, M., Pawlowska, K., Jasinska-Kuligowska, I., & Nowak, J. (2017). Isoflavone composition, polyphenols content and antioxidative activity of soybean seeds during tempeh fermentation. *CyTA-Journal of Food*, 15, 27–33. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1197316>
- Kumar, A., & Manga, V.K. (2011). Downy mildew of pearl millet. *Bioresearch Bulletin*. Vol. 4, pp, 182-200.
- Kumar, K. A., & Adrews, D. J. (1993). Genetics of qualitative traits in pearl millet: a review. *Crop science*. Vol 33-1 (pp. 1-20). Crop Science Society of America. USA.
- Kumar, K., & Appa-Rao, S. (1987). Diversity and utilization of pearl millet germplasm. *Dans* J. W. R.Beckerman, Proceedings of the International Pearl millet Workshop (pp. 69-82). Patancheru, Andra Pradesh 502 324, India: 7-11 Apr 1986, International crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (cp 870379). ICRISAT center, India.

- Kurniawan, Y.S., Priyanga, K.T.A., Jumina, Pranowo, H.D., Sholikhah, E.N., Zulkarnain, A.K., Fatimi, H.A. & Julianus, J. (2021). An Update on the Anticancer Activity of Xanthone Derivatives: A Review. *Pharmaceuticals*, 14, 1144. <https://doi.org/10.3390/ph14111144>.
- Labbani. (2021). Métabolisme secondaire, Biochimie végétale. Cours L3-BPV-FSNV/UFMC (p. 7). Constantine: Université de Constantine 1.
- Léder Irén. (2004). Sorghum and Millets, in Cultivated Plants, Primarily as Food Sources, [Ed. György Füleký]. In "Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)". UNESCO, Oxford, U.K.
- Lee, Y.M., Li, H., Hong, J., Cho, H.Y., Bae, K.S., Kim, M.A., Kim, D.-K. & Jung, J.H. (2010). Bioactive metabolites from the sponge-derived fungus *Aspergillus versicolor*. *Arch. Pharm. Res.*, 33, 231–235.
- Lemieux G., Germain D., 2002. Le Bois Rameal Fragmenté: la clé de la fertilité durable du sol. Ed. Groupe de coordination sur les bois Rameaux, Université Laval.
- Lenucci Marcello, Cadinu Daniela, Taurino Marco, Piro Gabriella & Dalessandro Giuseppe. (2006). Antioxidant Composition in Cherry and High-Pigment Tomato Cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*. 54. 2606-13. 10.1021/jf052920c.
- Leonard, W., & Martin, J. H. (1963). Cereal crops. The Macmillan company (pp. 679-767). New York Collier Macmillan Limited, London.
- Le-Quan-Sang, K.-H., M., Levacher & J.-C., Thalabard. (2005). Liens métaboliques entre la codéine et la morphine, *Science & Sports*, Volume 20, Issue 4, Pages 218-221, ISSN 0765-1597, <https://doi.org/10.1016/j.scispo.2005.01.024>.
- Les Céréales. (2023, 06 05). Millet. Récupéré sur Les Céréales: <https://www.lescereales.fr/wiki-cereales/millet>
- Lespinasse, R., Martel, E., M.T., P., & Sarr, A. (1993). Hétérochromatine, chromosomes B: Implication des formes sauvages du mil sur l'utilisation des ressources génétiques. Dans H. Serge, Le mil en afrique 'diversité génétique et agro-physiologie: potentialités et contraintes pour l'amélioration génétique et l'agriculture' (pp. 141-148). ORSTOM Editions, Paris, France. .
- Liang, & Liang, K. (2019). Millet grain as a candidate antioxidant food resource: a review. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1652–1661. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1668406>
- Li-Marchetti, C., & Quenum, R. (2020, 02 17). Les métabolites secondaires. Récupéré sur RED Horticulture: [https://www.horticulture.red/fr/expertise/qualite/metabolites-secondaires/#:~:text=Les%20métabolites%20secondaires%2C%20qu%27est,\)%2C%20contrairement%20aux%20métabolites%20primaires.](https://www.horticulture.red/fr/expertise/qualite/metabolites-secondaires/#:~:text=Les%20métabolites%20secondaires%2C%20qu%27est,)%2C%20contrairement%20aux%20métabolites%20primaires.)

- Linghong Shi, Zhao Wanrong, Yang Zihong, Subbiah Viganini, Suleria Hafiz. (2022). Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. *Environmental Science and Pollution Research*. 29. 10.1007/s11356-022-23337-6.
- Liu, L., Zuo, Z., Lu, S., Liu, A., & Liu, X. (2017b). Naringin attenuates diabetic retinopathy by inhibiting inflammation, oxidative stress and NF- $\kappa$ B activation *in vivo* and *in Vitro*. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20, 814–822. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2017.9017>
- Loumerem, M. (2004). Etude de la variabilité des populations de mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) cultivées dans les régions arides tunisiennes et sélection de variétés plus performantes. Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur (Ph.D.) en Sciences Biologiques Appliquées Section: Agronomie (p. 220). Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, Coupure Links 653, 9000 Gent, Belgique.
- Macheix J-J., Fleuriot A. & Jay-Allemand C. (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes pp, 121-216.
- Magalhães, L.M., Segundo, M.A., Reis, S. & Lima, J.L.F.C. (2008). Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties. *Anal. Chim. Acta*, 613, 1–19.
- Maiti, R. K. (1979). How a pearl millet plant develops. Institut international de recherche sur les cultures des zones tropicales semi-arides (ICRISAT). Hyderabad, Inde.
- Maiti, R., & Bidinger, F. (1981). Bidinger 1981. Growth and Development of the Pearl Millet Plant. Research Bulletin No. 6 (p. 14). International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT) Patancheru P.O., Andhra Pradesh 502 324, India.
- Maiti, R., & Bisen, S. (1976). Studies on growth and development of panicle and grains in two contrasting genotypes of pearl millet (*Pennisetum typhoides* Stapf & Hubbard). First International Symposium on Physiology of Sexual Reproduction in Flowering Plants. Punjab Agriculture University. Ludhiana, India.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C. & Jiménez, L., (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 79, pp, 727 - 747.
- Manase, M. (2013). Étude chimique et biologique de saponines isolées de trois espèces Malgaches appartenant aux familles des CARYOPHYLLACEAE, PITTOSPORACEAE et SOLANACEAE . Bourgogne: Thèse pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacognosie, Université de Bourgogne.
- Mangat, B., Maiti, R., & Kairwal, I. (1999). Pearl Millet Biology. Pearl Millet Breeding (eds. I.S. Khairwal, K.N. Rai, D.J. Andrews, G. Harinarayana) (pp. 1-27). Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. Oxford, Royaume-Uni.

