

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique
Université Abderrahmane MIRA de Bejaia

Faculté des Sciences et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Filière : Science biologique
Option : Génétique Appliquée



Réf :

Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du diplôme
Master

Thème

**Teneur en composés phénoliques et activité
antioxydante d'extrait au méthanol des
feuilles de *MORINGA OLEIFERA***

Présenté par :

Mouhoubi Nadia & Bachioua Katiba

Composition du jury :

Mme : Amir-Metrouh H.	MCB	Présidente
Mr : Zaidi F.	Professeur	Encadreur
Mr : Belkacem N.	MCA	Examineur

Année universitaire : **2016 / 2017**

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant qui nous a donné la santé, la volonté, la puissance pour réaliser ce modeste travail.

Nous avons l'honneur d'exprimer notre profonde gratitude à Mr. Zaidi Farid notre encadreur pour le temps et l'intention qu'ils aient bien voulu consacrer au bon déroulement de ce travail.

Nous nous remercions également notre Co-promotrice, Melle Tassaadit .

Nos sincères remerciements vont également aux membres de jury Mme Amir et Mr Belkacem qui ont accepté d'examiner et de juger ce travail.

Nos remerciements vont à tous les enseignants du département de biologie qui ont contribué à notre formation.

Nous remercions nos chers parents, qui nous ont aidés à être ce que nous sommes et Qui nous ont entourés avec tant d'amour et d'affection. Aucune œuvre ne pourra vous récompenser pour le sacrifice que vous avez accompli pour nous. Puisse ce modeste travail être une reconnaissance, pour être digne de vous. Que le bon Dieu vous donne longue vie et bonne santé

On remercie tendrement notre famille et nos frères pour leur soutien et leur encouragement, et un merci du fond du nos cœur à nos sœur qui ont été toujours à notre côtés, qui nous ont soutenue et sur tout nous ont supportées au moment difficiles.

Un grand merci particulier à nos collègues et nos amies pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble, on les remercie pour leur confiance, leur disponibilité et leur fidélité.

Nadia et Katiba



Dédicaces

JE DEDIE CE TRAVAIL,

A mes très chère parents : Djamel et Samia.

A ma sœur Lila que j'aime beaucoup.

A mes très chère frères : Billal et Brahim.

Aux autres membres de la famille.

A ma copine Katiba et sa famille.

Je remercie également les personnels de la bibliothèque.

Je remercie tous mes amis en particulier les étudiants de l'option de génétique appliquée.

Enfin je remercie tous les enseignants, pour leur patience et pour tout ce qu'il nous avons offert comme enseignements et son conseils durant ce long cycle de formation, et tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Nadia



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

Aux deux êtres qui me sont les plus chers au monde mon père et ma mère à qui je dois le mérite d'être arrivée là, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude et mon affection.

A mes très chers frères :

Larbi, Moussa, Achour, Salem, Zaid, Hocine et Lakhdar

A ma très chère sœur : Romila

A mes nièces : Lydia et Celina

A mes neveux : Rafic et Yanis

A tous mes amis

A ma binôme, ma copine, Nadia et à tout sa famille.

A tous les étudiants de la promotion génétique appliquée 2016/2017.

Katiba

Liste des abréviations

- **MO** : *Moringa oleifera*
- **AOX** : Antioxydant
- **BSA** : Sérum Albumine Bovine
- **DPPH** : 1,1- Diphényl-2-Picrylhydrazyl.
- **EAG**: Equivalent Acide Gallique.
- **ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène
- **EAT** : Equivalent Acide Tannique.
- **EQ** : Equivalent Quercétine.
- **ECAT** : Equivalent catéchine
- **pH** : Potentiel Hydrogène.
- **SOD**: Superoxyde Dismutase
- **SDS**: Sodium Dodesyl Sulfate
- **TCA** : Acide Trichloracétique
- **TEA** : Triéthanolamine
- **BTH** : Butylhydroxytoluène

Numéro de la figure	figure	Page de la figure
1	Arbre de <i>moringa oleifera</i>	3
2	Feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	3
3	Fleur s de <i>Moringa oleifera</i>	4
4	Fruits de <i>Moringa oleifera</i>	4
5	Exemple de structure des tanins hydrolysable	8
6	Structure de quelques proanthocyanidines	9
7	Feuilles séchées de <i>Moringa oléifera</i>	14
8	poudre de <i>moringa oleifera</i>	14
9	Photographie d'Appareil de soxhlet	15
10	Protocole d'extraction des composés phénoliques	16
11	schéma de la détermination des différentes fractions phénoliques	17
12	protocole de dosage des polyphénols totaux	18
13	Dosage des phénols polymérisés	19
14	protocole de dosage des tanins condensés	20
15	protocole de dosage des tanins hydrolysables	20
16	mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes	21
17	protocole de dosage des flavonoïdes	21
18	Réduction du radical DPPH°.	23
19	la composition chimique des échantillons T et S des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	25
20	Teneur en phénols totaux solubles et phénols attachés aux parois.	27
21	Teneur en phénols polymérisés	27
22	la teneur en tanins hydrolysable des deux échantillons T et S	28
23	La teneur en tanins condensés des échantillons T et S	28
24	La teneur en flavonoïdes.	29
25	Mise en évidence d'autres métabolites secondaires.	30
26	pourcentage d'inhibition du radical DPPH	31
27	Le pouvoir chélateur de fer ferreux	32

28	Résultats du pouvoir réducteur des extraits T et S	33

Numéro	Titre	page
I	classification de <i>Moringa oleifera</i>	2
II	Conditions environnementales de <i>Moringa oleifera</i>	5
III	les principales sources des radicaux libres	11
IV	Mise en évidence d'autres métabolites secondaires	30

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Partie théorique

Chapitre I : *Moringa oleifera*

I.Généralités sur moringa.....	2
I.1.Origine de moringa oleifera	2
I.2. Classification et dénomination	2
I.3. Morfologie et caracteristiques.....	3
I.4.Characteristiques biologiques	4
I.5 .Valeur nutritionnelle des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	5
I.6. Utilisation des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	5
I.6.1. Culture.....	5
I.6.2. Assinissement des eaux usées et purification de l'eau	6
I.6.3. Alimentation	6
I.6.4.Médecine et pharmacologie.....	6

Chapitre II : *Métabolites secondaires*

II . <i>Métabolites secondaires</i>	7
II.1. Définition	7
II.2.Classification des <i>métabolites secondaires</i>	7
II.2 .1. Composés phénoliques	7
II.2.1.1 . Acides phénoliques.....	7
II.2.1.2.Tanins.....	8
II.2.1.3 Flavonoides	9
II.3. Alcaloides	9

II.3.Térpenoides.....	10
-----------------------	----

Chapitre III :Radicaux libres et antioxydants

III.1.Radicaux libres	11
III.1.1.Definition.....	11
III.1.2. Origine.....	11
III.1.3. Principaux radicaux libres.....	12
III.2. Stresse oxydatif	12
III.3. Antioxydants	12

Partie pratique

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1.Matériel végétal	14
IV.1.1. Préparation des échantillons	14
IV.2.Composition chimique globale des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	15
IV.3. Extraction des composés phénoliques.....	15
IV.4.Dosage des composés phénoliques.....	16
IV.4.1.Dosage des composés phénoliques totaux	18
IV.4.2.Dosage des tanins totaux.....	19
IV.4.3.Dosage des tanins condensés.....	19
IV.4.4.Dosage des tanins hydrolysables	20
IV.4.5.Dosage des flavonoïdes.....	21
IV.5. Mise en évidence d'autres métabolites secondaires.....	22
IV.6. Activité antioxydante.....	22
I.6.1.Activité antiradicalaire (DPPH).....	22
IV.6.2.Chélation du fer ferreux.....	23
IV.6.3.Pouvoir réducteur.....	24
IV.7. Analyse statistique.....	25

Chapitre V :Résultats et discussion

V.1.Composition chimique globale	25
V.2. Dosage des composés phénoliques.....	25
V.2.1. Teneur en polyphénols totaux solubles et attachés aux parois.....	25

V.2.2. Teneur en tanins totaux.....	27
V.2.3.Teneur en tanins hydrolysables.....	28
V.2.4.Teneur en tanins condensés.....	28
V.2.5. Teneur en flavonoïdes.....	29
V.3.Mise en evidence d'autre <i>métabolites secondaires</i>	29
V.3.Activité antioxydante.....	31
V.3.1. Test au DPPH.....	31
V.3.2 .Chélation du fer feraux.....	31
V.3.3.Pouvoir réducteur.....	32
VI.Discussion général.....	34
Conclusion	35
Références bibliographiques.....	36
Annexes	

Introduction

Les végétaux supérieurs ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques Complexes des métabolites dits secondaires. Ces composés sont utilisés par les plantes pour diverses fonctions adaptatives notamment en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. (THOMAS, 2011)

.De nombreuses études ultérieures ont prouvé la bioactivité de ces molécules, citant les activités **antioxydants**. C'est ainsi que l'usage des plantes renfermant ces métabolites dont sont utilisés dans diverses domaines thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et alimentaires (RISPAIL *et al*, 2005).

Le genre *Moringa* appartenant à la famille des Moringaceae comporte plusieurs espèces largement répandues dans les régions méditerranéennes, le Sud-Ouest de l'Asie et d'Amérique (Olson et Carlquist, 2001). De par leur richesse en composés antioxydants naturels comme les flavonoïdes et les vitamines (Vongsak *et al*, 2013), les feuilles de *Moringa oleifera* sont utilisées en tant que plante médicinale et nutritionnelle.

L'objectif de ce travail consiste à une étude comparative des compositions phénoliques et de l'activité antioxydant des extraits méthanoliques des feuilles de *Moringa oléifera*.

Nous avons dans une première étape, déterminé la teneur en composés phénoliques de nos échantillons des feuilles de *Moringa oleifera*.

La deuxième étape consiste a évalué leur activité antioxydant (activité anti radicalaire, pouvoir réducteur et la chélation du fer ferreux).

La troisième étape nous avons réalisé la mise en évidence d'autres métabolites secondaires (saponine, tanins, terpénoïde et alcaloïde).

Chapitre I
Moringa oleifera

I. Généralités sur *Moringa oleifera*

I.1. Origine

Moringa Oleifera est originaire de l'Inde, dans les vallées au Sud de l'Himalaya. Aujourd'hui, on le retrouve tout le long de la zone tropicale et subtropicale (Price, 2007; Panchal *et al.*, 2010; Aberra, 2011), dans plusieurs pays africains, en Asie et en Amériques (Olson, 2002)

I.2. Dénomination et taxonomie

Moringa oleifera est mentionné dans le « Shushruta Sanhita », écrit au début du premier siècle avant J-C, sous le nom de « Shigon » (Odee, 1998). Il est connu plus généralement dans le monde sous le nom de moringa et il est appelé aussi acacia blanc, ben ailé, moringa benzolive, pois quenique, neverdie, mother's best et ne meurt jamais.

Moringa oleifera lam (synonyme : *moringa pterigosperma* Gartner) appartient à la famille des Moringaceae contient 13 espèces (Olson, 2002) les 12 autres sont bien connues *M.arborea*, *M.concanensis*, *M.borziana*, *M.drauhardii*, *M.hildebrandtii*, *M.longituba*, *M.peregrina*, *M.ovalifolia*, *M.pygmaea*, *M.rival*, *M.uspoloniana*, *M.stenopetala* (Hédji *et al.*, 2014).

Tableau I : classification de *Moringa oleifera* (Mustapha Hassan , 2013).

Classification	Nom spécifiques
Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Dilleniidae
Ordre	Cappareles
Famille	Moringaceae
Genre	Moringa
Espèce	Moringa oleifera

I.3. Morphologie et caractéristiques

Moringa est un arbre (**Figure1**) à croissance rapide, qui peut atteindre 7 à 12 mètres de hauteur.



Figure 1 : Arbre de *moringa oleifera* ([www.moringa news.org](http://www.moringa-news.org))

- ✓ **Tronc :** Le tronc est généralement droit, mais il est parfois très peu développé. En général, il atteint 1,5 à 2 mètres de haut avant de se ramifier, bien qu'il puisse parfois atteindre les 3 mètres.
- ✓ **Branches :** Les branches poussent de manière désorganisée et la canopée est en forme de parasol.
- ✓ **Feuilles :** Les feuilles (**Figure2**), alternes et bi ou tripennées, se développent principalement dans la partie terminale des branches. Elles mesurent 20 à 70 cm de long, elles ont un long pétiole avec 8 à 10 paires de pennes composées chacune de deux paires de folioles opposés, plus un à l'apex, ovales ou en forme d'ellipse, et mesurant 1 à 2 cm de long (**Morton, 1991**).



Figure 2 : Feuilles de *Moringa oleifera* (**Price, 2007**)

- ✓ **Fleure :** Les fleurs (**Figure3**) mesurent 2,5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires et tombantes de 10 à 25 cm. Elles sont généralement abondantes et

dégagent une odeur agréable (Foidl *et al.*, 2001) Elles sont blanches ou couleur crème, avec des points jaunes à la base (Olson., 2001).



Figure 3 : Fleur s de *Moringa oleifera* (Rolloff *et al.*, 2009).

- ✓ **Fruits :** Les fruits forment des gousses (Figure4,a et b) à trois valves, mesurant 10 à 50 cm de long. Chaque gousse contient entre 12 et 35 graines (Foidl *et al.*, 2001).
- ✓ **Graines :** Les graines (Figure4,c et d) sont rondes, avec une coque marron. La coque présente trois ailes blanches. Un arbre peut produire 15000 à 25000 graines par an. Une graine pèse en moyenne 0,3 g et la coque représente 25% du poids de la graine (Foidl *et al.*, 2001).

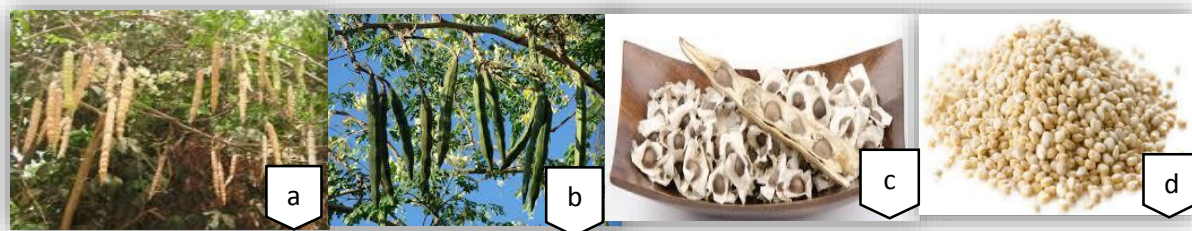


Figure 4 : Fruits : gousse sèche (a) et gousse fraîche (b), graines (c) et amandes (d) de *Moringa oleifera* ([www.moringa news.org](http://www.moringa-news.org))

I.4. Les caractéristiques biologiques :

Moringa oleifera est un arbre qui est particulièrement résistant à de nombreuses conditions de cultures différentes : sols pauvres ou riches, conditions plutôt sèches ou plutôt humides. Elle exige minimum 250 mm de la matière de précipitations annuelles et au maximum à plus De 300 mm .et elle pousse dans des sols dont le PH varie entre 5 à 9 (Kafuku et Mbarawa, 2010).

