

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :

N° de série :

Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de
MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Par : M^{lle} MOULAY OMAR Fatima Zohra

M^{lle} OULAD NAOUI Yamina

Thème

**Effet de la méthode du séchage sur la teneur en composés
phénoliques et les activités biologiques des feuilles de
Moringa oleifera L.**

Soutenu publiquement, le 23/06/2019

Devant le jury :

M. BENKHERARA S.	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaïa	Président
M^{lle} BELABBASSI O.	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaïa	Encadreur
M^{me} BENSANIA W.	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaïa	Examineur

Année universitaire: 2018/2019

Remerciement

Nos remerciements les plus profonds et inexprimables, s'adressent avant tout à *ALLAH* le tout puissant, de nous avoir accordé la force, la santé et le courage afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nos profondes reconnaissances et nos sentiments les plus sincères vont à notre encadreur *M^{lle} BELABBASSI Ouarda*, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'encadrer ce travail, de le diriger avec tant de compétence et de gentillesse. Ses conseils et ses orientations éclairées nous ont permis de mener à terme ce travail, afin de nous aider à avancer encore vers d'autres horizons.

Nous exprimons également nos plus vifs remerciements à *Mr. BENKHERAJA S.* pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce Jury de ce mémoire. Nos remerciements les plus sincères s'adressent également à *M^{me}. BENSANIA W.* pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Nos remerciements à tous les enseignants du département de biologie et spécialement: *M^{me} HAMID OUDJANA A., M^{lle} TELLI A., Mr. BELHACHEMI M., Mr. BENBEKHTI Z., Mr. BENSAMAOUNE Y., Mr. BOURAS N., Mr. CHEBIHI L., Mr. DJELLID Y., Mr. KRAIMAT M., Mr MEHAMEDI A.*

Nous tenons a remercié l'ensemble de personnel des laboratoires d'université de Ghardaïa, spécialement à *M^{lle} HAJD KOUIDER K., M^{lle} GHEZAIEL S., Mr. MESSITFA N., Mr BENHAMMOUDA H., Mr. BEN SALEH B., Mr. MOULAYOMAR A.* et de laboratoire d'analyse médicale *M^{lle} DAOUADI S.,* et de laboratoire d'analyse *Mr. LAROUI Y.*

Merci également à *Mr. MOULAYOMAR K.* pour l'aide dans la récolte des plantes. Nous remercions chaleureusement tous les étudiants de notre Promotion *de Master Biochimie appliquée 2019: LAOUAR F., DJANI H., MEHAYA A., BENBADA A., MALIK A., BOUZID A., GUESSOUM A., TEGGER M., EL MAGBED N., BELBACHIR Z., BELAOUAR R., BELHADJ AISSA D., KOUADER O., AIMEN I. HAYMOUD F., DJELLOUD R.*

Enfin nous finirons par remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

بداية، أحمد الله عز وجل على منه و عونه لإتمام هذا البحث والذي أهديه الى :
الذي وهبني كل ما يملك حتى أحقق له آماله، إلى من كان يدفعني قدما نحو الأمام لنيل المبتغى،
إلى الإنسان الذي إمتلك الإنسانية بكل قوة، إلى الذي سمر على تعليمي بتضحيات جسام مترجمة في تقديسه للعلم، إلى
مدرستي الأولى في الحياة، أبي الغالي على قلبي أطل الله في عمره؛
التي وهبت قلدة كبدها كل العطاء و الحنان، إلى التي صبرت على كل شيء، التي رعتني من الرعاية و كانت سدي
في الشدائد، و كانت دعواها لي بالتوفيق، تتبعيني خطوة خطوة في عملي، إلى من إرتعت كلما تذكرت إبتسامتها
في وجهي نبع الحنان أمي أعز ملاك على القلب و العين جزاها الله عندي خير الجزاء في الدارين؛
إخوتي : محمد الأمين، الطيب، حسين، إدريس، يونس، ومحمد المهدي الذين تقاسموا معي محبي الحياة؛ وكانوا لي
السند طيلة مشواري الدراسي ... وزوجات أخوي صبرينة وهاجر ، اللتان قدمتا لي كل الدعم والمساعدة اللزمتين. و
الى الذين كنت لهم أنا العممة : وصال ، احمد ، منصف وإسحاق رعاهم الله.

أخوالي وأعمامي و خالاتي وعماتي وكل أفراد عائلتي الكريمة

رفيقة دربي التي كانت شمعة تنير طريقي حين أتلقى الصعوبات أمينة أولاد النوي، التي أتمنى لها السعادة وكل
التوفيق والنجاح، وأحبي كل عائلتها الطيبة.

كل من ساندني وإلى كل من تمنى لي الخير والنجاح، من خير أن أنسى حبيباتي رحمة، سارة، مروة ص..زينب، سميرة،

وفاء، زهير، مروة، إيمان، خديجة، أسماء، عائشة، صبرية، نادية، فاطمة الزهراء، طليحة، نزهة ، والعزيزة تسابيح.

كما أهدي ثمرة جهدي لمعلمتي في الابتدائية و والدتي الثانية : خراسلية ليلي التي كلما تظلمت الطريق

أمامي لجأت إليها فأنارتها لي و كلما دب اليأس في نفسي زرعت في الأمل لأسير قدما و كلما سألت عن معرفة

زودتني بها؛ وإلى كل المعلمين والأساتذة الذين أقول لهم: " من علمني حرفا كنت له عبدا" حفظهم الله و جزاهم عنا

كل خير.

أهدي تخرجي لكل من كان له بصمة في حياتي فلکم كل الود والاحترام

و إلى كل من يؤمن بأن بذور نجاح التغيير هي في ذواتنا و في أنفسنا قبل أن تكون في أشياء أخرى..

فاطمة الزهراء



Dédicaces

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك ولا يطيب النهار إلا بطاعتك ولا تطيب اللحظات إلا بشكرك

ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك ولا تطيب الجنة إلا برويتك "الله جل جلاله"

أيام مضت من عمري هاأنا اليوم أقطع ثمار مسيرة أعوام كان هدفي فيها واضحاً وكنيت

أسعى في كل يوم لتحقيقه والوصول إليه مهما كان صعباً وهاأنا وصلت وبيدي شعلة علم وسأحرص عليها كل الحرص حتى

لا تنطفئ

والديا...أهدي ثمرة عملي إليكما يا من أحمل اسمكما بكل افتخار إليكما يا قدوتي ونبراسي الذي ينير دربي إليكما

يا من أعطيتموني ولا زال عطائكما بلا حدود فمهما وصفته فيكم أو عبرت عن مشاعري فلم أوفي حقكم فأنتم رحمة الله لي

في هذه الحياة يا من أدين لكم بحياتي.

إلى من كلله الله بالصيبة والوفار الى الذي ما فتئ يدعمني و يرشدني في غياهب الدنيا و ما فيها...والدي العزيز .

إلى تلك التي قال فيها الرسول صلى الله عليه وسلم أمك ثم أمك ثم أمك

إليك يا بسة حياتي وسر وجودي يا من دعاؤك سر نجاحي يا نبع الجنان وجنة الدنيا وقرّة عينني ومصباح حياتي وضيأؤها إلى

أغلى العبايبب أمي العبيبة

إلى ريحانة حياتي أختي الغالية "تسابيح"

إلى إخوتي "عبد الباسط، فارس عبد الصمد ، عبد الحكيم" رفقاء دربي في هذه الحياة

إلى الحزن الدافئ بكل الأوقات مصباح العائلة جدتي الغالية "الحاجة ذهيرة" إلى عماتي و أعمامي و زوجاتهم والى

خالتي و أخوالي و زوجاتهم. وكلا العائلين من صغير وكبير "اولاد النوي و بيشي "

إلى من رافقتني منذ أن حملنا حقائب صغيرة ومعك سررت الدرج خطوة بخطوة وما تزال ترافقتني حتى الآن صديقتي

الغالية فاطمة الزهراء مولاي عمار. وفقك الله في مشوار حياتك وأناز دربك والى كل عائلتها.

إلى كل أستاذتي الكرام الذين كانوا شموخاً تحترق لتضيء لنا دروب طلب العلم طيلة مراحلنا الدراسية من

القسم التحضيري إلى الطور الجامعي

إلى من تحلو بالإخاء وتميزوا بالوفاء والعتاء ،إلى كل من ساعدني ولو بكلمة طيبة أحيانى بالخصوص:

زينب، كريمة ، إكرام، أم خلود ، أم أسماء، أم زهير، فايزة، نجاة، أم ايوب، أم حذيفة، دنيا، أم كوثر ،

حياة ،عائشة، أم بثينة ، أم الهام ، أم رحاب، فتيحة، سامية، ياسمين، فردوس، سارة ، حورية ، ا و اسيا، أم عبد

الروضة، أم اسامة، سعاد، الآء الرحمان، كوثر ، أم نهال

إلى كل من وسعهم قلبي و لم يسعهم قلبي إلى هؤلاء جميعاً أهدي هذا العمل

بمهينة



Résumé

Moringa oleifera L. est une plante d'intérêt nutritionnel et médicinal, très répandue à travers les régions tropicales et subtropicales. Le présent travail a pour but d'étudier l'effet de différentes méthodes de séchage des feuilles de *M. oleifera* (à l'air libre, au soleil, à l'étuve et lyophilisé) sur la teneur en composés phénoliques et les activités antioxydante et antibactérienne. L'extraction, réalisée par macération, a donné des rendements d'extraction qui diffèrent selon les modes de séchage, variant de 23 à 28%. Le criblage phytochimique a montré une composition variée en métabolites secondaires. Les teneurs en composés phénoliques ont été déterminées, elles varient en fonction du mode de séchage, où l'extrait des feuilles séchées à l'étuve révèle une teneur plus élevée par rapport aux autres extraits (teneurs en: polyphénols, flavonoïdes, tannins condensés sont de 54.57 µg EAG/mg; 185 µg ER/mg; 154 µg EC/mg d'extrait respectivement). L'activité antioxydante est évaluée par trois tests à savoir: DPPH, ABTS et FRAP. L'extrait des feuilles séchées à l'étuve a présenté la meilleure activité piégeante des radicaux avec des IC50 de 5616.78 et 2961.58 µg/ml respectivement dans les tests du DPPH et de l'ABTS, et un pouvoir réducteur du fer de 30.88 µg EAA/ml d'extrait. L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide où tous les extraits à différentes concentrations sont actifs contre deux bactéries seulement, l'extrait des feuilles séchées à l'étuve a la meilleure activité inhibitrice vis-à-vis de la souche *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de 14.90 mm (12 mg/ml). L'extrait des feuilles séchées à l'air libre présente la zone d'inhibition la plus élevée contre la bactérie *Streptococcus sp.* (9.87 mm) alors qu'aucun effet des quatre extraits n'a été observé contre les deux autres souches (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*).

Mots clés: *Moringa oleifera*, séchage, composés phénoliques, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Liste des figures

Figure 1: Répartition de <i>M. oleifera</i> dans le monde.....	9
Figure 2: Gousses fraîches et sèches de <i>M. oleifera</i>	11
Figure 3: Racines de <i>M. oleifera</i>	12
Figure 4: Equivalents en nutriments pour le même poids en feuilles fraîches de <i>M. oleifera</i> .13	
Figure 5: Structure de la molécule isoprène.....	17
Figure 6: Structure de Nicotine.....	18
Figure 7: Structure de Coniine.....	19
Figure 8: Structure de quelques composés phénoliques	20
Figure 9: Structure des différents types de flavonoïdes à partir du squelette flavane.....	22
Figure 10: Piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes.....	24
Figure 11: Principales étapes du Protocole expérimentale.	30
Figure 12: Protocole de dosage des phénols totaux.	34
Figure 13: Protocole de dosage des flavonoïdes	35
Figure 14: Protocole de dosage des tanins condensés.....	36
Figure 15: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH [•] et un antioxydant (AH)	37
Figure 16: Protocole de l'activité anti radicalaire via le test DPPH.	38
Figure 17: Génération et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H ⁺	39
Figure 18: Protocole de l'activité anti radicalaire via le test ABTS	40
Figure 19: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)] et un antioxydant (AH).	41
Figure 20: Protocole de l'activité anti radicalaire via le test FRAP.....	42
Figure 21 : Résultats des tests du criblage phytochimique de quelques métabolites secondaires de quatre extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i>	50
Figure 22: Teneurs en polyphénols totaux des quatre extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i>	51
Figure 23: Teneurs en flavonoïdes des quatre extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i>	52
Figure 24 : Teneurs en tanins condensés des quatre extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i>	53
Figure 25 : Comparaison des teneurs des composés phénoliques.....	54
Figure 26 : Taux d'inhibition de DPPH [•] par différentes concentrations de l'acide ascorbique.	56
Figure 27: Taux d'inhibition de DPPH [•] par différentes concentrations des extraits.....	56
Figure 28: Concentration inhibitrice à 50 % (µg/ml) pour le test DPPH de l'acide ascorbique et les quatre extraits des feuilles de <i>M. oleifera</i>	57
Figure 29: Taux d'inhibition de l'ABTS ^{•+} par différentes concentration des extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i>	58
Figure 30: Taux d'inhibition de l'ABTS ^{•+} par différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	59
Figure 31 : Concentration inhibitrice à 50 % (µg/ml) pour le test ABTS de l'acide ascorbique et les quatre extraits des feuilles de <i>M. oleifera</i>	59
Figure 32: Le pouvoir réducteur des quatre extraits	61
Figure 33: La gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique du test du (FRAP).	61
Figure 34: Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i> par la méthode FRAP (exprimée par µg EAA/ml d'extrait).	62

Liste des photos

Photo 1: Arbre de <i>M. oleifera</i>	10
Photo 2: Feuilles du <i>M. oleifera</i>	11
Photo 3: Fleurs de <i>M. oleifera</i>	11
Photo 4: Graines de <i>M. oleifera</i>	11
Photo 5: Séchage à l'air libre	26
Photo 6 : Séchage au soleil.....	27
Photo 7 : Séchage dans l'étuve.....	27
Photo 8: Séchage par lyophilisation.	28
Photo 9: Aspect et couleur des quatre extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i> après séchage	46
Photo 10: L'effet antibactérien des extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i> séchées par différentes méthodes contre <i>P. aeruginosa</i>	65
Photo 11: Photos présentant l'effet antibactérien des extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i> séchées par différentes méthodes contre <i>Streptococcus sp.</i>	66
Photo 12 : Les diamètres d'inhibition des antibiotiques de référence utilisés (gentamicine (10 µg), Ampicilline (10 µg)) contre <i>P. aeruginosa</i>	67

Liste des tableaux

Tableau 1: Les molécules des terpénoïdes.....	17
Tableau 2: Les principales classes de composés phénoliques	21
Tableau 3: Aspect, couleur et rendement d'extrait brute des quatre modes de séchage de feuilles de <i>M. oleifera</i>	46
Tableau 4 : Résultats des tests phytochimiques des quatre extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i>	47
Tableau 5 : Teneurs en composés phénoliques dans les quatre extraits de feuilles de <i>M.</i> <i>oleifera</i>	51
Tableau 6: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des 4 bactéries testées obtenues en présence des différentes concentrations des 4 extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i>	64

Liste des annexes

Annexe 1: Tableau donne les valeurs nutritionnelles moyennes de 100 g des feuilles de <i>M. oleifera</i> fraîches et de poudre de feuilles séchés	I
Annexe 2: Les solutions utilisées et leurs préparations.	I
Annexe 3: Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	II
Annexe 4: Gamme étalon de l'acide gallique.	III
Annexe 5: Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes	III
Annexe 6: Gamme étalon de la rutine	IV
Annexe 7: Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de catéchine pour le dosage des tanins	IV
Annexe 8: Gamme étalon de la catéchine	V
Annexe 9: Activité antioxydante (préparation des réactifs et des extraits)	V
Annexe 10: Activité antibactérienne (préparation des milieux de culture et les concentrations des extraits).	VIII

Liste des abréviations

ABTS	Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
AMP	Ampicilline
ATTC	American Type Culture Collection
C	Carbone
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
EAA	Equivalent d'acide ascorbique
EAG	Equivalent d'acide gallique
EC	Equivalent de Catéchine
ER	Equivalent de Rutine
FCR	Réactif de Folin-Ciocalteu
FeCl₃	Chlorure Ferrique
FRAP	Ferric Reducing Antioxydant Power
GN	Gentamicine
HCl	Hydrochlorure
IC₅₀	Concentration Inhibitrice à 50 %
MS	Matière Sèche
Na₂ CO₃	Carbonate de Sodium
NaCl	Chlorure de Sodium
NaOH	Hydroxyde de Sodium
UFC/ml	Unité Faisant Colonie
UV- VIS	Ultra-violet-Visible
°C	Dégré Celsius
µg	Microgramme
µl	Microlitre
Cm	Centimètre
G	Gramme
H	Heure
Mg	Miligramme
Min	Minute
mM	Milli Molaire
Mm	Millimètre
N	Normalité
Nm	Nanomètre
P	Poids
V	Volume

Table des matières

Résumé	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste des tableaux	
Liste des annexes	
Liste des abréviations	
Introduction	1

Partie I: Synthèse Bibliographique

Chapitre I : La Phytothérapie et les Plantes Médicinales

I. 1. La Phytothérapie	3
I.1.1. Définition de la phytothérapie	3
I.1.2. Différents types de la phytothérapie	3
I.1.3. Les intérêts de la phytothérapie	4
I.1.4. Les inconvénients et les risques de la phytothérapie	4
I.1.5. Phytothérapie en Algérie	5
I.2. Les Plantes Médicinales	5
I.2.1. Définition.....	5
I.2.2. Modes de préparation des plantes médicinales.....	5

Chapitre II : Généralités sur le *Moringa oleifera* L.

II.1. Etymologie et taxonomie	8
II.2. Historique, origine et distribution	8
II.3. Description botanique	9
II.4. Composition chimique et valeurs nutritives des feuilles du <i>M. oleifera</i>	12
II.5. Domaines d'utilisation de <i>M. oleifera</i>	13
II.5.1. Utilisation alimentaire	13
II.5.2. Utilisation médicinale et thérapeutique	14
II.5.3. Utilisations traditionnelles.....	14
II.5.4. Autres utilisations	15

Chapitre III: Les Métabolites Secondaires

III.1. Définition	16
III.2. Classification.....	16
III.2.1. Terpénoïdes	16
III.2.2. Alcaloïdes.....	18
III.2.3. Composés phénoliques	19
III.2.3.1. Définition.....	19

III.2.3.2. Classification	20
III.2.3.3. Activités biologiques des composés phénoliques.....	23

Partie II: Matériel et Méthodes

Chapitre I: Etude Phytochimique

I.1. Matériel végétal.....	26
I.1.1. Récolte	26
I.1.2. Préparation des échantillons	26
I.1.2.1. Séchage	26
I.1.2.2. Broyage	29
I.2. Méthodes d'analyse.....	29
I.2.1. Préparation des extraits aqueux	29
I.2.2. Détermination du rendement	30
I.2.3. Analyses des extraits des feuilles de <i>M. oleifera</i>	31
I.2.3.1. Analyse qualitative: Criblage phytochimique.....	31
a. Mise en évidence des composés phénoliques	31
b. Mise en évidence des flavonoïdes	31
c. Mise en évidence des tannins.....	31
d. Mise en évidence des alcaloïdes	31
e. Mise en évidence des terpénoïdes.....	32
f. Mise en évidence des sucres réducteurs	32
g. Mise en évidence des saponines	32
h. Mise en évidence des quinones	32
i. Mise en évidence des stéroïdes.....	32
j. Mise en évidence des glycosides cardiaques.....	33
k. Mise en évidence des anthocyanidines	33
I.2.3.2. Analyse quantitative: Dosage biochimique	33
a. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie.....	33
b. Dosage des flavonoïdes par trichlorure d'aluminium.....	34
c. Dosage des tannins condensés	36

Chapitre II: Etude des Activités Biologiques

II. 1. Activité antioxydante	37
II.1.1. Mesure du pouvoir anti-radicalaire par le test 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH).....	37
II.1.2. Test de l'acide 2, 2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline 6-sulfonique) (ABTS).....	39
II.1.3. Test du pouvoir réducteur (Ferric Reducing Antioxydant Power, FRAP).....	40
II.2. Activité antibactérienne	42
II.2.1. Souches bactériennes expérimentées	42

II.2.2. Test antibactérien par la méthode de l'antibiogramme	43
II.2.2.1. Préparation des solutions à testés	44
II.2.2.2. Préparation des disques	44
II.2.2.3. Préparation du milieu de culture.....	44
II.2.2.4. Préparation de l'inoculum	44
II.2.2.5. Ensemencement	44
II.2.2.6. Incubation	45
Partie III: Résultats et Interprétation	
Chapitre I: Etude Phytochimique	
I.1. Analyse des quatre extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i>	46
I.1.1. Détermination du rendement d'extraction	46
I.1.2. Analyse qualitative: Criblage phytochimique	47
I.1.3. Analyse quantitative.....	50
I. 1.3.1. Teneur en polyphénols totaux	51
I.1.3.2. Teneur en flavonoïdes	52
I.1.3.3. Teneur en tannins condensés	53
I.1.3.4. Comparaison des teneurs des composés phénoliques	54
Chapitre II: Etude des Activités Biologiques	
II.1. Activité antioxydante	55
II.1.1. Test du pouvoir antiradicalaire du DPPH	55
II.1.2. Activité antiradicalaire par le test ABTS	58
II.1.3. Test du pouvoir réducteur du fer (FRAP)	60
II.2. Activité antibactérienne	63
Discussion.....	68
Conclusion.....	74
Références Bibliographiques	76
Annexes	

Introduction

Introduction

Depuis quelques années, le marché des thérapeutiques dites naturelles progresse, révélant un intérêt de plus en plus fort des patients à l'égard de la médication à base de plante.

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances (**Salhi et al., 2010**).

Ces plantes ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques complexes, de nombreux composés qu'elles utilisent pour diverses fonctions adaptatives notamment en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'elles peuvent subir. Donc, elles renferment une large variété de molécules chimiques (peptides, terpènes, polyphénols, alcaloïdes...) de propriétés physico-chimiques très différentes et qui présentent une large variété d'activités biologiques (antitumorale, antivirale, antimicrobienne, antioxydante...). Par ailleurs, elles constituent une source importante de molécules bioactives (**Michel, 2011**).

Moringa oleifera L. (Moringaceae) aussi appelé «l'arbre de la vie» est largement utilisé dans la médecine traditionnelle. C'est un arbuste, originaire du sud d'Asie, Afrique, Pacifique et des îles de caraïbes (**Alhakmani et al., 2013**). Plusieurs études ont prouvé les différentes vertus de cette plante (**Fahey, 2005**). Il est considéré comme l'un des arbres les plus utiles au monde, car presque chaque partie de l'arbre possède certaines propriétés nutritionnelles, médicinales et autres propriétés bénéfiques (**Luqman et al., 2012**).

Leurs propriétés médicinales ont été attribuées aux compositions phytochimiques de ses différentes parties: racines, écorce, feuilles, fleurs, fruits et graines (**Anwar et al., 2007**), en particulier les feuilles, la partie la plus utilisée de la plante, sont riches en vitamines, caroténoïdes, polyphénols, acides phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes, glucosinolates, isothiocyanates, tanins et saponines (**Leone et al., 2015**).

Les feuilles de *M. Oleifera* représentent une bonne source d'antioxydants naturels grâce à la présence de divers types de composés antioxydants (**Siddhuraju et Becker, 2003**) et renferme des activités antimicrobiennes (**Millogo-Koné et al., 2012**).

En effet, elles sont rarement utilisées à l'état frais, elles doivent être conservées dans de bonnes conditions. Le séchage est le procédé le plus utilisé pour conserver les plantes

médicinales, une bonne dessiccation évite la prolifération, sur la plante, des bactéries et des moisissures (Müller et Heindl, 2006; Harbourne *et al.*, 2009).

Les feuilles de *M. oleifera*, comme la plupart des légumes à feuilles vertes, ne sont pas présentes toute l'année. Après la récolte, il arrive que ces feuilles perdent leurs propriétés médicinales par fermentation. Dans ce cas, le séchage vise principalement à prolonger la durée de conservation tout en conservant l'intégralité de la plante. C'est sous cet objectif qu'intervient notre travail qui vise à étudier l'effet de quelques méthodes de séchage des feuilles de *M. oleifera* sur la composition phytochimique et l'activité antioxydante et antibactérienne. A cet effet, nous nous sommes intéressés à :

- Réaliser le séchage des feuilles de *M. oleifera* par quatre méthodes différentes à savoir à l'air libre (le mode couramment utilisé), au soleil, à l'étuve à température basse et dans un lyophilisateur, suivi par extraction à l'eau distillée;

-Effectuer une analyse qualitative préliminaire pour savoir les différents métabolites existants dans les quatre types d'extraits de la plante à travers un screening phytochimique;

-Effectuer une analyse quantitative de ces quatre extraits par dosage des trois types de composés phénoliques majoritaires (les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tannins condensés);

-Evaluer l'activité antioxydante des quatre types d'extrait de la plante via le test du DPPH, de l'ABTS et du FRAP tout en calculant les IC50 des deux premiers test et l'évolution de l'absorbance du dernier test;

- Evaluer l'activité antibactérienne de nos extraits vis-à-vis de quatre bactéries, deux à Gram négative (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et deux à Gram positive (*Staphylococcus aureus* et *Streptococcus sp.*) tout en mesurant le diamètre des zones d'inhibition.

Partie I
Synthèse Bibliographique

Chapitre I

La Phytothérapie et les Plantes

Médicinales

I. La Phytothérapie et les Plantes Médicinales

I. 1. La Phytothérapie

I.1.1. Définition de la phytothérapie

Le mot "phytothérapie" est composé étymologiquement de deux racines grecques: *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement" (**Chabrier, 2010**).

La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**Chabrier, 2010**).

I.1.2. Différents types de la phytothérapie

La phytothérapie comprend plusieurs types:

- **L'aromathérapie:** cette forme de soins se pratique avec des « huiles essentielles », produits de la distillation à la vapeur d'eau de plantes aromatiques. Il s'agit d'extraire de la plante cette essence à l'odeur particulièrement intense pour s'en servir ensuite en diffusion, en usage externe ou, beaucoup plus rarement, en usage interne (**Garreta, 1998**).
- **Herboristerie:** elle correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée tout en utilisant la plante entière ou juste une partie de celle-ci. La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche (**Strang, 2006**).
- **Gemmothérapie:** est l'utilisation de tissus embryonnaires végétaux en croissance tels que jeunes pousses, bourgeons frais, radicules, préparés par macération dans un mélange eau-alcool-glycérine (**Goetz, 2006**).
- **Homéopathie:** elle a recours aux plantes d'une manière prépondérante, mais non exclusive. Les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant de source animale et minérale (**Strang, 2006**).
- **Phytothérapie pharmaceutique:** elle utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats... (**Strang, 2006**).

I.1.3. Les intérêts de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages.

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments décroît. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs (**Iserin et al., 2001**).

Les plantes médicinales constituent un groupe numériquement vaste de plantes économiquement importantes. Elles possèdent des composants actifs utilisés dans le traitement de différentes maladies. Outre leur utilisation comme remèdes directs, on les emploie aussi dans les industries pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques. L'industrie pharmaceutique utilise essentiellement les plantes médicinales qui contiennent des substances chimiques à effet médicinal connu, qui ne peuvent pas être produites synthétiquement si ce n'est par un processus coûteux et difficile. Les composants actifs sont d'abord isolés puis utilisés dans la fabrication des médicaments (**Frantisek, 1992**).

Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu d'effets indésirables, de plus, l'usage est simple et à domicile et l'effet recherché est pratiquement immédiat (**Robert et al., 2010**).

I.1.4. Les inconvénients et les risques de la phytothérapie

Il faut rester vigilant à la consommation des plantes, elles comportent aussi de nombreux inconvénients, ce qui limite leur efficacité lorsqu'il s'agit de les incorporer à des médicaments :

Les plantes comportent des dizaines de molécules qui interagissent entre elles, il est donc plus difficile de les mélanger. Deux organes d'une même plante peuvent même avoir des indications totalement différentes [1].

L'usage de la phytothérapie est limité, elle sert souvent que pour apporter un confort dans la vie de tous les jours et soigner de petits maux, des affections bénignes. Elle ne peut pas traiter le cancer par exemple [1].

Il est aussi très important de respecter la posologie: certaines plantes médicinales peuvent être ingérées plusieurs fois par jour sans effets secondaires tandis que pour d'autres

l'effet combiné de plusieurs prises en peu de temps peut présenter des effets non désirés. De plus, il est difficile de connaître la dose car la teneur en principe actif de la plante varie, parfois très sensiblement [1].

De plus, souvent la phytothérapie repose sur une automédication et donc une auto diagnostique ce qui peut être dangereux pour le patient qui peut mal-interpréter les symptômes [1].

I.1.5. Phytothérapie en Algérie

La phytothérapie en Algérie est ancrée dans les mœurs, l'importante richesse de sa flore médicinale, les connaissances ancestrales enrichies au fil des siècles par le brassage des cultures berbère, romaine et arabo musulmane ainsi que l'expérience de la population en médecine traditionnelle forment un véritable héritage culturel et font que les plantes médicinales poursuivent aujourd'hui encore à avoir toute leur importance en matière de soins et ce malgré l'avènement de la médecine moderne (**Mkedder et Hakem, 2018**).

Des chiffres obtenus auprès du Centre national du registre de commerce, montrent qu'à la fin 2009, l'Algérie comptait 1926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1393 sédentaires et 533 ambulants (Ministère du commerce, 2013). La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand nombre avec 199 magasins, suivie de la wilaya de Sétif (107), Bechar (100) et El Oued avec 60 magasins (**Bouacherine et Benrabia, 2017**).

I.2. Les Plantes Médicinales

I.2.1. Définition

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al., 1986 In Zeghad, 2009**). Environ 35 000 espèces de plantes sont utilisées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Chabi et al., 2015**).

I.2.2. Modes de préparation des plantes médicinales

Il est nécessaire d'élaborer des méthodologies qui permettent les extractions des substances qui ayant une action spécifique. Ces manipulations sont:

- L'infusion

Elle consiste à verser de l'eau bouillante sur la plante ou partie de plante qu'on veut infuser. Il faut alors couvrir le récipient et laisser infuser le temps nécessaire (**Lacoste, 2015**).

Les plantes fraîches doivent être infusées rapidement (30 secondes à 1 minutes), les plantes sèches infusent plus longtemps (1 à 2 minutes). La tisane obtenue doit être claire : jaune clair ou vert clair (**Djerroumi et Nacef, 2004**).