- Manning, K. (2010). A developmental history for early West African agriculture. Dans A.-J. Philip, *West African Archaeology New developments, new perspectives*. Vol. 2164 (p. 12). BAR International.
- Manning, K., Pelling, R., Higham, T., Schwenniger, J.-L., & Fuller, D. (2011). 4500-year old domesticated pearl millet (*Pennisetum glaucum*) from the Tilemsi Valley, Mali: new insights into an alternative cereal domestication pathway. *Journal of Archaeological Science* Vol. 38 (pp. 312-322). Academic Press, Elsevier. USA.
- Marchais, L., Tostain, S., & Amoukou, I. (1993). Signification taxonomique et évolutive de la structure génétique des mil s pénicillaires. Dans S. Hamon, *Le mil en Afrique* (pp. 119-128). ORSTOM, Paris, France.
- Márcio Carochó & Isabel C.F.R. Ferreira, (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, *Food and Chemical Toxicology*, Volume 51, Pages 15-25, ISSN 0278-6915, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>.
- Martínez-Lüscher, J., Brillante, L., & Kurtural, S. K. (2019). Flavonol profile is a reliable indicator to assess canopy architecture and the exposure of red wine grapes to solar radiation. *Frontiers in Plant Science*, 10, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00010>
- Masquelier, J., Dumon, M., & Dumas, J. (1979). Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. *Acta thérapeutique* 1, 101-104 p.
- Michenot Nathalie, Sylvie Rostaing, Laurent Baron, Sébastien Faure, Nicolas Jovenin, Philippe Hubault, Thierry Delorme, Elisabeth Collin, Marilène Filbet, Gisèle Chvetzoff, Claire Delorme, Christian Minello, Marc Magnet, Didier Ammar, Ivan Krakowski & Philippe Poulain (2018). La morphine dans le cadre du changement d'opioïdes ou de voie d'administration, chez l'adulte avec une douleur due au cancer, *Bulletin du Cancer*, Volume 105, Issue 11.
- Middleton, E., Jr., Kandaswami, C. & Theoharides, T. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol. Rev.* 52, 673-751.
- Miladiyah, I., Jumina, J., Haryana, S.M. & Mustofa, M. (2018). Biological activity, quantitative structure–activity relationship analysis, and molecular docking of xanthone derivatives as anticancer drugs. *Drug Des. Dev. Ther.*, 12, 149–158.
- Milena Morandi Vuolo, Verena Silva Lima, Mário Roberto & Maróstica Junior, (2019). Chapter 2 - Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power, Editor(s): Maira Rubi Segura Campos, *Bioactive Compounds*, Woodhead Publishing, Pages 33-50, ISBN 9780128147740, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>.

- Miler, M., Zivanovic, J., Ajdzanovic, V., Milenkovic, D., Jaric, I., Susic-Jurjevic, B., et al. (2020). Citrus flavanones upregulate thyrotroph sirt1 and differently affect thyroid Nrf2 expressions in old-aged Wistar Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68, 8242–8254. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03079>
- Miller N.J. & Rice-Evans C.A. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS radical cation assay. *Free Radic Res.* 1997 Mar,26(3):195-9. doi: 10.3109/10715769709097799. Erratum in: *Free Radic Res* Jun,26 (6):594. PMID: 9161842.
- Min, D.B. & Bo, J.M. (2002). Lipid oxidation of edible oil. In *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, Marcel Dekker: New York, NY, USA, pp. 335–363.
- Ming-Hsuan Chen, Anna, M., McClung, & Christine, J. Bergman, (2016). Concentrations of oligomers and polymers of proanthocyanidins in red and purple rice bran and their relationships to total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity and whole grain color, *Food Chemistry*, Volume 208, Pages 279-287, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.004>.
- Moharram, H. & Youssef, M. (2014). Methods for determining the antioxidant activity: A review. *Alex. J. Food Sci. Technol.*, 11, 31–42.
- Montagnier L., Olivier R. & Pasquier C. (1998). *Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases*, Marcel Dekker, New York.
- Moumouni, K.H., Kountche, B.A., Jean, M., Hash, C.T., Vigouroux, Y., Haussmann, B.I.G. & Belzile, F. (2015). Construction of a genetic map for pearl millet, *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br., using a genotyping-by-sequencing (GBS) approach. *Mol Breeding*. Vol. 35, p, 10.
- Mukhopadhyay Debanjan, Dasgupta, Sinha Debalina, Roy, Palchoudhuri Shauroseni, Chatterjee Ipsita, Ali Shahnaz, Dastidar Sujata. (2016). A Sensitive *in vitro* Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1,10-Phenanthroline. *Free Radicals and Antioxidants*. 6. Issue 1. 123-131. 10.5530/fra.2016.1.15.
- Müller L., Gnoyke S., Popken A.M. & V. Böhm V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 992–999.
- Munteanu, I.G. & Apetrei, C. (2021) Analytical methods used in determining Antioxidant activity: A review. *Int J Mol Sci* 22(7):3380
- N'Doye, A., Drame, D., N'Kama, I., Manful, J., Saley, K., & Ouendeba, B. (2002). Recueil des méthodes d'analyse du mil. Réseau Ouest et Centre Africain de la Recherche sur le Mil (ROCAFREMI), Niamey.

- Nambiar Vanisha, Daniel Mammen & Gallego. (2012). Flavonoids and phenolic acids from pearl millet (*Pennisetum glaucum*) based foods and their functional implications. *The Journal of Functional Foods in Health and Disease*, 2(7):251-280 ISSN 2060-3855. 2. 10.31989/ffhd.v2i7.85.
- Nambiar, V. D. (2011). Potential functional implications of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) in health and disease. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, Vol. 1 No. 10 (pp. 62–67). India: Open Science Publishers LLP, Madhya Pradesh, India.
- Nan Shen, Tongfei Wang, Quan Gan, Sian Liu, Li Wang & Biao Jin. (2022). Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity, *Food Chemistry*, Volume 383, 132531, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>.
- Nani Abdelhafid, Meriem Belarbi, Babar Murtaza, Chahid Benammar, Taha Merghoub, Mickaël Rialland, Naim Akhtar Khan & Aziz Hichami, (2019). Polyphenols from *Pennisetum glaucum* grains induce MAP kinase phosphorylation and cell cycle arrest in human osteosarcoma cells, *Journal of Functional Foods*, Volume 54, Pages 422-432, ISSN 1756-4646, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.01.042>.
- Nani, A., Belarbi, M., Ksouri-Megdiche, W. *et al.* (2015). Effects of polyphenols and lipids from *Pennisetum glaucum* grains on T-cell activation: modulation of Ca<sup>2+</sup> and ERK1/ERK2 signaling. *BMC Complement Altern Med* 15, 426. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0946-3>
- Nani, A., Ghanemi, F., Borsali-Gaouar, N., & Belarbi, M. (2012). Extraction and quantification of phenolic compounds in pearl millet (*Pennisetum glaucum*) of the Adrar region. *Biological & Pharmacological activities of Natural Substances*, 163-165.
- Nantoumé, H., Kouriba, A., Togola, D., & Ouologuem, B. (2000). Valeur alimentaire des aliments pour les petits ruminants. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.* Vol 53 (3), 279-284.
- Nebeling, L., (2002). Phytochemicals, the color of a Healthy Diet. *Health Promotion Research Branch National Cancer Institute*, Maryland.
- Neumann, K. (1999). Early plant food production in the West African Sahel. Dans *The exploitation of plant resources in ancient Africa* (pp. 73-80). Springer.
- Newman Yoana; Jennings, E.D. ; Vendramini, J. and Blount, A. (2020). Pearl Millet (*Pennisetum glaucum*): Overview and Management. SS-AGR-337 (p. 6). Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS), University of Florida, USA.
- NIN, 2003. Nutritive value of Indian Foods, Ed Gopalan and Deosthale. (N. I. o. Nutrition, ed.). NIN, Hyderabad. [www.trove.nla.gov.au/work/17516887](http://www.trove.nla.gov.au/work/17516887).
- Nsemi François Muanda (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. *Biologie végétale*. Université Paul Verlaine - Metz, 2010. Français. NNT : 2010METZ011S. tel-01752680.