La meilleure croissance de *moringa oleifera* est observée dans des sols sablonneux.

Tableau II : Conditions environnementales de *Moringa oleifera* (Rosillon, Savadogo *et al.* 2012)

Paramètres	Valeur (Fourchette)
Climat	Tropical ou subtropical
Altitude	100-700 m
Température	22-25 °c
Précipitation	700-850mm /an
Sol	argilo sableux bien drainés, alluvions argileux ou de limon sablonneux
pH du sol	légèrement acide

I.5. Valeur nutritionnelle des feuilles de *Moringa oleifera*

Les feuilles de *Moringa oleifera* font partie de la famille des légumes feuilles verts foncés, qui sont des aliments particulièrement riches en nutriments.

En particulier, les feuilles de *Moringa oleifera* sont une bonne source de protéines, de calcium de fer, de carotène (converti en vitamine A dans le Corps humain), de vitamine C et de vitamine E. selon **Broin(2005)**, les feuilles de *Moringa oleifera* ont un taux de matière sèche élevé (autour de 20-25%).

I.6. Utilisations de *Moringa oleifera*

I.6.1. Culture

La culture du *Moringa olEifera* se prête à l'agroforesterie et à l'agriculture.

L'arbre pousse de 3 à 4 mètres par an et présente donc un grand intérêt pour le reboisement et pour la protection des sols contre l'érosion. Et d'après **Foidl *et al* (2001)** *Moringa* joue un rôle dans l'accélération de croissance végétale.

I.6.2. Assainissement des eaux usées et purification de l'eau

Les graines de *Moringa oleifera* sont utilisées pour traiter l'eau, grâce à sa richesse en polyélectrolytes cationiques actifs (**Poumaye et al., 2012**) utilisés comme polypeptides naturels non toxiques qui neutralisent les matières colloïdales et provoquent la sédimentation des particules minérales et organiques (**Foidl et al., 2001**).

I.6.3 Alimentation

Les jeunes feuilles sont comestibles et sont couramment consommées cuites, comme des épinards, ou préparées en soupe ou en salade (**Olson, 2001**). Elles sont exceptionnellement riches en provitamine A, en vitamines du groupe B et C, en minéraux (en particulier en fer) et en acides aminés méthionine et cystéine, sources de soufre. La composition en acides aminés des protéines contenues dans les feuilles est équilibrée pour l'alimentation humaine (**Makkar et Becker 1996**)

Les jeunes gousses vertes sont très goûteuses et peuvent être consommées bouillies comme des haricots.

Les graines doivent être consommées vertes et les graines sèches peuvent être réduites en poudre et utilisées pour assaisonner les sauces. Les racines des jeunes plants peuvent également être séchées et réduites en poudre pour relever l'assaisonnement (**Delaveau et Boiteau 1980**). Les fleurs peuvent être consommées après avoir été blanchies ou crues comme ingrédient d'une salade. La résine issue du tronc peut encore être utilisée pour épaissir les sauces (**Delaveau et Boiteau 1980**)

I.6.4 Médecine et pharmacologie

De nombreuses vertus thérapeutiques sont attribuées à *Moringa oleifera* utilisé en médecine traditionnelle pour le traitement de maladies inflammatoires, infectieuses, parasitaires, tumorales et prévention contre les dommages oxydatifs (**Tahiliani et Kar, 2000; Ferreira et al., 2007; Kumbhare et al., 2012**).

Des études sur l'utilisation des extraits de feuilles de *Moringa oleifera* ont confirmé les propriétés hypoglycémiantes chez des patients atteints de diabète de type II et d'autres maladies cardiovasculaires (**Jaiswal et al., 2013 ;Anwar et al., 2007**).

Chapitre II

Métabolites secondaires

I. Métabolites secondaires

II.1 Définition

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures (**Hartmann ,2007**). Ils sont synthétisés à partir des précurseurs originaire du métabolisme primaire (Acétyl COA, acides aminés, acides gras) (**Kabera et al.,2014**).

Le terme «métabolite secondaire», Est utilisé pour décrire une vaste gamme des substances présente dans un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base des cellules vivantes dans les plantes qui sont responsables à différentes fonctions(la Défense, la communication intercellulaire, la régulation des cycles Catalytiques, l'adaptation des végétaux à leur environnement) (**Verscheure, Lognay et al. 2002**).

II.2 Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont repartis en plusieurs grandes familles chimiques : les composés phénoliques, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les saponines (**Mamadou, 2011**).

II.2.1 Les composés phénoliques (polyphénols)

Les composés phénoliques constituent l'une des grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal (**Lugasi et al., 2003**).

Ce sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, a partir les racines jusqu'aux fruits (**Yusuf, 2006**). Ces corps jouent un rôle fondamental car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, Une alimentation équilibrée fournit à l'Homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (**Sculbert et al., 2000**).

II.2.1.1 Les Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont rares dans la nature. Ces composés se répartissent en deux groupes : Les acides hydroxycinnamiques et les acides hydroxybenzoïque. Il sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales et présents chez toutes les céréales (**Guignard, 2001**).

a-Acides hydroxycinamique

Acides hydroxycinamiques dérivent de l'acide cinnamique. Ils ont une structure générale de base de type (C6-C3) et ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**). Les acides hydroxy cinnamiques, les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique.

b- Acide hydroxybenzoïques

Ils dérivent par hydroxylation de l'acide benzoïque (acide gallique), ils ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ils existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**). Et les plus abondants, sont l'acide salicylique et l'acide gallique.

II.2.1.2 Tanins

Les tanins végétaux sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et ayant des poids moléculaires compris entre 500 et 3000 (**Aguilera-Carbo et al., 2008**) En outre, ils ont certaines propriétés spéciales telles que l'aptitude à la précipitation des alcaloïdes et autres protéines. Ils se divisent en deux catégories : les tanins hydrolysables (groupe principalement responsable des effets toxiques pouvant apparaître lors de la consommation de certaines plantes) et les tanins condensés (ils ne traversent pas la barrière intestinale, ils sont donc beaucoup moins toxiques que les tanins hydrolysables) (**Grayer et al, 1992**)

a-Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables (**Figure 5**), constitués par une molécule glucidique sur laquelle est estérifiée de l'acide gallique ou un de ces dérivés (acide éllagique acide m-digallique ...etc) . Ils sont facilement hydrolysés par voie chimique ou enzymatique. (**Bruneton, 1999**).

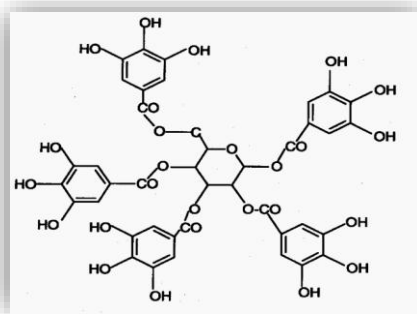


Figure 5 : Exemple de structure des tanins hydrolysable (**Apak et al., 2007**).

b-Tanins condensés ou proanthocyanidols

Les tanins condensés (**Figure6**) résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavanes (flavanes ol-3 ou catéchine). Sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités de flavanoïdes liés par des liaisons de type C-C (Type B) ou C-O-C (type A) (**Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992 ; Jean-Blain, 1998**)

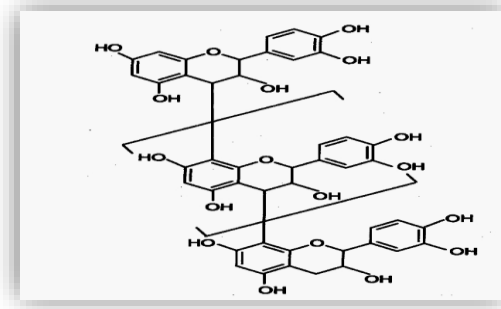


Figure 6 : Structure de quelques proanthocyanidines (**Apak et al., 2007**).

II.2.1.3.Flavonoïdes

Le nom de « flavonoïde » proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (**Havsteen, 2002**) ; cependant, d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde avait plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune) (**Karaali et al, 2004 ; Malešev et Kuntić, 2007**).

Les flavonoïdes sont des pigments végétaux, simples ou glycosylés, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Medić-Šarić et al, 2004**)

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base ; ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitués de deux cycles aromatiques et qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (**Erdman et al, 2007**).

II.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes forment une grande famille de molécules chimiquement hétérogène. Leur caractéristiques communes sont la présence d'au moins un atome d'azote et leur forte activité biologique. L'atome d'azote accepte souvent un proton, ce qui leur confère un caractère légèrement basique en solution, d'où leur nom d'alcaloïde (**Zenk et Juenger, 2007**)

. Dans leur grande majorité, les alcaloïdes sont hétérocycliques, bien que quelques composés azotés aliphatiques (non cycliques) comme la mescaline et la colchicine soient parfois classés dans les alcaloïdes. Globalement quelque 10.000 alcaloïdes ont été recensés dans à peu près 20 pour 100 des plantes à fleurs essentiellement des dicotylédones herbacées (**Southon et Buckingham, 1989**).

II.4. Terpénoides

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une unité simple à cinq atomes de carbone nommée isoprène. Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne, ainsi que dans les divers modes d'assemblage. La formation de structures cycliques, l'addition de fonction comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes (**Hopkins, 2003**). Selon le nombre d'unités isopréniques,

On distingue les monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes en C₂₀, les triterpènes en C₃₀, les tétraterpènes en C₄₀ et les polyterpènes qui comportent plus de 500 carbone. Les monoterpènes et les sesquiterpènes volatiles sont les principaux composants des huiles essentielles (HE) (**Lamarti et al., 1994**)

Chapitre III
Radicaux libres
et
antioxydants

III.1.Radicaux libres

III.1.1.Définition

Un radical libre est toute espèce chimique (atome, ion ou molécule) contenant un électron simple et non apparié (Favier, 1997). L'ensemble de ces radicaux libre et leur précurseurs est appelé espèce réactif de l'oxygène (Vansant ,2004).

Les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant de cette façon un processus de réactions en cascade (chaîne) (Januel, 2003)

III.1.2.Origine

Les radicaux libres sont dérivés soit des processus métaboliques essentiels normaux dans le corps humain ou à partir de sources externes.

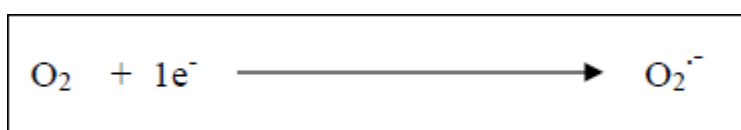
Tableau III : les sources des radicaux libres (tacchini et scriner ,2005)

Endogène	Exogène
Mitochondrie	Cigarette
Phagocytoses	Radiation ionisantes
Xanthine oxydase	Pollution diverses
Métaux de transition	Rayonnement
Peroxisome	Produits chimiques et médicaments
Exercice physique	Microorganisme infectieux
Inflammation	

III.1.3.Principaux radicaux libres

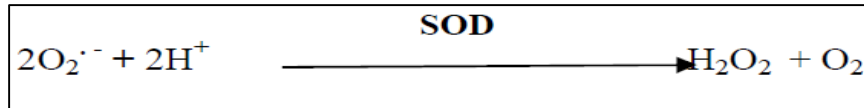
Anion superoxyde (O₂⁻)

L'anion superoxyde est le produit de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire (Dröge, 2002).



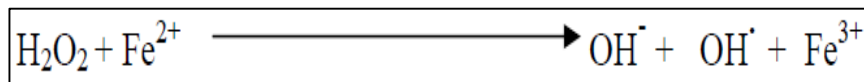
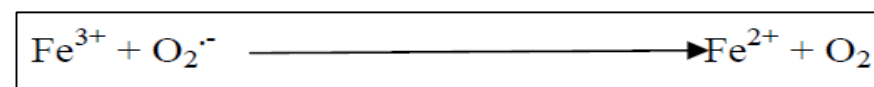
Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène se forme par dismutation du radical superoxyde, cette réaction peut être spontanée ou catalysée par le superoxyde dismutase (SOD) (Helliwell *et al.*, 2006)



Radical hydroxyle (OH°):

Les propriétés du radical hydroxyle (OH°) méritent ainsi d'être soulignées pour leurs effets délétères. Sa production est initiée, en particulier lors de la réaction de Fenton entre le peroxyde d'hydrogène et le fer ferreux. Elle est stimulée par la réduction du fer ferrique formé, en présence de l'anion superoxyde ((Aurousseau, 2002). Le OH° ainsi formé est extrêmement réactif et va oxyder très rapidement les molécules voisines (Valko *et al.*, 2006).



III.2. Stress oxydatif

En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production des espèces oxygénées réactives (EOR) au niveau des mitochondries et les systèmes de défenses antioxydants. Lorsque cet équilibre est défavorable, il entraîne un stress oxydatif (Pincemail *et al.*, 2002), ce qui a pour conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules tel que l'oxydation des sucres et protéines, peroxydation des lipides et mutations génétiques (Gutteridge, 1993)

III.3. Les antioxydants

Un antioxydant est une molécule assez stable pour faire donner d'un électron à un radical libre déchaîné et le neutraliser, Ces antioxydants retardent ou inhibent les dommages cellulaires principalement par leur propriété de piégeage des radicaux libres. Il y a deux catégories de base

d'antioxydants, d'origine naturelle et synthétique (**Sanchez et al., 2007**). D'une manière générale, les antioxydants naturels peuvent être des composés phénoliques (flavonoïdes, et les acides phénoliques), des composés azotés (alcaloïdes, des acides aminés et des amines), ou des caroténoïdes ainsi que l'acide ascorbique. Alors que les antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) ont été utilisés en tant qu'antioxydants depuis le début de ce siècle (**Meddour et al., 2013**).

Certains de ces antioxydants, sont produits au cours du métabolisme normal dans le corps. D'autres antioxydants plus légers se trouvent dans le régime alimentaire sous forme de vitamines : vitamine E (α -tocophérol), la vitamine C (acide ascorbique), et la β -carotène. Ne pouvant pas être synthétisés par l'organisme, ces micronutriments doivent être fournis dans le régime alimentaire (**Popovici et al., 2009**).

Chapitre IV

Matériel et méthodes

IV.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est représenté par la poudre de feuilles de *Moringa oleifera*.

Les feuilles de *Moringa oleifera* (**Figure7**) proviennent du Sud de l'Algérie (oued souf) et étaient récoltées en octobre 2015.

IV.1.1. Préparation des échantillons

➤ Séchage

- **Echantillon T** : Le séchage est effectué à l'air libre dans un endroit sec (tazmalt) et à température ambiante (à l'abri de lumière).
- **Echantillon S** : Le séchage se fait à l'air libre dans un endroit humide (ville de Bejaia) et à température ambiante (à l'abri de lumière).

