

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES DE LA VIE, SANTE ET
ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

CENTER FOR RESEARCH AND
GRADUATE STUDIES IN LIFE,
HEALTH AND ENVIRONMENTAL
SCIENCES

RESEARCH AND DOCTORATE
TRAINING UNIT IN LIFE SCIENCES

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

LABORATOIRE DES SCIENCES ALIMENTAIRES ET METABOLISME

LABORATORY FOR FOOD SCIENCE AND METABOLISM

Effet d'une alimentation enrichie en poudre de graines crues, torréfiées ou de croquants de sésame (*Sesamum indicum*) sur la fonction de reproduction des rats mâles

Mémoire présenté comme requis partiel en vue de l'obtention du Diplôme de
Master en Biochimie

Option : Sciences des aliments et Nutrition

Par :

NANGUE WANDJI Laila Morelle

Matricule : 17G2486

Licencié ès-sciences

Sous la Codirection de :



Pr. DJUIKWO Ruth Viviane

Maitres de Conférences

Dr. BEBOY EDJENGUELE Sara

Chargé de Cours

ANNEE ACADEMIQUE 2023-2024

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES DE LA VIE, SANTE ET
ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

CENTER FOR RESEARCH AND
GRADUATE STUDIES IN LIFE, HEALTH
AND ENVIRONMENTAL SCIENCES

RESEARCH AND DOCTORATE TRAINING
UNIT IN LIFE SCIENCES

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

LABORATOIRE DES SCIENCES ALIMENTAIRE ET METABOLISME

LABORATORY FOR FOOD SCIENCES AND METABOLISM

Effet d'une l'alimentation enrichie en poudre de graines crues, torréfiées ou des croquants de sésame (*Sesamum indicum*) sur la fonction de reproduction des rats mâles

Mémoire présenté comme requis partiel en vue de l'obtention du Diplôme de Master en
Biochimie

Option : Sciences des Aliments et Nutrition

Par :

NANGUE WANDJI Laila Morelle

Matricule 17G2486

Licencié ès-sciences

Sous la Codirection de :

Pr. DJUIWO Ruth Viviane

Maitres de Conférences

Dr. BEBOY EDJENGUELE Sara

Chargé de Cours

ANNEE ACADEMIQUE 2023-2024

DEDICACE

A

MON DEFUNT FRERE

REMERCIEMENTS

La rédaction de ce mémoire ainsi que sa soutenance marque la fin d'une expérience à plusieurs volets. Je tiens donc à remercier :

Le Seigneur qui m'a donné la santé, la force et le courage de pouvoir mener à son terme ce travail.

- Mes superviseurs **Pr. DJUIKWO Ruth Viviane** et **Dr. BEBOY EDJENGUELE Sara** pour leur encadrement, leur disponibilité, leur courtoisie, leur rigueur du travail ainsi que leur soutien tout au long de mon initiation à la recherche. Vous m'avez considérée comme une fille, Je tiens à vous traduire toute ma gratitude.
- **Pr. MOUNDIPA FEWO PAUL**, Chef de Département de Biochimie et du Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie de l'Université de Yaoundé 1, pour m'avoir ouvert les portes de votre laboratoire.
- **Pr. FOKOU ELIE**, Chef du Laboratoire des Sciences Alimentaires et Métabolisme de l'Université de Yaoundé 1, pour m'avoir accueillie dans votre laboratoire.
- Toute l'équipe du Laboratoire de Sciences Alimentaires et Métabolisme ainsi que l'équipe du Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie de l'Université de Yaoundé 1 pour leur expertise
- **Mes aînés de laboratoire** : JIGNOUA Yannick, ENANG Brice, NJINGOU Ibrahim, NGOHOBBA Vigny, MBASSI Gilbert, TALLA Naccis, NOAH Guy, NOAH Karrington, KOUANDJOUA Didier. Pour leur disponibilité et assistance.
- **Mes camarades de promotion** : TCHNENDEM Quevint, CHARFADINE Yaya, MASSAH Jenny, KOULARAMBAYE Rodolphe, FOTSOP Doloresse, BEBANDA Mado, TOFAC Stella Pour leur assistance.
- **Mes parents** pour leur amour inconditionnel, leur encouragement et soutien sur tous les plans.
- **Mes frères** : WANDJI Durel, TCHAKOUNTE Serge, YANANG Fabrice pour soutien tant sur le plan moral que financier.
- **Mes sœurs** : Ernice, Kaila, Owen, Cassandra, Daniella, Roseline pour leur encouragement
- **Ma marraine** : **Mme TACHO Angel** pour son soutien tant sur le plan moral que financier
- **Mes tantes et oncles** : pour leur encouragement et soutien
- Mes amis : Naomie, Franky, Kevin, KEABOU Armand, KENNE Azer Pour l'encouragement.

TABLE DES MATIERES

DEDICACE	i
REMERCIEMENTS.....	ii
TABLE DES MATIERES	iii
LISTE DES FIGURES.....	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES PHOTOGRAPHIES	viii
LISTE DES ANNEXES.....	ix
LISTES DES ABBREVIATIONS.....	x
RESUME	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE	2
I.1. Présentation de l'appareil reproducteur mâle	3
I.1.1. Les gonades	3
I.1.2. Le Pénis	4
I.1.3. Les Glandes annexes.....	4
I.1.4 Les canaux excréteurs.....	5
I.2 Structure et fonctions du testicule.....	6
I.2.1 Structure.....	6
I.2.2. Fonctions testiculaires	7
I.3. Régulation de la fonction testiculaire	12
I.3.1. Régulation hormonale.....	12
I.3.2. Régulation locale	13
I.4. Quelques marqueurs biochimiques impliqués dans l'activité androgénique.....	13
I.5. Stress oxydant et activité antioxydante.....	14

I.6. Rapport fertilité et alimentation.....	15
I.7. Présentation du sésame	16
I.7.1. Dénomination et classification	17
I-7.2. Composition des graines de sésame	18
I.7.3. Implication de certains micronutriments dans le processus de la reproduction male.....	19
I.8. Utilisation du sésame	20
I.8.1. Utilisation dans le domaine alimentaire	20
I.8.2. Utilisation dans le domaine de la cosmétologie	22
I.8. 3. Utilisation dans le domaine pharmaceutique et médical	22
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	23
II.1- Matériel	24
II.1.1 Matériel végétal.....	24
II.1.2 Animaux d'expériences.....	26
II.2. Méthodes	26
II.2.1 Analyses proximales.....	26
II.2.2. Analyse des minéraux	30
II.2.3. Analyse des phytonutriments	32
II.2.4. Analyse des composés phénoliques	34
II.2.5. Effet d'une alimentation supplémentée avec diverses formes (crues, torréfiées, croquants) de graines de sésame sur quelques organes de l'appareil reproducteur des rats mâles.....	36
II.2.6. Effet d'une alimentation contenant les graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur les paramètres spermatiques.	38
II.2.7. Effet d'une alimentation supplémentée en graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur certains paramètres biochimiques et certains marqueurs du stress oxydants.....	40
II.2.7.1. Dosages des paramètres biochimiques	40
II.2.7.2. Dosage de quelques marqueurs du stress oxydatif dans l'homogénat testiculaire et épидидymaire	45
II.2.8. Analyse statistique.....	48

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	48
III.1. Résultats	49
III.1.1. Teneurs en macronutriments des différentes formes de consommations des graines de Sésame	49
III.1.2. Teneurs en minéraux des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame	49
III.1.3. Teneur en phytonutriments et en composés phénoliques des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame.	50
III.1.4. Impacte de l'alimentation sur l'évolution pondéral et la masse relative des organes	51
III.1.5. Impacte de l'alimentation sur certains paramètres des spermatozoïdes	53
III.1.6. Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur les paramètres biochimiques	54
III.1.6.4. Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur le taux de protéines totales testiculaires et épидидymaire	57
III.1.7. Impacte des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur statut antioxydant	59
III-2. DISCUSSIONS.....	65
CHAPITRE IV : CONCLUSION ET PERSPECTIVES	70
CONCLUSION	71
PERSPECTIVES	71
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	72
ANNEXES	a

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Appareil reproducteur mâle	3
Figure 2: Epididyme et testicule du rat Wistar	6
Figure 3: Histologie des testicules	7
Figure 4: Biosynthèse des stéroïdes sexuels chez l'homme	9
Figure 5: Coupe transversale d'un tube séminifère	10
Figure 6: Déroulement de la spermatogenèse dans la paroi d'un tube séminifère	12
Figure 7: Régulation de la fonction reproductrice par les différentes hormones gonadiques et gonadotropes	13
Figure 8: Diagramme synoptique d'obtention des échantillons	25
Figure 9: prise de consommation alimentaire	51
Figure 10: Evolution pondéral des rats de différents groupes	52
Figure 11: Numération des spermatozoïdes.....	53
Figure 12: Viabilité des spermatozoïdes.....	54
Figure 13: Effet des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur le taux de cholestérol sérique (A) et sur le taux de cholestérol testiculaire (B).....	55
Figure 14: Effet des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur le taux de testostérone	56
Figure 15: Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur le taux de phosphatase acide prostatique	57
Figure 16: Effet des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur le taux de protéines testiculaire (A) et le taux de protéines épидидymaire (B)	58
Figure 17: Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur le taux de fructose vésiculaire.	59
Figure 18: Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur l'activité de la catalase testiculaire (A) et épидидymaire (B).	61
Figure 19: Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur l'activité de la SOD testiculaire (A) et épидидymaire (B)	61
Figure 20: Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur l'activité du glutathion réduit testiculaire (A) et épидидymaire (B)	63
Figure 21: Effet des graines crues, torréfiées et croquants sur le taux de MDA	64

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Différentes appellations du sésame dans le monde.....	18
Tableau II: Classification systématique de la plante	18
Tableau III: Composition nutritionnelle des graines de sésame	19
Tableau IV: Protocole d'étalonnage des composés phénoliques	35
Tableau V : Protocole d'étalonnage des flavonoïdes	36
Tableau VI: Composition de l'alimentation standard	37
Tableau VII: Protocole de dosage du cholestérol.....	41
Tableau VIII: Protocole d'étalonnage pour le dosage de la testostérone.....	42
Tableau IX: Protocole de dosage de la phosphatase acide	43
Tableau X: Protocole de dosage des protéines totales testiculaires	44
Tableau XI: Protocole de dosage du fructose vésiculaire	45
Tableau XII: Protocole d'étalonnage pour le dosage de l'activité de la catalase.....	46
Tableau XIII: Teneurs moyennes en macronutriments des graines crues, torréfiées et croquants de sésame exprimées en g/100g de matière sèche.	49
Tableau XIV: Teneur moyenne en minéraux : Zinc, Fer, Magnésium, Calcium (mg/100g M)	49
Tableau XV: les teneurs moyennes en phytonutriments (phytates, oxalates, tannins et saponines)	50
Tableau XVI : Biodisponibilité théorique de certains minéraux.....	50
Tableau XVII: Teneurs moyennes en composés phénoliques totaux	51
Tableau XVIII: Poids relatifs des organes	52

LISTE DES PHOTOGRAPHIES

Photographie 1: Illustration de <i>Sésamun indicum</i>	17
Photographie 2: Graines de sésame	17
Photographie 3: Graines de sésame torréfiées	21
Photographie 4: Croquants de sésame	211

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1: clairance éthique	a
Annexe 2: Matériels	b
Annexe 3: préparation des solutions	b
Annexe 4: Courbe d'étalonnage du sulfate d'ammonium.....	e
Annexe 5: Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.....	e
Annexe 6: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes	f
Annexe 7: Courbe d'étalonnage de la testostérone	f
Annexe 8: Courbe d'étalonnage protéines	g
Annexe 9: Courbe d'étalonnage de la catalase.....	g

LISTES DES ABBREVIATIONS

ABP	<i>Androgen Binding protein</i>
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMH	Hormone antimüllérienne
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
AR	Androgène
AOAC	<i>Association of Officinal Analytical Chemists</i>
DTH	Dihydrotestostérone
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
FSH	Hormone Folliculostimulante
GnRH	<i>Gonadotrophine releasing hormone</i>
GP _x	Glutathion peroxydase
LH	Hormone lutéinisante
MDA	Malondialdehyde
MS	Matière sèche
PAC	Phosphatase acide
SAB	Serum albumine bovine
SOD	Superoxide dismutase
StAR	<i>Steroidogenesis activator proteine</i>

RESUME

Une alimentation et nutrition adéquates sont bénéfiques pour la santé de l'homme. Ainsi les aliments apportés via l'alimentation affectent le potentiel reproductif en général et présentent un effet bénéfique pour la fonction de reproduction masculine. C'est dans cette optique que l'étude a été entreprise pour évaluer l'effet de la consommation d'une alimentation enrichie en poudre de graines crues, torréfiées ou de croquants de sésame sur la fonction de reproduction des rats mâles. Pour y parvenir les graines de sésame ont été triées, lavées, séchées (45°C /24H /étuve). Ensuite le partitionnement en 3 lots a été fait, le 1^{er} lot de 250g constituait les graines crues, le 2nd lot de 250g a subi une torréfaction légère (69,5°C/ 5min) pour constituer les graines torréfiées et le 3^{ème} lot de 500g a été torréfié (58°C / 3min), par la suite les graines ont été homogénéisées dans du sucre (180g) préalablement fondu. Ainsi le mélange formé a été façonné et refroidir pour constituer les croquants de sésame. Les échantillons ainsi formés, la composition nutritionnelle et en phytonutriments de ces derniers ont été déterminées. Par la suite, 20 rats mâles de 8 semaines ont été répartis en 4 groupes de 5 rats chacun. Le groupe contrôle recevait un régime standard, les groupes expérimentaux recevaient pendant 45 jours respectivement un régime standard enrichi avec 30% de poudre de graines crues, soit de graines torréfiées ou des croquants de sésame. Au terme de l'expérimentation, les rats ont été sacrifiés sous anesthésie par décapitation. Le nombre de spermatozoïdes, la viabilité, le taux de cholestérol sérique et testiculaire, la testostérone sérique, le fructose vésiculaire, la phosphatase acide prostatique, les protéines testiculaires et épидидymaires ainsi que l'activité de quelques enzymes et quelques marqueurs du stress oxydatif dans l'homogénat testiculaire et épидидymaire ont été déterminés. Les résultats ont montré que les graines torréfiées ont des teneurs plus élevées en lipides et en protéines soit 63,65±2,13g/100g et 23,25±0,03 g/100g de matière sèche respectivement. Les graines crues ont une teneur plus importante en phytonutriments. Ainsi le régime alimentaire des rats enrichi à 30% de poudre des graines crues, torréfiées ou de croquants de sésame a amélioré de manière significative ($P<0,05$) la mobilité et la viabilité des spermatozoïdes. Le groupe recevant les 30% des graines crues a présenté une augmentation significative ($P<0,05$) du taux de testostérone sérique et de l'activité de la phosphatase acide prostatique comparé au groupe contrôle. De plus, les groupes recevant 30% des graines crues et torréfiées ont présenté une augmentation significative ($P<0,05$) de l'activité de la catalase épидидymaire et le taux de superoxyde dismutase testiculaire et épидидymaire comparé au groupe contrôle. Les groupes expérimentaux ont présenté une baisse significative ($P<0,05$) du taux de malondialdéhyde. En conclusion, les graines crues, torréfiées et les croquants de sésame améliorent les paramètres spermatiques des rats mâles.

Mots clés : sésame, crues, torréfiées, croquants, fonction de reproduction, rats mâles.

ABSTRACT

Adequate food and nutrition are beneficial for human health. Thus, the functional foods provided through diet affect the reproductive potential in general and present a beneficial effect on male reproductive function. It is in this context that the study was undertaken to evaluate the effect of consuming a diet enriched with powder from raw, roasted, or crunchy sesame seeds on the reproductive function of male rats. To achieve this, the sesame seeds were sorted, washed, and dried (45°C/ 24 hours in an oven). Then, they were divided into 3 lots: the first lot of 250g consisted of raw seeds, the second lot of 250g underwent light roasting (69.5°C for 5 minutes) to constitute the roasted seeds, and the third lot of 500g was roasted (58°C for 3 minutes). Subsequently, the seeds were homogenized in melted sugar (180g) and then shaped and cooled to form sesame crunchy. The samples thus formed, their nutritional composition and phytonutrient content were determined. Afterwards, 20 male rats, each 8 weeks old, were sorted into 4 groups, of 5 rats each. The control group received a standard diet, while the experimental groups received, for 45 days, a standard diet enriched with 30% of powder from raw seeds, roasted seeds, or sesame crunchy, respectively. At the end of the experiment, the rats were sacrificed under anesthesia by decapitation. The number of sperm, viability, serum and testicular cholesterol levels, serum testosterone, vesicular fructose, prostatic acid phosphatase, testicular and epididymal proteins, as well as the activity of some enzymes and markers of oxidative stress in the testicular and epididymal homogenate were determined. The results showed that roasted seeds had higher lipid and protein contents, specifically $63.65 \pm 2.13\text{g}/100\text{g}$ and $23.25 \pm 0.03\text{g}/100\text{g}$ of dry matter, respectively. Raw seeds had a higher content of phytonutrients. Thus, the diet of rats enriched with 30% powder from raw, roasted, or crunchy sesame seeds significantly improved ($P < 0.05$) the mobility and viability of sperm. The group receiving 30% raw seeds showed a significant increase ($P < 0.05$) in serum testosterone levels and prostatic acid phosphatase activity compared to the control group. Additionally, the groups receiving 30% raw and roasted seeds showed a significant increase ($P < 0.05$) in epididymal catalase activity and testicular and epididymal superoxide dismutase levels compared to the control group. The experimental groups showed a significant decrease ($P < 0.05$) in malondialdehyde levels. In conclusion, raw, roasted, and crunchy sesame seeds improve the sperm parameters of male rats.

Keywords: sesame, raw, roasted, crunchy, reproductive function, male rats.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les organismes vivants se caractérisent de manière fondamentale par leur capacité à se reproduire et à assurer la continuité de la vie. La perpétuation de l'espèce et le renouvellement des générations successives sont directement conditionnés par l'efficacité de la fonction de reproduction au niveau de chaque individu, témoignant ainsi de leur fertilité (**Sabra, 2009**). Ainsi la fertilité est la capacité pour un couple de procréer. Cependant, il y a de plus en plus de rapports faisant état d'une baisse de la fertilité masculine (**Mona et Almujoydil, 2023**). L'infertilité masculine peut être causée par de nombreux facteurs parmi lesquels : les anomalies génétiques, les troubles hormonaux stéroïdiens, le dysfonctionnement de la spermatogénèse, l'hypogonadisme, les facteurs environnementaux. En effet l'homme a recourt à la médecine moderne pour améliorer la fertilité, impliquant les traitements médicamenteux. Bien que ce mode de traitement améliore les conditions de vie de l'homme il présente des contraintes tels que les effets indésirables et un coût élevé (**Kumar et al., 2012**).

Parallèlement à l'avancement des traitements modernes, la recherche des traitements alternatifs pour l'amélioration de la fonction de reproduction qui constitue l'ensemble des fonctions assurant la pérennité de l'espèce est portée sur l'alimentation et la phytothérapie (**Manijeh et al., 2021**). Ainsi plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'utilisation d'aliments fonctionnels (aliments) qui sont considérés comme un facteur dans l'amélioration de la fertilité masculine (**Azita et al., 2021**). « *Sesamum indicum* » de son nom commun « **Sésame** » est une plante de la famille des « *pédaliaceae* » (**Mihoub et Zeghad, 2021**). Principalement cultivée pour ses graines dans les régions tropicales et subtropicales d'Asie, d'Afrique et d'Amérique du sud, ces graines sont l'une des sources alimentaires les plus riches en métabolites secondaires tels que les composés phénoliques regroupant principalement les lignanes, flavonoïdes, aux propriétés antioxydantes ; les alcaloïdes et les caroténoïdes. Elles possèdent des vitamines et sels minéraux tels que le phosphore, le calcium, magnésium, le fer, le zinc. En outre, la plupart des plantes riches en antioxydants ont un effet positif sur la performance de reproduction mâle (**Ashamu et al., 2010**).

Des études menées antérieurement sur le sésame ont permis de montrer que l'extrait éthanolique du sésame grâce à ses effets antioxydants améliore la fertilité en stimulant l'augmentation du taux de testostérone (**Ashamu et al., 2010**). De même, l'étude faite par **Shittu et al. (2007)** a démontré que la consommation des feuilles de sésame améliore et augmente la réserve de spermatocytes épидидymaire chez le rat *Sprague Dawley* mâle adulte. En outre, les travaux de **Mahabadi et al. (2013)** en Iran ont montré que la prise d'un régime alimentaire contenant les graines de sésame améliore les paramètres testiculaires, la production de sperme chez les rats mâles. En effet

la consommation des graines de sésame sous les formes torréfiées et des croquants est prononcée au Cameroun, il est donc important de voir si après traitements technologiques ces graines conserveront la même activité. C'est ainsi que notre présente étude a été initiée afin d'évaluer l'impact des différentes formes de consommation locale de ces graines (crues, torréfiées et croquants) sur certains paramètres androgéniques de la fonction de reproduction (cholestérol, testostérone, phosphatase acide prostatique, protéines testiculaire, fructose vésiculaire) des rats mâles, qui à notre connaissance n'a encore fait l'objet d'aucune étude.

HYPOTHESE DE RECHERCHE

La consommation des formes transformées des graines de sésame améliore la fonction de reproduction mâle.

OBJECTIF GENERALE

Evaluer l'effet d'une alimentation enrichie en poudre de graines crues, torréfiées ou de croquants de sésame sur la fonction endocrine et exocrine de reproduction des rats mâles.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

- 1) Déterminer la composition nutritionnelle et en phytonutriments des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame.
- 2) Déterminer l'effet de la consommation des poudres de graines crues, torréfiées ou des croquants de sésame sur l'activité androgénique (cholestérol, testostérone, phosphatase acide, protéines, fructose) chez les rats mâles.
- 3) Déterminer l'effet de la consommation des poudres de graines crues, torréfiées ou de croquants de sésame sur quelques marqueurs du stress oxydant dans l'homogénat testiculaire et épидидymaire (catalase, superoxyde dismutase, glutathion, Malondialdehyde) chez les rats mâles.

CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE

I.1. Présentation de l'appareil reproducteur mâle

L'appareil reproducteur de l'homme, est un ensemble de glandes et canaux qui permettent d'aboutir à l'éjaculation du sperme. Il est constitué des organes qui facilitent la reproduction. Cet appareil a pour rôle la production des gamètes mâles et leur transport vers les voies génitales femelles (**Mohanty et Singht, 2017**). Il est constitué des gonades, des voies spermatiques, des glandes annexes et du pénis (figure 1). Les gonades étant constitués de deux testicules (gauche et droit), les glandes annexes sont constituées de deux vésicules séminales, une prostate et une glande bulbo-urétrale ou glande de Cowper qui produisent l'essentiel du plasma séminal. L'organe copulateur est appelé pénis ou verge, c'est l'un des organes génitaux externe de l'homme.

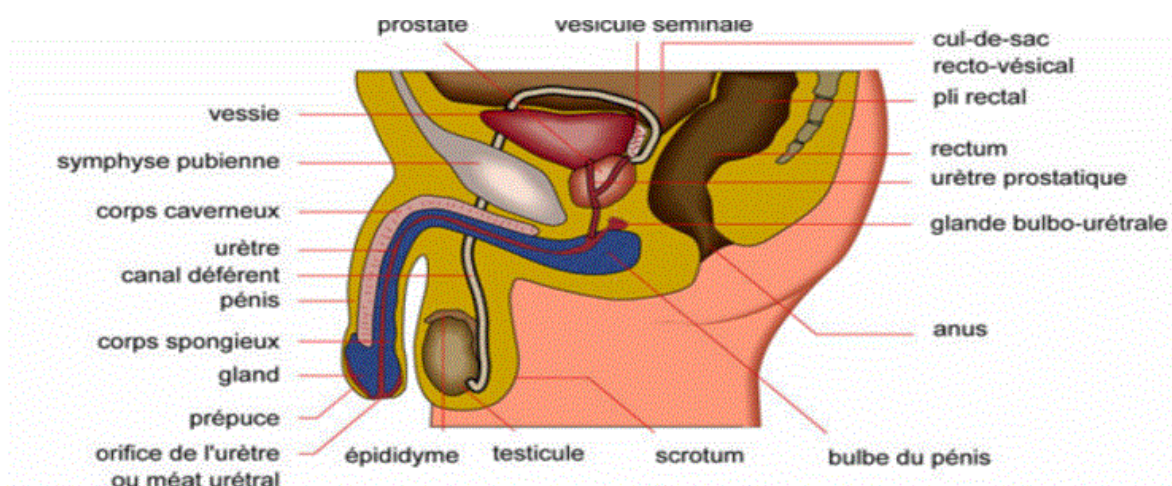


Figure 1: Appareil reproducteur mâle (Samake, 2007)

I.1.1. Les gonades

Les testicules sont situés en dehors de la cavité abdominale, en position sous inguinale. Ils sont divisés en plusieurs centaines de lobules à l'intérieur desquels les tubes séminifères sont pelotonnés. Ces tubes sont constitués d'une lame basale et d'un épithélium séminal (**Bouazza, 2013**). Les testicules sont dotés d'une double fonction à savoir :

- Une fonction exocrine caractérisée par la production des spermatozoïdes, cette fonction est assurée par les tubes séminifères.

- Une fonction endocrine caractérisée par la sécrétion de diverses hormones stéroïdiennes dont la principale est la testostérone. Cette fonction est assurée par les cellules de Leydig (**Samake, 2007**).

I.1.2. Le Pénis

Ce dernier est formé de l'urètre pénien constituant l'axe central des corps érectiles (corps caverneux et corps spongieux) qui lui donnent la rigidité lors de l'érection (**Brugnon, 2009**), des muscles ischiocaverneux et des formations érectiles (corps spongieux et caverneux) qui se dilatent sous l'afflux du sang au moment de l'érection. Cet organe est impliqué dans l'acte sexuel (**Brugnon, 2009**).

I.1.3. Les Glandes annexes

Il existe 3 glandes annexes à savoir les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales. Les sécrétions de ces glandes participent à la formation du plasma séminale.

I.1.3.1 Les Vésicules séminales

Glandes en forme de petits sacs débouchant à la prostate, les vésicules séminales sont des organes à parois, bosselés, très irrégulières. Elle est constituée d'un ou de plusieurs tubes fortement pelotonnés (**Samake, 2007**). Elles sécrètent un liquide visqueux jaune contenant des substances telle que le fructose qui est la principale source d'énergie des spermatozoïdes. Ce fluide constitue environ 70% de l'éjaculat humain. Sa sécrétion joue un rôle important dans l'optimisation des conditions pour la viabilité, la motilité, la survie et le transport des spermatozoïdes (**Mahabadi et al., 2016**).

I.1.3.2 La Prostate

La prostate est une glande exocrine clé dans la physiologie sexuelle de mammifères mâles. Sa localisation dans l'appareil reproducteur influence plusieurs fonctions vitales comme celles liées à la miction séminale, émission et éjaculation (**Mahabadi et al., 2016**). Elle est majoritairement constituée de tissus glandulaires tubulo-alvéolaire et de fibres musculaires lisses réparties en quatre zones entourant l'urètre dans son trajet vertical depuis le col vésical jusqu'au sphincter strié. Cette dernière dérive du sinus urogénital et est responsable d'une sécrétion acide riche en zinc, magnésium, acide citrique, et phosphatase acide. Cette sécrétion possède des propriétés antibactériennes et antioxydante (**Schlosser et al., 2007**). La phosphatase acide produite est la protéine la plus abondante du fluide prostatique et représente 25% des protéines totales ainsi elle participe à la liquéfaction du sperme dans le tractus utérin (**Benalia, 2016**).

I.1.3.3 Les Glandes bulbo-urétrales ou glandes de Cowper

Ces glandes de la taille d'un pois sont présentes en dessous de la prostate. Ces glandes se développent à partir de l'urètre membraneux (**Brugnon, 2009**). Elles ont pour fonction la sécrétion d'un fluide lubrifiant et épais précédant l'éjaculation dans l'urètre spongieux afin de neutraliser les traces d'acides uriques présentes dans le tractus urogénital suite aux mictions urinaires précédentes (**Chughtai et al., 2005**).

I.1.4 Les canaux excréteurs

Il s'agit d'un ensemble de voies ou de conduits permettant d'assurer la protection des spermatozoïdes, leur capacitation (acquisition du pouvoir fécondant) ainsi que leur acheminement vers les voies génitales femelles. Ils contribuent également dans la composition de l'éjaculat. (**Samake, 2007**).