- Oanh, V.T.K., Thoa, H.T., Hang, N.T.M., Phuong, D.T.L., Lien, N.T.P., Popova, M., Trusheva, B., Bankova, V. & Le, T.N. (2021). New dihydrochromene and xanthone derivatives from *Lisotrigona furva* propolis. *Fitoterapia*, 149, 104821.
- Ofosu, F. K., Elahi, F., Daliri, E. B., Chelliah, R., Ham, H. J., Kim, J. H., Han, S. I., Hur, J. H., & Oh, D. H. (2020). Phenolic Profile, Antioxidant, and Antidiabetic Potential Exerted by Millet Grain Varieties. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(3), 254. <https://doi.org/10.3390/antiox9030254>.
- Ojewole J. A. O. (2008). Analgesic, anti-inflammatory and hypoglycaemic effects of *Securidaca longepedunculata* (Fresen.) [Polygalaceae] root-bark aqueous extract. *Inflammopharmacology*, N° 15 : 174–181. Birkhäuser Verlag.
- Okamura, H., Mimura, A., Yakou, Y., Niwano, M. & Takahara, Y. (1993). Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochemistry* 33: 557-561.
- Osbourn, A. E. (1996a). Saponins and plant defence—a soap story. *Trends Plant Science*, 1:4–9.
- Osbourn, A. E. (1996b). Preformed Antimicrobial Compounds and Plant Defense against Fungal Attack. *The Plant Cell*, 8:1821–31.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.
- Özyürek Mustafa, Güngör Nilay, Baki Sefa, Güçlü Kubilay & Apak Reşat. (2012). Development of a Silver Nanoparticle-Based Method for the Antioxidant Capacity Measurement of Polyphenols. *Analytical chemistry*. 84. 8052-9. 10.1021/ac301925b.
- Pan, F., Liu, Y., Liu, J., & Wang, E. (2019). Stability of blueberry anthocyanin, anthocyanidin and pyranoanthocyanidin pigments and their inhibitory effects and mechanisms in human cervical cancer HeLa cells. *RSC Advances*, 9, 10842–10853. <https://doi.org/10.1039/c9ra01772k>
- Park, J. D., Rhee, D. K. & Lee, Y. H. (2005). Biological activities and chemistry of saponins from *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Phytochemistry Reviews*, 4:159–75.
- Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, et al. (2003) Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *J Nutr* 133: 2812–2819.
- Pernès, J., & Lourd, M. (1984). Organisation des complexes d'espèces. Dans J. Pernès, A. Charrier, D. Combes, J. Guillaumet, J. Leblanc, M. Lourd, . . . G. Second, Gestion des ressources génétiques des plantes. Tome II. Manuel. Diffuseur: Technique et documentation (pp. 7-92). LAVOISIER, 11, Lavoisier 75384 Paris cedex 08.
- Pisoschi A.M., Cheregi M.C. & Danet A.F. (2009) Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: electrochemical and spectrophotometrical approaches. *Molecules* 14: 480-493.

- Pisoschi, Aurelia & Negulescu & Gheorghe. (2011). Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*. 01. 10.4172/2161-1009.1000106.
- Popovici C., Saykova I. & Tylkowski B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*. 4 : 25-39.
- Portères, R. (1950). Vieilles agricultures de l'afrique intertropicale. Centres d'origine et de diversification variétale primaire et berceaux de l'agriculture antérieure au XVI siecle. *Agron Trop*. Vol.5 (pp. 489-507). International Institute of Refrigeration. Paris, France.
- Powers, D., Kanemasu, E., Singh, P., & Kreinter, G. (1980). Floral development of pearl millet (*Pennisetum americanum* (L.) K. Schum). *Field crops Research*. Vol. 3 (pp. 245-266). ScienceDirect®, Elsevier B.V., RELX Group. Amsterdam, Pays-Bas.
- Premavalli, K.S. (2012). Finger Millet: A Valued Cereal. *Nova Science Publishers*, p. 180.
- Provencher, J. (2016, 08 5). jeanprovencher.com. Récupéré sur Les Quatre Saisons, Jean Provencher: <https://jeanprovencher.com/2016/08/05/parlons-donc-de-massette/>
- Pushparaj Florence Suma & Urooj Asna. (2014). Antioxidant Activity in Two Pearl Millet (*Pennisetum typhoideum*) Cultivars as Influenced by Processing. *Antioxidants*, 3, 55-66. Department of Studies in Food Science and Nutrition, University of Mysore, Mysore 570006, India. doi:10.3390/antiox3010055.
- Rachie, K. O., & Majmudar, J. V. (1980). Pearl Millet. The Pennsylvania State University Press, University Park, USA.
- Rai, K., Appa-Rao, S., & Reddy, K. (1997). Pearl millet. Dans D. Fuccillo, & L. Stapleton, *Biodiversity in trust* (pp. 243-258 ). Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.
- Rai, K.N., Kulkarni, V.N., Thakur RP, Haussmann BIG & Mgonja MA. (2006). Pearl millet hybrid parents research: Approaches and achievements. Pages 11–73 in *Hybrids parents research at ICRISAT* (Gowda CLL, Rai KN, Reddy BVS and Saxena KB, eds.). Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.
- Ramashia, S.E., Mashau, M.E. & Onipe, O.O. (2021). Millets cereal grains: nutritional composition and utilisation in sub-saharan Africa. In: *Cereal Grains*, 1. IntechOpen.
- Ramona, M., Jafari-Dastjerdeh, R., Naghavi, N. & Khosravi-Darani, K. (2022). All aspects of antioxidant properties of kombucha drink. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 12. 4018-4027. 10.33263/BRIAC123.40184027.
- Ramulu, P. & Rao, P.U. (2003). Total, insoluble and soluble dietary fiber contents of Indian fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 16, pp. 677-685.

- Ratnam, D.V., Ankola, D.D., Bhardwaj, V., Sahana, D.K. & Kumar, N.M.V.R., (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. *J. Control Release* 113, 189–207.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26, 1231–1237.
- Revankar Jayalaxmi, K. Divya, Shamnani Ankita & Koteswaraiiah Podili. (2018). Antioxidant activities of Pearl millet (*Pennisetum glaucum*) and little millet (*Panicum sumatrense*) in different *in vitro* models. *International Journal of Bioassays*. 7. 5595-5601. 10.21746/ijbio.2018.7.2.5.
- Rice Evans, C.A., Miller, N.J. & Paganga, C. (1996). Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* 20, 933-56.
- Richelle L. Beverly. (2023). Safety of Food and Beverages: Cereals and Derived Products. Reference Module in Food Science. Elsevier, The Kellogg Company, Battle Creek Richelle L. Beverly,, MI, United States.
- Richter G., (1993). Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie. Edition Presses Polytechniques et Universitaire Romandes, p. 322-323.
- Rickysoni. (2023), Champ De Millet Perlé Au Rajasthan En Inde. Freepick. [https://fr.freepik.com/photos-premium/champ-millet-perle-au-rajasthan-inde\\_3273976.htm](https://fr.freepik.com/photos-premium/champ-millet-perle-au-rajasthan-inde_3273976.htm).
- Romani, A., Pinelli, P., Galardi, C., et al. (2003). Flavonoids in leaves of black cabbage (*Brassica oleracea* var. *acephala* DC. subvar. *viridis* cv. *serotina*) grown on different soils and at different elevations. *Italian. J. Food Science*. 15, 197–205.
- Rooney, L.W., & McDonough, C.M. (1987). Food quality and consumer acceptance of pearl millet. Pages 43-64 in J.R. Witcombe & Seth R. Beckerman (éds). Proceeding of the international pearl millet workshop. ICRISAT Patancheru, *Andra Pradesh* 502 324, India.
- Ruparao T. Gahukar & Malick N. Ba, (2019). An Updated Review of Research on *Heliocheilus albipunctella* (Lepidoptera: Noctuidae), in Sahelian West Africa, *Journal of Integrated Pest Management*, Vol. 10, Issue 1, 3, <https://doi.org/10.1093/jipm/pmz003>.
- Sabrina Krief (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Sciences du Vivant [q-bio]. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS.
- Sadeer Nabeelah, Montesano Domenico, Albrizio Stefania, Zengin Gokhan & Mahomoodally Fawzi. (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety-Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants*. 9. 709. 10.3390/antiox9080709.