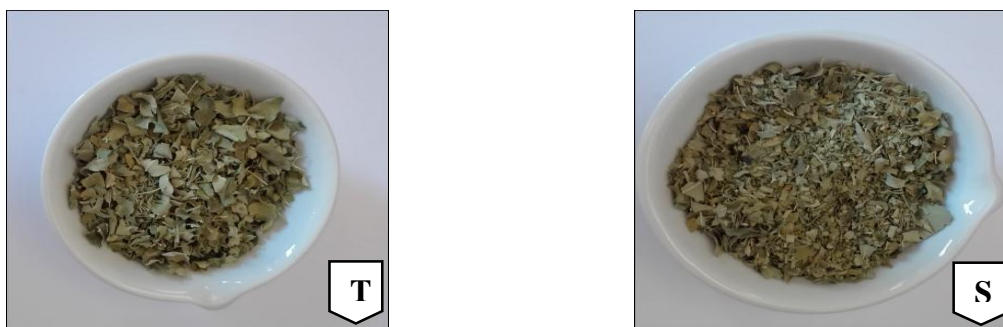


Figure 7 : feuilles de *Moringa oléifera* (Echantillons T et S)

- **Broyage** : Les feuilles sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre.
- **Tamissage** : Les poudres des feuilles (**Figure8**) obtenues après le broyage ont été tamisées à l'aide d'un tamis de 0,5mm de diamètre des mailles.



Figure 8 : poudre de *moringa oleifera* (S et T)

La poudre obtenue est conservée dans des bocaux en verre à l'abri de lumière.

IV.2. Composition chimique globale des feuilles de *Moringa oleifera*

La matière sèche est déterminée (AOAC, 1998). Par dessiccation de l'échantillon à l'étuve (105°C) jusqu'à poids constant.

Les matières grasses sont déterminées au Soxhlet.

La méthode de soxhlet (**figure9**), consiste à libérer la matière grasse à l'aide d'un solvant Organique non miscible à l'eau, suivi de l'évaporation du solvant et de la pesée de l'extrait Obtenu après dessiccation à 105°C pendant 24 heures (AOAC,1998).

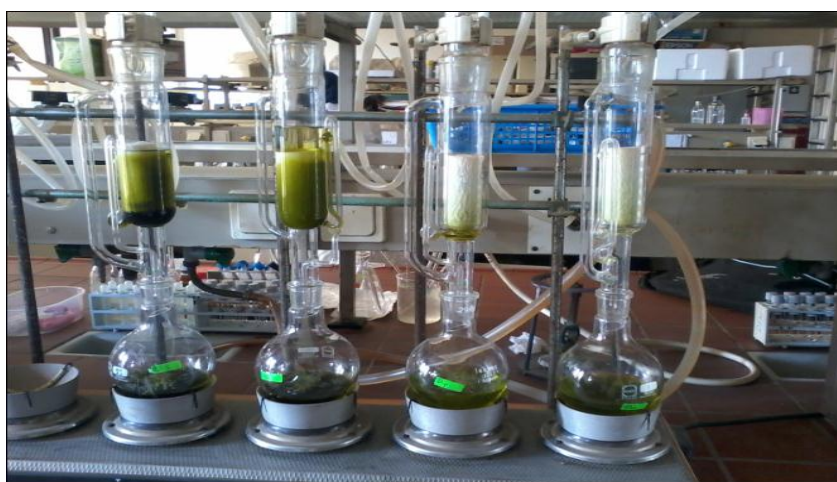


Figure 9 : Photographie d'Appareil de soxhlet.

Les cendres totales sont obtenues par incération au four à moufle 550°C pendant 4 à 6 h (AACC 1995).

La teneur en protéines brute a été déterminée par la méthode de **Kjeldahl 1883**. Le taux en protéines est calculé en utilisant un facteur de conversion de l'azote de 6.25.

IV.3. Extraction des composés phénoliques

L'extraction des polyphénols (**Figure10**) est réalisée par macération selon la méthode d'**Oomah et al (2010)**. Nous avons utilisé du méthanol 80% comme solvant d'extraction.

Quand une matrice est au contact d'un solvant, les composants solubles dans le matériel migrent vers le solvant. Ainsi, l'extraction est un transfert du principe actif de la matrice vers le solvant selon le gradient de concentration (**Handa., 2008**)

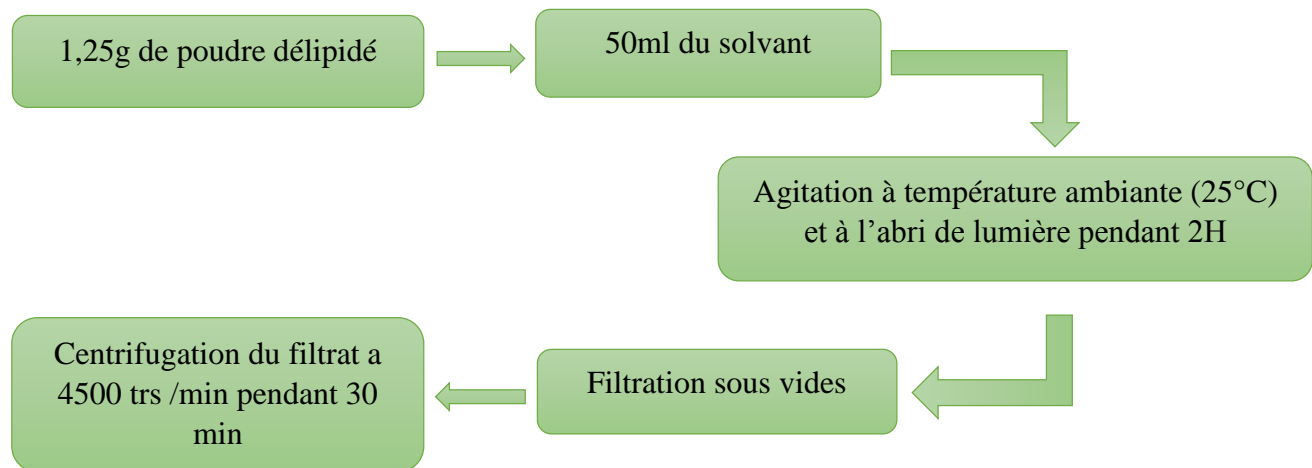


Figure 10 : Protocole d'extraction des composés phénoliques (Oomah *et al.* 2010)

Pour doser les composés phénoliques attachés aux parois cellulaires, une extraction avec 100 ml de Noah est réalisée sur les résidus solides obtenus pendant 20 heures à froid ; après filtration sous vide nous obtenons le filtrat (dosage des composés phénoliques) et un résidu solide (scehovic 1990).

IV.4.Dosage des composés phénoliques (Figure 11)

Réalisé selon le schéma analytique donné par SCEHOVIC (1990).

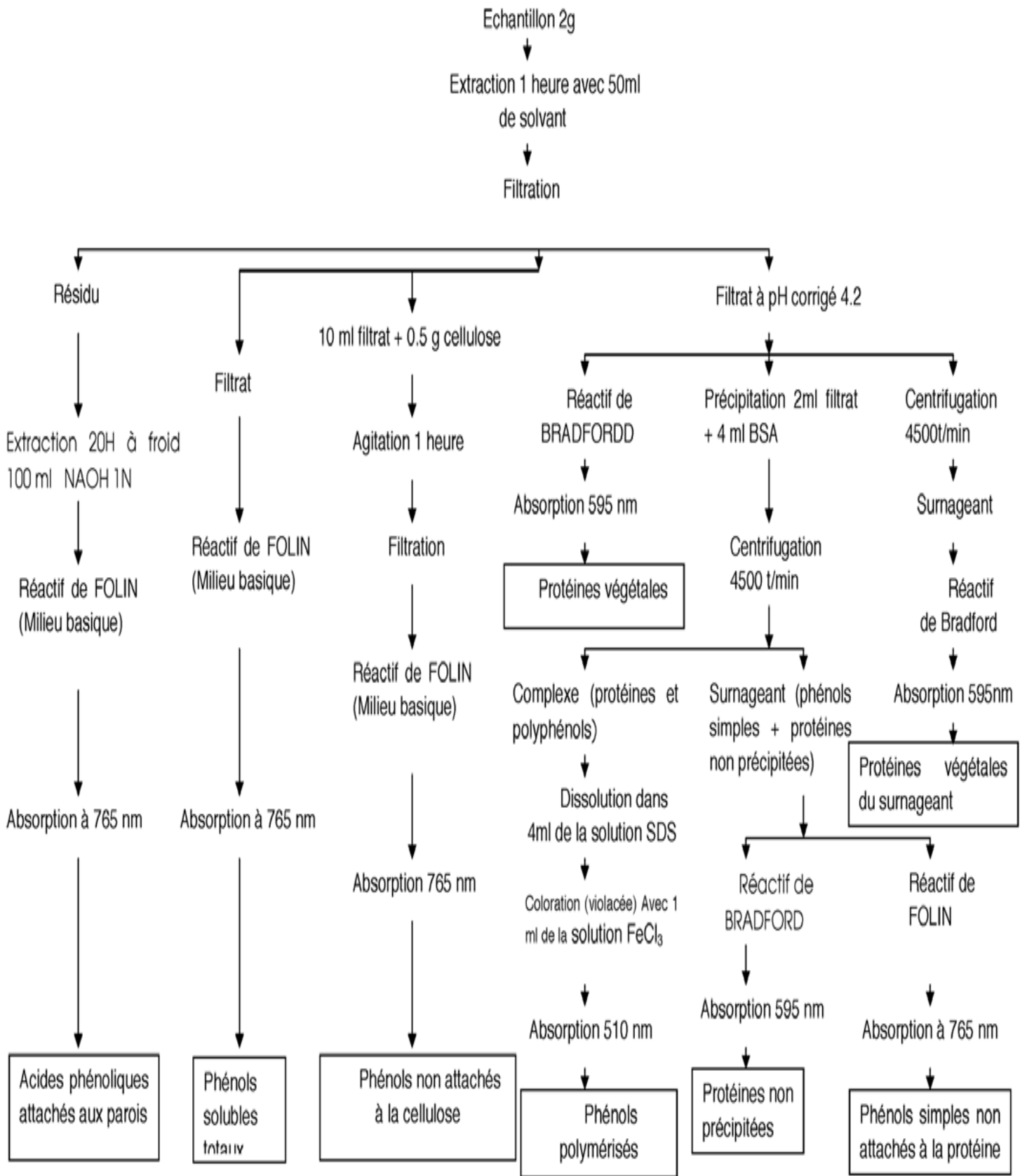


Figure 11 : schéma de la détermination des différentes fractions phénoliques (scehovic 1990)

IV.4.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des polyphénols totaux solubles (**Figure 12**), attachés et non aux parois est réalisé selon la méthode spectrométrique décrite par **Skerget *et al* (2005)** utilisant le réactif de folin-Ciocalteu.

Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise en 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Protocole

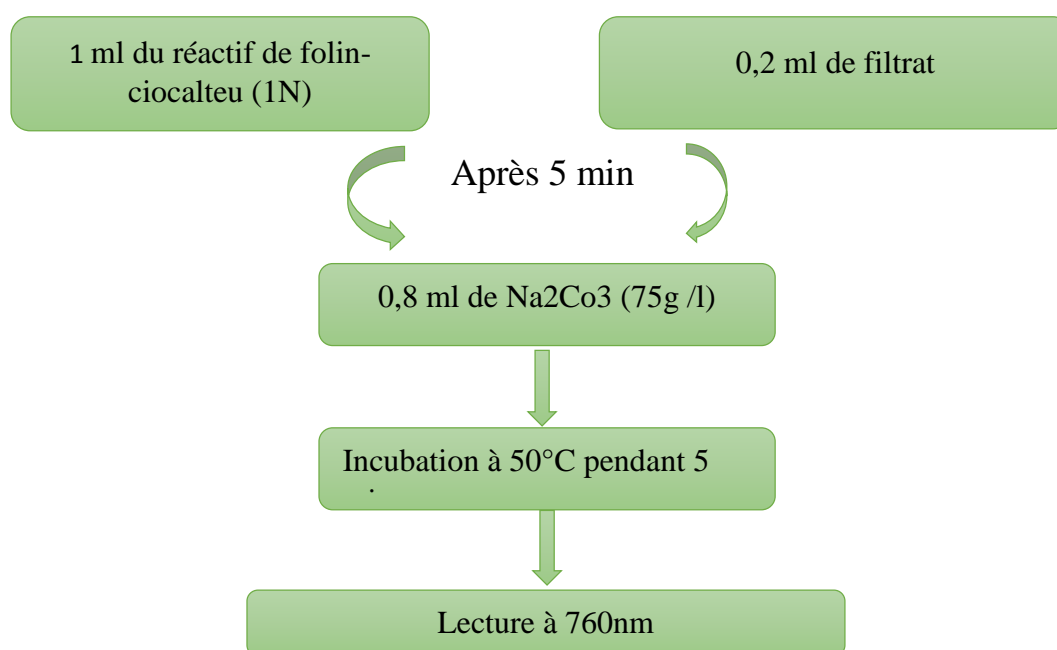


Figure 12 : protocole de dosage des polyphénols totaux (**Skerget *et al*. 2005**)

Les concentrations en phénols totaux solubles sont déterminées par référence à une gamme d'étalon obtenue avec l'acide gallique (**Annexe I**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique EAG par g d'échantillon (**Mg EAG/g Ms**).

IV.4.2. Dosage des tanins totaux (Phénols polymérisés) :

Pour les phénols polymérisés (**Figure13**) nous avons utilisé la méthode décrite par (**Hagerman et Butler., 1978**)

Le dosage des tanins totaux est basé sur la formation d'un complexe tanins-protéines ; La détermination de la teneur en tanins précipités repose sur la précipitation de la protéine (Sérum albumine bovine BSA) par les tanins (**Hagerman, 2002**).