- La décoction

Il s'agit de faire bouillir pendant quelques minutes la plante ou parties de plante qu'on veut préparer. Le temps d'ébullition varie selon la plante ou la partie de la plante utilisée. Certaines plantes ne doivent pas être préparées à chaud sous peine de perdre leurs vertus curatives; elles doivent, de ce fait, être préparées à froid c'est-à-dire macérées (**Djerroumi et Nacef, 2012**).

- La macération

Celle-ci consiste à maintenir en contact pendant un certain temps les parties actives de la plantes dans un solvant, la macération à l'eau ne devant pas excéder une demi-journée (**Djerroumi et Nacef, 2012**). Cette méthode permet une extraction douce des principes actifs, surtout lorsqu'ils sont thermolabiles (**Chabrier, 2010**).

- Le suc

Il suffit de réduire la plante en purée. Il est préférable de le faire avec des plantes fraîches mais parfois quand la plante est trop épaisse ou donne peu de jus, il est nécessaire de la cuire dans un peu d'eau. Une fois la purée de pulpe obtenue, filtrer et boire le suc dilué dans un peu d'eau ou l'utiliser en compresse. Cette technique est rarement utilisé car le « produit » obtenu est souvent très amer et ne se conserve pas (**Lacoste, 2015**).

- La poudre

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (2003), les plantes médicinales peuvent être séchées de plusieurs manières: à l'air libre ; directement au soleil; dans des étuves sèches, des enceintes de séchage, des séchoirs solaires; près d'un feu (chaleur indirecte); par lyophilisation; au four à micro-ondes. Si possible, la température et l'humidité seront contrôlées de façon à éviter d'altérer les constituants chimiques actifs. La méthode et la température de séchage peuvent avoir une influence considérable sur la qualité des matières

végétales médicinales obtenues. Par exemple, on préférera le séchage à l'ombre pour préserver la couleur des feuilles et des fleurs, et on choisira un séchage à basse température dans le cas de matières contenant des substances volatiles.

Les plantes séchées sont finement broyées, puis sont vendues en sachet (infusettes) pour faire des tisanes qui n'ont pas besoin d'être passées. Certains malades tiennent la poudre de plantes directement sur la langue, ou la mélangent à leurs aliments (**Schauenberg et Paris, 2010**).

Chapitre II

Généralités sur Moringa Oleifera L.

II. Généralités sur le *Moringa oleifera* L.

II.1. Etymologie et taxonomie

«*Moringa*» vient de *Muringa* en malayalam une langue indienne. La plupart des langues utilisent un dérivé phonétique de ce mot pour désigner la plante (**Théophile, 2014**), son nom d'espèce «*oleifera* » signifie qui produit de l'huile [2].

Le nom scientifique de *M. oleifera* (synonyme *Moringa pterigosprema* Gaertner), est l'espèce la plus répartie et la plus connue (**Tsaknis et al., 1999**). Du fait de ses nombreuses potentialités nutritives, médicinales et industrielles, il est qualifié «d'arbre de vie», «d'arbre miracle» (**Hédji et al., 2014**). Cette plante possède plusieurs noms communs: en Inde est Shajna, Mungna, Saijna ; en arabe est Shagara al Rauwaq, Rawag; en français est Ben ailé, Moringa ailé, Morungue; en anglais Drumstick tree, Ben tree oil, Never die (**Anwar et al., 2007; Roloff et al., 2009; Koul et Chase, 2015**).

Moringa oleifera appartient au sous règne des Tracheobionta, au classe des Magnoliopsida, il fait partie de l'ordre des Capparales, et de la famille des Moringaceae dans la division des Magnoliopyte (**Laleye et al., 2015**).

II.2. Historique, origine et distribution

Le Moringa a été employé par diverses sociétés {Romaines, grecques, égyptiennes, Indiens,...etc} pendant des milliers d'années (**Khawaja et al., 2010; Leone et al., 2015**). Leur histoire remonte à 150 ans avant Jésus Christ, des preuves historiques indiquent que d'anciennes rois et reines utilisaient des feuilles et des fruits de Moringa dans leur régime alimentaire pour maintenir leur vigilance mentale et la peau saine (**Khawaja et al., 2010**).

Le *M. oleifera* est originaire de l'Asie du Sud, où elle pousse dans les contreforts de l'Himalaya, du Nord-Est du Pakistan au Nord-Ouest du Bengale, en Inde (**Chaudhary et Chaurasia, 2017**). Maintenant indigène à beaucoup de régions en Afrique, l'Arabie, le Sud Est asiatique, les îles du Pacifique et de Caraïbes et l'Amérique du Sud (**Abdull et al., 2014**). Son introduction en Afrique de l'Est a eu lieu au début du 20^{ème} siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes durant cette période (**Foidl et al., 2001**). C'est de l'Inde et du Pakistan que la culture de Moringa s'est étendue vers l'Égypte puis l'Afrique et a atteint la Méditerranée et finalement les Indes Occidentales (les Antilles et l'Amérique) (**AGROCONSULT HAITI, 2016**).

Le *Moringa* suscite un intérêt grandissant d'où des essais d'introduction à titre expérimental à partir de semences en provenance de Dar el Salem (Tanzanie) ont été réalisés dans de nombreuses stations à travers l'Algérie (Bainem, Zeralda, Mostaganem, Jijel, Biskra, Adrar et Tamanrasset) (Louni, 2009).

Il est distribué dans de nombreux pays des tropiques et des régions subtropicales (Anwar *et al.*, 2007; Price, 2007) (Figure 1).

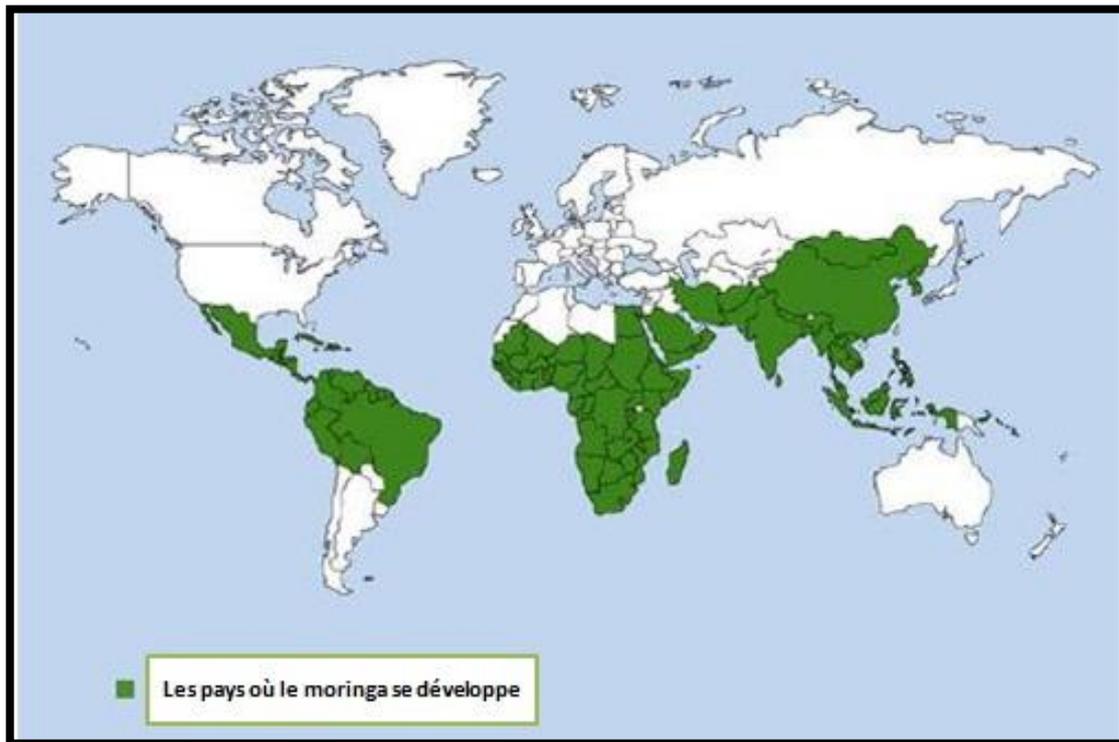


Figure 1: Répartition de *M. oleifera* dans le monde (Koul et Chase, 2015).

II.3. Description botanique

M. oleifera (Photo 1) appartient à la famille monogénérique des arbustes et arbres des Moringaceae qui renferme environ 13 espèces (Foidl *et al.*, 2001; Hédji *et al.*, 2014; Laleye *et al.*, 2015). C'est une espèce de petit arbre pérenne pouvant mesurer jusqu'à 10 mètres de hauteur (Madi *et al.*, 2012). Il peut bien pousser sous les tropiques humides ou sur des terres chaudes et sèches, peut survivre dans les sols pauvres (Anwar *et al.*, 2007).



Photo 1: Arbre de *M. oleifera* (Original).

Le *M. oleifera* a une croissance très rapide, il a besoin de moins d'eau pour sa croissance et, une fois complètement développé, chaque partie de l'arbre peut faire partie du régime alimentaire, ce qui le rend différent des autres plantes et par conséquent, il est également appelé «arbre miracle» (Haldar et Kosankar, 2017). La fleuraison a lieu dans les six mois après la plantation. Dans les régions froides, la fleuraison a lieu une fois par an (avril à juin) (Haldar et Kosankar, 2017).

Les **feuilles** du *M. oleifera* (Photo 2), alternes et bi ou tripennées, se développent principalement dans la partie terminale des branches. Elles comptent 20 à 70 cm de long, sont recouvertes d'un duvet gris lorsqu'elles sont jeunes, ont un long pétiole avec 8 à 10 paires de pennes composées chacune des deux paires de folioles opposés, plus un à l'apex, ovales ou en forme d'ellipse, et mesurant 1 à 2 cm de long (Foidl *et al.*, 2001).



Photo 2: Feuilles du *M. oleifera* (Original).

Ses **fleurs** (Photo 3), de 2,5 cm de large, sont de forme de panicules axillaires et tombantes de 10 à 25 cm. Elles ont une couleur blanche ou crème, avec des points jaunes à la base et possèdent une odeur agréable (Morton, 1991; Hédji *et al.*, 2014).



Photo 3: Fleurs de *M. oleifera* (Original).

Les **fruits** du *M. oleifera* (Figure 2) constituent des gousses à trois lobes mesurant 20 à 60 cm de long. Les gousses sèches s'ouvrent en trois parties en donnant 12 à 35 graines (Hédji *et al.*, 2014). Ces dernières (Photo 4) sont rondes, avec une coque marron semi-perméable présente trois ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet. Un arbre peut produire 15000 à 25000 graines par an dont une graine pèse en moyenne 0,3 g (Foidl *et al.*, 2001).



Figure 2: Gousses fraîches et sèches de *M. oleifera* (Chaudhary et Chaurasia, 2017).



Photo 4: Graines de *M. oleifera* (Original).

Le système racinaire à une structure tubulaire (Figure 3), blanche gonflée, tubéreuse qui a une odeur piquante caractéristique et dotée de racines latérales plutôt clairsemées (Rolaff *et al.*, 2009).



Figure 3: Racines de *M. oleifera* (Koul et Chase, 2015).

II.4. Composition chimique et valeurs nutritives des feuilles du *M. oleifera*

L'analyse phytochimique de *M. oleifera* a montré la présence d'une gamme de composés uniques ayant plusieurs propriétés médicinales, nutraceutiques et pharmaceutiques (Koul et Chase, 2015), il est riche en composés contenant un sucre simple: le rhamnose et un groupe particulier de composés appelés glucosinolates et les isothiocyanates. Les feuilles contiennent certains pigments flavonoïdiques tels que le kaempferol, le rhamnetin, l'isoquercitrine et le kaempferitrin. Elles ont aussi une concentration élevée en acide ascorbique, des flavonoïdes, des composés phénoliques, les caroténoïdes, du phosphore et de riboflavine (Laleye *et al.*, 2015).

Les feuilles de *M. oleifera* sont un légume de bonne qualité nutritionnelle et sont l'un des meilleurs légumes tropicaux (Broin, 2005; Hédji *et al.*, 2014). Elles sont une bonne source de protéines, de calcium, de fer, de b-carotène (converti en vitamine A dans le corps humain), de vitamine C et de vitamine E (Annexe 1) (Anwar et Rashid, 2007; Broin et Saint Sauveur, 2010; Hédji *et al.*, 2014). De plus, ces feuilles ont un bon profil en acides aminés. Un phénomène plutôt rare pour une plante, elles contiennent les 10 acides aminés essentiels à l'homme (Hédji *et al.*, 2014), avec des acides gras oméga-3 et de nombreux composés phytochimique (Haldar et Kosankar, 2017).

Elles contiennent plus de vitamine A que les carottes, plus de calcium que le lait, plus de fer que les épinards, plus de vitamine C que les oranges et plus de potassium que les bananes (Figure 4) (Fahey, 2005).

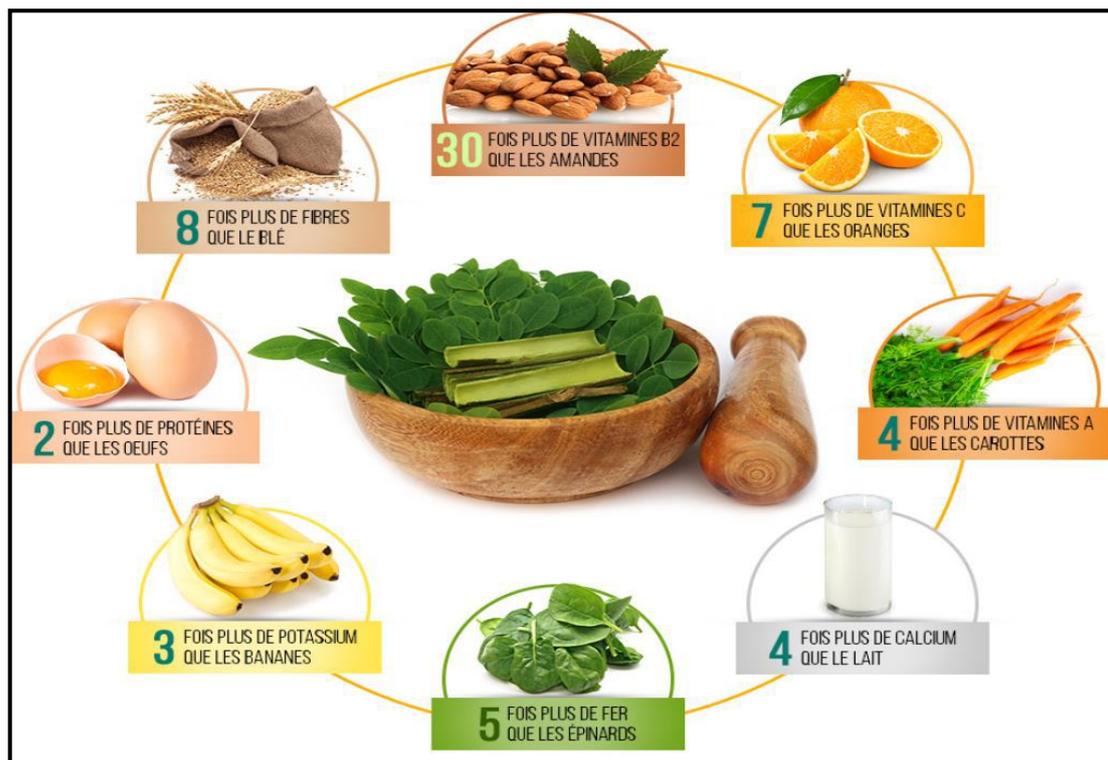


Figure 4: Equivalents en nutriments pour le même poids en feuilles fraîches de *M. oleifera* (Faudot et Paiee, 2017).

II.5. Domaines d'utilisation de *M. oleifera*

Le *M. oleifera* est l'arbre le plus prometteur qui a été utilisé pour des avantages nutritionnels, des propriétés médicinales, la conservation de l'environnement et la consommation (Haldar et Kosankar, 2017).

II.5.1. Utilisation alimentaire

Pour l'alimentation humaine, les feuilles (fraîches ou en poudre), les fruits, les jeunes tiges, les racines et les fleurs sont consommées partout dans le monde (Broin, 2005). Les fleurs peuvent être consommées comme crudités (salade). Les jeunes gousses vertes peuvent être consommées bouillies comme des haricots, et les graines sèches peuvent également être réduites en poudre et utilisées pour assaisonner les sauces. L'huile de *M. oleifera* est utilisée comme huile végétale comestible et également comme huile de cuisson (Foidl *et al.*, 2001).

Pour l'alimentation animale, les qualités nutritives excellentes de Moringa l'ont fait une source de fourrage de très bonne qualité (Foidel *et al.*, 2001). Les feuilles et les brindilles sont utilisées comme fourrage pour le bétail, les moutons, les chèvres et les

chameaux (Roloff *et al.*, 2006). Reyes (2006) et Khawaja *et al.* (2010) ont rapporté un double rendement de lait chez les vaches. De plus, l'incorporation de farine de feuilles de *M. oleifera* dans les rations des poules a montré une amélioration significative de la coloration jaune du jaune d'œuf et de la productivité chez les poules pondeuses (Kakengi *et al.*, 2007; Bello, 2010; Paguia *et al.*, 2014).

II.5.2. Utilisation médicinale et thérapeutique

En plus de ses propriétés nutritionnelles, *M. oleifera* a un intérêt médical puisqu'il peut être employé dans le traitement de nombreuses maladies (Goyal *et al.*, 2007). Toutes les parties (feuilles, fleurs, fruits, écorces et racines) de *M. oleifera* ont de vertus médicinales confirmées par des travaux et des études expérimentales dans divers pays africains, asiatiques et panaméricains (Kooltheat *et al.*, 2014).

Atakpama *et al.*, (2014) ont été rapportées au total 46 indications médicinales de *M. oleifera* dont les plus fréquentes sont: l'hypertension artérielle et le diabète.

Le Moringa est aussi une alternative aux produits alimentaires importés pour traiter la malnutrition dans les pays pauvres. Les arbres ont été utilisés pour lutter contre la malnutrition, en particulier chez les nourrissons et les mères allaitantes (Broin et Saint Sauveur, 2010; Khawaja *et al.*, 2010). De ce fait, les populations introduisent les feuilles de *M. oleifera* dans la formation de la poudre infantile comme complément alimentaire des nourrissons (Madi *et al.*, 2012). Au Sénégal, Mansaly (2001) a affirmé une amélioration nette de la santé des enfants atteints d'infections respiratoires aiguës, de rougeole, de paludisme ou de diarrhée et mis sous régime de *M. oleifera*.

L'extrait des feuilles de *M. oleifera* possède une activité antioxydante due à la présence des différentes variétés d'antioxydants comme l'Acide Ascorbique, les flavonoïdes, les composées phénoliques et caroténoïdes (Laleye *et al.*, 2015).

II.5.3. Utilisations traditionnelles

Selon l'ancienne tradition indienne de l'Ayurveda, les feuilles du Moringa préviennent 300 maladies (Koul et Chase, 2015). Il est utilisé depuis des siècles dans de nombreuses cultures du monde entier pour traiter les infections de la peau, l'anémie, l'asthme, les impuretés sanguines, la bronchite, le choléra, la diarrhée, fièvre, maux de tête, pression artérielle anormale, psoriasis, scorbut, maux de gorge, tuberculose, lactation,

diabète... (**Khawaja et al., 2010**). L'huile de Moringa est utilisée dans les préparations et les onguents pour la peau depuis l'époque égyptienne (**Khawaja et al., 2010**).

II.5.4. Autres utilisations

- **Activateur de croissance:** Selon **Khawaja et al. (2010)**, le Moringa a été utilisé comme activateur de croissance des plantes. Les effets de la pulvérisation ont indiqué une croissance accélérée des jeunes plantes. Les plantes étaient plus fermes, plus résistantes aux parasites et aux maladies. Durée de vie plus longue. Racines, tiges et feuilles plus lourdes, produisant plus de fruits, plus gros fruits, augmentation du rendement de 20 à 35% (**Khawaja et al., 2010**).
- **Clarification des eaux troubles:** Les graines en poudre agissent comme un flocculant naturel, capable de clarifier même les eaux les plus troubles. C'est une méthode simple et rapide pour nettoyer l'eau sale. Ce traitement élimine également 90 à 99% des bactéries contenues dans l'eau. L'utilisation de Moringa pour purifier l'eau remplace les produits chimiques tels que le sulfate d'aluminium, dangereux pour l'homme et l'environnement, et qui sont coûteux. Vingt litres d'eau peuvent être purifiés en ajoutant 2 grammes de poudre (**Khawaja et al., 2010**).
- **Utilisation cosmétique:** Les feuilles de *M. oleifera* après transformation seraient utilisées à des fins cosmétiques. Elles permettraient la fabrication du savon et de pommades pour cheveux (**Atakpama et al., 2014**).

Chapitre III

Les Métabolites Secondaires

III. Les Métabolites Secondaires

III.1. Définition

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits "secondaires" dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques qui ne participent pas à la croissance et au développement normal d'un organisme. Alors que les métabolites primaires jouent un rôle principal dans la survie de l'espèce et jouent une fonction active dans la photosynthèse et la respiration. L'absence de métabolites secondaires n'entraîne pas la mort immédiate, mais plutôt une altération à long terme de la capacité de survie de l'organisme, jouant souvent un rôle important dans la défense des plantes (**Agostini-Costa et al., 2012**).

III.2. Classification

Les métabolites secondaires des plantes sont classés en quatre grandes catégories selon la Fondation Britannique pour la Nutrition. Ces quatre catégories comprennent:

- les terpénoïdes (tels que les caroténoïdes, les stérols, les glycosides cardiaques et les substances volatiles végétales).
- les composés phénoliques (tels que les lignanes, l'acide phénolique, les tannins, les coumarines, les lignines, les stilbènes et les flavonoïdes).
- les composés azotés (tels que les acides aminés non protéiques, les glycosides cyanogéniques et les alcaloïdes).
- les composés sulfurés (tels que le GSH, le GSL, les phytoalexines, les thionines, les défensines et les lectines) (**Ahmed et al., 2017**).

III.2.1. Terpénoïdes

Les terpénoïdes appartiennent à la classe de métabolites secondaires la plus diversifiée sur le plan structurel. Ils contiennent plus de 40 000 structures et constituent la

plus grande classe de tous les métabolites végétaux connus (Bohlmann et Keeling, 2008). Le terme terpénoïdes, ou terpène, vient du fait que les premiers membres de la classe ont été isolés de la térébenthine. Tous les terpénoïdes sont dérivés par la fusion réitérée des unités embranchées de cinq-carbone basées sur le squelette d'isopentane. Pour ces raisons, les terpénoïdes sont souvent appelés isoprénoïdes (Figure 5) (Croteau *et al.*, 2000).

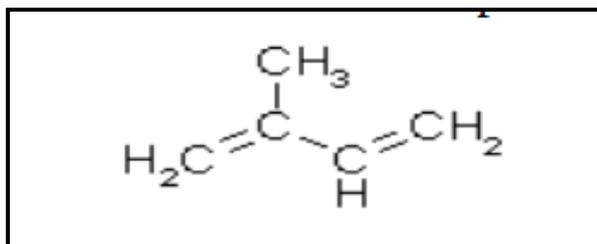


Figure 5: Structure de la molécule isoprène (Malecky, 2008).

Ils jouent divers rôles fonctionnels chez les plantes comme le phytol et les caroténoïdes en tant que colorants photosynthétiques, l'ubiquinone et le plastoquinone comme porteurs d'électron, les gibbérellines et l'acide abscissique comme hormones et les stérols en tant que composants structuraux des membranes cellulaires (Ahmed *et al.*, 2017).

La taille des terpènes s'étend de cinq hémiterpènes de carbone à de grands complexes de taille tel que le caoutchouc qui contient des milliers d'unités d'isoprène. Tous les terpènes sont classés en fonction de cinq unités d'isopentane de la structure centrale (Tableau 1) (Ahmed *et al.*, 2017).

Tableau 1: Les molécules des terpénoïdes (Kabera *et al.*, 2014; Ahmed *et al.*, 2017).

Nombre de Carbone	Nom
C ₅	Hémiterpènes
C ₁₀	Monoterpènes
C ₁₅	Sesquiterpènes
C ₂₀	Diterpènes
C ₂₅	Sesterpènes
C ₃₀	Triterpènes
C ₄₀	Tétraterpènes
C > 40	Polyterpènes

III.2.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont définis comme des composés basiques synthétisés par des organismes vivants contenant un ou plusieurs atomes d'azote hétérocycliques, dérivés d'acides aminés et pharmacologiquement actifs. Le nom de classe est directement lié au fait que presque tous les alcaloïdes sont des composés basiques (alcalins). Ils constituent un très grand groupe de métabolites secondaires, avec plus de 12 000 substances isolées. Une grande variété de formules structurales, issues de différentes voies de biosynthèse (Agostini-Costa *et al.*, 2012).

Les alcaloïdes sont associés à un large éventail d'activités pharmacologiques malgré que beaucoup soient toxiques et peuvent causer la mort, même en petites quantités. Il semble que la fonction alcaloïde chez les plantes et les animaux soit liée aux mécanismes de défense. La toxicité est une bonne arme pour inhiber l'action des prédateurs, comme les herbivores (Agostini-Costa *et al.*, 2012).

On distingue :

❖ Les alcaloïdes vrais

Représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques (Badiaga, 2011). Que l'on classe suivant la nature de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle; biosynthétiquement formés à partir d'acides aminés et possèdent une activité pharmacologique marquée exemple: Nicotine (Figure 6) (Merghem, 2009).

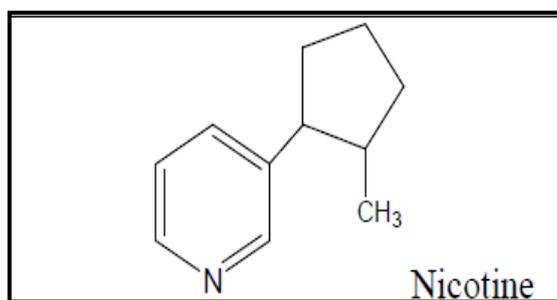


Figure 6: Structure de Nicotine (Bengag, 2009).

❖ Les pseudo-alcaloïdes

Présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Badiaga, 2011). Ils ne possèdent pas d'azote intracyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale exemple la Coniine (Figure 7) (Merghem, 2009).

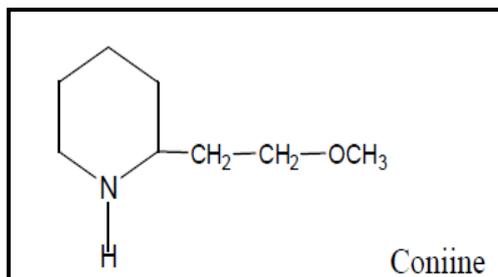


Figure 7: Structure de Coniine (Bengag, 2009).

❖ Les proto-alcaloïdes

Sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acides aminés (Merghem, 2009).

III.2.3. Composés phénoliques

III.2.3.1. Définition

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes qui constituent l'un des groupes de substances les plus communs et les plus répandus chez les plantes (Lattanzio *et al.*, 2006). Ils jouent un rôle très important dans la contribution à la couleur et au goût des fruits et végétaux (Haslam *et al.*, 1988; Boizot et Charpentier, 2006).

Ce sont des molécules hydrosolubles. L'élément fondamental qui caractérise ces composés est la présence d'au moins un noyau benzénique (-C₆H₅) auquel est directement lié à un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Croteau *et al.*, 2000; Lattanzio *et al.*, 2006). C'est une classe constituée d'environ 8 000 composés, divisés en plusieurs catégories (Edeas, 2007), les plus présentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins (Haslam *et al.*, 1988; Boizot et Charpentier, 2006). La figure 8 présente la structure de quelques composés phénoliques.

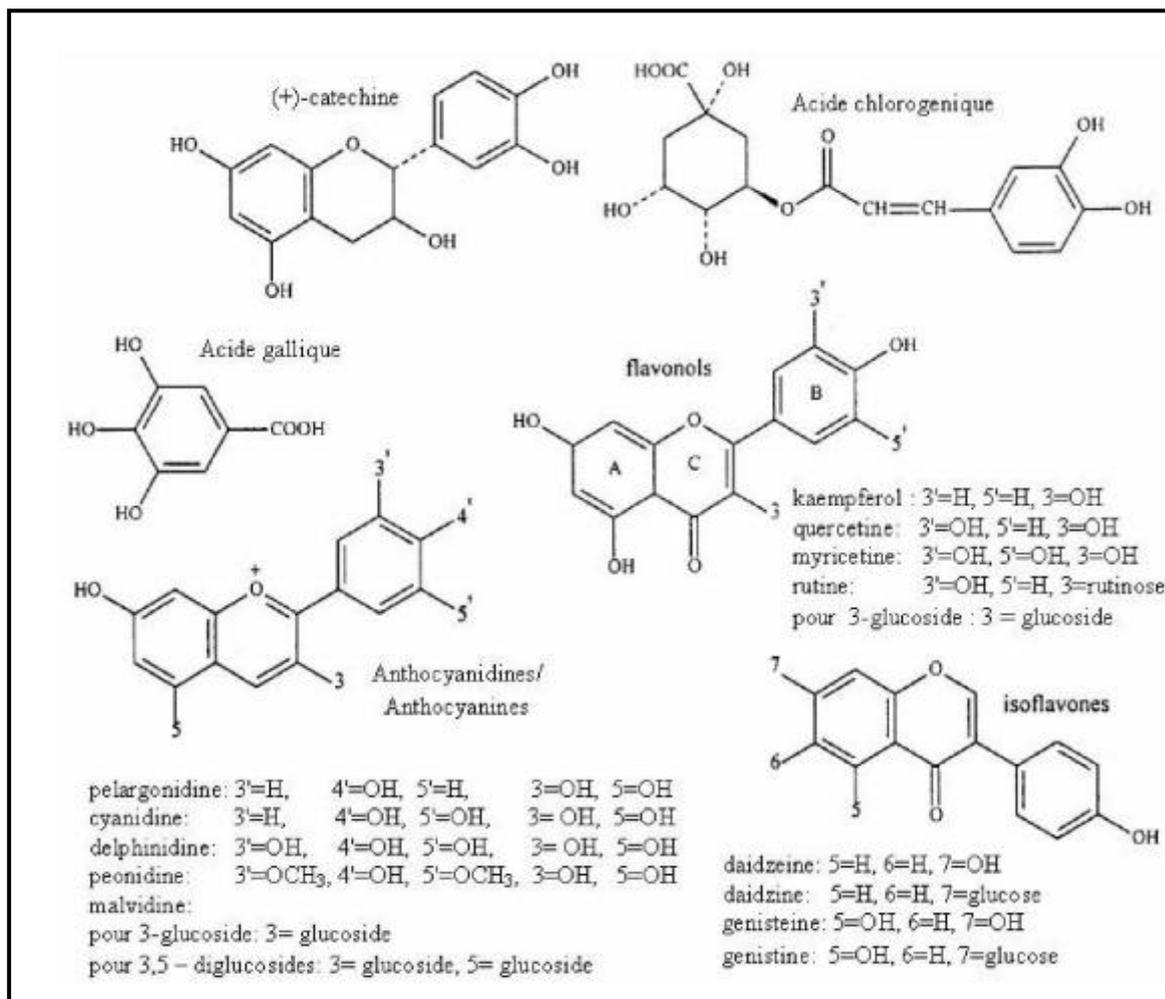


Figure 8: Structure de quelques composés phénoliques (Bengag, 2009).