- Sahari, Mohammad Ali & Ardestani, S.B. (2015). Bio-antioxidants activity: Their mechanisms and measurement methods. *Applied Food Biotechnology*. 2. 3-8. 10.22037/afb.v2i1.7747.
- Sakagami H., Hashimoto K., Suzuki F., Ogiwara T., Satoh K., Ito H., Hatano T., Takashi Y. & Fujisawa S., (2005). Molecular requirements of lignin–carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry* 66: 2108 - 2120.
- Saldivar Serna S.O.. (2016). Cereals: Dietary Importance. Encyclopedia of Food and Health (pp. 703-711). Centro de Biotecnología-FEMSA, Tecnológico de Monterrey, Monterrey, México: Academic Press.
- Saldivar, S. (2003). Cereals: dietary importance. In: Caballero, B, Trugo, L, Finglas, P (Eds.), Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Reino Unido. *Academic Press, Agosto*, London, pp. 1027–1033.
- Saloum Sal (1996). Antioxidant Flavonoids: structure, function and Clinical usage. *Alternative Medicine Review*. 1(2), 103-111.
- Sanchez, M., Romero, M., Gomez-Guzman, M., Tamargo, J., Perez-Vizcaino, F., & Duarte, J. (2018). Cardiovascular effects of flavonoids. *Current Medicinal Chemistry*, 26, 6991–7034. <https://doi.org/10.2174/0929867326666181220094721>
- Sanjana Reddy, P. B. (2017). Breeding for Insect Resistance in Sorghum and Millets. Breeding insect resistant crops for sustainable agriculture (pp. 231-264). India: ICAR-Indian Institute of Millets Research, Rajendranagar, Hyderabad 500030.
- Sannomiya, M., Fonseca, V B., Da silva, M A., Rocha L.R.M., Dos Santos, L.C., Hiruma-Lima C.A., Britoc A.R.M.S. & Vilegas W. (2005). Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 97: 1- 6.
- Santos, J.S., Alvarenga Brizola, V.R. & Granato, D. (2017). High-throughput assay comparison and standardization for metal chelating capacity screening: A proposal and application. *Food Chem.*, 214, 515–522.
- Savita Rani, R. S. (2018). Pearl millet processing: a review. *Nutrition & Food Science* (pp. 30-44). Emerald Publishing Limited, Bingley, Royaume-Uni.
- Sayah Hanane. (2013). Le pouvoir antioxydant des polyphénols l'espèce pennisetum glaucum (millet) du Sud d'Algérie. Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en biologie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen (UABT). Algérie.
- Schaich, K.M., Tian, X. & Xie, J. (2015). Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant e\_cacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *J. Funct. Foods*, 14, 111–125.
- Seeram, N.P. & Henning, S.M., Lee, R., Niu, Y., Scheuller, H.S., Heber, D., (2006). Catechin and caffeine contents of green tea dietary supplements and correlation with antioxidant activity. *J. Agric.Food Chem.* 54, 1599–1603.

- Shao, C., Wang, C., Wei, M., Gu, Y., She, Z. & Lin, Y. (2008). Structure elucidation of two new xanthone derivatives from the marine fungus *Penicillium* sp. (ZZF 32#) from South China Sea. *Magn. Reson. Chem.*, 46, 1066–1069.
- Sharma, A., & Kapoor, A.C. (1996). Levels of antinutritional factors in pearl millet as affected by processing treatments and various types of fermentation. *Plant foods human nutrition*. Vol. 49, pp, 241-52.
- Singh, S.D., King, S.B., & Werder, J. (1993). Le mildiou du mil. ICRIAT Center, Patancheru. Bulletin d'information n°37.
- Sivakumar, M.V.K., Maidoukia, A., & Stern, R.D. (1993). Agroclimatologie de l'Afrique de l'Ouest : Le Niger. ICRIAT/Direction de la météorologie, Niamey. Bulletin d'information n°5.
- Soares, J. C., Rosalen, P. L., Lazarini, J. G., Massarioli, A. P., da Silva, C. F., Nani, B. D., et al. (2019). Comprehensive characterization of bioactive phenols from new Brazilian superfruits by LC-ESI-QTOF-MS, and their ROS and RNS scavenging effects and anti-inflammatory activity. *Food Chemistry*, 281, 178–188. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.106>
- Song, G., Li, S.-M., Si, H.-Z., Li, Y.-B., Li, Y.-S., Fan, J.-H., Liang, Q.-Q., He, H.-B., Ye, H.-M. & Cui, Z.-N. (2015). Synthesis and bioactivity of novel xanthone and thioxanthone 1-rhamnopyranosides. *RSC Adv.*, 5, 36092–36103.
- Soumana, I., Ayssiwede, S., Issa, S., & Missohou, A. (2016). Effets de la complémentation avec des blocs multi-nutritionnels concentrés à base de *Sida cordifolia* L., une plante invasive, sur les performances zootechnico-économiques des antenais de race Balami à Déréki/Dosso (Niger). *International Journal of Innovation and Applied Studies* Vol 15, p, 716.
- Soumya, R., Karunakar, S., & Vivek, K. (2016). Millet Grain Processing, Utilization and Its Role in Health Promotion: A Review. *International Journal of Nutrition and Food Sciences* Volume 5, Issue 5 (pp. 318-329). Science Publishing Group, New York, NY 10020, USA.
- Stefanachi, Angela & Leonetti, Francesco & Pisani, Leonardo & Catto, Marco & Carotti, Angelo. (2018). Coumarin: A Natural, Privileged and Versatile Scaffold for Bioactive Compounds. *Molecules* (Basel, Switzerland). 23. 10.3390/molecules23020250.
- Stöckigt, J., Sheludko, Y., Unger, M., Gerasimenko, I., Warzecha, H. & Stöckigt, D. (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic- electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A* 967: 85-113.
- Stratil P., Klejdus, B., Kuban, V. (2007). Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*, 71: 1741-51.

- Szydłowska-Czeraniak Aleksandra, Dianoczki Csilla, Recseg Katalin, Karlovits György, Szlyk Edward. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76, 899-905. [10.1016/j.talanta.2008.04.055](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.04.055).
- Tan, C., Hu, Y., Sundararajan, B., & Zhou, Z. (2020b). Profiling of flavonoid and antioxidant activity of fruit tissues from 27 Chinese local citrus cultivars. *Plants*, 9, 196. <https://doi.org/10.3390/plants9020196>
- Tang, Y.X., Fu, W.W., Wu, R., Tan, H.S., Shen, Z.W. & Xu, H.X. (2016). Bioassay-guided isolation of prenylated xanthone derivatives from the leaves of *Garcinia oligantha*. *J. Nat. Prod.*, 79, 1752–1761.
- Tara-Satyavathi, C. (2013). PEARL MILLET BIOLOGY . India Coordinated Research Project on Pearl Millet, AICRP- Pearl millet (ICAR), ARS (p. 14). Mandor, Jodhpur - 342 304, Rajasthan, India.
- Tena, N., Martín, J., & Asuero, A. G. (2020). State of the art of anthocyanins: Antioxidant activity, sources, bioavailability, and therapeutic effect in human health. *Antioxidants*, 9, 451. <https://doi.org/10.3390/antiox9050451>
- Teng, H., Fang, T., Lin, Q., Song, H., Liu, B., & Chen, L. (2017). Red raspberry and its anthocyanins: Bioactivity beyond antioxidant capacity. *Trends in Food Science and Technology*, 66, 153–165. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.015>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D.H. (2006) Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 669–675.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D.H. (2006) Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 669–675.
- Thakur, R.P., & King, S.B. (1988a). Ergot disease of pearl millet. ICRISAT Center, Patancheru. Bulletin d'information n°24.
- Thakur, R.P., & King, S.B. (1988b). Smut disease of pearl millet. ICRISAT Center, Patancheru. Bulletin d'information n°25.
- Tomaino, A., Martorana, M., Arcoraci, T., Monteleone, D., Giovinazzo, C. & Saija, A. (2010). Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. *Biochimie*, 92(9): 1115-1122.

