



*République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique Université Abbès Laghrou - Khenchela-
Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie Département de Biologie
Moléculaire et Cellulaire*



MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master académique

FILIERE : Science Biologique

OPTION : Biochimie Appliquée

Thème

**Etude phytochimique et évaluation des activités
biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) des extraits
aqueux et méthanoliques de la plante *Moringa oleifera Lam.***

Présentées par : **ATMANE Hadjer & FORTAS Nabila**

Jury de soutenance :

Présidente: **Dr. KRIM Meriem**

MCB. Univ. Abbès Laghrou – Khenchela

Encadreur: **Dr. BOUHALIT Samira**

MCB. Univ. Abbès Laghrou - Khenchela

Examineur: **M^r RAHAL Khaled**

MAA. Univ. Abbès Laghrou - Khenchela

Promotion: Juillet 2019

Remerciement

Tout d'abord nous tenons à remercier DIEU tout puissant de nous avoir donnés le courage et la volonté de terminer ce travail.

Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer notre profonde Gratitude à Madame BOUHALIT Samira notre promotrice, pour ses remarques, ses conseils et ses Orientations et pour le temps et l'attention qu'elle est bien voulue consacrer au bon déroulement de ce travail.

Nous tenons à remercier Dr KRIM Meriem de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance à Mr RAHAL Khaled d'avoir gentiment accepté d'examiner et de juger notre mémoire, qu'ils trouvent ici notre sincère gratitude.

J'adresse mon profond remerciement aussi à l'équipe de conservation des forêts de la wilaya de oued-souf, à Mr Boudjellale. S qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail en facilitant la récolte des échantillons.

Nous tenons à remercier Mr le professeur Ben Mhidi et un grand remerciement pour Dr. Khernane qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je remercie le bon dieu de m'avoir donné le courage pour réaliser ce travail et la patience pour aller jusqu'au bout de parcours de mes études

Je dédie du plus fond de mon cœur ce manuscrit :

A ma chère mère qui a toujours été là pour moi, je la remercie pour ces encouragements et son soutien. Que dieu leurs accorde une longue vie.

*A mon cher père qui m'a toujours soutenu et conseils dans ma vie
A mes chères sœurs Hakima, Doudou, Ghania, Souad, Ahlam, Batta et Amani.*

A mes frères :Badi et Yaakoub.

A ma princesse Azhar.

A mon intime Batta et mon chère ami et frère Imad.

A mon binôme Nabila et tous mes ami(e)s.

A ceux qui me sont chers et qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.

HADJER

Dédicaces

En premier lieu, je remercie le bon dieu, tout puissant, de m'avoir donnée la force et l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Je dédie ce travail à :

A ceux qui j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection et que je suis très fière de les avoir comme parents et que tous les mots du monde ne peuvent jamais exprimer l'amour et le respect que je leur porte ma mère Dalila et mon père Saïd et pour leurs soutien et leurs sacrifices énormes. Je vous aime tellement papa et maman.

A Mes très chères sœurs :Khalida, Nedjla et Nada qui m'ont soutenu, aidé et qui ont été toujours présents dans les moments difficiles.

A mon chère mari Alaa eddine ,pour sa compréhension,son amour et son soutien.

A ma plus belle amie qui je considère comme sœur Niamati et toute sa famille.

A mon Binôme Hadjer qui m'a supporter tout au long de ce travail et a qui je souhaite tout le bonheur du monde .

A mon encadreur Mme Bouhalit Samira

Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect pour elle

A toute ma famille et mes proches.

NABILA

Résumé

Les extraits naturels des plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Dans la présente étude on a tenté d'évaluer l'activité antioxydante in vitro et d'étudier l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique et les extraits aqueux (par infusion et par décoction) préparés à partir des feuilles du *Moringa oleifera*.

L'analyse qualitative des extraits aqueux et méthanoliques par les testes préliminaires a révélé la présence des composés phénoliques, des terpénoïdes, des tanins, des flavonoïdes ; ce ci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage, des composés phénoliques et des flavonoïdes, dont la valeur la plus élevés est celle de l'extrait méthanolique; alors le taux des flavonoïdes est ($1,17 \pm 0,043$ mg EQ/g d'extrait), alors que pour les deux autres extraits aqueux Aq1 et Aq2, la teneur des composés phénoliques est de (8,75 mg EAG/g et 8,44 mgEAG/g d'extrait) et pour les flavonoïdes elle est de ($1,09 \pm 0,01$ mgEQ/ g et $1,13 \pm 0,05$ mgEQ/ g d'extrait) respectivement.

Par ailleurs, les extraits ont montré une très forte activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical DPPH. L'extrait aqueux par infusion a montré une forte activité antioxydante avec une IC_{50} de 0,74 mg/ml même inférieure à celle du l'acide ascorbique 0,86 mg/ml. En outre, les extraits possèdent un pouvoir réducteur important concentration-dépendant. L'effet antibactérien de l'infusé et l'extrait méthanolique a été évalué par méthode de diffusion des disques vis-à-vis de trois souches bactériennes. Les résultats révèlent que les extraits aqueux et méthanoliques ont exercé un effet antibactérien considérable sur *S. aureus*, *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des zones d'inhibition de plus de 10 mm.

En conclusion, les extraits aqueux et méthanoliques des feuilles de *Moringa oleifera* possèdent une forte activité antioxydante et un effet antibactérien grâce à leur richesse en composés phénoliques.

Mots clés: *Moringa oleifera*, Activité antioxydante, activité antibactérienne, polyphénols, flavonoïdes, DPPH.

Abstract

Natural plant extracts contain a variety of phenolic compounds to which are attributed various biological activities. In this study we attempted to evaluate in vitro antioxidant activity and to study the antibacterial activity of the methanolic extract and the aqueous extracts (by infusion and by decoction) prepared from the leaves of *Moringa oleifera*.

The qualitative analysis of these extracts by the preliminary tests revealed the presence of phenolic compounds, terpenoid, tannins, flavonoids; this is confirmed by a quantitative analysis based on the assay of phenolic compounds and flavonoids, the highest value of which is that of the methanolic extract; then the level of flavonoids is (1.17 ± 0.043 mg EQ / g extract), whereas for the other two aqueous extracts Aq1 and Aq2, the content of the phenolic compounds is (8.75 mg EAG / g and 8, 44 mgEAG / g extract) and for flavonoids it is (1.09 ± 0.01 mgEq / g and 1.13 ± 0.05 mgEq / g extract) respectively.

Moreover, the extracts showed a very strong anti-radical activity towards the DPPH radical. Infusion extract showed strong antioxidant activity with an IC₅₀ of 0.74 mg / ml even lower than that of ascorbic acid 0.86 mg / ml. In addition, the extracts have a high concentration-dependent reducing power. The antibacterial effect of aqueous extract and methanolic extract was evaluated by diffusion method of the disks of three bacterial strains. The results reveal that the aqueous and methanolic extracts exerted a considerable antibacterial effect on *S. aureus*, *E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa* with zones of inhibition of more than 10 mm.

In conclusion, the aqueous and methanolic extract of *Moringa oleifera* leaves have fort antioxidant activity and antibacterial effect due to their high phenolic content.

Key words: *Moringa oleifera*, antioxidant activity, antibacterial activity, polyphenols, flavonoids, DPPH.

الملخص

المستخلصات النباتية الطبيعية تحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الفينولية التي تنسب إليها الأنشطة البيولوجية المختلفة. في هذه الدراسة ، حاولنا تقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة الفحص المخبري ودراسة النشاط المضاد للبكتيريا في المستخلص الميثانولي والمستخلصات المائية المحضرة من أوراق المورينجا *Moringa oleifera*.

كشف التحليل النوعي لهذه المستخلصات بواسطة الاختبارات الأولية وجود مركبات الفينول ، والترينيات ، والعفص ، والفلافونويد. هذا ما يؤكد التحليل الكمي المعتمد اساسا على حساب تراكيز المركبات الفينولية والفلافونويدات ، والتي كانت أعلى قيمة لها في المستخلص الميثانولي ؛ اما مستوى الفلافونويد فهو (0.043 ± 1.17 ملغ / غ مكافئ الكورستين) ، في حين أن المستخلصين الآخرين Aq1 و Aq2 ، يكون محتوى المركبات الفينولية فيهما (8.75 ملغم / غ مكافئ حمض الاسكربيك و 8، 44 ملغم / غ مكافئ حمض الاسكربيك تباعا) وبالنسبة للفلافونويد فهو (0.01 ± 1.09 ملغم / غ مكافئ الكورستين و 0.05 ± 1.13 ملغم / غ مكافئ الكورستين) على التوالي.

. أظهر التقييم الكمي للنشاط المضاد للأكسدة نشاطاً قوياً لكبح الجذر الحر DPPH خاصة عند المستخلص المائي الاول مع وجود IC50 يساوي 0.74 ملغم / مل أقل من نشاط حمض الأسكروبيك التي تمثل 0.86 ملغم / مل. بالإضافة إلى ذلك ، جميع المستخلصات لديها قدرة تخفيض عالية تعتمد على التركيز. تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الميثانولي والمستخلصات المائية عن طريق طريقة نشر الأقراص في مقابل ثلاث سلالات بكتيرية. تكشف النتائج أن المستخلصات المائية والميثانولية كانت لها تأثير مضاد للجراثيم على سلالات *S. aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* مع اقطار تثبيط أكثر من 10 مم.

في الختام ، فإن المستخلصات المائية والميثانولية لأوراق المورينجا لها نشاط مضاد للأكسدة قوي وتأثير مضاد للجراثيم بسبب محتواها الفينولي العالي.

الكلمات المفتاحية: *Moringa oleifera* ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للجراثيم ، البوليفينول ، الفلافونويد ، DPPH.

Liste des abréviations

ATCC : American Type Culture Collection.

CAZ : Ceftazidine.

CTX : Cefotaxime.

DMSO : Dimethyl Sulfoxide

DPPH : 1,1 diphényl-2-picrylhydrazyl.

EC50 : Concentration effectrice de 50%.

ERO : Espèce réactive oxygénées.

FOX : Cefoxitin.

GSH : Glutathion réduit.

GR : Glutathion réductase.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

I% : Pourcentage d'inhibition.

IC50 : Concentration d'inhibition de 50 %.

NO : Monoxyde d'azote.

¹O₂ : Oxygène Singlet.

OH⁻ : Anion hydroxyle.

O₂⁻ : Radival superoxyde.

O₂^{o-} : Anion superoxyde.

OH. : Radical hydroxyle.

ONOO- : Anion Peroxynitrite.

OX : Oxacillin.

ROO°: Radical peroxy.

SOD : super oxydes dismutases

TCA : Acide Trichloracétique.

TE : Tetracycline.

TIC : Ticarcillin.

VA : Vancomycin.

Liste des figures

Figure 01	<i>Moringa oleifera</i> Lam.	03
Figure 02	Répartition géographique de <i>Moringa oleifera</i> .	04
Figure 03	a) fruit, b) fleur),c) feuilles, d) graines de <i>Moringa Oleifera</i> .	06
Figure 04	Biosynthèse des composés phénoliques.	13
Figure 05	Structures de base des principaux flavonoïdes.	14
Figure 06	Structure des tanins condensés.	15
Figure 07	Origine des différents radicaux libre impliqués en biologie.	20
Figure 08	Les différentes sources des ERO.	22
Figure 09	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.	24
Figure 10	Photographies des feuilles et de la poudre de <i>Moringa olifera</i> .	28
Figure 11	Protocole d'obtention des extraits bruts de <i>Moringa oleifera</i> .	30
Figure 12	Protocole du dosage des phénols totaux.	33
Figure 13	protocole du dosage des flavonoïdes.	34
Figure 14	Réduction du radical DPPH°.	35
Figure 15	Protocole de détermination du pouvoir réducteur.	36
Figure 16	Les différentes souches sensible à utilisées.	38
Figure 17	Série des dilutions préparées à partir de la solution mère des extraits aqueux et méthanolique de <i>Moringa Olifera</i> .	39
Figure 18	Rendements des extraits de <i>Moringa Oleifera</i> en pourcentage.	40
Figure 19	Teneur en polyphénols totaux pour les différents extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> Lam.	44
Figure 20	Teneur en flavonoïdes pour les différents extraits des feuilles de <i>Moringa</i> .	45
Figure 21	Pourcentages d'inhibition du DPPH• en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> et l'acide ascorbique.	46
Figure 22	Activité antiradicalaire du DPPH° des extraits des feuilles de <i>Moringa Oleifera</i> .	47

Figure 23	IC50 des différents extraits des feuilles et d'amandes de la plante contre le radical DPPH.	48
Figure 24	Le pouvoir réducteur des extraits aqueux et méthanolique 80% des feuilles de Moringa selon la méthode de FRAP.	49
Figure 25	Les EC50 des extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i> et l'acide ascorbique.	50
Figure 26	Zone d'inhibition des extraits aqueux et méthanolique à différents concentrations vis-à-vis (A) <i>S.aureus</i> , (B) <i>E.coli</i> , (C) <i>P.aeruginosa</i> .	52
Figure 27	Représentation graphique de l'activité antibactérienne d'extrait aqueux par infusion de <i>M.Oleifera</i> .	53
Figure 28	Représentation graphique de l'activité antibactérienne de <i>M. Oleifera</i> d'extrait aqueux par décoction de <i>M.Oleifera</i> ..	54
Figure 29	Représentation graphique de l'activité antibactérienne de <i>M. Oleifera</i> d'extrait hydroalcolique de <i>M.Oleifera</i> .	54
Figure 30	La sensibilité des bactéries aux antibiotiques.	56

Liste des tableaux

Tableau 01	Représente la Position systématique de <i>Moringa oleifera</i> .	04
Tableau 02	Composition de feuilles fraîches et sèches de <i>Moringa oleifera</i> par 100g de portion comestible.	07
Tableau 03	Description des différentes souches bactériennes utilisées	37
Tableau 04	Rendements et caractéristiques des extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> .	40
Tableau 05	Résultats des screening phytochimiques des différents extraits de <i>M. oleifera</i>	42
Tableau 06	Les effets antibactériennes des différents extraits (méthanolique 80% et aqueux) des feuilles de <i>Moringa Oleifera</i> aux.	51
Tableau 07	Sensibilité des bactéries aux antibiotiques.	55

Table de matière

Résumé.....	I
Abstract.....	II
الملخص	III
Introduction.....	01

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Etude Botanique De *Moringa oleifera*

1. Origine et distribution03
2. Systematique et nomenclature	04
3. Description botanique	05
4. Composition chimique et valeur nutritive des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>06
5. Domaine d'utilisation du <i>Moringa Oleifera</i>	08
5.1 Alimentation	08
5.2 Médical et pharmacologique09
5.3 Utilisation industriel	10
5.4 Autre utilisations	10

Chapitre II : Métabolites secondaires

1. Généralité	12
2. Grandes classes des métabolites secondaires	12
2.1 Les composés phénoliques	12
2.1.1 Biosynthèses des composées phénoliques	12
2.1.2 Classification	12
2.1.3 Les propriétés des composés phénoliques.....	16
2.2 Les alcaloïdes17
2.3 Les terpènes	18

Chapitre III : Le stress oxydatif

1. Stress oxydatif	19
2. Les radicaux libres	19
2.1 Différentes formes des radicaux libres	20
2.2 Sources des radicaux libres	21
3. Les conséquences moléculaires du stress oxydatif.....	23
4. Les systèmes de défense antioxydants.....	24

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériels Et Méthodes

I. Matériel et méthode.....	28
1. Matériel biologique	28
1.1 Matériel végétal.....	28
1.2 Les souches bactérienne.....	28
2. Réactifs et équipement.....	28
3. Préparation des extraits.....	29
3.1. Préparation d'extrait aqueux par infusion.....	29
3.2. Préparation d'extrait aqueux par décoction.....	29
3.3. Préparation d'extrait hydro-méthanolique.....	29
4. Analyses qualitative des composés phénoliques	31
5. Analyse quantitative des composés phénoliques.....	33
6. Evaluation de l'activité anti-oxydante.....	34
7. Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de M.Oleifera.....	37
8. Analyse statique.....	39

Chapitre II : Résultats et Discussion

1. Rendement d'extraction	40
2. Tests phytochimiques préliminaires.....	41
3. Analyse quantitative des composé phénolique	44
3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	44
3.2. Dosage des flavonoïdes	45
4. Activités antioxydants.....	46
4.1 Activité antiradicalaire du DPPH°	46
4.2 Pouvoir réducteur (FRAP).....	49
5. Etude de l'activité antibactérienne.....	51
5.1 Pouvoir antibactérienne (méthode de diffusion des disques).....	51
5.2 Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.....	56
Conclusion générale et perspectives	50
Références bibliographiques.....	52
Annexes.....	IV

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux. L'utilisation thérapeutique des vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

Grace à leurs composition riche en différentes molécules chimiques (terpènes, polyphénols, alcaloïdes, peptides...) qui leurs permettent d'avoir des propriétés physicochimiques très variantes ; les plantes représentent une source importante de molécules bioactives qui renferment de nombreuses activités biologiques :antioxydante, anti inflammatoire, anti bactérienne, anti tumorale...etc (Michel, 2011).

Parmi ces plantes *Moringa oleifera* Lam qui est est aujourd'hui largement répandu sur le continent africain (Kokou et al., 2001). Les nombreuses propriétés valorisables de cette plante en font un sujet d'étude très intéressant (Foidl et al., 2001), elle apparaît comme l'une des espèces les plus prometteuses en fonction de la teneur en nutriments, de l'activité antioxydante, des composés phytochimiques (Yang et al., 2006). elle est aussi utilisable grâce a son pouvoir pharmacologique, et pourraient constituer une source potentielle dans le traitement des pathologies (Caceres et al., 1991).

La présente étude vise à étudier et à découvrir certains constituants et d'établir un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes de *Moringa oleifera*, et aussi d'étudier certains activités antioxydante et antibactérienne des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de cette plante.

Cette étude est structurée en deux parties, initiée par une synthèse bibliographique mettant l'accent sur les généralités de la plante de *Moringa oleifera* concernant son origine, sa description botanique, sa composition et ses différents domaines d'utilisation ; ensuite les métabolites secondaires et le stress oxydatif avec les antioxydants.

La deuxième partie étant consacré aux matériel utilisé et les méthodes suivies pour :

- ❖ Screening phytochimiques des différents extraits hydro-méthanolique et aqueux des feuilles de *Moringa oleifera*.

- ❖ Evaluation de taux des polyphénols totaux, et flavonoïdes des différents extraits des feuilles
- ❖ Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits des feuilles de *Moringa Oleifera*, en utilisant le test au DPPH et le test réducteur de fer FRAP.
- ❖ L'étude de l'activité antibactérienne des différents extraits des feuilles de *Moringa Oleifera* en utilisant trois souches bactériennes.

Enfin, le manuscrit est achevé par une conclusion qui permettra de résumer les résultats trouvés intéressants et de tirer quelques perspectives.

1. Origine et distribution :

Toutes les espèces de *Moringa* sont originaires d'Asie, d'où elles ont été introduites dans d'autres pays chauds, tels que la Malaisie et d'autres pays tropicaux. Elle est considérée comme l'un des arbres les plus utiles au monde, elle possède de nombreuses propriétés intéressantes qui lui confèrent un grand intérêt scientifique, elle est décrite comme l'arbre miracle, l'arbre de vie, et le don de dieu à l'homme (Ijarotomi et al., 2013 ; Haldar et Kosankar., 2017).

L'arbre peut supporter des températures élevées à des zones arides (sahara) et peut être cultivé dans les plaines (Haviz et al., 2016). *M. oleifera* est aujourd'hui cultivé à travers le Moyen-Orient, ainsi que tout le long de la ceinture tropicale. Il a été introduit en Afrique depuis l'Inde au tournant de le vingtième siècle (Muluvi et al., 1999).



Figure 1 : *Moringa oleifera* Lam. (Kathryn et al., 2012).



Figure 2 : Répartition géographique de *Moringa oleifera*. (Trees of life, 2013)

2. Systematique et nomenclature :

Moringa oleifera Lam. (Synonyme: *Moringa pterygosperma* Gaertner) appartient à la famille monogénérique des arbustes et arbres des Moringaceae qui comprend environ 13 espèces. Les douze autres espèces sont bien connues : *M. arborea*, *M. borziana*, *M. concanensis*, *M. drouhardii*, *M. hildebrandtii*, *M. longituba*, *M. ovalifolia*, *M. peregrina*, *M. pygmaea*, *M. riviae*, *M. ruspoliana*, *M. stenopetala*. *Moringa oleifera* Lam. , est l'espèce la plus largement connue et utilisée (hedji et al., 2014).

Tableau 1 : Représente la position systématique de *Moringa oleifera* (Chukwuebuka, 2015)

Règne	Plantae
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Cappareles</i>
Famille	<i>Moringaceae</i>
Genre	<i>Moringa</i>
Espèce	<i>Moringa Oleifera</i> Lam

Moringa oleifera est connu sous diverses appellations, «Moringa» vient de murunga en malayalam une langue indienne. La plupart des langues utilisent un dérivé phonétique de ce mot pour désigner la plante, dénommé aussi en français « arbre du paradis » il est qualifié «d'arbre de vie», «d'arbre miracle» (Fuglie, 2001; Lim, 2012).