III.2.3.2. Classification

Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux (Allemand, 2005).

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau 2) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base ensuite par le degré de modification de ce squelette (degrés d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation,...), et enfin par les liaisons possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non de composés phénoliques...) (Allemand, 2005).

Tableau 2: Les principales classes de composés phénoliques (**Macheix et al., 2005**).

Squelette carboné	Classe	Exemple
C6	Phénols simple	Catéchol
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	<i>P</i> -Hydroxybenzoïque
C6-C3	Acides hydroxycinnamique Coumarines	Acides caféique, férulique Scopoléine ,esculétine
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone
C6-C2-C6	Stilbéne	Resvératol
C6-C3-C6	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavanols • Anthocyanes • Flavanones • Flavanones Isoflavonoïdes	<ul style="list-style-type: none"> • Kaempférol, quercétine • Cyanidine, pélargonidin • Catéchine ,épicatechine • Naringénine Daidzéine
(C6-C3) ₂	Lignanes	Pinorésinol
(C6-C3) _n	Lignines	
(C15) _n	Tannins	

a. Acides phénoliques

Leur nom, en général, décrit les phénols qui possèdent une fonctionnalité acide carboxylique (**Robbins, 2003**). Ce sont des composés polyphénoliques non flavonoïdes, qui peuvent être divisés en deux types principaux: les dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique basés sur des squelettes en C1–C6 et en C3–C6 (**Tsao, 2010**).

Ces acides phénoliques ne peuvent être libérés ou hydrolysés que par hydrolyse acide ou alcaline ou par des enzymes (**Tsao, 2010**).

b. Flavonoïdes

Plus de 4500 représentants différents étant connus jusqu'ici, les flavonoïdes constituent une énorme classe de produits naturels phénoliques. Présent dans la plupart des tissus végétaux, souvent dans les vacuoles, les flavonoïdes peuvent se produire comme

monomères, dimères, et oligomères supérieurs (Croteau *et al.*, 2000). Ils possèdent une structure commune, constituée de deux anneaux aromatiques liés par 3 carbones formant le plus souvent un noyau hétérocyclique (Herman, 1988).

Les flavonoïdes (Figure 9) ont un squelette structurel général de C₆–C₃–C₆, dans lequel les deux unités C₆ (cycle A et cycle B) sont de nature phénolique. En raison du schéma d'hydroxylation et des variations du cycle chromane (cycle C), les flavonoïdes peuvent être divisés en différents sous-groupes tels que les anthocyanes, les flavan-3-ols, les flavones, les flavanones et les flavonols (Tsao, 2010).

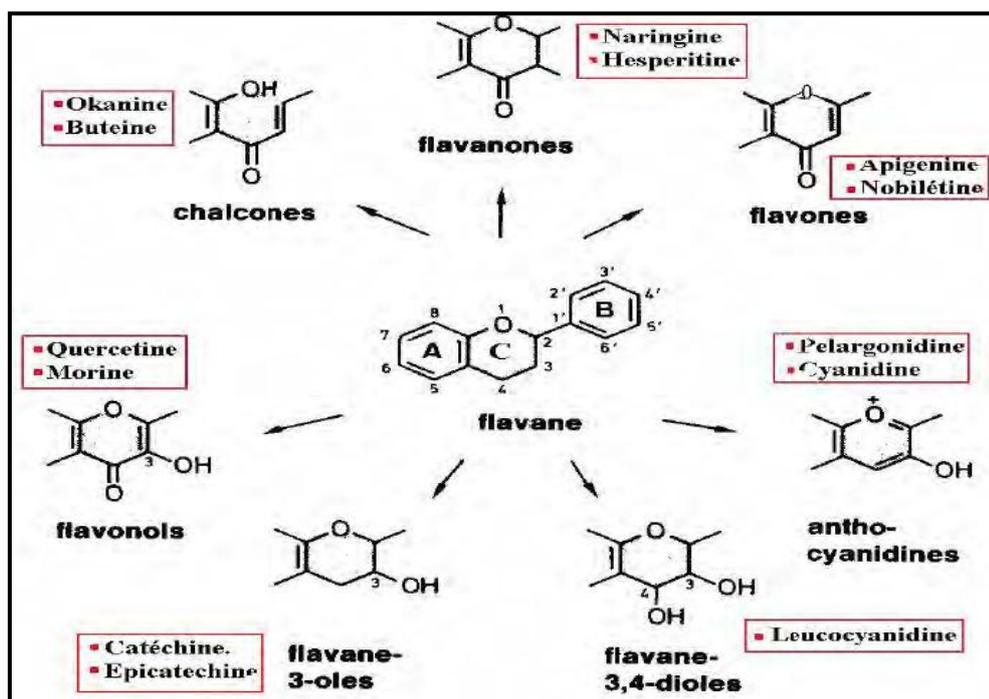


Figure 9: Structure des différents types de flavonoïdes à partir du squelette flavane (Kahlouche-Riachi, 2014).

c. Tannins

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tannins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Ils peuvent former le complexe avec les protéines, l'amidon, la cellulose et les minéraux (Kabera *et al.*, 2014).

Il est classique de distinguer deux grands groupes de tannins différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition à savoir les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Macheix *et al.*, 2005).

❖ Les tannins hydrolysable

Ces tannins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle. Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère : l'acide hexahydroxydiphénique (Maiga *et al.*, 2005). Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (Conrad *et al.*, 1998).

❖ Les tannins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, les tannins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation autooxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A (Wollgast et Anklam, 2000).

III.2.3.3. Activités biologiques des composés phénoliques

a. Propriété antioxydante

Un antioxydant est une molécule naturelle ou synthétique qui est capable d'inhiber l'oxydation d'autres molécules en intervenant à différents stades du processus d'oxydation. Il peut agir de différentes façons:

- Piéger les composés qui initient la réaction radicalaire;
- Piéger les ions métalliques tels que Fe^{2+} ;
- Neutraliser l'anion superoxyde pour éviter la formation de peroxydes;
- Terminer la réaction de propagation dans la réaction radicalaire mise en place ou réduire la concentration en O_2 (Maurent, 2017).

Les principales classes de composés à activité antioxydante sont: les vitamines (vitamines C et E), les caroténoïdes (carotènes et xanthophylles) et les polyphénols (flavonoïdes, flavonols, flavones, flavanones, anthocyanines, isoflavones, acides phénoliques, tannins, stilbènes et lignanes) (Oroian et Escriche, 2015).

En raison de leur structure [groupe (s) hydroxyle (s) sur un ou plusieurs noyaux benzéniques], les polyphénols piègent le radical libre par transfert d'atome H à partir du group(s) actif de l'OH du polyphénolique à ce radical libre ($\text{Ar-OH} + \text{R} \cdot \rightarrow \text{ArO} \cdot + \text{RH}$) (Papuc *et al.*, 2017).

Plusieurs chercheurs ont rapporté une forte activité antioxydante pour les flavonoïdes (Figure 10). Il a été signalé que les flavonoïdes éliminent les radicaux libres lors de l'oxydation des aliments, y compris le radical libre le plus agressif, le radical hydroxyle ($\text{HO}\cdot$) (Papuc *et al.* 2017).

Les antioxydants ont diverses propriétés biologiques, telles que des effets anti-inflammatoires, anti-cancérigènes et anti-athérosclérotiques. Ils réduisent également l'incidence des maladies coronaires (Oroian et Escriche, 2015).

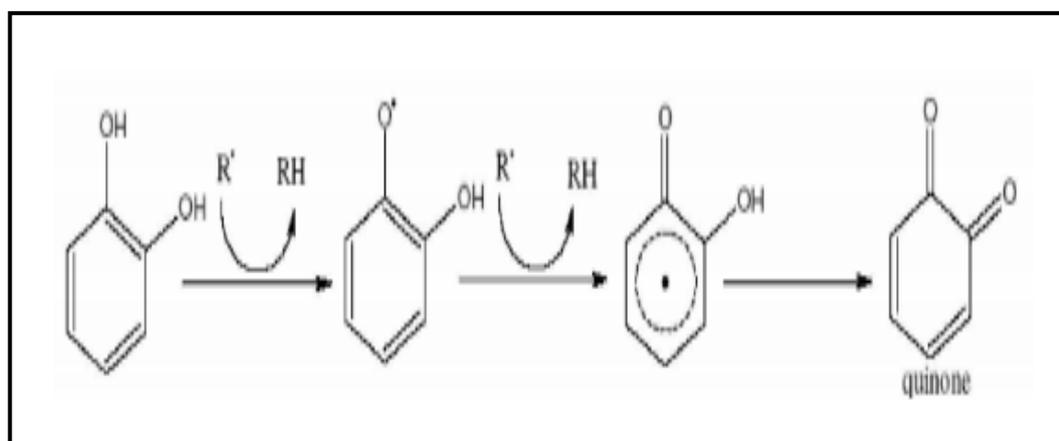


Figure 10: Piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes (Bengag, 2009).

b. Activité antibactérienne

Les maladies infectieuses, causées par des bactéries résistantes à de multiples médicaments, sont devenues l'un des problèmes les plus graves de nos jours. Bien que l'utilisation d'antibiotiques ait considérablement réduit l'incidence des maladies infectieuses, elle a également conduit à l'apparition de bactéries résistantes aux médicaments. Divers composés phénoliques synthétisés par les plantes en réponse à une infection microbienne, possédaient un large spectre d'effets antibactériens contre un large éventail de microorganismes et qu'un certain nombre de médicaments efficaces ont été créés à leur rencontre (**Ignat et al., 2013**).

L'activité antibactérienne des flavonoïdes est de plus en plus documentée et de nombreux groupes de recherche ont identifié les structures chimiques dotées d'une activité antibactérienne. Les flavonoïdes peuvent inhiber la croissance bactérienne en utilisant différents mécanismes, dont l'inhibition de la synthèse de l'acide nucléique et l'inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique (**Coppo et Marchese, 2014**). De cet effet, ils sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries exemple *Staphylococcus aureus* (**Babayi et al., 2004**).

Les tannins ont une action antibactérienne puissante leur permettant d'inhiber la croissance des bactéries responsables de différentes infections chez l'homme tels que: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Proteus mirabilis* (**Kahlouche-Riachi, 2014**).

Partie II
Matériel et Méthodes

Chapitre I
Etude Phytochimique

Chapitre I. Etude Phytochimique

I.1. Matériel végétal

I.1.1. Récolte

L'échantillon utilisé dans cette étude est la partie feuilles de *M. oleifera*. Ces feuilles proviennent du centre de la région de Metlili wilaya de Ghardaïa (Algérie), et sont récoltées au mois de Novembre 2018 d'une plante âgée de 8 mois.

I.1.2. Préparation des échantillons

I.1.2.1. Séchage

Après nettoyage et triage, les feuilles sont séchées suivant quatre méthodes:

- **A l'air libre:** les feuilles sont étalées sur un morceau de toile propre et mises à l'air libre et à l'abri de la lumière. Le séchage se fait à température ambiante dans un endroit sec et bien aéré durant environ 15 jours, pour préserver le maximum d'intégrité des molécules actifs (Photo 5).



Photo 5: Séchage à l'air libre (Original).

- **Au soleil:** Pour ce type de séchage, les feuilles de *M. oleifera* ont été disposées sur un tissu propre dans un carton pour éviter la dispersion des feuilles et garder la

propreté des feuilles. Ces dernières ont été exposées au soleil jusqu'à un séchage totale des feuilles. Ce séchage a été effectué pendant environ 5 jours (Photo 6).



Photo 6 : Séchage au soleil (Original).

- **Dans l'étuve:** dans ce type de séchage, les feuilles ont été disposées sur des papiers et mises dans l'étuve (Memmert) à une température de 39° C jusqu'à séchage totale des feuilles. Ce séchage a été effectué durant 7 jours (Photo 7).



Photo 7: Séchage dans l'étuve (Original).

- **Par lyophilisation:** les feuilles ont été d'abord congelées après leur récolte durant un mois puis elles ont été déposées dans des boîtes en verre et mises à l'intérieur du lyophilisateur (CHRIST alpha 2-4 LSC basic) pendant 24 H (Photo 8).

Principe de lyophilisation

La lyophilisation, aussi appelée séchage à froid, consiste à extraire l'eau contenue dans les substances organiques ou minérales par interaction des techniques du vide et du froid. Le produit, préalablement congelé à basse température, est placé dans une enceinte sous vide. L'abaissement de la pression en dessous du point d'équilibre (point triple) sur la courbe de tension de vapeur de l'eau entraîne une sublimation de la glace, c'est-à-dire que l'eau à l'état de glace s'élimine sous forme de vapeur sans passer par l'état liquide (**Duchene, 2015**). La lyophilisation comporte généralement trois étapes: la congélation, la sublimation et la dessiccation secondaire (**Coulibaly et al., 2011**).



Photo 8: Séchage par lyophilisation (**Original**).

I.1.2.2. Broyage

Après l'obtention d'un poids constant pour les trois premières méthodes de séchage ci-dessus et après 24h de lyophilisation, les échantillons ont été broyés à l'aide d'un broyeur (model M20) jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine. Les poudres sont conservées dans des flacons en verre, à l'abri de la lumière pour éviter toute détérioration jusqu'à utilisation.

I.2. Méthodes d'analyse

I.2.1. Préparation des extraits aqueux

Un gramme (1g) de chacun des échantillons en poudre est mis dans 100 ml d'eau distillée pendant 24 heures sur un agitateur (Stuart). Le macérât obtenu a été filtré en utilisant le papier filtre de Whatman (N°1) et le filtrat obtenu a été centrifugé à 1000 g pendant 10 min. Ensuite, le surnageant obtenu a été séché par un rotavapeur à 55°C (Heidolph) jusqu'à ce qu'il reste un petit volume qui va terminer son séchage à l'air libre.

L'extrait sec obtenu a été gratté et pesé pour déterminer le rendement puis conservé dans un congélateur à 4°C jusqu'aux analyses ultérieures.

Les principales étapes du protocole expérimental sont résumées dans la figure 11 :

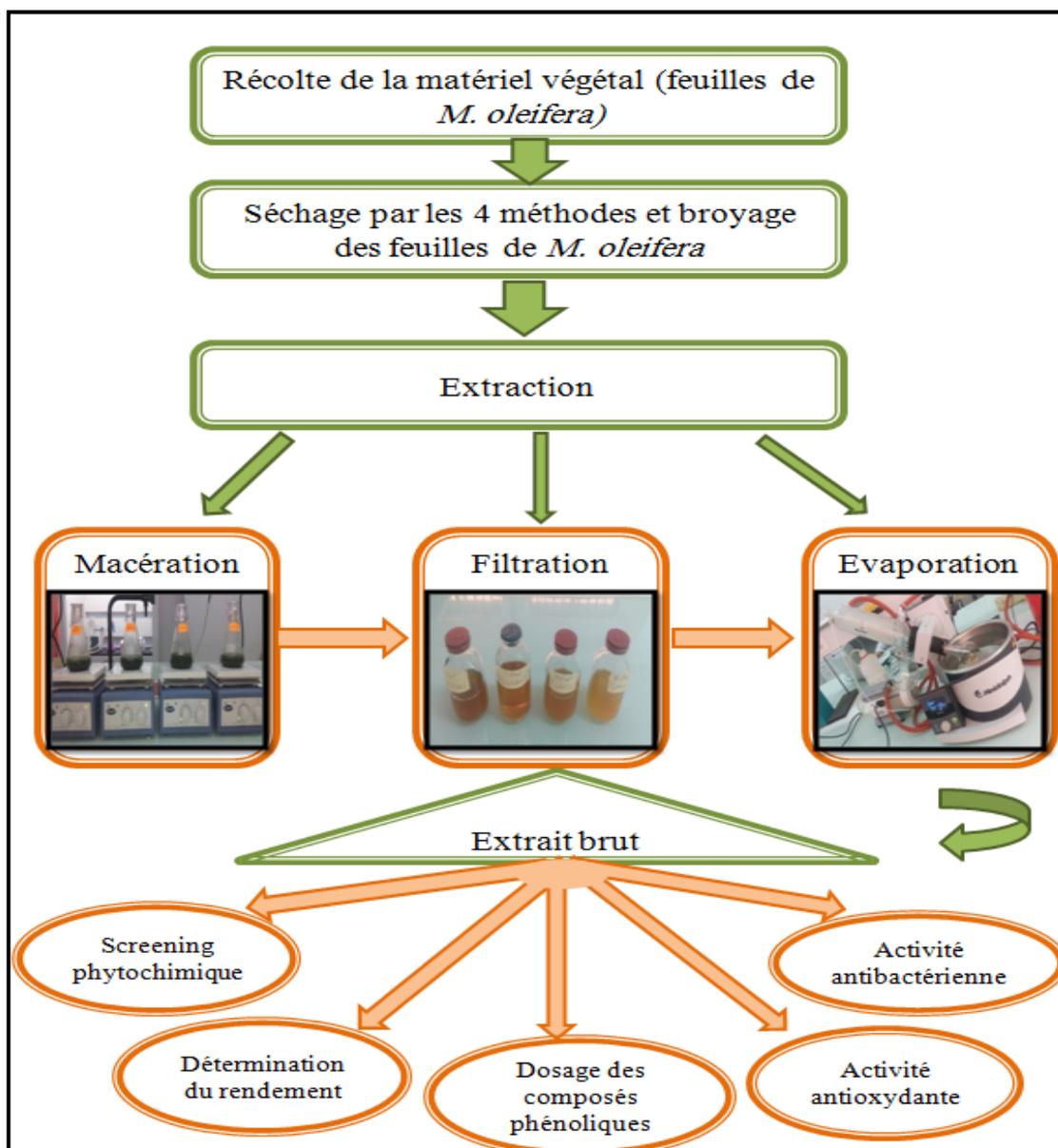


Figure 11: Principales étapes du Protocole expérimentale.

I.2.2. Détermination du rendement

Le rendement des extraits a été calculé selon la formule suivante:

$$R (\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) * 100$$

Où :

R: est le rendement en %;

M_{ext}: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g;

M_{éch}: est la masse sèche de la plante en g (Falleh *et al.*, 2008).

I.2.3. Analyses des extraits des feuilles de *M. oleifera*

I.2.3.1. Analyse qualitative: Criblage phytochimique

L'étude phytochimique qualitative vise à identifier les groupes de constituants chimiques présentant un intérêt pharmacologique (Bachiri *et al.*, 2016), à savoir les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les composés réducteurs, les saponines, les quinones, les stéroïdes, les glycosides cardiaques et les anthocyanidines.

a. Mise en évidence des composés phénoliques

La réaction à la solution alcoolique de chlorure ferrique (FeCl_3) permet de caractériser les polyphénols. A 2 ml de chaque extrait (séché à l'air libre, au soleil, lyophilisé et étuvé), une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% (Annexe 2) a été ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence de polyphénols (N'Guessan *et al.*, 2009).

b. Mise en évidence des flavonoïdes

La méthode d'Ali Redha *et al.* (2018) permet de mettre en évidence la présence des flavonoïdes. À 1 ml de chaque extrait aqueux, 1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 10% (Annexe 2) a été ajouté. La présence de ces métabolites dans le milieu est indiquée par la formation d'une couleur jaune à orange.

c. Mise en évidence des tannins

L'addition de chlorure ferrique (FeCl_3) à 1 % permet de détecter la présence ou non de tannins. 3 gouttes de FeCl_3 à 1 % (Annexe 2) ont été ajoutées à 1ml de chaque extrait aqueux. La couleur vire au bleu noir indique la présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Dohou *et al.*, 2003).

d. Mise en évidence des alcaloïdes

➤ Test de Mayer

Dans des tubes à essai et à 1 ml de chacun des 4 extraits, quelques gouttes du réactif de Mayer ont été ajoutées. L'apparition d'un précipité blanc témoigne la présence d'alcaloïdes (Ali Redha *et al.*, 2018).

➤ **Test de Dragendorff**

Ce test est réalisé par des réactions de précipitation avec le réactif de Dragendorff. 1 ml de chaque extrait a été mis dans des tubes à essai, puis l'addition 5 gouttes de réactif de Dragendorff ont été ajoutés. L'apparition d'un précipité orange, révèle la présence d'alcaloïdes (**Lella et al., 2017**).

e. Mise en évidence des terpénoïdes

La présence des terpénoïdes est révélée par la méthode de **Khan et al. (2011)**. Un volume de 400 µl de chloroforme est ajouté à 1ml de chacun des 4 extraits, puis 600 µl d'acide sulfurique concentré est ajouté sur la paroi du tube. La formation de deux phases et un anneau de couleur marron à l'interphase indique la présence de ces composés.

f. Mise en évidence des sucres réducteurs

Les sucres réducteurs ont été réalisés par liqueur de Fehling. A 1ml de liqueur de Fehling a été additionné 1 ml de chaque extrait. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (**Békro et al., 2007**).

g. Mise en évidence des saponines

La détection des saponines est réalisée au moyen du test de **Daoudi et al. (2015)**. Où 10 ml des 4 extraits aqueux ont été versés dans un tube à essai; le tube a été agité pendant 15 s puis laisser au repos durant 15 min. Une hauteur de mousse persistante et supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides.

h. Mise en évidence des quinones

Pour 1 ml de chaque extrait aqueux, 1 ml de l'acide sulfurique concentré a été ajouté. La présence de quinones est indiquée par la formation de couleur rouge (**Ali Redha et al., 2018**).

i. Mise en évidence des stéroïdes

À 2 ml de chacun des 4 extraits aqueux, 2 ml d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés lentement sur la paroi du tube. La présence de stéroïdes est indiquée par la

formation de deux couches, une couche supérieure rouge et une couche inférieure vert jaunâtre (Ali Redha *et al.*, 2018).

j. Mise en évidence des glycosides cardiaques

Un volume 2 ml de chloroforme a été ajouté à 2 ml de chaque extrait, puis 2 ml d'acide sulfurique concentré a été ajouté avec précaution. La formation d'une couche rougeâtre foncée de couleur brun à l'interface de l'anneau stéroïde indique la présence de glycosides cardiaques (Boukri, 2014).

k. Mise en évidence des anthocyanidines

Un ml d'extrait aqueux a été ajouté à 1 ml d'hydroxyde de sodium 2N et chauffé pendant 5 min à 100°C. La formation d'une couleur vert bleuâtre indique la présence d'anthocyanes et la formation d'une couleur jaune indique la présence de bétacyanine (Jayaprakas et Sangeetha, 2015).

I.2.3.2. Analyse quantitative: Dosage biochimique

Les composés phénoliques sont des molécules bioactives très recherchées, car ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologiques (antioxydante, antimicrobienne,...etc). Pour ces raisons, les extraits bruts obtenus par extraction aqueuse ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre (SpectroScan 40) pour leurs contenus en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.

a. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie

Le dosage des phénols totaux solubles est effectué par la méthode au Folin-Ciocalteu décrite par Skerget *et al.* (2005). La concentration en phénols totaux dans les extraits a été mesurée par spectrophotométrie UV-VIS, basée sur une réaction colorimétrique d'oxydation/réduction.

Principe

Le principe est basé sur la réduction en milieu alcalin du réactif Folin-Ciocalteu qui est un mélange d'acide de phosphotungstène ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdène ($H_3PMO_{12}O_4$) par les groupements oxydables des composés phénoliques qui se traduit par une coloration bleu mesurée à une longueur d'onde de 765 nm (Singleton *et al.*, 1999).

Mode opératoire

A 0,5 ml de chaque solution d'extrait (des feuilles séchées à l'air libre, au soleil, à l'étuve et lyophilisé), 2,5 ml de réactif Folin-Ciocalteu (0.1N) (Annexe 2) ont été ajoutés, puis 2 ml de carbonates de sodium Na_2CO_3 (75 g/l) (Annexe 2) ont été ajoutés. L'échantillon a été incubé pendant 5 min à 50°C puis refroidi. Le blanc de la réaction est réalisé avec l'eau distillée dans les mêmes réactions et conditions que les extraits. L'absorbance a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS (Figure 12). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

La quantification des polyphénols totaux a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage, réalisée avec de l'acide gallique à différentes concentrations (7.81 à 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (Annexe 3; 4) à partir d'une solution mère de 1mg/ml et dans les mêmes conditions que les extraits.

Les résultats ont été exprimés en microgrammes équivalent acide gallique par milligramme de matière sèche (μg EAG/mg MS).

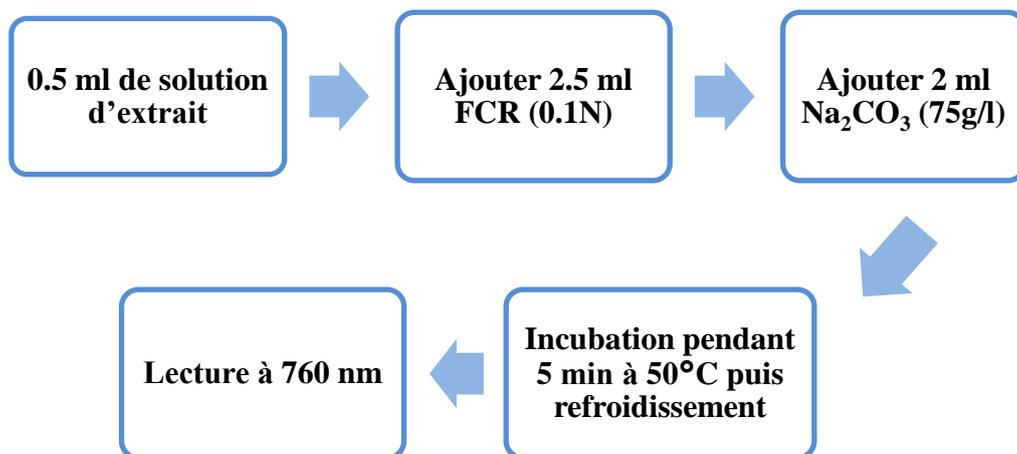


Figure 12: Protocole de dosage des phénols totaux (Skerget *et al.*, 2005).

b. Dosage des flavonoïdes par trichlorure d'aluminium

La teneur en flavonoïdes dans les extraits a été déterminée par spectrophotométrie en utilisant une méthode basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium, ayant le maximum d'absorption à 430 nm (Djeridane *et al.*, 2006).

Principe

La méthode repose sur le principe du dosage direct par le chlorure de l'aluminium. En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre en position 5 susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Basli *et al.*, 2012).

Mode opératoire

Un ml (1ml) de chaque solution des extraits a été mélangé séparément avec 1 ml de trichlorure d'aluminium à 2% (Annexe 2). Après une incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 15 min, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 430 nm avec un spectrophotomètre UV-VIS (Figure 13). Le blanc de la réaction est réalisé avec l'eau distillée dans les mêmes réactions et conditions que les extraits. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

Les concentrations en flavonoïdes sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec la rutine et exprimées en microgramme équivalent de rutine par un milligramme de matière sèche ($\mu\text{g ER/mg}$ de MS).

La gamme d'étalonnage a été réalisée avec différentes concentrations de la rutine (3,905 à 500 $\mu\text{g/ml}$) à partir d'une concentration mère de 1mg/ml et avec les mêmes étapes et conditions que le dosage (Annexe 5; 6).

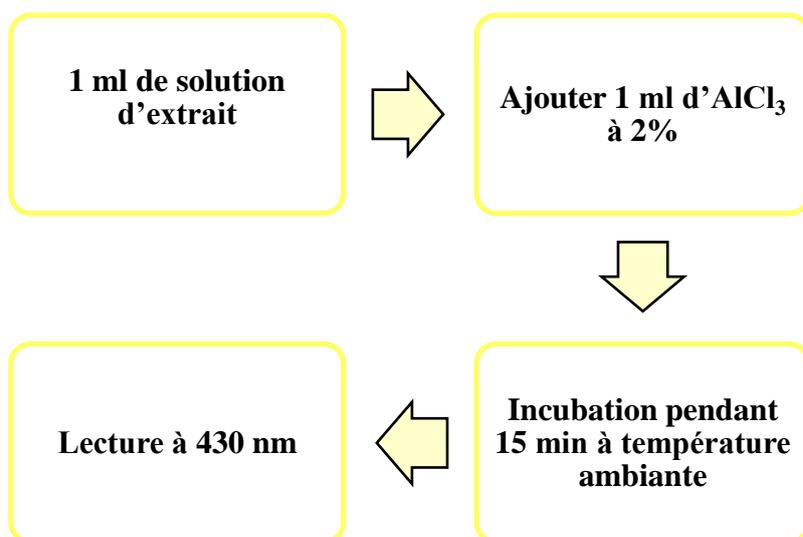


Figure 13: Protocole de dosage des flavonoïdes (Djeridane *et al.*, 2006).

c. Dosage des tannins condensés

Le dosage des tannins condensés est effectué par la méthode de la vanilline-HCl décrite par **Sun *et al.* (1998)**.

Principe

Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les premières unités des tannins condensés en présence d'acide, qui entraîne la formation d'un complexe coloré en rouge (**Ba *et al.*, 2010**).

Mode opératoire

Pour 0.2 ml de chaque solution des extraits, 1 ml de la solution fraîchement préparé de vanilline 1% (p/v) (Annexe 2) en acide acétique glacial et acide chlorhydrique (98:2, v/v) (Annexe 2) est ajouté. Après incubation à 30°C pendant 20 min, l'absorbance est mesurée à 510 nm par un spectrophotomètre UV-VIS (Figure 14). Le blanc de la réaction est réalisé avec l'eau distillée les mêmes réactions et conditions que les extraits. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

Les concentrations en tannins sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec la catéchine comme standard et exprimées en microgramme équivalent de catéchine par un milligramme de matière sèche ($\mu\text{g EC}/\text{mg de MS}$).

La gamme d'étalonnage a été réalisée avec différentes concentrations de catéchine (100 à 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) à partir d'une concentration mère de 1 mg/ml (Annexe 7; 8).