- Tostain, S., & 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 et cultivées. Dans S. Hamon, Le mil en Afrique diversité génétique et agrophysiologie: potentialités et contraintes pour l'amélioration génétique et l'agriculture (pp. 33-56). Serge Hamon, Paris, France.
- Valéry Afonso, Romuald Champy, Dragoslav Mitrovic, Pascal Collin & Abderrahim Lomri. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales, *Revue du Rhumatisme*, Volume 74, Issue 7, Pages 636-643, ISSN 1169-8330, <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2006.12.009>.
- Vanangamudi, K. (1987). Studies on seed development and maturation in bajra. Madras Agriculture Journal. Vol. 74 (pp. 132-134). Madras Agricultural Students Union, Tamil Nadu Agricultural University. Coimbatore - 641 003. Tamil Nadu, India.
- Van-Damme, P. (2003). Communication personnelle. Laboratoire 'tropical and subtropical Agriculture and Ethnobotany'. Dans F. Landbouwkundige, Toegepaste Biologische Wetenschappen Vakgroep Plantaardige Productie. Coupure links 653 B-9000 Gent België. Email : Patrick.VanDamme@ugent.be.
- Verschoye, Richard & Greaves, Peter & Cai, Hong & Borkhardt, Arndt & Broggin, Massimo & D'Incalci, Ma & Riccio, Edward & Doppalapudi, Rupa & Steward, William & Gescher, Andreas. (2006). Preliminary safety evaluation of the putative cancer chemopreventive agent tricetin, a naturally occurring flavone. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 57. 1-6. [10.1007/s00280-005-0039-y](https://doi.org/10.1007/s00280-005-0039-y).
- Vidal France. (2014, 08 18). COMPLÉMENT ALIMENTAIRE : ISOFLAVONES. Récupéré sur Vidal: <https://www.vidal.fr/parapharmacie/complements-alimentaires/isoflavones-phytoestrogenes.html>
- Vietmeyer, N.D. (1996). Lost crops of Africa. National academy press Washington, D.C. volume 1, Grains, pp, 329.
- Vitelli-Storelli, F., Rossi, M., Pelucchi, C., Rota, M., Palli, D., Ferraroni, M., et al. (2020). Polyphenol intake and gastric cancer risk: Findings from the stomach cancer pooling project (StoP). *Cancers*, 12, 3064. <https://doi.org/10.3390/cancers12103064>
- Vogel, A. (1820). Darstellung von Benzoesäure aus der Tonka-Bohne und aus den Meliloten- oder Steinklee-Blumen. *Ann. Phys.*, 64, 161–166.
- Wang, M., Firman, J., Liu, L. S., & Yam, K. (2019a). A review on flavonoid apigenin: dietary intake, ADME, antimicrobial effects, and interactions with human gut microbiota. *BioMed Research International*, 2019, 7010467. <https://doi.org/10.1155/2019/7010467>.
- Wang, N., Yi, W. J., Tan, L., Zhang, J. H., Xu, J., Chen, Y., et al. (2017b). Apigenin attenuates streptozotocin-induced pancreatic  $\beta$  cell damage by its protective effects on cellular antioxidant defense. *in vitro Cellular and Developmental Biology - Animal*, 53, 554–563. <https://doi.org/10.1007/s11626-017-0135-4>

- Wang, Y.J., Ma, N., Liu, C.-Y., Feng, Y.-X., Zhang, F.-X., Li, C. & Pei, Y.-H. (2021). Xanthonés and anthraquinones from the soil fungus *Penicillium* sp. DWS10-P-6. *RSC Adv.*, 11, 3162–3167.
- Wei, L.K., Zamakshshari, N.H., Ee, G.C.L., Mah, S.H. & Nor, S.M.M. (2018). Isolation and structural modifications of ananixanthone from *Calophyllum teysmannii* and their cytotoxic activities. *Nat. Prod. Res.*, 32, 2147–2151.
- Wikiniger. (2018, 02 13). Fiche technique sur *Dysdercus vólkeri*. Récupéré sur Centre pour la sécurité alimentaire et nutritionnelle: <https://www.csan-niger.com/dysdercus-volkeri.php>
- Williamson, G., Kay, C. D., & Crozier, A. (2018). The bioavailability, transport, and bioactivity of dietary flavonoids: A review from a historical perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17, 1054–1112. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12351>.
- Wilson, J.P., Hess, D.E., & Hanna, W.W. (2000). Resistance to *Striga hermonthica* in wild accessions of the primary gene pool of *Pennisetum glaucum*. *Phytopathology*. Vol. 90, pp, 1169-1172.
- Wilson, J.P., Hess, D.E., Hanna, W.W., Kumar, K.A., & Gupta, S.C. 2004. *Pennisetum glaucum subsp. monodii* accessions with *Striga* resistance in West Africa. *Crop Prot.* Vol 23, pp, 865-870.
- Wojciechowski, K. (2013). Surface activity of saponin from *Quillaja* bark at the air/water and oil/water interfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 108:95–102.
- Wollgast J. & Anklam E., (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33: 423 - 447.
- Wollgast, J. & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33: 423 - 447.
- Xu, J. (2011). Biomolecules produced by mangrove-associated microbes. *Curr. Med. Chem.*, 18, 5224–5266.
- Yang, O., Li, J., Chen, X., Fu, X., Sun, S., & Wu, Q. (2021). Chalcone derivatives: Role in anticancer therapy. *Biomolecules*, 11, 894. <https://doi.org/10.3390/biom11060894>
- Yang, R., Li, P., Li, N., Zhang, Q., Bai, X., Wang, L., Xiao, Y., Sun, L., Yang, Q. & Yan, J. (2017). Xanthonés from the pericarp of *Garcinia mangostana*. *Molecules*, 22, 683.
- Youm, O., & Owusu, E.O. (1998). Assessment of yield loss due to the millet head miner, *Heliocheilus albipunctella* (Lepidoptera: Noctuidae) using a damage rating scale and regression analysis in Niger. *Int. J. Pest Manage.* Vol. 44 (2), pp, 119-121.

- Youm, O., Harris, K.M., & Nwan'ze, K.F. (1996). *Coniesta ignefusalis* (Hampson), the millet stem borer: a handbook of information. ICRISAT Center, Patancheru. Bulletin d'information n°46.
- Yuanita, E., Pranowo, H.D., Mustofa, M., Swasono, R.T., Syahri, J. & Jumina, J. (2019). Synthesis, characterization and molecular docking of chloro-substituted hydroxyxanthone derivatives. *Chem. J. Mold.*, 14, 68–76.
- Zamakshshari, N.H., Ee, G.C.L., Ismail, I.S., Ibrahim, Z. & Mah, S.H. (2019). Cytotoxic xanthenes isolated from *Calophyllum depressinervosum* and *Calophyllum buxifolium* with antioxidant and cytotoxic activities. *Food Chem. Toxicol.*, 133, 110800.
- Zeng, Y., Song, J., Zhang, M., Wang, H., Zhang, Y., & Suo, H. (2020). Comparison of *in vitro* and *in vivo* antioxidant activities of six flavonoids with similar structures. *Antioxidants*, 9, 732. <https://doi.org/10.3390/antiox9080732>
- Zenk MH. & Jueng, M., (2007). Evolution and status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*. Vol. 68: 2757- 2772.
- Zhang, X., Li, X., Sun, H., Jiang, Z., Tao, L., Gao, Y., Guo, Q. & You, Q. (2012). Synthesis and evaluation of novel aza-caged Garcinia xanthenes. *Org. Biomol. Chem.*, 10, 3288.
- Zhong, Y. & Shahidi, Fereidoon. (2015). Methods for the assessment of antioxidant activity in foods. *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*. Elsevier <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7.00012-9>
- Zhou, K., Yang, S., & Li, S. M. (2021). Naturally occurring prenylated chalcones from plants: Structural diversity, distribution, activities and biosynthesis. *Natural Product Reports*, 38, 2236–2260. <https://doi.org/10.1039/d0np00083c>

# **Annexes**

## Annexes

## Annexe 1 : Matériel et réactifs

Tableau I : Liste des produits chimiques et réactifs utilisés dans cette étude.