En anglais, elle est appelée « West Indian tree » ou «Drumstick tree », résultant de la forme de ces gousses ou encore « Never die tree » qui ne meurt jamais en référence à sa résistance à la sécheresse, en arabe « Rawag », ou «Shagara Al Ruwag» qui signifie l'arbre purificateur (Fuglie, 2002 ; Lim, 2012). Appelée aussi Yovoviti, Amédoti, Bagaelean, Baganlua, Ekpoti, (Togo) ; Argentiga, Alj an-tiiga, Ardjeneyiri, La-banyu (Burkina Faso) ; Manjirini, Massa Jirini, Neberdayo, Verdaye (Mali) ; Halim, WindiBundu, Zogalabandi (Niger, Tchad) ; Nebeday (Sénégal) ; Anamambo, Anamorongo, Felikambo (Madagascar) ; BrèdeMouroungue, (Seychelles ,Mauritius, Réunion) ; Ben, Benzolivier, Maloko, Morenga, Perla, (Caraïbes). (Revue comes ,2014)

3. Description botanique :

Arbre ou arbuste pérenne à feuilles caduques, à croissance rapide, résistant à la sécheresse, d'une hauteur moyenne de 12 m à maturité. *Moringa Oleifera* préfère une altitude de 100 à 700 m, mais peut pousser jusqu'à 1500 m, leur plage de température idéale est de 22 à 25 °C, mais il peut tolérer des températures jusqu'à 45 °C, il préfère les sols sablonneux ou limoneux bien drainés, neutres à légèrement acide, et elle s'adapte à des précipitations optimales de 700 à 900 mm, mais aussi tolérant à des précipitations de 100 à 1500 mm (Palada et Chang, 2003 ; Melesse et al., 2012).

Le Moringa est un arbre à écorce grise ou chamois pâle, lisse ou rarement rugueuse. Son tronc mesure de 20 à 40 cm de diamètre, droit très peut développer, les fruits sont des gousses allongées à trois valves, de 10 à 50 cm de long, brunes à maturité et qui contiennent chacune entre 12 et 35 graines rondes, avec une coque marron semi-perméable. La coque présente trois ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet.

Les fleurs mesurent 2.5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires et tombantes de 10 à 25 cm, sont de couleur blanche ou crème et présentent parfois des taches rouges, elles sont généralement abondantes et dégagent une odeur agréable (Laleye et al., 2015 ; Irénée Modeste Bidima, 2016).

Ses racines blanches gonflée, tubéreuse qui a une odeur piquante caractéristique et dotée de racines latérales plutôt clairsemées (Rolaff et al., 2009).

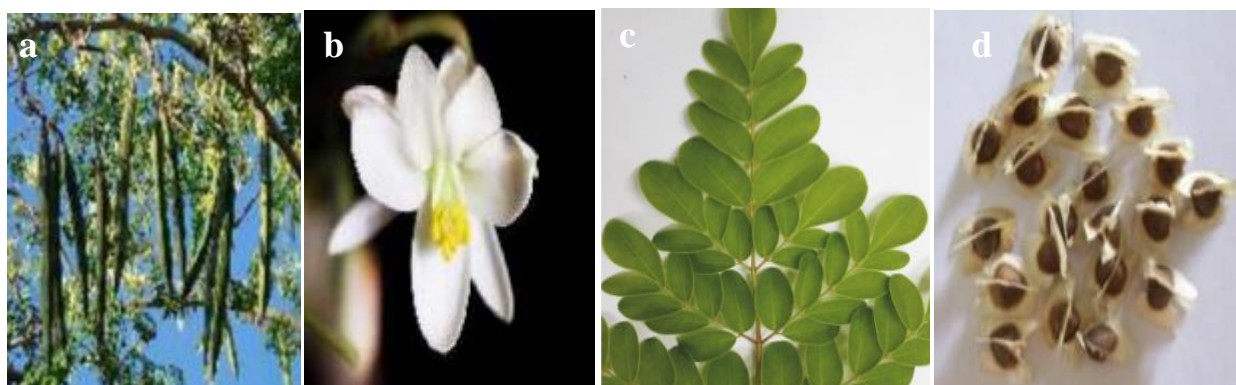


Figure 03 : a) fruit, b) fleur, c) feuilles, d) graines de *Moringa Oleifera* (Cleide et al., 2013 ; Haviz et al., 2016).

4. Composition chimique et valeur nutritive des feuilles de *Moringa oleifera* :

M. Oleifera se caractérise par une forte teneur en nutriments, elles ont une très grande teneur en vitamine (A, B, C, D, E), en minéraux (fer, calcium, zinc, magnésium) et sont riches en β -carotène (Yang et al., 2006 ; Madi et al., 2012 ; Hédji et al., 2014).

Les feuilles de *M. oleifera* sont légumes de bonne qualité nutritionnelle et sont l'un des meilleurs légumes tropicaux, elles sont une excellente source de protéines dont les teneurs moyennes varient entre 19-35% de MS (Makkar et Becker, 1996 ; Foidl et al., 2001) avec un bon profil en acides aminés, elles possèdent les 10 acides aminés essentiels à l'homme (Hédji et al., 2014) ; alcaloïdes, flavonoïdes et de composés phénoliques (Makkar et Becker, 1996).

Les graines de *Moringa oleifera* sont du type oléagineuse, elles renferment 42% d'huile, caractérisée par sa faible teneur en acides gras saturés et sa forte teneur en acides gras monoinsaturés (Amaglo et al., 2010). Cette huile, également nommée (huile de Ben), contient 70% à 73% d'acide palmitique, 1,4% d'acide palmitoléique, 7,7% d'acide benéique, 6,2% d'acide palmitique et 5,7% d'acide stéarique (Martini, 2011), contiennent aussi de nombreux stérols ont été identifiés dans l'huile. Selon les études, les taux de stérols retrouvés sont variables. Les stigmasterol, le campesterol et le β -sitostérol sont les trois composés prédominants (Anwar et al., 2007).

L'acide caféoylquinique est présent dans toute la plante à l'exception des racines, des fruits et des graines. Le taux le plus élevé est retrouvé dans les feuilles des arbres en fleurs (Amaglo et al., 2010). On retrouve également l'acide gallique, l'acide ellagique et l'acide vanillique dans les extraits obtenus à partir des feuilles, des fruits ou bien des graines (Singh et al., 2009).

Le 4-O-(alpha-L-rhamnopyranosyloxy) (benzyl-glucosinolate), nommé glucomoringine, est prédominant dans tous les tissus de la plante à l'exception des racines. Quatre autres glucosinolates sont détectés dans les fleurs et les feuilles. Il s'agit du 4 hydroxy benzyl glucosinolate et de trois isomères du mono-acétyl-rhamnose. Les feuilles et les graines sont les organes les plus riches en glucosinolates (Amaglo et al., 2010).

Tableau 02 : Composition de feuilles fraîches et sèches de *Moringa oleifera* par 100g de portion comestible (Messoudene, 2018).

Composition	Feuille fraîche	Poudre de feuille sèche
Humidité %	75,0	7,5
Protéines (g)	6,7	27,1
Calories	92	205
Matière grasse (g)	1,7	2,3
Glucides (g)	12,5	38,2
Fibres (g)	0,9	19,2
Minéraux (mg)		
Ca	440	2003,0
Mg	42	368,0
P	70	204,0
K	259	1324,0
Cu	1,1	0,6
Fe	7	28,2
S	137	870

Vitamines (mg)		
Vit A	6,8	16,3
Vit B	423	-
Vit B1	0,21	2,64
Vit B2	0,05	20,5
Vit B3	0,8	8,2
VitC	220	17,3
VitE	448	113,0
Acides aminés essentiels (mg)		
Arginine	402	1325
Histidine	141	825
Lysine	288	1325
Tryptophane	127	425
Phénylalanine	429	1388
Méthionine	134	350
Thréonine	328	1188
Leucine	623	1950
Isoleucine	422	825
Valine	476	1063

5. Domaine d'utilisation du *Moringa Oleifera* :

Tous les parties de *M. Oleifera* fruits, racines, fleurs sont traditionnellement utilisées à différentes fins, mais les feuilles sont les plus utilisées, parmi les domaines d'application on trouve :

5.1. Alimentation :

➤ Alimentation humain :

Les feuilles de *Moringa Oleifera* ont un très grand pouvoir nutritif, utiliser comme ressource à grand vertu alimentaire (Madi et al., 2012).

D'après Broin (2005), les feuilles peuvent se consommer fraîche ou en poudre, principalement sous forme de sauce de légume-feuilles (Mawouma et al., 2014) et même

associées aux épices comme les piment ,elles peuvent également être préparées en soupe ou en salade. Les jeunes gousses vertes peuvent être consommées bouillies comme les haricots, et sont les meilleures pour la consommation humain (Foidl et al., 2001).

En Inde la racine peut s'utiliser comme substitut du raifort. La poudre de feuilles séchées peut s'ajouter à toutes sortes de plats en tant que complément alimentaire. La graine peut manger grillée comme une arachide (Saint sauveur et Broin, 2010). Ces derniers ont été utilisées pour améliorer le statu nutritionnel des personnes de tout âge sur tous les enfants et pour lutter contre la malnutrition (Saini, 2016).

➤ **Alimentation animal :**

Moringa Oleifera présentent également des propriétés intéressantes exploitables en nutrition animal (Faihum et al., 2019). Les qualités nutritives des feuilles, gousses ou les jeunes branche de *Moringa Oleifera* sont excellentes, ce qui en fait une source de fourrage des bétails de très bonne qualité et elle augmente la quantité de lait chez les vaches (Foidl et al., 2001 ; Yang et al., 2006). Elles peuvent aussi être incorporées dans des formulations d'aliments pour volailles ou poissons d'élevage (Saint Sauveur et Broin, 2010).

Aussi l'incorporation de farine de feuilles de *Moringa Oleifera* dans les rations des poulets a montré une amélioration significative de la coloration jaune du jaune d'œuf et de la productivité chez les poules pondeuses (Reyes, 2006 ; Owusu-Ansah et al., 2011; Paguia et al., 2014).

5.2.Médical et pharmacologique

Elle est également utilisée comme médicament (Mawouma et al., 2014; Rabo et al., 2015). Les guérisseurs traditionnels ont utilisé le *Moringa* pour traiter les maladies de la peau, des voies respiratoires et l'hypertension (Anwar et al., 2007 ; Price, 2007). Presque tous les parties de *M. Oleifera* sont utilisées dans le traitement des pathologies infectieuses, des affections digestives, à la neurologie à la gynécologie et l'obstétrique (Atakpama et al., 2014).

Il est prouvé dans de nombreux études que le *Moringa* possède un large éventail de propriétés médicinales et thérapeutique qui sont : propriétés anti-fibrotic, anti inflammatoire, antioxydante, anti microbienne, anti tumoral et anti cancer, et anti diabétique (Abdull, 2013 ; Ndiaye et al., 2018).

Une étude par Zing et al. (2019) sur les effets bénéfiques de *M. Oleifera* montrée que ces feuilles alimentaires amélioreraient les performances de reproduction animale.

- **Propriété anti diabétique** : le Moringa a réussi à contrôler la néphropathie diabétique et utiliser différents matériaux tels que l'acide ferulsinaïque. Le traitement des rats mâles diabétiques au streptozotocin et à faibles doses de moringa ont révélé une activité anti diabétique sûre et excellente en raison de teneur en composés antioxydants tels que la glucomoringine (Al Malki et El Rabey, 2015).
- **Propriété anti cancéreuse** : selon Hagoel et al. (2019) le Moringa a diminué la survie des cellules cancéreuses du pancréas et leur activité métastatique et a inhibé de manière significative la croissance tumorale. Les extraits de graines se sont également révélés efficaces sur les enzymes hépatiques métabolisant des carcinogènes (Anwar et al., 2007).

5.3. Utilisation industrielle :

Les feuilles de *Moringa Oleifera* après transformation seraient utilisées à des fins cosmétiques. L'huile de *M. Oleifera* peut être utilisée en cosmétique pour sa capacité à absorber et à retenir les substances volatiles, elle intervient dans la stabilisation des parfums et dans la fabrication de savon, de pommades pour cheveux (Atakpama et al., 2014).

L'huile de graine est utilisée comme lubrifiant dans la machinerie fine (comme l'horlogerie) pour sa faible tendance à se détériorer et devenir rance et collante. Elle est aussi utilisée comme huile végétale comestible et huile de cuisson (Foidl et al., 2001). La tige de *M. Oleifera* est aussi utilisée comme bois pour faire le feu dans les ménages (Atakpama et al., 2014).

5.4. Autres utilisations :

- **Traitement d'eau** : le traitement des eaux usées par les graines de *M. Oleifera* présente une efficacité intéressante quant à la diminution de la charge bactérienne et parasitaire (Frah et Bouzad, 2018). Les graines de moringa peuvent également être utilisées comme antiseptique dans le traitement de l'eau potable (Anwar et al., 2007 ; Boussoufa, 2018). Elles contiennent des polyélectrolytes cationiques actifs, utilisées pour neutraliser les matières colloïdales et provoquent la sédimentation des particules minérales et organiques dans les processus de purification de l'eau (Atakpama et al., 2014).

- L'incorporation de la poudre de *M. Oleifera* dans la préparation des pâtes alimentaire : la poudre de feuilles de moringa a été utilisée en substitution de la semoule ou de la farine du blé. Elle permet d'obtenir des pâtes de meilleure qualité pour prévenir et traiter les carences alimentaires (Haddad et Chouicha, 2018).
- L'utilisation d'extrait de moringa dans l'emballage comestible : l'extrait éthanolique de moringa s'avère plus efficace que le chitosane pour la conservation de fruits contre les contaminations (Messoudene, 2018).
- L'utilisation de l'extrait de moringa pour la conservation de margarine : l'utilisation de l'extrait de feuilles et de l'huile de graines de *Moringa Oleifera* pour remplacer la vitamine E qu'est utilisé comme anti oxydant dans la margarine (Akhribe et Azri, 2018).
- *Moringa Oleifera* possède une source de biogaz, un accélérateur de croissance végétale, utilisé comme engrais vert, pesticide naturel, teinture de couleur bleu et fabrication de papier et de cordes...etc. (Rashid et al., 2008).

1. Généralités :

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale. Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (Muanda, 2010). Elles sont responsables à différentes fonctions (la défense, la communication intercellulaire, la régulation des cycles catalytiques, l'adaptation des végétaux à leur environnement) (Lognay et al., 2002).

2. Grandes classes des métabolites secondaires :

Les plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (Nkhili, 2009).

2.1. Les composés phénoliques :

Les polyphénols, sont des molécules spécifiques du règne végétal, leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie de la plante. Cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Achat, 2013 ; Ganesan et al., 2017). Ils possèdent des structures chimiques diversifiées et peuvent avoir des propriétés biologiques intéressantes (Quideau et al., 2011). Sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie d'acide malonique, celles de l'acide shikimique conduisant après transamination et désamination aux acides cinnamiques et à leurs dérivés et celles de l'acétate conduisant aux polycéto esters ou polyacétates (malonate) (Cheynie, 1997).

2.1.1. Biosynthèses des composées phénoliques :

Les composés phénoliques constituent un des groupes les plus importants chez les végétaux, issus de la grande voie d'aromagenèse ; shikimates ou acide shikimique et de la voie acétate-malonate et peuvent être divisés en diverses classes sur la base de leur structure moléculaire (Mohammedi, 2013).

2.1.2. Classification :

Les composés phénoliques sont un groupe de produits naturels très diversifié et se subdivisent en plusieurs classes, qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de

base, ensuite par le degré de modification de ce squelette, enfin par liaison possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (Macheix et al., 2005).

Ils sont répartis en plusieurs classes, parmi elles : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les coumarines et les tanins (Tapiero et al., 2002).

a. Acide phénolique :

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués : Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique, et les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique (Nkhili, 2009).

➤ Les acides hydroxybenzoïques :

Sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque ils ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ils existent fréquemment sous forme d'ester ou de glucosides, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique (macheix et al., 2005).

➤ Les acides hydroxycinnamiques :

Les acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide cinnamique, ce sont des composés aromatiques de type (C6-C3) qui existent souvent sous forme combiné dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique (Hosseini et al., 2016).

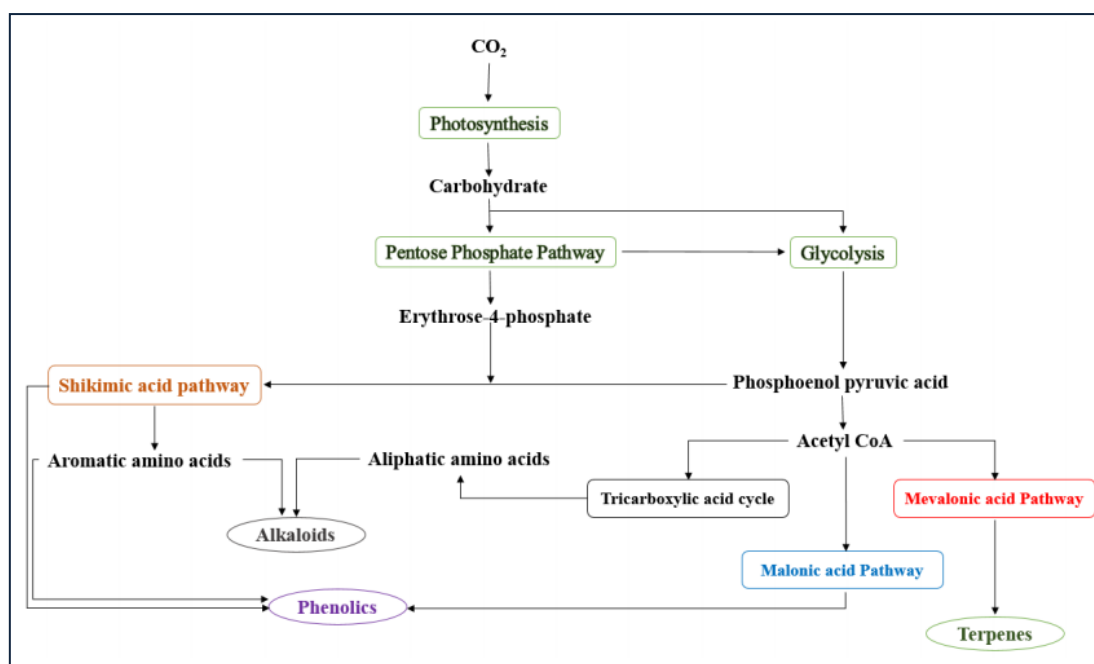


Figure 4: Biosynthèse des composés phénoliques (Cuong, 2017)

b. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal (Muanda, 2010). Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Medić-Šarić et al., 2004). Ils interviennent probablement pour protéger les plantes des herbivores et contrôler le transports des auxines (Judd et al., 2002).

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, isoflavandiol, flavanols, flavandiols, aurones, chalcones, anthocyanins (Effendi et al., 2008).

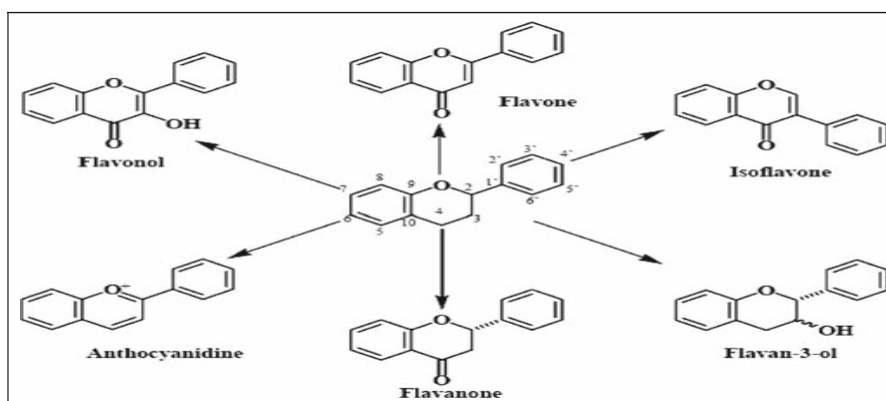


Figure 5 : Structure de base des principaux flavonoïdes (Chira, 2008).

c. Les coumarines :

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae) d'où fut isolée en 1982 (Bruneton, 1993). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Ford et al., 2001). Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. À l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Booth et al., 2004).

Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et les solvants organiques tels que l'éther ou les solvants chlorés dans lesquels ils sont extractibles. Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau. Ils présentent une large gamme d'activités ;

spasmolytique, antifongique, anti thrombotique, et vasodilatatrices, anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire anticoagulante, antitumorale, diurétiques, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Brooker et al., 2008).

d. Les tanins :

Composés aromatiques polyphénoliques, non azotés, hydrosolubles et comme les flavonoïdes, à saveur astringente et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Frutos et al., 2004). Chez les végétaux supérieurs on distingue deux groupes de tanins de structures différentes: les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables, ou tanins condensés (Traoré, 1999 ; Frutos et al., 2004).

➤ Les tanins hydrolysables :

Au centre d'une molécule de taninhydrolysable, il y a un glucide (D-glucose).Les groupes hydroxyles du glucide sont partiellement ou totalement estérifiés avec des groupes phénoliques comme acide gallique ou acide ellagique. Les tanins hydrolysables sont hydrolysés par des acides faibles ou des bases faible pour produire le glucide et des acides phénoliques (Praveen, 2012).

➤ Les tanins condensés :

Sont des polymères à noyau flavone qui ont un poids moléculaire élevé (de 1000 à 30000 Da) et une forte affinité pour les protéines. Ils sont présents dans les vacuoles d'un réseau de cellules spécialisées, situées sous l'épiderme des feuilles et des tiges de certaines légumineuses tempérées (sainfoin, lotier cornicule ou pédonculé) et tropicales herbacées et arbustives (Jarrige et al., 1995).

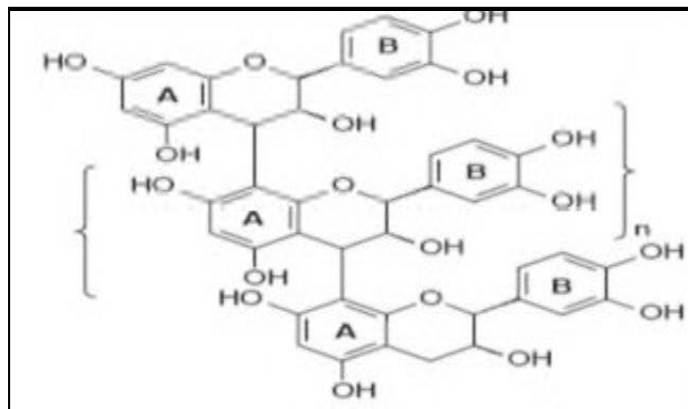


Figure 6 : Structure des tanins condensés (Macheix et al., 2005).