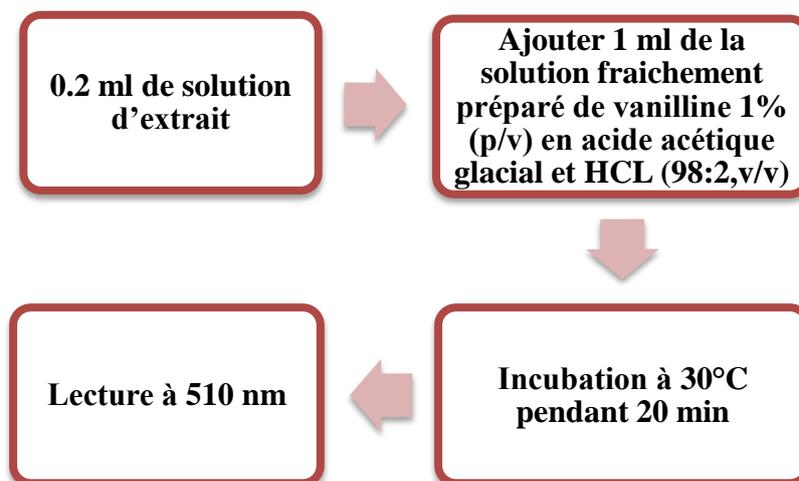


Figure 14: Protocole de dosage des tanins condensés (**Sun *et al.*, 1998**).

Chapitre II

Etude des Activités Biologiques

Chapitre II: Etude des Activités Biologiques

II. 1. Activité antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante de nos extraits, trois méthodes ont été utilisées :

II.1.1. Mesure du pouvoir anti-radicalaire par le test 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH)

Principe

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyle (DPPH[•]) est un radical libre relativement stable à température ordinaire, de couleur violette et qui présente une bande d'absorption maximale à 515 nm dans le méthanol. En présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), il est réduit en 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine (DPPH-H) et change de couleur en virant au jaune (Figure 15). La réduction du DPPH[•] est suivie par la mesure de la diminution de son absorbance à 515 nm (**Brand-Williams *et al.*, 1995**).

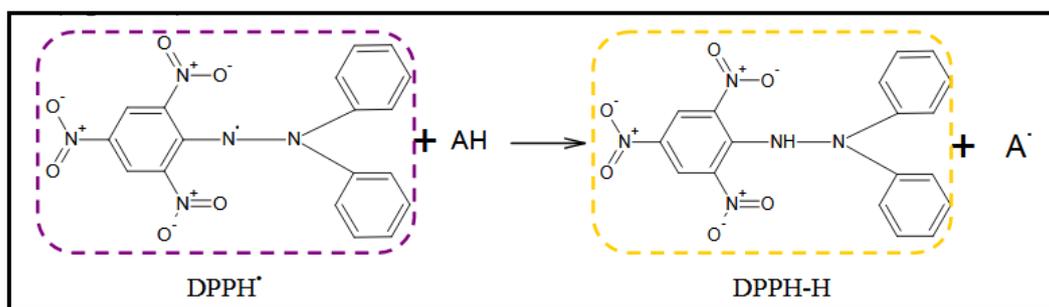


Figure 15: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH[•] et un antioxydant (AH) (**Michel, 2011**).

Mode opératoire

L'activité antiradicalaire a été mesurée via le test DPPH, en suivant la méthode de **Brand William *et al.* (1995)**.

A 50 µl d'extrait (des feuilles séchées à l'air libre, au soleil, à l'étuve et lyophilisé) préparé à différentes concentrations (Annexe 9 (Tableau 1)), 1,95 ml de réactif DPPH (Annexe 9) a été ajouté puis le mélange a été agité et incubé pendant 30 minutes à l'obscurité. Un contrôle négatif (blanc) est préparé avec 50 µl de méthanol et avec les mêmes étapes et conditions que les extraits. La lecture se fait au spectrophotomètre UV-VIS à 515 nm (Figure 16) contre une référence (le méthanol). Les résultats sont exprimés en triplicata.

Un témoin positif avec l'acide ascorbique à différentes concentrations (100 à 900µg/ml) est réalisé dans les mêmes conditions que les échantillons (Annexe 9 (Tableau 2)).

L'activité antioxydante de nos échantillons est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] en suivant l'équation :

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ échantillon) / Abs\ contrôle] \times 100$$

Où :

Abs contrôle : correspond à l'absorbance du contrôle.

Abs échantillon : correspond à l'absorbance de l'échantillon (le standard acide ascorbique ou les extraits).

La valeur d'IC50 a été déterminée pour chaque extrait et pour l'acide ascorbique. Elle est définie comme étant la concentration du substrat (extrait ou standard) responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH[•].

Les valeurs d'IC50 ont été calculées par les équations des régressions linéaires, où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés (extrait ou standard) et l'ordonnée par le pourcentage d'inhibition à l'aide du logiciel Excel 2007.

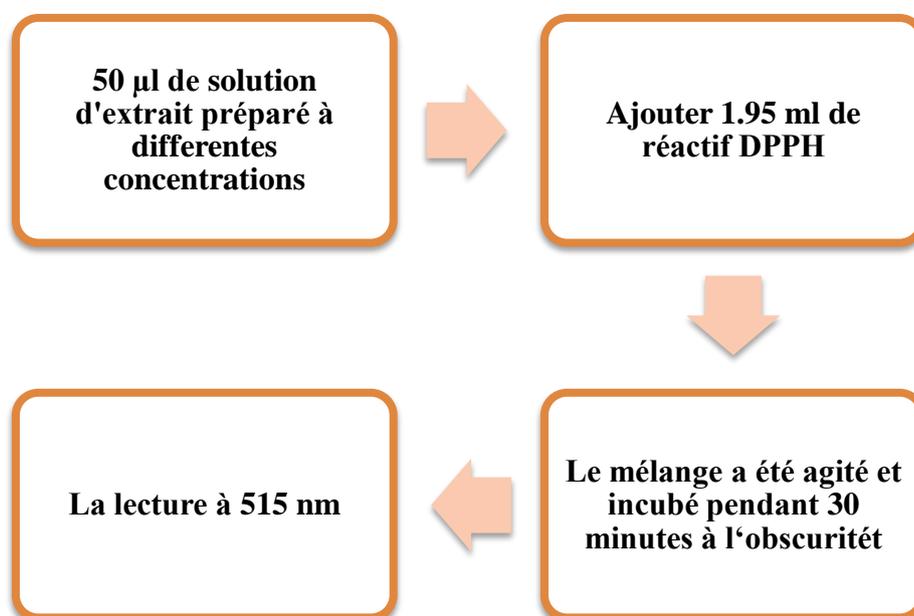


Figure 16: Protocole de l'activité anti radicalaire via le test DPPH (Brand William *et al.* 1995).

II.1.2. Test de l'acide 2, 2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline 6-sulfonique) (ABTS)

Principe

Le radical cation (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique) ($ABTS^{•+}$), de couleur bleu vert (absorbant à 734 nm), est formé par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS en présence de persulfate de potassium. L'addition d'un antioxydant (donneur de $H^•$) à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction. L'atome d'azote concerné piège un $H^•$, conduisant à l' $ABTS^+$, ce qui provoque la décoloration du mélange et une diminution de l'absorbance (Figure 17) (Hadjadj, 2017).

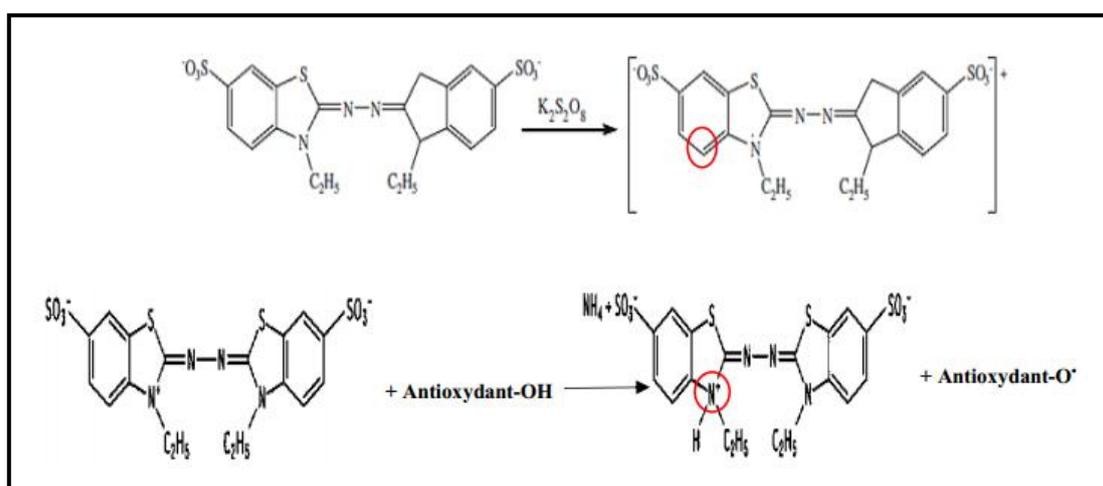


Figure 17: Génération et piégeage du radical $ABTS^{•+}$ par un antioxydant donneur du $H^•$ (Hadjadj, 2017).

Mode opératoire

La méthode utilisée a été celle décrite par Youmbai (2015). L'activité antioxydante a été mesurée en additionnant 100 μ l de chacun des extraits préparés à différentes concentrations (Annexe 9 (Tableau 1)) à 3.9 ml de la solution d'ABTS (Annexe 9). La lecture de l'absorbance a été faite, après 6 minutes de réaction à l'obscurité, au spectrophotomètre à 734 nm (Figure 18) en utilisant l'éthanol comme blanc. Les mesures sont répétées 3 fois.

Une gamme d'étalonnage (témoin positif) (Annexe 9 (Tableau3)) est préparée avec l'acide ascorbique à différentes concentrations (3.905 à 500 μ g/ml).

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) suivant l'équation :

$$I \% = [(Abs\ contr\ôle - Abs\ \acute{e}chantillon) / Abs\ contr\ôle] \times 100$$

Où :

Abs contrôle: correspond à l'absorbance du contrôle.

Abs échantillon: correspond à l'absorbance de l'échantillon (l'acide ascorbique ou les extraits).

La concentration des extraits et de l'acide ascorbique réduisant 50 % d'ABTS⁺⁺ (IC50) a été déterminée graphiquement par la régression linéaire à partir d'une courbe de pourcentage de réduction en fonction de la concentration à l'aide du logiciel Excel 2007.

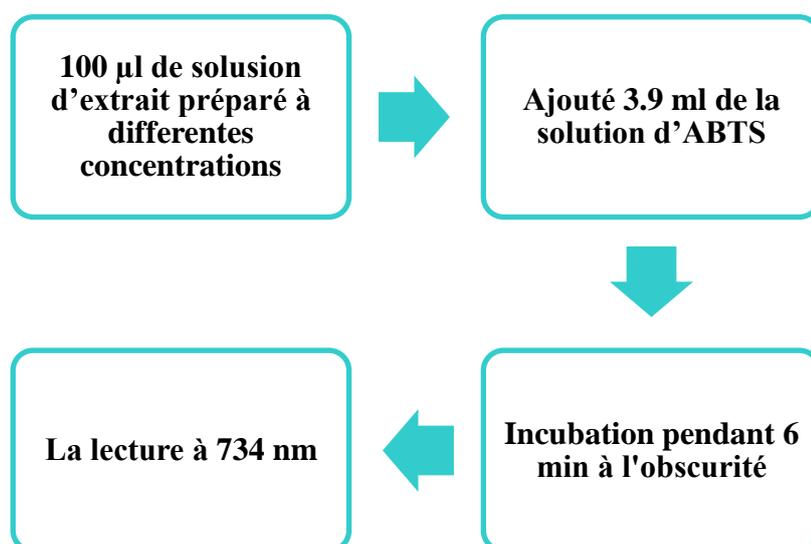


Figure 18: Protocole de l'activité anti radicalaire via le test ABTS (Youmbai, 2015).

II.1.3. Test du pouvoir réducteur (Ferric Reducing Antioxydant Power, FRAP)

Principe

Le pouvoir réducteur du fer est déterminé dans les différents extraits, selon la méthode de **Benzie et Strain (1996)** avec de légères modifications (**Jaitak et al., 2010**). Elle correspond à la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)] en un complexe tripyridyltriazine ferreux [(Fe(II)-TPTZ)] par un antioxydant (AH), à un pH de 3.6 pour maintenir la solubilité du fer (Figure 19). Lors de la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux une coloration bleue intense apparaît très rapidement avec un maximum d'absorption à 593 nm.

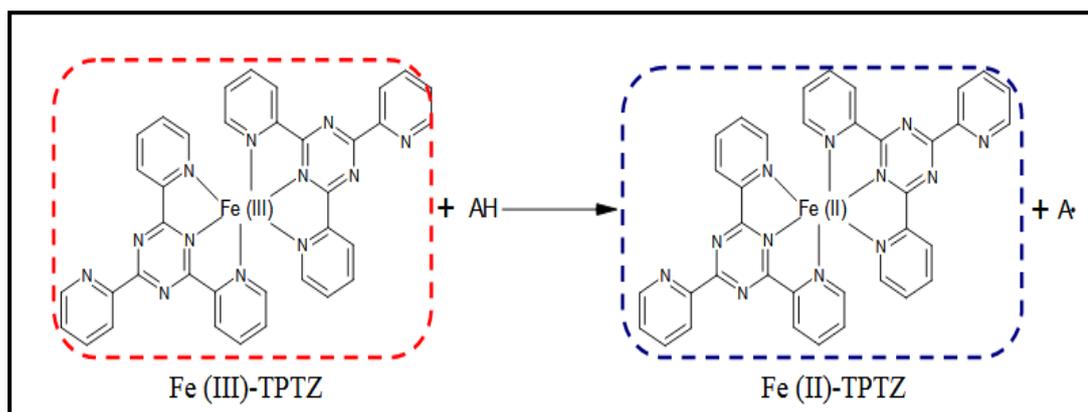


Figure 19: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)] et un antioxydant (AH) (Michel, 2011).

Mode opératoire

À 100 μ l de chaque extrait préparé à différentes concentrations (Annexe 9 (Tableau 1)), 1 ml de réactif FRAP (Annexe 9) a été ajouté. L'absorbance du mélange réactionnel a été ensuite enregistrée à 593 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS après 4 min d'incubation (Figure 20) contre un blanc (eau distillée). Toutes les mesures ont été effectuées en triple.

Les résultats sont exprimés en évaluant la variation des absorbances obtenues en fonction des concentrations testées des extraits et du standard (acide ascorbique).

La réduction du complexe ferrique en complexe ferreux est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide ascorbique et ainsi on exprime les résultats en microgramme équivalent de l'acide ascorbique par millilitre d'extrait (μ g EAA/ml d'extrait). La gamme d'étalonnage a été réalisée avec différentes concentrations d'acide ascorbique (3.125 à 100 μ g/ml) à partir d'une solution mère de 1 mg/5 ml et avec les mêmes étapes et conditions que les extraits (Annexe 9 (Tableau 4)).

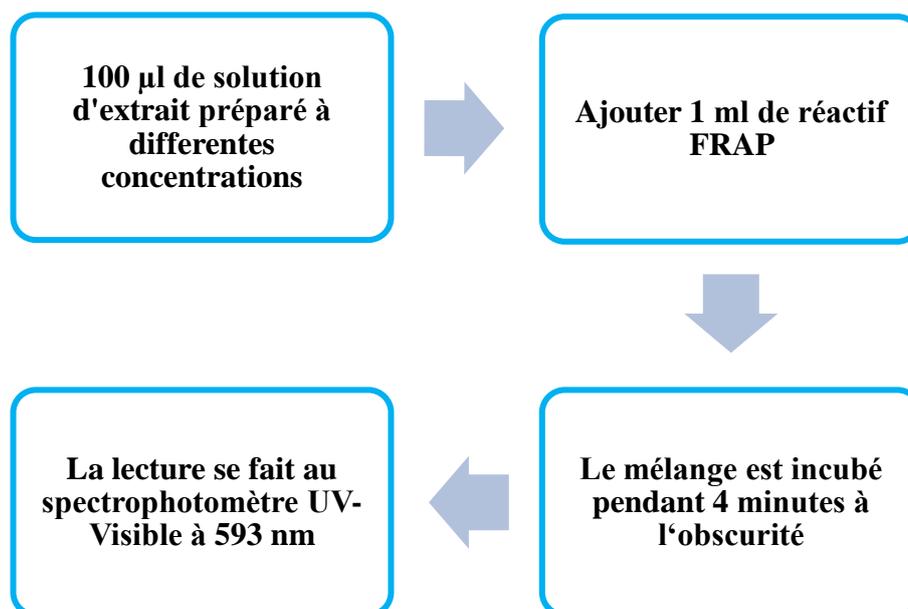


Figure 20: Protocole de l'activité anti radicalaire via le test FRAP (Jaitak *et al.*, 2010).

II.2. Activité antibactérienne

II.2.1. Souches bactériennes expérimentées

Le choix des bactéries a été porté sur trois souches fréquentes en pathologie humaine, ces souches ont été sélectionnées en fonction de leur pouvoir pathogène et leur résistance naturelle aux antibiotiques constituant ainsi un problème majeur de santé publique. Les souches bactériennes ont été fournies par le Laboratoire de l'Institut Pasteur à Alger.

- *Escherichia coli* ATCC 25922 ;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ;
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Une 4^{ème} bactérie est aussi utilisée *Streptococcus sp.* provienne du Laboratoire d'Analyse Médical -Metlili.

1. *Staphylococcus aureus*

Les Staphylocoques sont des bactéries sphériques (coques) aérobie-anaérobie facultative à Gram positif, très résistantes dans le milieu extérieur et peu exigeantes en culture. *S. aureus*, communément appelé Staphylocoque doré, est un staphylocoque à coagulase positive. C'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses. Si l'Homme est le principal réservoir, ces bactéries sont également retrouvées dans l'environnement (eau, air, surfaces, aliments) et chez l'animal (Couderc, 2015).

2. *Pseudomonas aeruginosa*

Ce bacille à Gram négatif, est un micro-organisme ubiquitaire hydrophile, vivant naturellement dans l'environnement. Son réservoir naturel et permanent est représenté par les sols humides, les végétaux et surtout par les eaux qu'elles soient douces, marines ou encore usées (**Bertrand et al., 2011**).

3. *Escherichia coli*

E. coli appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase. L'espèce *E. coli* est considérée comme un hôte normal, c'est-à-dire commensal, de la microflore digestive de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud (**Diallo, 2013**).

4. *Streptococcus sp.*

Le manuel de Bergey sur la bactériologie systématique décrit les Streptocoques comme des bactéries à Gram positif, catalase négative, anaérobie facultative formant des cellules ovoïdes ou sphériques de moins de 2µm de diamètre (**Du Gene, 2010**).

Ce sont des bactéries fragiles, et sont généralement parasites des muqueuses en particulier buccales, digestives et rhinopharyngées (**Du Gene, 2010**).

II.2.2. Test antibactérien par la méthode de l'antibiogramme

L'activité antibactérienne de nos différents extraits de feuilles de *M. oleifera* est évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par **Bolou et al. (2011)**.

Ce test consiste en l'application de disques imprégnés d'antibiotiques sur une gélose préalablement ensemencée par des bactéries. L'antibiotique va diffuser dans la gélose avec une concentration décroissante vers la périphérie. Dans la zone où la concentration est inhibitrice, on n'observera pas de croissance bactérienne. Avec la mesure du diamètre de la zone d'inhibition et grâce à des abaques (**Benabbou, 2012**). On pourra classer la bactérie en sensible (S ; > 6mm) ou résistante (R ; < 6mm).

II.2.2.1. Préparation des solutions à testés

Différentes concentrations des extraits (des feuilles de *M. oleifera* séchées à l'air libre, au soleil, à l'étuve et lyophilisé) à 3; 6; 9; 12 mg/ml ont été préparées avec de l'eau distillée stérile, puis ont été mis dans la hôte sous rayon UV pendant 20 à 30 minute.

II.2.2.2. Préparation des disques

Avec du papier Wattman N° 1, des disques de 6mm de diamètre ont été découpés, puis ils sont mis dans un petit flacon en verre et stérilisés dans de l'autoclave à 120 °C pendant 15min et conservés jusqu'à utilisation.

II.2.2.3. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture utilisé pour le test de l'activité antibactérienne est le milieu de culture standard Mueller-Hinton (Annexe 10). Après préparation et stérilisation à l'autoclave pendant 15 min à 120°C, le milieu a été versé dans des boites de pétri à environ à 4 mm de hauteur puis laisser quelques minutes jusqu'à la solidification.

II.2.2.4. Préparation de l'inoculum

Dans un milieu gélose nutritive (Annexe 10), les différentes souches bactériennes utilisées ont été préalablement repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 h afin d'obtenir une culture jeune, par la suite des colonies bien isolées qui ont servi à préparer l'inoculum ont été placé dans des tubes stériles contenant 9 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % (Annexe 10) pour chaque souche. Après homogénéisation, la densité optique des suspensions bactériennes a été ajustée entre 0.08 à 0.1 à 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, ce qui correspond à une densité cellulaire voisine à celle de 0,5 McFarland. On obtient alors d'inoculum estimé à 10^6 à 10^8 UFC/ml.

L'utilisation de l'inoculum (l'ensemencement) doit être faite dans les 15 min qui suivent sa préparation à température ambiante.

II.2.2.5. Ensemencement

Après l'ajustement de la densité de la suspension servant d'inoculum, un écouvillon stérile est trempé dans la suspension puis essoré en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum, puis son contenu est étalé à la

surface entière de la gélose Mueller-Hinton à trois reprises. Après chaque application, on a tourné la boîte de 60° environ en vue d'assurer une distribution homogène de l'inoculum des 4 souches bactériennes testées (*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *Streptococcus sp.*). A côté du bec benzène, des disques stériles ont été disposés à la surface du milieuensemencé puis 20 µl des différentes concentrations de nos 4 extraits (séché à l'air libre, au soleil, à l'étuve et lyophilisé) sont ensuite placés dans chaque disque. Les tests ont été répétés deux fois.

Des disques de l'antibiotique (Gentamicin, 10µg, Ampicilline 10 µg) ont été utilisé et déposé dans les boites de pétriensemencées comme un témoin positif.

II.2.2.6. Incubation

Les résultats de l'activité antibactérienne de nos extraits ont été observés après incubation pendant 18-24 heures à 37 C dans de l'étuve tout en mesurant à l'aide d'une règle (Pied à coulisse) les diamètres des zones d'inhibition des différentes concentrations des extraits et du témoin (antibiotique).

Partie III

Résultats et Interprétation

Chapitre I

Etude Phytochimique

Chapitre I: Etude Phytochimique

I.1. Analyse des quatre extraits de feuilles de *M. oleifera*

I.1.1. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction des feuilles de *M. oleifera* a été calculé par rapport au poids total (1g) de la poudre végétale utilisée. D'après les résultats obtenus, le rendement d'extraction varie de 23% à 28%, il dépend de la méthode de séchage des feuilles effectuée. Le tableau 3 renferme les caractéristiques des différents extraits brutes des feuilles de *M. oleifera*.

Tableau 3: Aspect, couleur et rendement d'extrait brute des quatre modes de séchage de feuilles de *M. oleifera*

Mode de séchage	L'aspect	La couleur	Rendement (%)
Air libre	Poudre	Marron foncé	26
Soleil	Poudre	Marron	23
Etuve	Poudre	Marron	27
Lyophilisé	Poudre	Marron	28

Tous les extraits obtenus présentent après leur séchage un aspect poudreux, de couleur marron à l'exception de l'extrait séchée à l'air libre où il présente une couleur marron foncé (Photo 9). Cela peut être dû à la durée de séchage des feuilles un peu longue.

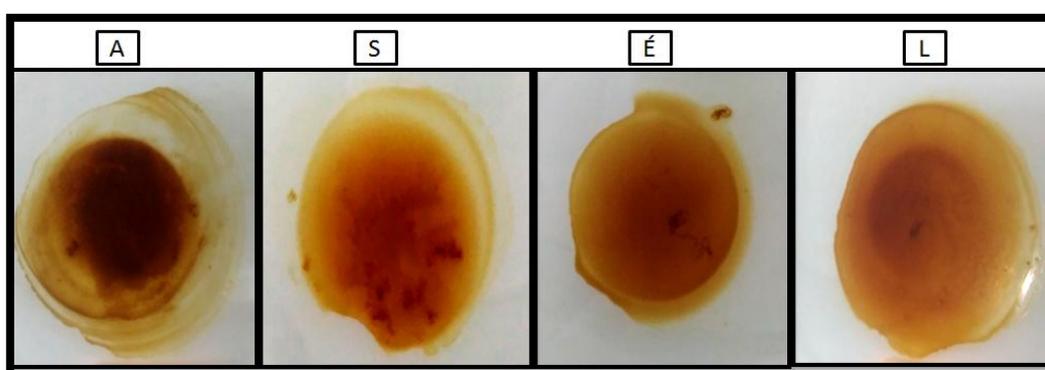


Photo 9: Aspect et couleur des quatre extraits de feuilles de *M. oleifera* après séchage (Original).

A: extrait des feuilles séchées à l'air libre ;

S: extrait des feuilles séchées au soleil ;

E: extrait des feuilles séchées à l'étuve ;

L: extrait des feuilles lyophilisées.

I.1.2. Analyse qualitative: Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Les résultats de ce criblage phytochimique sont reportés dans le tableau 4, ils révèlent la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires.

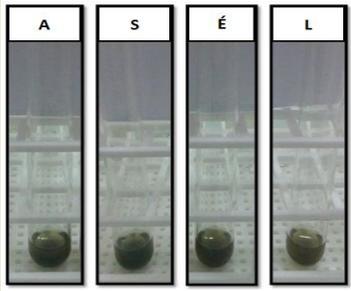
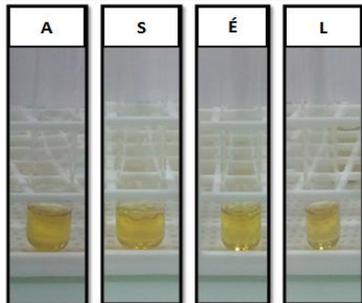
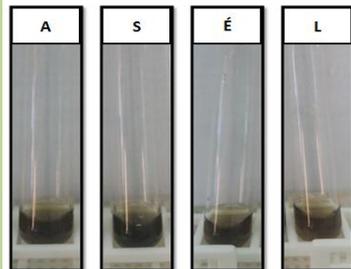
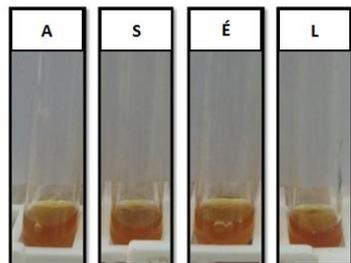
Tableau 4: Résultats des tests phytochimiques des quatre extraits de feuilles de *M. oleifera*.

Mode de séchage		Air libre	Soleil	Etuve	Lyophilisé
Métabolite secondaire					
Composés phénoliques		+	+	+	+
Flavonoïdes		+	+	+	+
Tanins		+	+	+	+
Alcaloïdes	Mayer	-	-	-	-
	Dragendorff	+	+	+	+
Terpénoïdes		+	+	+	+
Composés réducteurs		+	+	+	+
Saponines		+	+	+	+
Quinines		-	-	-	-
Stéroïdes		+	+	+	+
Glycosides cardiaques		+	+	+	+
Anthocyanidines		+	+	+	+

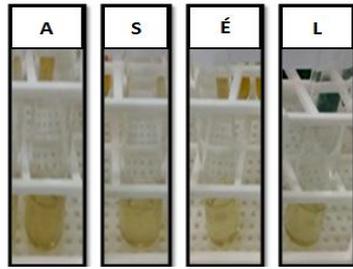
(+) : Indique la présence

(-): Indique l'absence

Le screening phytochimique des feuilles de *M. oleifera* séchées par différentes méthodes a mis en évidence la présence de plusieurs composés chimiques, il s'agit des composés phénoliques, des flavonoïdes, des tannins, des alcaloïdes (avec le test de Dragendorff), des terpénoïdes, des composés réducteurs, des saponines, des stéroïdes, des glycosides cardiaques, ainsi des anthocyanidines. Pour les quinones et les alcaloïdes (le test Mayer) une réaction négative est produite (Figure 21).

Test	Observation	Résultats
Polyphénols		L'apparition d'une coloration verte légèrement foncée traduit la présence de polyphénols dans tous les extraits.
Flavonoïdes		Une transformation de la couleur des solutions en jaune à orange a été remarquée, ce qui indique la présence des flavonoïdes dans les 4 extraits de notre plante.
Tannins		L'apparition d'une coloration bleu verdâtre dans tous nos extraits confirme la présence de tannins catéchiques dans notre plante.
Alcaloïdes :		
Test Dragendorff		Le criblage des alcaloïdes a été réalisé par le test du réactif de Dragendorff, la formation d'une couleur orange au niveau de tous nos extraits traduit la présence des

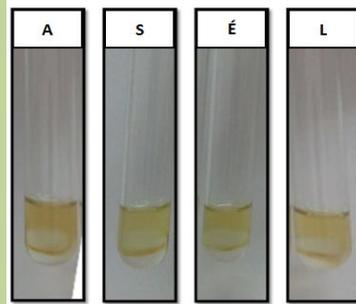
Test Mayer



alcaloïdes.

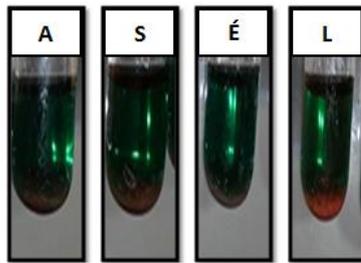
- Alors que les résultats obtenus par le test du réactif de Mayer dans les quatre extraits indiquent une réaction négative par ce test.

Terpénoïdes



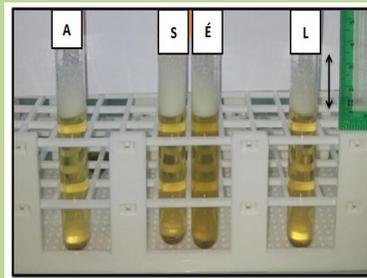
La formation de deux phases et un anneau de couleur marron à l'interphase est observée dans les différents extraits, traduisant ainsi la présence de terpénoïdes solubilisés par notre solvant d'extraction.

Composés réducteurs



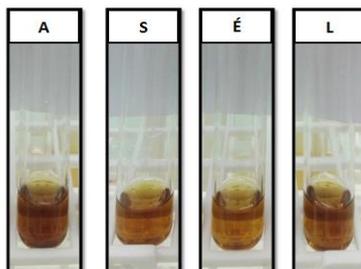
La formation d'une précipitation rouge-brique, signifie que tous nos extraits contiennent des composés réducteurs.

Saponines



L'apparition d'un mousse persistant et supérieur à 1 cm, indique la présence des saponines dans tous les extraits.

Quinones



La figure laisse constater que l'absence de couleur rouge indique que les 4 extraits ne contiennent pas de quinones.

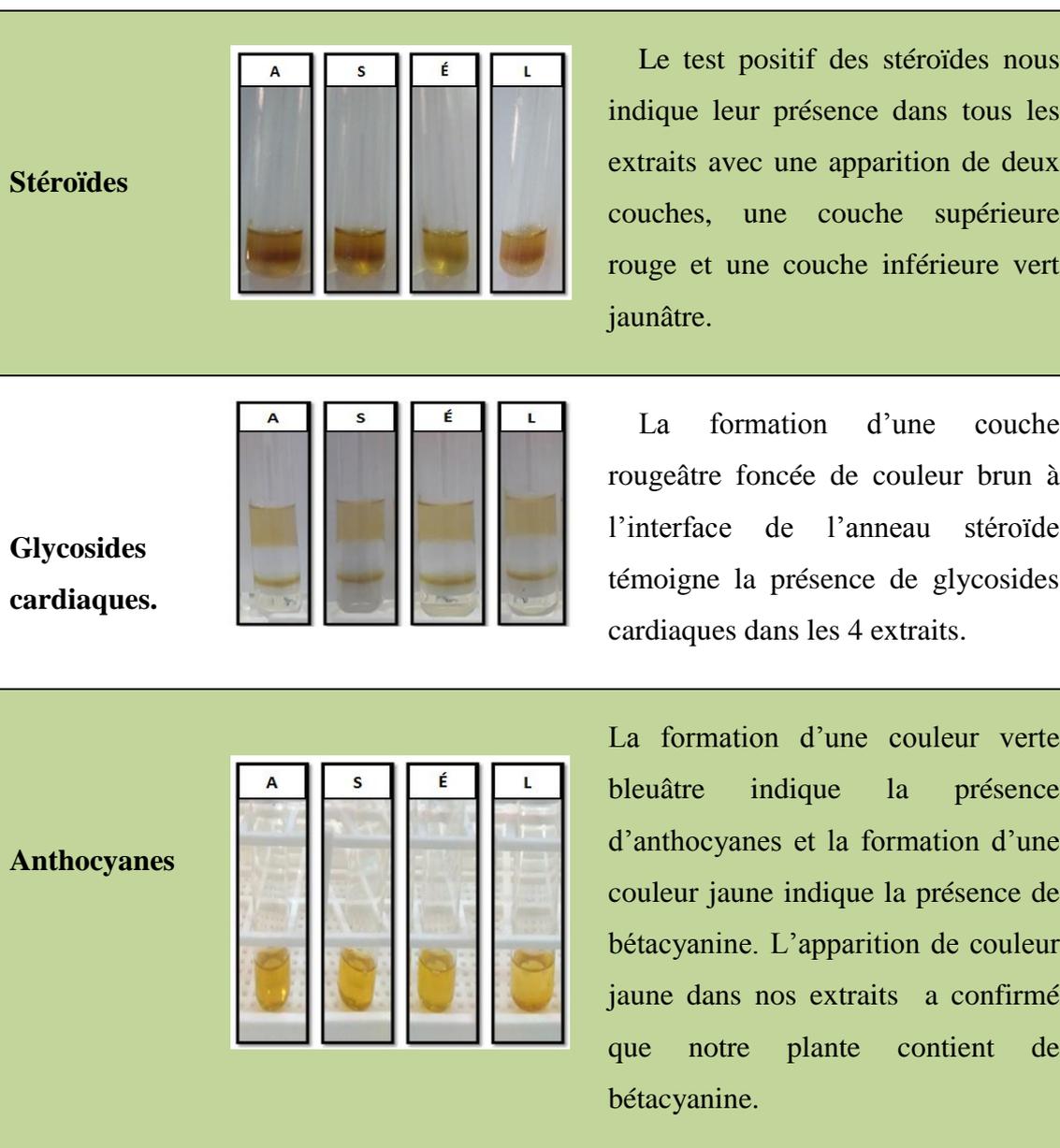


Figure 21 : Résultats des tests du criblage phytochimique de quelques métabolites secondaires de quatre extraits de feuilles de *M. oleifera*.

A: extrait des feuilles séchées à l'air libre ;

S: extrait des feuilles séchées au soleil ;

E: extrait des feuilles séchées à l'étuve ;

L: extrait des feuilles lyophilisées.

I.1.3. Analyse quantitative

Afin de caractériser quantitativement les différentes fractions préparées à partir des extraits bruts, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes et tanins condensés a été effectué. Les résultats du dosage sont rassemblés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Teneurs en composés phénoliques dans les quatre extraits de feuilles de *M. oleifera*.

	Concentration des extraits ($\mu\text{g/ml}$)	Polyphénols (a)	Flavonoïdes (b)	Tannins condensés (c)
Mode de séchage	Étuve	54.57	185	154
	Soleil	52.57	182	62.33
	Air libre	44	158.5	45.67
	Lyophilisé	41.14	108.5	87.33

(a) exprimée en μg EAG/mg de MS; (b) exprimée en μg ER/mg de MS; (c) exprimée en μg EC/mg de MS.

I. 1.3.1. Teneur en polyphénols totaux

L'estimation des teneurs en polyphénols totaux a été effectuée par la méthode spectrophotométrique en utilisant le Folin-Ciocalteu (760nm). Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent de l'acide gallique par milligramme de la matière sèche (μg EAG/mg MS) (Annexe 3), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (Annexe 4).

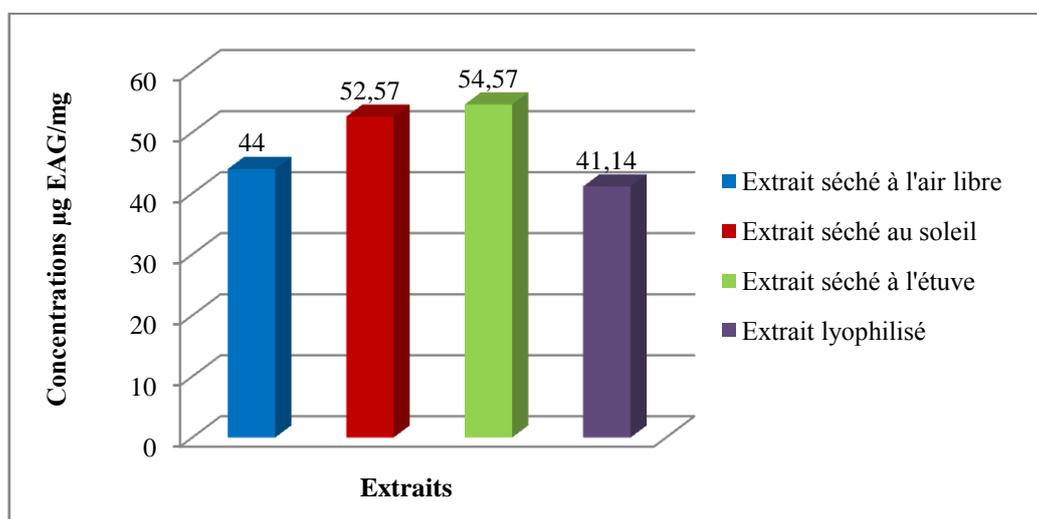


Figure 22: Teneurs en polyphénols totaux des quatre extraits de feuilles de *M. oleifera*.

A partir des résultats obtenus (Figure 22), nous avons observé des teneurs variées en polyphénols dans les différents extraits des feuilles de la plante étudiée.

La teneur la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait des feuilles séchées à l'étuve (54.57 μg EAG/mg MS). Cependant dans l'échantillon des feuilles séchées au soleil la valeur des polyphénols est de 52.57 μg EAG/mg MS. Pour l'échantillon des feuilles séchées à l'air libre, la teneur obtenue est de 44 μg EAG/mg MS, alors que la valeur la plus faible est enregistrée dans l'extrait des feuilles lyophilisées avec 41.14 μg EAG/mg MS. Cela semble évident étant donné que les polyphénols constituent des composés polaires grâce à leur groupements hydroxyles et donc sont solubles dans les solvants polaires (Ignat *et al.*, 2011).

I.1.3.2. Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes dans les quatre extraits était déterminé en suivant la méthode spectrophotométrique avec le trichlorure d'aluminium (à 430 nm). Le contenu des flavonoïdes a été exprimé en microgramme équivalent de rutine par milligramme de matière sèche (μg ER/mg MS) (Annexe 5) tout en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par la rutine (Annexe 6).

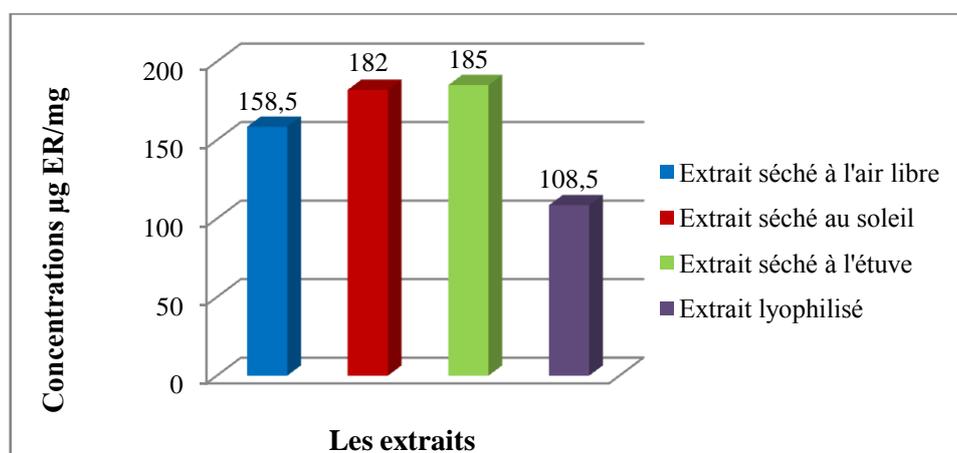


Figure 23: Teneurs en flavonoïdes des quatre extraits de feuilles de *M. oleifera*.

Selon les résultats obtenus (Figure 23), on remarque que la concentration en flavonoïdes varie en fonction du type d'extrait. Elle varie de 185 μg ER/mg MS obtenue dans l'extrait des feuilles séchées à l'étuve à 108.5 μg ER/mg MS dans l'échantillon des feuilles lyophilisées. Alors que l'échantillon des feuilles séchées au soleil présente une valeur en flavonoïdes 182 μg ER/mg MS et l'échantillon des feuilles séchées à l'air libre a une concentration de 158.5 μg ER/mg MS. Cela serait dû au fait que les flavonoïdes sont de très petites molécules très polaires, résultant de

leur richesse en groupements hydroxyles, donc se solubilisent dans les solvants polaires (Pietta, 2000; Bimakr *et al.*, 2011).

I.1.3.3. Teneur en tannins condensés

Le contenu en tannins condensés a été estimé par la méthode spectrophotométrique de la vanilline-HCL (à 510 nm). Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent de catéchine par milligramme de matière sèche ($\mu\text{g EC/mg MS}$) (Annexe 7) tout en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la catéchine (Annexe 8).

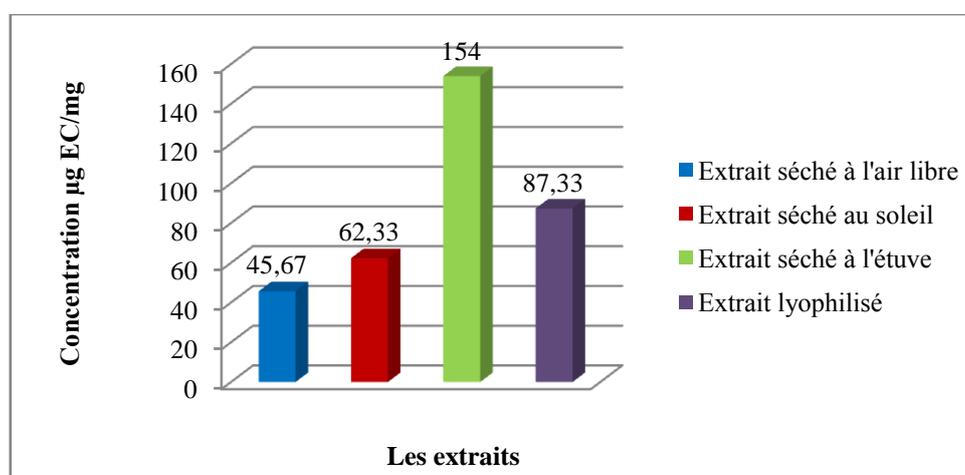


Figure 24 : Teneurs en tannins condensés des quatre extraits de feuilles de *M. oleifera*.

D'après les résultats présentés dans la figure 24, la teneur en tannins condensés la plus élevée est enregistrée dans l'extrait des feuilles séchées à l'étuve ($154\mu\text{g EC/mg MS}$) suivi par l'extrait des feuilles lyophilisées avec une teneur de $87.33\mu\text{g EC/mg MS}$. Alors que pour l'extrait qui résulte du séchage des feuilles au soleil, une concentration de $62.33\mu\text{g EC/mg MS}$ a été obtenue. L'extrait des feuilles séchées à l'air libre présente la faible teneur en tannins condensé de $45.67\mu\text{g EC/mg MS}$. Ce là pourrait être dû à la nature biochimique des tannins condensés qui sont des polymères riches en groupements hydroxyles qui sont solubles dans les solvants polaires (Schofield *et al.*, 2001).

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures

(la température élevée, l'exposition solaire, la sécheresse, la salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (Falleh *et al.*, 2008).

I.1.3.4. Comparaison des teneurs des composés phénoliques

D'après les résultats précédents, on constate que dans tous les extraits obtenues par les différentes méthodes de séchage, la teneur en flavonoïdes est supérieure que celle des tannins condensés. Ceci est logique étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des composés phénoliques. Alors que les concentrations en polyphénols ont été les plus faibles par rapport aux autres composés (Figure 25).

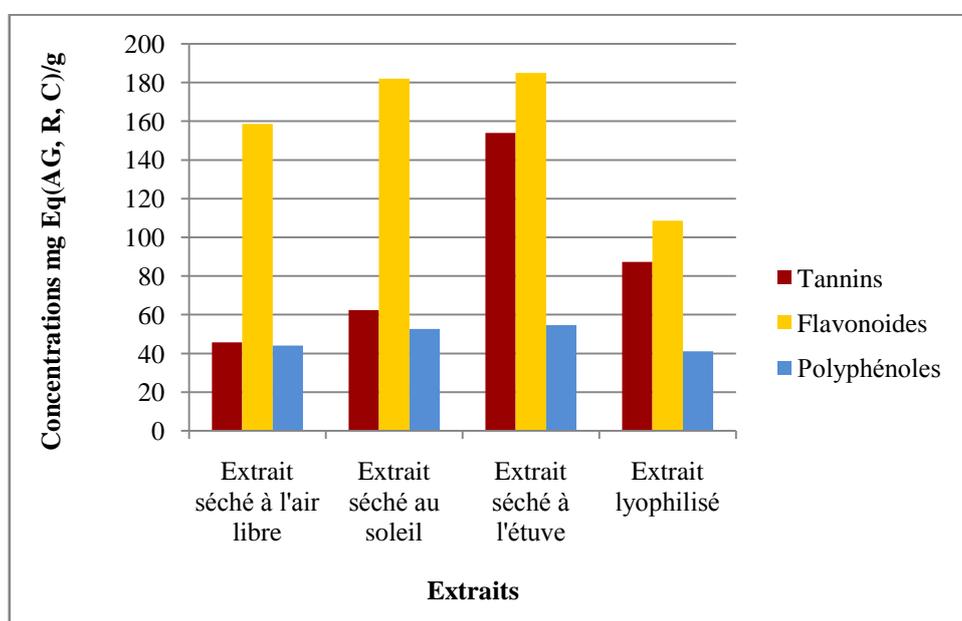


Figure 25 : Comparaison des teneurs des composés phénoliques.

A travers les résultats de dosage des composés phénoliques, l'extrait des feuilles séchées à l'étuve présente toujours les meilleurs résultats, suivie par l'extrait des feuilles séchées au soleil, à l'air libre puis lyophilisées sauf pour les tannins où l'extrait lyophilisé présente une teneur légèrement élevée par rapport à l'extrait des feuilles séchées à l'air libre.

Les résultats obtenus par l'étude phytochimique et le dosage des composés phénoliques nous a donné une bonne prévision concernant l'activité biologique de la plante, elle reste encourageante surtout que ces composés phytochimique dont on a prouvés leur présence sont connus par leurs effets pharmacologiques et d'être impliqués dans de nombreuses activités biologiques.

Chapitre II

Etude des Activités Biologiques

Chapitre II. Etude des Activités Biologiques

II.1. Activité antioxydante

Les résultats d'une seule méthode ne donnent que des suggestions réduites sur les propriétés antioxydants des extraits. La combinaison de plusieurs techniques complémentaires, associant des mécanismes différents serait idéale pour une évaluation efficace et complète des potentiels antioxydants chez une ou plusieurs espèces. Pour cela, trois méthodes sont employées: test DPPH, ABTS et FRAP.

II.1.1. Test du pouvoir antiradicalaire du DPPH

L'activité antiradicalaire des différents extraits a été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH, mesurée à 517 nm.

L'activité antioxydante des extraits de feuilles de *M. oleifera* séchées par différentes méthodes ainsi que les standards (acide ascorbique) est illustrée dans les figure 26; 27.

Une augmentation du pourcentage d'inhibition de DPPH^{*} a été observée avec l'augmentation des concentrations des extraits. D'après les figures ci-dessous, on constate qu'à une concentration de 1000 µg/ml une activité antiradicalaire de 9.25% a été obtenue chez l'extrait des feuilles séchées à l'étuve, suivie par l'extrait des feuilles séchées au soleil avec un taux de 6.71% pour cette même concentration. L'extrait des feuilles lyophilisées a présenté un pourcentage de 5.74%, alors que l'extrait des feuilles séchées à l'air libre a donné l'activité antiradicalaire la plus faible 4.68% toujours avec cette même concentration

Le taux d'inhibition obtenu avec l'acide ascorbique est de 90.98% (900 µg/ml) qui reflète une activité supérieure à celle notée avec nos échantillons.

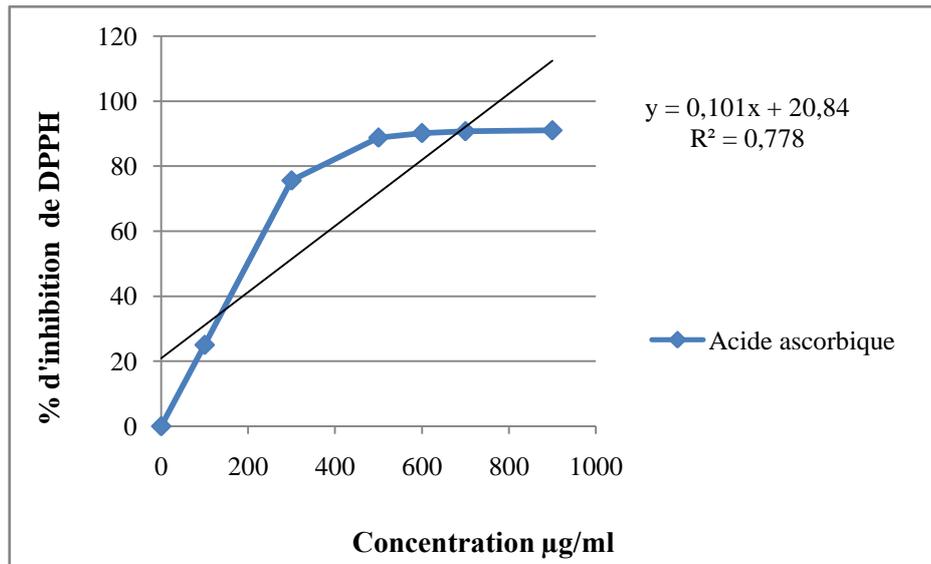


Figure 26 : Taux d'inhibition de DPPH* par différentes concentrations de l'acide ascorbique.

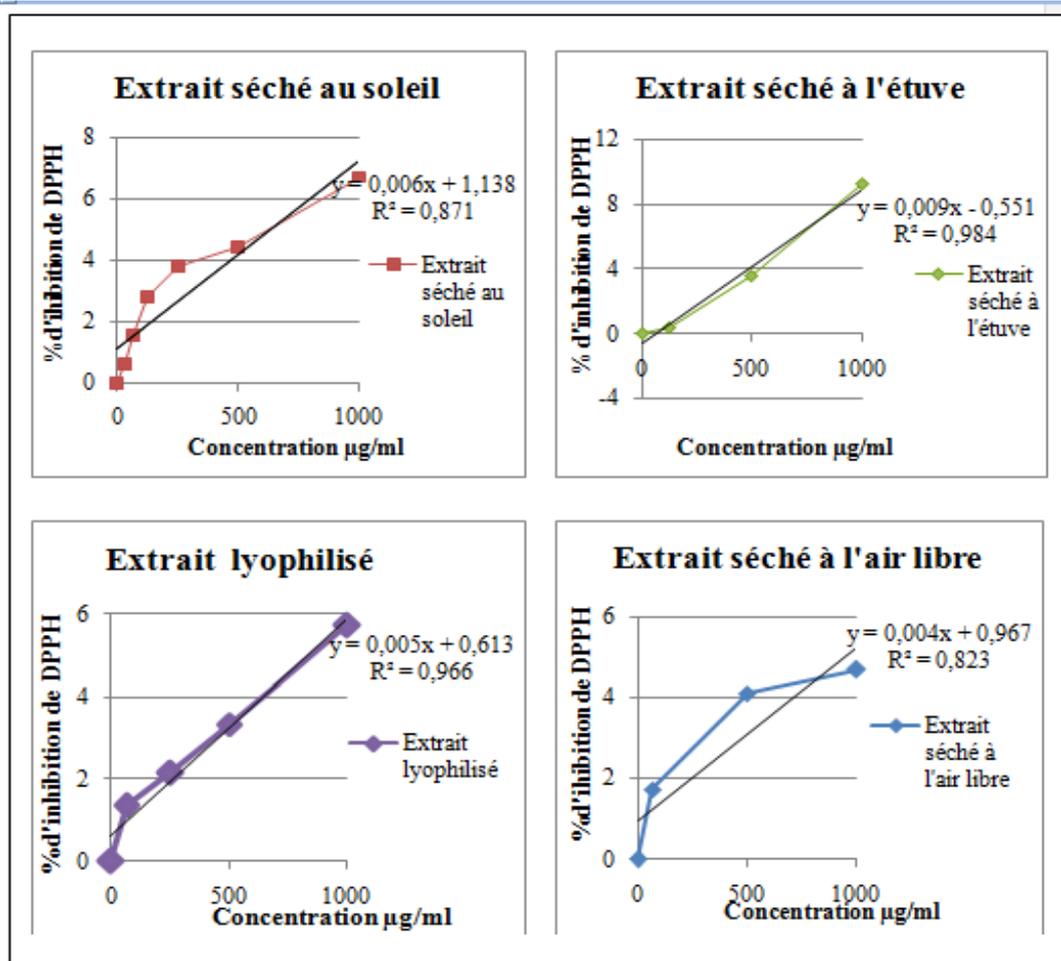


Figure 27: Taux d'inhibition de DPPH* par différentes concentrations des extraits.

Les valeurs de l'IC50 sont présentées dans la figure 28 et calculées à partir des courbes de tendance exprimée en $\mu\text{g/ml}$. Ces valeurs sont inversement liées à la capacité antioxydante d'un composé (une valeur plus faible de l'IC50 indique une activité antioxydante plus élevée), car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%.

Le standard (acide ascorbique) utilisé montre une activité antiradicalaire puissante avec des IC50 de l'ordre de 288.71 $\mu\text{g/ml}$.

Parmi les quatre extraits de feuilles de *M. oleifera*, l'extrait des feuilles séchées à l'étuve représente l'extrait le plus actif avec une IC50 de l'ordre de 5616.78 $\mu\text{g/ml}$ suivi par l'extrait des feuilles séchées au soleil avec une IC50 de 8143.67 $\mu\text{g/ml}$. L'extrait des feuilles lyophilisées a présenté une IC 50 de 9877.4 $\mu\text{g/ml}$, alors que l'IC50 la plus faible a été enregistrée avec l'extrait des feuilles séchées à l'air libre avec une IC50 de l'ordre de 12258.25 $\mu\text{g/ml}$.

Nos extraits présentent une activité antioxydante importante, alors que l'acide ascorbique possède une activité antiradicalaire très élevée par rapport à nos extraits, car ce standard est un antioxydant très puissant. De ce fait l'extrait des feuilles séchées à l'étuve et au soleil présente le meilleur IC50 par rapport aux autres extraits et cela peut être dû au fait que ces extraits ont présentés les teneurs en composés phénoliques les plus élevées.

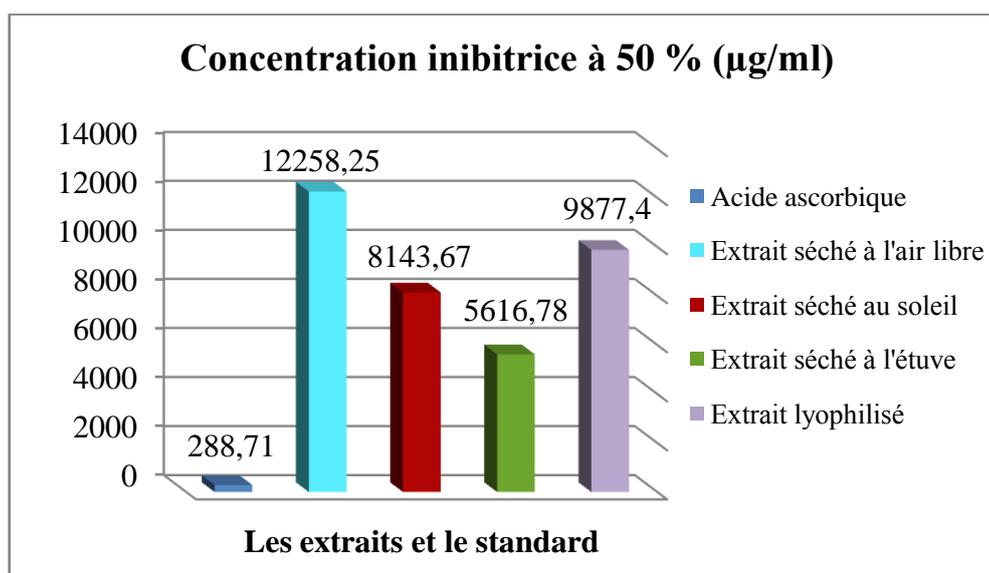


Figure 28: Concentration inhibitrice à 50 % ($\mu\text{g/ml}$) pour le test DPPH de l'acide ascorbique et les quatre extraits des feuilles de *M. oleifera*.

II.1.2. Activité antiradicalaire par le test ABTS

L'activité antiradicalaire de nos quatre extraits est également étudiée en utilisant le test ABTS. Ce dernier est formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleu, mesurée à 734 nm.

L'ajout de l'extrait ou de l'acide ascorbique entraîne une décoloration de la solution indiquant ainsi l'existence d'une activité antioxydante des échantillons. Le taux d'inhibition de l'ABTS^{•+} est calculé en fonction des différentes concentrations de chaque échantillon testé (Figure 29).

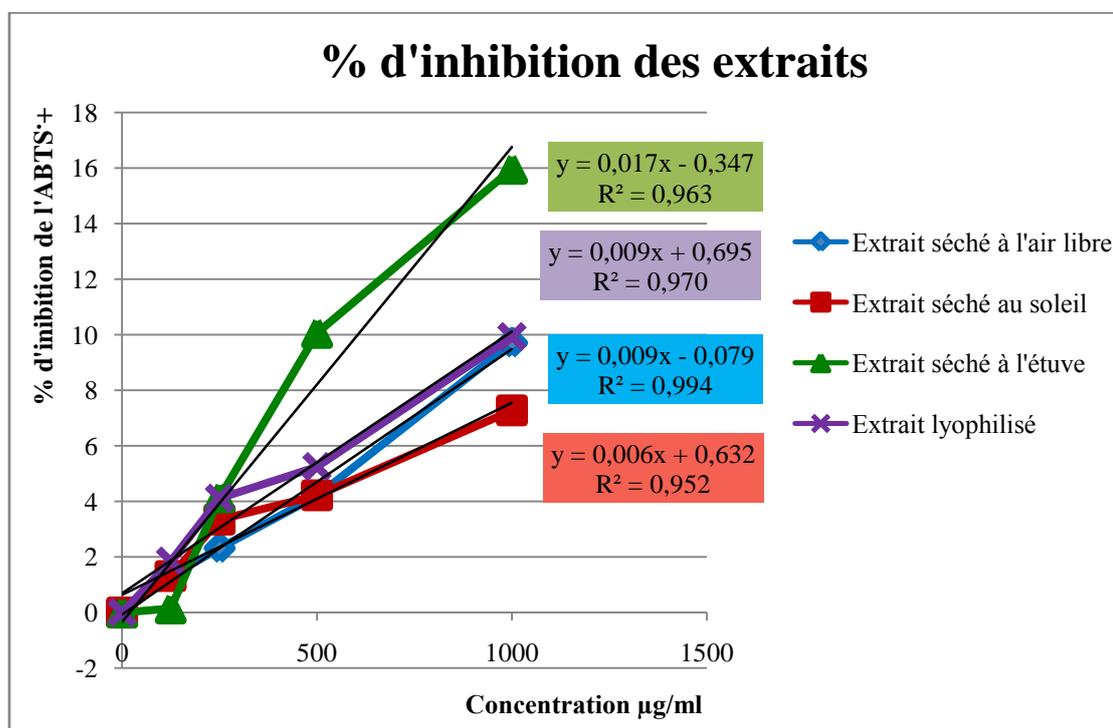


Figure 29: Taux d'inhibition de l'ABTS^{•+} par différents concentration des extraits de feuilles de *M. oleifera*.

Les résultats obtenues montrent qu'une activité antiradicalaire importante a été obtenue dans l'extrait des feuilles séchées à l'étuve avec un pourcentage d'inhibition de 15.98% qui est supérieure au pourcentage d'inhibition de l'extrait des feuilles obtenues par lyophilisation avec 9.93%, au pourcentage d'inhibition des extraits des feuilles séchées à l'air libre et au soleil avec 9.71% et 7.27% respectivement. Ces pourcentages des extraits sont obtenus avec la concentration de 1mg/ml (1000 µg/ml).

Pour l'acide ascorbique, un pourcentage d'inhibition de 91.88 % est obtenu avec la concentration de 500 µg/ml qui est supérieur au pourcentage d'inhibition de tous les extraits (Figure 30).

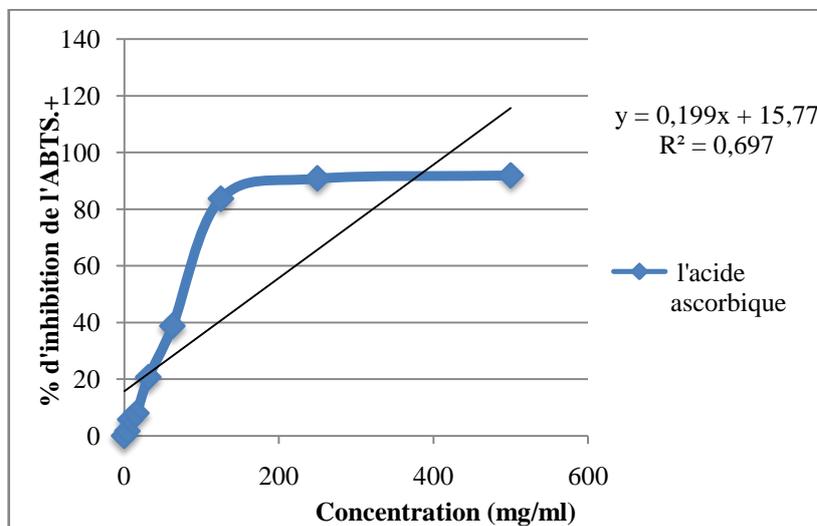


Figure 30: Taux d'inhibition de l'ABTS⁺ par différentes concentrations de l'acide ascorbique.

La valeur de l'IC50 exprimée en µg/ml a été déterminée à partir de la droite de régression de pourcentage d'inhibition en fonction de concentration de l'acide ascorbique (Figure 31).

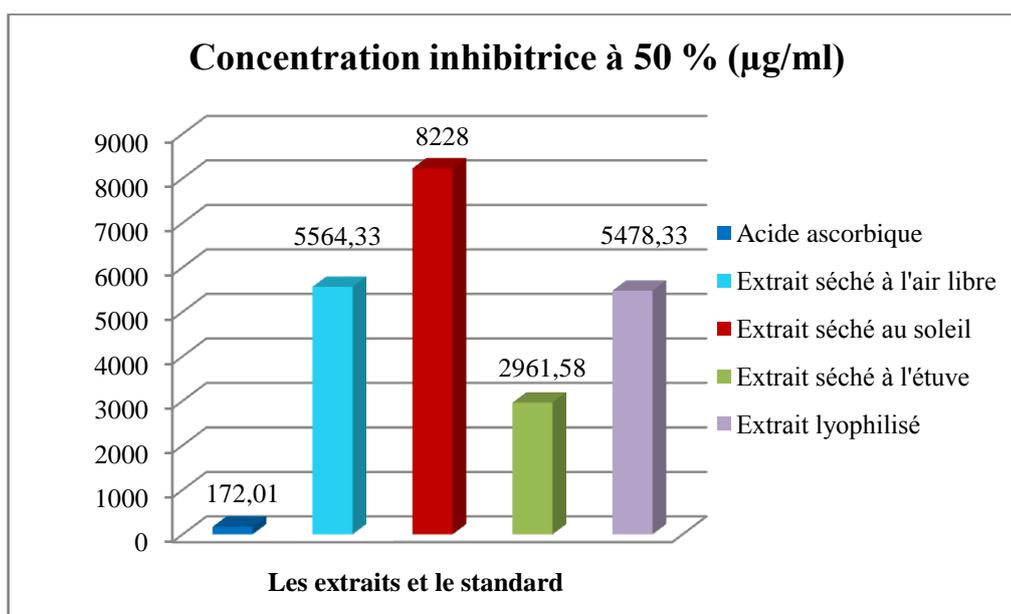


Figure 31 : Concentration inhibitrice à 50 % (µg/ml) pour le test ABTS de l'acide ascorbique et les quatre extraits des feuilles de *M. oleifera*.

Nos résultats révèlent que l'extrait des feuilles séchées dans l'étuve est le plus actif avec une valeur d'IC50 de l'ordre de 2961,58 µg/ml, suivi par les extraits des feuilles séchées par lyophilisation et l'air libre avec une valeur d'IC50 plus proche de 5478,33 µg/ml et 5564,33 µg/ml respectivement, tandis que l'extrait des feuilles séchées au soleil présente la faible activité avec une valeur d'IC50 de 8228 µg/ml.

Cette activité est inférieure à celle de l'acide ascorbique qui présente une IC50 égale à 172,01 µg/ml. Ce dernier reste toujours l'antioxydant le plus puissant du fait qu'il possède une activité antiradicalaire très élevée par rapport aux activités des quatre extraits malgré que ces derniers possèdent des activités antiradicalaire considérables.

Les résultats obtenus par les deux tests (DPPH, ABTS) ont montré nettement la capacité riche de nos quatre échantillons de posséder une propriété antioxydante intéressante.

L'activité antioxydante dépend de plusieurs facteurs, telle que: la concentration des extraits, la méthode d'évaluation, la sensibilité des antioxydants à la température de l'essai et la nature hydrosoluble ou liposoluble de l'antioxydant (**Ghedadba et al., 2015**).

II.1.3. Test du pouvoir réducteur du fer (FRAP)

L'activité antioxydante est déterminée par la mesure de la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}), mesurée à 593 nm.

Les extraits des feuilles séchées par différentes méthodes et le standard présentent une activité antioxydante via ses capacités réductrices du fer (Figure 32; Figure 33), dont une élévation de la valeur d'absorbance enregistrée est accompagnée proportionnellement avec l'augmentation de la concentration, ce qui est expliqué par un développement de la réduction du fer dans le milieu réactionnel. L'extrait des feuilles séchées à l'étuve a la meilleure capacité de réduction de fer.

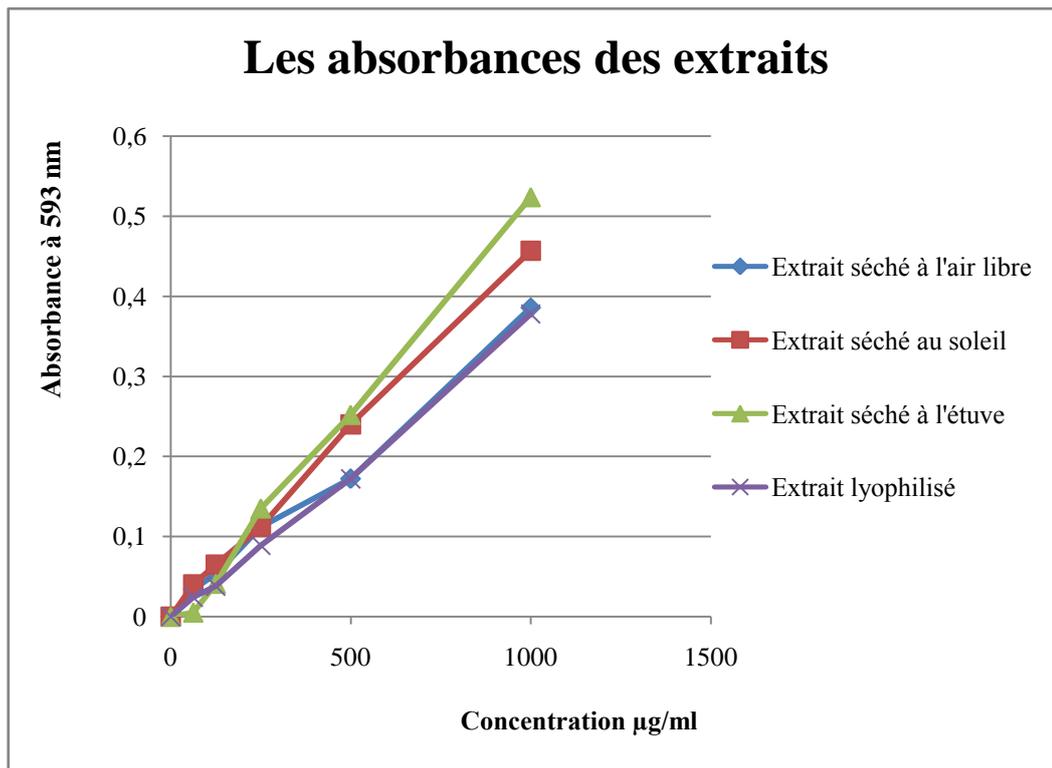


Figure 32: Le pouvoir réducteur des quatre extraits

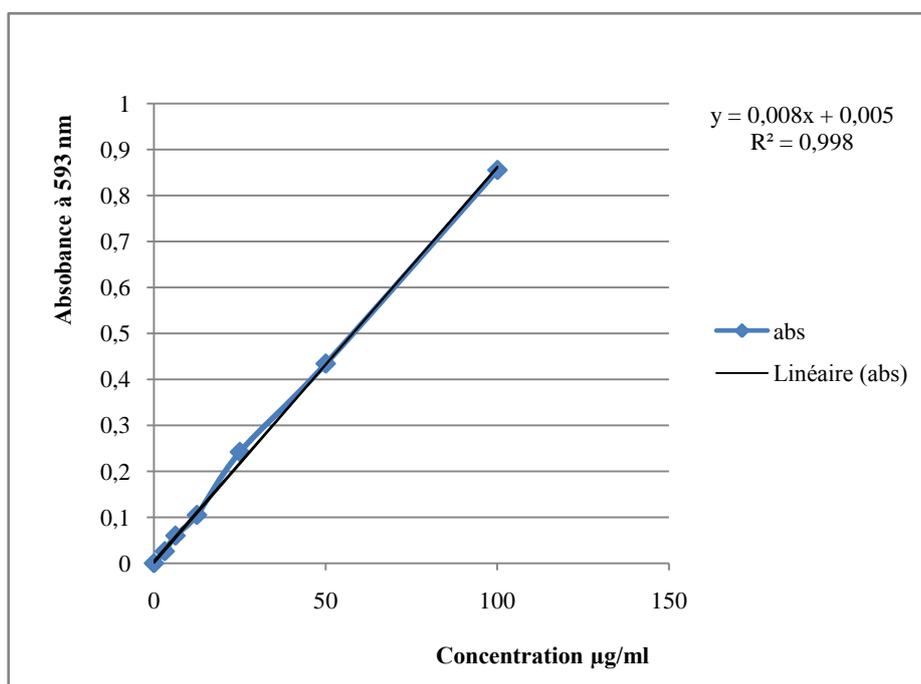


Figure 33: La gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique du test du (FRAP).

La concentration des composés réducteurs (antioxydants) dans l'extrait est exprimée en microgramme équivalent d'acide ascorbique par millilitre d'extrait (µg EAA/ml d'extrait) à partir de la droite de régression linéaire de l'acide ascorbique.

D'après la figure 34, l'extrait des feuilles séchées à l'étuve donne une réduction des ions ferriques en ions ferreux la plus élevée et qui est de l'ordre de 30.88 μg EAA/ml d'extrait en confirmant ainsi les résultats des tests de DPPH et de l'ABTS. Par la suite on trouve l'extrait des feuilles séchées au soleil avec une réduction de 29.38 μg EAA/ml, suivi par les deux extraits des feuilles séchées par lyophilisation (22 μg EAA/ml) et à l'air libre (20.88 μg EAA/ml). Ces valeurs des extraits sont obtenues avec la concentration de 1mg/ml (1000 μg /ml).

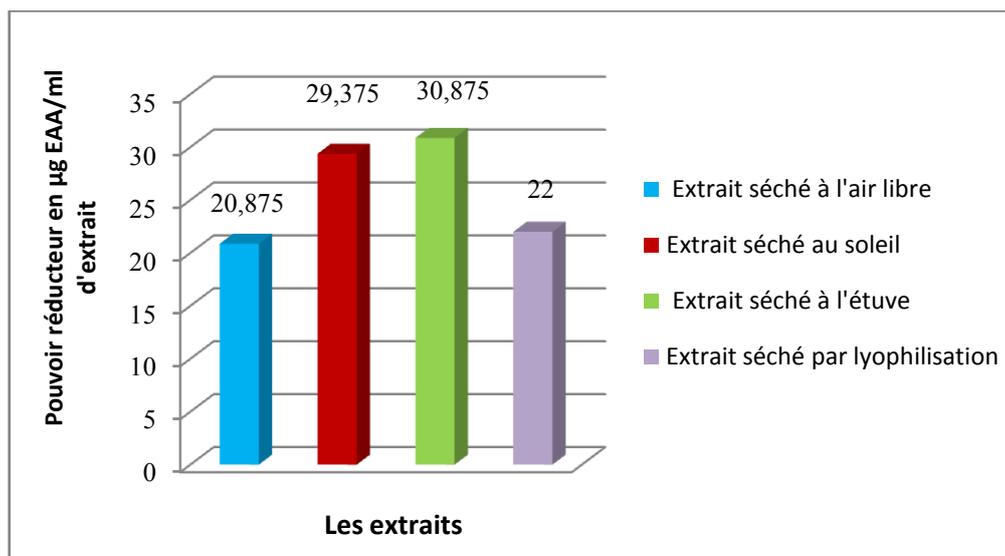


Figure 34: Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de feuilles de *M. oleifera* par la méthode FRAP (exprimée par μg EAA/ml d'extrait).

Ces résultats sont interprétés par la richesse de ces extraits en composés phénoliques surtout pour les extraits des feuilles séchées à l'étuve et au soleil où ils ont présenté des teneurs en composés phénoliques et des activités inhibitrices plus élevées par rapport aux deux autres extraits. On peut déduire alors de ce test aussi que les polyphénols notamment les flavonoïdes jouent un rôle très important dans la chélation des métaux de transition impliqués dans la réaction de Fenton (formation de radicaux hydroxyles résultant de la réaction du fer avec le peroxyde d'hydrogène) (Ghedadba *et al.*, 2015).

D'après nos résultats, les quatre extraits des feuilles séchées par différentes méthodes présentent une activité antioxydante confirmée par les trois tests (DPPH, ABTS, FRAP) suivant l'ordre: extrait des feuilles séchées à l'étuve, au soleil, des feuilles lyophilisées et enfin l'extrait des feuilles séchées à l'air libre. À l'exception dans le test

d'ABTS où l'échantillon séché au soleil a eu l'activité la plus faible. Ceci peut être dû à la sensibilité de ce test à la température et la lumière.

En conclusion, qualitativement et quantitativement, les feuilles de *M. oleifera* présentent une source substantielle d'antioxydants importante du fait que ces feuilles sont riches en métabolites secondaires particulièrement les polyphénols et les flavonoïdes. Ces composés sont largement réputés pour leur pouvoir antimicrobien qui couvre un large éventail de pathogènes.

II.2. Activité antibactérienne

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien des extraits des feuilles de *M. oleifera* (séchées à l'air libre, au soleil, à l'étuve et lyophilisé) par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton). C'est une technique qualitative basée sur la détermination du diamètre des zones d'inhibition apparentées autour des disques chargés par les extraits testés vis-à-vis de quatre germes (*Streptococcus sp.*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

Les résultats relatifs à l'activité antibactérienne des différentes concentrations des extraits (3; 6; 9 ; 12 mg/ml) révèlent que la bactérie *P. aeruginosa* apparait sensible vis-à-vis des extraits testés, les valeurs enregistrées des zones d'inhibition sont comprises entre 8.02-14.90 mm. Ces mêmes extraits ont développé aussi des zones d'inhibition vis-à-vis de la bactérie *Streptococcus sp.* dont les diamètres varient entre 7.88- 9.87 mm. Cependant, une résistance a été observée avec les souches *S. aureus* et *E. coli* (Tableau 6). Ces zones augmentent généralement par l'augmentation de la concentration des extraits là où le résultat est positif.

Tableau 6: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des 4 bactéries testées obtenues en présence des différentes concentrations des 4 extraits de feuilles de *M. oleifera* et de l'antibiotique.

La bactérie	Mode de séchage	Concentration (mg/ml)					
		3	6	9	12	GN (10µg)	AMP (10µg)
<i>Streptococcus sp.</i>	Air libre	9	9.01	9.87	9.87	20	7.52
	Soleil	7.88	8.55	8.89	8.90		
	Etuve	9	9.01	9.01	9.01		
	Lyophilisé	8.29	8.55	8.55	9.84		
<i>P. aeruginosa</i>	Air libre	10.07	10.83	11.43	12.52	19	-
	Soleil	9.08	8.02	10.49	11.35		
	Etuve	9.03	10.36	12.76	14.90		
	Lyophilisé	12.92	13.45	13.74	14.67		
<i>E. coli</i>	Air libre	-	-	-	-	24	8.7
	Soleil	-	-	-	-		
	Etuve	-	-	-	-		
	Lyophilisé	-	-	-	-		
<i>S. aureus</i>	Air libre	-	-	-	-	30.30	-
	Soleil	-	-	-	-		
	Etuve	-	-	-	-		
	Lyophilisé	-	-	-	-		

(-): Absence des zones d'inhibition

Concernant la bactérie *P. aeruginosa* (Photo 10), nous remarquons que l'extrait des feuilles séchées à l'étuve a présenté le diamètre d'inhibition le plus élevé (14.90 mm à une concentration de 12 mg/ml), tandis que l'échantillon lyophilisé présente des zones inhibitrices avec des diamètres allant de 12.92 à 14.67mm contre cette même bactérie. Des zones d'inhibition allant de 10.07 à 12.52 mm ont été observées chez l'extrait des feuilles

séchées à l'air libre. L'extrait des feuilles séchées au soleil a présenté des zones d'inhibition de diamètre de 9.08 à 8.02mm pour les concentrations de 3 et 6 mg/ml respectivement, alors que des diamètres d'inhibition de 10.49 et 11.35 mm ont été observé respectivement pour les concentrations de 9 et 12 mg/ml.

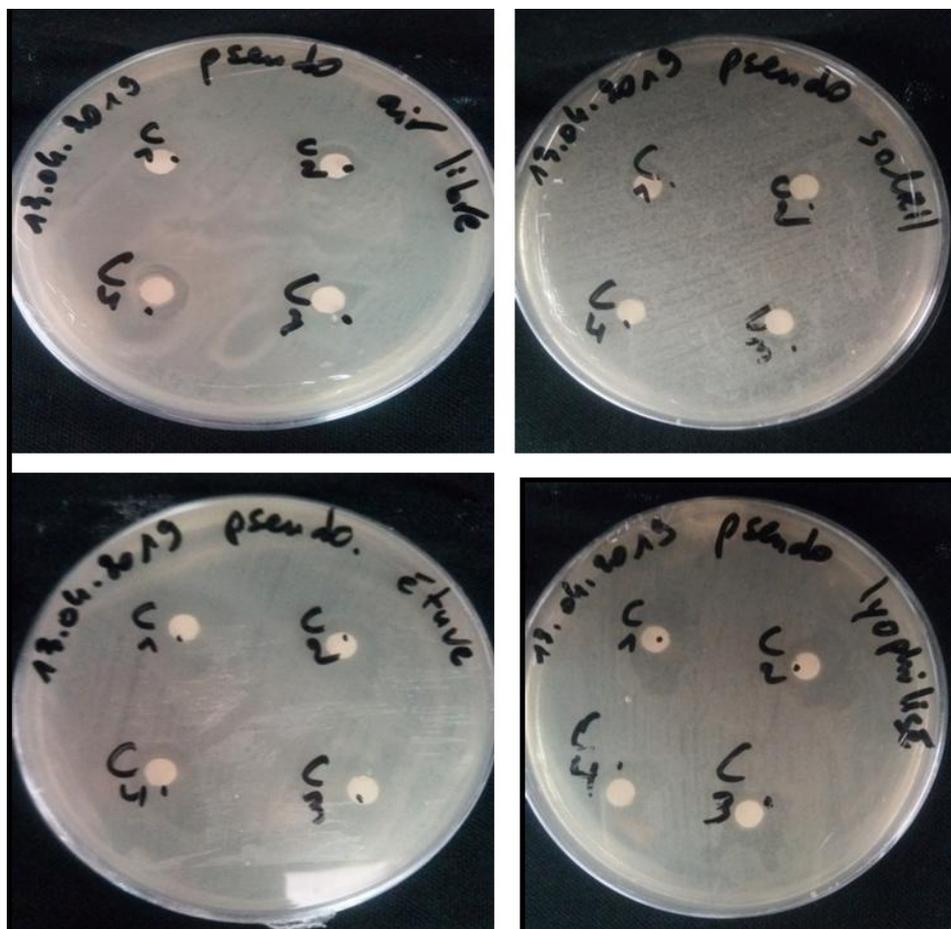


Photo 10: L'effet antibactérien des extraits de feuilles de *M. oleifera* séchées par différentes méthodes contre *P. aeruginosa* (Original).

Les résultats enregistrés pour la souche *Streptococcus sp.* (Photo 11) montrent que l'extrait des feuilles séchées à l'air libre a eu une activité inhibitrice avec un diamètre d'inhibition allant de 9 à 9.87 mm. En effet, l'échantillon séché à l'étuve a donné un diamètre d'inhibition dans les environs de 9 mm pour les 4 concentrations testées, alors que des zones d'inhibition variant de 8.29 à 9.84mm ont été enregistrées pour l'extrait des feuilles lyophilisées. Une petite zone circulaire autour des disques a été remarquée dans l'extrait des feuilles séchées au soleil avec un diamètre compris entre 7.88 et 8.9 mm.

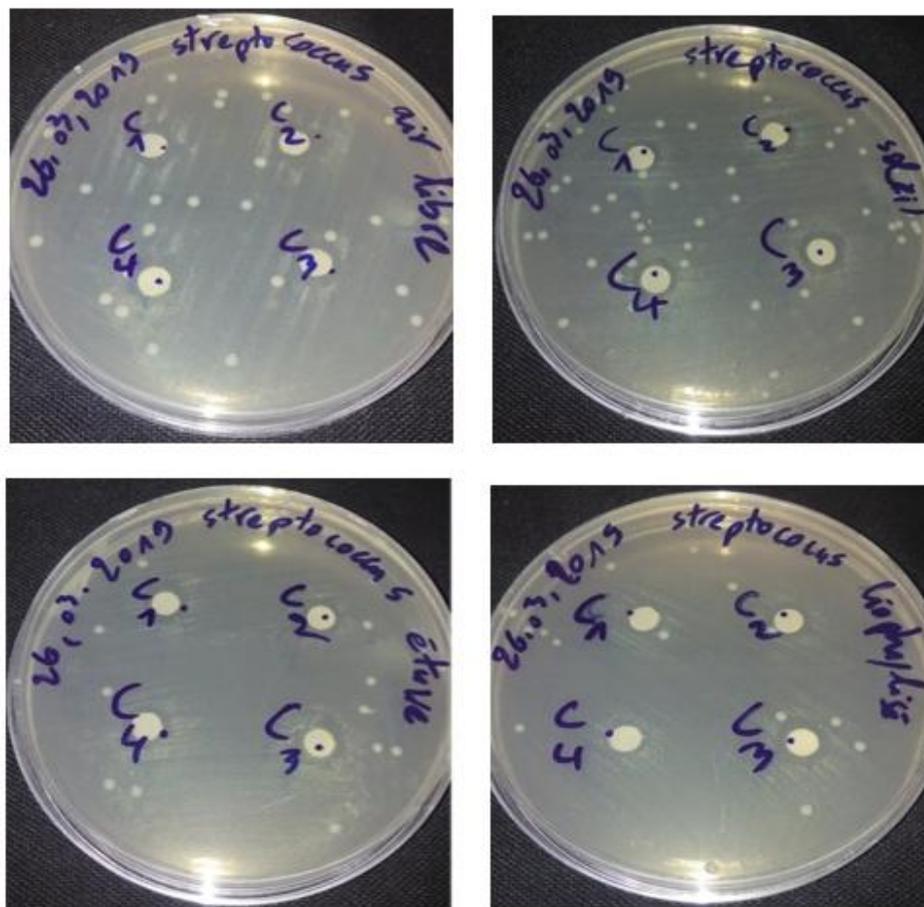


Photo 11: Photos présentant l'effet antibactérien des extraits de feuilles de *M. oleifera* séchées par différentes méthodes contre *Streptococcus sp.* (Original).

Aucune activité antibactérienne n'a été marquée autour des disques imbibés par les différentes concentrations testées des extraits quel que soit le mode de séchage contre les deux autres bactéries étudiées à savoir *E. coli* et *S. aureus*.

D'autre part, nos extraits ont donné des zones inhibitrices supérieures à celle de l'antibiotique de référence (Ampicilline à 10 µg/disque) pour les souches où les extraits ont donné un effet antibactérien. Des diamètres d'inhibition de 7.52 et 8.7 mm ont été enregistré pour la souche *Streptococcus sp.*, tandis qu'aucun effet n'est enregistré contre la souche *P. aeruginosa* (Photo 12) pour ce même antibiotique.

Cependant, les diamètres d'inhibition induits par tous ces extraits restent inférieurs à celui de l'antibiotique de référence (la gentamicine à 10 µg/disque) pour les souches où les extraits ont donné un effet antibactérien. Les zones d'inhibition de l'antibiotique de référence mesurant 20 et 19 mm pour les bactéries *Streptococcus sp.*; *P. aeruginosa* (Photo 12) respectivement.



Photo 12 : Les diamètres d'inhibition des antibiotiques de référence utilisés (gentamicine (10 µg), Ampicilline (10 µg)) contre *P. aeruginosa* (**Original**).

De ce fait et d'après les résultats obtenus, nos extraits obtenus par différentes méthodes de séchage possèdent une activité antibactérienne importante avec un effet marqué contre la bactérie *P. aeruginosa* plus que celui de *Streptococcus sp.*

Cette activité antibactérienne est peut-être dû à la présence des composés actifs tels que les alcaloïdes, les tannins et les flavonoïdes (**Biyiti et al., 2004**).

Discussion

Discussion

Vue le manque des travaux ultérieurs concernant l'effet de séchage des feuilles de *M. oleifera* sur la composition chimique et les activités biologiques (**Ademiluyi et al., 2018**), il été difficile de comparer nos résultats avec les données de la bibliographie.

Le rendement

A la lumière de nos résultats, nous pouvons constater que le rendement le plus élevé se situe au niveau de l'échantillon lyophilisé (28 %) suivi d'extrait des feuilles séchées à l'étuve (27%) et à l'air libre (26%), puis de celui obtenu par le séchage au soleil (23%). L'ordre obtenu de ces rendements est confirmé avec les résultats obtenus par **Ademiluyi et al. (2018)** qui ont obtenu des rendements de 44,2%; 45%; 43,6% et 43,7% respectivement pour des échantillons lyophilisés, séchés au four, séchés à l'air libre et séchés au soleil.

Les rendements obtenus par nos extraits restent inférieurs à ceux obtenus par **Ademiluyi et al. (2018)**, ceci peut être dû à l'âge de notre plante étudiée (âgée seulement de 9 mois), à la saison de récolte ou bien à la méthode d'extraction.

Screening phytochimique

Les résultats des tests du criblage phytochimique des extraits de feuilles ont montré que notre plante est riche en métabolites secondaires, tel que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les composés réducteurs, les saponines, les stéroïdes, les glycosides cardiaques ainsi que les anthocyanes.

En effet, de nombreux auteurs (**Foidl et al., 2001; Kumbhare et al., 2012 ; Millogo-Koné et al., 2012; Vinoth et al., 2012; Patel et al., 2014; Laley et al., 2015**) s'accordent avec nos résultats sur la richesse des feuilles de *M. oleifera* en métabolites secondaires.

Dosage des composés phénoliques

La mise en évidence des composés phénoliques (polyphénols; flavonoïdes; tannins) présents dans les feuilles de *M. oleifera* s'accorde avec les données de nombreux chercheurs (**Kasolo et al., 2010; Moyo et al., 2011; Belhi et al., 2018**).

Les effets de la méthode de séchage sur la teneur en composés phénoliques des feuilles de *M. oleifera* ont révélé des variations dans leurs concentrations.

Les résultats de la teneur en phénols solubles totaux des extraits de feuilles de *M. oleifera* indiquent qu'elles sont riches en composés phénoliques avec une variation de ces teneurs selon le type d'extrait où l'échantillon des feuilles séchées dans l'étuve présente la teneur la plus élevée (54.57 µg EAG/mg MS), suivi par l'extrait des feuilles séchées au soleil avec une teneur de 52.57 µg EAG/mg MS, alors que les extraits des feuilles séchées à l'air libre et lyophilisées ont présenté des teneurs de 44 µg EAG/mg et 41.14 µg EAG/mg respectivement. La présence des phénols totaux en feuilles fraîches de *M. oleifera* a été signalée par **Jaiswal et al. (2013)**.

Les résultats obtenus lors du dosage des flavonoïdes des quatre extraits de feuilles de *M. oleifera* révèlent que nos extraits contiennent des teneurs variables en flavonoïdes en quantité importante (185; 182; 158.5; 108.5 µg ER/mg MS respectivement dans les extraits des feuilles séchées à l'étuve, au soleil, à l'air libre et lyophilisées). La présence des flavonoïdes dans les feuilles de *M. oleifera* a été confirmée par **Ademiluyi et al. (2018)**.

Nos résultats rejoignent ceux obtenus par **Khelif et Naam (2014)** qui ont prouvé que les meilleures teneurs en polyphénols sont obtenues par le mode de séchage à l'étuve dans les deux espèces de plantes étudiées (*Limoniastrum guyonianum* et *Retama retam*), où ils ont trouvé que le séchage à l'étuve présente la concentration la plus élevée en flavonoïdes chez l'espèce *Retama retam*.

Les résultats des teneurs en tannins condensés indiquent que l'extrait des feuilles séchées à l'étuve possède une teneur (154 µg EC/mg MS) nettement supérieure à celle obtenue chez les autres échantillons (87.33; 62.33; 67 µg EC/mg MS respectivement pour l'extrait des feuilles lyophilisées, l'extrait des feuilles séchées au soleil et à l'air libre).

Par ailleurs, **Foidl et al. (2001)** révèlent que les feuilles fraîches de *M. oleifera* contiennent des quantités négligeables en tannins (1,4%), tandis que les tanins condensés sont indétectables.

La variation de la concentration en composés phénoliques dans les feuilles de *M. oleifera* dépend de plusieurs facteurs. En effet, il a été démontré par plusieurs auteurs (**Miliauskas et al., 2004; Tomas-Menor et al., 2013**) que la composition phytochimique

des plantes dépend de plusieurs variables tels que l'âge de la plante, la saison de la récolte, la partie récoltée et les conditions climatiques, patrimoine génétique. En plus les facteurs climatiques et environnementaux tels que la zone géographique, la sécheresse, le sol, les agressions et les maladies...etc. ont été déclaré par **Ebrahimiy et al. (2008)**.

En plus de ces facteurs de variabilité, il s'ajoute l'effet de la méthode de séchage, la méthode d'extraction, le solvant utilisé et les techniques d'analyses de ces composés phénoliques.

Activité antioxydante

Les résultats de l'étude de l'activité antiradicalaire du DPPH révèlent que tous les extraits de feuilles *M. oleifera* séchées par les différentes méthodes possèdent un potentiel antioxydant important (avec des pourcentages d'inhibition obtenus de 9.25 % ; 6.71% ; 5.74% et 4.68% et des IC50 de 5616.78 ; 8143.67 ; 9877.4 et 12258.25 µg/ml respectivement dans les extraits des feuilles séchées à l'étuve, au soleil, lyophilisées et séchées à l'air libre).

Les résultats obtenus par **Sreelatha et Padma (2009)** montrent que l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* présente une activité antioxydante considérable contre le radical DPPH[•] avec IC50 de 18.15 µg/ml.

Siddhuraju et Becker (2003) a déterminé un pourcentage d'inhibition de 20% à une concentration de 1 mg/ ml d'extrait aqueux de feuilles lyophilisé de *M. oleifera*.

En outre, les résultats de l'activité antioxydante du radical ABTS^{•+} montrent que l'extrait des feuilles séchées à l'étuve a donné un pourcentage d'inhibition (15.98%) plus que les autres extraits (9.93% ; 9.71% et 7.27% respectivement pour l'extrait des feuilles lyophilisées, l'extrait des feuilles séchées à l'air libre et au soleil). Ceci est dû à sa richesse en flavonoïdes qui ont une très forte activité antioxydante, et en tannins condensés qui sont des polymères riches en groupements hydroxyles donneurs d'hydrogènes et d'électrons.

Wangcharoen et Gomolmanee (2011) ont rapporté que l'extrait aqueux de feuilles de *M. oleifera* possèdent une activité impotente contre le radical ABTS^{•+}.

La structure des polyphénols leurs confèrent une activité antioxydante importante. En effet, leurs groupes hydroxyle sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogènes. Ils

peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactifs de l'azote, enfin de réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu (**Chen et Ho, 1995; Apak et al., 2007**).

L'évaluation du pouvoir réducteur de fer (FRAP) des extraits de feuilles de *M. oleifera* révèle un potentiel de réduction important marqué par l'extrait des feuilles séchées à l'étuve par rapport aux extraits des feuilles séchées au soleil, lyophilisées et séchées à l'air libre avec un pouvoir réducteur de 30.88 ; 29.38 ; 22 et 20.88 µg EAA/ml respectivement.

Les résultats de l'activité antioxydante de nos extraits ont été obtenus avec le même ordre pour le test DPPH et FRAP (extrait des feuilles séchées à l'étuve, au soleil, lyophilisées et séchées à l'air libre) alors qu'ils sont différentes dans le test ABTS (extrait des feuilles séchées à l'étuve, lyophilisées, séchées à l'air libre et au soleil). Ces résultats sont différents aux résultats enregistrés par **Ademiluyi et al. (2018)** qui ont obtenus un ordre qui commence par l'extrait des feuilles lyophilisées, séchées à l'air libre, au soleil et à l'étuve pour les deux tests ABTS et FRAP, alors qu'ils ont trouvé un ordre différent pour le test DPPH (extrait des feuilles séchées au soleil, à l'étuve, à l'air libre et lyophilisées).

La différence de nos résultats à ceux rapportés par **Ademiluyi et al. (2018)** est liée non seulement à la localisation des matières végétales, mais également à l'âge de la plante, ainsi que la période de la récolte, les effets des techniques d'analyses et la durée de séchage des feuilles.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de feuilles de *M. oleifera* révèle un potentiel antioxydant important, les résultats sont en accord avec ceux d'autres travaux. **Santos et al. (2005); Iqbal et Bhanger (2006); Arabshahi-D et al. (2007); Chumark et al. (2008); Verma et al. (2009); Amaglo et al. (2010); Charoensin (2014)** rapportent que les extraits de feuilles de *M. oleifera* présentent une forte activité antioxydante. Ceci est attribué au contenu en composés phénoliques que présentent les extraits de ces feuilles.

Par ailleurs, **Hatano et al. (1989); Duh et al. (1999)** et **N'guessan et al. (2007)** ont montré l'existence d'une corrélation entre les teneurs en phénols totaux et l'activité antiradicalaire.

Activité antibactérienne

Le test antibactérien montre que les résultats diffèrent selon la concentration des extraits utilisés, le type d'extrait (extrait des feuilles séchées à l'air libre; au soleil; à l'étuve; lyophilisées) et le type de bactérie.

Nos extraits sont actifs sur la souche *Streptococcus sp.* A différentes concentrations (3; 6; 9; 12 mg/ml), dont les diamètres varient entre 7.88 et 9.87 mm. Les échantillons séchés à l'air libre, lyophilisés, séchés à l'étuve et au soleil présentent des zones d'inhibition de 9.87; 9.84; 9.01; 8.90 mm respectivement à la concentration de 12 mg/ml.

Ces mêmes extraits développent aussi des zones d'inhibition vis-à-vis de la bactérie *P. aeruginosa* avec des zones inhibitrices variant entre 8.02 et 14.90 mm. L'effet inhibiteur des extraits des feuilles séchées à l'étuve, lyophilisées, séchées à l'air libre et au soleil présentent des zones d'inhibition de 14.90; 14.67; 12.52; 11.35 mm respectivement à la concentration de 12 mg/ml.

L'extrait de feuilles séchées à l'étuve a donné des zones plus importantes que les autres extraits (insister beaucoup plus sur l'extrait des feuilles séchées à l'étuve par ce qu'il a été toujours le meilleur pour les dosages et les activités antioxydantes).

La présence des zones d'inhibition avec nos extraits, s'accorde avec celles obtenues par **Cáceres et al. (1991)**, qui ont montré que l'extrait des feuilles de *M. oleifera* peuvent inhiber la croissance de la bactérie à gram négative (*P. aeruginosa*). Alors qu'**Oluduro (2012)** a déterminé un effet négatif contre la souche à gram positive (*Streptococcus sp.*) avec l'extrait aqueux et un effet positif (15mm pour une concentration de 30 mg/ml) avec l'extrait méthanolique.

L'activité antibactérienne des composés phénoliques est bien connue. Celle-ci a été rapportée par plusieurs auteurs (**Cowan 1999; Taguri et al., 2006**). L'effet inhibiteur peut être expliqué par plusieurs raisons. Parmi les hypothèses avancées, on peut citer la chélation des métaux tel que le fer qui est nécessaire à la croissance microbienne, l'action sur les membranes des micro-organismes conduisant à la perte de son intégrité structurale (**Akiyama et al., 2001**), l'effet endommageant de la bicouche lipidique (**Funatogawa et al., 2004**), à leur habilité à se combiner aux protéines solubles extracellulaires et ainsi aux parois cellulaires bactériennes (**Tsuchiya et al., 1996**). Et enfin, l'action sur le métabolisme bactérien (**Scalbert, 1991**).

Aucune zone d'inhibition n'a été observée chez les autres bactéries (*S. aureus* et *E. coli*) aux différentes concentrations des extraits utilisés. Ce qui rejoint les résultats obtenus par **Rahman et al. (2009)** qui ont prouvé l'absence d'inhibition vis-à-vis de la bactérie à gram positive (*S. aureus*) dans l'extrait de poudre des feuilles de *M. oleifera*. Ils s'accordent aussi avec les résultats obtenus par **Vinoth et al. (2012)** pour la bactérie *E. coli* où une absence d'une zone d'inhibition a été observée.

Masibo et He (2009) expliquent ce phénomène, en considérant que la résistance d'*E. coli* à Gram négatif aux agents antimicrobiens est liée à la présence d'une enveloppe qui comprennent une membrane cellulaire riche en lipopolysaccharides et une paroi ce qui limite l'accès des agents antimicrobiens à leurs cibles dans les cellules bactériennes, car les agents antimicrobiens sont en contact avec l'enveloppe cellulaire.

La déférence des zones d'inhibition entre les extraits se diffère par conséquent à la différence en polyphénols, flavonoïdes et tannins trouvant avec des teneurs différents entre les extraits.

Conclusion et Perspectives

Conclusion

Le monde végétal est sans doute la source médicinale originelle la plus importante. Il fournit la majeure partie des produits utilisés en thérapeutique. *M. oleifera* est l'une des alternatives la plus économique et la plus crédible non seulement pour assurer une bonne nutrition, mais également pour guérir et prévenir de nombreuses maladies. L'objectif de ce travail s'oriente sur l'étude de l'effet de la méthode du séchage des feuilles de *M. oleifera* sur la composition phytochimique et les activités antioxydante et antibactérienne.

Dans ce cadre, le présent mémoire a porté sur l'étude phytochimique par l'analyse qualitative des extraits de feuilles de *M. oleifera* séchées par différentes méthodes (à l'air libre, au soleil, à l'étuve, lyophilisée), puis une analyse quantitative des composés phénoliques, et finissons par l'évaluation des activités biologiques (antioxydante et antibactérienne).

Selon nos résultats obtenus, l'extraction à partir des feuilles de la plante a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent entre les quatre modes de séchage, l'extrait des feuilles lyophilisées présente le rendement le plus élevé (28%) par rapport aux autres extraits.

Le screening phytochimique révèle la présence de quelques métabolites dans tous nos extraits, à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins catéchiques, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les sucres réducteurs, les saponines, les stéroïdes, les glycosides cardiaques et les anthocyanidines.

L'évaluation du contenu en polyphénols totaux en adoptant la méthode du Folin-Ciocalteu a clairement montré que l'extrait des feuilles séchées à l'étuve présente la meilleure teneur (54.57 µg EAG/mg MS). De même pour le dosage des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium, les feuilles séchées à l'étuve sont les plus conservatrices pour les teneurs en flavonoïdes (185 µg ER/mg MS), ce qui nous mène à conclure que cette plante est riche en ces composés. En parallèle, la détermination du contenu en tannins condensés par la méthode Vanilline-HCL a enregistré la teneur maximale (154 µg EC/mg MS) pour l'extrait des feuilles séchées à l'étuve.

L'évaluation de l'activité antioxydante (DPPH, ABTS, FRAP) des extraits a été déterminée et le résultat montre que les feuilles séchées à l'étuve révèlent de forte activité par rapport aux autres modes de séchage avec des IC₅₀ de 5616.78 µg/ml et 2961.58 µg/ml

respectivement pour les tests du DPPH et ABTS, et un pouvoir réducteur de 30.88 µg EAA/mg extrait pour le test du FRAP.

L'étude biologique montre que le pouvoir antibactérien diffère d'un extrait à l'autre. L'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en milieu solide montre que les souches *P. aeruginosa* et *Streptococcus sp.* sont les plus sensibles aux extraits des feuilles (séchées à l'étuve, lyophilisées, séchées à l'air libre et au soleil) à différentes concentrations. Des diamètres d'inhibition les plus importants de 14.90 mm et 9.87 mm ont été obtenus respectivement dans l'extrait des feuilles séchées à l'étuve (12mg/ml) vis-à-vis la souche *P. aeruginosa* et l'extrait des feuilles séchées à l'air libre (12mg/ml) vis-à-vis la souche *Streptococcus sp.*.

Les souches *E. coli* et *S. aureus* ont montré une résistance aux différentes concentrations des quatre extraits de feuilles testées.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons déduire que le meilleur mode de séchage qui limite la perte des composés phytochimiques qui ont des activités biologiques très importantes est le séchage à l'étuve (à température 39° C durant 7 jours).

Les résultats de la présente étude restent préliminaires. Il serait donc intéressant d'approfondir cette étude en faisant des recherches plus poussées. Il est souhaitable de:

- ✚ Utiliser des extraits de *Moringa oleifera in vivo* et tester l'effet de l'activité antioxydante sur la qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique des aliments.
- ✚ Etudier d'autres activités biologiques de *Moringa oleifera* à savoir les propriétés antifongiques, anti-inflammatoires et antivirales.
- ✚ Evaluer l'activité antioxydante et antibactérienne d'autres parties de la plante *Moringa oleifera* (les racines, les graines, les fleurs, les gousses).
- ✚ Etudier l'activité insecticide de l'extrait aqueux de *Moringa oleifera* sur la mineuse de la tomate par exemple.
- ✚ Réaliser une étude de l'activité floculante de *Moringa oleifera* dans la clarification des eaux troubles dans la région de Ghardaïa.

Références bibliographique

Références Bibliographiques

1. **Abdull, R., Ahmad, F., Ibrahim, M. D., Kntayya, S. B.**2014. Health benefits of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*.Volume .15(20).p.p.: 8571-8576.
2. **Ademiluyi, A. O., Aladeselu, O. H., Oboh, G., Boligon, A. A.,** 2018. Drying alters the phenolic constituents, antioxidant properties, α -amylase, and α -glucosidase inhibitory properties of Moringa (*Moringaoleifera*) leaf. *Food Science & Nutrition*. Volume 6(8).p.p.: 2123-2133.
3. **Agostini-Costa, T. D. S., Vieira, R. F., Bizzo, H. R., Silveira, D., Gimenes, M. A.** 2012. Secondary metabolites. In *Chromatography and its applications*. In tech Open. p.p:132-164.
4. **AGROCONSULT HAITI S A.,** 2016. Analyse des Potentialités de l'Exploitation du Moringa en Haïti. Rapport. Banque de la république d'Haïti. 20p.
5. **Ahmed, E., Arshad, M., Zakriyya Khan, M., ShoaibAmjad, H., Mehreen Sadaf, H., Riaz, I.Sabir,S., Sabaoon, M. A.** 2017.Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. *J Pharmacogn Phytochem JPP*. Volume 6(2). p.p.: 205-214.
6. **Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., Iwatsuki, K.** 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. Volume 48(4).p.p.: 487-491
7. **Alhakmani, F., Kumar, S., Khan, S. A.** 2013. Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. Volume 3(8).p.p.: 623-627.
8. **Ali Redha, A. A., Hasan, A. M., Mandeel, Q.,** 2018. Phytochemical Determinations of Pomegranate (*Punicagranatum*) Rind and Aril Extracts and their Antioxidant, Antidiabetic and Antibacterial Activity. *Nat ProdChemRes*. Volume 64. p.p.:15-20.
9. **Amaglo, N. K., Bennett, R. N., Curto, R. B. L., Rosa, E. A., Turco, V. L., Giuffrida, A., Timpo, G. M.**2010. Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. *Food Chemistry*. Volume 122(4).p.p.: 1047-1054.
10. **Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A. H.,** 2007. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research: An International Journal*

Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. Volume 21(1).p.p.: 17-25.

11. **Anwar, F., Rashid, U., 2007.**Physico-chemical characteristics of *Moringa oleifera* seeds and seed oil from a wild provenance of Pakistan. Pak. J. Bot. Volume 39(5).p.p.: 1443-1453.
12. **Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Celik, S., Bektaşoğlu, B., Özyurt, D. 2007.** Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*. Volume 12(7). p.p.: 1496-1547.
13. **Arabshahi-D, S., Devi, D. V., Urooj, A. 2007.**Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chemistry*. Volume 100(3). p.p.:1100-1105.
14. **Atakpama W., Kponor E.G.E., Kanda M., Dourma M., Nare M., Batawila K., et Akpagana K. 2014.***Moringa oleifera* Lamarck (Moringaceae): une ressource phytogénétique à usage multiple. Rev Cames, Sciences de la vie, de la terre et agronomie. Volume 2(1). p.p.: 6-14.
15. **Ba, K., Tine, E., Destain, J., Cissé, N., Thonart, P., 2010.** Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. Volume 14(1). p.p. :131-139
16. **Babayi H, Kolo I, Okogum JI. 2004.** The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminaliacatappa* against some pathogenic microorganisms. *Biochemistri*. Volume 16 (2). p.p.: 102-5.
17. **Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibijbijen, J., Nassiri, L., 2016.**Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de lavande autochtones au Maroc:c«Lavandulastoechas L. et Lavanduladentata L.». *EuropeanScientific Journal*, ESJ. Volume 12(30). p.p. :313.
18. **Badiaga, M., 2011.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mal. Thèse de Docteur. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. Français.136p.
19. **Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. 2006.** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*. Volume 99(1). p.p.: 191-203.

- 20. Basli, A., Chibane, M., Madani, K., Oukil, N. 2012.** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*. Volume 10(1). p.p.: 2-9.
- 21. Bekro, Y. A., Mamyrbekova, J. A., Boua, B. B., Bi, F. T., Ehile, E. E., 2007.** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*. Volume 4(2). p.p.:217-225.
- 22. Belhi, M., Selmi, H., Tibaoui, G., Aloui, F., Jedidi, S., et Rouissi, H.,2018.** Propriétés chimiques et facteurs anti-nutritionnelles de la *Moringa oleifera*. *Journal of New Science*. Volume (11). p.p.:3338-3342.
- 23. Bello, H., 2010.** Essai d'incorporation de la farine de feuilles de *Moringa oleifera* dans l'alimentation chez les poulets indigènes du Sénégal : Effets sur les performances de croissance, les caractéristiques de la carcasse et le résultat économique. Thèse pour obtenir le grade de docteur .l'université Cheikh Anta Diop De Dakar.84p.
- 24. Benabbou, T. A., 2012.** Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées de produits artisanaux algériens. Mémoire de Magister. Université d'ORAN. Algérie.113p.
- 25. Bengag, A., 2009.** Caractérisation phytochimique et activité antioxydante de quelques cultivars de phoenix dactylifera L. Mémoire de Magistère .Université d'oran Es-Sénia. Algérie.79p.
- 26. Bertrand, X., Slekovec, C., Cholley, P., Talon, D., 2011.** Épidémiologie des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. *Revue Francophone des Laboratoires*. Volume 2011(435) .p.p. : 35-40
- 27. Bimkr, M., Abdul Rahman, R., Saleena Taip, F., Ganjloo, A., Md Salleh, L., Selamat, J., Hamid, A. and Zaidul, I.S.M. 2011.** Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves. *Food and Bioproducts Processing*. Volume 89. p.p.: 67–72.
- 28. Biyiti, L. F., Meko'o, D. J. L., Tamzc, V., Amvam Zollo, P. H. 2004.** Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharm. Med. Trad. Afr.* Volume 13. p.p.: 11-20.
- 29. Bohlmann, J., Keeling, C. I. 2008.** Terpenoid biomaterials. *The Plant Journal*, volume 54(4). p.p.: 656-669.

- 30. Boizot, N. et Charpentier, J.P. 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. p.p.:79-82.
- 31. Bolou, G. E. K., Attioua, B., N'guessan, A. C., Coulibaly, A., N'guessan, J. D., Djaman, A. J., 2011.** Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. Bulletin de la société royale des sciences de Liège. Volume. 80, 2011. p.p.: 772 – 790.
- 32. Bouacherine, R et Benrabia, H., 2017.** Biodiversité et valeur des plantes médicinales dans la phytothérapie: Cas de la région de BEN SROUR (M'sila). Mémoire de Master Académique. Université Mohamed Boudiaf - M'sila. Alger. 40p.
- 33. Boukri, N. H., 2014.** Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Mémoire Master Académique. Université KASDI Merbah. Ouargla. Algérie. 67p.
- 34. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. L. W. T., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*. Volume 28(1).p.p.: 25-30.
- 35. Broin, M., 2005.** Composition nutritionnelle des feuilles de *Moringa oleifera*. CTA.
- 36. Broin, M., Saint Sauveur, A. D., 2010.** Produire et transformer les feuilles de moringa.
- 37. Cáceres, A., Cabrera, O., Morales, O., Mollinedo, P., Mendia, P., 1991.** Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. 1: Preliminary screening for antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol*. Volume 33(3).p.p.: 213-216
- 38. Chabi, N. W., Konfo, C. T., Adjagba, M., Moussedikou, L., Ahoussi-Dahouenon, E., Laleye, A., Soumanou, M. M., 2015.** Evaluation of the Toxicity of *Hemizygiabraceosa* (Benth) Plant Used in Traditional Medicine for the Treatment of Diabetes Mellitus in Benin. *American Journal of Biomedical Research*. Volume 3(3).p.p.: 40-44.
- 39. Chabrier, J., 2010.** Plantes Médicinales Et Formes D'utilisation En Phytothérapie. Thèse De Doctorat. Université Henri Poincare - Nancy 1. 172p.

40. Charoensin, S., 2014. Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*. Volume8 (7).p.p.: 318-325.
41. Chaudhary, K., Chaurasia, S., 2017. Neutraceutical properties of *Moringa oleifera*: a review. *Eur J Pharm Med Res*. Volume 4(4).p.p.: 646-655.
42. Chen C.W., Ho C.T., 1995. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green tea and black tea. *J Lipids*. Volume 2. p.p.:35-46.
43. Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y., Phornchirasilp, S., Morales, N. P., Phivthong-ngam, L., Klai-upsorn, S. P. 2008. The in vitro and ex vivo antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Journal of ethnopharmacology*. Volume 116(3).p.p.:439-446.
44. Conrad J; Vogler B.; Klaiber I.; Roos G., Walter U.; Kraus W.,1998. Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry*. Volume 48. p.p.: 647 - 650.
45. Coppo, E., et Marchese, A. 2014. Antibacterial activity of polyphenols. *Current pharmaceutical biotechnology*. Volume 15(4). p.p.: 380-390.
46. Couderc, C., 2015. Impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale par *Staphylococcus aureus*. Thèse De Doctorat. Université Pierre Et Marie Curie.132p.
47. Coulibaly, I., Dubois-Dauphin, R., Danthine, S., Majad, L, Mejoub, T., Destain, J., Béra, F., Wathelet, J-P., Thonart, P., 2011. Techniques de séchage des starters lactiques et mécanismes affectant la viabilité cellulaire suite à la lyophilisation. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. Volume 15(2). p.p.: 287-299
48. Cowan, M. M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. Volume 12(4).p.p.: 564-582.
49. Croteau, R., Kutchan, T. M., et Lewis, N. G. 2000. Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and molecular biology of plants*. Volume 24. p.p.: 1250-1319.
50. Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbijen, J., Nassiri, L., 2015. Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urticaurens* L., *Urticamembranacea* Poiret et *Urticapilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences*. Volume 87(1).p.p.: 8094-8104.

51. Diallo, A., 2013. *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale: Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse De Doctorat .Université Toulouse III-Paul Sabatier. 204p.
52. Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* Volume 97. p.p.: 654-660.
53. Djerroumi, A., Nacef, M., 2012. 100 plantes médicinales d'Algérie. Imprimerie Houma-34, lotissement la BruyèreBouzaréah-Alger. Algérie. 159p.
54. Dohou, R., Yamni, K., Tahrouch, S., Hassani, L. I., Badoc, A., Gmira, N., 2003. Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaea lythroïdes*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*. Volume 142(1/4).p.p.:61-78.
55. Du Gene, T. E. P., 2010. Typage Et Prevalence Du Gene Emm Codant Pour La Proteine M De Streptococcus Pyogenes : Etude Bgas2000 A Bamako Au Mali. Thèse De Doctorat. Université De Bamako .Mali.88 p.
56. Duchêne-Massias A., 2015. Valorisation fonctionnelle et antioxydante des épidermes de pommes Golden Delicious. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux. 248p
57. Duh, P.D., Tu, Y.Y., Yen, G.C., 1999. Antioxydant activity of water extract of harng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensm.wiss. Technol.* Volume 32. p.p.: 269-277.
58. Ebrahimi, S. N., Hadian, J., Mirjalili, M. H., Sonboli, A., Yousefzadi, M. 2008. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food chemistry*. Volume 110(4).p.p.:927-931.
59. Fahey, J. W., 2005. *Moringa oleifera*: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. *Trees for life Journal*. Volume 1(5). p.p.: 1-15.
60. 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*. Volume 331(5).p.p.:372-379.
61. Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z. 1986. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*. Volume 64(2).p.p.: 159-164.

- 62. Faudot, P., Paiee, L., 2017.** Projet de création et développement d'une unité de production/transformation/commercialisation du *Moringa oleifera* Lam. sur l'île de Sainte-Marie à Madagascar. Diplôme de licence professionnelle .université Montpellier sup agro.48p.
- 63. Foidl, N., Makkar, H., Becker, K., 2001.** Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits de *Moringa*. Dar es-Salaam, Tanzanie, du 29 octobre au 2 Novembre 2001.
- 64. Frantisek, S., 1992.** Plantes médicinales: Ed Grund Paris. 5p.
- 65. Funatogawa, K., Hayashi, S., Shimomura, H., Yoshida, T., Hatano, T., Ito, H., Hirai, Y. 2004.** Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiology and immunology*. Volume 48(4). p.p.: 251-261.
- 66. Garreta, R., 1998.** Ces plantes qui purifient. De l'herboristerie à l'aromathérapie Association Terrain. Volume 31. p.p.: 77-88.
- 67. Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselsela, H., Oued Mokhtar, S. M. 2015.** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*. Volume13(2). p.p.: 118-129.
- 68. Goetz, P., 2006.** Quelques éléments pratiques de gemmothérapie. *Phytothérapie*. Volume 4(2). p.p.: 83-86.
- 69. Goyal, B. R., Agrawal, B. B., Goyal, R. K., Mehta, A. A. 2007.** *Phytopharmacology of Moringa oleifera* Lam.—an overview.
- 70. HadjadjS., 2017.** Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien. Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah- Ouargla. Algérie.99p.
- 71. Haldar, R., Kosankar, S., 2017.***Moringa oleifera*: The Miracle Tree. *International Journal of Advance Research, Ideas and Innovations in Technology*. Volume 3(6).p.p.:966-970.
- 72. Harbourne, N., Marete, E., Jacquier, J. C., O'Riordan, D. 2009.** Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendulaulmaria*) and willow (*Salix alba*). *LWT-Food Science and Technology*. Volume 42(9).p.p.:1468-1473.

- 73. Haslam, E., Lilley, T. H., et Butler, L. G. 1988.** Natural astringency in foodstuffs a molecular interpretation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Volume 27 (1). p.p.:1- 40.
- 74. Hatano T., Edamatsu R., Hiramatsu M., Mori A., Fujita Y., Yasuhara T., Yoshida T. Okuda T., 1989.** Effect of interaction of tannins with co-existing substances VI. Effect of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical. *Chem. Pharm. Bull*. Volume 37. p.p.: 2016-2021.
- 75. Hêdji, C. C., Gangbazo, D. K., Houinato, M. R., Fiogbé, E. D., 2014.** Valorisation de *Azolla* spp, *Moringa oleifera*, son de riz, et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale: synthèse bibliographique. *Journal of Applied Biosciences*. Volume 81(1). p.p. :7277-7289.
- 76. Herrmann, K., 1988.** On the occurrence of flavonol and flavone glycosides in vegetables. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. Volume 186(1). p.p.: 1-5.
- 77. Ignat, I., Radu, D. G., Volf, I., Pag, A. I., Popa, V. I. 2013.** Antioxidant and antibacterial activities of some natural polyphenols. *Cellulose Chem. Technol*. Volume 47 (5-6). p.p.: 387-399.
- 78. Iqbal, S., et Bhanger, M. I. 2006.** Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. *Journal of food Composition and Analysis*. Volume 19(6-7).p.p.: 544-551
- 79. Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., et al. 2001.** Larousse des plantes medicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse. p.p.: 6-12.
- 80. Jaiswal, D., Rai, P. K., Mehta, S., Chatterji, S., Shukla, S., Rai, D. K., Watal, G., 2013.** Role of *Moringa oleifera* in regulation of diabetes-induced oxidative stress. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. Volume 6(6). p.p.: 426-432.
- 81. Jaitak, V., Sharma, K., Kalia, K., Kumar, N., Singh, H. P., Kaul, V. K., Singh, B., 2010.** Antioxidant activity of *Potentilla fulgens*: An alpine plant of western Himalaya. *Journal of Food Composition and Analysis*. Volume 23(2).p.p.:142-147.
- 82. Jayaprakash, A., et Sangeetha, R., 2015.** Phytochemical screening of *Punicagranatum* Linn. Peel extracts. *J Acad Indust Res*. Volume 4. p.p.: 160-162.

- 83. Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., He, X., 2014.** Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *J Pharm Pharmacol*, Volume 2 (7). p.p.: 377-392.
- 84. Kahlouche-Riachi, F., 2014.** Evaluation Chimique Et Activite Antibacterienne De Quelques Plantes Medicinales D'algerie. These de Doctorat. Universite De Constantine 1. Algérie. 128p.
- 85. Kakengi, A. M. V., Kaijage, J. T., Sarwatt, S. V., Mutayoba, S. K., Shem, M. N., Fujihara, T. 2007.** Effect of *Moringa oleifera* leaf meal as a substitute for sunflower seed meal on performance of laying hens in Tanzania. *Bone*. Volume 1 (9.4). p. 446.
- 86. Kasolo J.N., Bimenya G.S., Ojok L., Ochieng J., Ogwal-Okeng J.W. 2010.** Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities. *J. med. plant Res.* Volume 4(9). p.p.: 753-757.
- 87. Khan, A. M., Qureshi, R. A., Ullah, F., Gilani, S. A., Nosheen, A., Sahreen, S., Murad, W., 2011.** Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of medicinal plants research*. Volume 5 (25). p.p.: 6055-6060.
- 88. Khawaja, T. M., Tahira, M., Ikram, U.H. 2010.** *Moringa oleifera*: a natural gift-A review. *J. Pharm. Sci. Et Res.* Volume 2 (11). p.p.: 775-781.
- 89. Khelif, N., Naam, N., 2014.** Etude de l'effet des modes de séchage sur le dosage biochimique de quelques plantes spontanées médicinales. Mémoire de master académique. Université kasdi merbah Ouargla. Algérie. 42p.
- 90. Kooltheat, N., Sranujit, R. P., Chumark, P., Potup, P., Laytragoon-Lewin, N., Usuwanthim, K., 2014.** An ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* Lam. inhibits human macrophage cytokine production induced by cigarette smoke. *Nutrients*. Volume 6(2). p.p.: 697-710.
- 91. Koul, B., Chase, N., 2015.** *Moringa oleifera* Lam.: Panacea to several maladies. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. Volume 7(6). p.p.: 687-707.
- 92. 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*. Volume 2(2). p.p.: 144-150.
- 93. Lacoste, S. 2015.** Les plantes qui guérissent: Les secrets de la phytothérapie. À utiliser en tisanes, ampoules, gélules, etc., Éditions Leduc, Paris-France. 52p.

94. Laleye, O. A. F., Ahissou, H., Olounlade, A. P., Azando, E. V. B., Laleye, A., 2015. Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khayasenegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordicacharantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringaoleifera* Lam (Moringaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. Volume 9(5). p.p.: 2682- 2700 .
95. Lattanzio, V., Lattanzio, V. M., et Cardinali, A., 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Advances in research*. Volume 661(2). p.p.: 23-67.
96. Lella, O. A., Saloua, K., Bahia, B., Yahyaoui, E., Ouafae, S. A., Lemine, O. A. B. M., Rachid, B., 2017. Phytochimic Screening and characterization of the substances present in the extracts of two marine algae: *Sargassummuticum* (Yendo) Fensholt, 1955 and *Cystoseirataramariscifolia* (Hudson); Harvested from the bay of the star in Mauritania. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. Volume 6(5). p.p.:1510-1514.
97. Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., Bertoli, S. 2015. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: an overview. *International journal of molecular sciences*. Volume 16(6). p.p.: 12791-12835.
98. Louni, S., 2009. Extraction et caractérisation physicochimique de l'huile de graines de *Moringa oleifera*. Mémoire de Magister. Ecole nationale supérieure agronomique El Harrach, Alger, Algérie. 14p.
99. Luqman, S., Srivastava, S., Kumar, R., Maurya, A. K., Chanda, D. 2012. Experimental assessment of *Moringa oleifera* leaf and fruit for its antistress, antioxidant, and scavenging potential using in vitro and in vivo assays. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 10. p.p.:55–84.
100. Macheix, J. J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques. 191p.
101. Madi, O. P., Bourou, S., Woin, N., 2012. Utilisations et importances socio-économiques du *Moringa oleifera* Lam. en zone de savanes d'Afrique Centrale. Cas de la ville de Maroua au Nord-Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*. Volume 60. p.p.: 4421-4432.

- 102. Maiga, A., Diallo, D., Fane, S., Sanogo, R., Paulsen, B. S., Cisse, B. 2005.** A survey of toxic plants on the market in the district of Bamako, Mali: traditional knowledge compared with a literature search of modern pharmacology and toxicology. *Journal of ethno pharmacology*. Volume 96(1-2). p.p.:183-193.
- 103. Malecky, M., 2008.** Métabolisme des Terpénoïdes Chez Les Caprins. Thèse de Doctorat. Agroparistech, English.205p.
- 104. Mansaly, S., 2001.** Récupération nutritionnelle et impact de consommation de la poudre de *Moringa oleifera* dans la consultation primaire et curative. Clinique Santiaba à Ziguinchor, Sénégal, 2p.
- 105. Masibo, M., et He, Q., 2009.** Mango bioactive compounds and related nutraceutical properties a review. *Food Reviews International*. Volume 25(4).p.p.: 346-370.
- 106. Maurent, K., 2017.** Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde. Evaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Thèse de Doctorat, Université Toulouse 3 Paul Sabatier. 220p.
- 107. Merghem, R., 2009.** Elément de biochimie végétale. Bahaeddine Editions. Constantine, Algérie. 171p.
- 108. Michel T., 2011.** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaerhamnoides*). Thèse de doctorat Université Orléans. 289 p.
- 109. Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., Van Beek, T. A. 2004.** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*. Volume 85(2). p.p.: 231-237.
- 110. Millogo-Koné, H., Kini, B. F., Yougbaré, Z., Yaro, M. B., Sawadogo, M. 2012.** Etudes de la phytochimie et de l'activité antimicrobienne in vitro des feuilles de *Moringa oleifera* (Moringaceae). *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 16.
- 111. Millogo-Koné, H., Kini, B. F., Yougbaré, Z., Yaro, M. B., Sawadogo, M. 2012.** Etudes de la phytochimie et de l'activité antimicrobienne in vitro des feuilles de *Moringa oleifera* (Moringaceae). *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*. p.p.:1-16.

112. **Mkedder, N et Hakem Y., 2018.** Étude de l'utilisation de la phytothérapie chez l'enfant dans la région de Tlemcen (Algérie). Mémoire de Docteur En Pharmacie. Université Abou Bekr Belkaïd. Tlemcen. Alger .126p.
113. **Morton J.F., 1991.** The horseradish tree, *Moringa pterigosperma* (Moringaceae). A boon to arid lands. *Econ Bot* .Volume 45 .p.p.: 318–333.
114. **Moyo B., Masika P.J., Hugo A., Muchenje V. 2011.** Nutritional characterization of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Afr. J. Biotech.* Volume 10(60).p.p.:12925-12933.
115. **Müller, J. et Heindl, A. 2006.** Drying of medicinal plants. *Frontis.* p.p.: 237-252.
116. **N'Guessan J.D., Zirihi G.N., Kra A.K.M., Kouakou K., Djaman A.J., Guede-Guina F.2007.** Free radical scavenging activity, flavonoid and phenolic contents of selected Ivoirian plants. *IJONAS.* Volume 4.p.p.:425-429.
117. **N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., Aké-Assi, L., 2009.** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubo (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature.* Volume 6(1). p.p.:1-15.
118. **Oluduro, A. O., 2012.** Evaluation of antimicrobial properties and nutritional potentials of *Moringa oleifera* Lam. leaf in South-Western Nigeria. *Malaysian Journal of Microbiology.* Volume 8(2).p.p.:59-67.
119. **Organisation Mondiale de la Santé, 2003.** Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales.76p
120. **Oroian, M., Escriche I., 2015.** Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International.* Volume 74 .p.p.:10-36.
121. **Pagua H. M., Pagua R. Q., Balba Ch., et Flores R. C., 2014.** Utilization and evaluation of *Moringa oleifera* L. As poultry feeds. *Apchee Procedia.* Volume 8.p.p.:343 – 347.
122. **Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., Stefan, G. 2017.** Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: classification, structures, sources, and action mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* Volume 16(6). p.p.: 1243-1268.

- 123. Patel, P., Patel, N., Patel, D., Desai, S. H. A. R. A. V., Meshram, D. 2014.** Phytochemical analysis and antifungal activity of *Moringa oleifera*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* .Volume 6(5).p.p. : 144-147
- 124. Pietta, P.G., 2000.** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Product*. Volume 63 .p.p.: 1035-1042.
- 125. Price, M. L., 2007.** Le Moringa. Note technique-ECHO (revue en 2000, en 2002 et en 2007).
- 126. Rahman, M. M., Sheikh, M. M. I., Sharmin, S. A., Islam, M. S., Rahman, M. A., Rahman, M. M., Alam, M. F., 2009.** Antibacterial activity of leaf juice and extracts of *Moringa oleifera* Lam. against some human pathogenic bacteria. *CMU J Nat Sci*. Volume 8(2).p.p.: 219-227.
- 127. Reyes, S.N., 2006.** *Moringa oleifera* and *Cratylia argentea*: potential fodder species for ruminants in Nicaragua. Thèse pour obtenir le grade de docteur. Université d'Uppsala Suède.51p.
- 128. Robbins, R. J., 2003.** Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*. Volume 51(10). p.p: 2866-2887
- 129. Robert, P., Rey-Debove, J., Rey, A., 2010.** Le nouveau Petit Robert de la langue française, dictionnaire alphabétique et analogique de la langue française. Edition Le Robert: Paris, France.
- 130. Roloff, A., Weisgerber, H., Lang, U., Stimm, B., 2009.** *Moringa oleifera* LAM., 1785. Sea. Volume 10(10).p 8.
- 131. Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., Douira, A., 2010.** Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*. Volume 31. p.p:133-146.
- 132. Santos AFS, Argolo ACC, Coelho LCBB, Paiva PMG., 2005.** Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. *Water Res* .Volume 39. p.p.: 975– 980.
- 133. Scalbert, A., 1991.** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*. Volume 30(12).p.p.: 3875-3883.
- 134. Schauenberg, P et Paris, F., 2010.** Guide des plantes médicinales: Analyse, description et utilisation de 400 plantes. Éditions Delachaux et Niestlé, Espagne. 396p

- 135. Schofield, P., Mbugua, D. M. and Pell, A. N., 2001.** Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*. Volume 91. p.p. : 21-40.
- 136. Siddhuraju, P., et Becker, K., 2003.** Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*. Volume 51(8).p.p.:2144-2155.
- 137. Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. Volume 299. p.p.: 152-178.
- 138. Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., Knez, Ž., 2005.** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*. Volume 89(2). p.p.: 191-198.
- 139. Sreelatha, S. et Padm, R., 2009.** Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. In *Plant foods human nutrition*. Volume 64. p.p.: 303-311.
- 140. Strang, C., 2006.** Larousse médical: Edition Larousse. 26p.
- 141. Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., Spranger, I., 1998.** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume 46(10).p.p. 4267-4274.
- 142. Taguri, T., Tanaka, T., Kouno, I., 2006.** Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, Volume 29(11).p.p.: 2226-2235.
- 143. Théophile, M., 2014.** Effet de la fertilisation sur la croissance et la production de *M. oleifera* local et *Moringa oleifera* PKM-1 dans la Région des Cascades (Burkina Faso). Mémoire de Master. Université polytechnique de Bobo-Dioulasso. Burkina Faso. 49p.
- 144. Tomás-Menor, L., Morales-Soto, A., Barrajon-Catalán, E., Roldán-Segura, C., Segura-Carretero, A., Micol, V., 2013.** Correlation between the antibacterial activity and the composition of extracts derived from various Spanish *Cistus* species. *Food and chemical toxicology*. Volume 55. p.p.: 313-322.
- 145. Tsaknis, J., Lalas, S., Gergis, V., Dourtoglou, V., Spiliotis, V., 1999.** Characterization of *Moringa oleifera* variety Mbololo seed oil of Kenya. *Journal of Agricultural and food chemistry*. Volume 47(11). p.p.:4495-4499.

- 146. Tsao, R., 2010.** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. Volume 2(12). p.p.: 1231-1246.
- 147. Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Iinuma, M., 1996.** Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *S.aureus*. *Journal of ethnopharmacology*. Volume 50(1).p.p.: 27-34.
- 148. Verma, A. R., Vijayakumar, M., Mathela, C. S., Rao, C. V. 2009.** In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food and Chemical Toxicology*. Volume 47(9).p.p.:2196-2201
- 149. Vinoth, B., Manivasagaperumal, R., Balamurugan, S., 2012.** Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Moringa oleifera* Lam. *International Journal of Research in Biological Sciences*. Volume 2(3). p.p.:98-102.
- 150. Wangcharoen, W., Gomolmanee, S. 2011.** Antioxidant capacity and total phenolic content of *Moringa oleifera* grown in Chiang Mai, Thailand. *Thai J. Agric. Sci.* Volume.p.p.:44, 118-124.
- 151. Wollgast, J., et Anklam, E., 2000.** Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*. Volume 33(6). p.p:423-447.
- 152. Youmbai, A., 2015.** Contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes de la famille des Apiaceae récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Algérien). Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla, Ouargla, Algérie. 37 p.
- 153. Zeghad, N., 2009.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister. Université Mentouri. Constantine. Algérie.96 p.

Les sites internet

[1]: Adresse URL: <http://hilinaruthnadia.e-monsite.com/pages/les-benefices-et-les-inconvenients-de-la-phytotherapie.html>. (Consulté le:30/05/2019).

[2]: Adresse URL: <http://www.ecolomag.fr/la-plante-du-mois-le-moringa-larbre-a-miracles/> (Consulté le: 30/05/2019).

Annexes

Annexes

Annexe 1: Tableau donne les valeurs nutritionnelles moyennes de 100 g des feuilles de *M. oleifera* fraîches et de poudre de feuilles séchés (**Broin et Saint Sauveur, 2010**).

Éléments	Feuille fraîche	Poudre de feuille
Matière sèche	20-25 %	90-95 %
Protéines	5-7 grammes	20-26 grammes
Minéraux totaux	2-3 grammes	8-11 grammes
Minéraux		
Calcium (Ca)	350-550 mg	1600-2200 mg
Potassium (K)	200-500 mg	800-1800mg
Magnesium (Mg)	80-120 mg	350-500 mg
Phosphore (P)	50-120 mg	200-600 mg
Fer (Fe)	5-8mg	18-28 mg
Manganese (Mn)	1.2-5.5 mg	5-9 mg
Zinc (Zn)	0.4-0.6 mg	5-9 mg
Cuivre (Cu)	0.2-0.3 mg	1.5-3 mg
Vitamines		
Vitamine C	120-200 mg	15-100 mg
Vitamine A (β -carotène)	1500-4000 μ g eq. rétinol	4000-8000 μ g eq. retinol
Vitamine E (α -tocophérol)	150-200 mg	80-150 mg

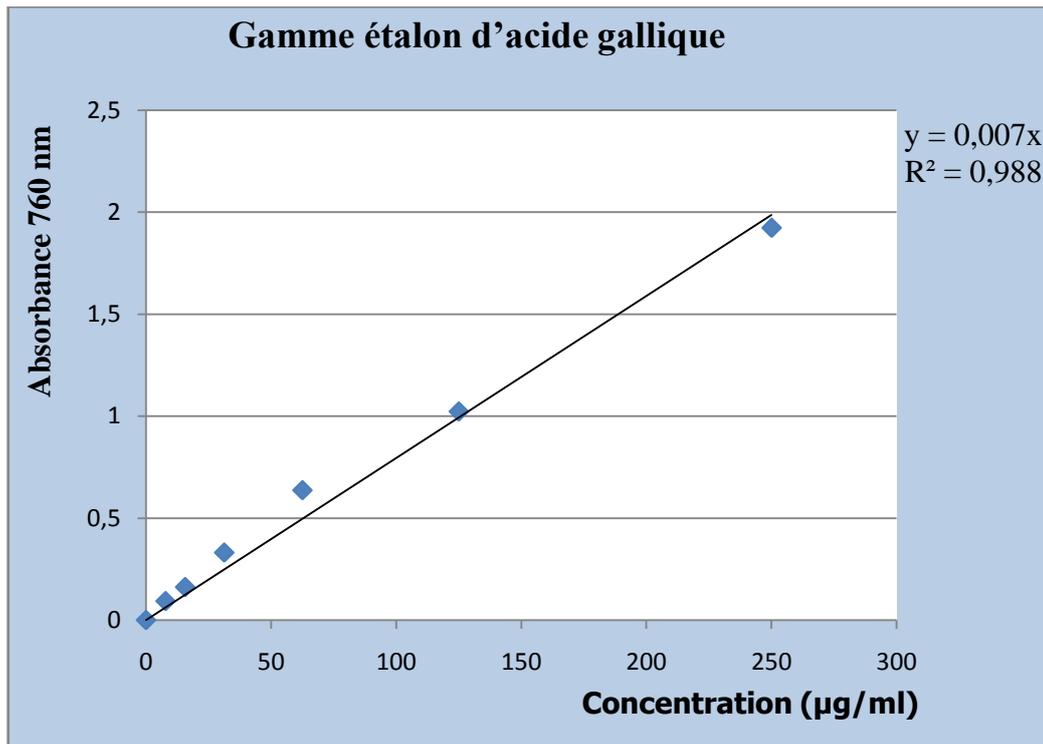
Annexe 2 : Les solutions utilisées et leurs préparations.

Solution	Préparation
Alcool de chlorure ferrique à 2%	Dissoudre 2 g dans 100 ml d'alcool (méthanol).
Hydroxyde de sodium (NaOH) à 10%	10 g d'hydroxyde de sodium dans 100 ml d'eau distillée
Chlorure ferrique (FeCl_3) à 1 %	1 g de FeCl_3 est dissout dans 100 ml d'eau distillée.

Carbonate de sodium (Na_2CO_3) (75 g/l)	7.5 g a été dissous dans 100 ml d'eau distillée
Acide gallique C = 1mg/ml	1 mg d'acide gallique dans 1 ml d'eau distillée
Folin-Ciocalteu 0.1N	1ml de FCR a été ajusté à 10 ml avec l'eau distillée
Trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2%	2g d' AlCl_3 diluée dans 100 ml d'eau distillée
Rutine C = 1mg/ml	1 mg de rutine dans 1 ml d'eau distillée
Vanilline 1% (p/v)	1g de vanilline a été diluée à 100 ml de mélange acide acétique glacial et HCL (98:2, v/v)
Acide acétique glacial et HCL (98:2, v/v)	2 ml HCL été ajusté à 100ml par l'ajout de 98 ml de l'acide acétique glacial

Annexe 3 : Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

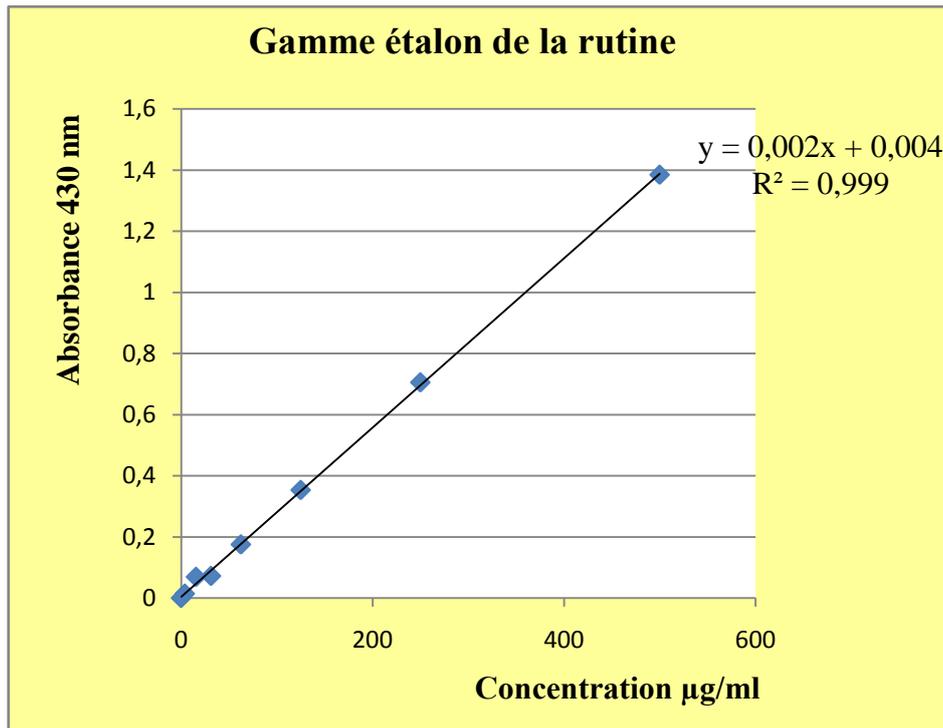
Tubes	1	2	3	4	5	6	7
Concentration d'acide gallique ($\mu\text{g/ml}$)	500	250	125	62.5	31.25	15.625	7.81
Volume d'acide gallique (en μl) prélèvement de moitié	500 (à partir de solution mère 1mg/ml)	500	500	500	500	500	500
Volume d'eau distillée ajouté (μl)	500	500	500	500	500	500	500
Volume total (μl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000



Annexe 4 : Gamme étalon de l'acide gallique.

Annexe 5 : Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de la rutine pour le dosage des flavonoïdes.

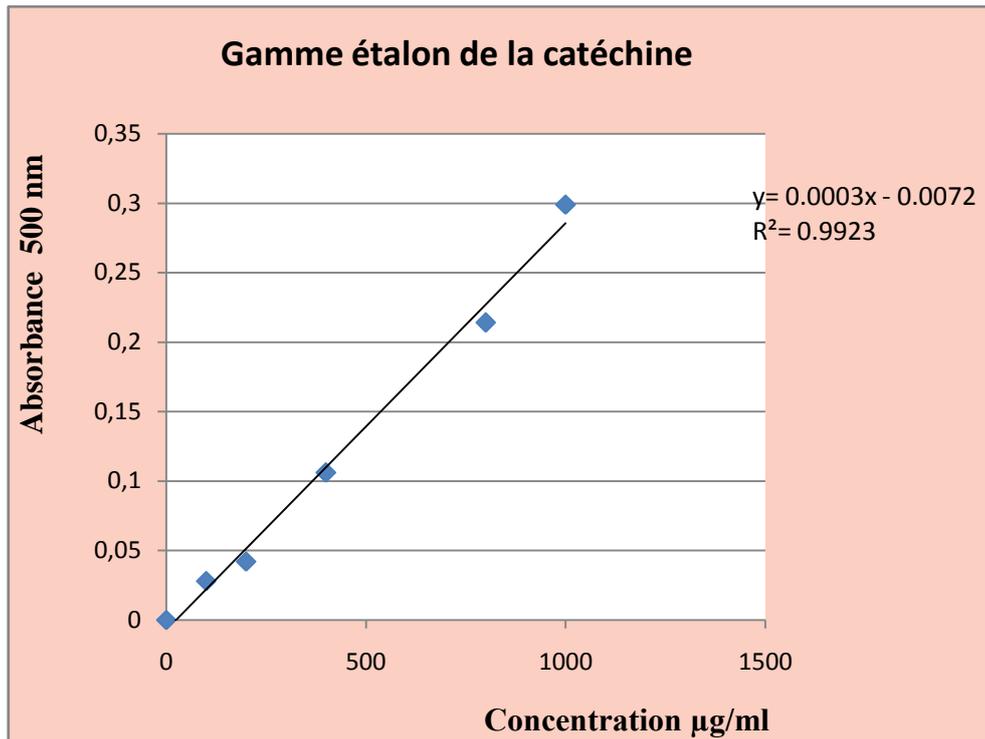
Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
Concentration de la rutine (µg/ml)	500	250	125	62.5	31.2 5	15.62 5	7.81	3.905
Volume de la rutine (en µl) avec prélèvement de moitié	1000 µl à partir de la concentration mère	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Volume de méthanol ajouté (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Volume total (µl)	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000



Annexe 6 : Gamme étalon de la rutine.

Annexe 7 : Dispositif expérimental de la gamme d'étalonnage de catéchine pour le dosage des tanins.

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentration de la catéchine (µg/ml)	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Volume de la catéchine prélevé (en µl) à partir de la concentration mère	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Volume d'eau distillée ajouté (µl)	900	800	700	600	500	400	300	200	100	0
Volume total (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000



Annexe 8: Gamme étalon de la catéchine.

Annexe 9: Activité antioxydante (préparation des réactifs et des extraits)

➤ **Préparation des concentrations mère (2mg/ml) des extraits (séché à l'air libre, au soleil, à étuve et lyophilisé) :**

Dissoudre 2 mg de chaque extraits dans 1 ml d'eau distillée.

Tableau 1: Préparation des différentes concentrations des 4 extraits (feuilles séchées à l'air libre, au soleil, à l'étuve et lyophilisé)

Tubes	1	2	3	4	5	6
Concentration d'extrait (µg/ml)	1000	500	250	125	62.5	31.25
Volume d'extrait (en µl) avec prélèvement de moitié	500 (à partir de solution mère 2mg/ml)	500	500	500	500	500
Volume d'eau distillée ajouté (µl)	500	500	500	500	500	500
Volume finale (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000

➤ **Préparation du DPPH :**

Dissoudre 25 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (100 %).

Une dilution de solution mère est effectuée juste avant le dosage par le méthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance entre 1,1 et 1,2 à 515 nm.

➤ **Préparation de l'ABTS et $K_2S_2O_8$:**

Deux solutions, ABTS 7mM et $K_2S_2O_8$ 2,45mM sont mélangées en volumes égaux 1:1, et incubé pendant 16 heures à l'obscurité. Le mélange obtenu a été par la suite dilué avec de l'éthanol afin d'obtenir une absorbance de l'ordre de 0,7 à 734 nm juste avant l'utilisation.

Solution ABTS 7mM: A 0,036g d'ABTS est ajouté à 100ml d'eau distillée.

Solution $K_2S_2O_8$ 2,45mM: dissoudre 0,0662g de $K_2S_2O_8$ dans 100ml d'eau distillée.

➤ **Préparation de concentration mère 1 mg/ml de l'acide ascorbique (pour le DPPH et l'ABTS):**

Dissoudre 1mg de l'acide ascorbique dans 1 ml d'eau distillée puis préparer une gamme pour la courbe d'étalonnage (Tableau 2; 3).

Tableau 2: La gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique (test du DPPH)

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentration de l'acide ascorbique ($\mu\text{g/ml}$)	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Volume de l'acide ascorbique prélevé (en ml) à partir de la concentration mère	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2
Volume d'eau distillée ajouté (ml)	1.8	1.6	1.4	1.2	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0
Volume total (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Tableau 3: La gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique (test de l'ABTS)

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8
Concentration de l'acide ascorbique ($\mu\text{g/ml}$)	500	250	125	62.5	31.25	15.625	7.81	3.905
Volume de l'acide ascorbique (en μl) avec prélèvement de moitié	500 (à partir de solution mère 1mg/ml)	500	500	500	500	500	500	500
Volume d'eau distillée ajouté (μl)	500	500	500	500	500	500	500	500
Volume total(μl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

➤ **Préparation du FRAP**

Le réactif FRAP a été préparé à partir d'un tampon acétate de 0,33 M (pH 3,6), de 10 mmol de TPTZ dans 40 mmol de HCl et de 20 mmol de chlorure de fer (III) dans des proportions respectives de 10: 1: 1 (v / v). Le réactif FRAP a été fraîchement préparé avant l'analyse et chauffé à 37 ° C avant utilisation.

- **Préparation de tampon acétate 0,3 M (pH 3,6)**

0.31g sodium acétate a été ajouté à 1.6 ml acide acétique glacial puis complété jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée

- **Préparation de TPTZ 10 mM**

Dissoudre 0.0312 g de TPTZ dans 10 ml HCl (40 mM)

- **Préparation de HCl 40 Mm**

0.33 ml de HCl a été complété jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée (une quantité d'eau distillée a été déposé avant l'ajout d'HCl)

- **Préparation de 20 mmol de chlorure de fer (III)**

Dissoudre 0.0324 g de FeCl_3 dans 10 ml d'eau distillée

➤ **Préparation de concentration mère 1 mg /5ml de l'acide ascorbique (pour le FRAP)**

Dissoudre 1mg de l'acide ascorbique dans 5 ml d'eau distillée puis préparer une gamme pour la courbe d'étalonnage (Tableau 4).

Tableau 4: La gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique (test du FRAP)

Tubes	1	2	3	4	5	6
Concentration de l'acide ascorbique (µg/ml)	100	50	25	12.5	6.25	3.12
Volume d'acide ascorbique (en µl) prélèvement de moitié	500 (à partir de solution mère 1mg/5ml)	500	500	500	500	500
Volume d'eau distillée ajouté (µl)	500	500	500	500	500	500
Volume total (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Annexe 10: Activité antibactérienne (préparation des milieux de culture et les concentrations des extraits).

➤ **Préparation du milieu Gélose nutritive (GN) :**

Lors de la préparation du milieu Gélose nutritive, 2.3 g est dissout dans 100 ml d'eau distillée puis chauffé et agité jusqu'à la dissolution totale. Cette préparation est autoclavée à 121 °C pendant 15 min.

➤ **Préparation du milieu Gélose Mueller-Hinton (MH) :**

Lors de la préparation du milieu Gélose Mueller-Hinton, 38 g est suspendu dans 1litre d'eau distillée puis chauffé jusqu'à la dissolution totale. Cette préparation est autoclavée à 120 °C pendant 15 min.

➤ **Préparation de l'eau physiologique stérilisée (0,99 %) :**

Un poids de 0,009 g de NaCl est diluée dans 100 ml d'eau distillée puis stérilisée à l'autoclave à une température de 120 °C pendant 15 min.

الملخص

Moringa oleifera L. هونبات ذو أهمية غذائية وطبية، منتشر في جميع أنحاء المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية . يهدف هذا العمل الحالي إلى دراسة تأثير طرق التجفيف المختلفة لأوراق *M. oleifera* (في الهواء الطلق, في الشمس وفي الفرن والمجففة بالتجميد) على محتوى المركبات الفينولية والأنشطة المضادة للأوكسدة والمضادة للبكتيريا. أعطى الاستخراج، الذي تم تنفيذه بواسطة النقع في الماء، غلات استخراج والتي تختلف وفقا لأنماط التجفيف، تتراوح بين 23 إلى 28%. أظهر الفحص الكيميائي النباتي تركيبة متنوعة من المستقلبات الثانوية. تم تحديد محتويات المركبات الفينولية، والتي تختلف تبعا لطريقة التجفيف، حيث يكشف مستخلص الأوراق المجففة في الفرن عن محتوى أعلى مقارنة بالمستخلصات الأخرى (محتويات: البوليفينول، الفلافونويد، العفص المكثف من 54.57 ميكروغرام EAG/ملغ، 185 ميكروغرام ER/ملغ، 154 ميكروغرام EC/ملغ من المستخلص على التوالي). تم تقييم نشاط مضادات الأوكسدة من خلال ثلاثة اختبارات هي DPPH، ABTS و FRAP. مستخلص الأوراق المجففة في الفرن قدم أفضل نشاط محاصرة الجذور مع IC50 من 5616.78 و 2961.58 ميكروغرام/مل على التوالي في اختبارات DPPH و ABTS، و قدرة إرجاعية للحديد 30.88 ميكروغرام EAA/مل من المستخلص. إن النشاط المضاد للبكتيريا تم تقييمه من خلال طريقة الانتشار في الوسط الصلب حيث تنشط جميع المستخلصات بتركيز مختلفة ضد اثنين من البكتيريا فقط، حيث يحتوي مستخلص الأوراق المجففة على الفرن على أفضل نشاط تثبيطي ضد سلالة *Pseudomonas aeruginosa* بقطر 14.90 ملم (12 ملغ/مل). أظهر مستخلص الأوراق المجففة في الهواء الطلق أعلى منطقة تثبيط ضد بكتيريا (9.87 *Streptococcus sp.* (ملم) في حين لم يلاحظ أي تأثير للمستخلصات الأربعة على السلالتين الأخرين *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*.

الكلمات المفتاحية: *Moringa oleifera*، تجفيف، مركبات فينولية، نشاط مضادات للأوكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا.

Abstract

Moringa oleifera L. is a plant of nutritional and medicinal interest, very widespread through the tropical and subtropical areas. The present work aims to study the effect of different methods of drying of leaves of *M. oleifera* (free air, sun, oven and freeze-dried) on the content of phenolic compounds and the antioxydant and antibacterial activities. The extraction, carried out by maceration, gave extraction yields which differ according to the drying modes, vary from 23 to 28%. The phytochimic sifting showed a composition varied from secondary metabolites. The contents of phenolic compounds were determined, they vary according to the method of drying, where the extract of the leaves dried by drying oven reveals a higher content compared to the other extracts (contents of: polyphenols, flavonoïdes, condensed tannins are of 54.57 µg EAG/mg; 185 µg ER/mg; 154 µg EC/mg of extract respectively). The antioxydant activity is evaluated by three tests: DPPH, ABTS and FRAP. The extract from the leaves dried by oven presented the best radical scavenging activity IC50 of 5616.78 and 2961.58 µg/ml respectively in the tests of the DPPH and the ABTS, and a reduction of the iron of 30.88 µg EAA/ml of extract. The antibacterial activity was evaluated by the method of diffusion in solid medium where all the extracts with various concentrations are active against two bacteria only; the extract of the leaves dried by oven has the best inhibiting activity opposite with the stock *Pseudomonas aeruginosa* with a diameter of 14.90 mm (12 mg/ml). The extract of the leaves dried by the free air presents the zone of the highest inhibition against the bacterium *Streptococcus sp.* (9.87 mm) whereas no effect of the four extracts was observed against the two other two strains (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*).

Key words: *Moringa oleifera*, drying, phenolic compounds, antioxidant activity, antibacterial activity.