Réactif	Formule
ABTS <sup>+</sup> ou 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> S <sub>4</sub>
Acétate d'ammonium.	AcNH <sub>4</sub>
Acide borique.	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>
Acide chlorhydrique.	HCl
Acide gallique ou acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque.	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>
Acide sulfurique.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
BHT, hydroxytoluène butylé ou 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol.	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
Carbonate de sodium.	Na <sub>2</sub> CO
Carbonate de sodium.	Na <sub>2</sub> CO
Catéchine.	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>
Chlorure d'aluminium.	AlCl <sub>3</sub>
Chlorure de cuivre.	CuCl <sub>2</sub>
Citrate trisodique.	Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>
DPPH <sup>•</sup> ou 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl.	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub>
Eau ultra pure.	H <sub>2</sub> O
Éthanol.	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O
Ferrozine.	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub>
Ferric chloride.	FeCl <sub>3</sub>
Folin-Ciocalteu mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique.	H <sub>3</sub> PW <sub>12</sub> O <sub>40</sub> + H <sub>3</sub> PMO <sub>12</sub> O <sub>40</sub>
Hexane ou n-Hexane.	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>
Hydroxyde de sodium.	NaOH
Indicateur Tashiro : Rouge de méthyle 0.2% et bleu de méthylène 0.1%.	/
Méthanol.	CH <sub>3</sub> OH
Neocuproïne.	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>
Nitrite de sodium.	NaNO <sub>2</sub>
Oxyde de cuivre Cu(II).	CuO
Persulfate de potassium.	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>
Persulfate de potassium.	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>
Phénanthroline ou 1,10-phenanthroline.	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub>
Phosphate buffer.	Cl <sub>2</sub> H <sub>3</sub> K <sub>2</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>8</sub> P <sub>2</sub>
Potassium ferricyanide.	K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]
Solution de phénol.	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O
Solution ion ferreux.	Fe <sup>2+</sup>
Sulfate de cuivre.	CuSO <sub>4</sub>
Tri-chloro acetic acid (TCA).	C <sub>2</sub> HCl <sub>3</sub> O <sub>2</sub>
Vanilline ou méthoxy-4-hydroxybenzaldéhyde.	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>

Tableau II : Matériel utilisé au CRBt.

Nom du matériel	Marque / Type	Utilisation
Balance de précision	<b>RADWAG® AS 310.R2</b> , fabriquée en Pologne.	Faire la pesé de précision.
Tamis	<b>Fisher Scientific®</b> , fabriqué en France.	Tamiser la farine.
Sonificateur (ou sonicateur, appelé aussi homogénéiseur ultrasonique ou processeur à ultrasons)	<b>SONICS® Vibracell™ 75186</b> , fabriqué aux USA.	Extraction des métabolites secondaires.
Pompe à vide	<b>BUCHI® Vacuum Pump V-710</b> , fabriquée en Suisse.	Filterer les extraits.
Rotavapeur	Le bain marie : <b>BUCHI® Neating Bath B491</b> , fabriquée en Suisse.	Évaporer le(s) solvant(s) et l'eau.
	La pompe à vide : <b>BUCHI® Vacuum Pump V-700</b> , fabriquée en Suisse.	
	Système de réfrigération : <b>Fisher Scientific®</b> , fabriqué en France.	
Étuve	<b>MEMMERT® UNB 500</b> , fabriquée en Allemagne.	Incubation à température réglable. Séchage.
Appareil Kjeldahl	Unité de minéralisation : <b>FOSS® Tecator™ Digestor Auto 8</b> , fabriqué au Suède.	Détermination du taux de l'azote total.
	Unité de distillation : <b>BUCHI® Distillation Unit K-355</b> , fabriqué en Suisse.	
Appareil à système Soxhlet semi-automatique	<b>FOSS® Soxtec™ 2043</b> , conçu au Suède et assemblé en Chine.	Détermination du taux de la matière grasse.
Lecteur de microplaque	<b>PERKIN ELMER®, ENSPIRE</b> , fabriqué aux USA.	Lecture des microplaques à 96 puits à différentes longueurs d'ondes.
Montage Soxhlet	Chauffe-ballon 1000mL (275x220mm) avec régulation de température : <b>Fisher Scientific® BIBBY</b> , fabriqué en France.	Extraction de métabolites secondaires.
	Système de réfrigération : <b>Julabo® F32</b> , fabriqué en France.	
Micropipettes	<b>Eppendorf Research® plus</b> (1000µL). <b>Eppendorf Research® plus</b> (200µL).	Mesure de précision des réactifs.
Blender (Mixeur de laboratoire rotatif)	<b>WARINK® COMMERCIAL E8130</b> , fabriqué aux USA.	Broyer l'échantillon.
Four à moufle	<b>Nabertherm® L5/11</b> , fabriqué en Allemagne	Incinération.
Bain à ultrason	<b>ELMA® S70H Elmasonic</b> , Fabriqué en Allemagne.	Décoller l'échantillon des parois du ballon.
Bain à ultrason pour tubes Eppendorf	<b>Fisher Scientific® FB15046</b> , fabriqué en France.	Dissoudre l'extrait dans l'éthanol pour avoir la solution mère.

## Annexe 2 : Courbes d'étalonnage

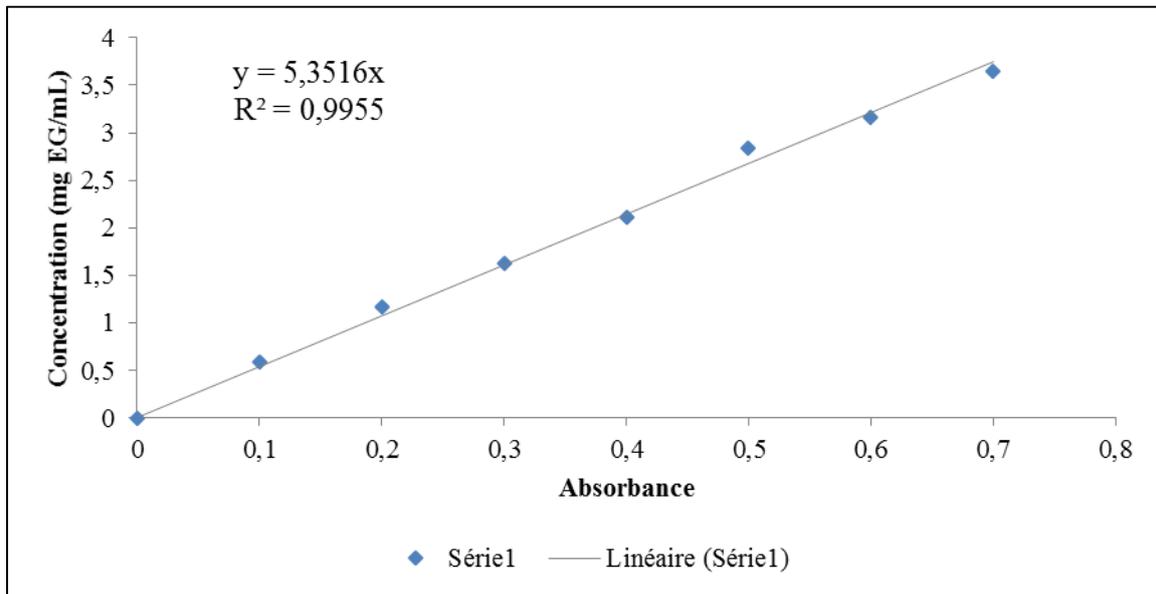


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de glucose pour le taux des sucres totaux.