2.1.3. Les propriétés des composés phénoliques :

Les polyphénols sont généralement des composés aromatiques solubles dans les solvants polaires tels que l'éthanol, le méthanol, le butanol, l'acétone, le diméthylsulfoxyde, l'eau, ... etc (Benkrief, 1990). Ils ont moins polaires comme les isoflavones, les flavonones, les flavones et les flavonols sont plus solubles dans d'autres solvants tels que l'éther et le chloroforme (Vitsaropoulou et Vajias, 1986).

On trouve Chez les plantes, les composés phénoliques sont impliqués dans différents processus comme la germination des graines et la croissance des plantes (Macheix et al., 2006). Ces dernières années les recherches sur les composés phénoliques se sont accentuées en raison de leurs activités anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques, antioxydant et même anticancéreuse (Montoro et al., 2005).

L'antioxydant est défini comme étant une substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres les rendant ainsi inoffensifs (Karou et al., 2005). Ils peuvent être classés selon leur origine en antioxydants endogènes ou exogènes. Les antioxydants endogènes sont des enzymes dont les plus connues sont celles produite dans le corps humain (Mates, 2000).

L'activité antioxydant des composés phénoliques est due à leur capacité à piéger les radicaux libres, donner l'atome d'hydrogène et un électron et de chélate les cations métalliques. La structure des composés phénoliques est l'élément déterminant de leur activité (Balasundram et al., 2006).

Pour les flavonoïdes, la relation structure activité antioxydant est généralement plus compliquée que les acides phénoliques à cause de la complexité de la molécule de flavonoïdes (Bors et al., 1997).

Quand a l'antimicrobiennes des plantes médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Yano et al., 2006). Les constituants des extraits de plantes sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons. Les polyphénols sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis d'une large gamme de microorganismes (Cowan, 1999 ; Basli et al., 2012).

Chez les végétaux, une contamination par des microorganisme pathogènes entraine une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, ce qui correspond à la mise en place de mécanisme de défense de la plante (Macheix et al., 2006 ; Meziani et al., 2015).

2.2. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels hétérocycliques avec l'azote comme hétéroatome. Ils dérivent des acides aminés, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose, et sont produits dans les tissus en croissance (Krief, 2003).

La présence d'azote confère à la molécule un caractère basique plus au moins prononcé, de distribution restreinte et douée d'activité pharmacologique significative (Fdil et al., 2012). Les alcaloïdes existent sous forme de sels (malates, méconates, isobutyrate) et sous forme d'une combinaison avec les tanins. Ils sont des précurseurs de nombreux médicaments. Les alcaloïdes jouent aussi le rôle d'antibiotique comme la cyclosérine, la mytomycine (Badiaga, 2011). Les alcaloïdes sont généralement classés en :

a) Les vrais alcaloïdes :

Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (Badiaga, 2011).

b) Les proto-alcaloïdes :

Ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, soluble dans l'eau. Sont présentent fréquemment de propriétés pharmacologiques marquées et ont de nombreuses utilisations en thérapeutique, notamment au niveau de système nerveux central, du système nerveux autonome et du système (sympathomimétique « épidine », parasymphomimétique « pilocarpine » et du système cardiovasculaire) (Gazengel et Orecchioni, 2013).

Les alcaloïdes présente d'autre propriétés anti-tumorales et antiparasitaire qui sont utilisées comme anti-cancer, sédatif et pour leur effets sur les troubles nerveux (maladie de parkinson) (Iserin et al., 2007).

c) Les pseudo-alcaloïdes :

Sont présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Badiaga, 2011).

Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoides (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate (Rakotonanahary, 2012).

2.3. Les terpènes :

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène C_5H_8 et ont pour formule de base des multiples de celle-ci $(C_5H_8)_n$. On peut considérer l'isoprène comme l'un des éléments de construction préférés de la nature (Muanda, 2010). Leur squelette de carbone est constitué d'unités isopréniques reliées entre eux. C'est ce que l'on appelle la règle de l'isoprène. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles (Benaïssa, 2011).

En fonction du nombre n (entier) d'unités, on peut distinguer pour; $n = 2$: les monoterpènes (C_{10}), $n = 3$: les sesquiterpènes (C_{15}), $n = 4$: les diterpènes (C_{20}), $n = 5$: les sesterpènes (C_{25}), $n = 6$: les triterpènes (C_{30}) (Muanda, 2010).

Les activités biologiques des terpènes sont incroyablement large et comporte des activités: antifongiques, antiparasitaires, antioxydantes, anti-microbienne (acide fuside), anti-fidant (radermasinis), anti-mycotique (trianthenol), anti-virale (les dérivés de l'acidebetulinique), anti-inflamatoire (betuline, lupeol), des effets anti-tumorale (boswellique, pomole) anti-cariées (des acides oléanolique, glycyrrhetique), anti-ulcerienne (acide glycyrrhetique) et anti-HIV (l'acide betulinique) (Ramawat et Merillon, 2008 ; Dalbolena et al., 2016).

L'oxydation de divers substrats endogènes: les phospholipides des membranes cellulaires, les protéines et l'ADN, conduit à la formation des radicaux libres ou des espèces réactives oxygénées (ERO). La formation des ERO est un processus tout à fait naturel et joue un rôle essentiel dans l'organisme : efficacité de l'apoptose, prolifération cellulaire normale, régulation de la pression sanguine, état redox normal pour l'expression des gènes, etc... (Rousseau, 2004).

1. Stress oxydatif :

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production des radicaux libres et des éléments oxydants et la capacité de leur élimination par les antioxydants d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Barouki, 2006; Reuter et al., 2010). Ce déséquilibre est un déséquilibre profond de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, avec conséquences l'apparitions des dégâts irréversibles par la cellule à concentration plus élevées, les EAO peuvent en effet engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire. Ce que se traduit par divers altérations biochimiques intracellulaires ; oxydation de l'ADN, de protéines et la peroxydation des lipides (Cheurfa et al., 2015; Bidri et Choay, 2016 ; Kehili et al., 2017).

2. Les radicaux libres :

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Afonso et al., 2007). Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire, elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (Valko et al., 2007).

Actuellement, on emploie le terme « espèces réactives de l'oxygène » pour désigner un ensemble plus large de molécules :

- Des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié: l'anion superoxyde, l'O₂^{•-}, les radicaux hydroxyles HO•, peroxyde ROO•, alkoxyde RO• (Favier, 2003).

- Des dérivés de l'oxygène non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), L'oxygène singulet 1O_2 et le nitroperoxyde $\bullet ONOOH$, mais qui sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux libres (Favier, 2003).

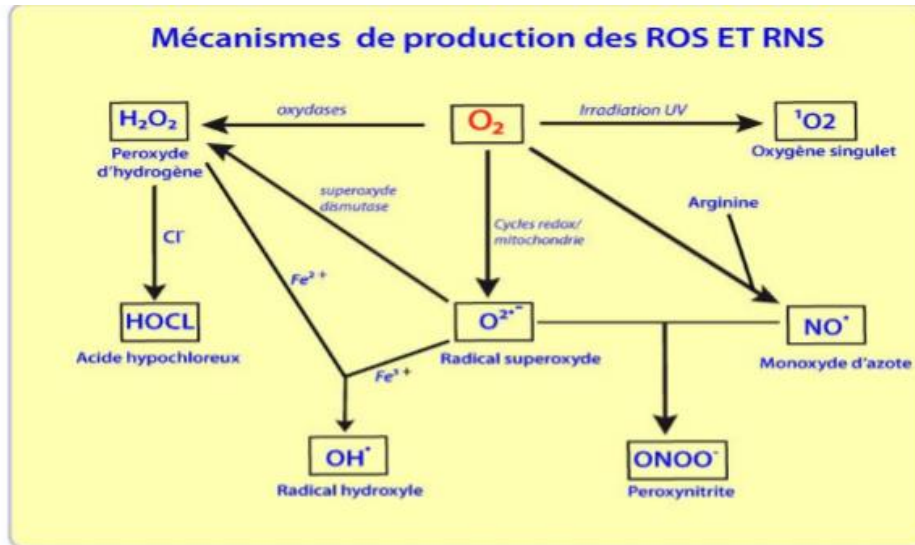


Figure 7 : Origine des différents radicaux libre impliqués en biologie (Sahnoun et al., 1998)

2.1. Différentes formes des radicaux libres :

Parmi les espèces radicalaires qui se forment dans les cellules, on distingue des composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et dénommés radicaux primaires. Les autres RLO, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de radicaux primaires sur les composés de la cellule. Les radicaux primaires dérivent de l' O_2 tels le radical superoxyde ($O_2\bullet$) et le radical hydroxyl ($OH\bullet$), ou de l'azote tel le monoxyde d'azote ($NO\bullet$). D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces réactives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des RLO, mais des espèces réactives précurseurs de radicaux (Favier, 2003).

❖ Radicaux libres oxygénés (ERO)

Appeler aussi « espèces réactives de l'oxygène » qui inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit (le radical superoxyde; hydroxyle; l'oxyde nitrique) mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires (peroxyde d'hydrogène; l'oxygène singulet; l'anion hypochlorite; le peroxyde nitrite) dont la toxicité est importante (Novelli, 1997; Bartosikova et al., 2003).

En effet, la toxicité des ERO n'est pas nécessairement corrélée avec leur réactivité, dans plusieurs cas des espèces peu réactives peuvent être à l'origine d'une grande toxicité en raison de leur demie vie longue qui leur permet de se diffuser et gagner des locations sensibles où elles peuvent interagir et causer des dommages à longue distance de leurs sites de production (Kohen et Nyska, 2002).

❖ Radicaux libres azotés (RNS)

- **Oxyde nitrique NO** : est un radical avec un électron non apparié, il est formé par l'action du NO synthétase sur l'arginine (Fang et al., 2002). L'oxyde nitrique lui-même moins réactif que les autres radicaux libres, mais sa sur production dans des conditions spécifiques capable de provoquer la déplétion des principaux antioxydants au niveau du plasma, tels que l'acide ascorbique et l'acide urique et capable d'entamer le lipide peroxydation (Halliwell et Wiseman, 1996).

- **Nitrique dioxyde NO₂** : formé à partir de la réaction du radical peroxyde avec NO. Le nitrique dioxyde est un puissant déclencheur du lipide peroxydation par sa capacité d'arracher un atome d'hydrogène d'une double liaison au niveau des acides gras polyinsaturés.

- **Peroxynitrite** : la réaction du NO avec l'anion superoxyde donne naissance au peroxynitrite (Wiernsperger, 2003), est un dérivé d'oxygène très toxique qui provoque des lésions tissulaires très graves en plus de l'oxydation des LDL (Halliwell, 1997).



Peroxynitrite apparaît comme l'espèce la plus toxique pour les tissus au niveau des sites de l'inflammation et participe dans plusieurs désordres neurodégénératif et des lésions rénales. Le peroxynitrite (OONO⁻) est capable d'oxyder les protéines et les bases azotées des brins d'ADN par une grande similarité de l'oxydation par le radical hydroxyle (Knight, 2001).

2.2. Sources des radicaux libres

Au cours de leur métabolisme normale et parfois en réponse à un stimulus spécifique, divers types cellulaires et tissus donnent naissance aux radicaux libres par des réactions enzymatiques ou par auto-oxydation (Boussoulim, 2014). On distingue deux sources :

- **Sources exogènes** : des facteurs exogènes liés à l'environnement ou au mode de vie sont à l'origine d'une augmentation du stress oxydant dans l'organisme par l'accumulation de

radicaux libres dans l'organisme. Une large variété de xénobiotiques (toxines, pesticides, herbicides, etc...) peuvent contribuer à la production des ERO qui se forment comme un des produits de leur métabolisme in vivo (Desikan et al., 2003 ; Lykkesfeldt et Svendsen, 2007).

Le goudron, le tabac et les polluants industriels participent également à la genèse d'ERO, qui attaquent et causent des endommagements dans l'organisme que ce soit par interaction directe avec la peau ou après inhalation dans les poumons (Münzel et al., 2006 ; Důračková, 2008). L'exposition prolongée au soleil, ainsi que les rayonnements X ou γ peuvent par différents mécanismes faire apparaître des radicaux libres ($O_2^{\bullet-}$, OH^{\bullet} , $1O_2$ et $d'H_2O_2$) (Bouzid, 2009).

Une alimentation raffinée riche en graisses saturées, en sucre et consommation d'alcool, sont autant d'éléments favorisant la genèse de radicaux libres (Mena et al., 2009) qu'une alimentation déséquilibrée (carences en vitamines et oligo-éléments) (Zerargui, 2015).

• Sources endogènes

À côté des sources exogènes des radicaux libres, les métabolismes intracellulaires (endogènes) sont des sources plus importantes d'ERO. Ils sont produits en continu durant toute la vie de chaque cellule dans l'organisme (Boussoualim, 2014). L'une des sources physiologiques majeures de $O_2^{\bullet-}$ est représentée par la chaîne respiratoire mitochondriale comme source permanente d'ERO (García, 2005).

De même, les radicaux libres sont produits in vivo sous l'action de plusieurs systèmes biochimiques tel que, les cellules neuronales, endothéliales et phagocytaires (macrophages) (Boussoualim, 2014). Des radicaux libres sont également produits sous l'influence d'autres facteurs endogènes, notamment le stress intellectuel ou thermique (Ansari, 1997 ; Valko et al., 2006).

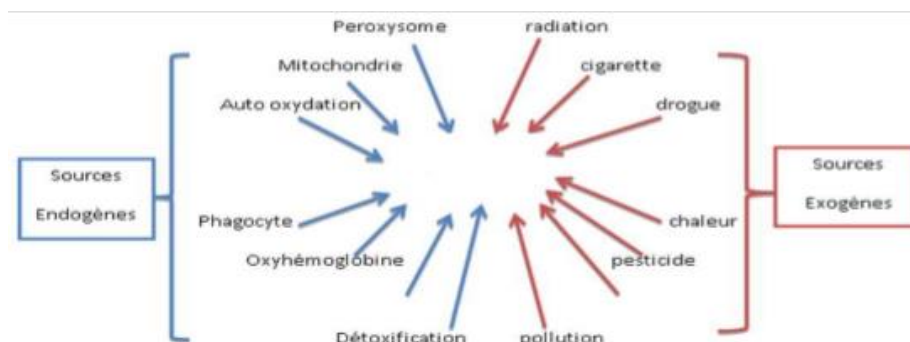


Figure 8: les différentes sources des ERO (Humblet et al., 2005)

3. Les conséquences moléculaires du stress oxydatif :

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Nathalie, 2014).

L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Bouziane , 2011).

➤ Peroxydation des lipides

Principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par OH• capable d'arracher un H sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy (Autore et al., 1984). Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne (Manallah, 2012).

L'attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes aboutissant à la formation de LDL oxydées qui formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardio-vasculaires alors que l'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction du signal (Nathalie, 2014).

➤ Oxydation d'ADN

Il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les RLO (Marie-Eve, 2012). L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant des bases modifiées. Le stress oxydatif peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin. Des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN (Belkheiri, 2010).

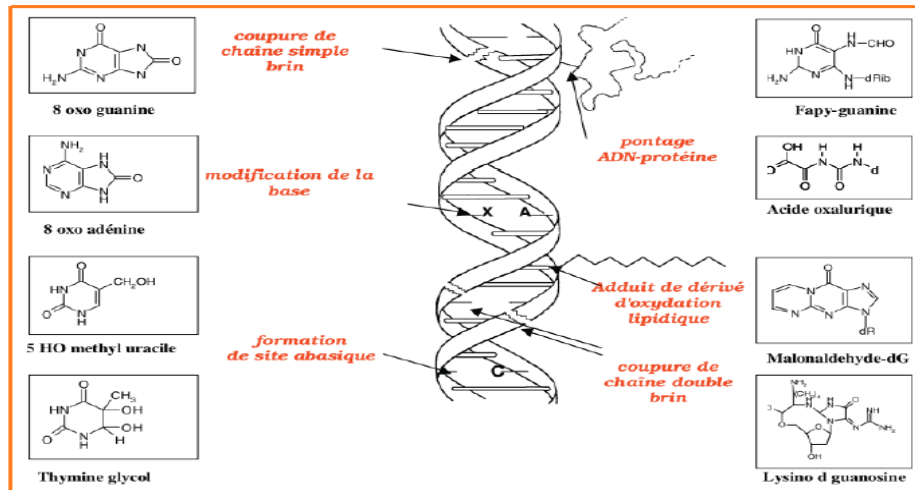


Figure 9: Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Ashnagar, 2007).

➤ Oxydation des polysaccharides

Les RLO attaquent les glycosaminoglycanes et notamment les protéoglycanes. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant du H_2O_2 et $OH\cdot$, qui entraîneront la coupure des protéines et leur glycation (Nathalie, 2014). Ce phénomène est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité des parois vasculaires (Ashnagar, 2007).

➤ Oxydation des protéines

De nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport sont oxydées et inactivées et perdent ainsi leurs propriétés biologiques (enzyme, récepteur...) et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (Ashnagar, 2007). Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes, elles vont alors former des amas anormaux dans ou autour des cellules (Nathalie, 2014).

4. Les systèmes de défense antioxydants

De façon générale, un antioxydant est défini comme étant toute substance qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat et permet de maintenir l'homéostasie cellulaire. (Barouki, 2006; Gauche et Hausswirth, 2006).

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types :

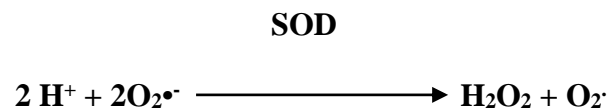
Les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques. Ces antioxydants sont d'autant plus importants que certains peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de prévenir le stress oxydatif (Diplock, 1991).

➤ **Les antioxydants enzymatiques**

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les EROs (Hamadi, 2010).

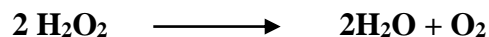
a) Les superoxydesdismutases (SOD)

Les superoxydes dismutases (SOD) constituent la première ligne de protection contre les dérivés radicalaires de l'oxygène (Vergely *et al.*, 2003). Ils sont présents dans presque toutes les cellules aérobies et dans les liquides extracellulaires (Kabel *et al.*, 2014). Les SOD sont l'un des antioxydants les plus puissants, ils catalysent la conversion d'anions superoxydes en dioxygène et en peroxyde d'hydrogène: (Belge, 2016).



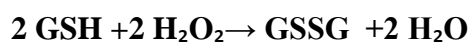
b) Les catalases

La catalase est une enzyme intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes. Elle catalyse la réaction de détoxification du H_2O_2 (généralement produit par la SOD). Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et du foie (Soulère *et al.*, 2002). La réaction de détoxification se déroule comme suit :



c) La glutathion peroxydase et réductase (GSH-Px)

Les enzymes de cette famille sont selenium (Se)-dépendante. La glutathion peroxydase (GP_x) est présente dans le cytoplasme où elle joue un rôle majeur dans la régulation de l'état redox physiologique intracellulaire des cellules vasculaires. Elle catalyse la réduction des hydroperoxydes (H_2O_2), et des peroxydes lipidiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'hydrogène.



d) L'hème oxygénase

L'hème oxygénase dégrade l'hème (pro-oxydant) en biliverdine, puis en bilirubine qui est un antioxydant, en CO et en fer, et peut prévenir l'oxydation des LDLs. On distingue l'hème oxygénase constitutive et inductible. Cette dernière est induite par le stress oxydant et les oxLDLs, et possède un effet antiathérogène chez la souris (Ouannes et boumarafi, 2017).

e) Les thiorédoxines (TRx) et la thiorédoxine réductase (TRxR)

Les thiorédoxines sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH). Elles jouent aussi un rôle important dans la régulation du système immunitaire. Une fois oxydée, la thiorédoxine est réduite par la thiorédoxine réductase (TRxR) qui est une enzyme possédant un groupement sélénocystéine dans son site actif. La TRxR intervient aussi dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène et dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Souza, 2010).

➤ Les antioxydants non enzymatiques

Certaines substances ingérées sont utilisées par l'organisme comme antioxydants. Ce sont principalement :

A) Glutathion

Le glutathion est un tripeptide endogène qui joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation en situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GSH-Px. (Stamler et Slivka, 1996)

B) Acide Urique

L'acide urique est un piègeur de l'O₂, des radicaux peroxydes et hydroxydes (RO₂⁻ et HO⁻), La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactifs que HO⁻ (Powers et Jackson, 2008).

C) Vitamine C

L'acide ascorbique et ses dérivés; Il peut être d'origine naturelle (fruits et légumes) ou synthétique. L'acide L-ascorbique (vitamine C) et son dérivé le palmitate d'ascorbyle, ils sont des antioxydants utilisés en synergie. Il possède un caractère acide et intervient dans les

échanges d'oxydoréduction grâce à sa fonction ène-diol. L'acide ascorbique s'oxyde en acide déshydroascorbique, prévenant ainsi l'oxydation d'autres substances moins réactives (Portes et Fernández-Kelly, 2008).

D) Vitamine E

Elle prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales, les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (Ahmet, 2003).

E) Les oligoéléments

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Ces oligoéléments jouent le rôle de cofacteur pour maintenir l'activité catalytique des enzymesantioxydantes (Garait et al., 2007).

F) Les caroténoïdes

Se sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux ROO° , HO° , $O_2^\circ-$, R° par simple addition électrophile et transfert d'électron. Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singulet (Valko et al., 2006) .

g) Les composés phénoliques

La propriété antioxydante des flavonoïdes la mieux décrite est leur capacité à piéger les radicaux libres: radical hydroxyle, l'anion superoxyde et les radicaux peroxydes. Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C_3OH) fortement réactif .Ils peuvent également protéger les membranes cellulaires par leur action à différents niveaux sur la peroxydation lipidique (Chekir-Ghedira et al., 2005). Elle contribue aussi à l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) qui sont impliquées dans l'athérogénèse (Rehab et al., 2012) .

I. Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

1.1 Matériel végétal

L'étude est réalisée sur les feuilles de *Moringa oleifera* provenant du sud d'Algérie de la région de Oued-Souf, récoltées début d'avril 2019. L'identification a été effectuée par Mm BOUHALIT maître de conférences à l'université Abbès-Laghrou de Khenchela. Après triage et nettoyage, les feuilles de *M.oleifera* ont été séchées à l'air libre dans un endroit sec et ombragé. Un broyage fin des feuilles séchées est pratiqué à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre finale obtenue est conservée dans un bocal en verre fermé hermétiquement est stocké à l'abri de la lumière.



Figure 10 : Photographies des feuilles et de la poudre de *Moringa oleifera* (photos personnelles)

1.2. Les souches bactériennes

Toutes les souches bactériennes ont été aimablement fournies par le Pr. Ben Mhidi, médecin chef au laboratoire de bactériologie de CHU Batna. Il s'agit d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

2. Réactifs et équipement

Le travail a été effectué au niveau des laboratoires pédagogiques de l'université Abbès Laghrou-Khenchela. Pour réaliser cette étude, un ensemble d'équipements, de verreries, d'appareillages et de produits chimiques, solvants, milieux de culture ont été utilisés, parmi

ces produits:

Le méthanol, l'éthanol, le chloroforme, l'hydroxyde de sodium (NaOH), l'ammoniaque (NH₄OH), le sulfate de potassium, l'acide sulfurique (H₂SO₄), l'acide chlorhydrique (HCl), l'acide acétique, le trichlorure d'aluminium (AlCl₃), la gélose Mueller-Hinton, les réactifs de Fehling, Bouchardat, l'acide ascorbique et le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), TCA, ferricyanure de potassium, le chlorure ferrique (FeCl₃), Sérum albumine humaine (SAH).

Les appareillages utilisés: Rota vapeur HAHNSHIN HS-2005 V-N, spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau, chambre d'observation UV, étuve universelle de 5 à 220°C avec ventilation, pH mètre, centrifugeuse, agitateur magnétique, et balance de précision, la haute, bec benzène, autoclave, bain marie, vortex, règle millimétrique, réfrigérateur.

3. Préparation des extraits

3.1 Préparation d'extrait aqueux par infusion

La préparation de cet extrait consiste à faire infuser 40 g de la poudre de moringa dans 300 ml de l'eau distillée, porté initialement à ébullition pendant 20 min à 45°C. Puis une filtration par un papier filtre. A la fin de l'extraction et la filtration, le filtrat a été récupéré et évaporé à sec par une étuve à 50 C°.

3.2 Préparation d'extrait aqueux par décoction

Cette préparation est basée sur la décoction, en introduisant 40 g de poudre de moringa dans 300 ml de l'eau distillée. Le tout est chauffé pendant 1 heure. Après refroidissement et filtration, le filtrat est évaporé à l'étuve à 50 C° (Souley, 2005).

3.3 Préparation de l'extrait hydro-méthanolique

L'extraction a été effectuée par macération à froide de 20 g de la poudre de moringa dans 100 ml d'un mélange hydro-alcoolique méthanol-eau distillée ; (8:2 V\V) pendant 24h avec agitation continue à température ambiante. Après filtration à l'aide d'un papier filtre; le résidu est macéré deux autres fois avec la même solution et le même volume. Les filtrats sont récupérés, réunis et soumis à une évaporation rotative à 45°C. L'extrait sec obtenu est ensuite stocké à une température de +4 C°.

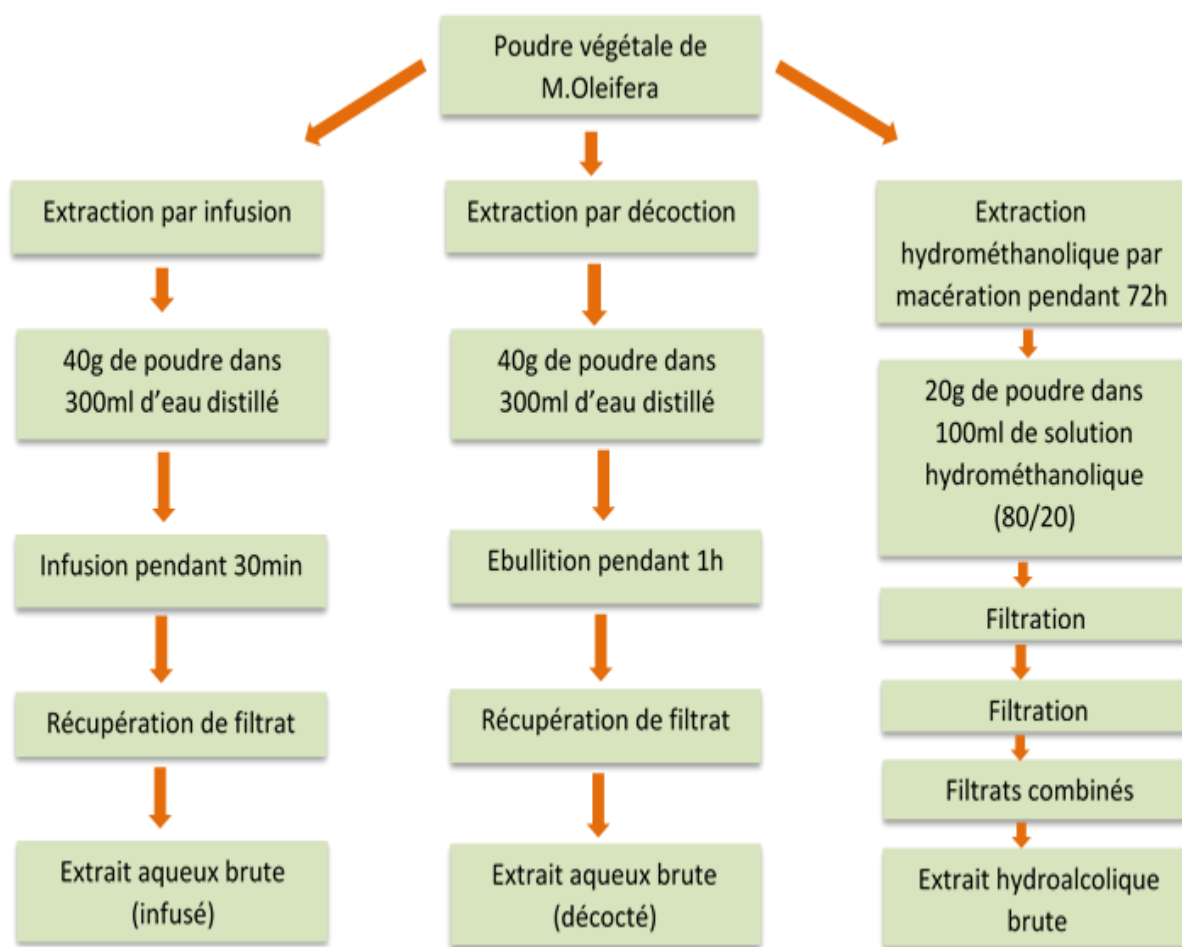


Figure 11: Protocole d'obtention des extraits bruts de *Moringa oleifera*.

➤ Détermination du rendement d'extraction

Le rendement des extraits méthanolique et aqueux est déterminé par le rapport du poids de l'extrait sec après évaporation sur le poids de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction, multiplié par 100% (Bekhechi, 2001).

$$R(\%) = (P_e / P_v) \times 100$$

R (%) : Rendement en %.

P_e : Poids de l'extrait après l'évaporation du solvant.

P_v : Poids de la poudre végétale utilisée pour l'extraction.

4. Analyse qualitative des composés phénoliques

a. Screening phytochimique des extraits

➤ Mise en évidence des flavonoïdes

5 ml d'extrait avec quelques gouttes d' AlCl_3 à 1%. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune (Edeaga et al., 2005).

➤ Mise en évidence des composés phénoliques

1 ml d'extrait dans 3 ml d'eau distillée et 5 gouttes de FeCl_3 y ont été ajoutées. La présence des composés phénoliques a été marquée par l'apparition de la coloration bleu-verdâtre (Rosine et Momo, 2009).

➤ Tanins

2 à 3 gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3 à 2%) sont ajoutées à 1 ml d'extrait. L'apparition d'une coloration vert foncée indique la présence de tanins catéchiques, une coloration bleue fanée indique la présence de tanins gallique et une coloration bleue verdâtre indique la présence de tanins (Soulama et al., 2014).

➤ Alcaloïdes

La présence d'alcaloïdes est révélée par la méthode de Kpemi (2007). Quelques gouttes du réactif de Bouchardat sont ajoutées à 2 ml d'extrait. La formation d'un précipité brun-noir, brun-terne ou jaune-brun indique la présence de ces métabolites dans le milieu.

➤ Saponines

La détection des saponines est réalisée au moyen du test de Yadav et Agarwala (2011). 1 ml d'extrait, ajoutés 3 ml d'eau distillée. Après agitation pendant 2 min la formation d'une mousse persistante indique la présence des saponines.

➤ Terpénoïdes

La méthode d'Aziman et al. (2012) permet de mettre en évidence la présence de terpénoïdes. 2,5 ml d'extrait est ajouté à 1 ml de chloroforme. Après homogénéisation, 1,5 ml d' H_2SO_4 concentré sont ajoutés au mélange. La formation d'une couleur brun-rouge à l'interface indique la présence de ces composés.

➤ Les anthocyanes

La recherche des anthocyanes repose sur le changement de la couleur de l'infusé à

10% avec le changement de pH : On ajoute quelques gouttes d'HCl, puis quelques gouttes d'ammoniac (NH_4OH). Le changement de la couleur indique la présence des anthocyanes (Debray et al., 1971).

➤ **Les quinones libres**

2 ml d'extrait plus quelques gouttes de lessive de soude (NaOH 1 %) développent une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet en présence des quinones libres (Oloyede et Aina, 2005).

➤ **Les anthraquinones**

Ajoute 5 ml de NH_4OH à 10 ml d'extrait, après agitation leur présence est indiquée par une coloration violette (Okerulu et Aina, 2001).

➤ **Les coumarines**

1 ml d'extrait est déposé sur papier filtre plus 0,5ml de NH_4OH à 25% et l'observation de la fluorescence sous une lampe UV à 366 nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté l'ammoniaque indique la présence de coumarines (Okerulu et Aina, 2001).

➤ **Les amines**

L'extrait est déposé sur papier filtre à l'étuve 80 °C puis pulvérisé avec quelques gouttes de ninhydrine puis séché à l'étuve à 110 °C pendant 5 min. Des taches violettes sur le papier indiquent la présence des amines (Oloyede, 2005).

➤ **Les Mucilages**

1 ml d'infusé est ajouté à 5ml d'éthanol après quelque minute. La formation d'un précipité indique la présence des mucilages (Études rwandaises, 1977).

➤ **L'Amidon**

On ajoute quelque goutte de légole à 1ml d'infusé 5%, une coloration bleu foncé confirme la présence de l'amidon (Kanoun, 2011).

➤ **Les sucres réducteurs**

A 1 ml de chaque extrait on ajoute 2ml de solution Fehling puis les tubes sont incubés au bain marie pendant 20 min. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité de couleur rouge brique (Cai et al., 2011).

5. Analyse quantitative des composés phénoliques

a. Dosage des phénolstotaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu a été employé pour déterminer la teneur en phénols totaux des extraits d'échantillons selon la méthode rapportée par (Singleton et al., 1999).

A 200 μl de chaque extrait végétal (2mg/ml), sont ajoutés 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois dans de l'eau distillée. Après 5 minutes en obscurité, on ajoute 800 μl de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5%. L'absorbance du mélange réactionnel est mesurée à 765 nm contre un blanc, après une incubation pendant 2 h à température ambiante et à l'obscurité. Dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage la courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (0-100 mg/ml). Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg d'EAG/g).

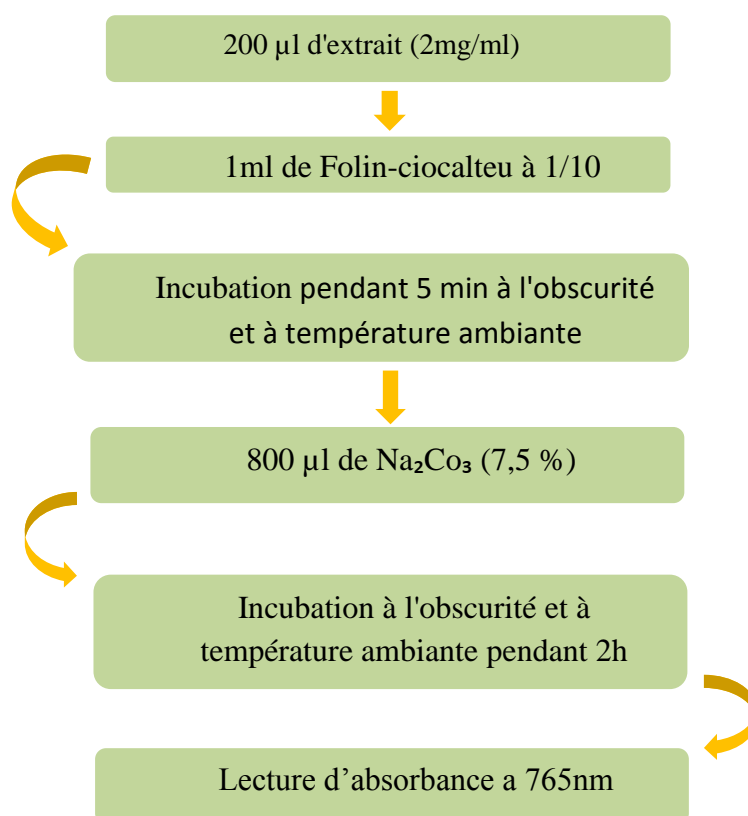


Figure 12 : Protocole du dosage des phénols totaux (Djeridane et al., 2006).

b. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de (Djeridane et al., 2006). Cette méthode spectrophotométrique du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes. Elle est basée sur la capacité des flavonoïdes à se complexer avec le chlorure d'aluminium.

1 ml d'échantillon est ajouté à 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2%), le mélange est vigoureusement agité. Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre UV visible à 430 nm. Une courbe d'étalonnage établie par la quercétine, réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de la quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) (Djeridane et al., 2006).

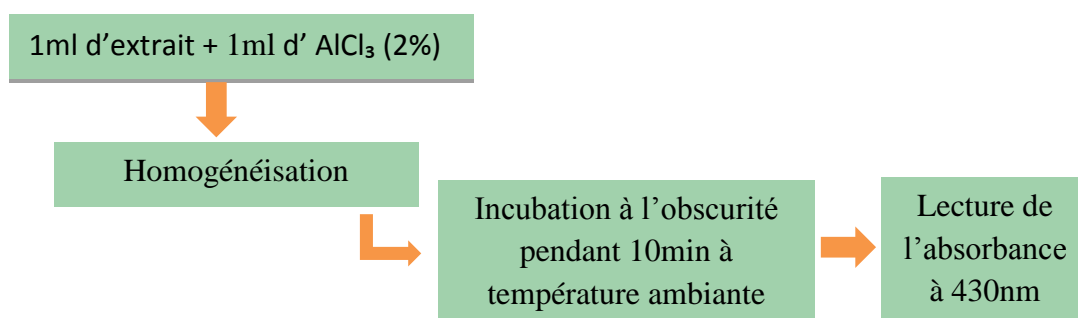


Figure 13: protocole du dosage des flavonoïdes (Maksimovič et al., 2005).

6. Evaluation de l'activité anti-oxydante

a. Activité anti radicalaire par la méthode du DPPH

❖ Principe

L'activité antioxydant a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (2, 2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert du radical H sur le DPPH (mauve) qui sera transformé en une molécule neutre et stable DPPHH (jaune); la réduction du DPPH en DPPH-H se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH mesurable par spectrophotométrie de 515nm (Brand William et al., 1995 ; Popovici et al., 2010).

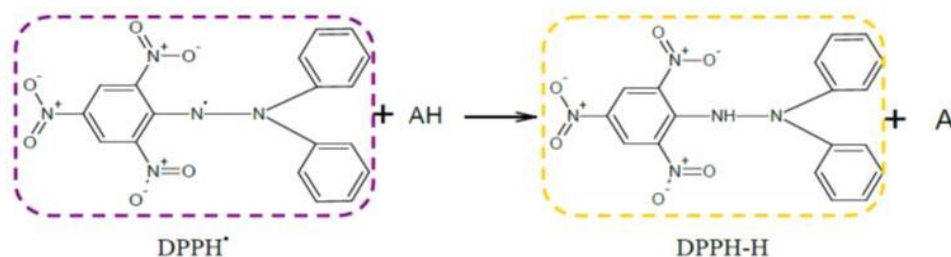


Figure 14: Réduction du radical DPPH° (Haddouchi et al., 2016)

❖ Mode opératoire

50 µl d'extrait à différentes concentrations (de 0.5 à 2 mg/ml) sont ajoutés à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0.025 g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélange 50 µl de méthanol avec 1950 µl de la solution méthanolique de DPPH. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, la lecture de l'absorbance est faite à 515 nm contre un blanc.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un anti-oxydant de référence : l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions. Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%). La capacité antioxydante de nos échantillons est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• suivant l'équation :

$$\text{inhibition}\% = \frac{\text{abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} * 100$$

Abs contrôle : correspond à l'absorbance du contrôle

Abs échantillon : correspond à l'absorbance de l'échantillon

IC50 ou concentration inhibitrice est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH déterminées graphiquement par régression linéaire.

b. Mesure du pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à donner un électron qui va réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}) (Li et al., 2009). Le pouvoir réducteur de l'extrait est déterminé selon la méthode décrite par Li et al. (2007) qui consiste à mélanger 1ml d'extrait de différente concentration avec 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium à 1%. Le mélange est incubé pendant 20 min à 50 C° puis 2,5 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 10%. Après centrifugation à 3000 rpm/10 min, 2,5 ml de surnageant sont mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée. L'absorbance obtenu est mesurée à 700 nm.

La valeur EC50 est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5 et est calculée à partir du graphe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon.

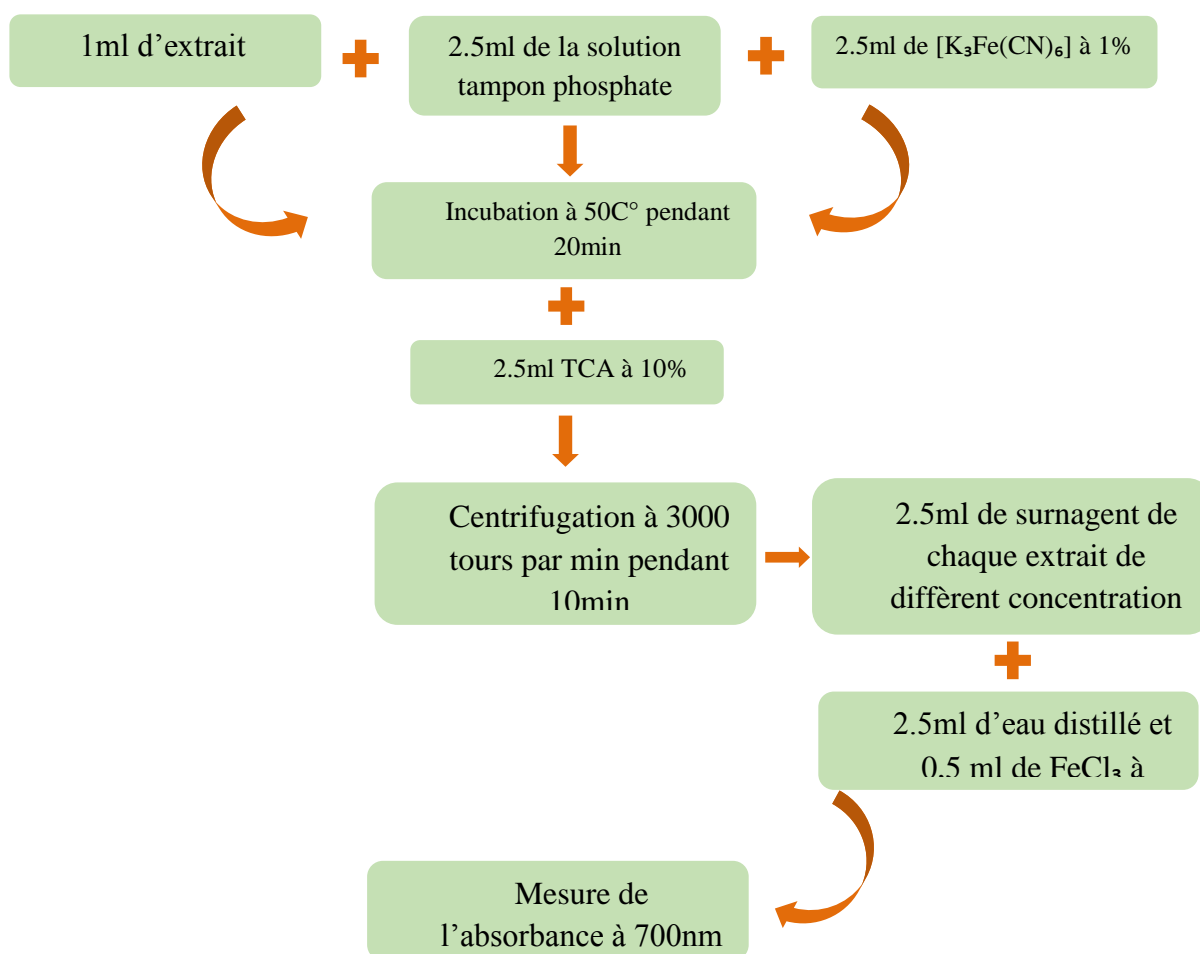


Figure 15: Protocole de détermination du pouvoir réducteur (Oyaizu et al., 1986).

7. Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de *M. oleifera*

La méthode de diffusion en milieu gélosé cité par Chan et al. (2007) est utilisée pour rechercher l'efficacité et l'activité antibactérienne des différents extraits infusé, décocté et extrait hydro-méthanolique au laboratoire de bactériologie de CHU Batna.