I.1.4.1 L'épididyme

L'épididyme est un tubule simple, pelotonné sur lui-même, reliant les canaux efférents, issus des testicules, aux canaux déférents, il mesure 5cm de longueur et 1,5 cm de largeur et constitue l'élément principal du système excréteur mâle (**Brugnon, 2009**). Sa présence et son bon fonctionnement sont indispensables à l'acquisition du pouvoir fécondant du spermatozoïde. C'est un organe allongé, plaqué le long du testicule, composé de trois parties : la tête, le corps et la queue. Il assure le stockage, le transport vers les organes éjaculateurs et la maturation des spermatozoïdes (**Bouazza, 2013**). Cet organe androgéno-dépendant et thermo-dépendant concentre le sperme et permet aux spermatozoïdes de condenser leur chromatine, d'acquérir leur mobilité ainsi que le pouvoir fécondant. En effet, à la sortie du testicule, les spermatozoïdes sont complètement formés et morphologiquement immatures et n'ont aucune habilité à se mouvoir ou encore de reconnaître un ovule. Lors du passage dans l'épididyme il y'a remodelage des protéines de surfaces au niveau la tête du spermatozoïde et modification de la composition lipidique de la membrane plasmique de celui-ci (**Sullivan et Mieusset, 2016**). L'épididyme sert enfin de réservoir spermatique, car sa forme, légèrement gonflée au niveau distal, permet de concentrer un maximum de spermatozoïdes au même endroit.

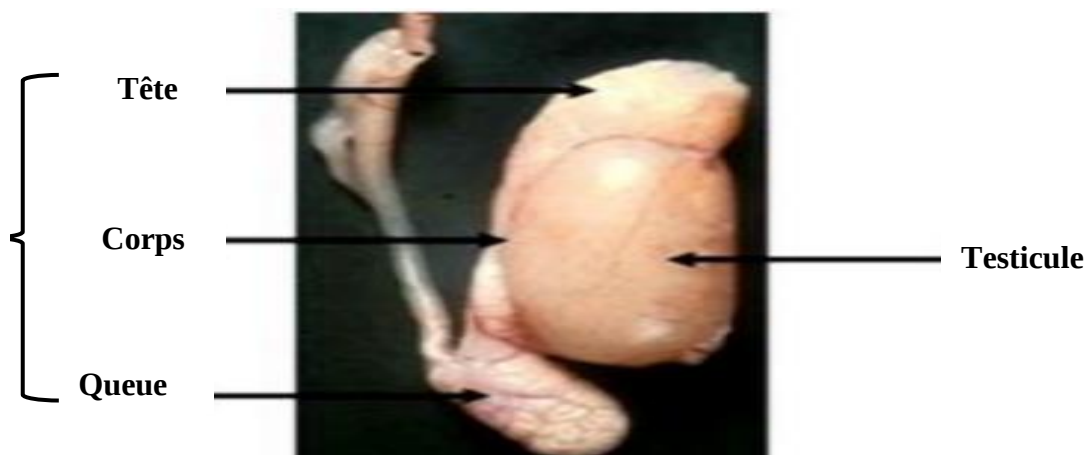


Figure 2: Epididyme et testicule du rat Wistar (Bouazza et Meddah, 2007)

I.1.4.2 Les Canaux déférents

Ce sont des prolongements de l'épididyme qui aboutissent à la prostate par son ampoule. Ils font directement suite au canal épидидymaire : c'est un élément du cordon spermatique et il mesure environ 40 cm de long pour un diamètre de 1 à 2 mm partant de la tête de l'épididyme à la queue. Ce canal épидидymaire traverse le canal inguinal et la fosse iliaque, puis recourbe vers le bas fond vésical ou il continue par le canal éjaculateur. Il est parcouru d'ondes péristaltiques qui assurent la progression des sécrétions testiculo-épидидymaire. Quant à l'ampoule déférente, elle apparait comme un réservoir à l'intérieur duquel s'accumule le sperme dans l'intervalle des éjaculations. (Samake, 2007).

I.1.4.3 Les Canaux éjaculateurs

Prolongement de 2cm de long sur 1mm de diamètre, ils s'étendent du point d'aboutement de la vésicule séminale dans le canal déférent à l'urètre prostatique. Ce sont de simples conduits vecteurs. (Samake, 2007).

I.1.4.4 L'urètre

L'urètre est la portion terminale des voies génitales de l'homme. Il se divise en 3 parties : la partie prostatique, la partie intermédiaire ou membranacée et la partie pénienne qui passe dans le pénis et s'ouvre sur l'extérieur par le méat urétral. Il permet le transport de l'urine et du sperme

I.2 Structure et fonctions du testicule

I.2.1 Structure

Les testicules sont de forme ovoïde, ils sont localisés dans le scrotum, de part et d'autre du pénis. La descente des testicules dans cet environnement moins chaud (32°C), un processus stimulé

par la testostérone sécrétée par les testicules eux même, est achevée la 34^{ème} semaine embryonnaire. Ces derniers sont formés d'un grand nombre de tubes séminifères (siège de la spermatogenèse), entouré d'une capsule conjonctive, l'albuginée. L'albuginée s'épaissit et s'enfonce en profondeur pour constituer le corps d'Highmore, perforé par les vaisseaux et les canaux qui constituent le *rete testis* (Benalia, 2016). L'espace entre le corps d'Highmore et l'albuginée est occupé par les cloisons qui délimitent les lobules testiculaires contenant les tubes séminifères et les tissus interstitiels. Le réseau en forme de labyrinthe du *rete testis* se poursuit par les canaux efférents qui assurent la jonction avec le canal épидидymaire (Brugnon, 2009).

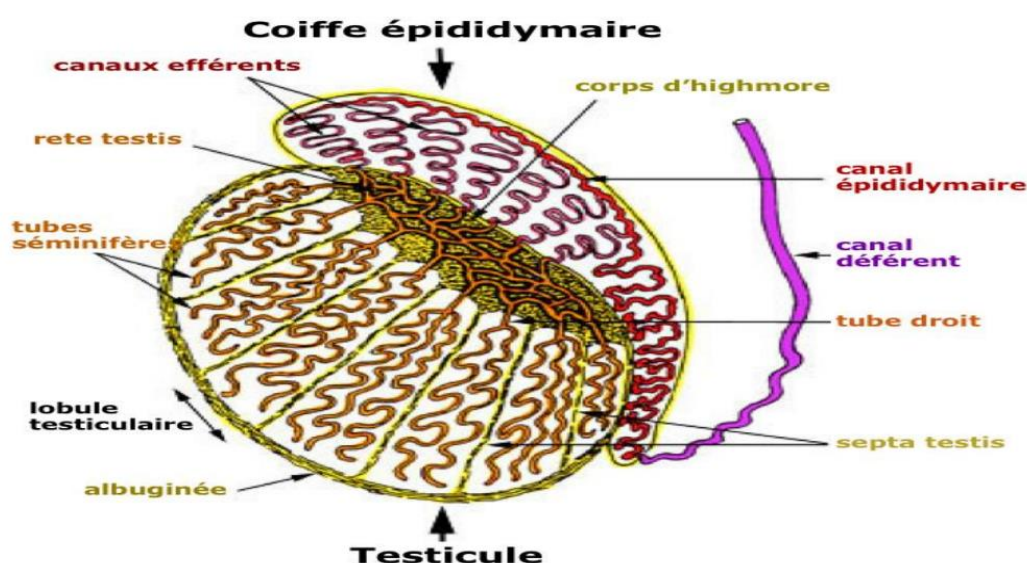


Figure 3: Histologie des testicules (Mumbere *et al.*, 2021)

I.2.2. Fonctions testiculaires

I.2.2.1 Fonction endocrine

La fonction endocrine du testicule repose sur la production des androgènes dont la principale est la testostérone.

A. Espace interstitiel

Ce compartiment représente environ 12 à 15% du volume testiculaire chez l'homme et chez les animaux de laboratoires 2,6% (Nieschlag *et al.*, 2010). Chez le rat, il y a environ 30 tubules, repliés sur eux-mêmes et séparés par une cloison conjonctive. Ils forment environ 12 m de tubules par gramme de testicule (Creasy et Chapin, 2013). Les tubes séminifères dans lesquels se déroule la spermatogenèse sont séparés par un tissu conjonctif dénommé espace interstitiel. L'espace interstitiel contient plusieurs types de cellules et composants que sont : les cellules de Leydig ou cellules interstitielles qui occupent 10 à 20% du volume testiculaire total, des fibroblastes et les cellules de la

lignée immunitaire tels que les macrophages, les lymphocytes, les leucocytes, les cellules dendritiques, les monocytes et les mastocytes, vaisseaux sanguins et lymphatiques, nerfs (**Nieschlag et al., 2010**).

B. Cellule de Leydig

Ces cellules ont été décrites pour la première fois en 1850 par Franz Leydig. Elles produisent et sécrètent la plus importante des hormones sexuelles masculines, la testostérone (**Nieschlag et al., 2010**). Les cellules de Leydig sont les cellules polyédriques groupées par petits amas dans le tissu conjonctif lâche entourant les tubes séminifères à l'intérieur des lobules, elles sont en rapport avec de nombreux capillaires sanguins dans lesquels elles déversent leur produit. Elles synthétisent et libèrent des androgènes dès la vie embryonnaire (**Bouazza, 2013**). Les cellules de Leydig sont les cellules majoritaires de l'interstitium chez le rat. Elles représentent moins de 5% des cellules du testicule. Elles sécrètent des androgènes essentiellement sous forme de testostérone, de Dihydrotestostérone (DHT) ainsi que des œstrogènes. L'activité de ces cellules est sous le contrôle de l'hormone lutéinisante (LH) antéhypophysaire (**Haider, 2004**).

C. Biosynthèse de la testostérone

La testostérone étant une hormone stéroïdienne sa synthèse se fait à partir du cholestérol (C27) qui est le précurseur des androgènes. Les cellules de Leydig peuvent assurer la synthèse du cholestérol à partir de l'acétate mais elles utilisent surtout des lipoprotéines circulant HDL et LDL. Le cholestérol est transporté vers les mitochondries par un mécanisme dépendant de la LH régulé par une protéine de transfert dite protéine activatrice de la stéroïdogénèse, *steroidogenesis activator protein* (StAR). Ce transfert intra-mitochondrial du cholestérol est l'étape limitante de la stéroïdogénèse. Dans la mitochondrie, la biosynthèse de la testostérone débute par la conversion du cholestérol (C27) en prégnénolone (C21) (**Tostain et al., 2004**). A partir de la prégnénolone, deux voies sont possibles avant d'aboutir à la testostérone. S'agissant de la voie delta 4 et de la voie delta 5 suivant que les composés intermédiaires sont les 3-céto, Δ^4 stéroïdes ou des 3-hydroxy, Δ^5 stéroïdes.

- La voie Δ^5 est la voie préférentielle dans les testicules qui fait intervenir en premier P450_{C17} codé par le gène CYP17. Le premier composé intermédiaire est la 17 α -hydroxy prégnénolone (C21). Le clivage de la chaîne latérale fait apparaître le premier stéroïde C19, la déhydroépiandrosterone ou DHEA. L'action du complexe 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase/ Δ^5 - Δ^4 -isomérase (3 β HSD) la transforme en Δ^4 -androstènedione, Puis la 17-

β -hydroxystéroïde déshydrogénase (17β HSD) réduit le groupe cétonique 17 de la $\Delta 4$ -androstènedione en OH pour former la testostérone.

- La voie $\Delta 4$ est la voie accessoire qui fait intervenir en premier le complexe 3β -hydroxystéroïde déshydrogénase $\Delta 5$ - $\Delta 4$ -isomérase pour former la progestérone (C21) qui est hydroxylée en 17α -hydroxy progestérone. Puis clivée par la P450C17 pour donner $\Delta 4$ -androstènedione.

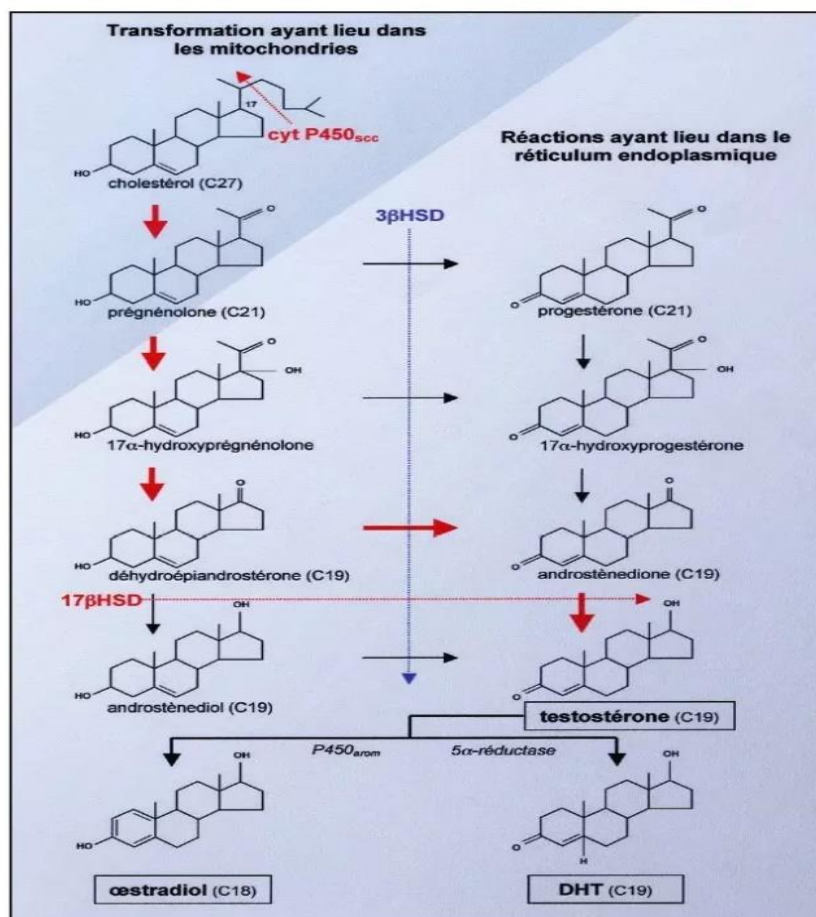


Figure 4: Biosynthèse des stéroïdes sexuels chez l'homme (Tostain *et al.*, 2004)

D. Mécanisme d'action de la testostérone

La testostérone qui est l'androgène le plus important chez l'homme est synthétisée dans les gonades et la corticosurrénale (minoritairement) à partir du cholestérol (Tostain *et al.*, 2004) Elle agit sur toute une gamme de tissus donc ceux du cerveau, de l'hypophyse, du rein, de la peau ainsi que ceux du système reproducteur à travers son transport jusqu'aux cellules cibles. Une fois synthétisée cette hormone peut exercer son effet directement en se liant sur son récepteur ou indirectement par son métabolite la dihydrotestostérone (DHT) dépendamment du tissu cible. Ce métabolite de la testostérone se lie de manière plus efficace que la testostérone elle-même car possède 10 fois plus

d'affinité aux récepteurs d'androgènes. Les enzymes 5 α -réductases qui convertissent la testostérone en un androgène plus puissant, la dihydrotestostérone (DHT) (Sherbet et Auchus, 2007).

I.2.2.2 Fonction exocrine : spermatogenèse

A. Les Tubes séminifères

Les tubes séminifères ont une longueur de 30 cm à 1m, un diamètre de 150 à 300 μ m et une structure pelotonnée ainsi l'espace compris entre ces tubes est appelé tissu interstitiel. Ils convergent vers le corps de Highmore ou ils s'abouchent dans le *rete testis* par des segments rectilignes, les tubes droits. Chaque tube séminifère est limité par une paroi propre : la gaine péritubulaire. Cette paroi est formée de l'intérieur vers l'extérieur par la membrane basale, une ou plusieurs assises de cellules semblables à des cellules musculaires lisses, des cellules péritubulaires et une couche de fibrilles de collagène en contact avec la paroi des capillaires sanguins et des vaisseaux lymphatiques. Les cellules péritubulaires étant riches en filaments d'actines et de myosines sont contractiles. Les contractions résultant d'un contrôle endocrine et paracrine de ces cellules jouent un rôle essentiel dans l'évacuation des spermatozoïdes des tubes séminifères (Brugnon, 2009).

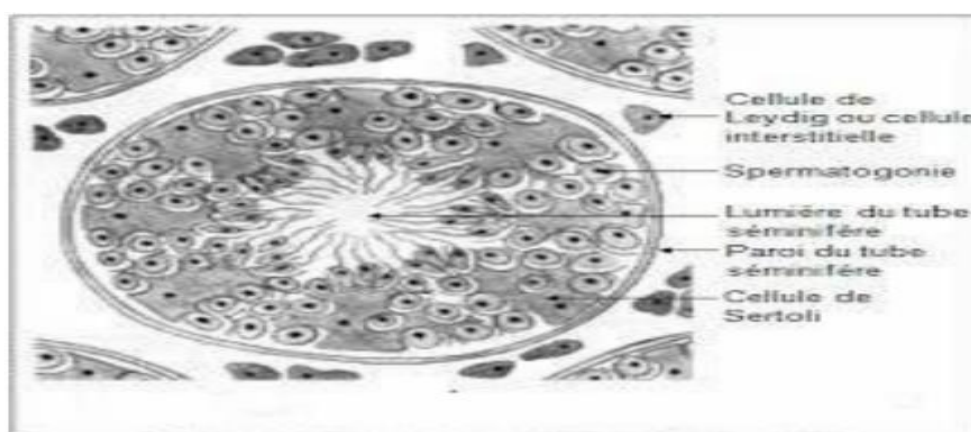


Figure 5: Coupe transversale d'un tube séminifère (Samake, 2007)

B. Cellules de Sertoli

Le scientifique italien Enrico Sertoli en 1865 a décrit pour la première fois ces cellules en raison de leur proéminente cytoplasmique projection et ramifications (Nieschlag *et al.*, 2010). Ce sont des cellules grossièrement pyramidales dont la hauteur détermine celle de l'épithélium séminifère. Le corps cellulaire repose sur la membrane basale de la gaine péritubulaire. Les faces latérales enchâssent les cellules germinales tout le long de leur maturation, la particularité de l'épithélium séminifère est la présence de jonctions serrées non pas au pôle apical mais au pôle basal des cellules de Sertoli (Ravel et Jaillard, 2011). Ces cellules sont situées sur la membrane basale et s'étendent jusqu'à la

lumière du tube séminifère. Au sens large, elles peuvent être considérées comme la structure de soutien de l'épithélium germinale. De même 35 à 40% de cet épithélium sont représentés par les cellules de Sertoli (**Nieschlag et al., 2010**). Cette cellule endocrine sécrète l'hormone antimüllérienne (AMH) responsable de la régression des canaux de Müller, cette sécrétion persiste élevée jusqu'à la puberté (**Benalia, 2016**). Ces cellules jouent un rôle important dans le déroulement de la spermatogenèse ainsi elles ont un rôle mécanique de soutien, de protection et de nutrition des cellules germinales, un rôle de mise en liberté des spermatozoïdes mûres dans la lumière des tubes séminifères.

C. La spermatogenèse

La spermatogenèse est un processus physiologique mis en place lors de la puberté qui permet chez l'homme, la production continue des gamètes à partir des cellules souches (spermatogonies). Elle commence par la division des cellules souches et se termine par la formation des spermatozoïdes mûres. Les différentes cellules germinales sont disposées de manière typique association cellulaire au sein des tubules séminifères appelés stade spermatogénique qui fait intervenir les différentes étapes à savoir :

- La spermatogoniogenèse qui est la prolifération mitotique et différenciation des cellules germinales diploïdes appelées spermatogonies ;
- Division méiotique des cellules germinales diploïdes ou spermatocytes I en cellules germinales haploïdes appelées spermatides ;
- La spermiogénèse qui est la transformation des spermatides en spermatozoïdes ;
- La spermiation ou la libération des spermatozoïdes de l'épithélium germinal dans la lumière tubulaire (**Nieschlag et al., 2010**).

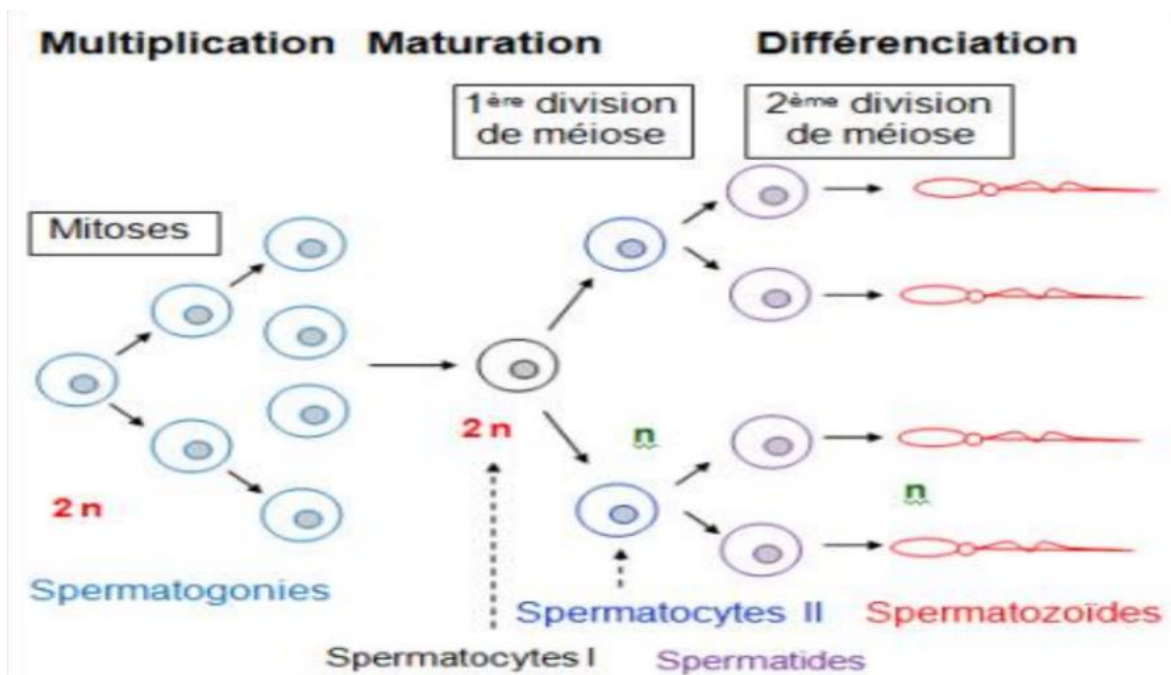


Figure 6: Déroulement de la spermatogénèse dans la paroi d'un tube séminifère (Samake, 2007)

I.3. Régulation de la fonction testiculaire

I.3.1. Régulation hormonale

La gonadolibérine ou « *gonadotrophine releasing hormone* » (GnRH) est un décapeptide sécrété par le noyau arqué de l'hypothalamus au cours de la régulation hormonale de l'activité sexuelle. Elle stimule via le système sanguin porte-hypophysaire la production par l'hypophyse antérieure de deux gonadotrophines à l'instar de l'hormone lutéotrope (LH) et l'hormone folliculostimulante (FSH) (Khallouk *et al.*, 2010). Ainsi la LH stimule la production de la testostérone par les cellules de Leydig et régule de ce fait la fonction endocrine du testicule. La FSH est responsable de l'initiation et du maintien de la spermatogénèse en agissant sur les cellules de Sertoli ou elle stimule Par ailleurs la synthèse de son propre récepteur (FSHR) et active la sécrétion d'une protéine liant les androgènes appelée *Androgen Binding protein* (ABP). La cellule de Sertoli sécrète également l'hormone peptidique inhibine qui inhibe la sécrétion de la FSH. Dans la cellule de Leydig, la LH stimule la sécrétion de la testostérone qui va agir dans la cellule de Sertoli en se liant à la protéine ABP. La testostérone circulant dans le sang inhibe en retour la sécrétion de la LH par un rétrocontrôle négatif. Des systèmes de rétrocontrôle négatif agissent sur le système hypothalamo-hypophysaire par le biais de la production de testostérone et d'inhibine par les testicules.

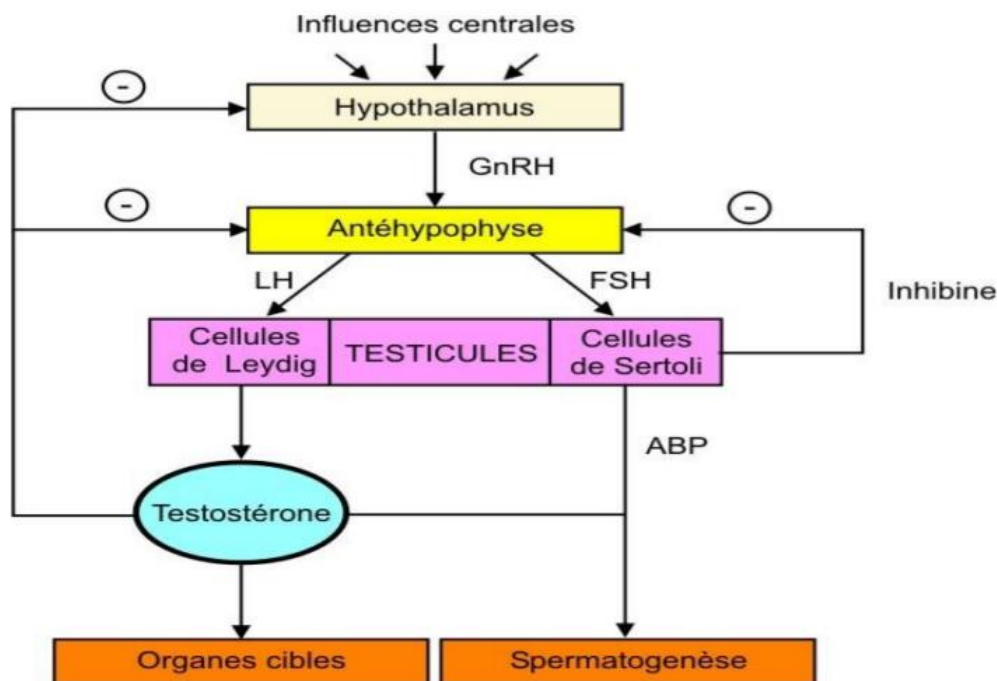


Figure 7: Régulation de la fonction reproductrice par les différentes hormones gonadiques et gonadotropes (Mumbere *et al.*, 2021)

I.3.2. Régulation locale

Dans le système nerveux central, la testostérone peut agir directement ou via ses métabolites la 5 α -dihydrotestostérone et l'œstradiol. La testostérone et la 5 α -dihydrotestostérone activent le récepteur des androgènes (AR), alors que l'œstradiol agit via les récepteurs des estrogènes ER α et ER β . Ces récepteurs sont des facteurs de transcription appartenant à la superfamille des récepteurs nucléaires (Charlier et Balthazard, 2005).

I.4. Quelques marqueurs biochimiques impliqués dans l'activité androgénique

➤ Le cholestérol

Le cholestérol est le précurseur ou le point de départ de la biosynthèse des androgènes. Les cellules de Leydig ont besoin de consommer plus de cholestérol pour la biosynthèse des androgènes. Un apport constant de cholestérol est nécessaire à la synthèse des androgènes.

➤ La testostérone

La testostérone est l'androgène le plus important produit par les testicules. Elle est nécessaire pour maintenir une fonction sexuelle et reproductive normale chez l'homme. Les taux de testostérone sont proportionnels à l'activité androgénique.

➤ La phosphatase acide prostatique (PACP)

Les phosphatases acides (PAC) sont des enzymes présentes dans tous les tissus de l'organisme, étant particulièrement élevée dans l'os ; la prostate ; les plaquettes ; les érythrocytes et la rate. On distingue couramment deux isoenzymes de la phosphatase acide dont la phosphatase acide non prostatique et la phosphatase acide prostatique (PACP). Elle est synthétisée par les cellules glandulaires de la prostate sous la stimulation de la testostérone et catalyse l'hydrolyse d'esters phosphoriques. L'activité de la PACP est proportionnelle à l'activité androgénique (**Hyocheol et al., 2014**).

➤ **Le fructose vésiculaire**

Cette molécule est la principale source d'énergie des spermatozoïdes. Il est sécrété par la vésicule séminale. (**Mahabadi et al., 2016**).

➤ **Les protéines totales dans les testicules et épидидymes**

Les protéines sont principalement des enzymes et des nutriments des voies métaboliques qui assurent la stéroïdogenèse et la maturation des spermatozoïdes. La synthèse de la moitié des protéines testiculaires et épидидymaires est sous le contrôle androgénique (positif ou négatif). (**Benalia et al., 2016**).

I.5. Stress oxydant et activité antioxydante

La plupart des systèmes biologiques dépendent de la préservation de l'équilibre. Au sein du système reproducteur masculin, l'harmonie oxydative est cruciale pour la fertilité. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) apportent des contributions fonctionnelles à des concentrations appropriées, mais deviennent rapidement destructrices si elles ne sont pas contrôlées. (**Cayde et Edmund, 2020**). Le stress oxydant se caractérise par la production excessive d'espèces oxydantes dérivées de l'oxygène, dont certaines sont très réactives. Les ERO ou radicaux libres oxygénés, ont au moins un électron non apparié, ce qui en fait des molécules très instables, capables de réagir avec les molécules voisines en leur arrachant un électron, les transformant à leur tour en molécules radicalaires. Certains ERO sont sous formes ioniques (l'ion hydroxyle [OH-]) et d'autres sous forme de molécules (le peroxyde d'hydrogène [H₂O₂]). Ces ERO peuvent provenir des sources endogènes et exogènes. Le stress résulte d'un déséquilibre entre des systèmes producteurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des systèmes antioxydants enzymatiques (superoxyde dismutases , glutathion peroxydases , catalase) ou non enzymatiques (glutathion, vitamines,...) (**Valko et al., 2007**). Ce stress oxydant est considéré comme l'une des causes d'infertilité (**Haiba et al, 2014**), dans la mesure où il y a perturbation non seulement de l'intégrité de l'ADN des spermatozoïdes , mais aussi la limitation du potentiel de fertilisation des cellules. La présence d'acides gras polyinsaturés dans la membrane des spermatozoïdes et la grande affinité des espèces réactives de l'oxygène (ERO) à leurs

structures jouent un rôle important dans le maintien de la balance oxydant- antioxydant pendant leurs fonctions normales. Cependant un déséquilibre en faveur de l'oxydation provoque des anomalies structurales des spermatozoïdes et une réduction de la capacité de conjugaison des spermatozoïdes-ovocytes, ce qui entraînerait une réduction du taux de fécondation . Ces agents oxydants peuvent endommager les cellules en commençant par des réactions chimiques en chaîne telle que la peroxydation des lipides, ou par oxydation de l'ADN ou des protéines . L'un des produits intermédiaires de ces réactions est le malondialdéhyde (MDA) qui se fixe sur les bases de l'ADN et les endommage. Ce sous produit a été utilisé comme bio-marqueur pour surveiller le degré de peroxydation. En outre la catalase, la superoxyde dismutase, le glutathion ont un rôle significatif dans le rééquilibrage entre le niveau d'espèces oxygénées réactives et les antioxydants dans le sérum (Adelakun *et al.*, 2019).

I.6. Rapport fertilité et alimentation

Depuis quelques décennies la baisse de la fertilité masculine est en augmentation significative, liée à plusieurs facteurs concernant le mode de vie et l'environnement (Levy et Leniaud, 2008). Ainsi donc l'assurance de la survie et de la continuation de l'espèce passe par la prise en compte de ces différents facteurs qui peuvent regrouper en leur sein l'alimentation et la nutrition. De même une alimentation et nutrition adéquate concourent à l'amélioration de la fertilité ceci en raison de son apport nutritionnel qui permettra le maintien et l'entretien de l'activité des organes de l'appareil de reproduction mâle. C'est dans ce sens-là qu'Aristote a stipulé que la nutrition est l'un des facteurs le plus important dans la conception. En outre une alimentation équilibrée joue un rôle crucial dans la santé reproductive tant chez l'homme que la femme. Ainsi le régime alimentaire méditerranéen intègre les habitudes de vies saines et traditionnelles. Ce régime fournit donc un faible niveau d'acides gras saturés, acide gras trans et des niveaux adéquats en nutriments tels que acides gras oméga-3, les molécules antioxydantes et vitamines ayant donc un effet positif pour la fertilité masculine en étant associée à une augmentation du nombre et de la qualité des spermatozoïdes (Ferramosca et Zara, 2022). Cependant le régime alimentaire occidentale est devenu au cours des dernières décennies un régime alimentaire principal impliquant la consommation élevée d'aliments transformés industriellement, riche en protéines animales, glucides simples, graisses trans et saturées, pauvres en fibres alimentaires et en acides gras essentiels insaturés. Ainsi des études ont établi un lien entre ce régime et un risque accru de maladies métaboliques ainsi que l'infertilité (Ferramosca et Zara, 2022). En effet de nombreuses études ont révélés qu'une alimentation équilibrée pouvait améliorer la qualité du sperme en augmentant le nombre de spermatozoïdes, leur mobilité, leur morphologie ainsi

que le maintien d'un bon niveau hormonal (**Haiba et al, 2014**). Certains nutriments et antioxydants retrouvés dans les aliments spécifiques peuvent avoir un impact positif sur la fertilité à l'exemple des vitamines C, E, du zinc et sélénium. Ces derniers peuvent ainsi protéger les spermatozoïdes contre les dommages oxydatifs afin d'améliorer leur fonctionnement. Ainsi donc la recherche scientifique sur l'alimentation et la santé humaine a évolué au cours de ces dernières années de même que le concept d'aliments fonctionnels .

I.7. Présentation du sésame

Le sésame est une plante annuelle aromatique figurant parmi les plus anciennes cultures qu'a connue l'humanité (**Honjaya et al., 2021**). C'est l'une des plantes oléagineuses les plus utilisées par l'homme (**Rebbas et al., 2020**). Elle est érigée de 0,5 à 2 m de hauteur, dont le cycle varie entre 80 à 180 jours. Sa racine pivotante est d'environ 90 cm de long avec un réseau dense de racines secondaires pouvant aller jusqu'à un mètre dans le sol. De même sa tige principale est dressée avec une section quadrangulaire de 2 à 3cm de diamètre, elle est cannelée, plus ou moins velue, simple ou ramifiée. En outre les feuilles sont crénelées, plus ou moins lobées ou entières et variables de formes et de dimensions selon l'âge (**Rebbas et al., 2020**). Les fleurs apparaissent à l'aisselle des feuilles, fixées sur un court pédicelle, à la partie supérieure de la tige principale et des rameaux. Elles sont solitaires, occasionnellement groupées en inflorescence de 2 à 3 par axile (**Mihoub et Zeghad, 2020**). La culture du sésame est très répandue en Asie, en Afrique et en Amérique du sud. Celle-ci est facile et ne requiert que de faibles coûts de productions. Pour ce qui est de la production mondiale des graines de sésame l'Inde occupe la première place avec une productivité du sésame de 0,33 tonnes / ha par rapport à la moyenne mondiale de 0,44 tonnes / ha. Elle est suivie par la Chine (19,9%), le Myanmar (17,3%), le Soudan (5,9%), l'Ouganda (4,9%), l'Éthiopie (4,7%) le Nigeria (2,9%), le Bangladesh (1,4%) et le Pakistan (0,8%) (**Sene et al., 2018**). Cette plante se développe idéalement dans les zones humides et pluvieuses durant sa période de croissance. La température optimale pour sa production est aux alentours de 20°C, avec une tolérance jusqu'à 40°C (**Honjaya et al., 2021**). Cette plante est beaucoup plus cultivée pour ces graines comestibles dont on extrait aussi de l'huile. La graine est appelée reine oléagineuse elle occupe la 9ème place parmi les 13 principales cultures oléagineuses qui représente 90 % de la production mondiale de l'huile comestible.



Photographie 1: Illustration de *Sésamun indicum* (a. Plante, b. Fleur, c. Fruit) (Rebbas *et al.*, 2020)

I.7.1. Dénomination et classification

Les graines de sésame sont connues sous plusieurs appellations. Ce mot sésame désigne généralement le nom commun du genre *Sesamun* de la famille des Pédaliacées. De même il est beaucoup plus appliqué à l'espèce *Sésamun indicum* qui porte aussi comme nom scientifique *Sesamum orientale* L. (Honjaya *et al.*, 2021). Il existe également d'autres synonymes moins connus de cette espèce comme *Sesamum edule*, *Sésamun luteum*, *Sesamun oleiferum*, *Sesamum africanum*, *Sesamum foetidum* (Demol *et al.*, 2002). En effet les différents noms attribués à ces graines diffèrent en fonction des localités.



Photographie 2: Graines de sésame (photo prise par Nangue, 2023)

Tableau I: Différentes appellations du sésame dans le monde

Pays	Appellation	Pays	Appellation
Cameroun	Sésame	Brésil	Gengellin
Algérie	Djeljlane	Madagascar	Voahazo
Côte d'Ivoire	Benniseed	France	Sésame
L'Erythrée	Simsim	Inde	Till, Gingelly
Etats-Unis	Benne	Swaid	Ufuta

IL existe 17 espèces de *Sesamun* dont deux qui poussent aussi à l'état sauvage en Inde (**Sene et al., 2018**). De même l'espèce *Sesamun* comporte de très nombreuses variétés qui diffèrent par leur dimension, leur forme, leur type de croissance, la couleur des fleurs, le calibre, la couleur et la composition des graines (**Demol et al., 2002**). Le tableau ci-dessous présente la systématique du sésame.

Tableau II: Classification systématique de la plante

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Division	Magnoliophytes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Pédaliacées
Genre	<i>Sesamum</i>
Espèce	<i>Indicum</i>

I-7.2. Composition des graines de sésame

En effet la distribution des composants bioactifs dans les graines représente sa valeur alimentaire élevée. Le sésame est une plante oléagineuse qui présente une valeur nutritionnelle élevée en matière grasse (45 à 55%), protéines (19 à 25%), 5 à 6% minéraux (Ca, P, Mg, Fe, Zn), Vitamines (B et E) et les antioxydants (**Nzikou et al., 2010**). Elles contiennent de nombreux composés phytochimiques tels que : les flavonoïdes, les acides phénoliques, les alcaloïdes, les tanins, les

saponines, les stéroïdes, les terpenoïdes, les tocophérols et lignanes (**Sene et al., 2018**). La graine de sésame contient environ 50% d'huile dont nous avons approximativement 14% d'acides gras saturés, 39% d'acides gras monoinsaturés, 46% d'acides gras polyinsaturés et ce taux variant suivant les variétés et les conditions de culture (**Arab et al., 2020**). L'huile de ces graines est abondante en acide linoléique et oléique, en majeure partie des gamma-tocophérol. Ces graines possèdent également les composés antinutritionnels tels que les oxalates, les phytates (**Kone et al., 2021**). Les facteurs antinutritionnels sont des composés présents dans la plupart des substances alimentaires qui d'une manière ou d'une autre limite la disponibilité des nutriments pour l'organisme (**Abhishek et al., 2019**). D'après les études de **Sene et al., (2018)** la teneur des graines de sésame en nutriments et en minéraux est illustrée dans le tableau suivant :

Tableau III: Composition nutritionnelle des graines de sésame (Sene et al., 2018)

Minéraux (mg/100g)	Calcium	Phosphore	Magnésium	Fer	Zinc
	973,22	711,17	455,04	10,86	7,88
Nutriments (%)	Protéines	Glucides	Lipides	Fibres	Cendres
	15,67 ± 0,28	18,44 ± 0,51	56,56 ± 0,62	8,22 ± 0,18	5,48 ± 0,14

1.7.3. Implication de certains micronutriments dans le processus de la reproduction male

❖ Zinc

Le zinc a un rôle primordial dans la synthèse et la sécrétion de la LH et la FSH, la différenciation des gonades et la fertilisation. La spermatogenèse est un processus qui nécessite la présence du zinc, le liquide séminal est très riche en zinc (**Beggar, 2021**). Le zinc est essentiel au maintien de la muqueuse des organes reproducteurs et peut avoir un rôle régulateur dans la progression de la capacitation et la réaction acrosomique. En outre il joue aussi un rôle d'antioxydant, car il entre directement dans la constitution de l'enzyme super oxyde dismutase qui est une enzyme anti-radical libre (**Beggar, 2021**).

❖ Calcium

Le calcium (Ca) est un oligoélément essentiel qui régule de nombreux processus physiologiques cellulaires. L'ion calcium (Ca^{2+}) déclenche la capacitation, la réaction acrosomique dans le

spermatozoïde des mammifères mais il est aussi impliqué dans la mobilité des spermatozoïdes (**Levy et Leniaud, 2008**).

❖ Magnésium

Le magnésium (Mg) est aussi un oligoélément crucial pour la physiologie cellulaire. Le Mg est présent à une concentration élevée dans le sperme. C'est un cofacteur fondamental pour des réactions enzymatiques impliquées dans le métabolisme énergétique ou la synthèse des acides nucléiques (**Levy et Leniaud, 2008**).

❖ Vitamine E

La vitamine E (α -tocopherol) est un antioxydant qui agit sur la membrane du spermatozoïde en neutralisant l'eau oxygénée et en dégradant les radicaux libres. La carence en vitamine E entraîne une altération de la qualité de l'ADN des spermatozoïdes, une diminution et une dégénérescence de la spermatogenèse (**Methorst et Huyghe, 2014**).

I.8. Utilisation du sésame

I.8.1. Utilisation dans le domaine alimentaire

La graine de *Sésamun indicum* a une grande valeur nutritionnelle, une raison pour laquelle sa consommation est prisée. Elle peut être consommée telle qu'elle ou sous plusieurs autres formes telles que la forme torréfiée, la forme de croquants, ou de farine. Elle rentre également dans la préparation de diverses pâtisseries orientales (**Mihoub et Zeghad, 2020**). En Afrique et en particulier au Cameroun les formes torréfiées et de croquants sont les plus consommées. En outre au Moyen-Orient les graines de sésame décortiquées sont principalement utilisées dans la production du « tahina » (patte de graines de sésame), obtenu par broyage des graines décortiquées et torréfiées soit à vapeur ou à température plus élevées (**Honjoya et al., 2021**). Les graines de sésame contiennent trois fois plus de calcium en comparaison au lait et son huile est utilisée en substitution à l'huile d'olive par les Européens.

- **Graines torréfiées de sésame**

Ces graines sont obtenues à partir de la torréfaction des graines crues de sésame. Après torréfaction ces graines ont un goût de noisettes et représentent l'une des formes les plus consommée dans notre société suivant les habitudes alimentaires. Ainsi la torréfaction est un procédé largement utilisé en industrie alimentaire, ce traitement thermique vise à développer les paramètres organoleptiques et sensoriels des graines tels que la couleur, texture, saveur (**Hanafi et al., 2023**).



Photographie 3: Graines de sésame torréfiées (Photo prise par Nangue, 2023)

- **Croquants de Sésame**

Ces croquants sont obtenus par le mélange des graines de sésame au préalable grillées à feu doux pendant 3 minutes dans du sucre préalablement fondu. Ils sont commercialisés dans les boutiques, des petits points de vente ainsi que dans des supermarchés. La consommation du sésame sur cette forme est également prépondérante dans notre société.



Photographie 4: Croquants de sésame (photo prise par Nangue, 2023)

Les graines sont utilisées pour l'extraction de leur huile et le tourteau restant qui est aussi un concentré de grande valeur nutritive et énergétique utilisé pour l'alimentation du bétail et de la volaille et même comme un engrais. Ce tourteau pourrait également servir de matière première à plusieurs denrées alimentaires (Rongead, 2013).

Torréfaction

La torréfaction est une technique de traitement par chaleur sèche utilisée pour développer les propriétés sensorielles des aliments, ce qui a suscité l'intérêt des consommateurs. Cette technique améliore l'appétence, la digestibilité et les qualités sensorielles des aliments, tout en apportant des modifications structurales souhaitables au produit alimentaire. La torréfaction peut améliorer considérablement la saveur grâce à la réaction de Maillard et à la caramélisation à la surface du produit alimentaire (Sene *et al.*, 2018).

▪ Réaction de Maillard

La réaction de Maillard est une réaction chimique qui a lieu entre le groupe amine d'un acide aminé libre et le groupe carbonyle d'un sucre réducteur, généralement en présence de la chaleur. Il s'agit du brunissement des aliments lorsqu'ils sont chauffés ou stockés en raison d'une réaction chimique. Cette réaction produit de la saveur lorsque les aliments sont cuits. La réaction de Maillard est l'une des sources importantes de génération d'arômes artificiels pour les aliments transformés au sein de l'industrie des arômes. Les sucres réagissent avec l'acide aminé et entraînant une variété d'odeurs et de saveurs, selon le type d'acide aminé utilisé.

I.8.2. Utilisation dans le domaine de la cosmétologie

L'utilisation de ces graines dans ce domaine est fréquente par la présence de nombreuses substances ayant une influence sur les cheveux et la peau telle que les sésamines, les sésaminols et les vitamines qui ont des propriétés antioxydantes, régénératrices et hydratantes. De même, l'huile de sésame entre dans la composition de préparations pour application cutanée ou capillaire. Ainsi elle est également utilisée comme huile de massage pour favoriser une meilleure élasticité de la peau et ralentit également le phénomène de vieillissement (**Honjaya et al., 2021**).

I.8.3. Utilisation dans le domaine pharmaceutique et médical

L'huile de sésame peut être utilisée en tant qu'excipient car elle semblerait être moins irritante comparativement à d'autres types d'huiles. Ainsi d'autres produits sous formes orales et sous formes injectables comme les neuroleptiques utilisent l'huile de sésame en tant qu'excipient (**Honjaya et al., 2021**).

De nombreuses parties de la plante sont utilisées par la médecine indigène en Afrique et en Asie pour traiter toutes sortes de maux. Le mucilage ou le jus des feuilles permet de soigner la fièvre, la toux, les douleurs ophtalmiques et permet également de tuer les poux de la tête (**Thakur et al., 2018**). De même ce jus est administré pour faciliter l'accouchement, pour traiter la dysenterie et les gonorrhées elle est également utilisée dans les pansements après la circoncision. En Afrique Orientale et Australe, ses feuilles jouent un rôle dans le traitement des morsures de serpents et de la malaria et en Inde dans celui des cancers.

Les études menées par **Kumar et al. (2011)** ont démontré que l'extrait de *Sesamun indicum* a le potentiel de protéger le foie contre certains dommages causés par certaines substances toxiques. En outre, le Sésame est un reminéralisant, il contient également de nombreux antioxydants qui sont bénéfiques pour la santé (**Honojaya et al., 2021**). De même les graines sont aussi appréciées pour les

propriétés laxatives et ont un effet anti vieillissement. Les indiens ont utilisé l'huile de sésame comme un bain de bouche antibactérien également pour soulager l'inquiétude et l'insomnie.

Les études menées par **Mahabadi *et al.* (2013)** ont démontré qu'un régime alimentaire contenant les graines de sésame crues améliore les paramètres testiculaires des rats mâles adultes de souche Wistar albinos. Par ailleurs, les études menées par **Ashamu *et al.* (2010)** ont montrées que l'extrait éthanolique du sésame stimule l'augmentation du taux de testostérone favorisant ainsi la fertilité chez les rats mâles de souche Wistar.

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1- Matériel

II.1.1 Matériel végétal

Les graines de sésame utilisées dans ce travail ont été achetées au marché Mokolo de Yaoundé. Ces graines ont été transportées dans des sacs en polyéthylènes jusqu'au laboratoire des Sciences Alimentaires et Métabolisme pour être triées, dépoussiérées et lavées afin de mieux les nettoyer. Les graines ont été préalablement séchées au déshydrateur à 45°C pendant 24h. Par la suite les graines ont été scindées en trois lots respectifs de 0,5Kg :

- Le premier lot constitué de graines de sésame crues ;
- Le second lot contenait les graines de sésame torréfiées pendant 5 min ;
- Le troisième lot contenait les graines de sésame torréfiées pendant 3 min qui ont servi pour la suite à la préparation des croquants. La figure qui suivra, présentera le diagramme de traitement et d'obtention des échantillons.

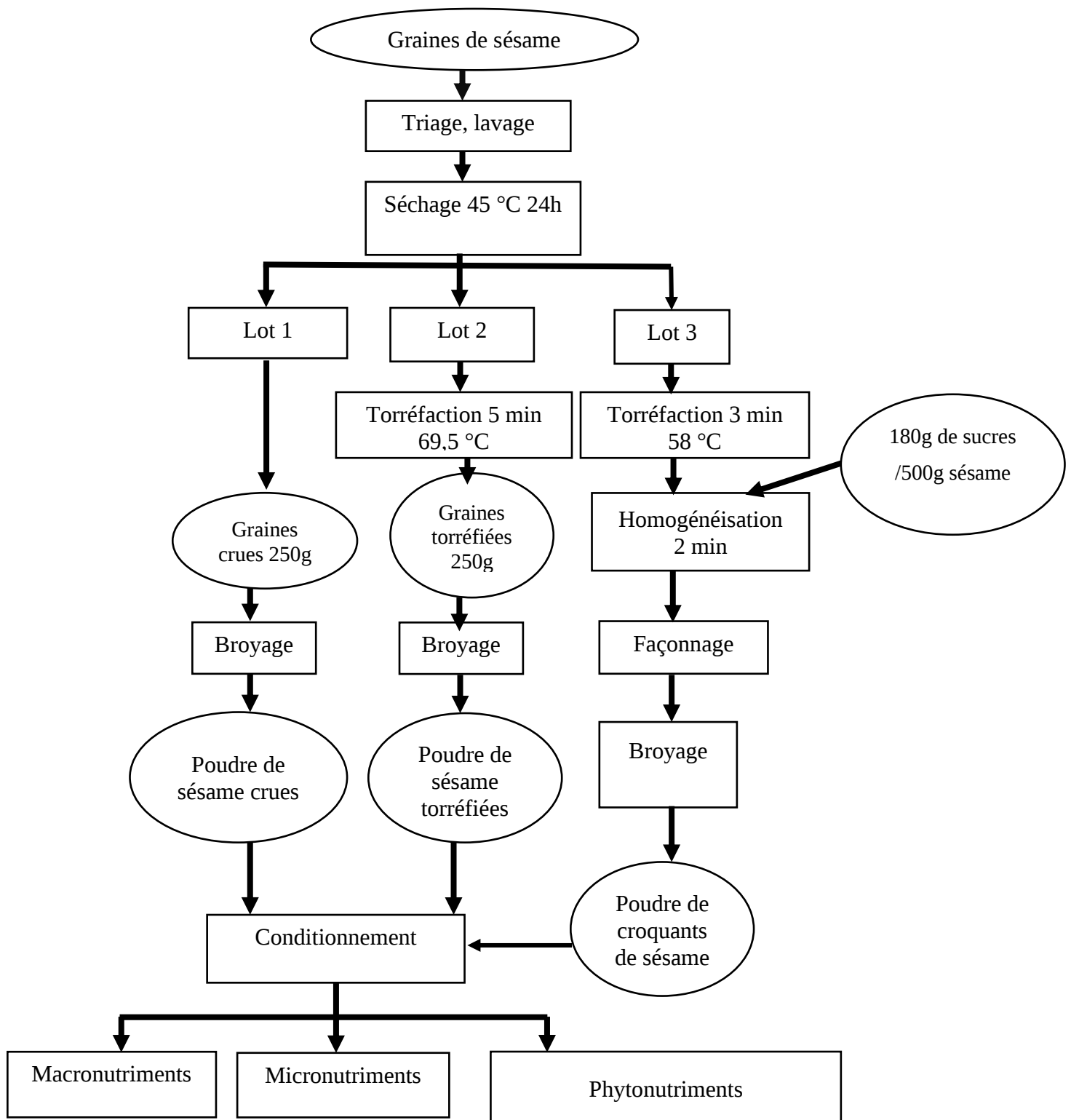


Figure 8: Diagramme synoptique d'obtention des échantillons

II.1.2 Animaux d'expériences

Les animaux utilisés pour cette expérimentation ont été fournis par l'animalerie du Laboratoire de Biologie des organismes animaux de L'Université de Yaoundé I. Il s'agissait des rats mâles de souche *Wistar* de 6 semaines dont le poids variait entre 80-90g.

II.2. Méthodes

II.2.1 Analyses proximales

II.2.1.1. Détermination de la teneur en eau et en matière sèche

La matière sèche a été déterminée par la méthode décrite par l'**A.O.A.C (1990)**.

➤ Principe

La détermination de la teneur en matière sèche (%MS) est basée sur la perte en masse des échantillons après étuvage à 105°C, par vaporisation complète de l'eau libre et de la matière volatile et obtention d'une masse constante. Elle a été effectuée par la méthode **d'A.O.A.C. (1990)**.

➤ Mode opératoire

Une masse M_0 (0,5 g) de l'échantillon a été pesée et introduite dans des nacelles de masse M_1 et l'ensemble de M_2 a été séchée à l'étuve à 105°C pendant 24h. Les échantillons ont été pesés toutes les 2h jusqu'à obtention d'une masse constante. A chaque sortie de l'étuve, les échantillons ont été placés dans un dessiccateur pour refroidissement et pour éviter la réabsorption de l'humidité de l'air avant la pesée. Après séchage, l'ensemble contenant le résidu sec total ou matière sèche (MS) a été pesé (M_3) et la teneur en matière sèche et en eau exprimée en pourcentage de matière fraîche ont été calculées selon les formules suivantes :

$$\%MS = \frac{M_3 - M_1}{M_0} \times 100 \quad \longleftrightarrow \quad TE = 100 - \%MS$$

M_0 : masse de l'échantillon frais.

M_1 : masse des nacelles

M_2 : masse de l'ensemble de l'échantillon + nacelle avant séchage

M_3 : masse de l'ensemble de l'échantillon + nacelle après séchage

II.2.1.2 Détermination des teneurs en lipides totaux

Elle a été effectuée par la méthode décrite par **Bourelly** en **1982**.

➤ Principe

Les lipides contenus dans un échantillon sont extraits par rapport à leur solubilité avec les solvants organiques. L'extraction se fait dans un Soxhlet pendant une durée de 12h environs. Le solvant utilisé pour l'extraction a été éliminé par séchage et la teneur en lipides totaux a été calculée à 0% d'humidité par différence de poids du sachet avant et après extraction complète des lipides.

➤ Mode opératoire

Des cartouches faites avec du papier cellulose de type whatman ont été confectionnées puis séchées pendant 10 min dans une étuve à 105°C. Elles ont ensuite refroidi dans un dessiccateur puis pesées à l'aide d'une balance de précision.

Deux grammes d'échantillon (Mo) ont été introduits dans les cartouches préalablement tarées et elles ont été fermées. L'ensemble était séché complètement à l'étuve pendant au moins 2h à 105°C, refroidi au dessiccateur et pesé (M₁). Les cartouches ont été introduites dans l'extracteur Soxhlet placé entre le réfrigérant à eau et le ballon contenant des billes de verre et environs 200 ml du solvant d'extraction qui était l'hexane. L'ensemble était placé dans un chauffe- ballon thermostaté et le dispositif a été mis en marche. L'ébullition du solvant a permis son évaporation du ballon vers l'extracteur et le lavage continu de l'échantillon a été fait. A la fin de l'extraction, après l'arrêt du chauffage et refroidissement du dispositif, les cartouches contenant l'échantillon étaient séchées dans l'étuve à 105 °C pendant au moins 1 h puis pesées (M₂). La teneur en lipides totaux a été déterminée par la différence de poids de la cartouche avant et après extraction complète des lipides par la formule suivante :

$$Teneur\ en\ lipides = \frac{M_2 - M_1}{M_0} \times 100$$

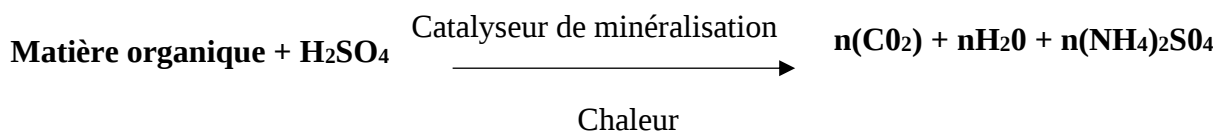
II.2.1.3 Détermination des teneurs en azote total et en protéines brutes

La teneur en protéine totale a été évaluée après détermination de la teneur en azote total et multiplication de cette teneur par 5,30 (**FAO, 2015**). L'azote total a été déterminé après minéralisation des échantillons selon la méthode de Kjeldahl (**AFNOR, 1984**), suivi du dosage par la méthode de **Devani et al (1989)**.

❖ Minéralisation

➤ Principe

La minéralisation selon Kjeldahl consiste à détruire toute la substance organique azotée contenue dans la denrée alimentaire et sa conversion en azote minérale par l'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur de la minéralisation selon l'équation suivante :



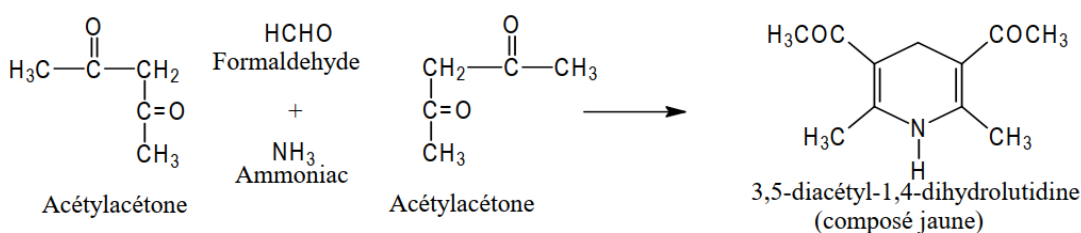
➤ Mode opératoire

Une masse de 0,5 g d'échantillon, 5 ml H_2SO_4 concentré et une pincée de catalyseur de minéralisation ont été introduits successivement dans un matras de minéralisation et porté à chaud sur une rampe de minéralisation avec un collecteur de fumées jusqu'à obtention d'une solution limpide, soit pendant 6 heures. Après refroidissement, le minéralisât a été récupéré dans une fiole jaugée et son volume a été complété à 50 ml avec de l'eau distillée.

❖ Dosage de l'azote

➤ Principe

Il est basé sur la réaction en milieu aqueux, de l'ammoniac avec l'acétylacétone et le formaldéhyde pour former le 3,5-diacétyl-1,4-dihydrolutidine de couleur jaune qui présente un maximum d'absorption à 412 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en azote. L'équation de la réaction est la suivante :



➤ Mode opératoire

Dans un tube à essai, ont été introduits successivement 0,1 ml de minéralisât, 1,2 ml de solution d'acétate de sodium et 1,6 mL de solution réactive (15 mL de formaldéhyde + 8 mL d'acétylacétone dans 77 mL d'eau distillée). Le mélange a été incubé au bain-Marie à 97,5 °C pendant 15 minutes. Une fois refroidi dans un courant d'eau froide, le volume du tube a été complété à 10 mL en ajoutant 7 mL d'eau distillée. L'absorbance a été lue à 412 nm contre un blanc constitué des solutions d'acétate

de sodium, solution réactive, et de l'eau distillée. La gamme d'étalonnage de la solution d'azote a été établie à partir d'une solution de sulfate d'ammonium 0,4 g d'azote / mL.

La quantité d'azote a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage du sulfate d'ammonium. L'équation de droite d'étalonnage $Y = 0,9472X$ a permis de calculer la quantité d'azote à partir de la formule :

$$X = y * \frac{Vt * 100}{Vp * m * a}$$

X : Quantité d'azote (µg) ;

Y : Densité optique ;

Vt (mL) : Volume total de minéralisât ;

Vp (ml) : Volume total de minéralisât doser ;

M (g) : Masse de l'échantillon minéralisé ;

a : Coefficient d'étalonnage (0,9472).

II.2.1.4 Détermination des teneurs en cendres

Les teneurs en cendres ont été déterminées par la méthode **A.O.A.C (1990)**.

➤ Principe

Il consiste à sécher les échantillons dans un four à moufle jusqu'à obtention d'une cendre blanche.

➤ Mode opératoire

Dans un creuset en porcelaine, 0,5g d'échantillon a été introduit et placé dans un four à moufle pour incinération à une température de 550°C jusqu'à obtention d'une cendre blanche. La teneur a été calculée à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ Cendres} = \frac{M3 - M2}{M1} \times 100$$

II.2.1.5 Détermination de la teneur en fibres totales

Les teneurs en fibres brutes dans les échantillons ont été déterminées par la méthode **A.O.A.C (1980)**.

➤ Principe

Il consiste à traiter l'échantillon à ébullition par l'acide sulfurique ensuite par la soude, le résidu obtenu est séché puis calciné et pesé.

➤ Mode opératoire

Dans un bécher de 250 ml, ont été introduits 0,5g d'échantillon et 25 ml d'acide sulfurique 0,255N. L'ensemble a été porté au bain-marie à 97,5°C pendant 30 minutes. La suspension a été filtrée, le résidu a été récupéré dans 25ml de NaOH 0,313 N et chauffé à nouveau pendant 30 minutes. Le mélange obtenu a été filtré. Le résidu obtenu a été lavé trois fois dans 30ml d'eau distillé puis deux fois dans 20ml d'acétone et récupéré dans un creuset préalablement taré et séché à l'étuve à 105°C. Après 8h, le creuset a été placé au dessiccateur pour refroidissement puis le résidu a été pesé et enfin calciné dans un four à moufle à 550°C Pendant 3h. La teneur en fibre a été déterminée à partir de la formule suivante.

$$\% \text{Fibres brutes} = \frac{M2 - M3}{M1} \times 100$$

M1(g) : Masse en gramme de la prise d'essai

M2(g) : Masse en gramme du résidu séché à 105°C

M3(g) : Masse en gramme des cendres obtenues après incinération

II.2.1.6 Détermination des teneurs en glucides totaux

La teneur en glucides a été déterminée par la méthode de différence telle que décrite par l'A.O.A.C (1980).

Après détermination des teneurs en eau, protéines, lipides, fibres brutes et cendres. Les glucides ont été déterminés par différence par rapport aux teneurs en eau, en protéines, lipides, et cendres. Le poids des glucides par rapport à 100g de matière sèche qui a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\% G = 100 - (\% P + \% C + \% TE + \% L)$$

% G : Teneur en glucides ;

% P : Teneur en protéines ;

% C : Teneur en cendres

% TE : Teneur en eau ;

% L : Teneur en lipides

II.2.2. Analyse des minéraux

Les minéraux Ca, Mg, Fe et Zn ont été déterminés selon la méthode décrite par (Horowitz, 2000).

➤ Principe

L'analyse des minéraux dans les échantillons implique la séparation des minéraux de la matrice de l'échantillon par digestion humide de la matière organique. Les éléments minéraux séparés sont dilués dans l'acide et leur teneur est déterminée par spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA).

▪ Traitement des échantillons

Une masse de 0,5 g de l'échantillon a été introduite dans le matras de digestion de Kjeldahl. On y ajoute 30 ml d'acide nitrique HNO_3 (65 %) / d'acide perchlorique HClO_4 (70 %) dans un ratio (2 /1). Le matras était fermé et laissé à la température ambiante pendant 12h de temps pour une prédigestion de l'échantillon. Ensuite le matras a été porté dans le bloc de digestion sous une température d'environ 160 °C et maintenu jusqu'à ce que le volume de l'échantillon dans le matras ait été réduit de moitié. La température était réglée à 210 °C et maintenue jusqu'à l'obtention des fumées blanches de HClO_4 et une présentation incolore de l'extrait. Après le refroidissement, le contenu du matras a été filtré à l'aide du papier filtre de Whatman et par la suite 15 ml d'eau distillée a été ajouté dans le filtrat pour le diluer.

II.2.2.1. Analyse du Calcium (Ca) et du Magnésium (Mg)

Pour la détermination du Ca et du Mg, le filtrat obtenu précédemment a été dilué 5 fois dans une solution de chlorure de lanthanum (0,25 %). Ensuite les densités optiques (DO) des échantillons étaient lues grâce au spectrophotomètre d'absorption atomique (SAA), contre un blanc contenant de l'eau distillée. La teneur en Ca et Mg était déterminée par la formule suivante :

$$Ca \text{ et } Mg \left(\frac{mg}{100g} \right) = \frac{C0 \times Volume \text{ total}(ml) \times facteur \text{ de dilution} \times 100}{M \times 1000}$$

C0 : Concentration de l'élément minéral obtenue à partir de la droite d'étalonnage

M : Masse molaire de l'élément minéral

1000 : conversion de mL en L

II.2.2.2. Analyse du zinc (Zn) et Fer

Pour la détermination de la teneur zinc le filtrat obtenu précédemment était dilué 5 fois dans de l'eau distillé et les densités optiques des échantillons étaient lues grâce au spectrophotomètre d'absorption atomique (SAA) contre un blanc contenant de l'eau distillée. La droite d'étalonnage

était réalisée à partir des DO des solutions de ces différents minéraux. La teneur en zinc est calculée par la formule suivante :

$$\text{Zinc et Fer} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{C_0 \times \text{volume total}(\text{ml}) \times \text{facteur de dilution} \times 100}{M \times 1000}$$

C_0 : concentration de l'élément minéral obtenue à partir de la droite d'étalonnage

M : masse molaire de l'élément minéral

1000 : conversion de ml en litre

II.2.3. Analyse des phytonutriments

II.2.3.1. Teneur en phytates

➤ Principe

Il est basé sur la propriété des phytates à former des complexes stables et instables avec les ions ferriques en solution à pH acide où la source du phosphore est l'acide phytique. (Olayeye *et al.*, 2013)

❖ Préparation des extraits

Une masse de 2 g d'échantillon a été pesée et introduite dans un bécher et 100 ml de HCL à 2 % ont été ajoutés. L'ensemble a été vigoureusement agité à l'aide d'un agitateur magnétique et laisser reposer pendant 3h, ensuite le mélange obtenu a été filtré.

❖ Procédure

Vingt-cinq ml du filtrat ont été prélevés et introduits dans une fiole de 250 ml, puis 5 ml de la solution de thiocyanate d'ammonium à 0,3 % (comme indicateur coloré) et 53,5 ml d'eau distillée ont été ajoutés et mélangés pour obtenir l'acidité désiré. La solution obtenue a été titrée avec une solution étalon de chlorure de fer III (0,00195g par ml) jusqu'à obtention d'une couleur jaune brunâtre persistante pendant 5 minutes. La teneur en phytates a été calculée comme suit :

$$\text{Teneur en phytates} = \text{valeur du titre} \times 0,00195 \times 1,19 \times 100$$

II.2.3.2. Teneur en tannins

➤ Principe

Il repose sur la complexation des tannins par le réactif ferrique en milieu alcoolique acide, donnant une coloration rouge qui absorbe à 550 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à

la concentration en tannin dans l'échantillon. L'acide gallique a été utilisé comme standard. (Ndhala *et al.*, 2007)

➤ Mode Opératoire

Dans un erlenmeyer de 50 ml ont été introduits 1g d'échantillon et 25ml de l'éthanol (96%). Après 30 min d'agitation, le mélange a été filtré et centrifugé à 3000tr/min pendant 10min. Par la suite 0,5ml d'extrait a été prélevé dans un tube à essai, 3 ml du réactif butanol- HCL (95 :5) et 0,1 ml de réactif ferrique 2 % dans du HCL ont été introduits et le mélange a été mis au bain marie à 100°C pendant 1h. L'absorbance a été lue à 550 nm pour chaque échantillon contre un blanc réalisé en faisant un mélange similaire sans incubation. La formule ci- dessous développée par **Porter *et al.* (1986)**, donne la teneur en tannin condensés, exprimée en mg :

$$\text{Teneur en tannins} = \frac{DO \times 78,26 \times \text{facteur de dilution}}{\text{rendement (\%)}} \times 100$$

II.2.3.3. Teneur en Saponines

La détermination de la teneur en saponines par la méthode de **Kozol (1990)**.

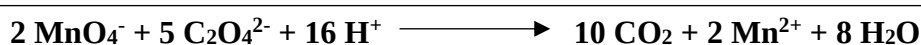
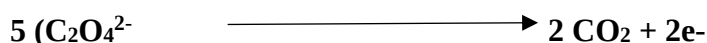
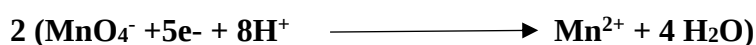
Dans un tube à essai 0, 5 g d'échantillon a été introduit ainsi que 5 ml d'eau distillée. Le tube a été agité vigoureusement pendant 30 secondes. Immédiatement après (5 à 10 s), la hauteur de la mousse formée a été mesurée à l'aide d'une règle graduée à 0,1 cm près. La concentration des saponines est donnée par la relation suivante :

$$\text{Saponine (mg)} = \frac{[(0,432) \times \text{hauteur de la mousse en cm après 5 à 10s}) + 0,008]}{\text{Masse de l'échantillon en g}}$$

II.2.3.4. Teneur en oxalates

➤ Principe

L'acide oxalique est oxydé par le permanganate de potassium en présence de l'acide sulfurique et à chaud suivant cette réaction (**Aina *et al.*, 2012**).



L'oxydation de l'acide oxalique est marquée par le virage du milieu au rose persistant pendant quelques secondes marquant la fin de la réaction.

➤ Mode Opératoire

Vingt-cinq ml du filtrat obtenu ont été recueillis et chauffé à 80-90°C puis maintenu au-dessus de 70°C en tout temps, l'échantillon chaud a été titré en continu avec 0,05 mol/L de KMNO_4 jusqu'à obtention d'une couleur rose pâle persistante (15 secondes minimum). La teneur en oxalate a alors été calculée en prenant 1ml de 0,05 mol/L de KMNO_4 Comme équivalent à 2,2 mg d'oxalate. Les résultats ont été exprimés en mg/100g de matière sèche.

$$\text{Teneur en oxalates} = \text{volume titré} \times 2,2 \text{ mg}$$

II.2.4. Analyse des composés phénoliques

II.2.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux

➤ Principe

Il est basé sur le transfert des électrons dans un milieu alcalin à partir des composés phénoliques et de toutes autres espèces réductrices au molybdène (Dhar *et al.*, 2012).

❖ Préparation de l'extrait

Une masse de 2 g d'échantillon a été pesée et introduite dans un bécher et 20 ml de solution hydro-éthanolique ont été ajoutés. L'ensemble a été vigoureusement agité à l'aide d'un agitateur magnétique et laisser reposer pendant 12h, puis le mélange obtenu a été filtré.

➤ Mode opératoire

Dans chaque tube, nous avons introduit 2000µL d'eau distillé, 100µL d'extrait à 100 µg/ml et 200µL de la solution de Folin-Ciocalteu (2N). Une courbe d'étalonnage de l'acide gallique a été faite à l'aide d'une concentration initiale de 100 µg/ml afin de préparer des solutions filles avec différents volumes de la solution mère (0, 20, 40, 60, 80, 100 µL). Les volumes ont été complétés à 100 µL avec du méthanol pur puis 200µL de Folin-Ciocalteu ont été également ajouté dans chaque tube.

Après un repos pendant 3 min, nous avons ajouté 1000 µL de carbonate de Sodium 20 % dans chaque tube. Le mélange a été incubé 1 heure à l'obscurité et à température ambiante. La densité optique a été lue à 700 nm.

Les teneurs en polyphénols totaux ont été exprimées en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) en utilisant la droite d'étalonnage. Le mode opératoire est résumé dans le tableau suivant :

Tableau IV: Protocole d'étalonnage des composés phénoliques

N° de Tubes	Blanc	1	2	3	4	5
Acide gallique (100ug/ml) (μL)	/	20	40	60	80	100
Méthanol (μL)	100	80	60	40	20	/
Eau distillée (μL)	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Folin-Ciocalteu 2N (μL)	200	200	200	200	200	200
Mélanger. Laisser 3 minutes à température ambiante.						
NaHCO ₃ 20% (m/v) (μL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Mélanger, puis laisser à température ambiante à l'obscurité pendant 1h et lire la DO de la couleur bleue à 700 nm contre le blanc.						
Acide gallique (μg)	0	2	4	6	8	10

II.2.4.2. Dosage flavonoïdes totaux

➤ Principe

Les flavonoïdes en présence du chlorure d'aluminium donnent des complexes de couleur jaune qui absorbent à 430 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans le milieu réactionnel.

➤ Mode opératoire

Dans les tubes blancs et tests ont été respectivement introduits, 500 μL de méthanol et 500μL de la solution d'extrait et 500 μL de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) 2 % (m/v) a été introduit dans chacun des tubes. L'ensemble des tubes a été mélangé à l'aide du vortex puis ont été incubé à température ambiante pendant 1 h et les densités optiques de la coloration jaune lues à 430 nm contre le blanc. Le dosage a été réalisé en triple et la quercétine a été utilisée comme étalon. Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en milligrammes équivalents de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

Tableau V: Protocole d'étalonnage des flavonoïdes

N de Tubes	Blanc	1	2	3	4	5
Quercétine (1µg/mL) (µL)	/	100	200	300	400	500
Méthanol (µL)	500	400	300	200	100	/
AlCl ₃ 2% (m/v) (µL)	500	00	500	500	500	500
Mélanger. Laisser à température ambiante pendant 1h et lire la DO de la couleur bleu à 430nm contre le blanc.						
Quercétine (µg)	0	1	2	3	4	5

II.2.5. Effet d'une alimentation supplémentée avec diverses formes (crues, torréfiés, croquants) de graines de sésame sur quelques organes de l'appareil reproducteur des rats mâles

1 -Protocole expérimental (Mahabadi *et al.*, 2013) modifié.

Vingt rats mâles de souche Wistar âgés de 6 semaines dont le poids était compris entre 80-90g ont été acclimatés pendant 14 jours puis subdivisés en 4 groupes de 5 rats âgés de 8 semaines chacun.

- Groupe 1 : les rats recevaient une alimentation standard
- Groupe 2 : les rats recevaient l'alimentation standard + 30% des graines crues de sésames broyées
- Groupe 3 : les rats recevaient l'alimentation standard + 30% des croquants de sésame broyées
- Groupe 4 : les rats recevaient l'alimentation standard + 30% des graines torréfiées de sésame broyées.

La masse corporelle des animaux a été relevée chaque jour afin de suivre leur évolution corporelle. Au terme du 45ème jour d'expérimentation les rats des différents groupes ont été tués sous anesthésie par décapitation.

Le sang prélevé dans les tubes secs pour la préparation du sérum qui a servi pour le dosage de certains paramètres biochimiques tels que le cholestérol total, la testostérone et la phosphatase acide.

Les organes androgéno-dépendants tels que les testicules, épидидymes, la vésicule séminale et la prostate ont été soigneusement prélevés puis rincés dans de l'eau physiologique (solution de NaCl 0,9 %) puis ils ont été essorés sur du papier absorbant et pesés. Des homogénats ont été préparés à partir du testicule, l'épididyme et la vésicule séminale. Les homogénats obtenus ont permis le dosage de certains paramètres biochimiques à l'instar du fructose vésiculaire, cholestérol et certains

marqueurs du stress oxydant tels que la catalase, le glutathion réduit, superoxyde dismutase et le Malondialdehyde.

L'épididyme gauche a été prélevé pour l'analyse quantitative et qualitative des spermatozoïdes.

Tableau VI: Composition de l'alimentation (100g)

Composition	Aliment	Alimentation standard (AS)	AS enrichie en poudre de S BR ou S CRO ou S TOR		
			Quantité pour 100g		
			S BR	S CRO	S TOR
Glucides	Mais	32,15	24,25	24,25	24,25
	Son de blé	1,18	0,82	0,82	0,82
	Arachide	1,16	0,81	0,81	0,81
	Farine de blé	6,93	4,85	4,85	4,85
	Sésame cru	/	3,28	/	/
	Croquants de sésame	/	/	9,32	/
	Sésame torréfiées	/	/	/	0,94
Lipides	Mais	2,25	0,28	0,28	0,28
	Poissons	1,73	1,21	1,21	1,21
	Son de blé	0,22	0,15	0,15	0,15
	Arachide	1,79	2,54	2,54	2,54
	Farine de blé	0,08	0,056	0,056	0,056
	Farine d'os	0,445	0,31	0,31	0,31
	Palmiste	0,22	0,15	0,15	0,15
	Sésame Cru	/	18,22	/	/
	Croquants de Sésame	/	/	13,19	/
	Sésame torréfiée	/	/	/	19,09
Protéines	Mais	6	5,69	5,69	5,69
	Poisson	3,44	2,41	2,41	2,41
	Son de blé	0,77	0,53	0,53	0,53
	Arachide	1,72	1,25	1,25	1,25
	Farine de blé	1,17	0,81	0,81	0,81
	Farine d'os	1,9	1,33	1,33	1,33
	Palmiste	1,28	0,89	0,89	0,89
	Sésame cru	/	4,88	/	/
	Croquants de sésame	/	/	5,05	/
	Sésame torréfiée	/	/	/	6,97
Fibres	Mais	4,85	1,36	1,36	1,36
	Farine de blé	0,39	0,27	0,27	0,27
	Arachide	0,68	0,47	0,47	0,47
	Sésame cru	/	4,13	/	/
	Croquants de sésame	/	/	3,33	/
	Sésame torréfiée	/	/	/	4,28

Vitamine	Premix	1	0,7	0,7	0,7
-----------------	--------	---	-----	-----	-----

S BR: sesame cru, **S CRO:** croquants de sesame, **S TOR:** sesame torréfié.

2- Détermination de la prise alimentaire

La consommation en aliments a été déterminée par différence entre la quantité d'aliments (g) déposée le jour j et la quantité d'aliment restant le jour suivant pour chaque groupe de rats à 9h.

3- Evolution de la masse corporelle

La masse de chaque rat des différents groupes a été notée chaque jour jusqu'au 45^{ème} jour marquant la fin de l'expérimentation.

4- paramètres pondéraux des organes sexuels

Une fois les animaux sacrifiés, le poids relatif de chaque organe était déterminé par la formule suivante :

$$\text{Poids relatif} = \frac{\text{poids de l'organe (g)}}{\text{poids corporel (g)}} \times 100$$

II.2.6. Effet d'une alimentation enrichie en poudre de graines crues, torréfiées ou des croquants de sésame sur les paramètres spermatiques.

II.2.6.1. Analyse quantitative : Numération des spermatozoïdes dans l'épididyme du rat

➤ Principe

Il est basé sur le dénombrement au microscope des spermatozoïdes contenus dans un volume déterminé de dilacérât préférentiellement de la queue de l'épididyme.

➤ Mode opératoire

La méthode utilisée est celle décrite par **Ngoula et al. (2007)**. Immédiatement après avoir tués les rats, la queue de l'épididyme gauche de chaque rat a été prélevée, puis dilacérée dans un bécher contenant 10 ml de NaCl 0,9 % préalablement incubé dans un bain marie à 34 ° C. La motilité des spermatozoïdes a été appréciée par examen direct de la solution précédente. Ainsi, 20 µL de cette solution ont été placée sur lame recouverte d'une lamelle et observé au microscope électronique au grossissement 400X. Les spermatozoïdes mobiles et immobiles ont été ensuite rapidement comptés au hasard sur 4 champs de la cellule de Malassez et le pourcentage des formes mobiles a été déterminé à partir de la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de spermatozoïdes mobiles} = \frac{\text{Nombre de spermatozoïdes mobiles}}{\text{Nombre de spermatozoïdes comptés}}$$

Le dénombrement des spermatozoïdes a été effectué au microscope électronique. Le nombre de spermatozoïdes par ml a été estimé par la formule (Sultan *et al.*, 1982).

$$N = \frac{X \cdot fd \cdot Cte}{4}$$

N : Nombre de spermatozoïdes par ml.

X : Nombre de spermatozoïdes comptés dans 4 quadrillés de 20 petits carrés de la cellule de MALASSEZ.

Fd (facteur de dilution) = 20

Cte (constante) = 10^6

II.2.6.2. Analyse qualitative : Etude de la viabilité des spermatozoïdes

➤ Principe

La membrane plasmique des cellules germinales vivantes ne laisse pas diffuser de substances colorantes ou exogènes contrairement à celle des cellules germinales mortes qui le permet. Les spermatozoïdes morts sont de couleur sombre. Cette réduction de la perméabilité leur permet ainsi de préserver leur intégrité.

➤ Mode opératoire

La queue de l'épididyme gauche de chaque rat a été prélevée, puis dilacérée dans un bêcher contenant 10 ml de NaCl 0,9 % préalablement incubé dans un bain marie à 34 °C. A l'aide d'une micropipette, 10 µL de la solution contenant l'épididyme dilacéré ont été prélevés et déposés sur une lame où nous avons ajouté 10 µL d'éosine 0,5 %. Le tout a ensuite été bien homogénéisé. Enfin, nous avons recouvert la lame d'une lamelle qui a été observée à l'aide du microscope au grossissement 400X. La viabilité a été faite visuellement par observation des spermatozoïdes vivants (coloration claire) et les spermatozoïdes morts avaient plutôt une coloration sombre.

II.2.7. Effet d'une alimentation enrichie en graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur certains paramètres biochimiques et certains marqueurs du stress oxydants

1. Préparation du sérum et des homogénats

1.1 Préparation du Sérum

Une fois les rats tués, le sang recueilli dans les tubes secs a été centrifugé à $1620\times g$ pendant 15 minutes. Le surnageant constituant le sérum a été recueilli dans des tubes Eppendorf préalablement étiquetés et conservés à -20°C pour l'évaluation de certains paramètres biochimiques tels que la testostérone, le cholestérol total, L'activité de la phosphatase acide.

1.2 Préparation des homogénats

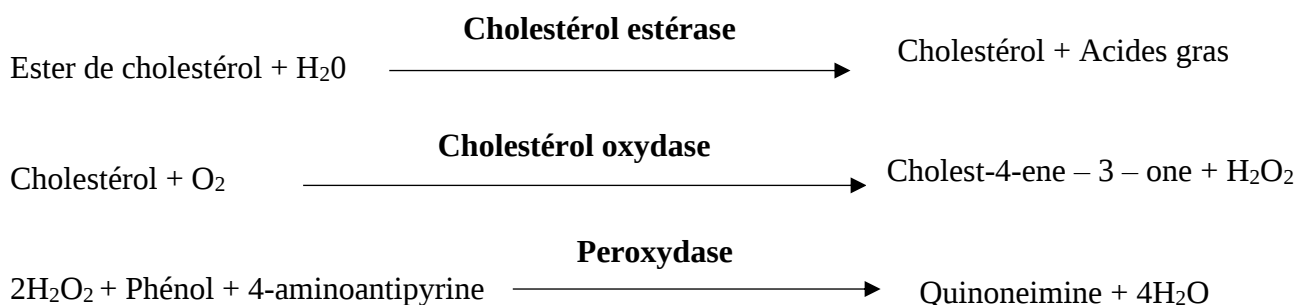
Les testicules, épидидymes, vésicules séminales de chaque rat ont été respectivement broyés à l'aide d'un mortier et d'un pilon en céramique respectivement. Ces derniers ont été mis dans un bain de glaces avec une pincée de sable Fontainebleau. Par la suite, il a été ajouté respectivement aux différents broyats, un volume de 2mL de tampon phosphate sodium, tampon phosphate potassium et d'eau distillée. Le mélange a été transféré dans les tubes secs et centrifugé à $1620\times g$ pendant 10 min. Le surnageant recueilli a été aliquoté dans des tubes Eppendorf préalablement étiquetés et conservés à -20°C .

II.2.7.1. Dosages des paramètres biochimiques

II.2.7.1.1. Dosage du cholestérol total sérique (Schettler et Nussel, 1975)

➤ Principe

L'ester de cholestérol est hydrolysé en présence de la cholestérol estérase en cholestérol libre. Le cholestérol libre produit est oxydé par cholestérol oxydase en cholest-4-ène- 3- one avec production simultanée de peroxyde d'hydrogène. Ce peroxyde d'hydrogène va se coupler par oxydation avec la 4-aminoantipyrine et le phénol en présence de la peroxydase pour former complexe coloré (quinoneimine) avec une absorbance maximale à 500nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon.



➤ Mode opératoire

La concentration du cholestérol a été déterminée à l'aide d'un kit de dosage colorimétrique de marque Immesco (Allemagne). Le dosage a été réalisé comme décrit dans le tableau ci-dessous.

Tableau VII: Protocole de dosage du cholestérol

Tubes	Blanc	Standard	Echantillons
Eau distillé (µL)	10		
Standard (µL)		10	
Echantillon (µL)			10
Réactif de travail (ml)	1	1	1

Après agitation, le mélange a été incubé à 37 °C dans un bain marie pendant 5 minutes. Les absorbances des échantillons et du standard ont été lues contre le blanc au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 500 nm.

$$\text{Conc de l'échantillon} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right) = \frac{\text{absorbance de l'essai}}{\text{absorbance du Standard}} \times \text{concentration du standard}$$

Concentration du standard = 200 mg/dL

II.2.7.1.2. Dosage de la testostérone sérique par la méthode *ELISA* (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) compétitif

➤ Principe

Cette technique est basée sur une réaction de compétition pour la fixation sur un anticorps monoclonal fixé dans les puits de la microplaque de culture ; entre l'antigène marqué qui est la testostérone du kit conjugué à la peroxydase et l'antigène à doser qui est la testostérone de l'échantillon. L'ajout du substrat, le Tetraméthylbenzidine (TMB) de l'enzyme permet une réaction enzymatique aboutissant à la formation d'un complexe coloré absorbant à 450 nm. L'intensité du complexe coloré est inversement proportionnelle à la quantité de testostérone à doser.

➤ Mode opératoire

Ce dosage a été effectué à l'aide du kit Testostérone *ELISA* de MONOCENT (N° de catalogue EL1-1263) selon le protocole décrit par le fabricant (**Tableau VI**). Tous les réactifs ont été ramenés à température ambiante avant le début de la manipulation. Cinquante microlitres de standard ou de

surnageant ont été introduits dans les puits de la microplaque de titration, suivi de 100 µL de testostérone conjuguée 1 X et 50 µL de testostérone-biotine ont été ajoutés dans chaque puits. La microplaque a été légèrement agitée à l'aide d'un vortex puis elle a été recouverte pour incubation pendant 60 minutes et le contenu a été éliminé. Après 3 lavages de puits avec du tampon de lavage, les puits ont été bien séchés à l'aide d'un papier absorbant, puis 100 µL de TMB ont été ajoutés dans chaque puit, la microplaque a été agitée et recouverte comme précédemment, puis incubée à température ambiante pendant 30 minutes. Après cette seconde incubation, la réaction a été stoppée par ajout de 50 µL de solution stop, la microplaque a encore été légèrement agitée et la densité optique de chaque puits a été mesurée à 450 nm à l'aide d'un lecteur de plaque *ELISA*. Les concentrations de testostérone ont été déterminées par extrapolation des densités optiques sur la courbe d'étalonnage réalisée avec le standard

Tableau VIII: Protocole d'étalonnage pour le dosage de la testostérone

		Concentration du standard (ng/ml)					
		0	0,2	0,5	2	6	18
Standard (µL)		50	50	50	50	50	50
Testostérone-Enzyme conjugué (µL)		100	100	100	100	100	100
Anti-Testostérone biotine (µL)		50	50	50	50	50	50
Après introduction des réactifs ci-dessus, la microplaque a été agitée légèrement pendant 30 secondes, puis couverte et incubée à 25° C, pendant 60 minutes, Après incubation, le surnageant a été éliminé et tous les puits ont été rincés 3 fois avec le tampon de lavage et bien séchés.							
Substrat TMB (µL)	100	100	100	100	100	100	100
Après introduction du substrat, la microplaque a été agitée, puis recouverte et incubée à 2 - 5° C, pendant 30 minutes.							
Solution stop (µL)	50	50	50	50	50	50	50

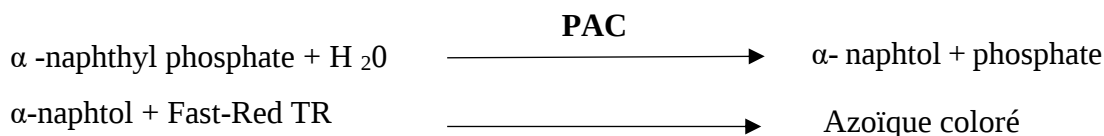
Après ajout de la solution stop, les densités optiques (DO) ont été mesurées à 450 nm, et la droite $DO = f([Standard])$ a été tracée (Annexe c).

II.2.7.1.3. Dosage de la phosphatase acide prostatique E.C (3.1.3.2)

➤ Principe

En milieu acide à pH 5, la phosphatase acide (PAC) catalyse l'hydrolyse la α -naphtyl phosphate ou phosphate inorganique en α -naphtol et phosphate. Le α -naphtol est couplé à un sel de

diazonium (Fast Red TR ou diazo-5- toluène) pour former un azoïque coloré ayant un pic d'absorption à 405 nm.



➤ Mode opératoire

Le protocole de dosage a été fourni par le kit les différents tubes ont été complétés comme l'indique le tableau ci-dessous :

Tableau IX: Protocole de dosage de la phosphatase acide

	PAC Total (T)	PAC Non prostatique (No P)
RT (mL)	1	1
R3 (μL)		10
Echantillon (μL)	100	100

Mélanger et incuber pendant 5 minutes, lire l'absorbance (A1) initiale de l'échantillon. Mettre en route un chronomètre et lire l'absorbance à chaque minute pendant 3 minutes (A2).

L'activité de la PAP (phosphatase acide prostatique) est obtenue par différence de l'activité de la PAC totale à celle de la PAC non prostatique

Différence d'absorbances : A2-A1

$\Delta A/\text{min} \times 750 = \text{U/L de PAC (T)}$

$\text{U/L de PAC prostatique} = 750 \times (\Delta A/\text{min PAC (T)} - \Delta A/\text{min PAC non protatique})$

PAC (T) : phosphatase acide total.

II.2.7.1.4. Dosage des protéines totales testiculaire et épididymaire

➤ Principe

En milieu basique (NaOH), le tartrate forme avec le sel cuivrique un complexe soluble. L'addition d'une protéine déplace le cuivre du complexe avec le tartrate pour former un autre complexe bleu-violet qui absorbe à 540 nm. L'intensité de coloration est proportionnelle à la concentration en protéines dans la solution (Gornal *et al.*, 1949).

➤ Mode opératoire

Les différents réactifs ont été additionnés comme indiqué dans le tableau ci-dessous. Après dissolution de tous les produits, les tubes ont été agités et incubés à 25° C pendant 30 minutes, puis la densité optique a été lue au spectrophotomètre à 540 nm contre le blanc.

Tableau X: Protocole de dosage des protéines totales testiculaires par la méthode de Biuret

	Blanc		Étalons				Tubes tests
Tubes	0	1	2	3	4	5	
SAB (ml) (3mg/ml)	0	0,1	0,2	0,4	0,6	1	
NaCl 0,9% (ml)	3	2,9	2,8	2,6	2,4	2	2,950
Echantillon (ml)							0,05
Réactif de Biuret (ml)	3	3	3	3	3	3	3
Quantité de protéines (mg)	0	0,3	0,6	1,2	1,8	3	
Homogénéiser et laisser à température ambiante pendant 30 min à l'abri de la lumière pour lire la DO a 540 nm.							

La quantité de protéines dans chaque tube a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage

II.2.7.1.5. Dosage du fructose vésiculaire

➤ Principe

En milieu acide, l'indole réagit avec le fructose en solution pour donner un composé marron qui absorbe à 470 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration du fructose dans le milieu (OMS,1993).

➤ Mode opératoire

A 0,1ml d'échantillon dilué 50 fois ont été ajouté successivement 0,3 ml de sulfate de zinc 1.8 % et 0,2 ml de NaOH 0,1 M. Les tubes ont été laissés au repos après homogénéisation, puis centrifugés pendant 20 min à 2000trs/min. Le surnageant a été utilisé pour le dosage. Les différents réactifs ont été utilisés comme l'indique le tableau ci-dessous.

Tableau XI: Protocole de dosage du fructose vésiculaire

Tubes	Blanc	Standard 1	Standard 2	Echantillon
Fructose 0,14 mM (ml)		0,5		
Fructose 0,28 Mm (ml)			0,5	
Surnageant (ml)				0,5
Eau distillé (ml)	0,5			
Indole (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5
HCL concentré	0,5	0,5	0,5	0,5
Tous les tubes ont été bouchés et incubés au bain - marie à 50°C pendant 20 minutes.				

Après refroidissement, la densité optique a été lue à 470 nm contre le blanc. La concentration de fructose ($\mu\text{mol/g}$ d'organe) dans les échantillons a été calculée par la formule suivante :

$$\text{Concentration du Fructose} = \frac{\text{Do} \cdot F}{f}$$

Où f : facteur de dilution ; F : valeur moyenne du fructose standard

Do : densité optique de l'échantillon

$$F = 1/2 \left[\frac{0,14}{\text{DO1}} + \frac{0,28}{\text{DO2}} \right]$$

DO1 : densité optique moyenne lue pour le fructose 0,14 M

DO2 : densité optique moyenne lue pour le fructose 0,28M

II.2.7.2. Dosage de quelques marqueurs du stress oxydatif dans l'homogénat testiculaire et épididymaire

II.2.7.2.1. Dosage de l'activité de la catalase (EC 1.11.1.6)

➤ Principe

Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase et se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchlorique instable qui va être ensuite décomposé par la chaleur et former un complexe vert qui absorbe à 570 nm (**Sinha, 1972**).

➤ Mode opératoire

Dans le tube test et blanc ont été introduits 50 μL d'échantillon et d'eau distillée respectivement, par la suite, ont été ajoutés 750 μL de tampon phosphate (0,1 mM ; pH 7,5) et 200 μL de peroxyde d'hydrogène 50 mM. L'ensemble a été homogénéisé et la réaction a été arrêtée après 60 secondes par

addition de 2 ml du mélange dichromate de potassium/acide acétique glacial 0,5%. L'ensemble a été chauffé à 100°C pendant 10 min. Après refroidissement, l'absorbance a été lue au spectrophotomètre à 570 nm contre le blanc. Le modèle d'une courbe de régression linéaire du logiciel EXCEL a été utilisé pour l'obtention de la courbe d'étalonnage obtenue selon le protocole indiqué dans le tableau XII ci-dessous.

Tableau XII: Protocole d'étalonnage pour le dosage de l'activité de la catalase

Tubes	1	2	3	4	5
H ₂ O ₂ (50mM) (μL)	0	20	40	80	160
Solution de dichromate de potassium/ Acide acétique glacial (ml) 0,5%	2	2	2	2	2
Après formation du précipité bleu, les solutions ont été chauffées jusqu'à ébullition pendant 10 min et refroidis à température ambiante.					
Eau distillée (μL)	1000	980	960	920	840
L'absorbance des tubes a été lue à 570 nm.					
Concentration en H ₂ O ₂ (mM)	0	2	4	8	16

La droite d'étalonnage en fonction des concentrations H₂O₂ a été tracée et l'activité spécifique de la catalase a été déterminée à partir de la formule suivante :

$$Act\ CAT = \frac{\Delta DO \times f}{a \times t \times m}$$

Act CAT = Activité de la catalase (mM de H₂O₂/min/g d'organe) ;

ΔDO réelle = DO essai - DO blanc ;

f = facteur de dilution (10) ;

a = Pente de la courbe d'étalonnage ; t = durée de la réaction (1 min) ; m = Masse de l'organe (g).

II.7.2.3.2. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase (EC 1.15.1.1)

➤ Principe

La présence des peroxydes dismutase (SOD) dans un échantillon inhibe l'oxydation de l'adrénaline en adrenochrome, La variation de l'absorbance est proportionnelle à l'activité du superoxyde dismutase qui a été notée entre 20 et 80 secondes à 480 nm (Misra et Fridovich, 1972).

➤ Mode opératoire

Cent trente- quatre microlites d'eau distillée et 134µL d'homogénat d'organes ont été introduits respectivement dans les tubes blanc et essai, puis 1666 µL de tampon carbonate a été introduit dans les tubes. Par la suite 200µL d'Adrénaline ont été ajouté au mélange. L'augmentation de l'absorbance a été notée entre 20 et 80 secondes à 480 nm. L'activité de la SOD a été déterminée comme suit :

- La variation de L'absorbance : $\Delta A(\text{min}) = A_{20\text{s}} - A_{80\text{s}}$
- % d'inhibition = $100 - (\Delta A_{\text{essai}} \times 100 / \Delta A_{\text{blanc}})$.

II.2.7.3.3. Dosage de l'activité du glutathion réduit

➤ Principe

Ce principe repose sur la réaction d'oxydation du glutathion par l'acide 5,5-dithiobis-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) de couleur jaune absorbant à 412 nm selon la réaction suivante (**Ellman, 1959**). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de glutathions dans le milieu.

➤ Mode opératoire

Dans les tubes blancs et essai, 20µL tampon phosphate et 20µL d'homogénat de chaque organe ont été introduits respectivement, puis 3 ml du réactif d'Ellman a été ajouté. Après homogénéisation, les tubes ont été incubés à température ambiante pendant 1h, et l'absorbance a été lue à 412 nm contre le blanc. La teneur de glutathion cellulaire exprimée en mmol/mg a été calculée par la formule ci-après :

$$\text{Concentration} = \frac{\Delta DO \times VTs \times 1000}{\epsilon_{\text{glutathion}} \times V_{\text{sp}} \times QP \times 1}$$

Avec :

- Concentration en mmol/mg
- $\Delta DO = DO \text{ essai} - DO \text{ blanc}$
- $\epsilon_{\text{glutathion}} = \text{coefficient d'extinction molaire du glutathion} = 13\,600 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$
- VTs = volume total surnageant (ml)
- Vsp= volume surnageant prélevé pour le test (µL)
- QP= quantité de protéines en mg

II.7.2.3.4. Dosage du Malondialdéhyde

➤ Principe

Le Malondialdéhyde (MDA) formé au cours de la peroxydation lipidique réagit avec l'acide thiobarbiturique en milieu acide et chaud, pour donner un complexe rose qui présente un maximum d'absorption à 530 nm (Wilbur *et al.*, 1949).

➤ Mode opératoire

Dans les tubes à essai et blanc, ont été respectivement introduits 500 µl de l'homogénat d'organe et 500 µl de KCl 1,15 %. Par la suite ont été ajoutés 250 µl d'acide trichloracétique (TCA) 20 % et 500 µl d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 % dans chaque tube. Ces derniers ont été bouchés à l'aide des billes de verre et incubés pendant 10 min à 90 °C au bain-marie. Ils ont ensuite été refroidis dans un bain de glace et centrifugés à 3000 tours pendant 15 min à 25 °C. Le surnageant a été pipeté et l'absorbance a été lue à 530 nm contre le blanc. La teneur en MDA a été calculée à l'aide du coefficient d'extinction molaire et exprimée en mol/g suivant la formule :

$$Teneur = \frac{\Delta DO \times VTs \times 1000}{\epsilon_{MDA} \times Vsp \times m}$$

- $\Delta DO = DO \text{ essai} - DO \text{ blanc}$
- ϵ_{MDA} = coefficient d'extinction molaire du MDA = $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
- l = trajet optique (1cm)
- VTs = volume total surnageant (ml)
- m = poids du testicule (g)
- Vsp = volume surnageant prélevé pour le test (µL).
-

II.2.8. Analyse statistique

Les données obtenues pour tout ce travail ont été introduites dans Excel et analysées grâce au logiciel Graphpad Prim 8.01 et les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne $\pm$ écart- type. Le test ANOVA à un facteur suivi du post test de Tukey ainsi que le test kruskal-wallis suivi du post test de Dunn pour un seuil de significativité $p < 0,05$ ont été utilisées pour l'analyse statistique.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Teneurs en macronutriments des différentes formes de consommations des graines de Sésame

Tableau XIII: Teneurs moyenne en macronutriments des graines crues, torréfiées et croquants de sésame exprimées en g/100g de matière sèche.

	S BR	S TOR	S CRO
Matière sèche	94,34±0,76 ^{b, c}	97,67±0,59 ^a	96,91±0,35 ^a
Lipides	60,76± 1,71 ^c	63,65±2,13 ^c	43,99±2,65 ^{a, b}
Protéines	16,27±0,01 ^{b, c}	23,25±0,03 ^{a, c}	16,86±0,03 ^{a, b}
Cendre	6,36±0,03 ^{b, c}	7,25±0,05 ^{a, c}	2,9±0,04 ^{a, b}
Fibres brutes	13,78±0,06 ^{b, c}	14,27±0,06 ^{a, c}	11,13±0,07 ^{a, b}
Glucides totaux	10,94±1,74 ^{b, c}	3,14± 2,06 ^{a, c}	31,08±1,93 ^{a, b}

a : différence significative par rapport à BR, b : différence significative par rapport à TOR, c : différence significative par rapport à CRO. S BR : sésame crue ; S TOR : Sésame torréfiée ; S CRO : Croquants de sésame

III.1.2. Teneurs en minéraux des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame

Les résultats de la teneur en minéraux exprimés en mg/100 g de matière sèche (MS) dans nos différents échantillons à savoir : graines crues, torréfiées et croquants de sésame. Le minéral le plus abondant dans les graines crues et croquants de sésame était le calcium et le magnésium dans les graines torréfiées.

Tableau XIV: Teneur moyenne en minéraux : Zinc, Fer, Magnésium, Calcium (mg/100g MS)

Codes échantillons	Zn	Fe	Mg	Ca
BR	4,71±0,04 ^{b, c}	11,21±0,02 ^{b, c}	351,27±0,26 ^{b, c}	576,86±2,92 ^{b, c}
TOR	5,60±0,13 ^{a, c}	7,12±0,007 ^{a, c}	367,6±0,73 ^{a, c}	407,63±1,9 ^{a, c}
CRO	3,64±0,08 ^{a, b}	9,66±0,05 ^{a, b}	313,51±0,5 ^{a, b}	450,7±0,28 ^{a, b}

a : différence significative par rapport à BR, b : différence significative par rapport à TOR, c : différence significative par rapport à CRO. S BR : sésame crue ; S TOR : Sésame torréfiée ; S CRO : Croquants de sésame

III.1.3. Teneur en phytonutriments des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame.

➤ **Composition en phytates, oxalates, tannins et saponines (mg /100g MS) des graines**

Tableau XV: les teneurs moyennes en phytates, oxalates, tannins et saponines.

Code échantillons	Phytates	Oxalates	Tannins	Saponines
BR	150,83±16,40 ^{b, c}	0,14±0,01 ^{b, c}	0,7±0,03 ^{b, c}	0,44±0,00 ^{b, c}
TOR	104,42± 16,40 ^a	0,11±0,00 ^a	0,35±0,03 ^a	0,232±0,06 ^a
CRO	81,21± 16,40 ^a	0,05±0,01 ^{a, b}	0,05±0,02 ^{a, b}	0,1±0,0 ^a

a : différence significative par rapport à BR, b : différence significative par rapport à TOR, c : différence significative par rapport à CRO. BR : sésame crue ; TOR : Sésame torréfiée ; CRO : Croquants de sésame

Le tableau suivant présente la biodisponibilité théorique de certains minéraux des graines de sésame.

Tableau XVI: Biodisponibilité théorique de certains minéraux.

	Oxalates /Ca	Oxalates/(Ca+Mg)	Phytates/Zn	Phytates /Ca
Valeur critique	2,5	2,5	10-15	0,4
BR	0,00024	0,00015	32	0,26
TOR	0,00026	0,00014	18,64	0,25
CRO	0,00011	0,00006	22, 3	0,18

➤ Composition en constituants phénoliques

Tableau XVII: Teneurs moyennes en composés phénoliques totaux.

Les teneurs moyennes en composés phénoliques totaux et spécifiquement les teneurs en flavonoïdes sont respectivement exprimés en (mg/g d'extrait) et en (mg. Eq quercétine/g d'extrait).

Code échantillons	Composés phénoliques	Flavonoïdes
BR	60,15±0,93 ^{b, c}	7,73±0,15 ^c
TOR	49,11±0,93 ^{a, c}	7,43±0,36 ^c
CRO	47,32±0,68 ^{a, b}	6,85±0,72 ^{a, b}

a : différence significative par rapport à BR, b : différence significative par rapport à TOR, c : différence significative par rapport à CRO. BR : sésame crue ; TOR : Sésame torréfiée ; CRO : Croquants de sésame

III.1.4. Impact de l'alimentation sur l'évolution pondéral et la masse relative des organes

III.1.4.1. Prise de consommation alimentaire des différents groupes de rats

La figure 9 ci-dessous montre la variation dans la prise alimentaire hebdomadaire de nos différents groupes de rats. Aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée.

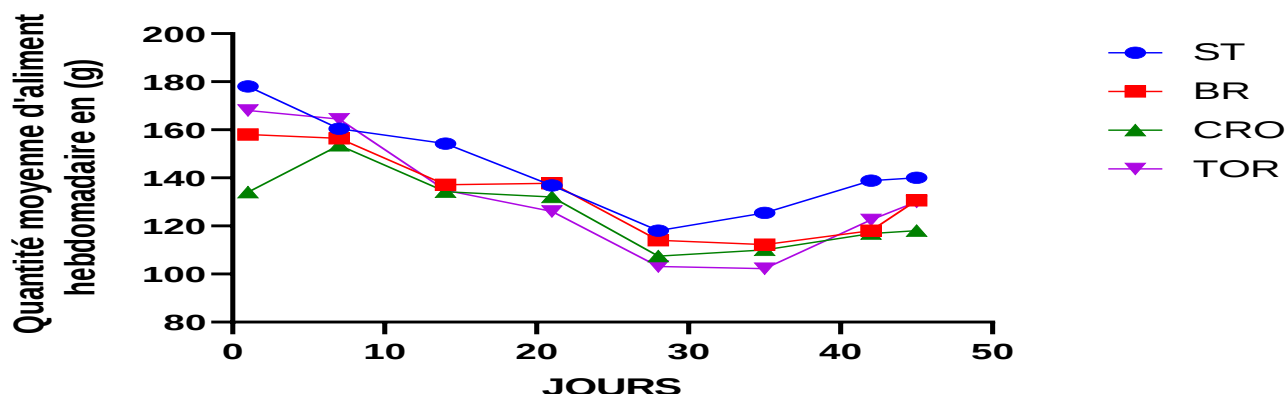


Figure 9: prise de consommation alimentaire

ST : groupe recevant le régime alimentaire standard, BR : groupe recevant le régime alimentaire standard enrichi à 30% de graines de sésame crues ; CRO : Groupe recevant le régime alimentaire standard enrichi à 30% de graines de sésame torréfiées, TOR : Groupe recevant le régime alimentaire standard enrichi à 30% de croquants de sésame.

III.1.4.2. Evolution pondérale des différents groupes de rats

Le graphe ci-contre nous présente l'évolution de la masse corporelle des rats des différents groupes au cours de l'expérimentation. De cette figure nous observons que le groupe dont le régime

était enrichi avec les graines de sésame torréfiées, a une masse plus croissante au cours du temps suivi du groupe recevant le régime supplémenté en graines crues de sésame.

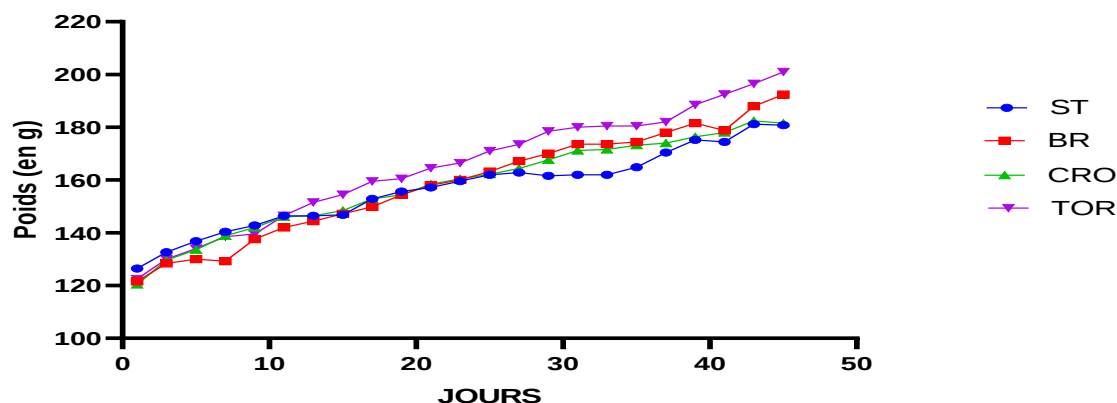


Figure 10: Evolution pondérale des rats de différents groupes

ST : groupe recevant le régime alimentaire standard, BR : groupe recevant le régime alimentaire standard enrichi à 30% de graines de sésame crues ; CRO : Groupe recevant le régime alimentaire standard enrichi à 30% de graines de sésame torréfiées, TOR : Groupe recevant le régime alimentaire standard enrichi à 30% de croquants de sésame.

III.1.4.3. Poids relatifs des organes

Le tableau ci-dessous présente la masse relative des organes (testicule, épididymes, prostate, vésicule séminale).

Tableau XVIII: Poids relatifs des organes

Groupes	Testicule	Epididyme	Prostate	Vésicule séminale
ST	0,481±0,18	0,236±0,03	0,064±0,03 ^c	0,369±0,11
BR	0,675±0,15	0,283±0,05	0,120±0,05	0,37±0,05
CRO	0,537±0,16	0,273±0,05	0,199±0,10 ^a	0,410±0,10
TOR	0,619±0,08	0,223±0,09	0,142±0,05	0,142±0,14

a : différence significative par rapport à ST, c : différence significative par rapport à CRO.

ST : groupe recevant le régime alimentaire standard, BR : groupe recevant le régime alimentaire standard supplémenté à 30% de graines de sésame crues ; CRO : Groupe recevant le régime alimentaire standard supplémenté à 30% de graines de sésame torréfiées, TOR : Groupe recevant le régime alimentaire standard supplémenté à 30% de croquants de sésame.

III.1.5. Impact de l'alimentation enrichie en poudre de sésame sur certains paramètres des spermatozoïdes

III.1.5.1. La numération des spermatozoïdes

Pour cette expérimentation qui a duré 45 jours, les rats ont été divisés en 4 groupes. Ces groupes de rats recevaient respectivement une alimentation standard, une alimentation standard enrichie à 30 % de poudre de graines crues, soit 30 % en graines torréfiées ou bien 30 % des croquants de sésame. La figure 11 présente l'analyse quantitative des spermatozoïdes. Il ressort de cette figure que la mobilité progressive des spermatozoïdes a augmenté de manière significative ($P < 0,05$) dans tous les groupes dont l'alimentation avait été enrichie par rapport au groupe ST (alimentation standard).

De même la mobilité non progressive a augmenté chez tous les groupes dont l'alimentation avait été supplémentée mais la significativité ($P < 0,05$) a été observée chez le groupe TOR (Supplémentation en graines torréfiées) par rapport au groupe ST (régime standard).

Pour ce qui était de l'immobilité, nous avons observé une différence significative chez le groupe CRO (supplémenté en croquant de sésame) par rapport au groupe ST (régime standard).

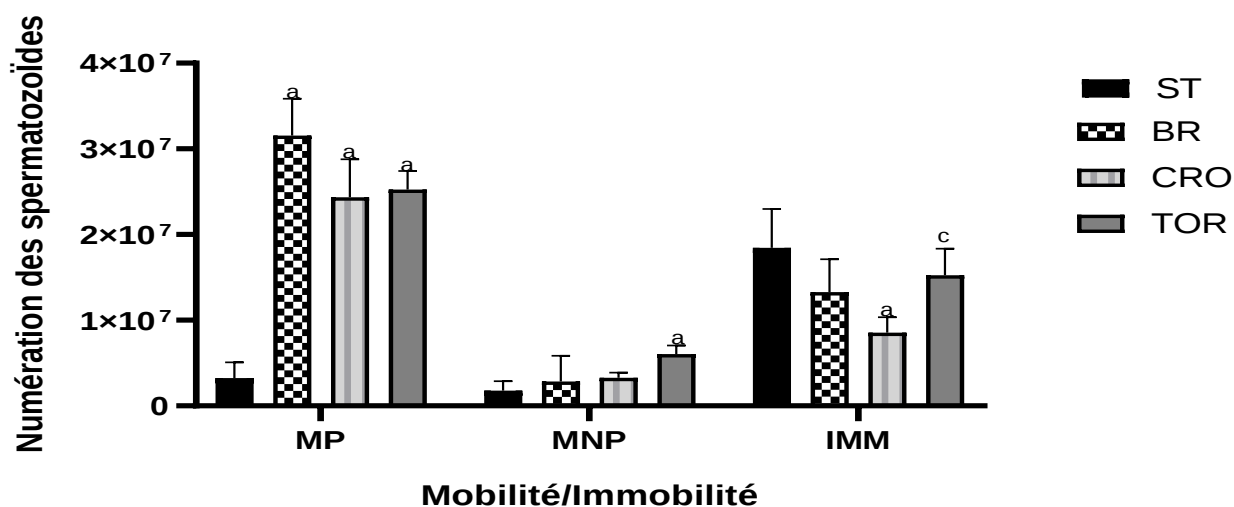


Figure 11: Numération des spermatozoïdes

Les barres représentent la moyenne $\pm$ Ecart-type ($n = 4$). **ST** = groupe de rats ayant été alimentés au régime standard (control) ; **BR** = groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des graines de sésame crues ; **CRO** : groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des croquants de sésame. **TOR** = groupes de rats ayant été alimentés à 30% des graines de sésame torréfiées. *a* : différence significative par rapport à ST ; *c* : différence par rapport à CRO. **MP** : mobilité progressive, **MNP** : mobilité non progressive, **IMM** : immobilité.

III.1.5.2. La viabilité des spermatozoïdes

La figure ci-dessous présente la viabilité des rats à la suite de l'expérimentation. Il ressort de cette figure que la viabilité des spermatozoïdes avait augmenté de manière significative ($P < 0,05$) chez tous les groupes de rats dont l'alimentation était supplémentée (BR, CRO, TOR) par rapport au groupe contrôle ST.

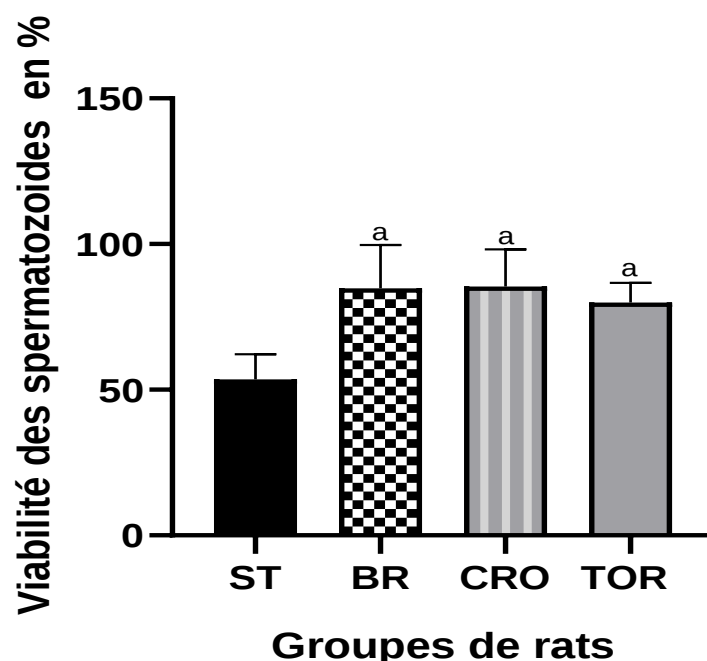


Figure 12: Viabilité des spermatozoïdes

Les barres représentent la moyenne $\pm$ Ecart-type ($n = 4$). **ST**= groupe de rats ayant été alimentés au régime standard (control) ; **BR** = groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des graines de sésame crues ; **CRO** : groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des croquants de sésame. **TOR** = groupes de rats ayant été alimentés a 30% des graines de sésame torréfiées. *a* : différence par rapport à ST.

III.1.6. Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur les paramètres biochimiques

III.1.6.1. Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur le taux de cholestérol sérique et testiculaire

La figure 13 présente l'effet de la consommation des graines crues, torréfiées, croquants de sésame respectivement sur le taux de cholestérol sérique (A) et testiculaire (B). Aucune différence significative du taux de cholestérol n'a été observée dans tous les groupes.

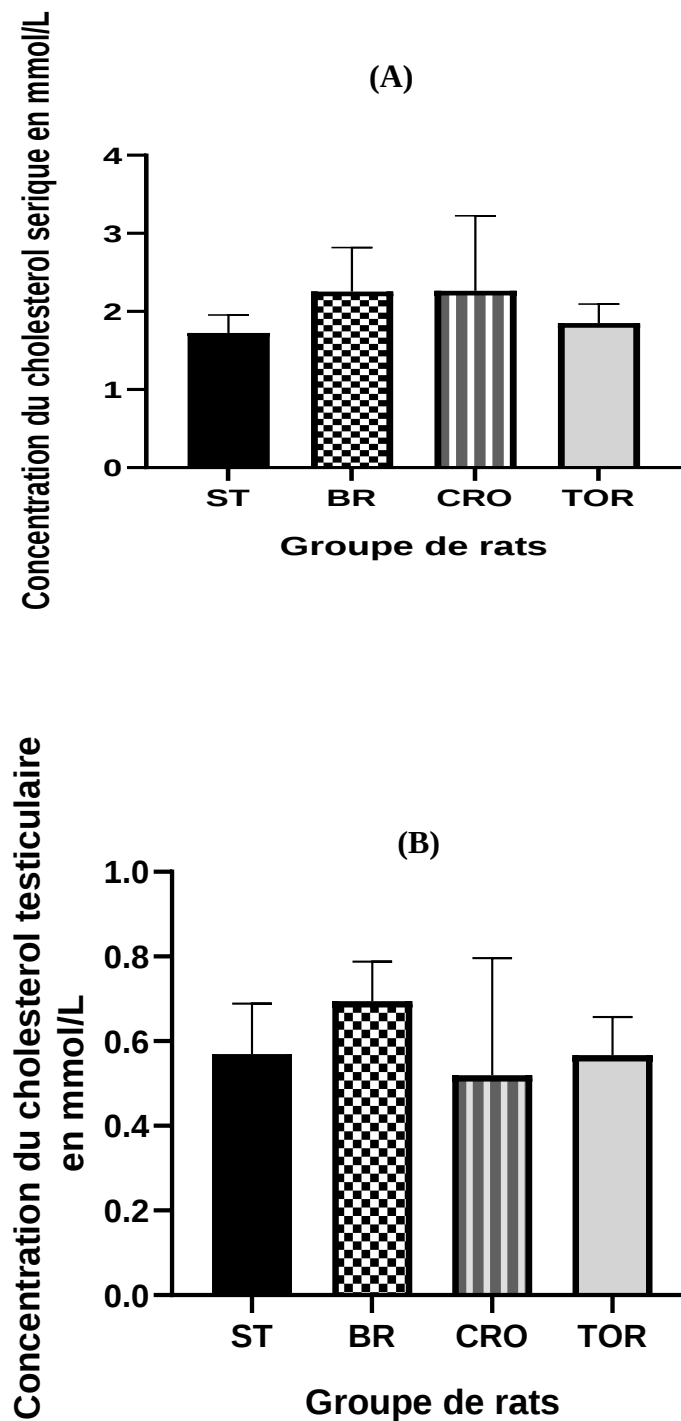


Figure 13: effet des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur le taux de cholestérol sérique (A) et sur le taux de cholestérol testiculaire (B).

Les barres représentent la moyenne $\pm$ Ecart-type ($n = 4$). **ST** = groupe de rats ayant été alimentés au régime standard (control) ; **BR** = groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des graines de sésame crues ; **CRO** : groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des croquants de sésame. **TOR** = groupes de rats ayant été alimentés à 30% des graines de sésame torréfiées.

III.1.6.2. Effet des graines de sésame crues, torréfiées et croquant de sésame sur le taux de testostérone sérique

La figure 14 présente l'impact des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur le taux de testostérone des rats des différents groupes. Le taux de testostérone des rats ayant reçu 30 % des graines crues de sésame est significativement supérieur au taux de testostérone des autres groupes tests et contrôle.

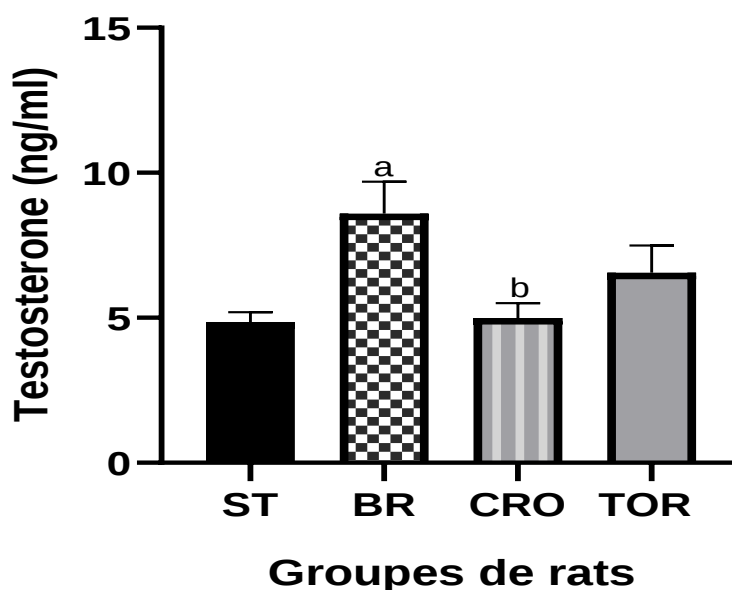


Figure 14: Effet des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur le taux de testostérone

Les barres représentent la moyenne $\pm$ Ecart-type ($n = 4$). **ST**= groupe de rats ayant été alimentés au régime standard (control) ; **BR** = groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des graines de sésame crues ; **CRO** : groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des croquants de sésame. **TOR** = groupes de rats ayant été alimentés à 30% des graines de sésame torréfiées. *a* = différence significative par rapport à ST. *b* : différence par rapport à BR.

III.1.6.3. Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur l'activité de la phosphatase acide prostatique

La figure ci-dessous nous présente l'effet des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur l'activité de la phosphatase acide prostatique. Une augmentation significative ($P < 0,05$) de l'activité de la phosphatase acide prostatique est notée chez le groupe BR (supplémenté en graines crues) par rapport au groupe standard.

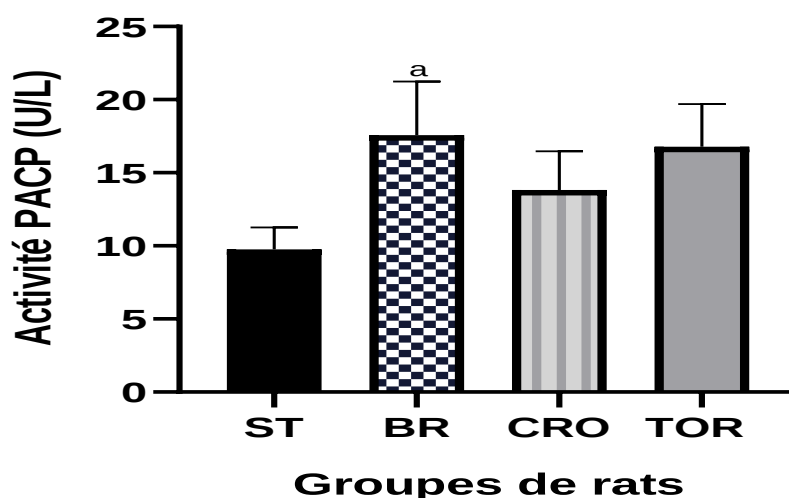


Figure 15: Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur le taux de phosphatase acide prostatique

Les barres représentent la moyenne $\pm$ Ecart-type ($n = 4$). **ST**= groupe de rats ayant été alimentés au régime standard (control) ; **BR** = groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des graines de sésame crues ; **CRO** : groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des croquants de sésame. **TOR** = groupes de rats ayant été alimentés a 30% des graines de sésame torréfiées. *a* = différence significative par rapport à ST.

III.1.6.4. Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur le taux de protéines totales testiculaires et épididymaires.

La figure 16 A présente l'effet des différentes formes de consommation des graines de sésame sur les protéines testiculaires. La consommation de ces graines n'a entraîné aucune modification significative sur le taux de protéines testiculaires.

Il ressort de la figure 16 B que le taux de protéines épididymaires des groupes test (BR, CRO) recevant respectivement un régime enrichi à 30% des poudres de graines crues et torréfiées de sésame est significativement supérieur ($P < 0,05$) par rapport au groupe contrôle (ST) recevant un régime standard.

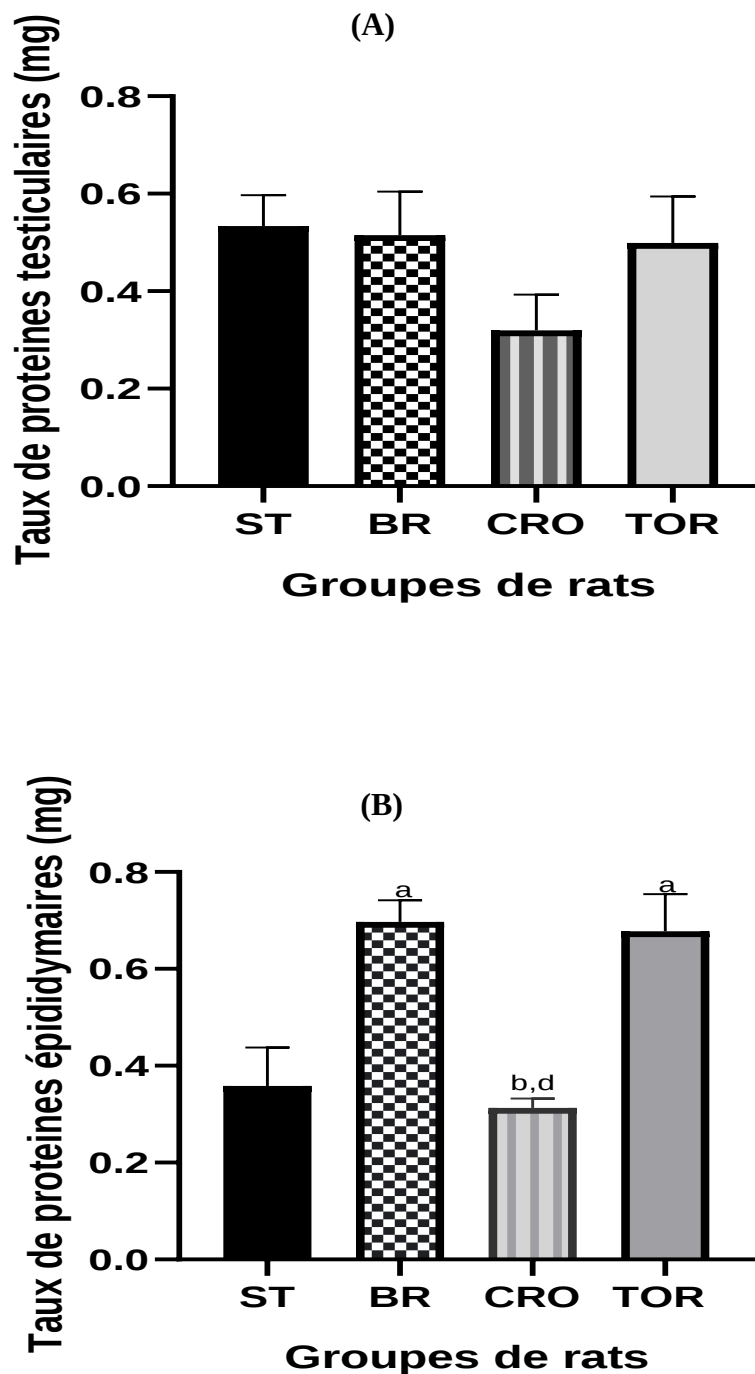


Figure 16: Effet des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur le taux de protéines testiculaires (A) et épидидymaires (B)

Les barres représentent la moyenne $\pm$ Ecart-type ($n = 4$). **ST**= groupe de rats ayant été alimentés au régime standard (control) ; **BR** = groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des graines de sésame crues ; **CRO** : groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des croquants de sésame. **TOR** = groupes de rats ayant été alimentés à 30% des graines de sésame torréfiées. *a* : différence par rapport à ST ; *b* : différence par rapport à BR ; *d* : différence par rapport à TOR.

III.1.6.5. Effet des graines crues, torréfiées et croquant de sésame sur le taux de fructose vésiculaire

La figure 17 présente l'impact des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur le taux de fructose vésiculaire des rats des différents groupes. Aucune variation significative n'a été observée entre les différents groupes.

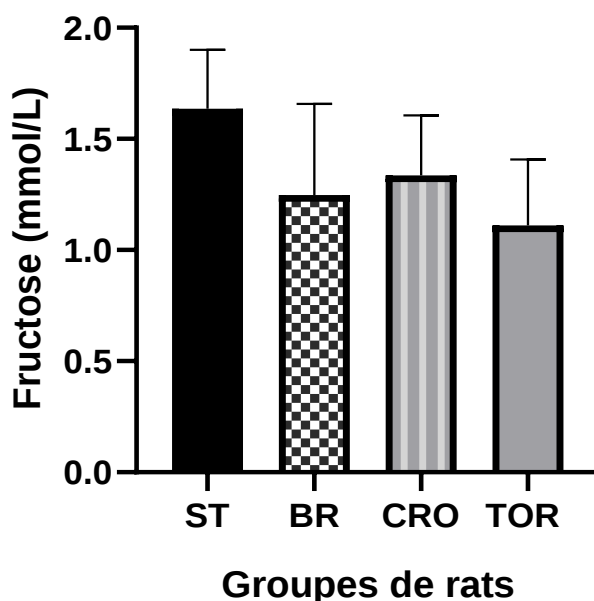


Figure 17: Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur le taux de fructose vésiculaire.

Les barres représentent la moyenne $\pm$ Ecart-type ($n = 4$). **ST**= groupe de rats ayant été alimentés au régime standard (contrôle) ; **BR** = groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des graines de sésame crues ; **CRO** : groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des croquants de sésame. **TOR** = groupes de rats ayant été alimentés à 30 % des graines de sésame torréfiées.

III.1.7. Impact des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur statut antioxydant

III.1.7.1. Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur l'activité de catalase testiculaire et épидидymaire.

La figure 18 présente l'impact de la consommation des graines crues, torréfiées et croquants sur l'activité de la catalase dans le testicule et l'épididyme.

Il en ressort de cette analyse, une augmentation de l'activité de la catalase testiculaire chez tous les groupes supplémentés. Cette augmentation est significative ($P < 0,05$) Chez le groupe BR par rapport au groupe ST.

De même, nous avons obtenu une augmentation significative ($P < 0,05$) de l'activité de la catalase épидидymaire chez le groupe BR et TOR par rapport au groupe ST.

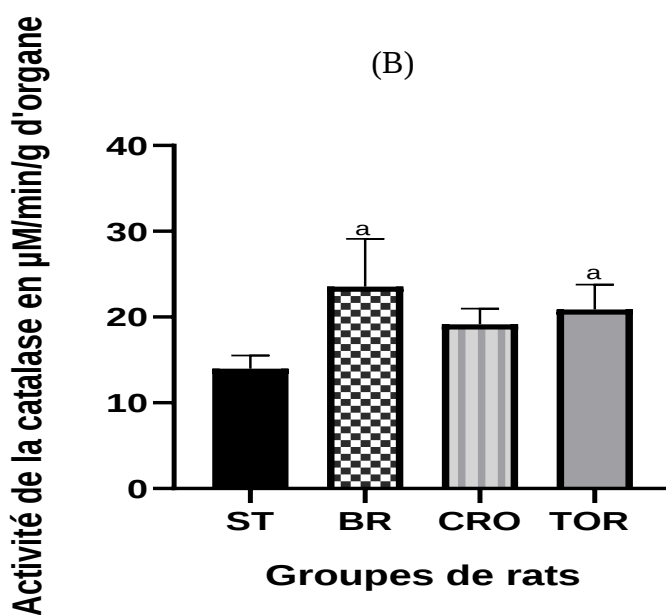
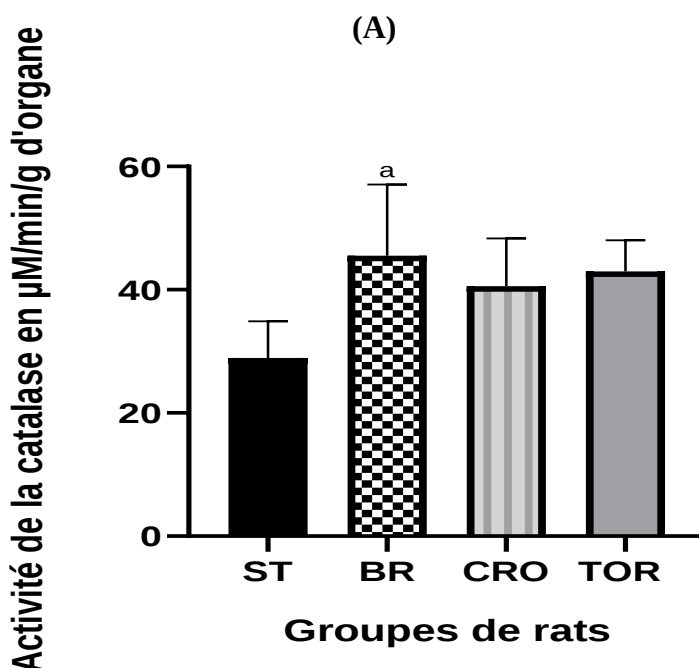


Figure 18: Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur l'activité de la catalase testiculaire (A) et épидидymaire (B).

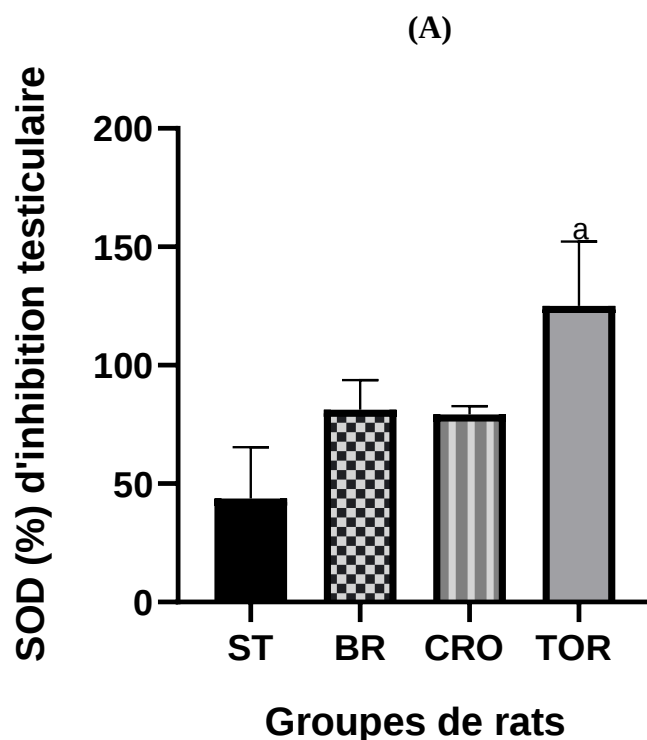
Les barres représentent la moyenne $\pm$ Ecart-type ($n = 4$). **ST**= groupe de rats ayant été alimentés au régime standard (control) ; **BR** = groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des graines de sésame crues ; **CRO** : groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des croquants de sésame. **TOR** = groupes de rats ayant été alimentés à 30% des graines de sésame torréfiées. a = différence significative par rapport à ST.

III.1.7.2. Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur l'activité de super oxyde dismutase

La figure 19 nous présente respectivement l'impact des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur l'activité de la super oxyde dismutase dans le testicule et l'épididyme.

Il en ressort donc une augmentation significative ($P < 0,05$) de l'activité de la superoxyde dismutase testiculaire du groupe TOR par rapport au groupe ST.

Nous avons observé une augmentation significative ($P < 0,05$) de l'activité de la super oxyde dismutase épидидymaire du groupe BR par rapport au groupe ST.



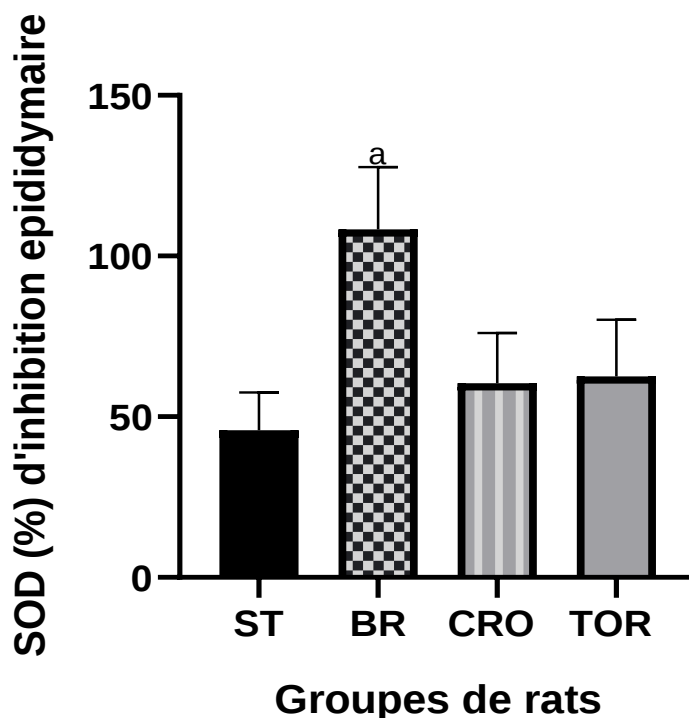


Figure 19: Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur l'activité de la SOD testiculaire (A) et épидидymaire (B)

Les barres représentent la moyenne $\pm$ Ecart-type ($n = 4$). **ST**= groupe de rats ayant été alimentés au régime standard (control) ; **BR** = groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des graines de sésame crues ; **CRO** : groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des croquants de sésame. **TOR** = groupes de rats ayant été alimentés a 30% des graines de sésame torréfiées. a = différence significative par rapport à ST.

III.1.7.3. Effet des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur le taux de glutathion réduit testiculaire et épидидymaire.

Les figures 20 nous présentent respectivement l'impact des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur le taux de glutathion réduit dans le testicule et l'épididyme. Par ailleurs aucune variation significative n'a été observée sur le taux de glutathion réduit des différents groupes de rats recevant respectivement 30 % des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame par rapport au groupe contrôle recevant un régime standard.

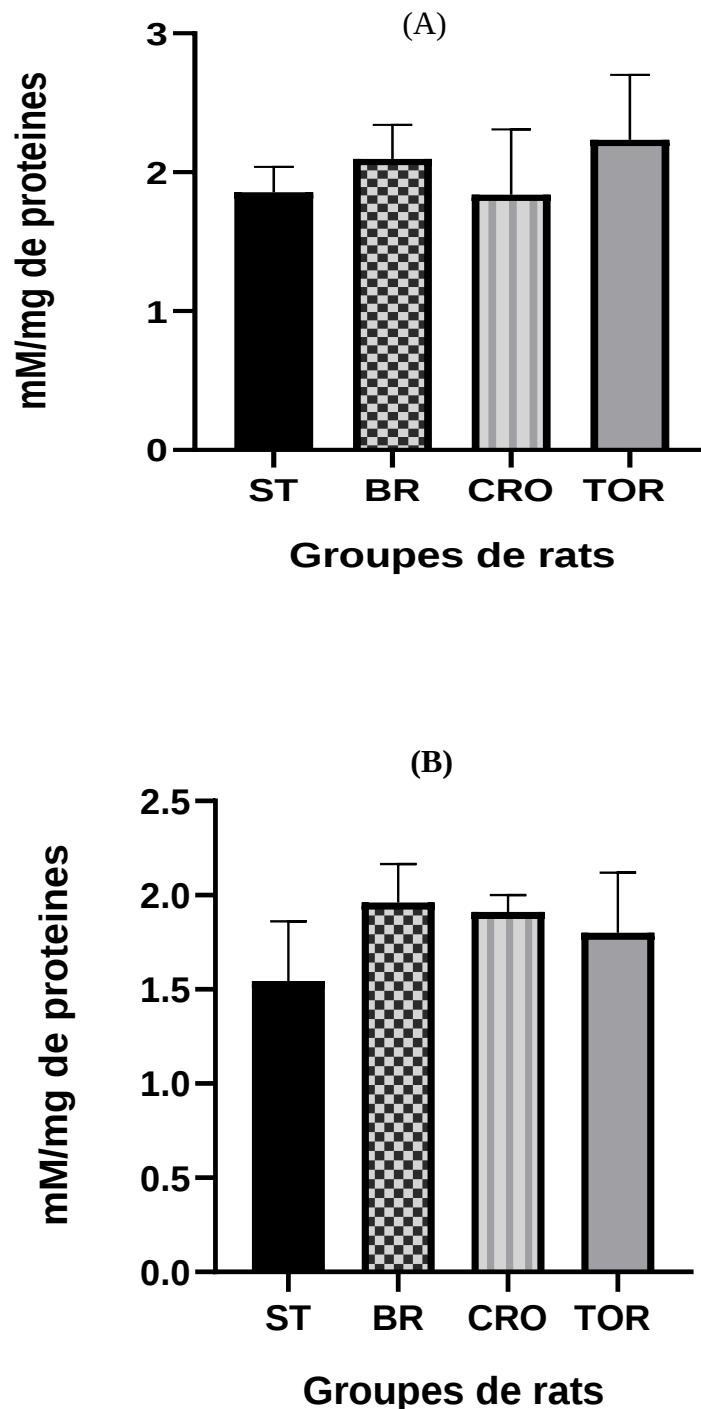


Figure 20: Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur le taux de glutathion réduit testiculaire (A) et épидидymaire (B)

Les barres représentent la moyenne $\pm$ Ecart-type ($n = 4$). *ST*= groupe de rats ayant été alimentés au régime standard (control) ; *BR* = groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des graines de sésame crues ; *CRO* : groupe de rats ayant été alimentés à 30 % des croquants de sésame. *TOR* = groupes de rats ayant été alimentés à 30% des graines de sésame torréfiées. a = différence significative par rapport à ST.

III.1.7.4. Effet des graines crues, torréfiées et croquants de sésame sur le taux de MDA testiculaire.

La figure 21 exhibe l'effet des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur le taux de MDA testiculaire.

Il en ressort une diminution significative ($P < 0,05$) du taux de MDA testiculaire des groupes recevant un régime enrichi par rapport au groupe contrôle recevant un régime standard.

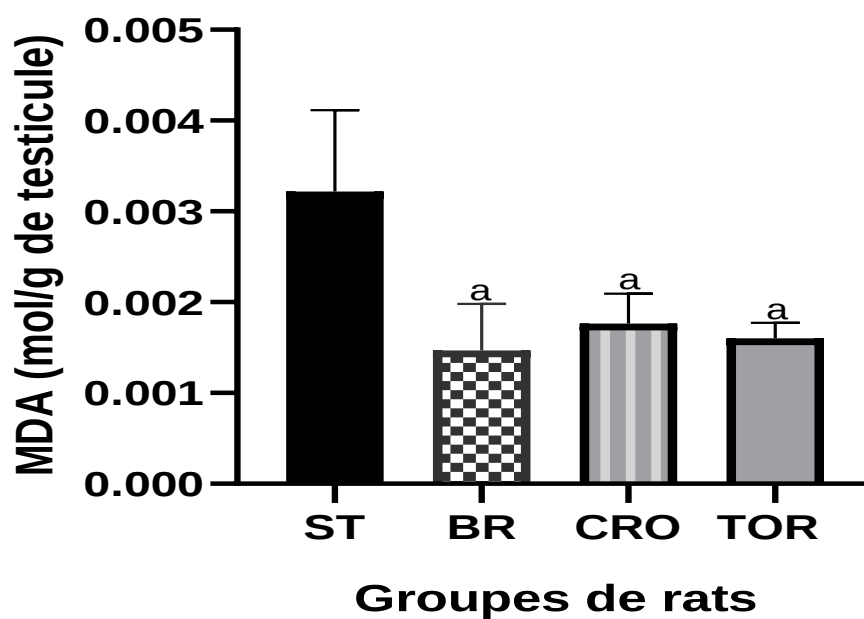


Figure 21: Effet des graines crues, torréfiées et croquants sur le taux de MDA

III-2. DISCUSSION

Plusieurs facteurs environnementaux à l'instar de l'alimentation et du stress peuvent affecter l'état de santé reproductive et induire des troubles dans le fonctionnement du système reproducteur. De nombreuses études ont révélé que certains nutriments et antioxydants retrouvés dans les aliments peuvent avoir un impact positif sur la fertilité. C'est dans ce sens que la présente étude visait à évaluer l'effet de la consommation des graines crues, torréfiées et des croquants de sésame sur la fonction de reproduction des rats mâles. La composition nutritionnelle et des phytonutriments nous a permis d'avoir les teneurs en macronutriments, micronutriments et phytonutriments.

Ainsi les teneurs en matière sèche des échantillons présentent une augmentation significative ($P<0,05$), de 3,52 % ; 2,72 % respectivement pour les graines torréfiées et des croquants de sésame par rapport aux graines crues. Cette augmentation significative pourrait être due au chauffage qui favorise la déshydratation de ces graines par évaporation de l'eau intracellulaire (**Yaacoub, 2009**). Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par **Manal et al. (2013)** qui ont travaillé sur les graines crues de sésame en Egypte.

Les Protéines sont les principaux éléments constructeurs de l'organisme. Un apport constant et de bonne qualité est nécessaire pour maintenir la croissance et assurer les fonctions physiologiques. Les teneurs en protéines des échantillons ont présenté des différences significatives ($P<0,05$). Ces valeurs exprimées en g/100g matière sèche variaient de 16,86 à 23,27 respectivement pour les croquants et les graines torréfiées de sésame par rapport aux graines crues (16,25). L'augmentation significative ($P<0,05$) de la teneur dans les graines torréfiées serait due à l'élimination progressive de l'humidité pendant la torréfaction (**Onyeike et al., 2015**).

L'analyse des teneurs en cendres a montré une différence significative ($P<0,05$). Ainsi l'augmentation significative de la teneur en cendre des graines torréfiées (7,25g/100g MS) par rapport aux graines crues de sésame (6,36g/100g MS) serait due à l'élimination de l'eau pendant la torréfaction (**Anim et Nkechi, 2023**).

La teneur en lipides des graines torréfiées a présenté une augmentation significative ($P<0,05$) par rapport à celle des croquants de sésame. Les teneurs exprimées en g/100g de matière sèche étaient les suivantes : 60,76 ; 63,65 ; 43,99 respectivement pour les graines crues, torréfiées et les croquants de sésame. Cette augmentation significative de la teneur en lipides des graines torréfiées pourrait être

attribuée à la perturbation de la structure cellulaire et des cloisons membranaires par la chaleur pendant la torréfaction. Cette perturbation aurait donc permis la fonte des lipides facilitant ainsi sa libération par la cellule (**Mamta et Anupama, 2022**).

La diminution significative en glucides totaux ($P < 0,05$) observée dans les graines torréfiées par rapport aux graines crues serait due au chauffage qui affecte les sucres des graines. Ces sucres pourraient être impliqués dans la réaction de brunissement non enzymatique pouvant favoriser la production des composés volatils intermédiaires (**Anim et Nkechi, 2023**). L'augmentation significative ($P < 0,05$) de la teneur en glucides totaux des croquants de sésame (31,80 g/100g MS) par rapport aux graines crues (10,94g/100g MS) serait attribuée à l'ajout du sucre au cours de sa préparation.

Les minéraux (Mg, Ca, Fer, Zn) jouent des rôles très importants dans l'organisme et puisque ce dernier ne peut en produire ils doivent donc être apportés par l'alimentation. Les éléments minéraux représentent environ 4% du poids corporel de l'individu (**Sene et al., 2018**). Ces minéraux interviennent dans une large gamme de fonctions : minéralisation, équilibre en système enzymatique et hormonale (**Sene et al., 2018**). Les teneurs en minéraux représentées dans le tableau VII sont exprimées en mg/100g. Il ressort de ces données que les graines de sésame crues, torréfiées ainsi que les croquants possèdent une bonne quantité de minéraux. Le calcium était le minéral le plus abondant dans les échantillons. L'analyse révèle des différences significatives. La diminution significative ($P < 0,05$) des teneurs en minéral calcium pour les graines torréfiées (407,63) et des croquants (450,7) par rapport aux graines crues (576,86) serait dû à l'impact de la chaleur suite à la torréfaction (**Mohammed et al., 2020**).

Les teneurs en oxalates ont été déterminées. L'analyse révèle que les graines crues et les croquants de sésame ont présenté une faible teneur en oxalates par rapport aux graines crues ($P < 0,05$). Cette faible teneur serait due à la dégradation de cette molécule par la chaleur lors de la torréfaction. Soit une diminution de 21,42 % à 64,28 % respectivement pour les graines torréfiées et les croquants de sésame par rapport aux graines crues. Il faut noter que les teneurs en oxalate des différents échantillons sont très inférieures à la limite de toxicité qui est de 2 à 5 g/jour (**Hassan et Umar 2014**). Afin de prédire la biodisponibilité des minéraux, des rapports antinutriments/nutriments ont été calculés. Il ressort donc de ces résultats que les oxalates présents dans les échantillons ne réduisent pas la biodisponibilité du calcium. En effet les ratios oxalates /calcium et oxalates/(calcium

+ magnésium) dont les valeurs critiques sont de 2,5 sont supérieures aux valeurs calculées pour tous les échantillons.

Les teneurs en phytates des graines ont été déterminées. Ainsi les graines torréfiées et les croquants ont présenté une faible teneur en phytates par rapport aux graines crues. L'analyse statistique révèle une diminution significative ($P < 0,05$), soit une réduction de 30,76 % à 46,15 % respectivement pour les graines torréfiées et les croquants de sésame par rapport aux graines crues. Les résultats obtenus étaient bien plus faibles que la limite de toxicité qui est de 2000-2600 mg/jour pour un régime végétarien et de 150-1400 mg/jour pour un régime mixte (**Grasses et al., 1999**). Les taux élevés de phytates réduisent la biodisponibilité de plusieurs minéraux essentiels dans l'alimentation. Afin de prédire la biodisponibilité du zinc, et du calcium les ratios phytates/zinc et (phytates)/calcium ont été calculés. Les résultats montrent que les valeurs obtenues sont toutes supérieures à la valeur critique pour le premier ratio (10-15) et inférieures à celle du second ratio (0,5). Cette réduction pourrait donc signaler la biodisponibilité du Calcium et cette augmentation la pourrait traduire que le zinc ne saurait être biodisponible. En effet il a été montré qu'à faible taux, les phytates agissent comme antioxydant (**Phillippy et al., 2004**).

Les graines torréfiées et les croquants ont présenté une faible teneur en tannins par rapport aux graines crues. L'analyse statistique révèle une diminution significative ($P < 0,05$) ; soit une réduction de 50 à 92,85 % respectivement pour les graines torréfiées et les croquants de sésame par rapport aux graines crues. Cette diminution serait due à la torréfaction en raison de la dégradation thermique de ce polyphénol.

Les graines torréfiées et les croquants de sésame ont présenté une faible teneur en saponine par rapport aux graines crues. Ainsi l'analyse statistique révèle une différence significative ($P < 0,05$). Soit une réduction de 47,27 % à 77,27 % respectivement pour les graines torréfiées et les croquants de sésame par rapport aux graines crues. Cette faible teneur en saponine pourrait s'expliquer par la thermosensibilité des saponines qui ont été réduites par traitement thermique.

Les graines torréfiées et les croquants de sésame ont présenté une faible teneur en composés phénoliques par rapport aux graines crues. L'analyse statistique révèle une diminution significative ($P < 0,05$). Soit une réduction de 18,35 à 21,33 % respectivement pour les graines torréfiées et les croquants de sésame par rapport aux graines crues. Cette diminution consécutive de la teneur en

composés phénoliques pourrait s'expliquer par le fait que la torréfaction a provoqué la dégradation de certains polyphénols à l'instar de l'acide chlorogène, l'acide ellagique. Ces résultats vont dans la même optique que ceux de **Seeram et al.(2006)** qui ont trouvés une diminution des composés phénoliques des graines de café torréfiées par rapport aux graines café verts.

Dans le but d'évaluer l'effet de la consommation sous diverses formes de sésame, des rats mâles adultes ont consommé un régime alimentaire supplémentés avec diverses formes de sésame durant 45 jours. A l'issue de l'expérimentation, les rats ayant consommé une alimentation enrichie avec la poudre des graines de sésame torréfiées ont présenté une augmentation significative du poids corporel. Cela pourrait s'expliquer par la matière grasse apporté par les graines de sésame torréfiées étant plus disponible par rapport au sésame crues et aux croquants.

Après le traitement des rats avec différentes formes de sésame, les résultats obtenus ont montré une augmentation significative ($P < 0,05$) de la motilité progressive ainsi que la viabilité des spermatozoïdes dans tous les groupes supplémentés. Compte tenu du rôle de la testostérone dans la spermatogenèse, son augmentation conduira à l'augmentation du nombre de spermatozoïdes (**Manijeh et al., 2021**). En outre, les composés phénoliques sont des composés bioactifs du sésame. Ils piègent les radicaux libres produits au cours des activités métaboliques. Ce sont des antioxydants ayant un effet inhibiteur sur les peroxydases lipidiques et carnitine oxydase qui inhibent la motilité et maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme (**Mohammadi et al., 2013**). De même, cela peut être attribué au fait que les graines de sésame possèdent des nutriments essentiels, des minéraux et des acides gras qui sont bénéfiques au cours du processus de spermiogenèse (**Goweder et al., 2021**). De plus, le magnésium apporté par ces graines peut être impliqué dans les voies métaboliques générant l'adénosine triphosphate et de l'énergie dans les mitochondries. Cette énergie libérée par l'ATPase qui est dépendant du magnésium est nécessaire à la mobilité des spermatozoïdes (**Maggio et al., 2014**).

Les résultats de la présente étude sur quelques paramètres biochimiques ont montré que le taux de protéines épидидymaires était plus élevé chez les groupes tests recevant un régime enrichi en graines crues et torréfiées de sésame cela pourrait être attribué à l'augmentation du taux de testostérone dans le groupe recevant les graines crues car l'épithélium épидидymaire sécrète les protéines sous le contrôle des androgènes (**Massoma et al., 2014**). De même cela pourrait être attribué à la teneur élevée en protéines des graines torréfiées. En outre les protéines épидидymaires sont cruciales pour la fertilité et jouent des rôles très variés incluant la réabsorption d'eau, les modifications membranaires, la production d'énergie, la survie, la motilité du spermatozoïde, la

capacitation, l'interaction spermatozoïde-ovocyte, tous dépendant des androgènes tant chez le rat que chez l'homme (**Robaire et al., 2006**).

Le cholestérol est le précurseur de la synthèse des hormones stéroïdes (**Tostain et al., 2004**). Sa biosynthèse se fait dans de nombreux organes à l'instar des intestins, des gonades et du foie qui est le principal site de synthèse chez les mammifères (**Berg et al., 2002**). Les résultats ont montré une augmentation non significative du taux de cholestérol sérique du groupe test recevant le régime enrichi en poudre de sésame par rapport au groupe contrôle, il faut noter que cette augmentation du taux peut être favorable car les valeurs sont comprises dans la gamme de standards pour le taux normale du cholestérol totale. Une fois la synthèse du cholestérol effectué par le foie pour ses besoins propres, l'excédent est exporté dans le flux sanguin pour être transporté jusqu'aux testicules où il servira de précurseurs de stéroïdes (**Tostain et al., 2004**).

La testostérone est considérée comme la principale hormone sexuelle qui joue un rôle central dans le système reproducteur masculin (**Manijeh et al., 2021**). Les résultats ont montré une augmentation significative ($P < 0,05$) du taux de testostérone sérique du groupe test ayant consommé les graines de sésame crue par rapport au groupe contrôle. Ce résultat est en accord avec les résultats d'**Ashamu et al. (2010)** par rapport à l'augmentation du taux de testostérone chez les rats traités avec l'extrait éthanolique de *Sesamum indicum*. De même ce résultat va dans le même sens que celui obtenu par **Sadeghi et al. (2016)** révélant ainsi une augmentation du taux de testostérone chez les rats donc l'alimentation contenait les graines de sésame entre 30 et 60 jours. Cela pourrait être attribué à la capacité de ses lignanes (phytoestrogènes) à se fixer aux récepteurs alpha des œstrogènes modulant ainsi l'activité des récepteurs des androgènes dans les testicules. Cela influence ainsi l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire dans la production de la testostérone (**Mohammadi et al., 2013**). En outre, le niveau plus élevé de la testostérone sérique observé chez les rats du groupe BR pourrait également être attribué au niveau plus élevé de flavonoïdes, de saponines et de tannins présent dans ces graines crues (**Misra et al., 2004**). Ces composés ont été reconnus pour augmenter le niveau de testostérone par la stimulation de l'axe hypothalamo-pituitaire-testiculaire chez les animaux (**Ahangarpour et al., 2013**). De plus, la nature stéroïdienne des saponines pourrait permettre de jouer un rôle intermédiaire dans la production d'androgènes en stimulant la libération de LH hypophysaire qui stimulerait la production de testostérone par les cellules de Leydig (**Massoma et al., 2014**).

La phosphatase acide prostatique est une glycoprotéine synthétisée par les cellules glandulaires de la prostate sous stimulation de testostérone. D'après **Yakubu et al. (2010)**, une diminution de la testostérone circulante chez le rat entraînerait une diminution de l'activité de la phosphatase acide

prostatique. Par conséquent, l'augmentation de l'activité de la phosphatase acide prostatique observée chez le groupe BR pourrait être due à l'augmentation de la concentration sanguine en testostérone.

Au sein du système reproducteur masculin, l'homéostasie oxydative est cruciale pour la fertilité. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) à faible taux apportent des contributions fonctionnelles, mais deviennent rapidement destructrices si elles sont produites excessivement. Les acteurs endogènes comprennent le superoxyde ($O_2^{\cdot -}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$) (Cayde et Edmund, 2020), générés via les réactions redox mitochondriales. De même lors de la spermatogenèse au cours des réductions cytoplasmiques sont produits les corps résiduels à forte concentration de peroxydases riches en peroxydes d'hydrogène (Cayde et Edmund, 2020). Ainsi, nous avons évalué l'impact d'un régime contenant 30% des graines crues, ou de graines torréfiées ou de croquants de sésame sur l'activité de certains marqueurs et enzymes du stress oxydant. Les résultats de cette étude ont montré une augmentation significative ($P < 0,05$) de l'activité de la superoxyde dismutase et de la catalase dans le testicule et l'épididyme respectivement pour les groupes tests dont le régime contenait les graines crues ou torréfiées par rapport au groupe contrôle ayant reçu le régime standard. Cela pourrait traduire une amélioration de la capacité à piéger les radicaux libres afin de maintenir un meilleur équilibre. En effet le rôle vital de la défense antioxydante est concentré sur la protection des cellules en piégeant les radicaux libres produits par l'oxydation dans l'organisme. Cette augmentation des activités des enzymes antioxydantes dans le testicule et l'épididyme pourrait indiquer un fort potentiel antioxydant de ces graines pour neutraliser les espèces réactives de l'oxygène qui sont naturellement formés par les processus métaboliques dans les cellules animales (Ashidi et al., 2019). Ainsi donc la baisse significative ($P < 0,05$) de la concentration en MDA dans les groupes tests, soit une réduction en moyenne de 49,92% par rapport au groupe contrôle pourrait être attribuée aux propriétés antioxydantes de ces graines. Ces graines contiennent les composés phénoliques à l'instar des flavonoïdes, lignanes qui sont de puissants antioxydants qui neutralisent les espèces réactives oxygénées (Manijeh et al., 2021).

CHAPITRE IV : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

Parvenu au terme de notre travail dont il était question d'étudier l'effet de la consommation d'une alimentation enrichie en poudre de graines crues, torréfiées ou de croquants de sésame sur la fonction de reproduction des rats mâles. Il en ressort de cette étude que :

Les graines torréfiées ont présenté une teneur plus élevée en lipides et protéines, les croquants une teneur plus élevée en glucides par rapport aux graines crues. De même les graines crues ont présenté une teneur plus importante en phytonutriments par rapport aux graines torréfiées et aux croquants de sésame.

La consommation des graines crues, torréfiées ou des croquants de sésame améliore les paramètres spermatiques, les graines crues augmentent le niveau de testostérone des rats mâles soit de 76,74 % ainsi que l'activité de la phosphatase acide prostatique.

La consommation d'une alimentation enrichie en poudre de graines crues ou torréfiées améliore le statut antioxydant des rats mâles.

PERSPECTIVES

Dans un futur proche nous envisageons :

- Evaluer l'impact de l'alimentation enrichie en poudre de graines crues, torréfiées ou de croquants de sésame sur le comportement sexuel des rats mâles.
- Evaluer l'impact de l'alimentation enrichie en poudre de graines crues, torréfiées ou de croquants de sésame sur les hormones hypothalamo-hypophysaires (GnRH, LH, FSH).

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anim.E.U & Nkechi. J. T. (2023).** Improvement of the Nutritional quality and HCL Extractability of Minerals of Dehulled Sesame seeds and their Acceptance for culinary Purpose by Parboiling, Boiling and Roasting. *ELSERVIER*, 3(1), 8.
- Abhishek. T, Vishal. S, & Aayushee. T. (2019).** An overview of anti-nutritional factors in food. *International Journal of Chemical Studies*. 7(1): 2472-2479
- Adelakun. S, Ogunlade. B. S, Aniah.J. A, Ibiayo. A. G. (2019).** Spermatogenic and Steroidogenesis Functions of Rat Testis following Exposure to Alafia barteri Leaf Extracts . *Journal of Infertility and Reproductive Biology*. 7(2), 11-16.
- AFNOR (1984).** Recueil de normes françaises. Produits agricoles alimentaires : directives générales pour le dosage de l'azote avec minéralisation selon la méthode de Kjeldahl. AFNOR, Paris (France).
- Ahangarpour .A, Oroojan A.A, Heydari. H, Ehsan. G, & Reza. T. (2015).** Extract of Dorema aucheri on serum levels of testosterone, FSH and sperm count in nicotinamide -STZ-induced diabetic rat models.*The Malaysian journal of medical sciences*, 22(2).
- Aina.V, Sambo.B, Zakari. A, Haruna. H, Umar. K, & Akinboboye.R. (2012).** Determination of nutritional and antinutritional content of Vitis vinifera (Grapes) grown in Bomo (Area C) Zaira, *Advance Journal of Food Technoogy*, 4 (6), 225-228.
- AOAC. (1990).** Officials methods of analysis of AOAC International,18th ed,1988, Rev 1990. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists
- AOAC. (1980).** Official Methods of Analysis. 13th edition, William Horwitz: Washington, D.C. Association of Official Analytical Chemists, 63(6), 1336-1343.
- Arab. R, Casal. S, Pinho. T, Cruz. R, Freidja. M.L, Lorenzo. J.M, Hano. C, Madani. K, & Boulekbache-Makhlouf. L. (2020).** Effects of Seed Roasting Temperature on Sesame Oil Fatty Acid Composition, Lignan, Sterol and Tocopherol Contents, Oxidative Stability and Antioxidant Potential for Food Applications. *Molecules* 2022, 27, 450.
- Ashamu. E, Salawu. E, Oyewo. O, Alhassan. A, Alamu. O, & Adagoke. A. (2010).** Efficacité de la vitamine C et de l'extrait éthanolique de Sesamum indicum pour favoriser la fertilité chez les rats mâles wistar. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 3(1), 4.

- Azita. S, Narjes. G, & Reihaneh. M. (2021).** Herbal Foodstuffs in Avicenna's recommended diet to improve sperm quality and increase male fertility: an evidence-based approach. *Journal complement integr Med*, 1-24.
- Benalia. A. (2016).** Effet de l'exposition chronique aux alcaloïdes totaux du tabac sur la fonction reproductrice chez les rats mâles wistar : effet preventif de la fraction d'acétate d'éthyle de l'extrait de the vert. Thèse de doctorat, Université Djillali Liabes de Sidi Bel-Abbés, pp 10.
- Berg. J. M, Tymoczko. JL, & Stryer. L. (2002).** Biochemistry. 5th edition. New York; W.H. Freeman: 2002, 1078-1079.
- Beggar. S. (2021).** *Zinc et Magnesium: Minéraux prescrits, conseilles ou simplement vendus en officine.* thèse de doctorat, Université de l'Enseignement Supérieur et de la recherche scientifique. PP 60.
- Bouazza. S, & Meddah. B. (2013).** *Etude histologique des testicules de rat wistar prépubère malnutri puis réalimenté.* Memoire de Master, Universite Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, Biologie et physiologie de la reproduction, pp 45.
- Bourelly. J. (1982).** Observation sur le dosage de l'huile des graines de cotonnier. *Coton et Fibres Tropical*. 27(2) : 183-196.
- Brugnon. (2009).** Apoptose du spermatozoïde et fertilité masculine. thèse de doctorat. Université d'Auvergne, Biologie de la Reproduction. Auvergne: HAL open science. PP 23.
- Cayde. R, & Edmund. Y. K. (2020).** Oxydative Stress in the pathophysiology of male infertility. *Andrology*, 11.
- Charlier.T. D, & Balthazart. J. (2005).** Modulation of hormonal signaling in the brain by steroid receptor coactivators. *Review of Neuroscience*. 16, 339–57.
- Chughtai. B, Ahmed. S, O'malley. R. L, Naik. R. R, Khan. A. S, & Pentyala. S. (2005).** A neglected gland: a review of cowper's gland. (B. publishing, Éd.) *international journal of andrology*, 28, 74-77.
- Creasy. D. M, & Chapin. R. E. (2013).** Male reproductive system. In Haschek and Rousseaux's handbook of toxicologic Pathology, *Elsevier*, 2493-2598.

- Demol. J, Baudoin. JP, Louant. BP, Maréchal. R, Mergeai. G, & Otoul. E. (2002).** Amélioration des Plantes : Application aux Principales Espèces Cultivées en Régions Tropicales. Les Presses Agronomiques de Gembloux. PP 81.
- Devani. M. B, Shishoo. J. C, Shal. S. A , & Suhagia B.N. (1989).** Spectrophotometrical method for determination of nitrogen in Kjeldahl digest. *JAOAC*, 72, 953-956.
- Dhar. P, Tayade. AB, Bajpai. PK, Sharma. VK, Das. SK, Chaurasia. OP, Srivastava. RB, & Singh. SB. (2012).** Antioxidant capacities and total polyphenol contents of Hydroethanolic extract of phytococktail from Trans-Himalaya. *Journal of Food Science*, 77(2), 156-161.
- Ellman. G (1959).** Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 82, 70-77.
- FAO (2015).** Directives FAO/INFOODS relatives à la conversion d'unité, de dénominateurs et d'expressions version 1.0. PP 40.
- Ferramosca. A, & Zara. V. (2022).** Diet and Male Fertility: The Impact of Nutrients and Antioxidantson Sperm Energetic Metabolism. *International Journal of Molecular Scienes*. 2022, 23, 2542.
- Gharby. S, Harhar. H, Bouzoubaa. z, Asdadi. A, ELyadini. A, & Charrouf. Z. (2015).** Chemical characterization and oxidative stability of seeds and oil of sesame grown in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, pp 3.
- Grases. F, March. R, Prieto. B, Simonet. A, & Costa-Bauza. A. (1999).** Urinary phytate in calcium oxalate stone formers and healthy people dietary effects on phytate excretion. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*. 34, 162-164
- Gornall. A. G, Bardwill. G. S, & David. M. (1949).** Determination of Se by Means of Biuret Reaction. *Journal of Biology and Chemistry*. 177, 751-766.
- Goweder. M. F, Abu El-Nasr. F & El-Sayed. A. (2021).** The effect of sesame intake on adult albino rat testis during sildenafil long-term administration. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 82:2,7.
- Haiba. F, Kerboua. K, Ait Hami. N, & Bermahdi. L. (2014).** Stress oxydatif et infertilité masculine : premiers resultats de l'experience Algeriennd pilote a l'hmruo/2°rm. *Revue Médicale de L'HMRUO*, 1, 6.

- Haider. S. G. (2004).** Cell biology of Leydig cells in the testis. *International Review Cytology*. 233, 181-241.
- Hanafi. L. El, Ibrahim. M, Houria. N, Aymane. B, Meryem. B, Hassan. L, Zineb. B, Chaimae. S, John. P, Gomaa. A. M & Mourad A. M. (2023).** Effects of Dehulling and Roasting on the Phytochemical Composition and Biological Activities of *Sesamum indicum* L. Seeds. *Journal of Chemistry* Volume 2023, PP 18
- Hassan. A, & Umar K. (2004).** Antinutritive factor in African locust beans (*parkia biglobosa*). *Proceeding of the 27th International Conference of chemical Society of Nigeria*, pp. 322-326.
- Honjaya, S., Cattel, N., Saf, S., Just, J., Bidat, E., & Benoist, G. (2021).** Allergie au sésame : revue générale. *reval*, 6. doi:10.1016/J.reval.2021.04.004
- Horwitz, W. (2000).** Official Method of Analysis of AOAC International 17th Edition. AOAC International, Maryland, USA.
- Hyocheol. B, Whasun. L, Seung-Min. B, Fuller. W. B, Youngsok. C, & Gwonhwa. S (2014).** Avian Prostatic Acid Phosphatase: Estrogen Regulation in the Oviduct and Epithelial Cell-Derived Ovarian Carcinomas1. *biology of reproduction*, 91(1), 1–8.
- Khallouk. D, Tazi. M. F, EL. F, Mass. J, & Farih. M. H. (2010).** L'infertilité masculine : physiopathologie, bilan et prise en charge. *Espérance Médicale*, 17(170), 421-29.
- Kone. T.M. F, Kouame. D. A. I, & Faulet. M. B. (2021).** Qualité nutritionnelle des graines germées de sésame (*Sesamum indicum* L.) Cultivées en Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine* Sp.33(2), 203-215.
- Kozol M. J. (1990).** Afrosimrtric estimation of threshold saponin concentration for bitterness in quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) – *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54(2), 211-249.
- Kumar. M, Anjoo. K, & Sidhraj. S. (2011).** Hepatoprotective activity of *Sesamum Indicum*, Linn. against Ccl4-induced hepatic damage in rats. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives*, 2, 710-715.
- Kumar. V. R, Reddy. V. G, & Reddy. K. M. (2012).** Medicinal Plants Having Fertility Related and Pharmacological Activities. (IJPMB, Éd.) *International Journal of Pharma Medecine and Biological Sciences*, 1(1), 18.

- Levy. R, & Leniaud. L. (2008).** Nutrition et Infertilité Masculine: Revue de la Litterature. *Physiologie*, 43(4), 11.
- Maggio. M, DeVita. F, Lauretani. F, Nouvenne. A, Meschi. T, Ticinesi. A, Dominguez. LJ, Barbagallo. M, Dall'aglio. E, & Ceda. GP. (2014).** The Interplay between Magnesium and Testosterone in Modulating Physical Function in Men. *International Journal Endocrinol.* 2(6).
- Mahabadi, J. A, Khodayari. M, Bafrani. H. F, Nikzad. H & Taberian. A. (2013).** Effect of Diet Contains Sesame Seed on Epididymal Histology of Adult Rat. *International Journal Morphology*, 31(1):264-270.
- Manal. A. M. H. (2013).** Studies on Egyptian Sesame Seeds (*Sesamum indicum* L.) and its products. 3.Effect of Roasting Process on Gross Chemical Composition, Functional Properties, Antioxidative Components and Some Minerals of Defatted Sesame Seeds Meal (*Sesamum indicum* L.). *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 8 (1), 51-57.
- Manta & Anupama. S. (2022).** Impact of roasting and soaked roasting on sesame seed for nutritional traits. *The pharma Innovation Journal Sp-* 11(8), 508-512.
- Manijeh. D, Nayere. A, Kalantari-hesari. A, & Fatemeh. H. R. (2021).** The effets P. atlantica as a libidoo booster and sexual enhancer on the reproductive systeme of male rats. *journal of traditional and Complementary Medecine*, 12(12), 8.
- Massoma. D. L, Koloko.L. B, Bend. F. E, Domkam. J, Oundoum. P. C, Ngaha. N, Moundipa.P, Dimo.F & Gonzales.G. (2014).** Fertility enhancing effects of aqueous extract of *Rauvolfia vomitoria* on reproductive functions of male rats. *Journal of Experimental and Integrative*, 4(1):43-49.
- Mihoub.S, & Zeghad. M. (2021).** *Propriétés des graines de sesamum indicum*. Mémoire de Master, Université MohamedEI-BachirEI-Ibrahimi. PP 45.
- Misra α Fridovisch. (1972).** Determination of the level of peroxide induced epithelial injury the protective role of intracellular non protein thiol (NPSH). *European Respiratory Journal*, 11, 384-391.
- Misra. L, & Wagner. H. (2004)** Alkaloidal constituents of *Mucuna pruriens* seeds. *Phytochemistry*,65(18), 2565-2567
- Mohammadi. F, Nikzad. H, Taherian. A, Mahabadi. J, Salehi. M. (2013).** Effets of herbal Medicine on male Infertility. *Anatomical Sciences*. 10(4), 3-16.

- Mohammed. A, Nurhan. U, Mehmet. M, Fahad. J, Ghafoor. K, Magdi. O, & Alqah. H. (2020).** Effect of conventional oven roasting treatment on the physicochemical quality attributes of sesame seeds obtained from different locations. *ELSEVIER*, 2021(9), 11.
- Mohanty. J, & Singh. J. L. (2007).** Major contribution of epididymis to α -glucosidase content of ram seminal plasma. *Biology of reproduction*, 33: 296-253.
- Mona.S & Almujaaydil .(2023).** The role of dietary nutrient in male infertility, *Reproductive and developmental biology*, 13(2),7.
- Mumbere. M. P, Muhindo. L, Junkal. S. M, Oyandjo. K. (2021).** Intérêt de la biochimie du plasma séminal dans l'exploration de l'infertilité masculine : revue narrative. *Kisangani Médical* 2(11). PP 8 .
- Ndhlala. A, Kasiyamhuru. A, Mupure. C, Chitindingu. K, Benhura. M, & Muchuweti. M (2007).** Phenolic composition of *Flacourtia indica*, *Opuntia megacantha* and *Sclerocaya birrea*. *Food chemistry*. 103 (1): 82-87.
- Nieschlag. E, Weinbauer. f. G, Luetjens. M. C, & Simoni. M. (2010).** Physiology of Testicular Function. *Andrology*, 49. doi:10.1007/978-3-540-78355-8_2
- Ngoula. F, Watcho. P, Dongmo. M, Kenfack. C, Kamtchouing. A, & Tchamboué. P. J (2007).** Effects of Pirimiphos-methyl (an organophosphate insecticide) on the fertility of adult male rats. *African Health Sciences, Makerere University Medical School* ISSN: 1680-6905.
- Nzikou. J. M, Mvoula-Tsiéri. M, Ndangui. CB, Pambou-Tobi. N. P, Kimbonguila. A, Loumouamou. B, Silou. T, & Desobry. S. (2010).** Characterization of Seeds and Oil of Sesame (*Sesamum indicum* L.) and the Kinetics of Degradation of the Oil During Heating. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*, 2(3), 227-232.
- Olayeye. L, Owolabi. B, Adesina. A, & Isiaka. A. (2013).** Chemical composition of red and white cocoyam (*Colocasia esculenta*) leaves. *International Journal of Sciences and Research*. 11(2), 125.
- Onyeike. N. E, Anyalogbu. A. E, Monanu. O. M. (2015).** Effect Of Heat Processing On The Proximate Composition And Energy Values Of African Walnut (*Plukenetia conophora*) And African Elemi (*Canarium schweinfurthii*) Consumed As Masticatories In Nigeria. *International Journal of Scientific & Technology*, 4(8), 295-301.

- OMS. (1993).** Manuel de l'OMS. Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. Edition Inserm, Paris. 125 p.
- Phillippy. B. Q, & Lin. M, Rasco. B (2004).** Analysis of phytate in raw and cooked potatoes. J. Food comp. Anal. 17, 217-226.
- Ravel. C, & Jaillard. S (2011).** La Cellule de sertoli. *Morphologie*, 95(311), 8.
- Rebbas.K, Ghadbane. M, Mohamed. D, Miara. M, Rebbas.N. (2020).** Découverte de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) dans la région de Selatna (Bordj Bou Arreridj, Algérie). Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Volume 89, 123 - 129
- Robaire. B, Hinton. BT, & Orgebin-Crist. MC. (2006).** Physiology of Reproduction. 3th Edition : 1071-1148.
- Sabra. (2009).** Contribution à l'étude des effets des extraits lipidiques de racines entières de *Nauclea latifolia* Sm sur les performances de reproduction : étude expérimentale chez le rat. Mémoire de thèse, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, pp 30.
- Sadeghi. E, Mohammadi. G, Ghotbod. Z. (2016).** Les effets des graines de sésame sur l'axe hypophyso-gonadique chez les rats mâles adultes. *Journal de l'Université des sciences médicales d'Urmia*. 27(7), 580-588.
- Samake.N. F. (2007).** Place des marqueurs biochimiques dans l'infertilité masculine. Thèse de doctorat, Université de Bamako, Biologie de la reproduction. PP 23
- Schettler, Nüssel. E. (1975).** Cholesterol liquidor, Chod-Pap, Medecine. 10-25.
- Schlossera. J, Nakib. I, Carré-pigeon. F, & Staerman. F. (2007).** Male infertility: definition and pathophysiology. *Annales d'urologie*, 41, 7.
- Sherbet. D. P, & Auchus. R. J (2007).** Peripheral testosterone metabolism. (H. A. Payne, & P. M. Hardy, Éds.) *Contemporary Endocrinology*, 8.
- Shittu. L. A, Bankole. M. A, Oguntola. J. A, Shittu. R. K, Ogundipe. O. A, Bankole. M. N, & Ashiru. O. A. (2007).** Sesame leaves intake improve and increase epididymal spermatocytes reserve in adult male Sprague Dawley rat. *Academic journals*, 2(8), 319-324.

- Sene. B, Sarr. F, Diouf. D, Mamadou S.S, Traore. D, Kane. A, & Niang. M. (2018).** Synthèse des connaissances et quelques acquis de recherche sur le sésame (*Sesamum Indicum L.*) au Sénégal. *International Journal of Biological chemical Sciences*. 12(3): 1469-1483.
- Sinha. K. (1972).** Colorimetric Assay of catalase. *Analyze biochemistry*. 47, 389-394
- Sullivan. R, & Mieusset. R (2016).** The human epididymis: its function in sperm maturation. *Human Reproduction Update*; 22(5), 574-587
- Sultan. C, Priolet. G, Benzard. Y, Rosa. R, Josso. F. (1982).** Techniques en hématologie. Flammarion Médecine-sciences, 2e Edition: pp 15-32.
- Thakur. V, Paroba. S, & Mishra. P. R. (2018).** Free Fatty Acid Profile of Seven Sesame (*Sesamum indicum L.*). *International Journal of current Microbiology an Applied Sciences*, 7(7), 15.
- Tostain. J, Rossi. D, & Martin. P. M. (2004).** Physiologie des androgènes chez l'homme adulte. *Progrès en Urologie*, 14(5), 639-660.
- Valko. M, Leibfritz. D, Moncol. J, Cronin. M. T, Mazur. M, & Telser. J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84
- Weinbauer. f. G, Luetjens. M. C, Simoni. M & Nieschlag. E (2010).** Physiology of Testicular Function. *Andrology*, 49.
- Wilbur. K, Bernhein. F, & Shapiro. O. (1949).** Determination of lipid peroxydation. *Archives of Biochemistry et Biophysics*, 24: 3959-3964.
- Yaacoub.R. (2009).** Nutritional and sanitary impact of nuts and seeds roasting: the interest of using fluorescence spectroscopy as a tool to control neoformed compounds. Thèse de doctorat. Département de chimie analytique, Institut des sciences et industries du vivant et de l'Environnement, 50-70.
- Yakubu. M. T, & Afolayan. A. J. (2010).** Anabolic and androgenic activities of *Bulbine natalensis* stem in male Wistar rats. *Pharmaceutical biology*, 48(5), 568-576.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1: clairance éthique

Centre de Recherche et Formation Doctorale, Science de la Vie, Santé et Environnement (CRFD-SVSE)
Centre for Research and Graduate Studies in Life, Health & Environment Sciences
University of Yaoundé I (UYI)



Joint Institutional Review Board for Animal & Human Bioethics (JIRB)
Email: jirbsecretariat@gmail.com

7 September 2022

Nangue Wandji Laila Morelle
University of Yaoundé I, Faculty of Science
Department of Biochemistry

Ethical Clearance Reference N°: BTC-JIRB2022-040 (please use this reference number for all correspondences)

Protocol Title: « EFFET DE LA CONSOMMATION DU LAIT ET GALETES DE SESAME (*Sesamum indicum*) SUR L'ACTIVITE ANDROGENIQUE DES RATS MALES »

Investigator(s) Name(s): Nangue Wandji Laila Morelle, MSc. Student; Dr. Beboy Edjenguele Sara Nathalie & Dr. Djuikwo Ruth Viviane, Supervisors.

The proposed research protocol and related documents have been reviewed and deliberated by the JIRB of the Centre for Research and Graduate Studies in Life, Health & Environment Sciences (CRFD-SVSE) at the Biotechnology Centre, University of Yaoundé I, on the 24th of June 2022.

The JIRB is satisfied with the current version of the research protocol and supporting documents, and agreed that there is no objection on ethical grounds to the proposed study. The JIRB is therefore pleased to grant approval on the consideration that the research team will strictly abide by the conditions of the approval below:

- Investigators must strictly follow the plan of the approved protocol. Any changes to the approved protocol will require prior JIRB approval.
- Must be promptly reported to the JIRB: (1) Any deviations from or changes to the protocol that are made to eliminate immediate hazards to the fauna or study participant; (2) All risks that may be rare or remote and especially those that may entail serious consequences or compromise potential benefits or that would affect the conduct of the research.
- Must prepare and submit a standard progress report of the research to the JIRB at completion or one year from the date of issuance of the approval letter and thereafter, on an annual basis.
- Must notify the JIRB when the research is completed. Failure to submit an annual progress report on the study may affect the conditions of approval.

The current ethical clearance is for one-year renewable, on the condition that a progress report is submitted to the JIRB.

Sincerely,


Professor Wilfred F. Mbacham
Coordinator of the CRFD-SVSE
Chair of JIRB
Dr. Wilfred Mbacham, ScD
Public Health Biotechnologist




Ass. Prof. Frederic Nico Njayeou
Coordinator for Animal Research
Bioethics, Faculty of Science, UYI

Annexe 2: Matériels

Agitateur magnétique, balance de précision, béchers, éprouvettes, erlenmeyers, fioles jaugées, tubes eppendorf, tubes falcon, micropipettes, mortier, pot à urine, tubes à essai, portoirs, embouts, trousse à dissection, tubes sec (5 ml), vortex, centrifugeuse réfrigérée 5804R de marque eppendorf ; bain marie ; cellule de Malassez ; spectrophotomètre, pH mètre, thermomètre alimentaire, étuve.

Annexe 3: préparation des solutions

Préparation des solutions

Solution de NaCl 0,9%

Cette solution est obtenue en dissolvant 3,6g de NaCl dans 400 ml d'eau distillée

- **Liquide de Bouin**

Pour 105 mL de liquide de Bouin, 75 mL d'acide picrique ont été mélangés avec 25 mL de formol 40% et 5 mL d'acide acétique

- **Solution d'Eosine aqueuse 0,5 %**

La solution d'éosine aqueuse 0,5 % a été préparée en solubilisant 0,25 g d'éosine dans 50 mL d'eau distillée.

- **Solution de NaOH 0,1N**

Cette solution a été préparée en dissolvant 0,2 g de NaOH dans 50 mL d'eau distillée.

- **Solution de ZnSO₄, 7H₂O**

Cette solution a été préparée en dissolvant 1,8 g de (ZnSO₄), 7H₂O dans 100 mL d'eau distillée.

- **Solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM**

La solution de peroxyde d'hydrogène 50 Mm a été obtenu en diluant 0,95ml de peroxyde d'hydrogène 0,8928 M dans de l'eau distillée pour un volume final de 50 ml.

- **Solution d'adrénaline 0,06mg/ml**

La solution d'adrénaline a été préparée à l'abri de la lumière en dissolvant 6 mg d'adrénaline dans de l'eau distillée pour un volume final de 100 ml.

- **Réactif Indole**

Pour préparer 100 ml de ce réactif, 200 mg d'acide benzoïque ont été dissouts dans 100 mL d'eau distillée par agitations répétées dans un bain- marie à 60°C. Après dissolution complète, 25 mg d'indole ont été ajoutés à la solution et le mélange obtenu a été filtré au papier Whatman No 3.

- **Solution stock de fructose**

Cette solution a été préparée en dissolvant 25,2 mg de fructose dans 50 mL d'eau distillée. Les solutions étalons de fructose pour le dosage ont été préparées en diluant la solution stock aux concentrations 0,14 mM et 0,28 mM

- **Solution de dichromate de potassium 5 %/acide acétique glacial 100%**

La solution de dichromate de potassium 5 % a été préparée en faisant dissoudre 2,5 g de dichromate de potassium dans de l'eau distillée pour un volume total de 50 mL. Ensuite, 150 mL d'acide acétique glacial y ont été ajouté.

- **Tampon de phosphate de potassium (0,1M ; pH 6,8)**

Le tampon phosphate de potassium a été préparé en dissolvant séparément 3,40 g de KH_2PO_4 et 4,35 g de K_2HPO_4 dans 250 mL d'eau distillée. Le pH de la première solution a été ajusté à 6,8 avec la deuxième solution.

- **Tampon phosphate de Sodium (Tampon S) (0,1M ; pH 7,3)**

Dans 350 mL d'eau distillée, ont été dissous 1,175 g de NaH_2PO_4 , 5,8 g de Na_2HPO_4 et 4,4 g de NaCl, considéré comme solution A. La gélatine (0,5 g) a été dissoute dans 25 mL d'eau distillée et additionnée à la solution A. Le pH a été ajusté à l'aide de la solution de NaOH (0,1M) et le volume final complété à 500 mL

- **Tampon carbonate (0,05M ; pH 10,2)**

Le tampon carbonate a été préparé en faisant dissoudre 4,5 g de carbonate de sodium (Na_2CO_3 ; 10 H_2O) et 4,2 g de bicarbonate de sodium (NaHCO_3) dans 500 mL d'eau distillée. Le pH de la solution a été ajusté à 10,2 avec de la soude 1 M et le volume complété à 1000 mL avec de l'eau distillée.

- **Réactif d'Ellman**

0,456 mg de DTNB + 250 ml de Tampon phosphate. (0,1M ; pH=6,5)

- **TCA (20%)**

10g de TCA dissout dans 50ml d'eau distillé

- **TBA (0,67 %)**

0,67g de TBA Dissout dans 100 ml d'eau distillé

- **KCl (1,15%)**

1,15 g dissout dans 100ml d'eau distillé

- **Réactif de Biuret**

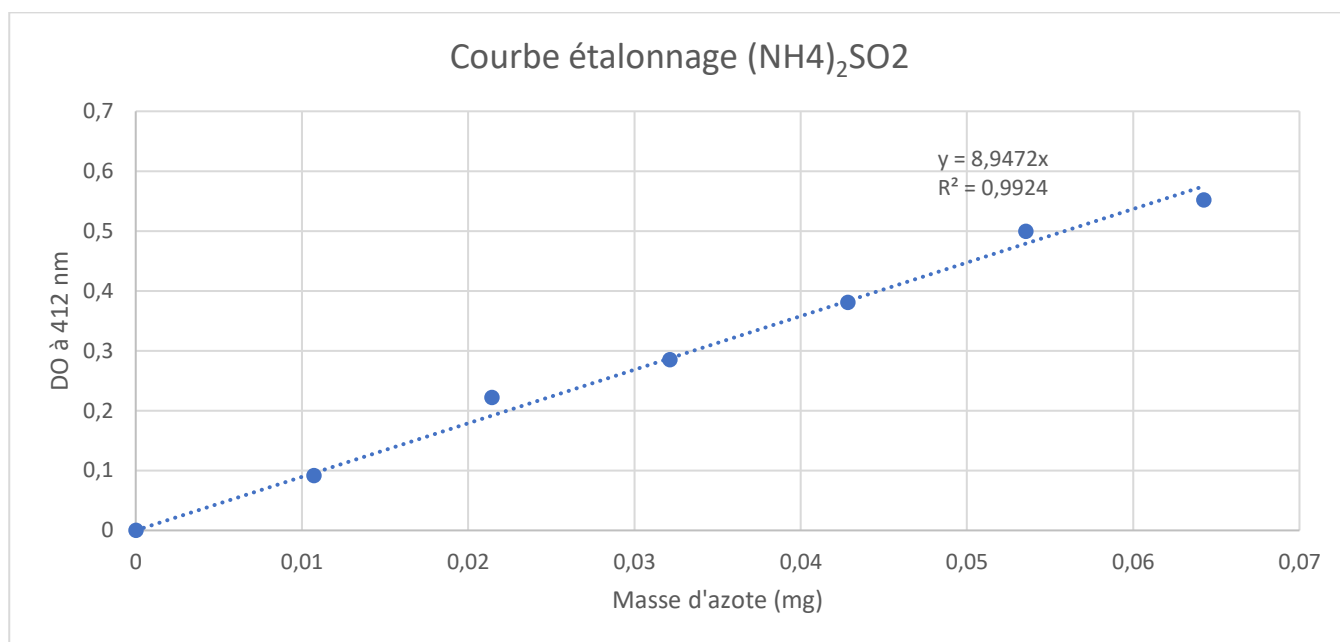
Solution A : Pour préparer cette solution, 0,75 g de sulfate de cuivre $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 3g de tartrate double de Potassium et de sodium + 0,5 g de KI ont été pesés et dissout dans l'eau distillée qsp 250 ml.

Solution B : 15 g de NaOH + Eau distillée qsp 250 ml.

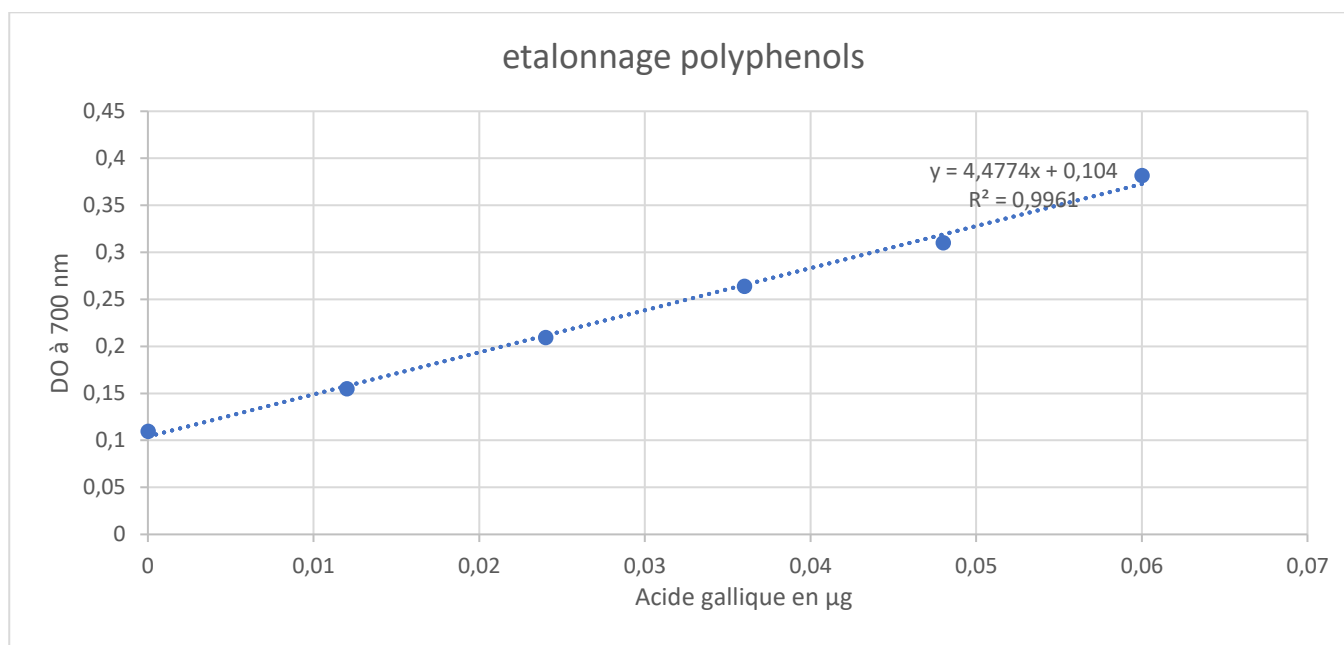
La solution A a été mélangée avec la solution B

- **BSA (sérum albumine bovine) (5mg/ml) :** BSA : 0,25 g de BSA + Eau distillée qsp 50 ml.

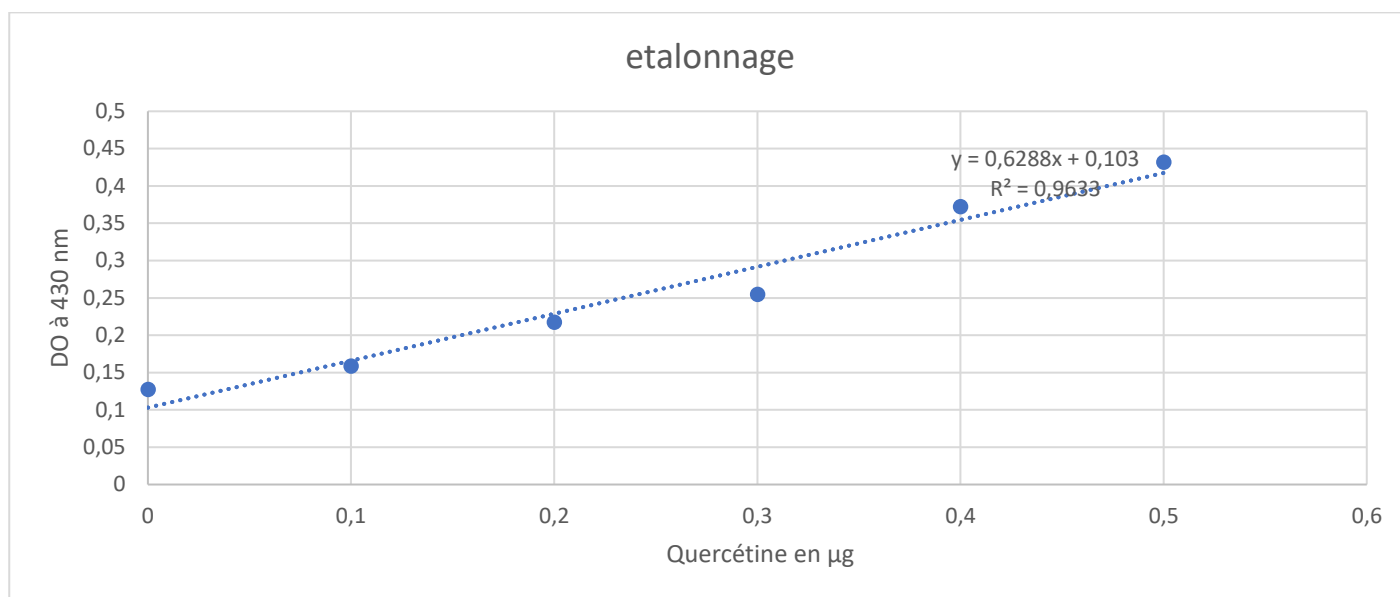
Annexe 4: Courbe d'étalonnage du sulfate d'ammonium



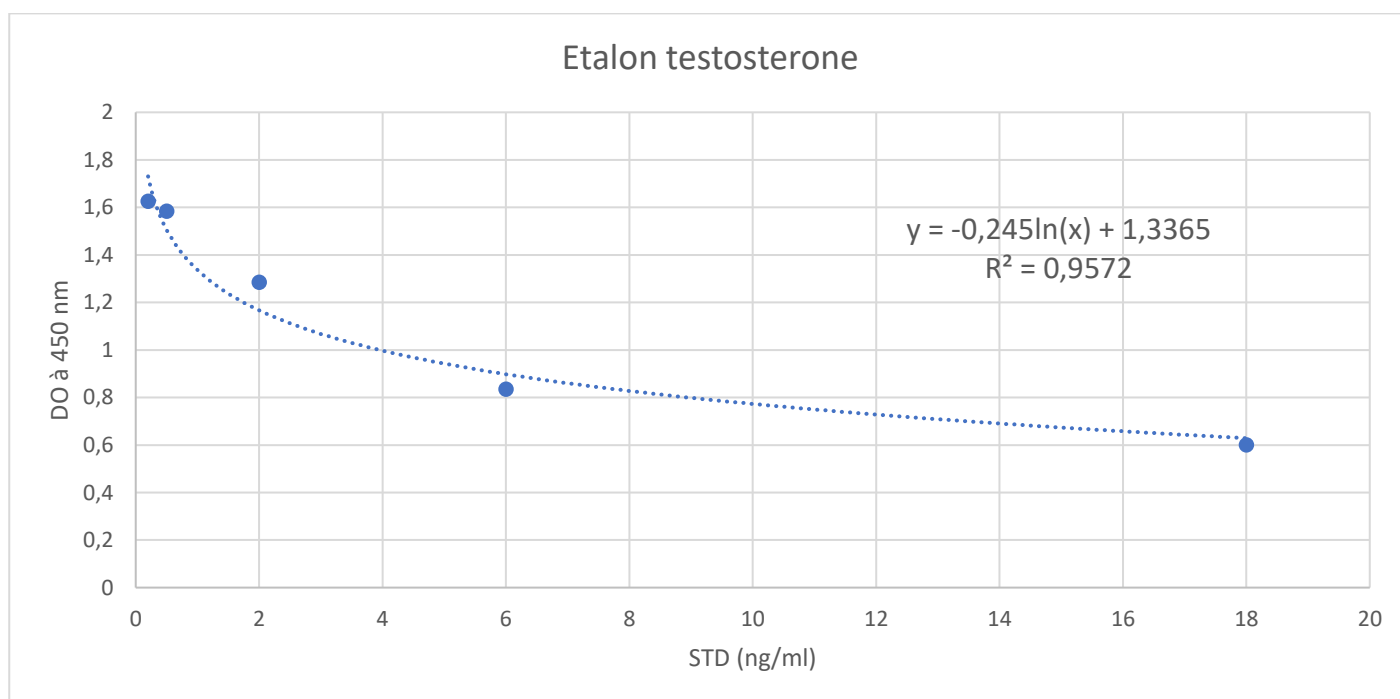
Annexe 5: Courbe d'étalonnage des composés phénoliques



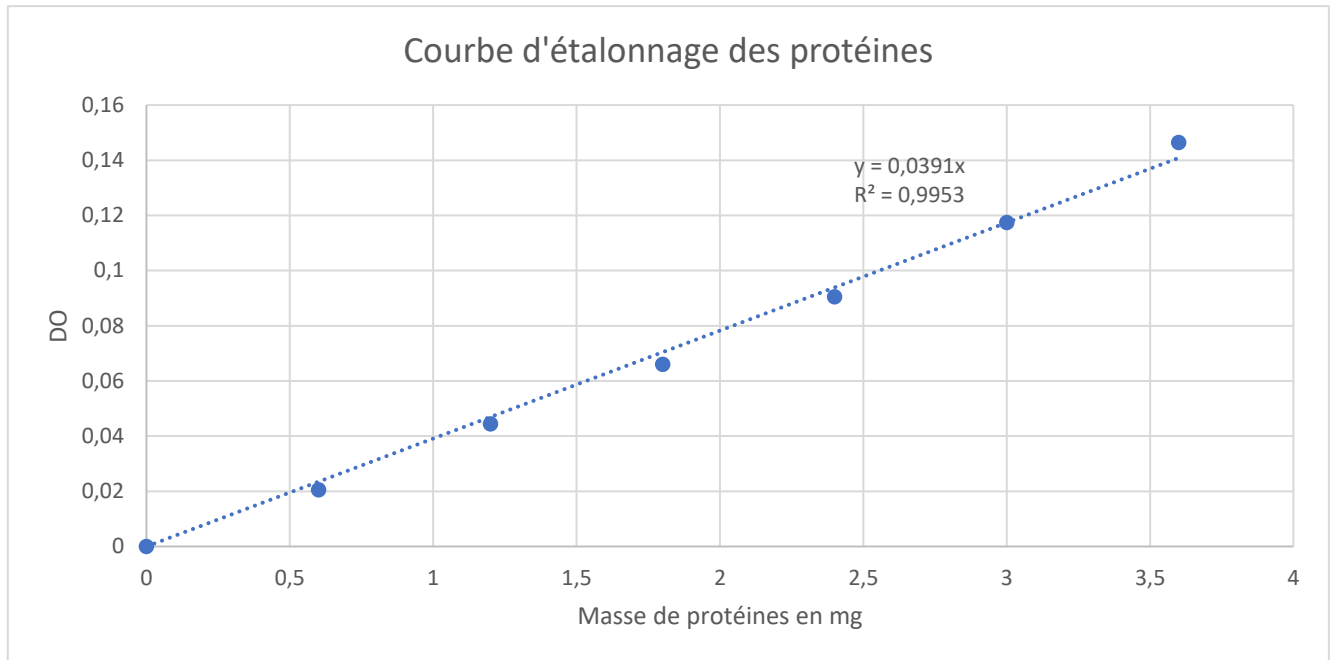
Annexe 6: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes



Annexe 7: Courbe d'étalonnage de la testostérone



Annexe 8: Courbe d'étalonnage protéines



Annexe 9: Courbe d'étalonnage de la catalase