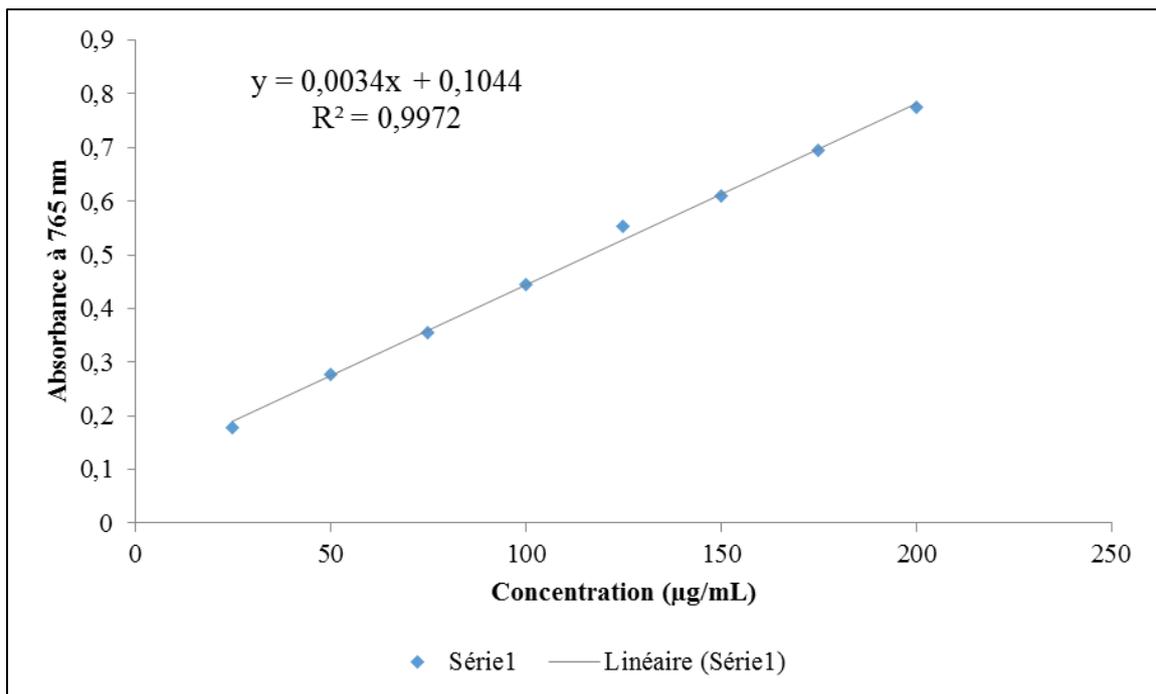
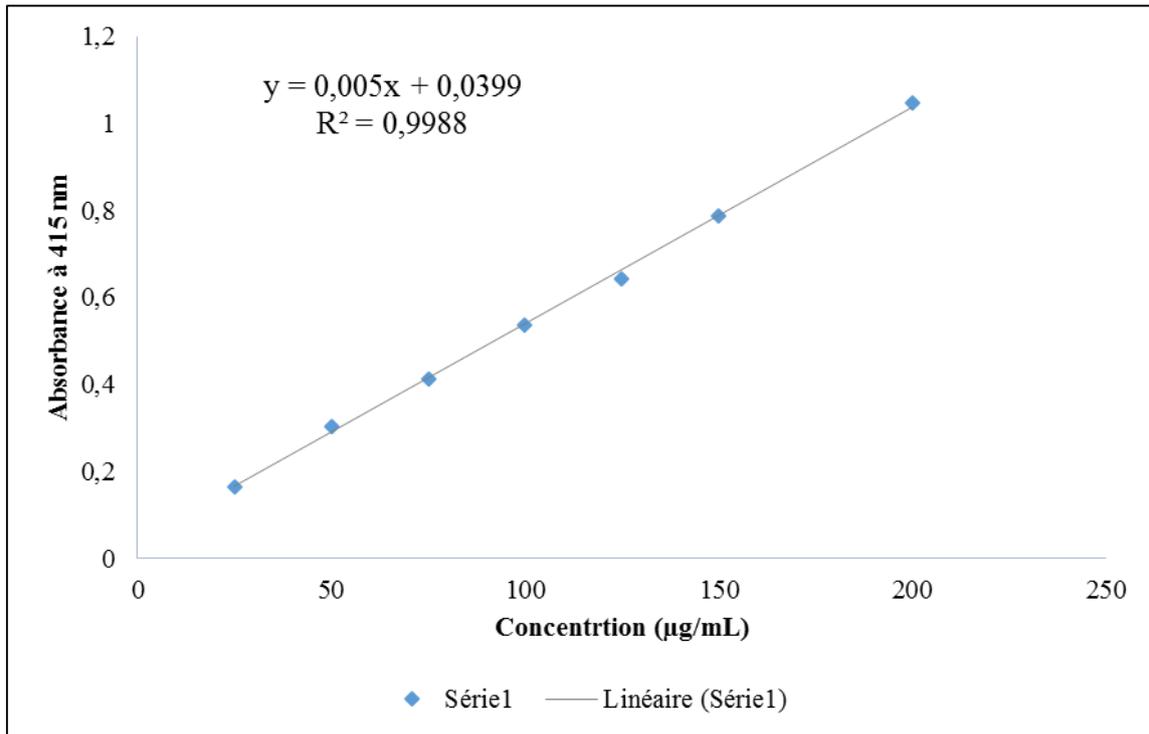
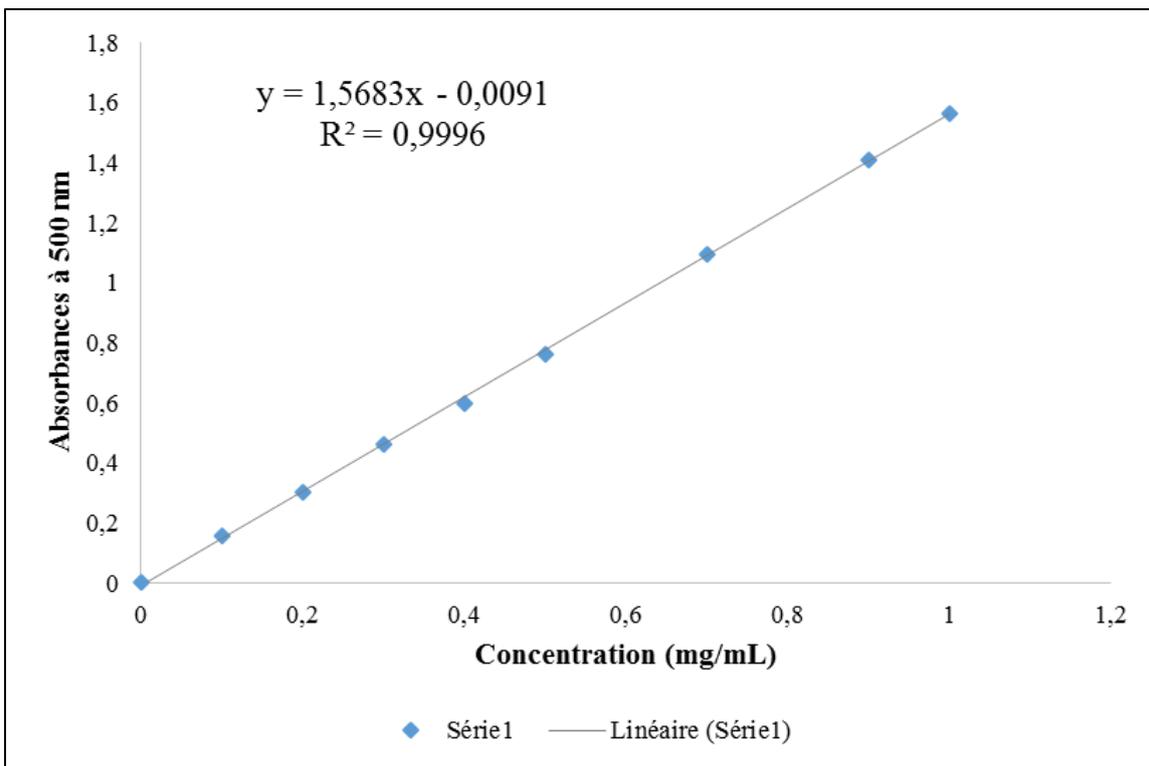


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour la concentration des polyphénols totaux.



**Figure 3 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour la concentration des flavonoïdes totaux.



**Figure 4 :** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour la concentration des tanins.

### Annexe 3 : Préparation des solutions

#### Préparation de la solution DPPH pour le test de piégeage du radical 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH<sup>•</sup>) :

Dissoudre 6mg de DPPH dans un volume de 100mL de méthanol, puis gardé à -20°C à l'abri de la lumière.

#### Préparation de la solution ABTS pour le test de piégeage de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS<sup>•+</sup>) :

S<sub>1</sub> : 19,2mg de l'ABTS auquel sont ajoutés 5mL de H<sub>2</sub>O nous donne la solution (S<sub>1</sub>),

S<sub>2</sub> : 3,3mg de persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) sont dilués dans 5mL de H<sub>2</sub>O nous donnent la solution (S<sub>2</sub>).

Les deux solutions (S<sub>1</sub>) et (S<sub>2</sub>) sont mélangées puis laissées agir à l'obscurité pendant 16 heures. Ainsi le radical ABTS<sup>•+</sup> est produit par l'oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium. Le mélange obtenu a été dilué avec le méthanol afin d'avoir une absorbance de  $0,7 \pm 0,02$  à 734nm.

#### Préparation des réactifs pour le test de chélation des ions ferreux (La ferrozine C<sub>20</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>)

S<sub>1</sub> : 4 mg (Fe<sup>+2</sup>) [0,2 Mm FeCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O] + 100mL (H<sub>2</sub>O).

S<sub>2</sub> : 0,5mL Ferrozinin + 9,5mL (H<sub>2</sub>O).

#### Préparation des réactifs pour le test de la capacité antioxydante par réduction de l'ion cuprique (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity ou CUPRAC) :

S<sub>1</sub> : Solution acétate d'ammonium (AcNH<sub>4</sub>) (transparente) : 1,927g d'acétate d'ammonium (AcNH<sub>4</sub>) dilué dans 25mL de H<sub>2</sub>O, PH=7.

S<sub>2</sub> : Solution de CuCl<sub>2</sub> (bleu) : 0,042625g de CuCl<sub>2</sub> sont dilués dans 25mL de H<sub>2</sub>O.

S<sub>3</sub> : Solution de neocuproïne : 0,039g de neocuproïne sont dilués dans 25mL de MeOH.

#### Préparation des réactifs pour le test phénanthroline :

**Phenanthroline (0.5%)** : 0.05g de 1,10-Phenanthroline sont dilués dans 10mL de MeOH.

**Ferric chloride FeCl<sub>3</sub> (0.2%)** : 0.02g de FeCl<sub>3</sub> sont dilués dans 10mL de H<sub>2</sub>O.

**Résumé:** Ce travail a été effectué au Centre de Recherche en Biotechnologies (CRBt) à Constantine. Il consisté à réaliser des extraits des graines de deux variétés de millet perlé (*Pennisetum glaucum*), une variété jaune V1 et une autre variété gris-verdâtre V2 cultivées dans la région d'Adrar (Algérie) durant la saison agricole 2020/2021. Les objectifs de la présente étude étaient de déterminer la composition physicochimique, doser les composés phénoliques et tester les activités biologiques de ces deux variétés et de comparer le rendement de trois méthodes d'extraction pour les graines de la variété jaune. La première méthode était avec le sonificateur en appliquant des ultrasons pendant 30 minutes à une amplitude 60% en utilisant l'éthanol 50/50 (v/v) (VIT1). La seconde méthode, identique à la première, seulement en appliquant un temps de 45 minutes (VIT2) et la troisième méthode en utilisant un montage Soxhlet avec du méthanol pur comme solvant (VISox). Pour la variété gris-verdâtre, nous avons adopté la première méthode d'extraction (V2T1). Les rendements des trois méthodes d'extraction en terme d'extrait brut étaient classé comme suite (VISox>VIT2>VIT1) alors que les rendements en terme de composés phénoliques étaient classé ainsi (VIT1>VISox>VIT2). Le dosage physicochimique a révélé une richesse en ces composés avec des variabilités entre les deux variétés en ce qui concernant la matière minérale, la matière grasse, les protéines totales et les sucres totaux, mais ils ont des taux égaux en termes de la matière sèche. Quant aux composés phénoliques, la variété jaune s'avère plus riche que la variété gris-verdâtre. Pour les tests des activités biologiques, ils étaient positifs pour la DPPH, ABTS, ferrozine et phénanthroline avec des variations de l'IC-50 entre les deux variétés, alors que les tests étaient négatifs pour FRAP et SNP.

**Mots clés:** Millet, *Pennisetum glaucum*, physicochimique, métabolites secondaires, activités biologiques.

**Abstract:** This work was carried out at the Biotechnology Research Center (CRBt) in Constantine. It consisted in making extracts from the seeds of two varieties of pearl millet (*Pennisetum glaucum*), a yellow variety V1 and another gray-greenish variety V2 grown in the Adrar region (Algeria) during the 2020/2021 agricultural season. The objectives of the present study were to determine the physicochemical composition, measure the phenolic compounds and test the biological activities of these two varieties and to compare the yield of three extraction methods for the seeds of the yellow variety. The first method was with the sonifier applying ultrasound for 30 minutes at 60 % amplitude using 50/50 (v/v) ethanol (VIT1). The second method, identical to the first, only by applying a time of 45 minutes (VIT2) and the third method using a Soxhlet assembly with pure methanol as solvent (VISox). For the greenish-gray variety, we adopted the first extraction method (V2T1). The yields of the three extraction methods in terms of crude extract were classified as follows (VISox>VIT2>VIT1) while the yields in terms of phenolic compounds were classified as follows (VIT1>VISox>VIT2). The physicochemical assay revealed a richness in these compounds with variability between the two varieties with regard to mineral matter, fat, total proteins and total sugars, but they have equal rates in terms of dry matter. As for phenolic compounds, the yellow variety turns out to be richer than the gray-greenish variety. For biological activity tests, they were positive for DPPH, ABTS, ferrozine and phenanthroline with variations in IC-50 between the two varieties, while the tests were negative for FRAP and SNP.

**Key words:** Millet, *Pennisetum glaucum*, physicochemical, secondary metabolites, biological activities.

**المخلص:** تم تنفيذ هذا العمل في مركز البحث في البيوتكنولوجيا (CRBt) بقسنطينة. ويتمثل في استخراج مستخلصات من بذور صنفين من الدخن (*Pennisetum glaucum*) صنف أصفر V1 وصنف آخر رمادي مخضر V2 زرعت خلال الموسم الزراعي 2021/2020 في منطقة أدرار (الجزائر). أهداف الدراسة تتمثل في تحديد التركيب الفيزيوكيميائي وقياس كمية المركبات الفينولية واختبار الأنشطة البيولوجية لهذين الصنفين ومقارنة حاصل ثلاث طرق استخلاص لبذور الصنف الأصفر. كانت الطريقة الأولى مع سونيفير بتطبيق الموجات فوق الصوتية لمدة 30 دقيقة بسعة 60٪ باستخدام الإيثانول 50/50 (حجم/حجم) (VIT1). الطريقة الثانية، مطابقة للطريقة الأولى، فقط من خلال تطبيق وقت مدته 45 دقيقة (VIT2) والطريقة الثالثة باستخدام Soxhlet مع الميثانول النقي (VISox). بالنسبة للصنف الرمادي المخضر، اعتمدنا طريقة الاستخراج الأولى (V2T1). إذ تبين تصنيف غلات طرق الاستخلاص الثلاث من حيث المستخلص الخام على النحو التالي (VISox> VIT2> VIT1) بينما نفت الغلة من حيث المركبات الفينولية على النحو التالي (VIT1> VISox> VIT2). وكشف الفحص الفيزيوكيميائي عن ثراء الحبوب بتلك المركبات مع التباين بين الصنفين فيما يتعلق بالمواد المعدنية والدهون والبروتينات الكلية والسكريات الكلية، لكن لديهم كميات متساوية من حيث المادة الجافة. أما بالنسبة للمركبات الفينولية، فقد تبين أن الصنف الأصفر أغنى من الصنف الرمادي المخضر. بالنسبة لاختبارات النشاط البيولوجي، فقد كانت إيجابية لـ DPPH و ABTS و ferrozine و phenanthroline مع وجود اختلافات في IC-50 بين الصنفين، بينما كانت الاختبارات سلبية لـ FRAP و SNP.

**الكلمات المفتاحية:** الدخن، *Pennisetum glaucum*، الفيزيوكيميائية، الأيضات الثانوية، الأنشطة البيولوجية.