Le milieu de culture utilisé est la gélose Mueller-Hinton. Les souches bactériennes utilisées sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Description des différentes souches bactériennes utilisées

Espèce	Référence	Famille	Quelques propriétés des souches utilisées
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	Enterobacteriaceae	Bacilles à gram négatifs a sporules, fermentent le lactose et le glucose, responsables des infections urinaires, septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastro-entérites
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	Enterobacteriaceae	Bacille à Gram négatif, mobile aérobie, non capsulé. Agent pathogène opportuniste actif. provoque des infections nosocomiales, sous forme d'infections urinaires, d'infections du sang, des plaies et de l'appareil respiratoire (Perry et al., 2004).
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	Micrococaceae	Cocci à Gram positif, immobiles, responsables d'infections graves communautaires et nosocomiales, d'infections des plaies, de la peau et du sang, des abcès, ostéites, otites, infections urinaires, endocardites, gastro-entérites et infection pulmonaires (Hart et Shears, 2002 ; Perry et al., 2004).

❖ Préparation des souches

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries dans le bouillon nutritif, puis incubés à 37°C pendant 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi par la suite à préparer l'inoculum.



Figure 16: les différentes souches sensibles à utilisées (photos personnelles).

❖ Préparation des disques

Les disques du papier WathmanN°1 de 6 mm stérilisés à 120°C pendant 45 min à l'autoclave.

❖ Préparation de l'inoculum

Des colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant de l'eau distillée stérile afin d'avoir des suspensions bactériennes ayant une turbidité voisine à celle de McFarland 0.5 (10^8 UFC/mL).

❖ L'ensemencement

L'ensemencement de l'inoculum est réalisé en surface, en tournant chaque fois sur toute la surface du milieu, en tournant chaque fois la boîte de 60°C de façon à assurer un ensemencement uniforme.

❖ Dépôt des disques

Des disques de papier-Wattman stériles (6 mm de diamètre) sont imprégnés avec chaque extrait de différent concentration (0.5, 0.75 et 1 mg /ml) à raison de 10µl (Karabay- Yavasoglu et al., 2007). Les disques témoins sont imprégnés de 10 µl du DMSO (Bansemir et al., 2006). Les disques sont déposés aseptiquement à la surface du milieu ensemencé. L'incubation des boîtes dans l'étuve pendant 24 heures à 37°C. Les mesures des diamètres des zones d'inhibition sont effectuées à l'aide d'une règle millimétrée sur la surface inférieure de la boîte, sans ouvrir le couvercle (Karabay-Yavasoglu et al., 2007).



Figure 17 : Série des dilutions préparées à partir de la solution mère des extraits aqueux et méthanolique de *Moringa oleifera*

➤ Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Une suspension bactérienne du germe à tester estensemencée dans des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton. Des disques d'antibiotiques sont ensuite déposés sur la gélose ; puis les boîtes de Pétri sont mises à incuber à 37°C à l'étuve (Vandepitte et al., 1994).

8. Analyse statistique

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais et les résultats sont exprimés par la moyenne \pm l'écart type. Les résultats ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) suivie d'une comparaison multiple des moyennes par le biais du logiciel Minitab 13 et la comparaison des données est prise à la probabilité ($P < 0,05$).

1. Rendement d'extraction

La préparation des extraits des feuilles et des amandes de *Moringa oleifera* a été effectuée selon la méthode proposée par Souley (2005) et Kothe (2007). Les procédés d'extraction ont permis d'obtenir trois extraits: les extraits aqueux obtenus par infusion (Aq 1), par décoction (Aq 2), et brut hydro-méthanolique (EM).

La couleur, la masse, ainsi que le rendement de chaque extrait par rapport au poids des feuilles séchées et pulvérisées sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : Rendements et caractéristiques des extraits des feuilles de *Moringa oleifera*.

Extraits	Masse(g)	Couleur	Rendement(%)
Aq1	12,15	Marron	30,38
Aq2	3,55	Marron	8,8
ME	5,65	Miel	28,25

Les rendements représentés dans le tableau ci-dessus sont illustrés sous forme d'histogramme permettant de faire une comparaison entre les rendements des différents extraits des feuilles de *Moringa oleifera*.

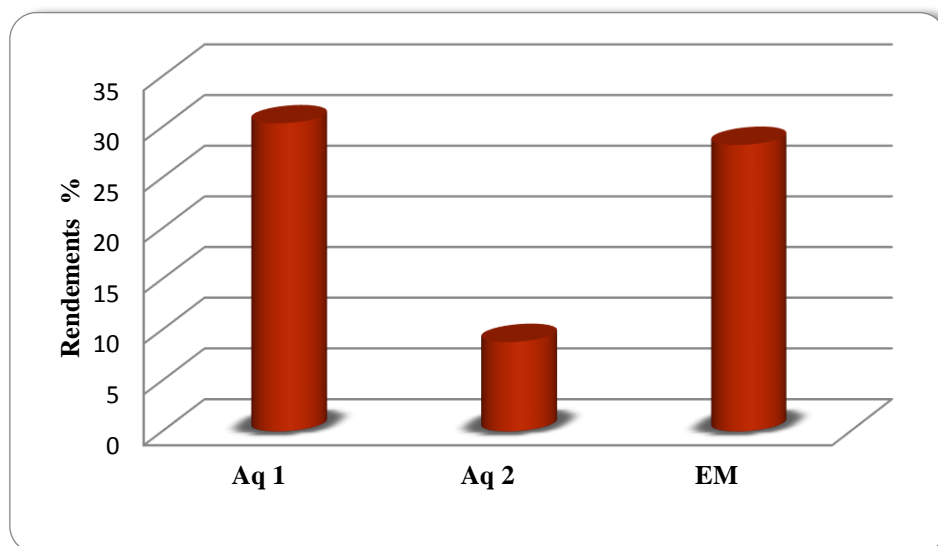


Figure 18: Rendements des extraits de *Moringa Oleifera* en pourcentage.

Le calcul des rendements par rapport au poids sec de la poudre végétale (Tableau 4) a montré que l'Aq1 représente le rendement le plus élevé (30,38%) suivi par l'extrait ME avec un rendement de (28,25 %) et l'extrait Aq 2 qui présente le plus faible rendement avec (8.8 %). Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale. En effet, le rendement n'est pas relatif; il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, elle varie en fonction de l'organe récolté, de la période ainsi qu'au mode d'extraction et des solvants utilisés (Daoudi et al., 2015).

Les travaux antérieurs réalisés par Kutama et ses collaborateurs en 2016 sur cette espèce de la région d'Inde avec l'éthanol, ont enregistré un rendement faible (16 %) par rapport à notre extrait aqueux infusé (28,5%).

D'après Sultana et al. (2009) ayant travaillé sur les feuilles de la même espèce, avec différents solvants méthanolique absolu et hydrométhanolique (80%), nous remarquons que le rendement d'extrait hydro-méthanolique des feuilles de notre échantillon (28,25%) est supérieur à leur rendement des feuilles pour les deux solvants qui est respectivement (9.61% et 17.9%).

La différence de rendement entre les extraits est due aux types de métabolites secondaires présents dans l'extrait et à la nature de solvant utilisé. Le méthanol reste le solvant approprié pour une récupération importante pour la majorité des composés phénoliques (Aja et al., 2015).

2. Tests phytochimiques préliminaires

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur différents extraits préparés à partir des feuilles de *Moringa oleifera*, révèlent la présence de plusieurs familles de composés dont les résultats sont présentés dans le tableau 05.

Tableau 5 : Résultats des screening phytochimiques des différents extraits de
M. oleifera

	Résultats	Aq 1	Aq 2	ME
Composés phénoliques	Vert foncé	+++	+++	+++
Alcaloïdes	Précipité brun-noir ou jaune-brun	-	-	-
Flavonoïdes	Jaune	+++	+++	+++
Terpénoides	Brun-rouge à l'interface	+++	+++	+++
Quinone libre	Jaune, rouge ou violet	+++	+++	+++
Tanins	Vert foncé	+++	+++	+++
Anthocyanes	Rouge cerise	-	-	-
Saponine	Mousse	±	±	±
Anthraquinone	Violette	-	-	-
Coumarines	Fluorescence	+	-	+++
Amines	Taches violettes	±	±	±
Mucilages	Précipité	+++	+++	+++
Amidon	Bleu foncé	-	-	-
Composés réducteurs	Précipité rouge brique	+++	+++	+++

(+++) test fortement positif, (++) test moyennement positif, (+) test faiblement positif, (-) test négatif, (±) présence en tache.

A partir de ces résultats nous constatons que : les feuilles de la plante *Moringa oleifera* sont très riches en composés phénoliques, en tanins, en terpénoides, elles renferment également les amines, les mucilages, les coumarines, les flavonoïdes ainsi que des composés réducteurs avec une absence des alcaloïdes, des anthocyanes et des anthraquinones,

L'absence des flavonoïdes dans nos extraits s'accordent avec ceux de Arora et Onsare, (2014). Aussi d'autres études d'Ijarotimi et al. (2013) et Laiswal et al. (2013) ont montré la mise en évidence des flavonoïdes et des composés phénoliques dans l'amande de *Moringa oleifera*. Par contre, d'après Jecinta et al. (2018) ayant travaillé sur les feuilles de Moringa, ont révélé la présence des flavonoïdes, tanins, polyphénols, et des terpènes dans l'extrait aqueux et hydro-alcoolique par contre l'absence des saponines.

Les résultats des études phytochimiques effectuées par Djermoune et Henoune (2015), sur les graines récoltées dans la même région (Sud de l'Algérie), récoltées à la fin du mois de Septembre 2014, elles ont révélé la présence des saponines et des alcaloïdes dans l'amande de l'extrait aqueux et hydroalcoolique et les terpanoïdes dans l'extrait hydroalcoolique par contre l'absence de ce dernier dans l'extrait aqueux. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Joachim et al. (2016), sur la même espèce récoltée dans la région Cameron en mois de janvier, qui confirme la présence des coumarines, par contre l'absence des anthraquinones

Idris et Adamu, (2018) ont utilisé une extraction en série, avec du méthanol et de l'eau comme solvant ont déterminés les composés phytochimiques présents dans les extraits de feuilles de *Moringa oleifera* tel que les saponines, les tanins, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les anthraquinones, les glycosides et les stéroïdes, à l'exception des anthraquinones, qui sont révélées absents dans nos extraits des feuilles.

Les résultats des études phytochimiques effectuées par Roger et Annicke, (2018) sur les feuilles de Moringa ont confirmé la richesse de cette plante en métabolites secondaires, et ont révélé la présence des stérols, polystérols, flavonoïdes et saponines, et l'absence des alcaloïdes et des tanins catéchiques.

La présence des composés réducteurs dans les feuilles est confirmée par les travaux de kutama al. (2016), récoltées de la région Jigawa State. Nos résultats sont en accord avec ceux de Sankhalkar et Vernekar, (2016) qui ont trouvés que les différentes parties de la plante sont riche aussi en acide aminées.

Les variations de la présence des composés phytochimiques peuvent aussi être dues au choix du solvant utilisé dans l'extraction, l'âge des plantes au moment de la récolte a

également montré des effets significatifs sur les composés phytochimiques présents et donc sur les propriétés biologiques (Akinyeye *et al.*, 2014).

3. Analyse quantitative des composés phénoliques

3.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques ont été quantifiés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche en se basant sur la fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=0.806x-0.330$) d'acide gallique à différents concentration (0, 25, 50, 75 et 100 mg/ml).

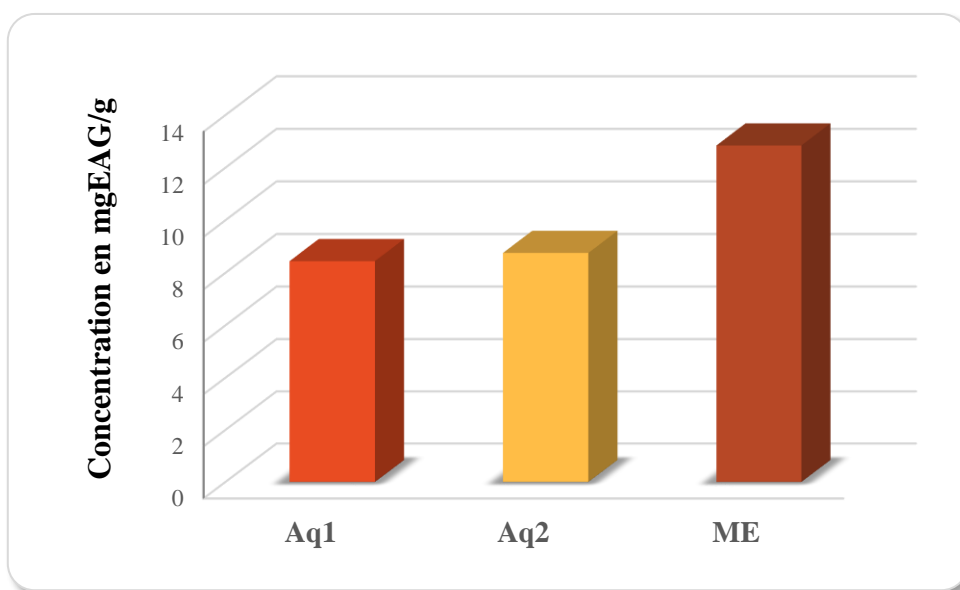


Figure 19: Teneur en polyphénols totaux pour les différents extraits des feuilles de *Moringa oleifera* Lam.

D'après l'histogramme illustré ci-dessus, nous avons remarqué une variabilité des teneurs en phénols totaux, où la teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait ME (12,84 mgEAG/g) des feuilles, des teneurs plus rapprochées dans les extraits aqueux Aq1 et Aq2 (8,75 ; 8,44 mgEAG/g) respectivement.

En comparant notre résultat avec ceux obtenus par Djermoune et Henoune (2015) ayant travaillé sur la même espèce, originaire de la région de Sud de l'Algérie, et par l'utilisation de l'éthanol comme solvant, nous avons observé que le phénol total présent dans notre extrait méthanolique (12,84 mg EAG/g) est rapproché à leurs phénols totaux (12,04 mg EAG/g).

Notre teneur totale en composés phénoliques est inférieure par rapport aux données rapportées par Alhakmani et al. (2013) (19,31 mg EAG/g) pour les fleurs de *Moringa oleifera* de la région Omane récolté on Novembre. Selon Singh et al. (2009) qui ont travaillé sur l'extrait aqueux des graine, fruits et les feuille, a montré une teneur plus élevée des polyphenole, plus de (105,04 mg EAG/g).

Les résultats obtenus par Sultana et al. (2009), ayant travaillé sur les extrait aqueux et hydrométhanolique des feuilles et des racines récoltées dans la région de Pakistan, ont montré que l'extrait hydrométhanolique est le meilleur extrait avec des teneurs entre (0,28-12,2 g EAG /100 g) dans les feuilles et (0,14-0,31 g EAG/ 100g) dans les racines.

En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (Podsdek, 2007 ; Falleh et al., 2008).

3.2.Dosage des Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes des feuilles et des graines de *Moringa oleifera* a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Une courbe d'étalonnage a été tracée pour cet objectif, établie avec la quercétine à différentes concentration (0, 25, 50, 75 et 100 mg/ml).

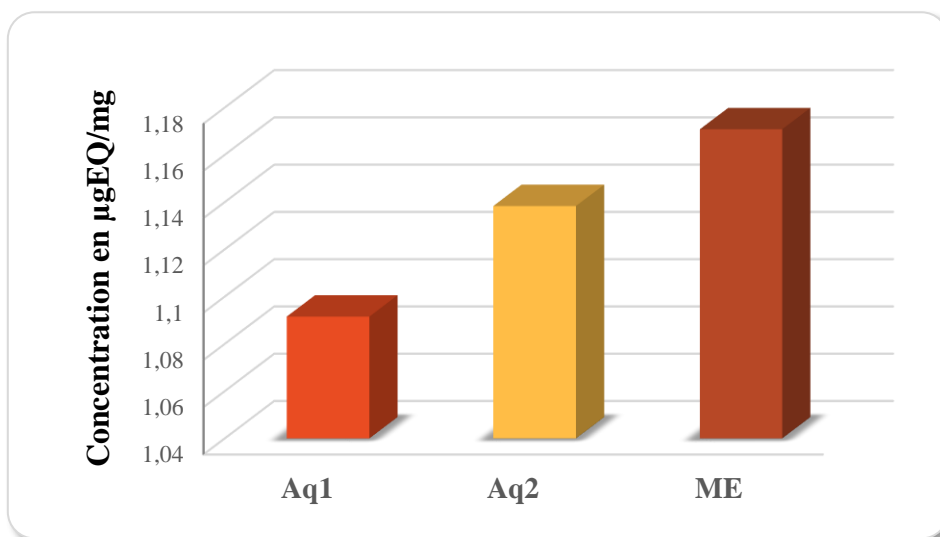


Figure 20: Teneur en flavonoïdes pour les différents extraits des feuilles de Moringa.

L'histogramme illustré dans la figure 20 présente une variabilité des teneurs en flavonoïdes pour les différents extraits. D'après les résultats obtenus, on remarque que l'extrait ME

présente une teneur en flavonoïdes plus élevée ($1,17 \pm 0,043$ mgEQ/ g), nous avons observé des teneurs rapprochées en flavonoïdes dans les extraits aqueux, elles représentent des valeurs de $1,09 \pm 0,01$ mgEQ/ g pour l'extrait Aq1 et $1,13 \pm 0,05$ mgEQ/g pour l'extrait Aq2.

Les résultats des travaux de Mouhoubi et Bachioua, (2016) sur les feuilles de la région Oued Souf, récoltées on octobre 2015 sont rapprochés de notre résultats, avec a une teneur des flavonoides de (1,63 mg EQ/g).

L'étude faite par Singh et al. (2009) a montré que l'extrait aqueux des feuilles, des graines et des fruits n'ont pas similaire à notre résultat avec une concentration de (31.28 mg EQ/g), les teneurs en flavonoïdes dans notre étude est plus inferieur.

4. Activités antioxydants

4.1. Activité antiradicalaire du DPPH° :

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des différents extraits des feuilles de *Moringa oleifera* a été réalisée par la méthode piégeage du radical libre DPPH, a pour but de déterminer les pourcentages d'inhibition du radical DPPH.

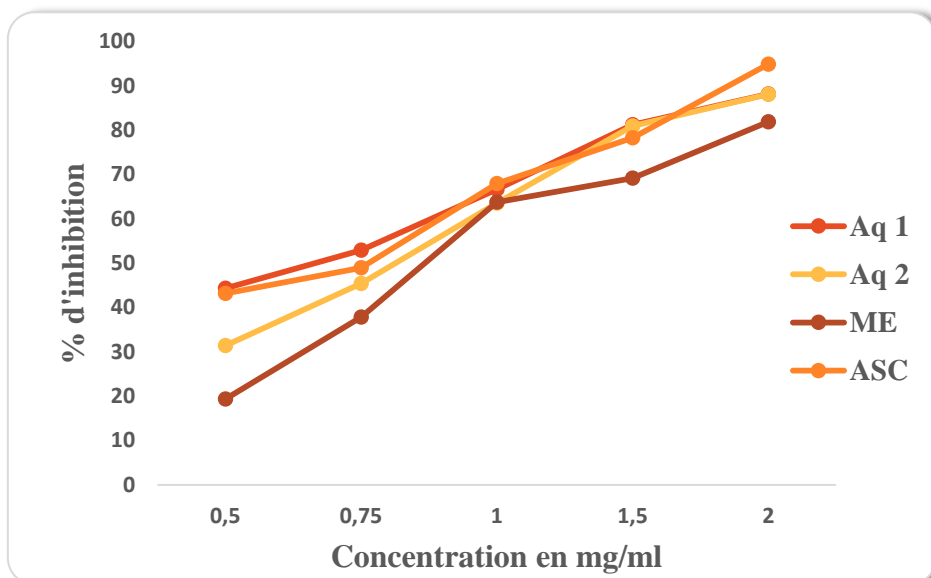


Figure 21 : Pourcentages d'inhibition du DPPH° en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits des feuilles de *MoringaOleifera* et l'acide ascorbique.

D'après les résultats ci-dessus, on observe une augmentation de pourcentage d'inhibition du radical libre proportionnellement avec l'augmentation de la concentration, et les taux

d'inhibition du DPPH enregistré en présence des extraits aqueux est rapprocher à ceux du standard (acide ascorbique), par contre l'extrait méthanolique 80% est inférieur à ceux du standard.

Dans la figure (22) qui représente le pourcentage d'inhibition des différents extraits des feuilles et d'acide ascorbique nous avons remarqué que l'extrait Aq1 présente un pouvoir élevé de piégeage du radical DPPH°, suivi par l'extrait Aq2 et ME respectivement.

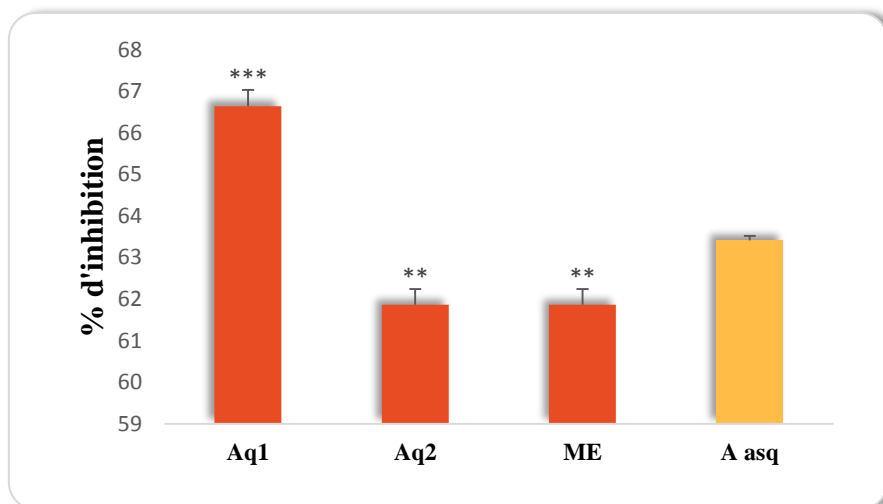


Figure 22: Activité antiradicalaire du DPPH° des extraits des feuilles de *Moringa oleifera*.