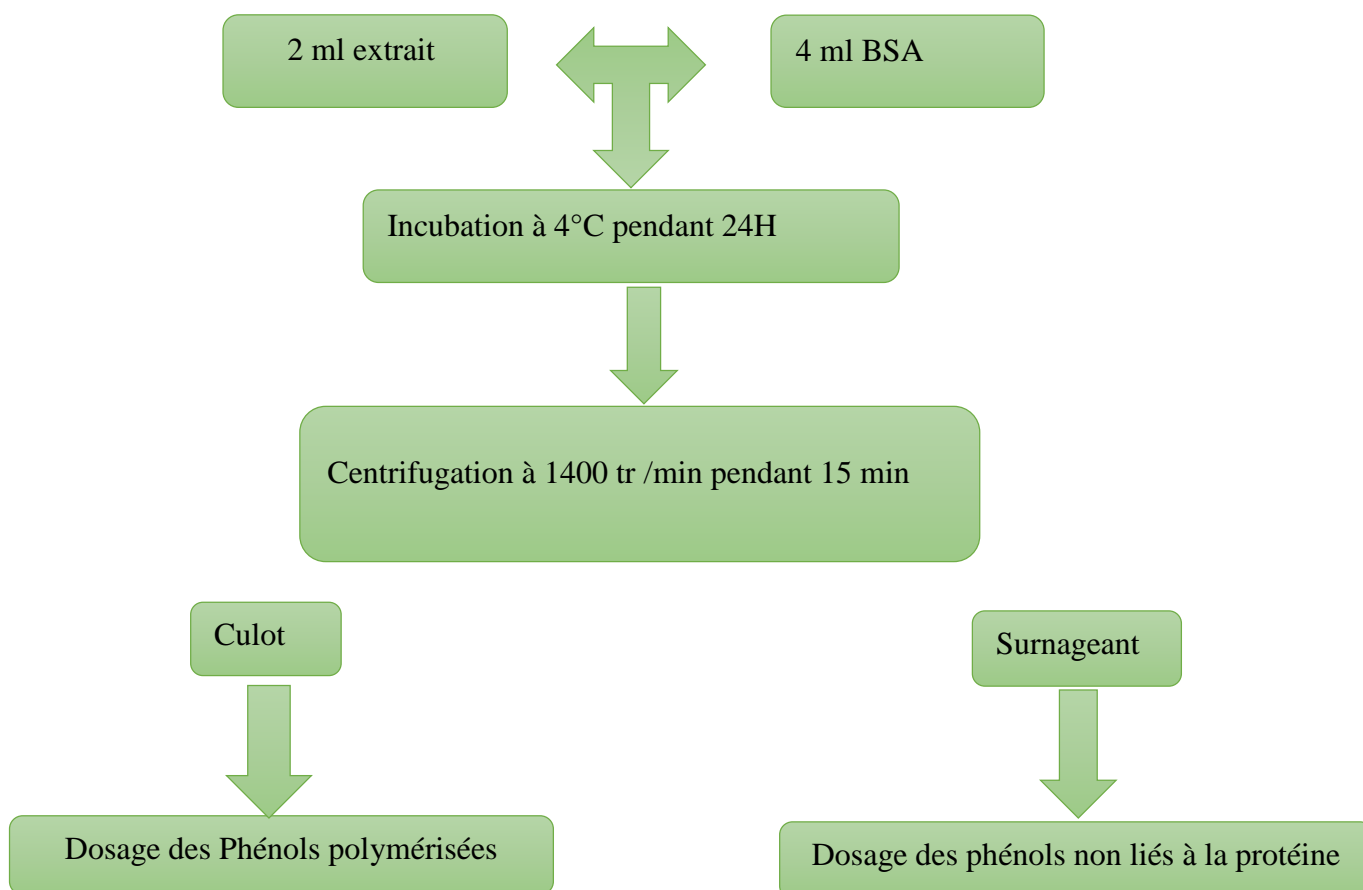


Figure 13 : Dosage des phénols polymérisés (**Hagerman et Butler., 1978**)

IV.4.3. Dosage des tanins condensés

La méthode à la vanilline décrite par **Deshpande et al. (1986)**, est utilisée pour le dosage des tanins condensés (**Figure14**).

Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés dans un milieu acide pour produire un complexe rouge mesuré à 500 nm (**Hagerman, 2002**).

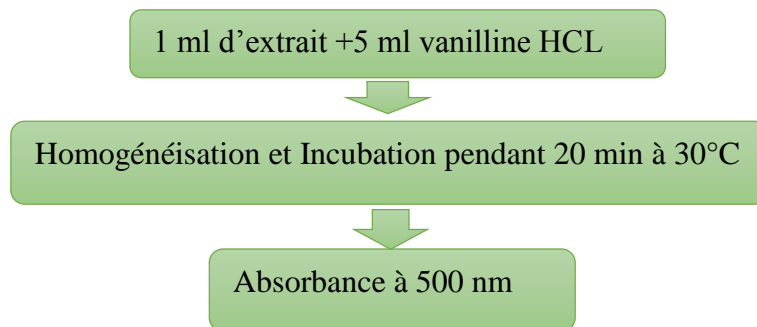


Figure 14 : protocole de dosage des tanins condensés (**Desphend et al 1986**)

La teneur en tanins condensés est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la catéchine (**annexe I**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide catéchique par g d'échantillon (**mg EC/g Ms**).

IV.4.4. Dosage des tanins hydrolysables

Le dosage des tanins hydrolysables (**Figure 15**) est réalisé par la méthode au chlorure ferrique rapportée par **Mole et Waterman, (1987)**. Les tanins hydrolysables réagissent avec le chlorure ferrique et donnent une coloration bleue mesurée par spectrophotométrie (**Mamadou, 2002**).

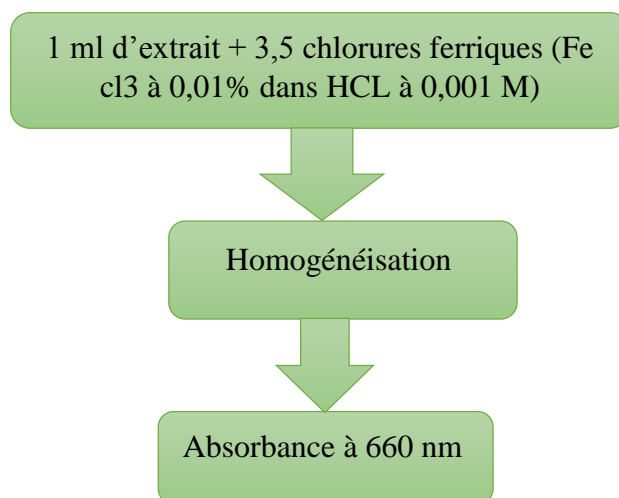


Figure 15 : protocole de dosage des tanins hydrolysables (**Mamadou, 2002**)

La teneur en tanins hydrolysables est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique (**annexe I**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide tannique par g d'échantillon (**mg EAT/g Ms**)

IV.4.5. Dosage des flavonoïdes

Le contenu en flavonoïdes des deux extraits (**Figure 17**) est estimé par la méthode de **Lamaison et Carnet, (1990)**.

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) 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 (**Ribereau-Gayon, 1968**).

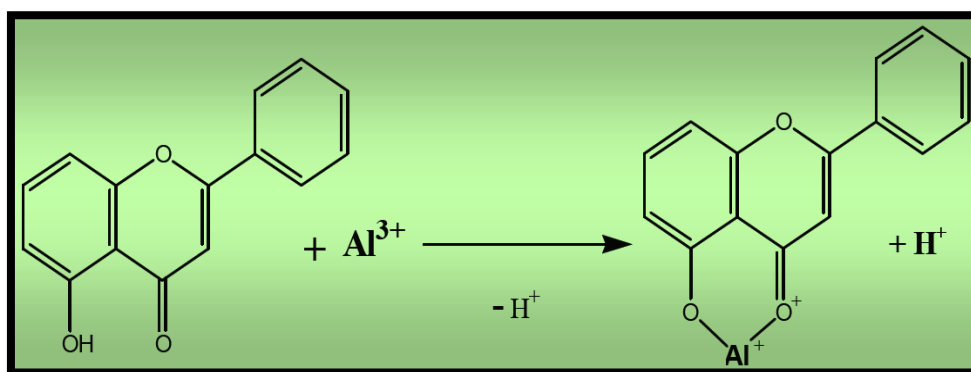


Figure 16 : mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (**Ribereau-Gayon, 1968**).

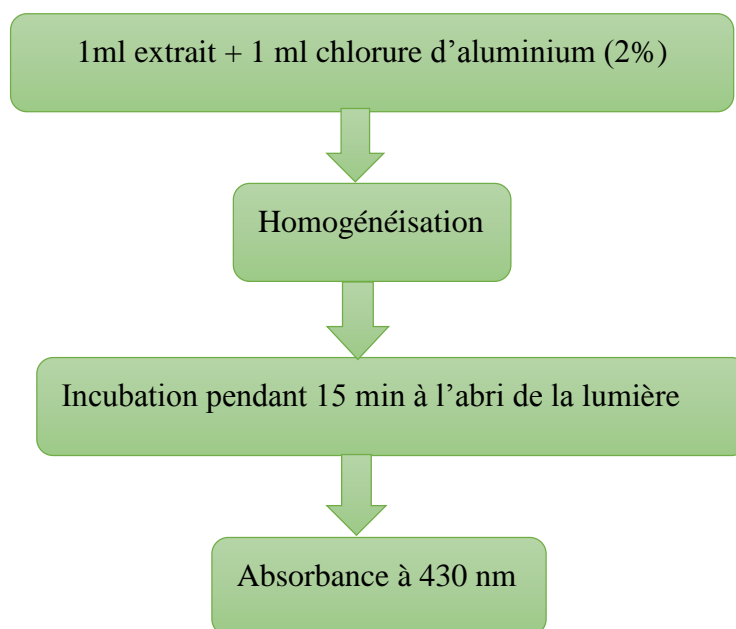


Figure 17 : protocole de dosage des flavonoïdes **Lamaison et Carnet (1990)**

La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la quercitrine (**annexe I**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercitrine par g d'échantillon (**mg EQ/g Ms**).

IV.5. Mise en évidence d'autres métabolites secondaires

- **Saponines**

La détection des saponines est révélée par la méthode de **Yadav et Agarwala. (2011)**.

On prélève 1ml de l'extrait auquel sont ajoutés 3ml d'eau distillée. Le mélange est agité au vortex pendant 2min, la formation d'une mousse persistante nous indique la présence de saponines dans l'extrait.

- **Alcaloïdes**

La présence d'alcaloïdes est révélée par Le teste **d'Amana (2007)**.

Quelques gouttes du réactif de Bouchardât sont ajoutées à 2ml d'extrait. La formation d'un précipité brun-noir, brun-terne ou jaune-brun indique la présence de ces métabolites dans le milieu.

- **Terpénoïdes**

La méthode **d'Aziman et al. (2012)** permet de mettre en évidence la présence de terpénoïdes. 0.5ml de chloroforme est ajouté à 1.25ml d'extrait, puis le mélange est homogénéisé. 0.75 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré sont ajoutés au mélange. La formation d'une couleur brun-rouge à l'interface indique la présence de Terpénoïdes.

- **Tanins**

2 à 3 gouttes de chlorure ferrique (FeCl₃ à 2%) sont ajoutées à 1ml d'extrait.

L'apparition d'une coloration vert foncée indique la présence de tanins catéchiques, et une Coloration bleue verdâtre indique la présence simultanée des types de tanins (**Soulama et al., 2014**).

IV.6 Activité antioxydante

I.6.1. Activité antiradicalaire (DPPH)

L'effet **scavenger** du radical DPPH est mesuré selon la méthode de **Brand-Williams(1995)**

Principe

L'activité antioxydant a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical

DPPH (2, 2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), de formule brute (C₁₈H₁₂N₅O₆) le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert du radical H sur le DPPH• (mauve) qui sera transformé en une molécule neutre et stable DPPHH (jaune)

(**Figure 19**) ; la réduction du DPPH• en DPPH-H se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie de 515-518 nm (**Popovici et al., 2010**).

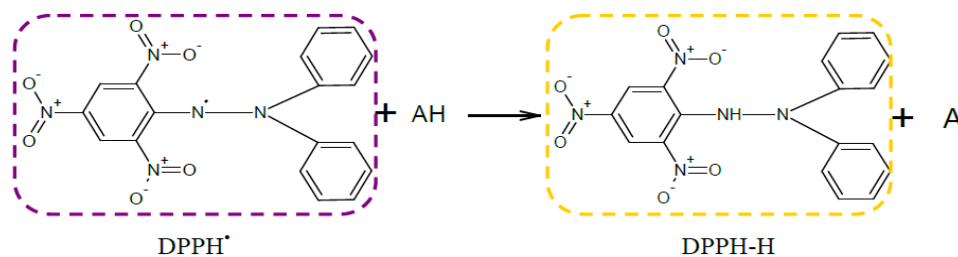


Figure 19 : Réduction du radical DPPH•.

Mode opératoire

L'activité anti radicalaire envers le radical DPPH a été mesurée selon la méthode de **Brand-William. (1995)**.

0,1 ml d'extrait a été mélangé avec 3,9 ml de la solution méthanolique du DPPH (65µM/l) fraîchement préparée. Après agitation au Vortex puis incubation pendant 30 min à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 515 nm.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{Inhibition} = \frac{\text{Abs } c - \text{Abs } Ech}{\text{Abs } c} * 100$$

Abs C : Absorbance du contrôle

Abs Ech : Absorbance Échantillon

IV.6.2.Chélation du fer ferreux

Le teste de chélation du fer ferreux selon la méthode de **Bourgou et al., 2007**.

Principe

Selon **Li et al. (2005)** la capacité chélatrice des extraits est mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe²⁺-Ferrozine après incubation des échantillons avec le fer divalent, permettant ainsi la complexion du fer résiduelle et la formation d'un chromophore rouge (Fe²⁺-Ferrozine) ayant un maximum d'absorption à 562 nm.

Mode opératoire

0.1ml d'extraits sont ajoutées respectivement 2.75ml d'eau distillée, 0.1ml de la ferrozine (5mM) et 0.05ml de FeCl₂ (2mM). Après une incubation, à l'abri de la lumière pendant 10min, l'absorbance est mesurée à 562 nm.

La lecture des absorbances est faite à une longueur d'onde de 562 nm.

Le standard EDTA est utilisé comme chélateur de référence à une concentration de 0.005965g/ml.

Le pourcentage de chélation du fer (Inhibition) est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{Chélation} = \frac{\text{Abs C} - \text{Abs Ech}}{\text{Abs C}} * 100$$

Abs C : Absorbance du contrôle

Abs Ech : Absorbance Échantillon

IV.6.3.Pouvoir réducteur**Principe**

Le pouvoir réducteur est estimé par l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe²⁺). La forme réduite de ce complexe donne une couleur verte qui est proportionnelle aux concentrations des extraits (Özturk *et al.*, 2007)

Mode opératoire

le volume 0,2 ml de l'extrait est mélangé avec 0,5 ml du tampon phosphate (0,2M, PH6,6) et 0,5 ml de ferricyanure de potassium à 1%. Le mélange est incubé dans un bain marie 20min à 50°C. puis on ajoute 0,5 ml de trichloracétique (TCA a 10%), puis centrifugés pendant 10 min à 500 tr/min.

Dans un tube a essais, 1 ml de surnageant est mélangé avec 1 ml d'eau distillée et 0,2 ml de chlorure ferrique (FeCl₃ à 0,1 %) L'absorbance obtenu est mesurée à 700 nm. (Li *et al.*, 2009). L'acide ascorbique est utilisé pour la préparation de la courbe standard pour quantifier l'activité réductrice (Annexe I)

Le pouvoir réducteur des extraits est exprimé en équivalent mg d'acide ascorbique par g d'échantillon mg équivalent d'acide galliqu par g d'échantillon (mg EAA/g d'Ech).

IV.7. Analyses statistiques

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

Chapitre V

Résultats

et

Discussion

V. Résultats et discussion

V.1.Composition chimique

Les poudres de feuilles de *moringa oleifera* se distinguent entre elles par des différences significatives ($p < 0,05$) de composition chimique : l'échantillon **T** est plus riche en matière minérale (11,5%) et matière grasse (9,10%) que l'échantillon **S** (9,18%) et (8,52%). Ce dernier est renferme plus de protéines (23,31%) contre (19.51%) pour l'échantillon T.

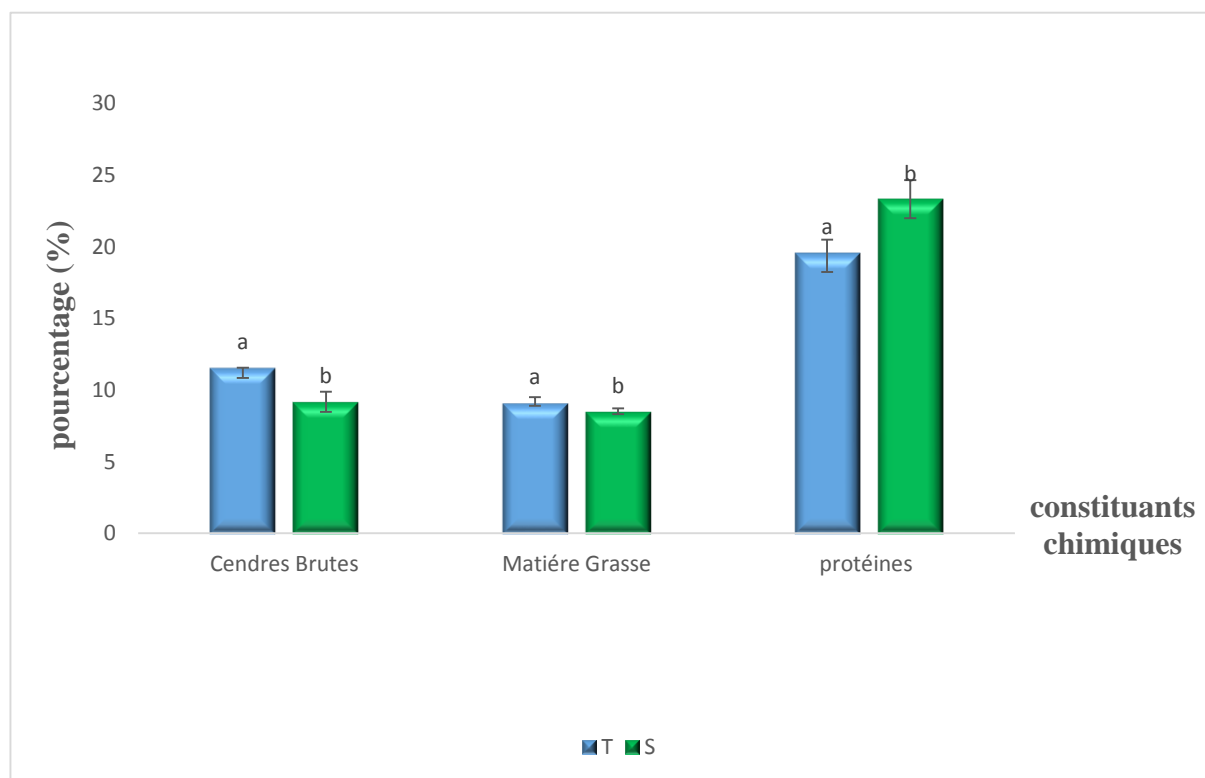


Figure 20 : la composition chimique des échantillons **T** et **S** des feuilles de *Moringa oleifera*.

- Pour un même constituant chimiques les valeurs portant des lettres différentes indiquent une différence significative ($p < 0,05$).

V.2.Dosage des composés phénoliques

V.2.1.Teneurs en phénols totaux solubles et attachés aux parois

Les résultats du dosage des phénols totaux soluble et attachés aux parois de feuilles de *Moringa oleifera* (échantillon **T** et **S**) sont représentés dans la **figure 21**.

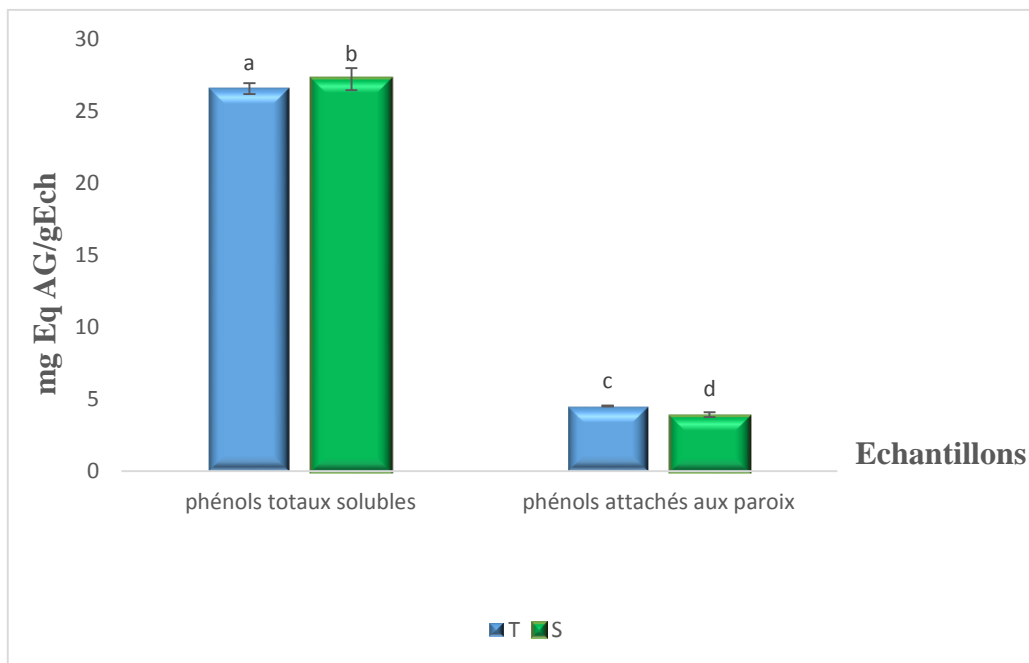


Figure 21: Teneurs en phénols totaux solubles et phénols attachés aux parois des extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

- Les valeurs portant des lettres différentes indiquent une différence significative ($p < 0,05$).

Nos deux échantillons présentent des teneurs en phénols totaux solubles et attachés aux parois significativement différentes ($p < 0,05$) : 27,21 mg eq AG/gEch, pour l'extrait **S** contre 26,55 mg eq AG/gEch pour l'extrait **T**, soit une variation de 2,5%.

Nous observons aussi le même phénomène ($p < 0,05$) pour les phénols attachés aux parois ; l'extrait **T** présente une teneur supérieure (4,52 mg eq AG/gEch) à celle de l'extrait **S** (3,92 mg eq AG/gEch) soit une augmentation de 15%.

La **figure 22** nous montre quelques propriétés de phénols totaux solubles des poudres sèches de MO.

73,44% à 70,26% des phénols totaux soluble sont capables de se liés à la cellulose et 51,45% à 37,91% sont capables de se liés aux protéines.

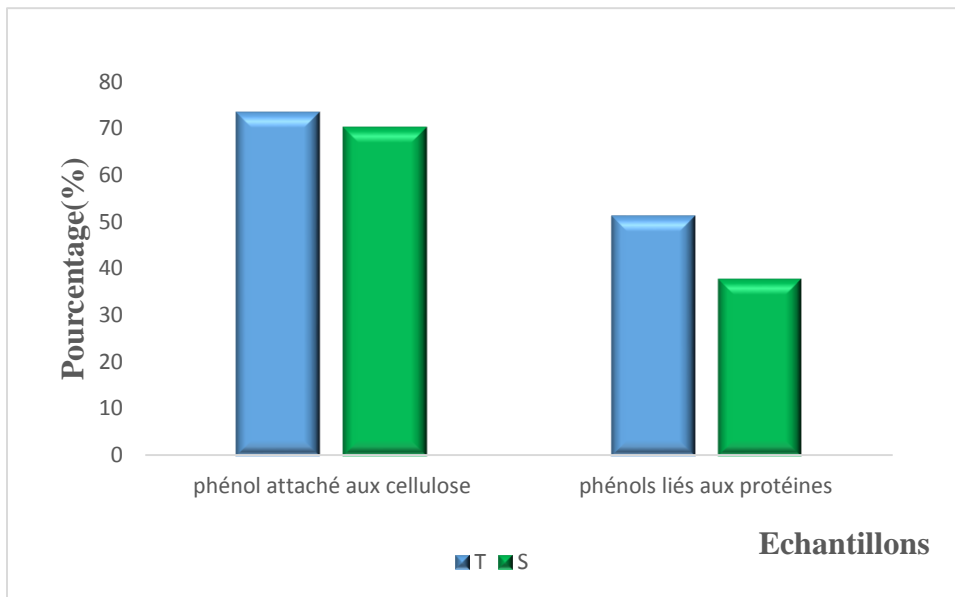


Figure 22 : Teneurs en phénols attachés aux celluloses et phénols liés aux protéines.

V.2.2. Teneur en Phénols polymérisés (tanins totaux)

Les tanins totaux (figure) représentent 12,04 mgEqAG /gEch (échantillon S) à 10,32 mgEqAG /gEch (échantillon T) soit 27,21 à 26,55 mg eqAG /gEch des phénols totaux solubles.

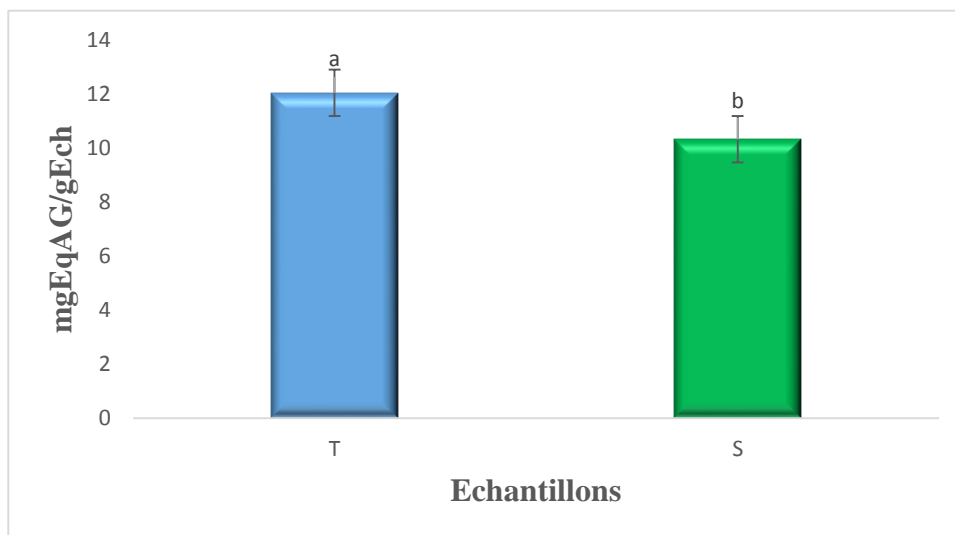


Figure 23 : Teneur en phénols polymérisés.

- Les valeurs portant des lettres différentes indiquent une différence significative ($p < 0,05$).

V.2.3. Teneur en tanins en hydrolysables

Les résultats de dosage des tanins hydrolysables des feuilles de *Moringa oleifera* (échantillon T et S) sont représentés dans la **figure 24**.

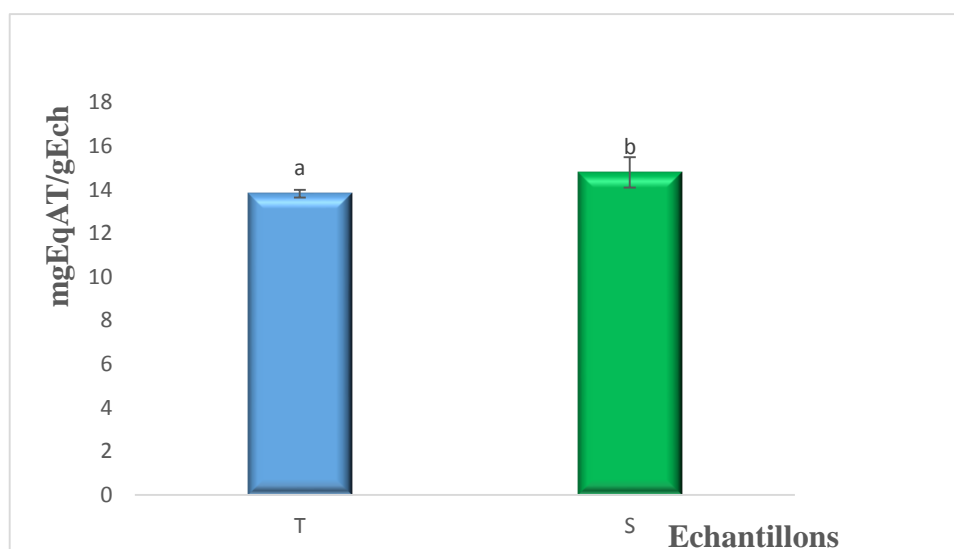


Figure 24 : la teneur en tanins hydrolysable des deux échantillons T et S

- Les valeurs portant des lettres différentes indiquent une différence significative ($p < 0,05$).

La teneur en tanins hydrolysables est comprise entre 13,82 mgEqAT/gEch (échantillon T) et 14,79mgEq AT/gEch (échantillon S)

V.2.4. Teneur en tanins condensés

Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 25**.

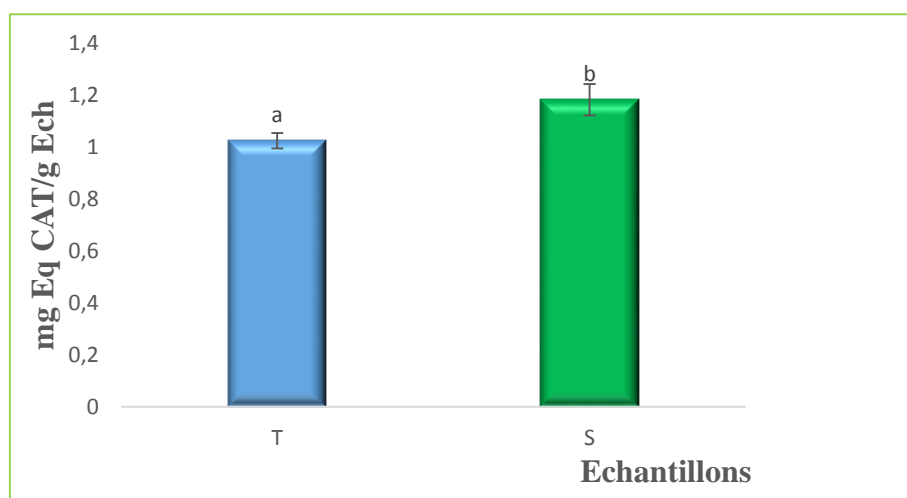


Figure 25 : La teneur en tanins condensés des échantillons T et S.

- Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$)

Les tanins condensés sont faiblement représentés : 1,18 mgEq CAT /gEch pour l'échantillon S et 1,02 pour l'échantillon T mgEqCAT /g Ech., Soit augmentation de 15,68%.

V.2.5. Teneur en flavonoïdes

Les résultats du dosage des flavonoïdes des feuilles de *Moringa oleifera* sont représentés dans la figure 26.

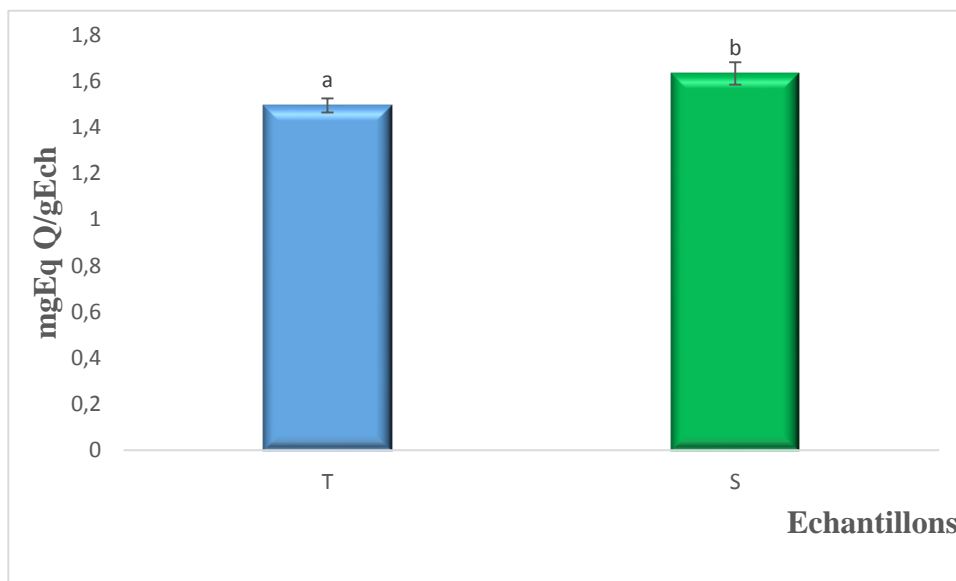


Figure 26 : La teneur en flavonoïdes des feuilles de *Moringa oleifera*.

- Les valeurs portant des lettres différentes indiquent une différence significative ($p < 0,05$).

L'échantillon S affiche une plus forte teneur ($p < 0,05$) en flavonoïdes (1,63 mg eq Q/gEch) que l'échantillon T (1,49 mg eq Q/gEch).

V.3. Mise en évidence des métabolites secondaires

Le screening chimique des extraits (tableau IV et figure 27) nous a permis de mettre en évidence la présence dans chacun des deux extraits les quatre métabolites secondaires recherchés.

Tableau IV : Les résultats de mise en évidence des métabolites secondaires.

MS \ Ech	Ech1	Ech2
Terpenoïde	+	+
Saponine	+	+
Alcaloïde	+	+
Tanin	+	+

MS : Métabolite secondaire.

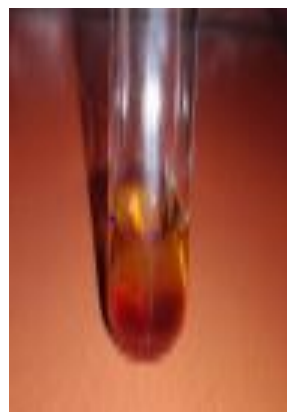
Ech : Echantillon.

+ : Présence de métabolite secondaire dans le milieu.



Térpenoïdes

Saponines



Alcaloïdes

Tanins

Figure 27 : Mise en évidence d'autres métabolites secondaires.

V.4.Activités antioxydants

V.4.1.Activité anti-radicalaire (DPPH)

La **figure 28** présente les résultats de l'activité anti-radicalaire (DPPH)

Nos résultats montrent que chacun des deux extraits **T** et **S** manifeste un potentiel inhibiteur du DPPH.

Le potentiel obtenu de l'extrait **S** s'élève à 93,42% contre 90,26% pour l'extrait **T** ($p < 0,05$).

Ce dernier affiche une activité comparable à celle du **BHT** ($p > 0,05$).

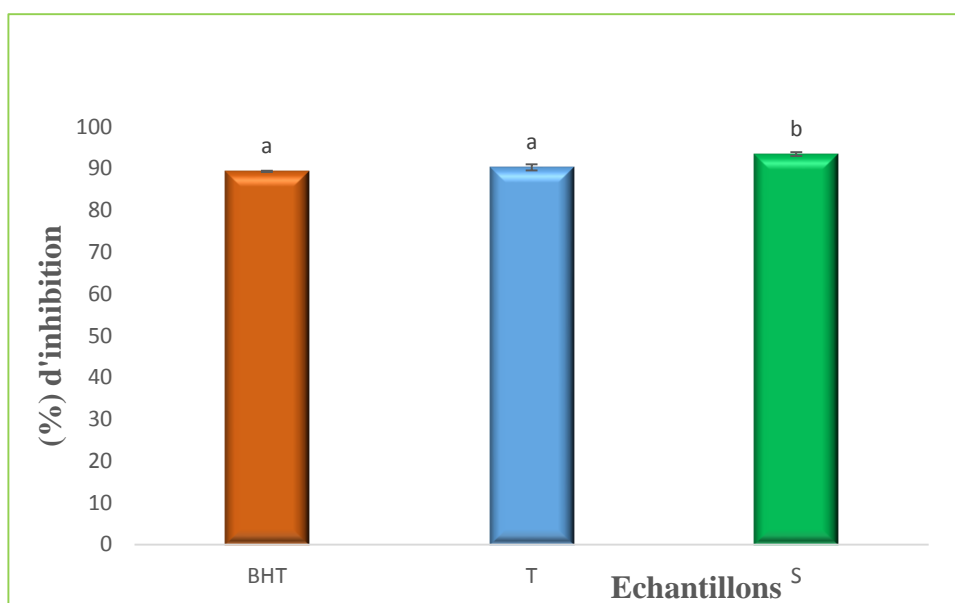


Figure 28 : pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

- Les valeurs portant des lettres différentes indiquent une différence significative ($p < 0,05$).

V.4.2. Chélation du fer ferreux

La **figure 29** représente le pouvoir chélateur du fer ferreux des extraits **T** et **S** des feuilles de *Moringa oleifera* comparées au standard **EDTA**.

Nos données expérimentales montrent que le pouvoir chélateur du fer ferreux des deux poudres **T** et **S** sont significativement ($p < 0,05$) inférieures à celui du standard **EDTA** (89,45%) utilisé à une concentration de 0,005 g/ml.

Les résultats montrent une différence ($p < 0,05$) de pourcentage d'inhibition entre la poudre **T** (46,58 %) et la poudre **S** (54,01 %)

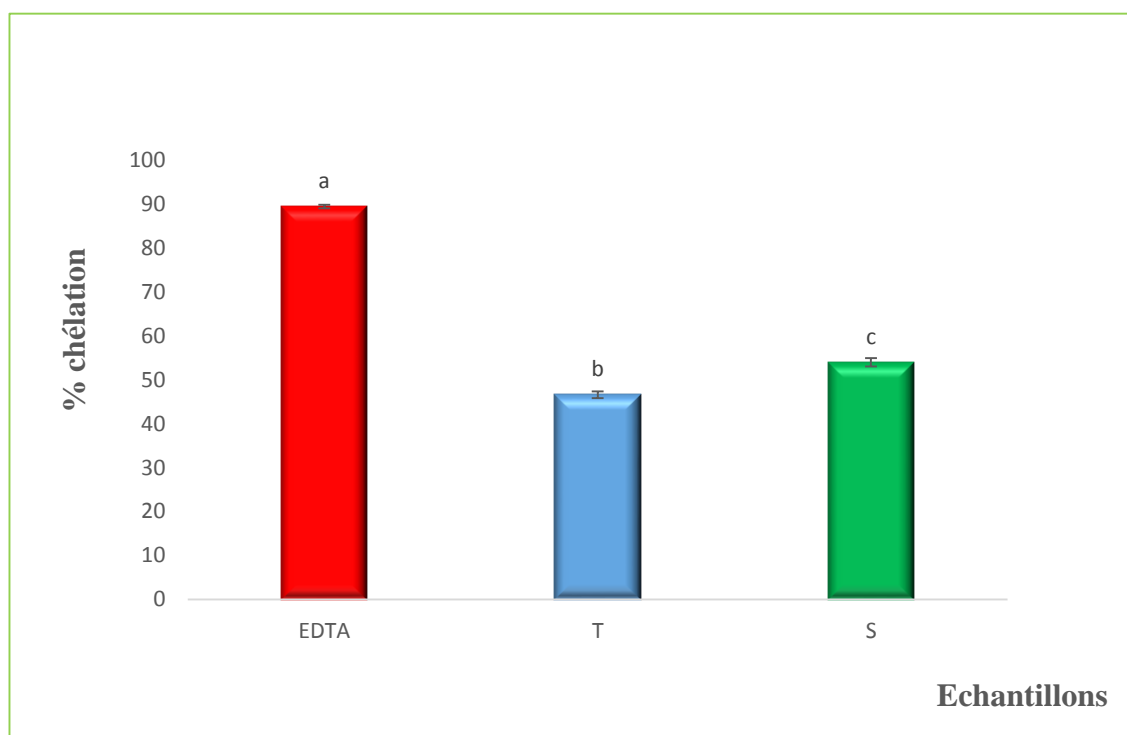


Figure 29 : Le pouvoir chélateur de fer ferreux

- Les valeurs portant des lettres différentes indiquent une différence significative ($p < 0,05$).

V.4.3.pouvoir réducteur

La figure 30 présente les résultats du pouvoir réducteur.

L'expression de nos résultats montre que l'extrait **S** présente une meilleure activité réductrice (33,62mg eq A As /g Ech)) par rapport à celle de l'extrait **T** avec une valeur 26,56 mg eq A As /g Ech soit une augmentation de 31,17%.

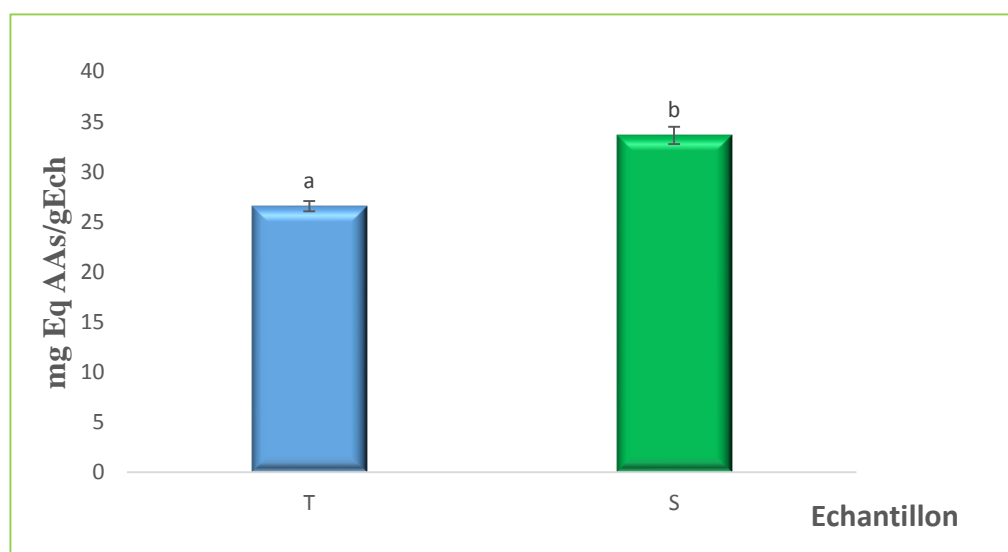


Figure 30 : Résultats du pouvoir réducteur des extraits **T** et **S**.

- Les valeurs portant des lettres différentes indiquent une différence significative ($p < 0,05$).

Discussion générale

Notre étude consiste à évaluer la composition chimique, les composés phénoliques et l'étude de l'activité antioxydants des deux échantillons des feuilles de *Moringa oleifera*.

Nos données pour la matière grasse (8.52% pour T et 9.10% pour S) et les cendres (11.5% pour T et 9.18 pour S) des deux poudres T et S de feuilles de *Moringa oleifera* sont comparables à celles rapportée par **Foidl et al (2011)** (1,4 à 17,1 % Ms) et **Tchiégang et Aissatou (2004)** (8 à 13% Ms).

Il est difficile de comparer nos résultats avec les données de la bibliographie en raison de l'influence de divers facteurs : l'origine géographique de l'échantillon, procédé d'extraction, origine géographique, mode de séchage et condition de stockage (**Benchikh et al., 2014**).

la présence de diverses classes de composés phénoliques dans la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* révélés par les dosages s'accord avec les données de **Kaslo et al., (2010)** . Les teneurs en phénols totaux solubles sont inférieurs à celle rapportée par **Charoensin. (2014)** (216.45 mg EqAG/g ech), les teneuses en flavonoïdes sont comparable à celle de **Makkar et Bakkar. (1996)** l'extrait S montre des teneurs élevés en phénols totaux solubles et en flavonoïdes (27,21mg eq AG/g Ech et 1,63mg EqQ/gEch) que celles de l'extrait T (26,56 mg eq AG/g Ech et 1,49 EqQ/gEch) 3à3,4%).

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de feuilles de *Moringa oleifera* (T et S) a révélé un potentiel antioxydant important. **Chumark et al. ,(2008) et Verma et al .,(2009)** rapport que les extraits de feuilles de *moringa oleifera* présente in vivo et in vitro une fort activité antioxydante ;ils attribuent cette activité aux composés phénoliques contenu dans l'extrait .

Le taux des métabolites secondaires est différent entre les échantillons **T** et **S** ; ce dernier montre une plus forte activité que l'extrait **T**. globalement cette activité est corrélé avec les teneurs en composés phénoliques. Les différences observées traduisent des différences dans les conditions de séchage et conservation des échantillons issus d'un même lieu.

Conclusion et perspective

L'objectif de notre travail est de comparer les teneurs en composés phénoliques, Activités antioxydants, la composition chimique et mise en évidence d'autres métabolites secondaires entre deux échantillons (**T** et **S**) des feuilles de *Moringa oleifera*

Les poudres des feuilles de *Moringa oleifera* se caractérise par sa richesse en matière sèche et en matière minérale.

Les dosages réalisé sur les poudres des feuilles de *Moringa oleifera* ont révèles la présence de plusieurs classes des composés phénoliques (phénols totaux solubles, attaché à la paroi, les flavonoïdes, tanins totaux, condensé et hydrolysable).

L'extrait **S** enregistre des teneurs élevés en phénols totaux solubles, tanins condensé et hydrolysable ,et flavonoïdes et des teneurs faibles en phénols attaché à la paroi, , contrairement à l'extrait **T**.

Le taux des métabolites secondaires est différent entre la poudre **T** et **S**, et ceci peut être due aux plusieurs facteurs tels que : mode de séchage, mode de conservation et l'âge de la plante.

D'après les tests réalisés sur l'activité antioxydante (chélation de fer ferreux, DPPH, pouvoir réducteur), on remarque que l'extrait de la poudre **S** révèle une forte activité par rapport à celle de la poudre **T**.

Les différents tests de mise en évidence réalisés sur les poudres (**T** et **S**) des feuilles de *Moringa oleifera* ont révélées la présence d'autres métabolites secondaires (saponines, alcaloïdes, tanins, terpenoides).

Il est souhaitable de poursuivre et approfondir ce travail pour mieux préciser les teneurs en métabolites secondaires des feuilles de *Moringa oleifera* et évaluer leurs activités antioxydantes.

*Références
bibliographiques*

A

- AACC. (1995).** Method 08-03: Total Ash, Method 46-13: Crude Protein—Micro-Kjeldahl Method. In *Approved Methods of American Association of Cereal Chemistry*, Saint Paul, Minnesota.
- Aberra M., Workinesh T., et Tegene N. (2011).** Effects of feeding *Moringa stenopetala* leaf meal on nutrient intake and growth performance of Rhode Island Red chicks under tropical climate. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 14: 485-492.
- Aguilera.C A., Augur C., Prado.B L .A., Favela.T E., et Aguilar C. N.(2008).** Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. *Appl Microbiol Biotechnol.* 78: 189-199.
- Amana K. (2007).** Les anacardiaceae du togo : les études botaniques, écologiques et propriétés antifongiques. thèse de doctorat de l'université de reims champagneardenne.182.Antioxydant activity of stem and root of extract of rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food chemistry*, 103: 623-630.
- Anwar F., Latif S., Ashraf M., et Gilani A.H. (2007).** *Moringa oleifera*: A food plant with multiple medicinal uses. *Phytother Res.* 21: 17-25.
- AOAC, (1998).** Official methods of analysis. Washington, DC. USA : Association Of Official Analytical Chemists. 16th ed, 4th revision
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., özyürek, M. Esin çelik, S., Bekataşoğlu, B., Işil, B.K et Özyurt, D.(2007).** Comparative evaluation of various total antioxydant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules.* 12: 1496-1547
- Aurousseau B., 2002.** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leur produit. *Anim*, 15(1) : 67-82.
- Aziman N., Abdullah N., Noor Z.M., Zulkifli K. S., et Kamarudin W. S. S. W.(2012).** Phytochemical constituents and in vitro bioactivity of ethanolic aromatic herb extracts. *Sains Malaysiana.* 41(11): 1437–1444.

B

- Bahorun, T. (1998).** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une sourced'approvisionnement potentielle. Second Annual Meeting of Agricultural Scientists.
- Benchikh Y., Louailache H., George B., Merlin A.(2014).** Changes in bioactives phytochemical content and in vitro antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua L.*) as influenced by fruit repning. *IndustrialCrops and products*,60 : 298-303.
- Blondel, V. D., J.-L. Guillaume, et al.(2008).** "Fast unfolding of communities in large networks." *Journal of statistical mechanics: theory and experiment* 2008(10): P10008.
- Boizot N., Charpentier J.P.(2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, 79-82.

Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., Skandrani I., Falleh H., Marzouk B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes rendus Biologies*. 331: 48-55.

Bradford M.M.: A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dyebinding. *Anal. Biochem.*, 1976, 72, 248-54.

Brand-Williams W., Cuvelier M E. et Berste C. (1995). Use Of Free Radical Method To Evaluate Antioxidant Activity. *Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.

Broin M. 2005. Composition nutritionnelle des feuilles de *Moringa oleifera*. *CTA*. 5.

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

C

Charoensin S. (2014). Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Medicinal Plant Research*, 8(7) : 318-325.

CHEMAT F., 2011- Eco-extraction du végétal procédés innovants et solvants alternatifs. Dunod, Paris.

D

Delaveau, P. and P. Boiteau (1980). "Huiles a interet pharmacologique, cosmetologique et dietetique. IV. Huiles de *Moringa oleifera* Lamk. et de *M. drouhardii* Jumelle." *Plantes medicinales et phytotherapie*.

Deshpande S. S., Cheryan M., et Salunkhe D. K. (1986). Tannin analysis of food products. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 24 (4): 401–449.

Dröge W., 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *physiology Reviews*, 82: 47-95.

E

Erdman W. J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G., et Burrowes J. 2007. Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition*. 137 (3): 718-737.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.

Ferreira P.M.P., Carvalho A.F.F.U., Sousa D.F., Ferreira J.M., Martins A.R., Martins A.M.C., et Queiroz M.G.R. 2007. Water extract of *Moringa oleifera* seeds: a

toxicological approach. *Revista Eletrônica Pesquisa Médica*. 1 (4): 45 - 53.

Foidl N., Makkar H.P.S., et Becker K. (2001). Potentiel de *Moringa Oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits du Moringa. 29 octobre - 2 novembre 2001. Dar es Salaam, Tanzanie.

G

Guignard J.L. (2001) .In Botanique systématique moléculaire. 12ème Edition Masson (Paris). 304.

Gutteridge, J. M. C. (1993). Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radical Research Communications*, 19 (3): 171-158.

Gutteridge J.M.C., et Halliwell B. 1993. Invited review free radicals in disease processes: A Compilation of cause and consequence. *Free Radical Research Communications*. (3): 141-158.

H

Hadi M ;(2004). la quercitrine et ses dérivés : moléculaire à caractère pro oxydant ou capteurs de radicaux libre ; étude et application thérapeutique. Thèse présenté en vue de l'obtention du grade de docteur en science de l'université luis pasteur. Domaine : pharmaco chimie .155p .

Hagerman A. E., et Butler L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Agricultural and Food Chemistry*. 26 (4): 809 - 812.

Hagerman A. E. 2002. Tannin chemistry. *Tannin Handbook*. 86: 104 -105.

Halliwell B.,(2006). Reactive species and antioxidants redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*, 141 : 312-322.

Handa S. S.(2008). An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. In: "Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants". United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology Trieste Italy. 21-54.

Havsteen B.H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut*. 96: 67– 202.

HOPKINS. WILLIAM G., (2003) - Physiologie végétale de bock université 2ème édition. p276.268

Hartmann, T. (2007). "From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism." *Phytochemistry* **68**(22): 2831-2846.

Haslam, E. et Y. Cai (1994). "Plant polyphenols (vegetable tannins): gallic acid metabolism." *Natural product reports* **11**: 41-66.

Hêdji C.C., Gangbazo D.N.S.K., Houinato M.R et Fiogbé E.D. 2014. Valorisation de Azollaspp, *Moringa oleifera*, son deriz, et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale: synthèse bibliographique. *Journal of Applied Biosciences* ,81:7277 – 7289.

J

Jaiswal D., Rai P. K., Kumar A., Mehta Sh., et Watal G. 2009. Effect of *Moringa oleifera lam.* Leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *Journal of ethnopharmacology*. 123 (3): 392-396.

Januel C., 2003. Stress oxydant au niveaux des plaquettes sanguines humaines dans les contextes de diabète : Etude de glutathion et de la glutathion peroxydase 4. Thèse doctorat, université Lyon I / INSA-Lyon, 41-42.

Jean-Blain, C. (1998). Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. *Rev.Méd. Vét.* p149, 911 920.

K

Kabera J.N. , Semana E., Mussa A.R. et He X.(2014). Plant secondary metabolite :biosynthesis, classification, function and pharmacy and pharmacology 2.377-392.

Kafuku G., et Mbarawa M. 2010. L'huile de *Moringa oleifera* est une source angageante pour la production de biodiesel. Alkaline catalyzed biodiesel production from *Moringa oleifera* oil with optimized production parameters. *Applied Energy*. 87: 2561–2565.

Karaali A., Boyacioălu D., Günez G. et Özçelik B. 2004. Flavonoids in fruit and vegetables their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. European commision’s the 6th framework programme for research. Istanbul technical university. Turkey

Kasolo J N., Bimenya G S., Ojok L., Ochieng J ., Ogwal-Okeng J W. 2010. Mhytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities. *Journal of medicinal plants Research*, 4(9) : 753-757.

Kjeldhal J., 1883. Meue method lurk besyimmung des stichs offs in organischem korpon. *Z Anal. Chem.* 22: 366-382.

Kumbhare MR., Guleha V., et 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*. 144-150.

L

Lamaison, J. L. C., & Carnet, A. (1990). Contents in main flavonoid compounds of *Crataegus monogyna*Jacq. and *Crataegus laevigata* (Poiret) DC flowers at different development stages. *Pharmaceutica Acta Helvetica*, 65, 315-320.

Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., carde J. P., 1994- Biogenèse des monoterpènes : la chaîne isoprenique, bull. soc. Pharm. bordeaux, 133, 79 – 99.

Lee, K. W., H. J. Hur, et al. (2005). "Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**(6): 1990-1995.

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

Lugasi A ., Hovari J ., Sagi K.V ., et Biro L. 2003. The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szegedientsis.* 1 (4): 119-125.

M

Macheix, J.-J., A. Fleuriet, et al. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, PPUR Presses polytechniques.

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

Malešev D. et Kuntić V. 2007. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the serbian chemical society.*, 72 (10) : 921-939.

Mamadou B. 2002. Actions pharmacologiques des tanins. Thèse de doctorat en pharmacie de l'université cheikh anta diop de Dakar. 57.

Mamadou B. 2011 .Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Other. Université Blaise Pascal - Clermont Ferrand II, France.

Man Allah, A. (2012). Activités antioxydant et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat

Martin, S. and R. Andriantsitohaina (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des Abbas- sétif, 87p. polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, Elsevier.

Meddour A., Yahia M., Benkiki N., Ayachi A. 2013. Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis spinosa* L. *Lebanese Science Journal*, 14(1) :49-60.

Medić-Šarić M., Jasprica I., Smolčić-Bubalo A. et Monar A. 2004. Optimisation of chromatography of flavonoids and phenolic acids. *CROATICA CHEMICA ACTA CCACAA.*, 77 (1-2) : 361-366.

Mohammedi, Z. (2006). "Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen." Mémoire de Magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen. 105p.

Mole S., et Waterman P.G. 1987. Tonic acid proteolic enzymes: enzyme inhibition substrat derivation. *Photochemistry.* 26, 99-102.

Molyneux, (2004), Use of DPPH to estimate antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology,* 26 (2): 211-219.

Morton JF, 1991. The horseradish tree, *Moringa Pterygosperma* (Moringaceae) –A Boon to Arid Lands. *Economic Botany,* 45: 318-333.

Mueller-Harvey, I. et Mc Allan, A.B. (1992). Tannins: their biochemistry and nutritional properties. *Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol.* p1, 151-217.

Mustapha Hassan Bichi Ph.D. 2013. A review of the applications of *Moringa oleifera* seeds extract in water treatment. *Civil and environmental research.* 3 (8).

N

Nishikawa M. (2008). Reactive oxygen species in tumor metastasis cancer letters.266: 53-59.

Novelli G .P. (1997). Role of free radicals in septic choc. *Physiology phamacologie.*48:517-527.

O

Odee, D. (1998). Forest biotechnology research in drylands of Kenya: the development of *Moringa* species. *Dryland Biodiversity* 2, 7 - 8.

Olson M.E. 2001. Wood and bark anatomy in *Moringa* (Moringaceae). *Haseltonia.* 8: 85- 121.

Olson, M. E. (2002). "Intergeneric relationships within the Caricaceae-Moringaceae clade (Brassicales) and potential morphological synapomorphies of the clade and its families." *International Journal of Plant Sciences* **163**(1): 51-65.

Olson M.E., et Carlquist S. 2001. Stem and root anatomical correlations with life form diversity, ecology, and systematics in *Moringa*(Moringaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society.*135 (4): 315–348.

Oomah B. D., Caspar F., Malcolmson L. J., et Bellido A. S. 2010. Phenolics and antioxidant activity of lentil and pea hulls.*Food Research International.* 44: 436-441.

ÖZTürk M., Aydoğmuş-ÖZTürk F., Emin dura M. et Topçu G. (2007). Antioxidant activity of stem and root of extract of rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry.*103:623-630.

P

- Panchal M. A., Murti K., Lambole V., et Gajera V. 2010.** Pharmacological properties of Moringa oleifera lam. A review. *Pharmacologyonline*. 2: 768-775.
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., et Defraigne J-O. 2002.** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16 : 233- 239.
- Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. 2009.** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industrielle*. (4) : 25-39.
- Poumayea N., Mabinguia J., Lutgenb P., et Biganc M. 2012.** Contribution to the clarification of surface water from the Moringa oleifera: Case M'Poko River to Bangui, Central African Republic. *Chemical engineering research and design*. 90: 2346–2352.
- Piquemal G. 2008.** Les flavonoïdes (en ligne) : [http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215'](http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215)
- Price M.L 2007.** Le Moringa. Note technique- ECHO (revue en 2000, en 2002 et en 2007). 22p;

R

- RIBEREAU-GAYON P.** Les composés phénoliques des végétaux, 254 pages, Editions Dunod, Paris, 1968.
- RISPAIL. ROBERTN. JODITHK., 2005-** Secondary metabolite profiling pp341.348.
- Roloff A., Weisgerber H., Lang U., et Stimm B. 2009.** Moringa oleifera Lam 1785. *Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie*.
- Rosillon, F., B. Savadogo, et al. (2012).** "Estimation of the nitrates contents in waters by using reagent strips: An environment education exercise in the Sourou valley in Burkina Faso." *Vertigo* 12(2).

S

- Sanchez D., Machado., José A., Gastélum N., Crauhtémo H., et Ramirez-wong B.2010.** Jaime dopez-cervantes, foods and méthodes nutritional quality of edible parts of Moringa oleifera. 3: 175-180.
- Sarni-Manchado P., et Cheynier V. 2006.** Structures phénoliques et goût. In : « les polyphénols en agroalimentaire ». Ed. Tec &Doc. Lavoisier. Paris. 89-134.
- Soulama S.,Sanon H O.,Meda R N T.,Boussim J I.2014.**Teneur en Tanins de 15 ligneux fourrgrers de bourkinafaso.*Afrique Science*,10(4) :180-190.
- Scehovic J. :** Tannins et autre polymères phénoliques dans les plantes de prairies: détermination de leur teneur et leur activité biologique. *Revue Suisse Agric.*, 1990, 22, 179-184.

Scalbert A., Williamson G.2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition.* (130): 2073S-2085S.

Škerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hraš A., Simonič M., etKnez T. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry.* 89:191-198.

Southon J.W.J. Bucking (EDS) 1989-dictionnary of alkaloids London and hall.in livre Hopkins WG P281

T

Tacchini p., Schiner N. (2005). Le stress oxydatif et les antioxydants. *Lausanne Science.* 11 :06653

Tahiliani P., et Kar A. (2000). Role of *Moringa oleifera* leaf extract in the regulation of thyroid hormone status in adult male and female rats. *Pharmacological Research.* 41 (3): 319-323.

Tchiégang C., et Aissatou K. (2004). Données ethnonutritionnelles et caractéristiques physico-chimiques des légumes-feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun). *Tropicultura.* 22 (1): 11-18.

THOMAS M., 2011- Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*) thèse de doctorat. Université Toulouse

V

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

Vansant G.(2004). Radicaux libre et antioxydants : principe de base .Symposium antioxydants es alimentation .Institut danone

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

Vongsak B., Sithisarn P., et Gritsanapan W.2013. Bioactive contents and free radical scavenging activity of *Moringa oleifera* leaf extract under different storage conditions. *Industrial Crops and Products.*49:419– 421.

Y

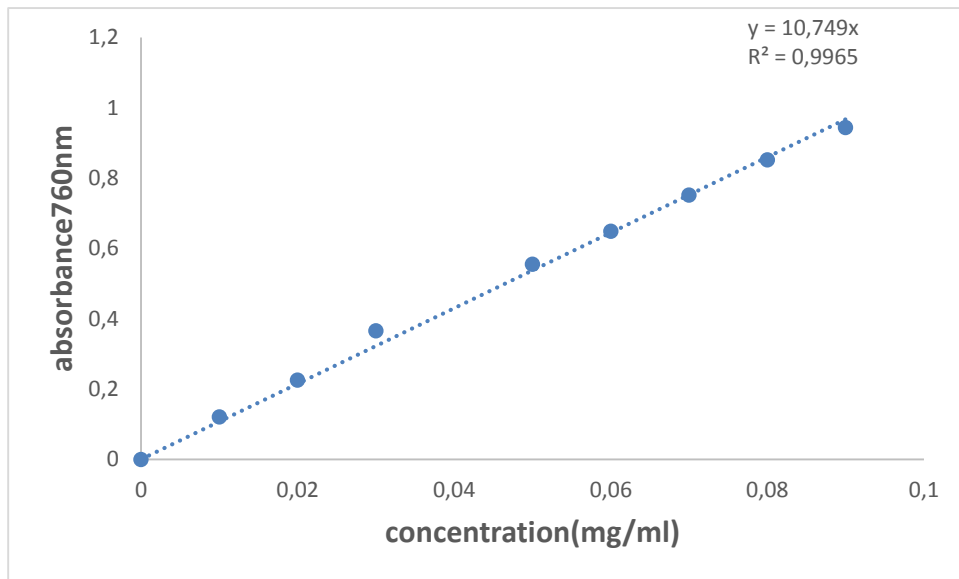
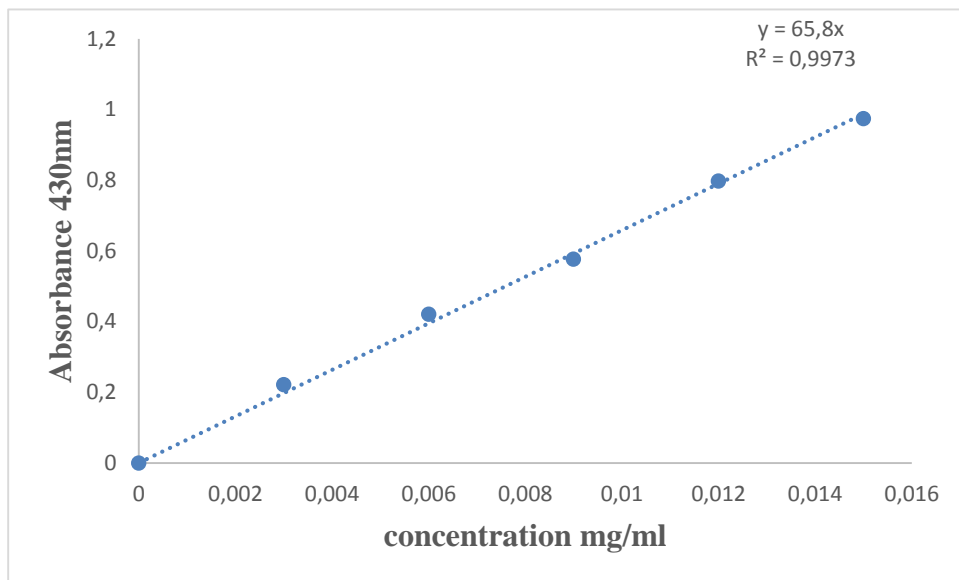
Yadav R.,Agarwala M.(2011).Phytochemical analysis of some medicinal plants.*journal of Phytology,*3(12):10-14.

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

Z

Zenk, M.H., et Juenger, M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry Review*. 68: 2757 – 2772.

Annexes

Annexes I : courbes d'étalonnage**Figure 1** : Courbe d'étalonnage acide gallique.**Figure 2** : Courbe d'étalonnage de la quercitrine.

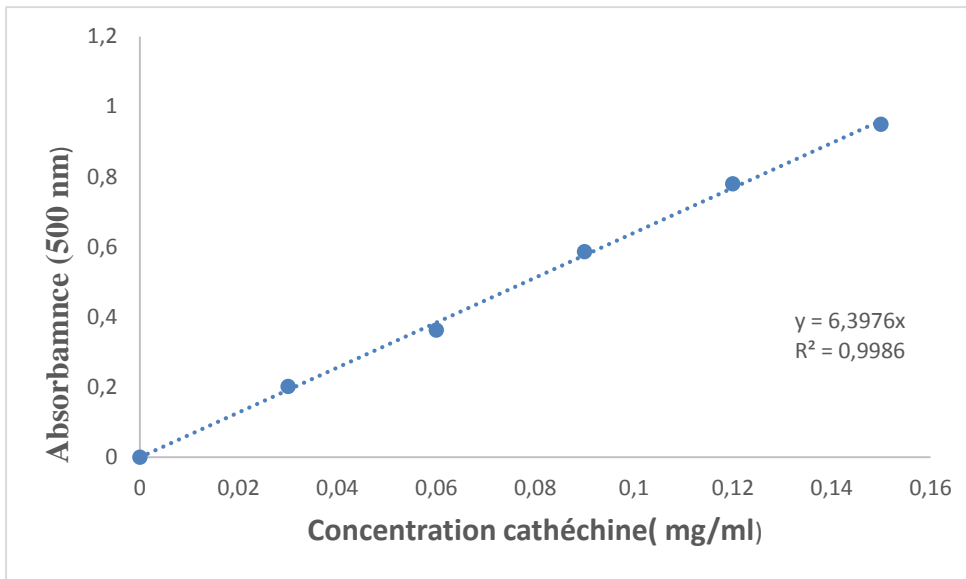


Figure 6 : Courbe étalonnage de dosage des tanins condensés.

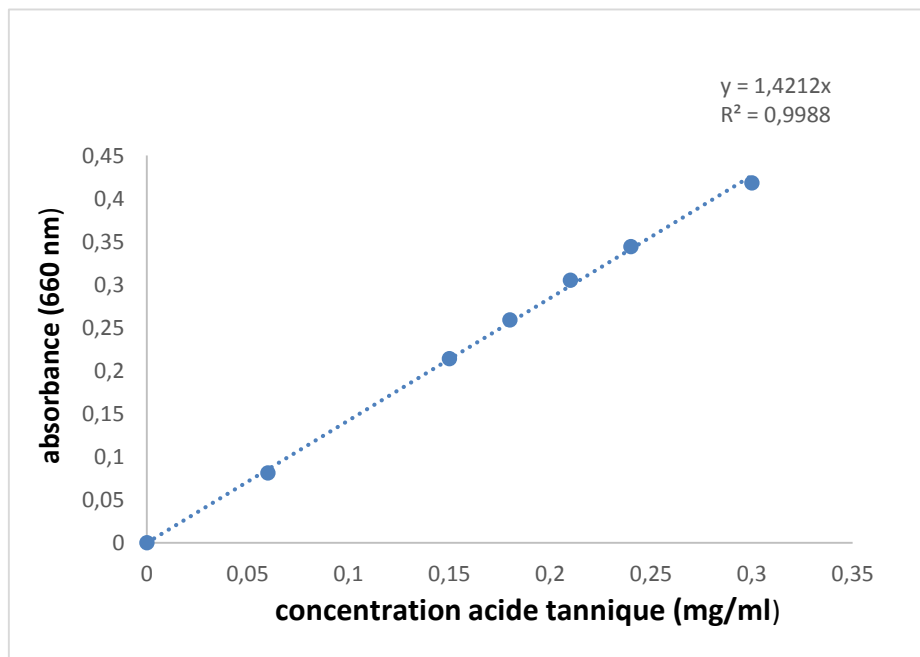


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de dosage des tanins hydrolysables .

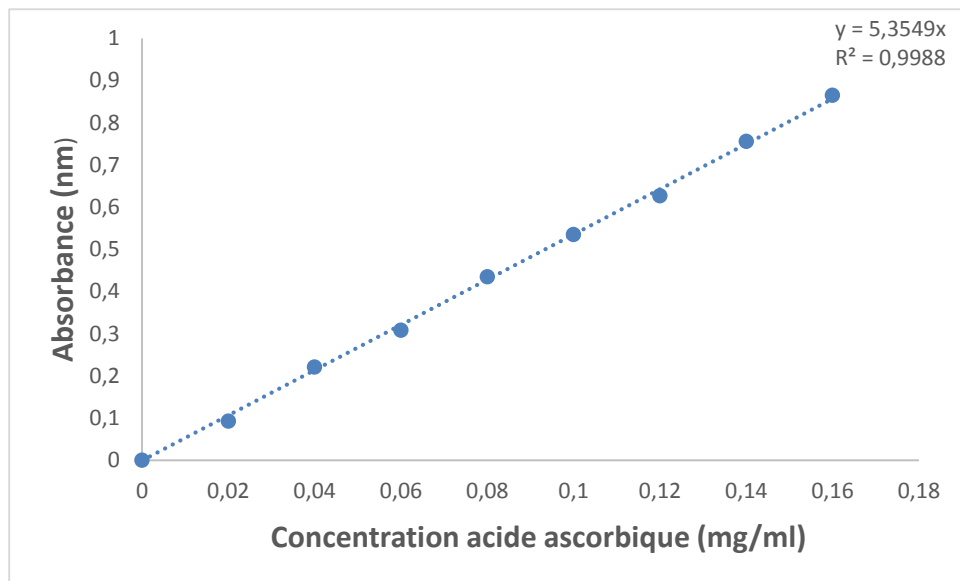


Figure 7 : Courbe étalonnage du pouvoir réducteur.

Annexe II : Préparation des solutions

Solution	Réactifs
Tampon A	11,4 ml Acide acétique glacial 200 mM 9,86 g de NaCl (170 mM) pH ajusté à 4,9 avec NaOH
Solution BSA	1 mg de BSA 10 mL de Tampon A
Folin ciocalteau 10%	10 ml de folin ajusté à 100 ml avec l'eau distillé
Chlorure ferrique (FeCl₃) 0,1%	0.1 g de chlorure ferrique dans 100 mL d'eau distillée (10 mM)
Solution de chlorure d'aluminium AlCl₃ (2%)	2 g d'AlCl ₃ 100 mL d'eau distillée
Solution de carbonate de Sodium NaCO₃ (75%)	7,5 g de NaCO ₃ 30 ml d'eau distillée
Tampon phosphate, 0,2 M, pH= 6,6	1,115 g de K ₂ HPO ₄ 1,809 g de KH ₂ PO ₄ Ajouter 100 mL d'eau distillée
Acide trichloracétique TCA (1%), PM = 163,39 g/mol	1 g de TCA (CCl ₃ COOH), 100 mL d'eau distillée
Ferricyanure de potassium K₃Fe (CN)₆ (1%), PM=329,26g/mol	0,4 g de ferricyanure de potassium 40 mL d'eau distillé
Solution de DPPH (10⁻³ M)	0,0197 g de DPPH dans 50 mL de méthanol
Acide gallique PM= 188,14 g/mol	1,411 mg d'acide gallique dans 25 mL (0,3mM)
Réactif ferrique 2%	2% sulfate d'ammonium ferrique dans 2M d'HCl { 1,72ml de HCl 8,28ml deau distillée 0,2g de sulfate d'amonium
Acide sulfurique H₂ SO₄, Phosphate de sodium Molybdate molybdique	Réactif d'ammonium 3,313 mL (0,6 mM, pur à 96%, PM= 98,07 g/mol) 0,4368 g (28 mM, PM= 156,01 g/mol) 0,4943 g (4 mM, PM= 1235, 86 g/mol) Ajuster à 100 ml d'eau distillée

méthanol 80%	100ml du méthanol pure + 28.59 ml d'eau distillée.
HCL 0,01 M	0,085 HCL36% ajusté 1L avec l'eau distillé
solution SDS /TEA	50 ml TEA 10 g SDS Ajusté à 1 L avec l'eau distilé
reactif de bradford	50 mg de bleu de comassie 25 ml ethanol pure 50 ml d'acide ortho phosphorique, ajusté à 500ml par ED
vanniline 5,8%	5,8g de vanilline dissoudre dans 100ml de méthanol pure.
vanniline HCL	Ça préparation est faite juste avant l'utilisation en mélangeant à volume équivalant la solution de vanilline à 5,8% et la solution d'Hcl 24%
Ferrozine 5mM	0.123g de ferrozine dans 50ml d'eau distillée
NAOH 1 N	40g de poudre de soude. Ajuster à 1000 ml avec de l'eau distillée.
EDTA (33µg/ml)	33µg dans un 1ml d'eau distillée
Bouchardate	2g de l'iode bisubliné (I ₂) +2 g de KI ajusté a 100 ml de l'eau distillée.
BHT	25 µg dans 1ml eau distillé

Résumé

Moringa oleifera est une plante largement utilisée dans les pays africains, elle est décrite dans la littérature comme une plante d'intérêt nutritionnel et médicamenteux. Dans cette étude nous avons quantifié la composition chimique, les composés phénoliques extraits par le méthanol 80 (phénols totaux, flavonoïdes, tanins), et l'activité antioxydante (activité anti radicalaire, pouvoir réducteur et pouvoir chélateur) de feuilles de *Moringa oleifera*. Et la mise en évidence de certains métabolites secondaires (Saponines, Alcaloïdes, Terpénoïdes et Tanins). Les résultats de cette étude montrent que les feuilles de *Moringa oleifera* renferment des teneurs importantes en (cendre, matière grasse et protéines), le dosage des molécules bioactives a révélé l'existence des phénols totaux, flavonoïdes et tanins avec des teneurs significativement différentes selon l'échantillon. Nos essais ont permis de mettre en évidence d'alcaloïdes, saponines, terpénoïde et tanins. Et les résultats ont montré que l'extrait S a une activité antioxydante supérieure à celle de l'extrait T.

Mots clés : *Moringa oleifera*, Métabolites secondaires, composés phénoliques, activité antioxydante.

Abstract

Moringa oleifera is a plant widely used in African countries; it is described in the literature as a nutritional and medicinal plant. In this study, we quantified chemical composition, phenolic compound extract by methanol 80 (total phenols, flavonoids and tannins), studied antioxidant activity (radical scavenging activity, reducing power and power chelator) and the identification of some secondary metabolites (saponins, alkaloids, terpenoids and tannins) in leaves of *Moringa oleifera*. The results of study show that the *Moringa oleifera* leaves contain significant levels of (ash, fat and protein). The quantification of bioactive molecules has revealed the presence of total phenols, flavonoids and tannins with significantly different levels according to samples. Our tests have enabled the detection of alkaloids, saponins, terpenoids and tannins, and the results showed that the S extract to an antioxidant activity is higher than T extract.

Key words: *Moringa oleifera*, secondary metabolites, phenolic compounds, antioxidant activity