**différence hautement significative($P < 0,01$).

***différence très hautement significative ($P < 0,001$).

On remarque également que l'extrait Aq2 et méthanolique à 80% représentent une activité hautement significative ($p < 0,01$) par rapport à celle de l'acide ascorbique, alors que l'extrait Aq1 (infusé) des feuilles représente une activité très hautement significative ($p < 0,001$).

❖ Calcul d'IC₅₀

La concentration inhibitrice médiane (IC₅₀) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre à 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée.

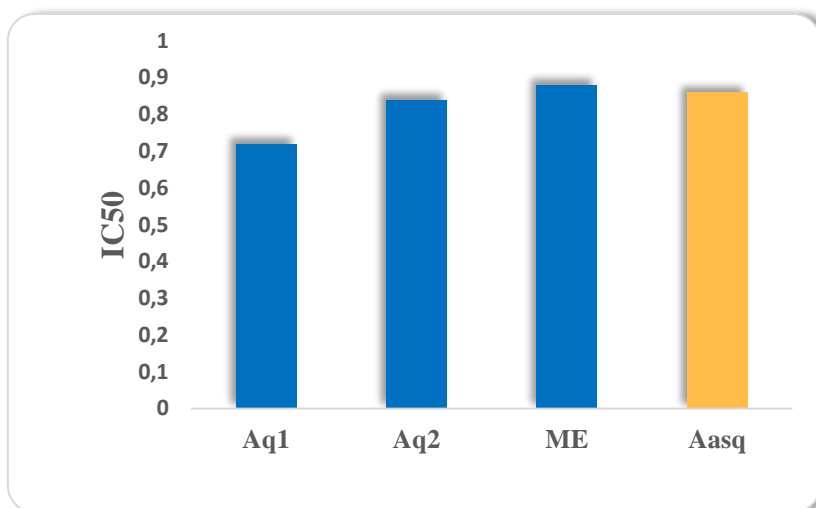


Figure 23 : IC₅₀ des différents extraits des feuilles de la plante contre le radical DPPH°.

D'après les résultats illustrées dans la (fig.23), nous avons remarqué que l'extrait ME présente une valeur des IC₅₀ (0,88 mg/ml) plus proche à celle de l'acide ascorbique, ainsi l'extrait Aq1 et Aq2 présentent des valeurs des IC₅₀ (0,74 ; 0,84 mg/ml) inférieure à l'acide ascorbique (0,86 mg/ml).

Tous nos extraits testés possèdent une activité antioxydante, ce potentiel antioxydant varie d'un extrait à un autre. *Moringa Oleifera* est en effet connue pour son pouvoir antioxydant et son intérêt dans la lutte contre les radicaux libres (Dell'Agli et al., 2004 ; Sumathy et al., 2013; Belhi et al., 2018). Cette vertu est attribuée l'apport de composés phénoliques par les feuilles de *Moringa oleifera*.

L'activité antioxydant des différents extraits de notre plante est largement inférieur aux données de Baldisserotto (2018) qui travaillé sur les feuilles de la même espèce récolté à partir de la région de Sénégal au mois d'aout 2016, elle présente des taux de (232.8±0.60 et 305.8±12.15 mg/ml) respectivement pour l'extrait aqueux (décocté) et méthanolique. Aussi Ndiay et al. (2018), ont travaillé sur l'extrait éthanolique confirment que les feuilles contiennent des substances à propriétés antioxydantes. Ils ont enregistrées des valeurs d'IC₅₀ (87,86±1,80 µg/ml) qui présente une activité plus importante.

4.2. Pouvoir réducteur (FRAP) (Ferric reducing-antioxidant power)

Le potentiel antioxydant des extraits testés a été déterminé par la méthode de FRAP basée sur l'aptitude des antioxydants présentés dans les extraits à réduire le fer. La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm (Chang et al., 2002).

Dans cette partie, les résultats obtenus sont présentés sous forme de graphes de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits ou de l'acide ascorbique utilisé comme molécule de référence [Absorbance = f (concentrations)]. La figure 24 présente le pouvoir réducteur des extraits des feuilles de *Moringa oleifera*.

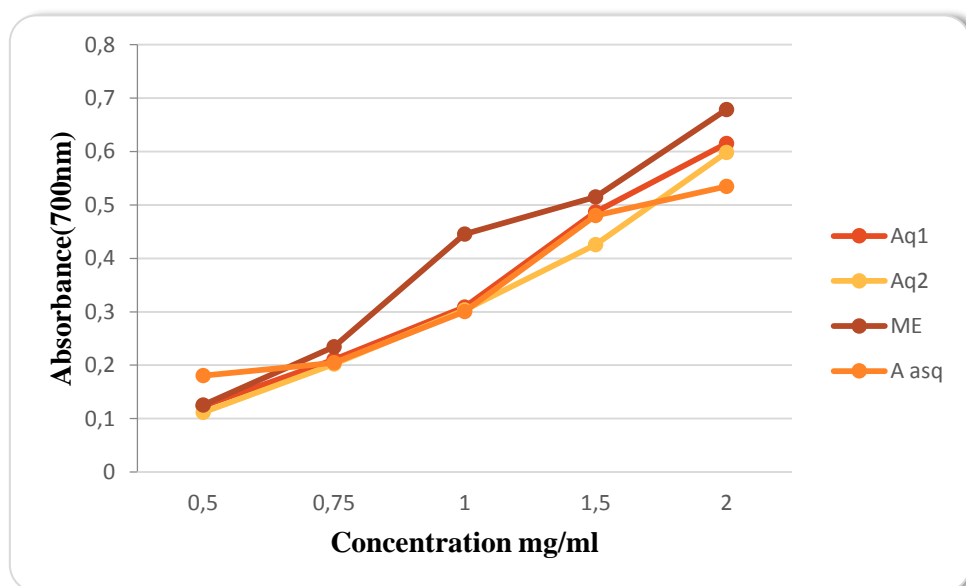


Figure 24 : Le pouvoir réducteur des extraits aqueux et méthanolique 80% des feuilles de *Moringa* selon la méthode de FRAP.

D'après les graphes de la figure 24, nous remarquons que l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits et de l'acide ascorbique. Les extraits Aq1 et hydrométhanolique présentent un pouvoir réducteur proche au standard (l'acide ascorbique), par contre l'extrait Aq2 enregistré un pouvoir réducteur inférieur au standard. A une concentration de 1,5 mg/ml, ces extraits ont des densités optiques (DO) égales à 0,487, 0,425 et 0,514 respectivement pour l'extrait Aq1, Aq2 et EM comparant au standard qui présente une absorbance de 0,48. Alors qu'en augmentant la

concentration à 2 mg/ml, l'absorbance est de 0.615, 0,598 et 0,678 respectivement supérieure au standard 0.534.

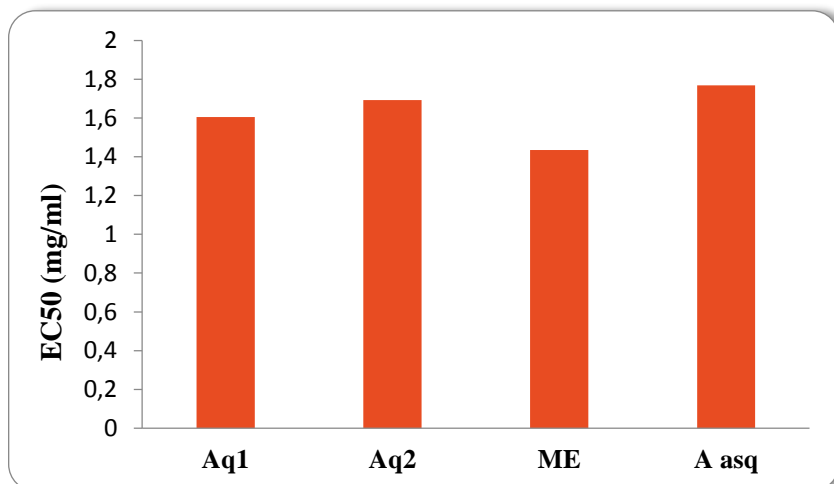


Figure 25 : Les EC50 des extraits de feuilles de *M. oleifera* et l'acide ascorbique.

L'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de feuilles de *M. oleifera* révèle un potentiel antioxydant important marqué pour les extraits aqueux et méthanoliques des feuilles par rapport au standard. Le potentiel réducteur de l'acide ascorbique est nettement supérieur à celui des extraits. La variation de pouvoir réducteur et en relation avec le solvant d'extraction, il attribue cette activité aux composés phénoliques contenu dans l'extrait (Belhi et al., 2018).

Globalement, on remarque qu'une forte activité antioxydante montre une teneur élevée en composés phénoliques (Kumbhare et al., 2012) ; ce qui traduit que la consommation des fleurs de *Moringa* peut être bénéfique dans la prévention du stress oxydatif relié aux maladies dégénératives.

5. Etude de l'activité antibactérienne :

5.1. Pouvoir antibactérienne (méthode de diffusion des disques)

Le présent travail s'intéresse à l'étude in vitro de pouvoir antibactérienne des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Moringa oleifera* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides, Mueller-Hinton. L'activité antibactérienne a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de trois (3) espèces bactériennes de référence à Gram positif (+) et négatif (-).

Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau ci-dessous, le DMSO a été testé comme contrôle négatif, les résultats montrent que le solvant ne présente aucun effet sur la croissance des souches bactériennes.

Tableau 06 : Les effets antibactériennes des différentes extraits (méthanolique 80% et aqueux) des feuilles de *Moringa Oleifera* aux

Extraits Concentration mg/ml Souches	Aq1			Aq2			ME			
	0.5	0.75	1	0.5	0.75	1	0.5	0.75	1	DMSO
<i>S. aureus</i>	10.5±0.4	-	11.5±1	10±0	12.5±0.4	12.5±2	-	13±1	13±0.8	-
<i>E. coli</i>	17±0.8	13.5±1	9.3±0.4	13.5±0.4	-	12.5±0.4	17.5±0.4	10.5±0.4	13.5±0.8	-
<i>Pseudo</i>	14±0.8	13.5±2	10.5±0.4	14±1	12±0	14.5±0.4	-	-	12.5±1	-
Diamètre d'inhibition en mm										

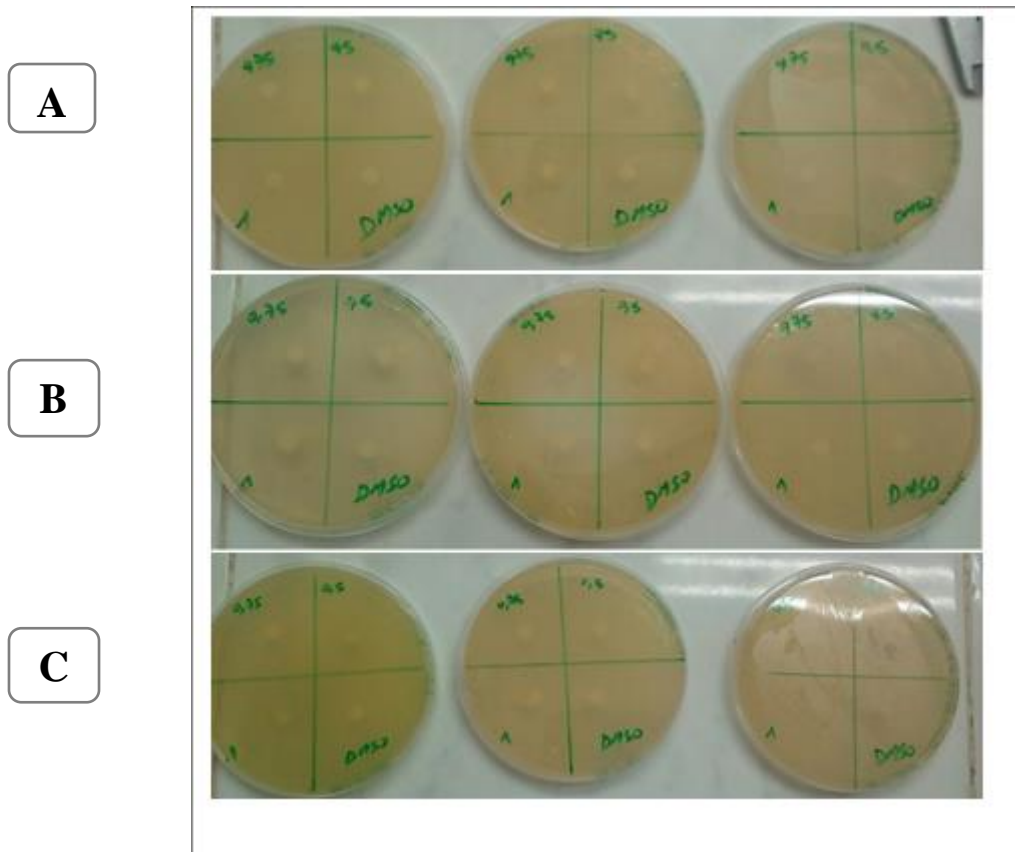


Figure 26 : Zone d'inhibition des extraits aqueux et méthanolique à différents concentrations vis-à-vis (A) *S.aureus* (B) *E.coli*, (C) *P.aeruginosa*.

A. Extrait Aqueux (par infusion)

Les résultats illustrés dans la Figures 26, indiquent que les extraits Aqueux par infusion de feuilles de *M. oleifera* testés manifestent des effets inhibiteurs vis-à-vis de *P.aeruginosa* et *E.coli* avec des zones d'inhibitions allant de 10,5 à 17 mm.

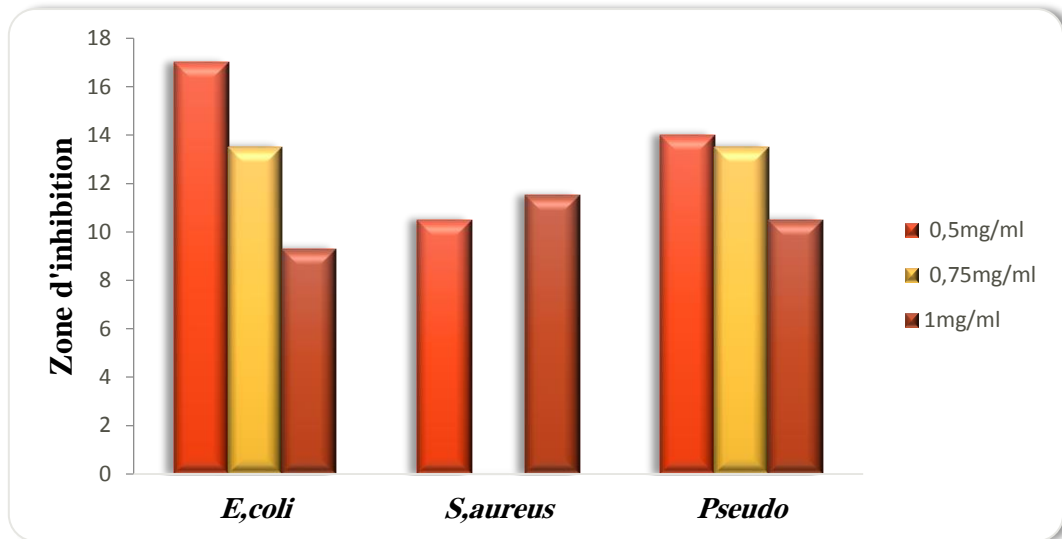


Figure 27 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne d'extrait aqueux par infusion de *M. Oleifera*.

Selon la figure 27, on remarque que toutes les bactéries sont sensibles à l'extrait l'extrait aqueux. La plus grande surface d'inhibition est enregistrée par la souche *E.coli* (17mm), suivie par *pseudo* (14mm) et notant l'absence d'activité antibactérienne sur la souche *S.aureus* à concentration 0,75 mg/ml.

B. Extrait Aqueux (par décoction)

Une activité modérée est enregistrée avec les souches *P. aeruginosa*, *S.aureus* et *E.coli*. Les diamètres des zones d'inhibition n'ont pas dépassé les 15mm, et Notant l'absence d'activité sur la souche d'*E.coli* dans les extraits aqueux à des concentrations 0.75 mg/ml.

On peut supposer que l'activité inhibitrice de l'extrait Aq2 de *Moringa Oleifera* est due à la présence des composés phénoliques, flavonoïdes, des tanins et des terpènes. Selon Abdulmoneim et al. (2011), l'extrait aqueux des grains (6.25 mg/ml) de *Moringa Oleifera* est actif sur *K.pneumaoniae* avec une zone d'inhibition de 15.5mm. Notant l'absence d'activité de l'extrait aqueux des feuilles sur cette souche.

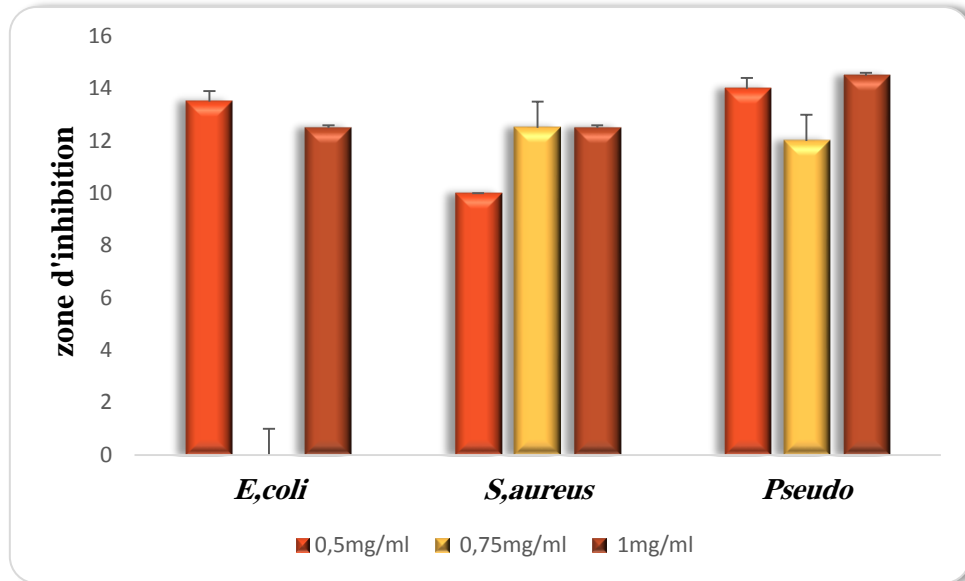


Figure 28 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne d'extrait aqueux par décoction de *M. Oleifera*.

C. L'extrait hydroalcoolique

Selon la figure ci-dessous on remarque presque toutes les bactéries sont sensibles à l'extrait EM des feuilles, la plus grande surface d'inhibition est enregistrée par la souche *E.coli* (17.5mm), suivie par *S. aureus* (13mm).

Pour l'extrait hydroalcoolique des feuilles on remarquait l'absence d'activité sur *P.aeruginosa* avec les deux premières concentrations de 0.5 et 0.75mg/ml.

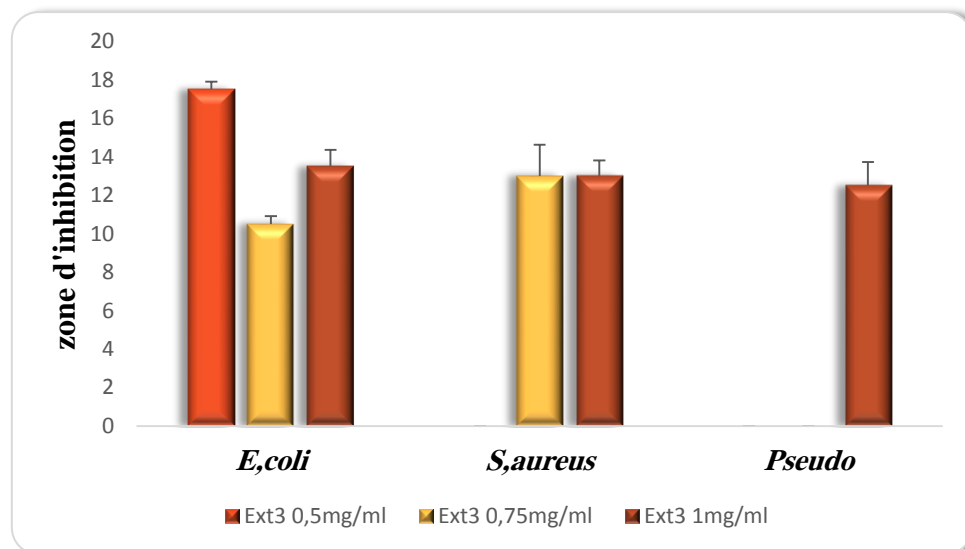


Figure 29: Représentation graphique de l'activité antibactérienne d'extrait hydroalcoolique de *M. Oleifera*

La comparaison des moyennes démontre que l'inhibition est variable d'une bactérie à une autre pour l'ensemble des extraits analysés. Il apparaît que *E.coli* (gram négative) est la bactérie la plus susceptible par comparaison avec les autres souches; ceci peut être attribué à la différence de la composition des extraits. En revanche, cette activité antibactérienne de l'extrait hydroalcoolique de *Moringa Oleifera* est peut-être attribuée principalement à ses constituants majoritaires (composés phénoliques, tanins...).

L'étude de Malhotra et Mandel. (2018) sur les extraits aqueux et méthanolique des feuilles de Moringa, récolté de la région de visakhapatnam de l'Inde, ont montré que l'extrait éthanolique possède une activité anti bactérienne puissante contre Staph (25 mm) et *E.coli* (22 mm). Pandya et al. (2019), ont testé d'extrait méthanolique des feuilles de Moringa de Jugadha, région de Gujarati (d'Inde) sur l'*E.coli*. Ils ont enregistrées un diamètre de zone d'inhibition de (13,93±0,02 mm).

Notre résultats sont accord aux celle obtenus par Fouade et al. (2019), qui ont travaillées sur les extraits aqueux et éthanolique des feuilles de Moringa, récolté de la région AL-Nubaria, Cairo (Egypte) sur les mêmes souches bactériennes qui nous avons testées. L'extrait aqueux présente les zones d'inhibition les plus élevées (Staph (26,75±0,04mm), *E.coli* (27,75±0,04mm), *P.aeruginosa* (22,25±0,04mm)) par rapport à l'extrait éthanolique (Staph (14,75±0,005), *E.coli* (18,25±0,28) et *P.aeruginosa* (17,5±0,04)).

Abubakar et Usman (2016) ont fait une recherche phytochimiques et antibactériennes de *Moringa oleifera* de la région l'État du Niger avec l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles sur des souches pathogènes bactériens ont trouvés presque les mêmes résultats.

Une autre étude faite par Dorothea et ses collaborateurs (2016) où l'extrait aqueux et méthanolique des grains de *Moringa oleifera* donné une activité antibactérienne semblable vis-à-vis de bactéries testées, parmi lesquelles *E.coli* de diamètre 10 mm à une concentration de 50 mg/ml. Les extraits foliaires de Moringa présentent des activités antimicrobiennes, notamment inhibent la croissance de souche de *Staphylococcus aureus* isolées d'aliments et d'intestins d'animaux (Yang et al., 2006).

En revanche, nos résultats sont différents de ceux trouvés par Basha Chekesa et Yelamtshay Mekonnen, (2015) où l'extrait méthanolique des feuilles de *Moringa oleifera* était inactive sur *Escherichia coli*, et leurs résultats sont semblables où l'extrait méthanolique des grains était active vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

La comparaison des résultats est assez difficile pour diverses raisons : les souches bactériennes utilisées ne sont pas toujours les mêmes, les échantillons de plantes utilisés sont d'origines géographiques différentes, les conditions et les méthodes utilisées ne sont pas toujours les mêmes.

5.2. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Les antibiotiques utilisés comme produits de référence se caractérisent par leur forte activité inhibitrice de croissance sur les bactéries testés (Tableau 7).

Tableau 7 : Sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

Bactéries	Type de bactéries	Références	Antibiotiques
<i>S. aureus</i>	Gram+	ATCC25923	Sensible : TE, VA, TIC, FOX, OX
<i>E. coli</i>	Gram-	ATCC25922	Sensible : CTX, TIC, FOX
<i>P. aeruginosa</i>	Gram-	ATCC27853	Sensible : TIC, CAZ

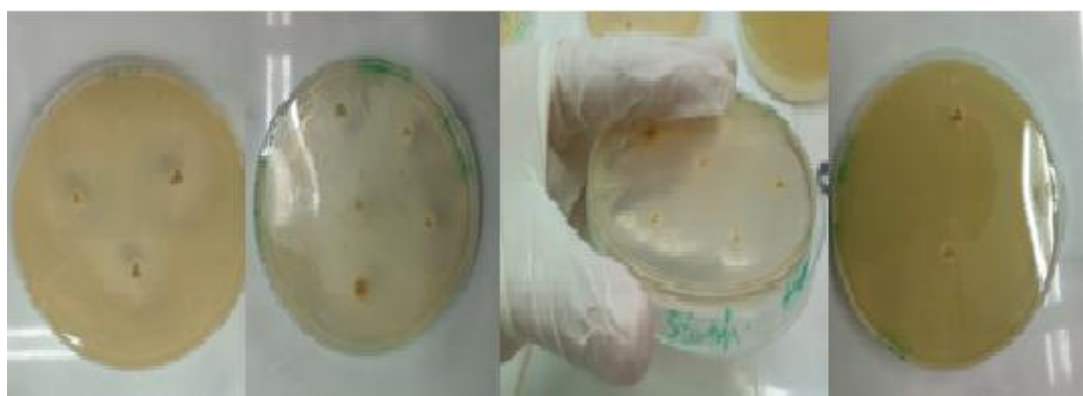


Figure30 : La sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

Les résultats obtenus par Paul et al. (2019), qui ont travaillé sur la même espèce récolté de la région de Zaria, suggèrent que la poudre des feuilles de morniga et leurs composés comme le chitozan, peuvent être utilisés pour découvrir un agent anti bactérienne pour le développement de nouveaux médicaments afin de contrôler les bactéries pathogènes étudiées responsables des maladies.

- ❖ Notre étude à montré que les feuilles de la plante *M.oleifera* sont plus riche en métabolites (polyphénols, flavonoïdes, tannins et terpénoïdes).
- ❖ La teneur la plus élevé en polyphénols (12,84 mgEAG/g) et flavonoïdes (1,17±0,043 mgEQ/ g), est constaté dans l'extrait méthanolique.
- ❖ Une activité antioxydant imortant plus proche à celle de l'acide ascorbique (0,8 mg/ml).
- ❖ Les extraits infusé et hydrométhanolique présentent un pouvoir réducteur proche au standard, ont des densité optique égale à (0,48 ; 0,51 respectivement) comparent au standard qui (0,48 nm).
- ❖ Les extraits aqueux et méthanolique possèdent un effet antibactérien grâce à leur richesse au composés phénoliques.

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale, elle trouve de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, et l'agriculture.

L'objectif de ce travail consiste à une étude comparative des compositions phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante, et antibactérienne des extraits hydro-méthanoliques et aqueux par infusion et décoction des feuilles de la poudre de *Moringa oleifera* de la région de Oued-Souf.

Dans un premier temps, l'analyse qualitative de l'extrait méthanolique et aqueux obtenus des feuilles du *Moringa oleifera*, a mis en évidence la présence des composés phénoliques, des tanins, des quinones, des terpénoïdes, des mucilages et des tanins dans ces trois extraits avec absence des alcaloïdes, des anthocyanes et des anthraquinones, alors que l'analyse quantitative des extraits du *Moringa oleifera* est représentée par le dosage spectrale des polyphénols et des flavonoïdes.

Les résultats montrent que l'extrait le plus riche en polyphénols est l'extrait méthanolique. Pour les flavonoïdes, nous avons remarqué des teneurs plus élevées dans l'extrait méthanolique à 80% suivi par l'extrait aqueux (décocté) puis l'extrait aqueux (infusé) des feuilles de la plante.

Les différents extraits testés ont manifesté une activité antioxydante mesurée in vitro par les tests DPPH°, pouvoir réducteur du fer ferreux.

Tous les extraits de feuilles de *Moringa* étudiés ont la capacité de piéger le radical DPPH qui augmente en fonction de la concentration. Le meilleur résultat est obtenu avec les extraits aqueux (Aq1 et Aq2) suivi par l'extrait méthanolique. Pour le pouvoir réducteur l'extrait méthanolique manifeste le potentiel le plus élevé avec une absorbance de 0,678 contre 0,615 à 0,598 pour les extraits aqueux (infusé et décocté).

En outre, l'activité antimicrobienne a été déterminée sur trois souches bactériennes, selon la méthode sur diffusion de disque, les deux souches étudiées présentent une sensibilité vis-à-vis des extraits de la plante, avec un maximum d'inhibition sur *Escherichia coli*, les résultats indiquent que les extraits des feuilles de la plante étudiée possèdent une activité antimicrobienne sur les souches testées.

À partir de ces résultats, on peut conclure que cette plante représente une source naturelle et prometteuse de molécules chimiques qui possède des activités biologiques très importantes. Cette recherche nécessite d'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Il serait souhaitable de développer cette étude pour :

- Identification et quantification des différents constituants phénoliques
- Identification, quantification et caractérisation des constituants non phénoliques solubilisés par les solvants d'extraction.
- Caractériser les constituants de cette plante par des méthodes analytiques plus performantes comme HPLC, GC-SM et le RMN.

-A-

Abdulmoneim, M., Saadabi, I.E., Abu Zaid. (2011). An In vitro Antimicrobial Activity of *Moringa Oleifera* L. Seed Extracts Against Different Groups of Microorganisms. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5(5): 129-134.

Abossèdé MLF , Alex GZ , Mahulé H, Gadufia S, Coovi GA, Gilles AA, Faroukou W, Abalo K, Frédéric H. (2019). Effet de *Moringa oleifera* et de *commelina benghalensis* sur les performances de croissance et les caractéristiques de carcasse des cochons d'inde (*cavia procellus*) au sud. Journal of applied biosciences 134 :13657-13672

Abubakar, I., Usman, A. (2016). Phytochemical and antibacterial investigations of *moringa (Moringa Oleifera)* leaf extract on selected bacterial pathogens. Journal of Microbiology and Antimicrobials. 8(5) :28-33

Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P, Lomri A, 2007, Radicaux libre dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. Revue du Rhumatisme, 74, 636 – 64

Ahmet, I., Anis, I., Malik, A., Nawaz, S.A., Choudhary, M.I. (2003). Cholinesterase inhibitory constituents from *On osmahispidium*. Chem. Pharmaceut. Bull. 51(4):412.

Aja, P, Nwachukwu, N., Iblam, U., Igwenyi, I., Offor, C., Orji, U. (2015). Chemical constituents of *Moringa oleifera* leaves and seeds from Abakaliki, Nigeria. Am J Phytomed Clin Ther.3: 310-321.

Akinyeye, R.O. Ayomadewa, M.O. (2014). Phytochemical screening and mineral composition of the bark of some medicinal trees in Ondo State, Nigeria. Medicinal and Aromatic Plant Research Journal. 2(3); 44-49.

Akhrib A, Azri R.(2018). Effet d'extrait de *Moringa oleifera* sur la conservation d'une margarine. Université A. MIRA. Béjaia. p40

Ansari K.N. (1997). The free radicals-the hidden culprits-an update. Indian Journal of Medical Sciences.51. 319 p.

Alhakmani, F., Kumar, S., Alam, K. (2013). Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa Oleifera*. Asian Pac J Trop Biomed.3(8):623-627.

Amaglo, N.K. Bennett, R.N., Lo Curto, R.B., Rosa, E.A.S., Lo Turco, V., Giuffrida, A.,

Lo Curto, A., Crea, F., Timpo, G. M. (2010). Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. *Food Chem.* 122(4): 1047-1054.

Al-Malki, A. L., and El Rabey, H. A. (2015). "The antidiabetic effect of low doses of *Moringa oleifera* Lam. Seeds on streptozotocin induced diabetes and diabetic nephropathy in male rats." *BioMed research international*, 2015.

Ansari K.N. (1997). The free radicals-the hidden culprits-an update. *Indian Journal of Medical Sciences.*51. 319 p.

Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A.H. (2007). *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses pytotherapy research. *Book pytotherapy research.* 21:17-25.

Ashnagar .A. (2007). Isolation and identification of the major chemical components found in the upper parts of *Teucrium polium* plants grown in Khuzestan province of Iran .Vol.25,pp 1171-1173.

Atakpama, W., Kponor, E. G. E., Kanda, M., Dourma, M., M'tékounm, N., Batawila, K., and Akpagana, K. (2014). *Moringa Oleifera* Lamarck (Moringaceae) : une ressource phytogénétique à usage multiple. *Sciences de la vie, dela terre et agronomie,*2(1).

Autore .G. et al. (1984). Local anti-inflammatory activity of *Tamus* communs, pp 81-84.

Awa N, Alioune d, Mamadou N, Khadim N, Rokhaya S, Emmanuel B, Amadou M, Guata y. (2018). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de *Moringa oleifera* Lam.(Moringaceae) du Sénégal.*Int J Biol chem sci.*12(4) :1816-1823

-B-

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.10 p.

Balasundram N., Sundram K. and Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99(1): 191-203.

Baldisserotto, A., Buso, P., Radice, M., Dissette, V., Lampronti, I., Gambari, R., Manfredini, S., Vertuani, S. (2018). *Moringa Oleifera* Leaf Extracts as Multi functional

Références bibliographiques

Ingredients for Natural and Organic Sunscreens and Photoprotective Preparations. Journal molecules Molecules, 23,664; doi:10.3390.

Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. m/s, 22: 266-72. Balbir S. Mathur ,
Trees for Life, 3006 W. St. Louis, Wichita, KS 67203-5129 USA

Bartosikova L., necas J., Suchy V. et Kubinova R. (2003). Antioxydative effects of morine ischemia, reperfusion of kidney in the laboratory. Drug and Chemical Toxicology, 72. 87 p.

Basha, C., Yelamtsehay, M. (2015). Antibacterial Activity of *Moringa stenopetala* against Some Human Pathogenic Bacterial Strains. Sci. Technol. Arts Res. J., April-June 2015, 4(2): 190-198

Basli A., Chibane M., Madani K. and Oukil N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. Phytother. 10 (1) : 2-9.

Belkheiri. N. (2010). Derives phenoliques a activites antiatherogenes. Université de Toulouse. pp 7-13

Benkrief, R. (1990). Inventaire ethnobotanique des plantes médicinales de l'Est algérien : étude chimique de " Hammada articulata "(Moquin) Iljinssp. Scoparia Pomel. Etude chimique de 3 plantes néo-calédonniennes à monoterpénoïdes, Paris 5.

Bidri M., Choay P. (2017). Regain d'intérêt pour la grenade, un fruit majestueux aux multiples propriétés. Phytothérapie, 15(2): 91 -103.

Bin Z , Junyi L, Peng W, Ling W, Ting , Jiajie S, Meiyong X , Meng L, Haojie Z, Jiajian H, Yongliang Z , Qianyun X. (2018). The beneficial effects of *Moringa oleifera* leaf on reproductive performance in mice. Wiley Food science and nutrition .DOI :10.1002/fsn3.819

B-Morin C. (2008). La phytothérapie à l'origine de la médecine. La Phytothérapie pour les animaux. Tomaison. Editions Le Manuscrit Lieu d'édition, p.11.

Booth N.L., Dejan N., Richard B., StociE. (2004). New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. Clinical Pharmacology and Therapeutics. 50:120-123.

Références bibliographiques

Bouheroum M. (2007). Etude phytochimique des plantes médicinales Algériennes : *Rhantherium adpressum* et *Onoris angustissima*. Thèse de Doctorat d'Etat En Chimie Organique Option : Phytochimie. Université Mentouri de Constantine, Faculté des Sciences Exactes, 158 p

Boussoualim N. (2014). Activités biologiques de plantes médicinales : *Anchusa azurea* Mill. et *Globularia alypum* L. Thèse de Doctorat en microbiologie. Université Farhat Abbas Sétif 1-

Bouziane N. (2011) . Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae) et de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) récoltés au Sahara Septentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocerca gregaria*. Université Kasdi Merbah, Ouargla , pp 21-22

Bouzid W. (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. Thèse de Magister, option biochimie appliquée. Université El Hadj Lakhder-Batna-Algérie. 62 p Algérie. 115 p.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E. and Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* 28: 25-30.

Broin M. (2005). Compositions nutritionnelles des feuilles de *Moringa oleifera*. CTA, 5p. Disponible sur <http://www.moringanews.org>.

Brooker, N., Windorski, J., and Bluml, E. (2008). Halogenated coumarin derivatives as novel seed protectants. *Commun Agric Appl Biol Sci.* 73(2) :81-9.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie-phytochimie, Plantes médicinales. Techniques et documentation. Lavoisier, Paris. P 198-260.

-C-

Chekir-Ghedira, L., Kilani, S., Ammar, R. B., Bouhlel, I., Abdelwahed, A., Hayder, N., Mahmoud, A. (2005). Investigation of extracts from (Tunisian) *Cyperus rotundus* as antimutagens and radical scavengers. *Environmental Toxicology and Pharmacology*.

Cheurfa M., Allem R., (2016). Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloisia triphylla*. *Phytothérapie*, 14(3): 181 -187.

Références bibliographiques

Chukwuebuka E, (2015). Moringa oleifera “The Mother’s Best Friend”. International Journal of Nutrition and Food Sciences. Vol. 4, N°. 6, pp. 624-630.

Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbial. Rev. 12 (4) 564-582.

-D-

Debray, M., Jacquemin H., Razafindrambo, R., (1971). Phytochemical Screening of *Pentadesmabutyracea* Sabine (Clusiaceae) Acclimated in Benin by GC/MS. Travaux et documents de l’Orstom, Paris. France. (2013) : 8.

Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian compounds. Food Chem medicinal plants extracts containing phenolic. 97: 654-60.

Djermoune, S., Henoune, N . (2015). Composition chimique et teneur en composés phénoliques des graines de Moringa oleifera . Université A. MIRA – Bejaia.,37p.

Dyckaets, C., Fouret, P., Hauw, J.J. (2003). Anatomie pathologie. Université Marie curie. 2:8.

Desikan R, Hancock J.T, Neill S.J. (2003). Oxidative stress signalling. Chapitre5. Dans: Topics in current genetics. Vol. 4 Plant Responses to Abiotic Stress. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 121 p

Důračková Z. (2008). Oxidants, antioxidants and oxidative stress. Chapitre 2. Dans: mitochondrial medicine. Springer Science and Business Media B.V. 19 p.

-E-

Edeaga, H.O., Okwu, D. E., Mbaebie BO. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. African journal of biotechnology. 4 (7), pp 685-688.

Ehab AF, Azza SM, Abu E, Mai MK. (2019). Antibacterial efficacy of Moringa oleifera leaf extract against pyogenic bacteria isolated from a dromedary camel (camelus dromedarius) abscess. veterenary World,EISSN :2231-0916.

Références bibliographiques

-F-

Fahey JW. (2005). Moringa oleifera: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. Trees for Life J. 1: 5.

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies, 331, 372-379.

Favier A, (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'Actualité chimique; 108117.

Fuglie, Lowell J. (2001). Ed. The Miracle Tree: *Moringa oleifera*: Natural Nutrition for the Tropics. Training Manual.2001.Church World Service, Dakar, Senegal.
<[www.moringatrees.org/moringa/miracle tree.html](http://www.moringatrees.org/moringa/miracle%20tree.html)>, May 2002.

-G-

Ganesan, K., Xu, B. (2017). A critical review on polyphenols and health benefits of black soybeans. Nutrients. Pages 1-17.

Garait, B., Gonsolin, D., Couturier, K., Rondel, S., Novel-Chaté, V., Peltier, S., and Favier, R. (2007). High dietary sucrose triggers hyperinsulinemia, increases myocardial β oxidation, reduces glycolytic flux and delays post-ischemic contractile recovery. Molecular and cellular biochemistry. 295(1-2) :217_228

Garba, K., Adeoti, et al. (2015). Effet variétal sur les paramètres physico-chimiques de l'huile d'Agonlin (Benin) issue du processus artisanal de transformation de l'arachide. Nature & Technology(13): 35.

García M.J. (2005). Ros Generation, Antioxidants, and Cell Death. dans: Mitochondria and the heart, developments in cardiovascular medicine. Volume 256 Springer Science, Business Media, Inc, USA. 99 p.

Gauche, É. et Hausswirth, C. (2006). Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. Movement & Sport Science, 2 (58): 43-66.

Gazengel, J. M., & Orecchioni, A. M. (2013). Le préparateur en pharmacie, Guide théorique et pratique. 2^{ème} édition. Edition Lavoisier TEC & DOC, Paris, p 1174-1443.

-H-

Hafiz Irfan Muhammad , Mohd Zaini Asmawi , Nrzalina Abdulkarim khan . (2016) "a review on promising phutochemical,nutritional and glymic control studies on Moringa Oleifera Lam. In tropical and sub-tropical regions ." Asian pac J trp biomed 2016 ; 6(10) :896 -902.

Haldar R, Kosankar. S, (2017). Moringa oleifera: The Miracle Tree. International Journal of Advance Research, Ideas and Innovations in Technology, V 3, I 6, pp.966970, Inde, ISSN: 2454-132X.

Halliwell B. (1999). How to characterize a biological antioxydant free radical. Res.Comm, 9. 32 p.

Hedji, CC., Gangbazo, D.N.S.K., Houinato, M.R., Fiogbén, E.D. (2014). Valorisation de Azollaspp, Moringa oleifera, son de riz, et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale : synthèse bibliographique. Journal of Applied Biosciences, 81 :7277_7289.

Hosseini, R., Moosavi, F.,Rajaian, F.H., Silva, T., Magalhães, D.,Saso, L., Miri1, R., Borges, F., Firuzi1, O. (2016). Discovery of neurotrophic agents based on hydroxycinnamic acid scaffold. Medicinal and natural products chemistry research center, page1-39.

-I-

Idris, S.B.,Adamu, R.U. (2018). Phytochemicals and uses of *Moringa Oleifera* leaves in humans and animals in Sokoto.ournal of Animal Science and Veterinary Medicine Volume 3. Page 30-34.

Ijarotimi O.S, Adeoti O.A et Ariyo.O, (2013). Comparative study on nutrient composition, phytochemical, and functional characteristics of raw, germinated, and fermented Moringa oleifera seed flour. Food Science & Nutrition vol.1.No(6),pp. 452– 463 ; doi: 10.1002/fsn3.70.

Irénée Modeste Bidima , Production et transformation du moringa, CTA – P.O. Box 380 – 6700 AJ Wageningen – Pays-Bas – www.cta.int ISF Cameroun – BP 12888 – Yaoundé – Cameroun –

Références bibliographiques

www.isf-cameroun.org © CTA et ISF 2016 Couverture : © Tim Gainey/Alamy ISBN (CTA) : 978-92-9081-598-3.

Iserin P., MASSON M., RESTELLINI J P., (2007). Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed. Larousse, Paris. France.335 p.

-J-

Jecinta, W.N., Edward, A.N., Douglas, K.N., Reginah, M., Mercy, J., Regina, W.M., Jean, C., Chrispus, M.N., Peter, M.E. (2018). Phytochemical screening and synergistic antiproliferative activity against selected cancer cell lines of *Moringa oleifera* and *Indigofera arrecta* leaf extracts. Journal of Medicinal Plants. 23(2): 1-11.

Jose, S ; Dalbolena et al. (2016). Terpènes: Natural Products for Controlling Insects of Importance to Human Health—A Structure-Activity Relationship Study.Hindawi Publishing Corporation.2016 ;17 :2-3-5.

-K-

Kabel, A.M. (2014). Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition/World Journal of Nutrition and Health.2014; 2 (3): 35-38.

Kajal BP, Harshad BP, Punit RB, Urvesh DP, Chirag MM. (2019). In vitro antibacterial activity of sixteen medical plants collected from nearby region of junagadh,Gujart(india).The pharma innovation journal.8(3) :662-667

Kanoun, K. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtuscommunis L.* (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magistère en Biologie. Université deTlemcen.

Karabay-Yavasoglu N.U., Sukatar A., Ozdemir G. and Horzum Z. (2007). Antimicrobial Activity of volatile components and various extracts of the red alga *Janiarubens*. *Phytother. Res.* 21, 153-156.

Karou D., Dicko M.H., Simpore J., Traore A.S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. Afr. J. Biotechnol. 4(8): 823-828.

Kasolo, JN., Bimenya, GS., Ojok, L., et al (2010). Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities. J Med Plants Res, 4, 753-7.

Références bibliographiques

- Kavita W, Ansdeep K, Jeffrey MF. (2019).** Qualitative microbiological risk assessment of *Moringa oleifera* leaf powder to be used to treat undernutrition in infants and children in Cambodia and India : a review. *Journal of Food Protection*, vol.82, No.3, 2019. pages :513-521
- Kehili N., Saka S., Aouacheri O., (2017).** L'effet phytoprotecteur de la nigelle (*Nigella arvensis*) contre la toxicité induite par le cadmium chez les rats. *Phytothérapie*, p 1 -10.
- Kohen R et Nyska A. (2002).** Oxidation of biological systems, oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*. 30. 620 p.
- Kothe, H. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed: Terre édition. P 7- 13.
- Kouaou KG, Tahiri A. (2018).** Phytochemical screening, acute and subacute toxicity of aqueous extract of *Moringa oleifera* (Moringaceae) Lam 1885 on rats wistar. *Journal of Medicinal Studies* 2018.6(3) :96-102
- Kpemissi Amana, E. (2007).** Les Anacardiaceae du Togo: Etudes botaniques, écologiques et propriétés antifongiques, Thèse de Doctorat, Université de Lomé, Togo.
- Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. *Thèse Doc. Ecologie et Chimie des substances naturelles. Muséum National d'Histoire Naturelle. MNHN Paris. France.* 346p.
- Kumbhare, M.R., Guleha, V., Sivakumar, T. (2012).** Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2:144-150.
- Kutama, A.S., Aisha, S.B., Kabir, S., Paul, A.T. (2016).** phytochemical screening and antifungal activity of *Moringa Oleifera* on some selected fungi in Dutse, Jigawa State. *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science*. 5(6):243-248.
- L-
- Laleye, O.A.F., Ahissou, H., Olounlade, AP., Azando, E V B., Laleye, A. (2015).** Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise : *Khayasenegalensis* (Desr)

Références bibliographiques

A. Juss (Meliaceae), *Momordicacharantia*Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa Oleifera*Lam (Moringaceae). International journal of Biological and Chémical sciences.9 (5) : 2682-2700.

Li H.,Wang X.,Li Y.,Li P.,Wang H. (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant properties selected chine wines.Food Chemistry,112:454-460.

Lim, T.K., (2012). Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Vol. 3, page. 453-485.

Lykkesfeldt J etSvendsen O. (2007). Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. The Veterinary Journal. 173. 502 p.

-M-

M. Belhi, H. Selmi, G. Tibaoui, F. Aloui, S. Jedidi and H. Rouissi. (2018). Chemical properties and anti nutritional factors of *Moringa Oleifera*.Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, CIRS (11), 3338-3342

Macheix J.J, Fleuriet A. and Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires Romandes. CH-1015 Lausanne. 192p.

Madi O.P., Bourou S. and Woin N. (2012). Utilisations et importances socioéconomiques du *Moringa oleifera* Lam. en zone de savanes d'Afrique Centrale. Cas de la ville de Maroua au Nord-Cameroun. J. Appl. Biosci., 60 : 4421-4432.

Makkar, H., and Becker, K. (1996). "Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves." Animal feed science and technology, 63(1-4), 211-228.

Manadi, Ouafa., Messouaf, Sabah. (2018). Potentiel prébiotique de la poudre des feuilles de *Moringa Oleifera*. Mémoire de master académique. Université A. MIRA – Bejaia.,36,37,42 p.

Manel B, Houcine S, Chaabane A, Saber J, Gouider T, Hamadi R. (2018). The antioxidant activity and the ruminal fermentation parameters of *Moringa oleifera* L.among sheep and goats.journal of agriculture and eneronmental Scienc.vol7,No.1,pp.83-92.

Martini, M.C. (2011). Introduction à la dermopharmacie et à la codmétologie 3ème édition Ed lavoisier, p 500.

Références bibliographiques

- Mates, J. (2000).** Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicol.* 153(1), 83-104.
- Medić-Šarić M., Jasprica I., Smolčić-Bubalo A. Et Monar A. 2004.** Optimisation of chromatography of flavonoids and phenolic acids. *CROATICA CHEMICA ACTA CCACAA.*, 77 (1-2) : 361-366.
- Mena, H. (2016).** Activités anticoagulante et phagocytaire de quelques épices (curcuma, gingembre et poivre noir). Mémoire de master académique biochimie appliqué. Université KasdiMerbah-Ouargla. 15.
- Melesse, A., Steingass, H., Boguhn, J., Schollenberger, M., and Rodehutschord, M. (2012).** Effects of elevation and season on nutrient composition of leaves and green pods of *Moringa stenopetala* and *Moringa Oleifera*. *Agroforestry systems*, 86(3), 505-518.
- Messaoudene, Amel. (2018).** Utilisation d'extrait de *Moringa oleifera* dans un emballage comestible. Mémoire de master académique. Université A. MIRA – Bejaia., 6p.
- Meziani S., Oomah B.D., Zaidi F., Simon-Levert A., Bertrand C., Zaidi-Yahiaoui R. (2015).** Antibacterial activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extracts against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium atrosepticum*. *Microb. Pathog.* 78. 95-102.
- Michel Pobeda (2011).** Les bienfaits des huiles végétales. Pris France. 320 p.
- Mohammedi, Z. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. P 84.
- Montoro P., Braca A., Pizza C. and De Tommasi N. (2005).** Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chem.* 92(2) : 349-355.
- Mouhoubi, Nadia., Bachioua, Katiba. (2017).** Teneur en composés phénoliques et activité antioxydante d'extrait au méthanol des feuilles de *MORINGA OLEIFERA* Mémoire de master académique. Université A. MIRA – Bejaia., 32-34p.
- Moyo B., Masika P.J., Hugo A., Muchenje V. (2011).** Nutritional characterization of *Moringa (Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Afr. J. Biotech.*, 10(60) : 12925-12933.
- Muanda, FN., (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat en chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz : 55p.

Références bibliographiques

Muluvi, G. M., Sprent, J., Soranzo, N., Provan, J., Odee, D., Folkard, G., McNicol, J., and Powell, W. (1999). "Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of genetic variation in *Moringa oleifera* Lam." *Molecular Ecology*, 8(3), 463-470.

Münzel T, Post F etWarnholtz A. (2006). Smoking and oxidative stress: Vascular damage dans: Cigarette smoke and oxidative stress, Springer-Verlag Berlin Heidelberg Germany. 339p.

-N-

Nathalie.C.(2014). Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique.Université de Reims Champagne-Ardenne, pp 11-16

Novelli G.P. (1997). Role of free radicals in septic shock .*Journal of PhysiolPharmacol.* 48. 517

-O-

Okerulu, I. O., &Aina, J. C. (2001). The Phytochemical analysis and antibacterial screening of extracts of *Tetracarpiumconophorum*. *Journal of Chemistry Society of Nigeria*, 26(1), 53- 55.

Oloyede, O. I. (2005). Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(6), 379-381.

Owusu-Ansah, M., Achel, D. G., Adaboro, R. M., Asare, D. K., and Amoatey, H. M. (2011). Total phenolic content and antioxidant activity in leaf samples of twelve accessions of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of Chemical and Analytical Science.* 2(10): 1226-1230.

-P-

Paguaia H. M., Paguia R. Q., Balba Ch., et Flores R. C. (2014). Utilisation and evaluation of *Moringa oleifera*L.Aspoultry feeds. *Apc feeds Procedia.*8:343-347.

Palada, M.,Chang, L. (2003). Suggested cultural practices for jute mallow. *International Cooperator Guide*, 2(14), 1-4.

Paul ED, Graba ZN, James DO. (2019). Synergistic-antagonistic Antibacterial potentiel of chitosan composites with *Moringa oleifera* Leaf powder
.J.Appl.sci.environ.manage.vol.23(4) :759-762

Références bibliographiques

Popovici C., Saykova I. and Tylkowski B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie Industriel.* (4) : 25-39.

Portes, A., and Fernández-Kelly, P. (2008).No margin for error: Educational and occupational achievement among disadvantaged children of immigrants. *The Annals of the American Academy of Political and Social Science.*

Powers, S. K., and Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological reviews.*

Price, M. L. et Équipe ECHO. (2007). *Le Moringa* - ECHO Note Technique ; Publié en 1985 ; Révision 2000, 2002 et 2007 par le personnel d'ECHO ; 22p.

-R-

Rakotonanahary M., (2012). Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.

Rashid, U., Anwar, F., Moser, B.R., Knothe, G. (2008). *Moringa oleifera* oil: A possible source of biodiesel. *Bioresource Technol.* 99(17): 8175–8179

Rehab, A., Agag, T., Akelah, A., and Mostafa, S. (2012). Flexible polybenzoxazine thermosets containing pendent aliphatic chains. *Polymer International.*

Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M. et Aggarwal, B.B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?. *Free Rad Bio Med,* 49:1603–1616

Revue CAMES, Semestriel du Conseil Africain et Malgache pour l'Enseignement Supérieur, Science de la vie, de la terre et agronomie (SVT-A), Année 2014, Volume 02, Numéro 1

Reyes, S.N. (2006). *Moringa Oleifera* and *Cratylia argentea*: potential fodder species for ruminants in Nicaragua. Thèse pour obtenir le grade de docteur.

Roloff A, Weisgerber H, Lang U, Stimm B. (2009). *Moringa oleifera* Lam., 1785. In: Stimm B, eds. *Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie.* USDA Forest Service, Research & Development 1601 North Kent Street, Arlington, p. 1-8.

Références bibliographiques

Romuald WS , Edit NF,Elie BN, Nicolas YN. (2019). Treatments and uses of moringa oleifera seeds in human nutrition :a review.wiley food science and nutrition. .DOI :10.1002/fsn3.1057

Rosine, C., et Momo, D. (2009). Évaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'*Acalyphammahirtum* (melastomatacees). Université de Dschang – Master en biochimie clinique et pharmacologie.

Rousseau D, 2004, Psychological Contracts in the Workplace: Understanding the Ties that Motivate. The Academy of Management Executive. 18(1).120-127.

-S-

Saini, B., Armour, C., Krass, I., Laba, T., Reid, C., Hersch, F., Jan, S., Lo, S., Peiris, D., Rodgers, A., Patel, A., et al (2016). An integrated general practice and pharmacy-based intervention to promote the use of appropriate preventive medications among individuals at high cardiovascular disease risk: Protocol for a cluster randomized controlled trial.Implementation Science, 11(1), 13012016-0488 1

Sahnoun Z, Jamoussi K, Zeghal KM. (1998). Free radicals and antioxidants: physiology, human pathology and therapeutic aspects .Therapie.53 (4):315-39.

Saint-sauveur A., Broin, M. (2010). Produire et transformer les feuilles de *Moringa* In *Moringa*.

Satinder PKM, Tapan KM. (2018). Phytochemical creening and vitro antibacterial activity of *Moringa oleifera* (LAM) leaf extract.Archives of Agriculture and Environmental science.3(4) :367-372.

Singh, B.N., Singh, B.R., Singh, R.L., Prakash, D., Dhakarey, R., Upadhyay, G., singh, H. (2009). Oxidative DNA damage protective activity,antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa Oleifera*. Food and chemical toxicology.47:1109-1116.

Singleton V.L ., Rossi J. A. . (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture. 16(3): 144-158.

Soulama S., Sanon H.O., Meda R.N.T. and Boussim J.I. (2014). Teneurs en Tanins de 15 ligneux fourragers de bourkina faso. *Afrique Science*. 10 (4) : 180-190.

Références bibliographiques

Souza, J.A, Vindis, C., Ne`gre-Salvayre, A., Rye, K.A., Couturier, M., Therond, P., Chantepie, S., Salvayre, R., Chapman, M.J., and Kontush, A. (2010). Small, dense HDL 3 particle attenuate apoptosis in endothelial cells: pivotal role of apolipoprotein A-I. *J Cell Mol Med.* 14: 608–620.

Sreelatha S. and Padm R. (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. In *Plant foods human nutrition.* 64: 303-311.

Stamler, J. S., and Slivka, A. (1996). Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. *Nutrition Reviews.* 54(1) :1-30

-T-

Tapiero, H., Tew, K.D., Nguyen, B.G., Mathé, G., (2002). Polyphenol: do they play a role in the prevention of human pathologies? *BiomedPharmacother,* 56 : 200-207.

Trees for Life (2013). [Accès le 02/10/13]. ([Www.treesforlife.org](http://www.treesforlife.org)).

-V-

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions;* 160:1-40.

Verscheure, M., G. Lognay, et al. (2002). "Revue bibliographique: les méthodes chimiques d'identification et de classification des champignons." *Biotechnologie, agronomie, société et environnement* 6(3): 131-142.

Verykokidou-Vitsaropoulou, E., Vajias, C. (1986). Methylated flavones from *Teucrium polium*. *Plantamedica,* 52(05), 401-402.

-Y-

Yadav, R., Agarwala, M. (2011). "Phytochemical analysis of some medicinal plants." *Journal of phytology,* 3(12). Benmehdi, A. (2001). Identification des principes actifs des extraits des plantes médicinales.

Références bibliographiques

Yang, R.Y., Chang, L.C., Hsu, J.C., Weng, B.B., Palada, M.C., Chadha, M., Levasseur, V. (2006). Propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des feuilles de Moringa; Du Germoplasme, à la Plante, à l'aliment et à la santé.

Yano, Y., Satomi M. and Oikawa H. (2006). Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *Inter. J Food Microbiol.* 111: 6-11.

-Z-

Zerargui F. (2015). Activité antioxydante des extraits de racines *Tamuscommunis* L. et caractérisation des substances bioactives. Thèse de Doctorat en Biochimie. Université Farhet Abbes-Sétif 1-Algérie.126 p.

Annexe n°1 : préparation des solutions

Solution	Réactifs
Méthanol 80%	100ml du méthanol pur+20ml d'eau distillée.
Réactif de Bouchardat	2g de l'iode bisubliné (I ₂) +2gdeKI Ajusté a 100ml de l'eau distillée.
Liqueur de Fehling	35 g CuSO ₄ + 500 ml Eau distillée + 5 ml H ₂ SO ₄ . Laisser refroidir et compléter à un litre avec l'eau distillée.
Solution Ninhydrine	0.2g de ninhydrine verser dans 99.5ml éthanol + 0.5 ml acide acétique.
Folin ciocalteau 10%	10 ml de folin ajusté à 100 ml avec l'eau distillé.
Chlorure ferrique (FeCl₃) 0,1%	0.1 g de chlorure ferrique dans 100 mL d'eau distillée.
Solution de chlorure d'aluminium AlCl₃ (2%)	2 g d'AlCl ₃ 100 mL d'eau distillée.
Solution de carbonate de Sodium NaCO₃ (75%)	7,5 g de NaCO ₃ dans 100 ml d'eau distillée.
Tampon phosphate, 0,2 M, pH= 6,6	5,67 g de Na ₂ HPO ₄ dans 40 ml d'eau distillé 19,19 g de NaH ₂ PO ₄ Ajouter 160 ml d'eau distillée.
Acide trichloracétique TCA (1%), PM = 163,39 g/mol	1 g de TCA (CCl ₃ COOH), 100 mL d'eau distillée
Ferricyanure de potassium FeK₃ (CN)₆ (1%), PM=329,26g/mol	1 g de ferricyanure de potassium 100 mL d'eau distillé.

Annexe n°2 : Droites d'étalonnages

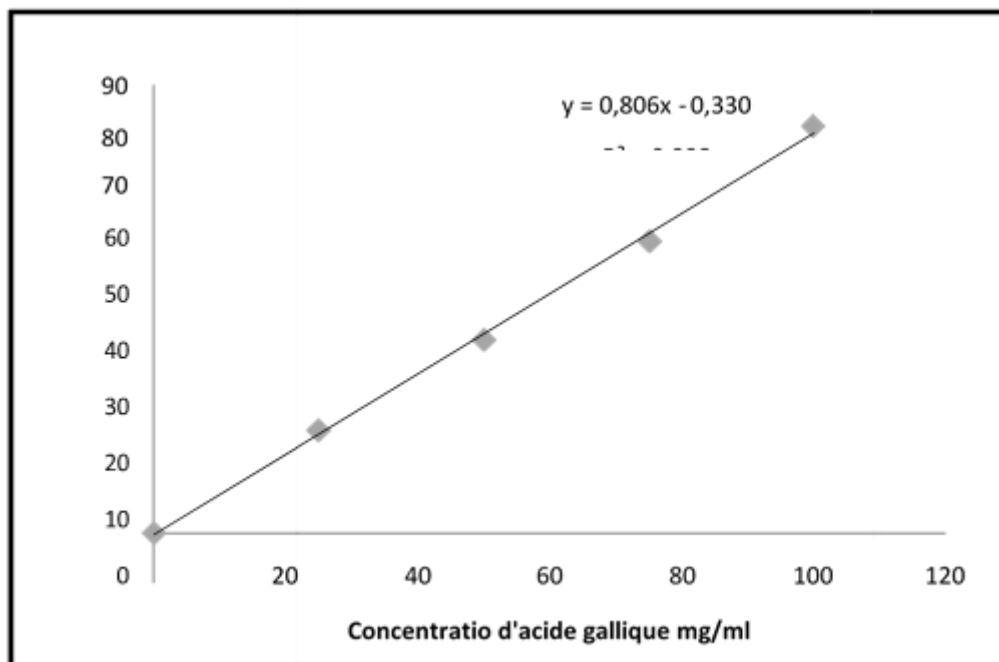


Figure 35 : Droite d'étalonnage d'Acide gallique

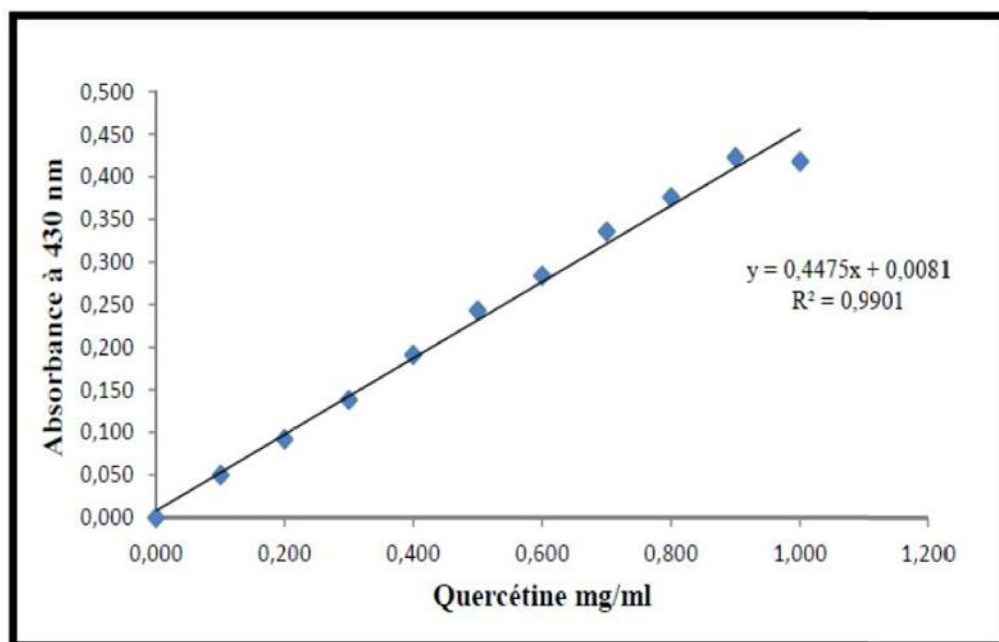


Figure 36 : Droite d'étalonnage de la quercétine

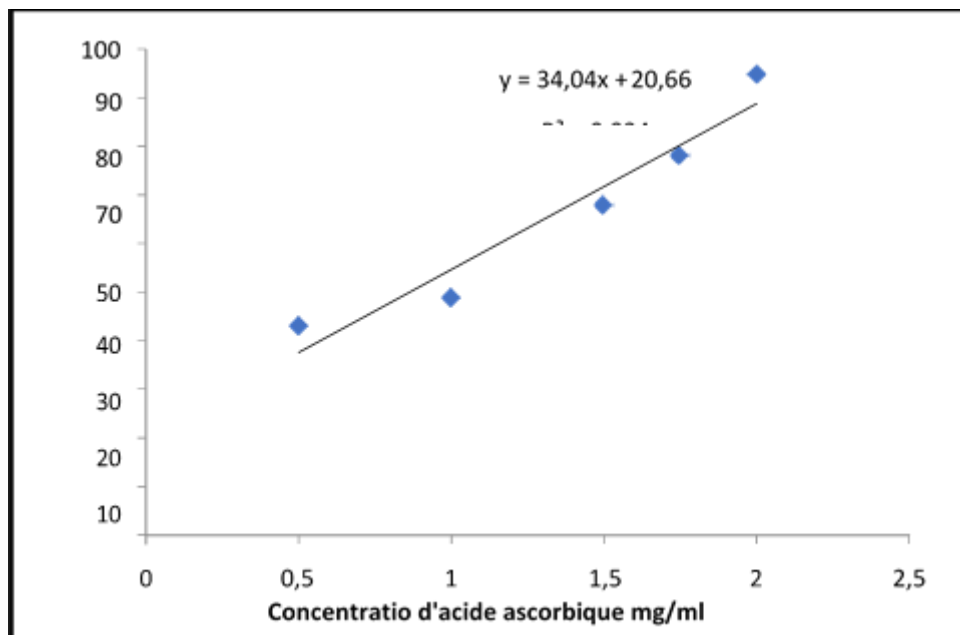


Figure 37 : Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique