

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

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Alimentaires

Filière : Sciences Alimentaires

Option : Biotechnologies, Agro-ressources, Aliment et nutrition



Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Activité antioxydante d'extraits de graines
d'intérêt nutritionnel et médicinal :
Moringa oleifera

Présenté par :

BOURAI El-Kaïssa & GUELMANI-ZIANI Fairouz

Soutenu le : **17 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mme HASSISSENE. N

MCB

Présidente

M. Zaidi. F

Professeur

Encadreur

Melle. Meziani. S

MCA

Examinatrice

Année universitaire : 2014/2015

Remerciements

Avant toute chose, Nous tenons à remercier Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné le courage, la volonté et la patience d'élaborer ce travail.

Nos remerciements vont également à notre promoteur Mr. ZAIDI F. pour nous avoir fait l'honneur de nous encadrer, pour son aide, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous a accordé.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à M^{me} HASSISSENE N. pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury, ainsi que, pour ses conseils, ses orientations et sa précieuse aide.

Nos remerciements les plus sincères vont à M^{elle} MEZIANI S. qui a accepté d'examiner notre travail.

Merci également à toute l'équipe du laboratoire « Nutrition et alimentation » pour leur accompagnement et leur aide.

Que tous ceux qui nous ont aidés, de près ou de loin, à mener à bout ce travail, trouvent ici l'expression de notre reconnaissance et notre profonde gratitude.





Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

La mémoire de ma mère, qui je ne pourrais jamais remercier assez et qui a gardé toujours une place dans mon cœur que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

Mon très cher affectueux père « vavayno » pour ses sacrifices et soutiens tout au long de ma vie.

Mes chères sœurs Razika, Nabila, Nassima, Hanane, Célia et leurs familles et bien sûr mon adorable Bahdja.

Mes chers frères Fahem, Nadir et sa femme.

Ma belle-mère Fatima.

Mes neveux : Abid, Idir, Mahdi et Mohamed amine.

Mes nièces : Biba, Leticia, Aya, Sora, Noorel-hoda et Fareh.

Mon cher époux ; Farid pour son soutien et mon adorable fille Eline.

Mon cher beau père et ma chère cousine et belle-mère.

Mes beaux-frères, mes belles sœurs et leurs familles.

Mes tantes, mes oncles, mes cousins, cousines ainsi que toutes leurs familles.

Ma collègue El-Kaïssa et à toute sa famille, pour toutes les épreuves et moments partagés ensemble je te remercie pour ta grande simplicité.

Toute la promotion Science Alimentaire et Biotechnologie 2014-2015.

Tous ceux que j'aime.

Fairouz



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents qui m'ont soutenue et encouragée durant toutes mes années d'étude. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler.

Mes très chers frères Yani et Aksel.

Ma grand-mère.

Mes oncles, tantes, cousins et cousines paternels et maternels.

Ma très chère amie Yasmine.

Ma collègue Fairouz et toute sa famille, pour toutes les épreuves et moments partagés ensemble je te remercie pour ton soutien et tes précieux conseils.

Toute la promotion Sciences Alimentaires et Biotechnologie
2014-2015.

Enfin tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

El-Kaïssa

Sommaire

Glossaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Radicaux libres, Stress oxydatif et Activité antioxydante

I. Radicaux libres, Stress oxydant et Activité antioxydante.....	3
I.1. Les radicaux libres.....	3
I.1.2. Sources de production des radicaux libres.....	3
I.1.2.1.Sources exogènes.....	3
I.1.2.2. Sources endogènes.....	3
I.1.3.1.Effets bénéfiques.....	5
I.1.3.2. Effets délétères.....	5
I.2. Stress oxydantif.....	5
I.2.1.Origine du stress oxydatif.....	6
I.2.2. Les maladies liées au stress oxydatif.....	6
I.3. Activité antioxydante.....	6
I.3.1. Définition.....	6
I.3.2.Classification.....	7
I.3.3. Les systèmes antioxydants d'origine naturelle.....	8
I.3.3.1. Antioxydants enzymatiques.....	8
I.3.3.2. Antioxydants non enzymatiques.....	9

Chapitre II : Moringa oleifera : plante à vertus curatives et nutritives

II.1. Les plantes à vertus curatives et nutritives.....	10
II.1.1. Principes actifs	10
II.1.1.1. Les éléments nutritifs.....	10
II.1.1.2. Les métabolites secondaires.....	10
II.1.2. Propriétés pharmacologiques.....	11
II.2. Généralités sur Moringa oleifera.....	12
II.2.1. Origine et répartition géographique.....	12
II.2.2. Dénomination et taxonomie.....	12
II.2.3. Description botanique.....	13
II.2.4. Culture.....	14
II.2.5. Usages	15
II.2.6. Qualité nutritionnelle.....	16
II.2.7. Propriétés médicinales.....	16

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

III. Matériel et méthodes.....	17
III.1. Récolte.....	17
III.2. Préparation des échantillons.....	17
III.2.1. Décorticage des graines	17
III.2.2. Broyage et tamisage	18
III.2.3. Extraction de la matière grasse.....	18
III.3. Extraction des composés phénoliques.....	18
III.4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits	19
III.4.1. Test de blanchiment du β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique.....	20
III.4.2. Mesure du pouvoir réducteur du fer.....	17
III.4.3. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH.....	22
III.5. Analyse statistique.....	23

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.Résultats et discussion.....	24
IV.1.Test de blanchiment du β -carotène.....	24
IV.2.Pouvoir réducteur.....	25
IV.3.Activité anti radicalaire : Inhibition du DPPH.....	27
IV.4.Corrélation entre activités antioxydantes et teneur en composés phénoliques.....	32
Conclusion.....	35

Références bibliographiques

Annexes

Glossaire

Antimicrobien : famille de substances qui tuent (bactéricide) ou ralentissent (bactériostatique) la croissance des microbes tels les bactéries (activité antibactérienne), les mycètes (activité antimycosique), les virus (activité antivirale), ou les parasites (activité antiparasitaire).

Cancer : pathologie caractérisée par la présence d'une (ou de plusieurs) tumeur maligne formée à partir de la transformation par mutations ou instabilité génétique (anomalies cytogénétiques), d'une cellule initialement normale.

Inflammation : réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression. Cette réponse fait intervenir des phénomènes d'immunité - c'est à dire de résistance aux agressions.

Ischémie réperfusion : c'est la situation que subiront des tissus irrigués par une artère terminale où la circulation est interrompue soit par manœuvre expérimentale (clampage de l'artère), soit par un mécanisme pathologique (spasme de l'artère ou obstruction par un caillot).

Maladies neurodégénératives :elles forment un sous-groupe de maladies dégénératives affectant le fonctionnement du cerveau ou plus généralement du système nerveux de façon progressive au cours de leur évolution.

Phytothérapie : provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes » qui est une branche de la médecine. Elle repose essentiellement sur l'emploi de plantes médicinales.

Principes actifs :substances chimiques se trouvant dans la plante médicinale agissant de façon isolée ou en association pour une action thérapeutique. Une plante médicinale peut contenir des centaines, voire des milliers de principes actifs différents.

Qualité nutritionnelle : capacité d'un aliment à répondre aux besoins journaliers.

Liste des abréviations

Am : Amande.

Abs : Absorbance.

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

ANOVA : Analyse des variance.

BHT : Hydroxytoluène Butylé.

DPPH : 2,2'-diphényl-picrylhydrazyl.

ED : Eau distillée.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

EthOH50% : Ethanol 50%.

EthOH96% : Ethanol 96%.

EqAA : Equivalent Acide Ascorbique.

FeCl₃ : Chlorure ferrique.

Gr : Graine.

IC50 : Concentration inhibitrice de 50%.

INRF : Institut national de la recherche forestière.

O₂[°] : Anion super oxyde.

OH[°] : Radical hydroxyle.

O₂¹ : Oxygène singulet.

PTS : Phénols totaux solubles.

TCA : Acide Trichloracétique.

Liste des figures

Figure 01: Balance oxydants/antioxydants en faveur d'un stress oxydatif	6
Figure 02 : Classification des antioxydants.....	7
Figure 03 : Jeune arbre de <i>Moringa oleifera</i> (A) et arbre mature de <i>Moringa oleifera</i> (B)..	13
Figure 04: Feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	13
Figure 05 : Fleurs de <i>Moringa oleifera</i>	13
Figure 06 : Gousses matures de <i>Moringa oleifera</i>	14
Figure 07 : Graines de <i>Moringa oleifera</i>	14
Figure 08 : Photographie des gousses de <i>Moringa oleifera</i>	17
Figure 09 : Photographie des graines de <i>Moringa oleifera</i>	17
Figure 10 : Photographie des graines entières sans ailes (A) et des amandes.....	17
Figure 11 : Photographie de la poudre délipidée des graines entières (A) et de la poudre délipidée des amandes (B).....	18
Figure 12 : Protocole d'extraction des polyphénols.....	19
Figure 13 : Protocole du test du blanchiment du β -carotène	20
Figure 14 : Protocole de détermination du pouvoir réducteur	21
Figure 15: Mécanisme réactionnel de la réduction du radical DPPH.....	22
Figure 16 : Protocole de mesure de l'activité antiradicalaire contre le radical DPPH.....	22
Figure 17: Effet de la nature de l'échantillon (A) et du solvant (B) sur l'inhibition du β - carotène.....	24
Figure 18 : Inhibition du blanchiment du β -carotène	25
Figure 19: Effet de la nature de l'échantillon (A) et du solvant (B) sur pouvoir réducteur.....	26
Figure 20: Le pouvoir réducteur des extraits bruts.....	27
Figure 21: Effet de la nature de l'échantillon (A) et du solvant (B) sur l'inhibition du DPPH.	28
Figure 22 : Activité antiradicalaire du DPPH des extraits bruts.....	29
Figure 23: Effet de la concentration sur l'inhibition du radical DPPH.....	30
Figure 24 : IC50 des différents échantillons contre le radical DPPH	31

Liste de tableaux

Tableau I : Principales voies de production des espèces réactives de l'oxygène	4
Tableau II : Les antioxydants non enzymatiques et leur mode d'action.	9
Tableau III : Principales exigences écologiques de <i>Moringa oleifera</i>	15
Tableau IV : Utilisations de <i>Moringa oleifera</i>	15
Tableau V : Analyse de la variance du test due l'inhibition de blanchiment du B-carotène.	24
Tableau VI : Analyse de la variance du pouvoir réducteur.	26
Tableau VII : Analyse de la variance de l'activité antiradicalaire du DPPH.	28
Tableau VIII : La matrice de corrélation des activités antioxydantes avec les teneurs des extraits en composés phénoliques.	32

Introduction

Introduction

Dès son apparition sur terre, l'Homme s'oriente rapidement vers le monde végétal, omniprésent autour de lui, offrant déjà une source de nourriture, pour tenter de calmer ses maux (**B-Morin, 2008**).

Les végétaux supérieurs ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques complexes, de nombreux composés qu'ils utilisent pour diverses fonctions adaptatives notamment en réponse aux stress biotique et abiotique qu'ils peuvent subir (**Cox et Balick, 1994**). Il est par ailleurs aujourd'hui reconnu que les plantes constituent une source importante de molécules bioactives. En effet, les plantes 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 et antioxydante (**Michel, 2011**).

L'oxygène est essentiel pour la vie de tous les organismes eucaryotes (**Gruber et al., 2008**). Cependant, la carence en substances nutritives protectrices nécessaires ou en d'autres substances antioxydantes dans le régime alimentaire ou dans certaines conditions héréditaires pathologiques peuvent aussi affecter négativement l'équilibre entre les prooxydants et les antioxydants (**Butterfield et al. 2002**). En effet, si la quantité de radicaux libres et le stress oxydatif excèdent la capacité du système de défense antioxydant du corps, des dégâts oxydatifs peuvent en résulter (**Halliwell et Gutteridge, 1984**) entraînant des pathologies telles que le l'arthrite, l'asthme, le cancer, les maladies d'Alzheimer et de parkinson (**Muller, 1993 ; Moulay, 2012**). Par ailleurs, l'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels, désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées (**Gerschman et al. 2001**).

Moringa oleifera Lam arbre tropical originaire d'Asie, est aujourd'hui largement répandu sur le continent africain (**Kokou et al., 2001**). Les nombreuses propriétés valorisables de cette plante en font un sujet d'étude très intéressant (**Foidl et al., 2001**), elle apparaît comme l'une des espèces les plus prometteuses en fonction de la teneur en nutriments, de l'activité antioxydante, des composés phytochimiques, de la facilité de culture et de transformation, et des qualités organoleptiques (**Yang et al., 2006**).

En Algérie, *Moringa oleifera* est peu connu et quelques essais ont été entrepris par l'INRF. Les diverses potentialités reconnues dans le monde pour Moringa pourraient encourager son développement et son exploitation en Algérie.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude traitant de graines récoltées durant l'année 2014 dans la région du Sud.

L'objectif du travail porte sur l'évaluation du potentiel antioxydant de différents extraits de graines et d'amandes.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

*Radicaux libres, Stress
oxydatif et activité
antioxydante*

I. Radicaux libres, Stress oxydatif et Activité antioxydante

I.1. Les radicaux libres

I.1.1. Définition

Un radical libre se définit comme tout espèce chimique instable (**Ratnam et al., 2006**) possédant un électron non apparié sur leur orbital externe (**Halliwell, 2006**). Il s'agit d'espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier (**Jadot, 1994**). Ils possèdent un temps de demi-vie court allant de 10^{-3} à 10^{-6} secondes (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**).

I.1.2. Sources de production des radicaux libres

I.1.2.1. Sources exogènes

L'environnement (polluants de l'air, rayonnements, métaux toxiques) et le mode de vie (tabagisme, faible consommation en fruits et légumes, pesticides, alcool, médicaments) sont responsables de la création et de l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme (**Morel et Barouki, 1999 ; Diallo, 2005**).

I.1.2.2. Sources endogènes

Les êtres vivants trouvent leur énergie dans la respiration mitochondriale (**Thomas et al., 2010**) sans libérer d'espèces radicalaires. Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines du système de la respiration, une production de radicaux libres se produit lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale (**Favier, 2003 ; Poston et raijmakers, 2004**).

Par ailleurs, ces derniers peuvent également provenir du microsome par l'activation de l'oxygène par les cytochromes P450, du peroxyosome, des réactions inflammatoires et du système xanthine/Xanthine oxydase au cours des phénomènes d'ischémie réperfusion (**Cheeseman et Slater, 1993 ; Valko et al., 2007**).

I.1.3. Principales espèces réactives de l'oxygène

L'oxygène subit des réductions successives produisant les différents métabolites nommées : Espèces Réactives de l'Oxygène [ERO] ou Reactive Oxygen Species [ROS]. En plus de l'oxygène, certaines ROS contiennent également un atome d'azote et sont aussi appelées « espèces réactives de l'oxygène et de l'azote » : RNOS, de l'anglais Reactive Nitrogen and Oxygen Species). Le sigle « ROS » désignera aussi bien les RNOS que les ROS sans azote (**Sertejn et al., 2002 ; Haleng et al., 2007**).

Les principales voies de production d'ERO sont représentées dans le **tableau I**.

Tableau I : Principales voies de production des espèces réactives de l'oxygène.

Espèces réactives de l'oxygène	Voies endogènes de production	Références
Anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$	Formé par la réduction monoélectrique de l' O_2 $O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\cdot-}$	Cadenas et Davies (2000).
Peroxyde d'hydrogène H_2O_2	Les métaux toxiques (chrome, cuivre, vanadium), ainsi que le cuivre et le fer génèrent des radicaux hydroxyles à partir de l' H_2O_2 , par une réaction appelée réaction de Fenton $H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow OH^{\cdot} + OH^-$	Favier (2003)
Le radical hydroxyle OH^{\cdot}	Produit principalement à partir de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en présence d'ions ferriques, au cours de la réaction De Haber Weiss. $Fe^{3+} + O_2^{\cdot-} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$ Réaction de Fenton $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^{\cdot}$ <hr/> $O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^- + OH^{\cdot}$ Réaction de Haber Weiss	Wardman et Candeias (1996) ; Favier (2003)
L'oxyde nitrique NO^{\cdot}	Le NO^{\cdot} est produit par la NO-synthétase constitutive, par oxydation de l'arginine. Elle catalyse la formation du radical NO à partir d'un atome d'azote du groupement guanidium de l'acide aminé (L)-arginine en consommant de l'oxygène moléculaire et du NADPH.	Aurousseau, (2002); Serteyn et al., (2002). Knowles et Moncada, (1994).
Le peroxydinitrite ($ONOO^-$)	Le peroxydinitrite est produit par l'interaction entre NO^{\cdot} et $O_2^{\cdot-}$ $O_2^{\cdot-} + NO^{\cdot} \rightarrow ONOO^-$	Walz, (1999).

I.1.4. Effets bénéfiques ou délétères des radicaux libres

Les ERO sont connues pour jouer un double rôle dans les systèmes biologiques, puisqu'ils peuvent être à la fois nocifs mais aussi bénéfiques, voir indispensables pour les organismes vivants (**Valko et al., 2004**).

I.1.4.1. Effets bénéfiques

Dans des conditions normales, ils sont produits en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables de réguler le phénomène de l'apoptose. Ils sont impliqués dans le processus de fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'ERO pour percer la paroi membranaire de l'ovule (**Servais, 2004 ; Haleng et al., 2007**), la défense immunitaire contre les agents pathogènes, la régulation de la dilatation capillaire et le fonctionnement de certaines neurones, notamment ceux de la mémoire (**Pincemail et al., 2002 ; Valko et al., 2007**) ; il joue également un rôle dans les processus de phagocytose (**Thiebault et Sprumont, 1998**) et dans l'activation de facteurs de transcription (**Costello et al., 1995**).

I.1.4.2. Effets délétères

Les radicaux libres sont à l'origine de multiples lésions cellulaires. Leurs structures cibles essentielles sont : l'ADN par modification des bases et une cassure des brins (**Cherubini et al., 2005**), les membranes cellulaires par le changement de la fluidité, perméabilité et altération des propriétés fonctionnelles des cellules (**Poston et Raijmakers, 2004**), par modifications structurales et fonctionnelles des protéines (**Agostinho, 1996**) et les lipides (peroxydation lipidique) (**Hu et al., 2005, Cherubini et al., 2005**).

Parmi ces molécules, certaines deviennent très réactives vis-à-vis de l'oxygène et subissent une oxydation définitive, mais le caractère radicalaire de la molécule ne disparaît pas et l'électron libre peut passer sur d'autres molécules entraînant des phénomènes d'oxydation en chaînes (**Fontaine, 2001**).

I.2. Stress oxydatif

En cas de production excessive, les radicaux libres sont susceptibles de produire des effets défavorables, ils sont responsables du phénomène appelé : Stress oxydatif (**Thiebault et Sprumont, 1998**). Selon **Deaton et al., (2003) ; Jearamraja, (2005)**, l'augmentation de la production des radicaux libres dans la cellule provoque le stress oxydant qui est un déséquilibre de la balance physiologique entre les systèmes de défenses antioxydants et la production d'ERO (**Figure 01**).

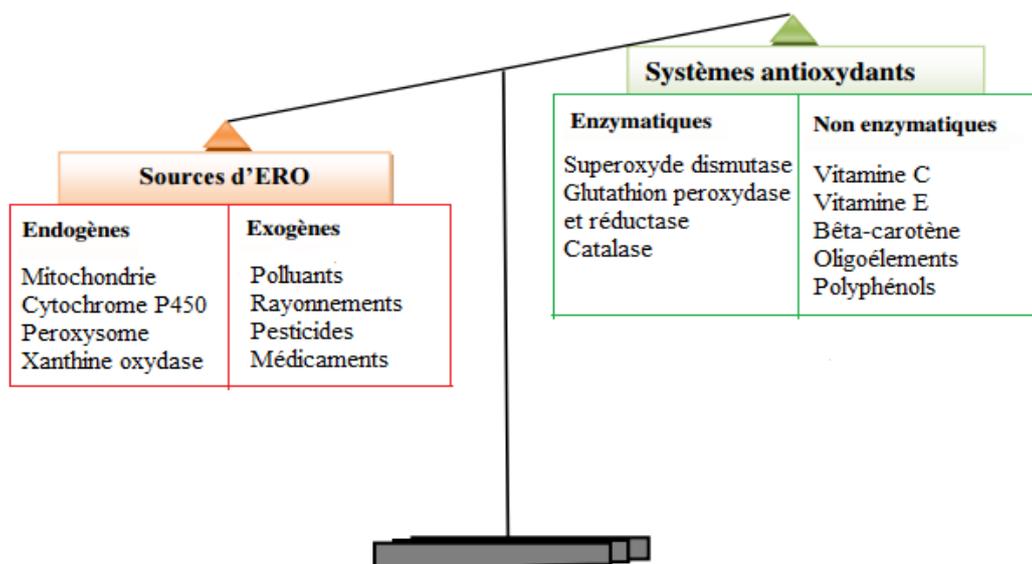


Figure 01 : Balance oxydants /antioxydants en faveur d'un stress oxydatif (Achat, 2013).

I.2.1. Origine du stress oxydatif

La rupture d'équilibre provient d'une carence en antioxydants apportée par l'alimentation comme elle peut résulter d'un mauvais codage d'une protéine soit enzymatiquement antioxydante, soit synthétisant un antioxydant (Favier, 2003 ; Haleng *et al.*, 2007).

I.2.2. Les maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydant provoqué par les ERO joue un rôle important dans l'apparition de plusieurs maladies chroniques et dégénératives (Nair *et al.*, 2012). Il est impliqué dans le développement du cancer, des maladies neuro-dégénératives et dans la pathogenèse des infections virales (Poston et Raijmakers, 2004). Selon Miwa et Fujita, (2008), le stress oxydant augmente par la présence de divers facteurs de risque tels que : Le tabagisme, l'hypertension, le diabète et l'obésité.

I.3. Activité antioxydante

I.3.1. Définition

Les antioxydants correspondent à toute substance capable, à concentration relativement faible, de prévenir, empêcher ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible (Pencemail *et al.*, 1998).

I.3.2. Classification

Les antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine. On distingue deux grandes classes : Les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (figure 02).

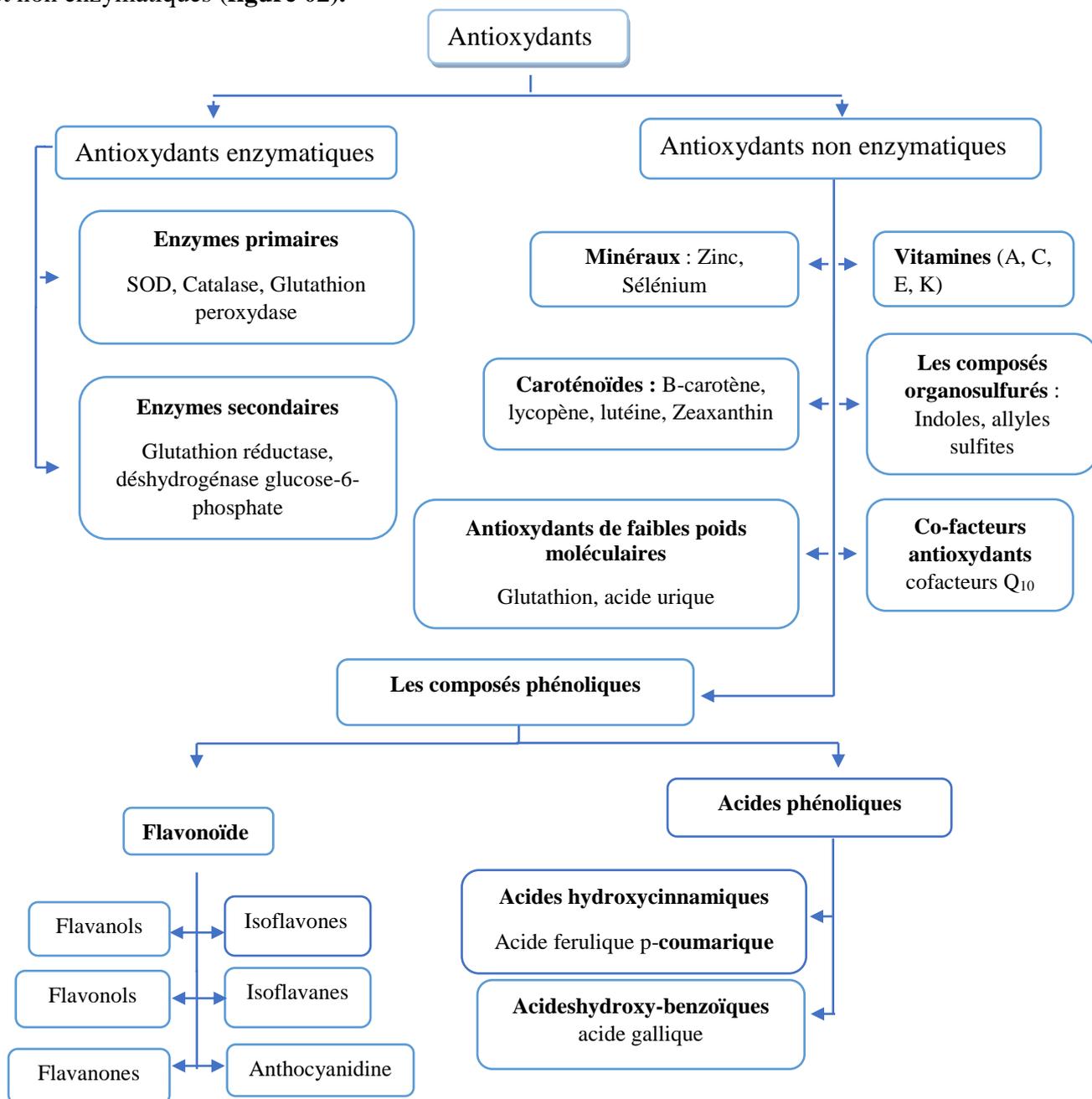


Figure 02: Classification des antioxydants (Ratnam et al., 2006).

I.3.3. Antioxydants d'origine naturelle

I.3.3.1. Antioxydants enzymatiques

➤ Les superoxydes dismutases SOD

Les SOD initient le processus par une réaction de dismutation (**Jadot, 1994**). Ils éliminent les radicaux superoxydes en produisant une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène (**Parrilla-Taylor et Zenteno-Savin, 2011**). L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc (**Goudable et Favier, 1997**).



➤ Les Catalases

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes (**Goudable et Favier, 1997 ; Gardès-Albert et al., 2003**)

Catalase



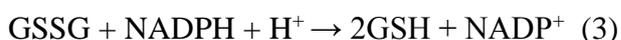
➤ Les glutathions peroxydases et réductases

Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau selon la réaction (1) et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools ; celles-ci se transforment en glutathion-disulfure « GSSG » selon la réaction (2) (**Marfak, 2003**).

La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG selon la réaction (3). Au cours de cette réaction, la glutathion réductase utilise un cofacteur, le NADPH (**Goudable et Favier, 1997**) :



GPx



I.3.3.2. Antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants (**Tableau II**) ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation tels que : La vitamine C et E, les oligoéléments et les polyphénols (**Martinez-Cayuela, 1995 ; Favier, 2003**).

Tableau II : Les antioxydants non enzymatiques et leur mode d'action.

Nature	Mode d'action	Références
Vitamine C (acide ascorbique)	Piégeur des EOA comme HO [•] ou O ₂ ^{•-} , elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques.	Haleng et al. (2007)
Vitamine E (Tocophérol)	S'insère au sein de la membrane où elle agit en empêchant la propagation des peroxydations lipidiques.	Cuvelier et al. (2000).
Bêta-carotène	L'inactivation de l'oxygène singulet O ₂ ¹ du fait qu'elle permet la désexcitation de l'oxygène. L'énergie d'excitation de l'oxygène est transférée au β-carotène, elle sera éliminée par la suite sous forme de chaleur	Hu, (2001) ; Gardès-Albert et al. (2003).
Les oligoéléments	Interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres.	Ducros et Favier, (2004) ; Cano et al. (2006).
Les polyphénols	Exercent un effet antioxydant vis-à-vis des O ₂ ^{•-} généré par la xanthine oxydase et ils agissent aussi comme antioxydants en chélatant les métaux de transition.	Ketsawatsakul et al. (2000) ; Gulcin et al. (2010).

Chapitre II

Moringa oleifera : plante à vertus curatives et nutritives

II. *Moringa oleifera* : plante à vertus curatives et nutritives

II.1. Les plantes à vertus curatives et nutritives

L'Homme est habitué à consommer et à digérer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicinales que nutritives. La phytothérapie, médecine du passé, est également considérée comme une médecine d'avenir car de nombreux principes actifs de ces plantes restent à découvrir (**Bouheroum, 2007**).

II.1.1. Principes actifs

Autres les composants énergétiques (glucides et lipides) et les protéines (les enzymes et les hormones) servant à la constitution et au maintien des substances organiques, on distingue les composants fonctionnels dits « principes actifs », partagés à leur tour en éléments nutritifs, et en métabolites secondaires (**Barron, 2014**).

II.1.1.1. Les éléments nutritifs

On distingue les vitamines hydrosolubles du complexe B et la vitamines C ainsi que les vitamines liposolubles A, D, E, K. Les macroéléments sont le calcium, le phosphore, le magnésium, le potassium, le sodium et le chlorure. Enfin, le fer, l'iode et le zinc constituent des oligoéléments importants (**Schlienger, 2011**).

II.1.1.2. Les métabolites secondaires

Définition et classification

Tout comme les éléments nutritifs, les plantes produisent des composés non nutritifs nommés : Métabolites secondaires (**Coffi et al., 2012**). Ces substances ne participent pas directement aux processus de base de la cellule vivante par opposition à celui de métabolites primaires (**Bourgaud, 2010**). Les métabolites secondaires sont impliqués dans : les réactions de défense de la plante, la communication interbiotique interspécifique (plante/insectes, plante/microorganismes), Les relations Intraspécifiques (communication entre les plantes, signaux d'alertes) et la protection de la plante contre les stress abiotiques tels que les UV et le stress hydrique (**Arimuraet al., 2010 ; Bertrand et Andreu, 2013**). On distingue chez les végétaux trois grandes catégories de métabolites secondaires: Les alcaloïdes, les composés terpéniques et les composés phénoliques (**Gravot, 2009**).

➤ **Alcaloïdes**

Composés hétérocycliques comportant un ou plusieurs atomes d'azote (**Rahal, 2009**) dissouts dans le suc vacuolaire, comme on peut les retrouver à l'état de combinaisons insolubles avec les tanins (**Gazengel et Orecchioni, 1999**). Ils ont une action médicamenteuse ou toxique (**Ali-delille, 2013**).

➤ **Composés terpéniques**

Les terpénoïdes sont classés en fonction du nombre de leurs unités isoprènes (le monoterpène, avec deux unités isoprènes, les sesquiterpènes avec trois unités et les diterpènes (quatre unités). Beaucoup de monoterpènes et les sesquiterpènes sont appelés huiles essentielles (**Raven et al., 2003**).

➤ **Composés phénoliques**

Produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre (**Bruneton, 1999**).

Les principales classes sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes, les tanins, et les coumarines (**King et Young, 1999 ; Tapiero et al., 2002**).

II.1.2. Propriétés pharmacologiques

Les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques gastro-intestinales et antioxydantes (**Harborne, 1998 ; Bruneton, 1999**).

II.2. Généralités sur *Moringa oleifera*

II.2.1. Origine et répartition géographique

Moringa oleifera Lam est un arbre originaire de l'Inde, dans les vallées au sud de la chaîne de montagne de l'Himalaya, mais elle est cultivée aujourd'hui dans toutes les régions tropicales et sub-tropicales du monde (**Rajangam et al., 2001**) telles que : le Pakistan, le Bangladesh, l'Afghanistan et le Sri Lanka (**Ferreira et al., 2014 ; Parrotta, 1993**) et également la Malaisie, les Philippines, Singapour, la Thaïlande, le Mexique, le Pérou, les îles des Caraïbes, le Paraguay et le Brésil (**Morton, 1991 ; Ramachandran, 1980**). Son introduction en Afrique de l'Est a eu lieu au début du 20^e siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes (**Foidl et al., 2001**). Durant cette période, elle est utilisée comme plante médicinale et alimentaire (**Ndong et al., 2007**).

II.2.2. Dénomination et taxonomie

Il existe 13 espèces de *Moringa* (**Annexe 1**), l'espèce *Moringa oleifera* étant la plus connue (**Prince, 2007 ; Houndji et al., 2013**). Ces espèces appartiennent à la famille monogénérique des arbustes et arbres des Moringaceae (**Foidl et al., 2001 ; Prince, 2007**).

Moringa oleifera Lamarck (Synonyme : *Moringa pterygosperma* Gaertner) possède plusieurs dénominations : En anglais, il est connu sous les noms de « Never die tree » en référence à sa capacité de résistance à la sécheresse mais aussi sous les noms de « West Indian Ben tree », « Radishtree » ou encore « Drumstick tree » et en français sous les noms de Bèn ailé, Benzolive, *Moringa* (**Fuglie, 2001 ; Lim, 2012**).

Classification systématique de *Moringa oleifera* (**Arora et al., 2013**) :

- Règne : Végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Sous-classe : *Dillenida*
- Ordre : Capparidales
- Famille : *Moringaceae*
- Genre : *Moringa*
- Espèce : *Moringa oleifera*

II.2.3. Description botanique

Moringa oleifera Lam est un petit arbre (**Figure 03**), parfois même considéré comme un arbuste ; il mesure en moyen 4 à 5 mètres mais peut atteindre les vingtaines mètres de hauteur et son diamètre jusqu'à 3 mètres (**Delpha, 2011**), selon les lieux et les conditions d'entretien (**Wolfrom Nigg, 1993**). L'arbre croît rapidement et peut se régénérer par lui-même, après une coupe très sévère (**Bernardin, 2012**).

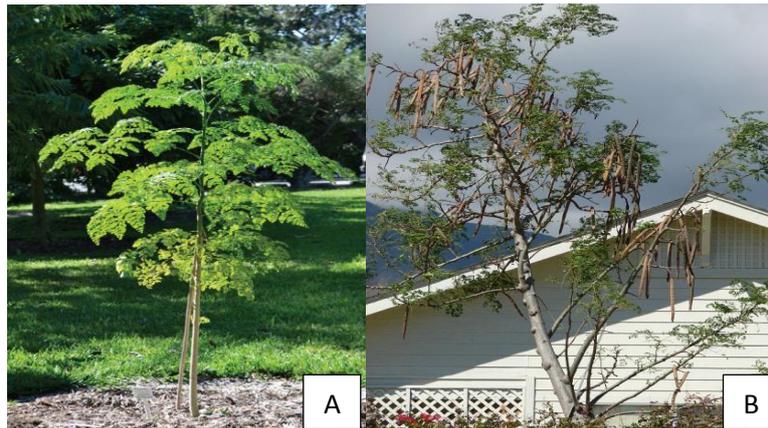


Figure 03 : Jeune arbre de *Moringa oleifera* (A) et arbre mature de *Moringa oleifera* (B). (**Kathryn et al., 2012** ; **Forest et Starr, 2007**).

Ses feuilles sont duveteuses, alternes et bi ou tripennées (**Figure 04**) et se développent principalement dans la partie terminale des branches (**Morton, 1991**). Ses fleurs (**Figure 05**) mesurent 2,5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires de 10 à 25 cm. Elles sont blanches ou couleur crème, avec des points jaunes à la base et dégagent une odeur agréable (**Foidl et al., 2001**).



Figure 04 : Feuilles de *Moringa oleifera* (**Prince, 2007**).



Figure 05 : Fleurs de *Moringa oleifera* (**Silva et al., 2010**).

Ses fruits (**Figure 06**) pendent des branches et constituent des gousses à trois lobes mesurant 20 à 60 cm de long. Les gousses sèches s'ouvrent en trois parties en libérant 12 à 35 graines (**Figure 07**). Un arbre peut produire 15 000 à 25 000 graines par an (**Makkar et Becker, 1997**).



Figure 06 : Gousses matures de *Moringa oleifera* (Forest et starr, 2007).

Les graines sont arrondies, ailées (**Figure 07**) avec une coque marron semi-perméable, le poids moyen d'une graine est de 0,3 g dont 25% sont représentés par la coque. La production annuelle est de 15 000 à 25 000 graines par arbre (Makkar et Becker, 1997).



Figure 07 : Graines de *Moringa oleifera* (Cleide et al., 2013).

II.2.4. Culture

Moringa est un arbre peu exigeant en eau et en matières minérales. Ainsi, son introduction dans un environnement riche en biodiversité est bénéfique à la fois pour l'exploitant et pour l'écosystème environnant (Foidl et al., 2001).

Moringa oleifera s'adapte à des milieux différents ; il se plaît en milieu aride ou semi-aride mais il peut se trouver aussi dans les zones très arides comme le Sahara. Il peut se planter par semis, en repiquage, en plein champ, ou par boutures (Millogo-Koné et al., 2008).

Le **tableau III** résume les principales exigences écologiques de *Moringa oleifera*.

Tableau III : Principales exigences écologiques de *Moringa oleifera* (Saint Sauveur et Broin, 2010).

Paramètre	Valeur/fourchette
Climat	Tropical ou subtropical
Altitude	0-2000 mètres
Température	25-35°C
Pluviométrie	250 mm-2000 mm. Irrigation nécessaire pour la production de feuilles si pluviométrie < 800 mm
Type de sol	Limoneux, sableux ou sablo-limoneux
pH du sol	Légèrement acide à légèrement alcalin (pH : 5 à 9)

II.2.5. Usages :

Moringa oleifera possède plusieurs utilisations, le **tableau IV** illustre ces dernières selon les compartiments de la plante.

Tableau IV : Utilisations de *Moringa oleifera*.

Utilisation	Référence
<ul style="list-style-type: none"> • Consommation humaine : Les feuilles sont consommées cuites, comme des épinards. Les fleurs sont utilisées comme ingrédient d'une salade. Les jeunes gousses vertes en haricots et les racines des jeunes plantes sont séchées et réduites en poudre pour relever l'assaisonnement. 	Foidl et al. (2001).
<ul style="list-style-type: none"> • Fourrage pour l'alimentation animale : Elle constitue une bonne source de fourrage pour les bovins. 	Ramachandran et al. (1980).
<ul style="list-style-type: none"> • Purification de l'eau : Les graines contiennent un polyélectrolyte qui permet la sédimentation des particules en suspension dans l'eau. 	Bhuptawat et al. (2007) ; Beltrán-Heredia et al. (2009) ; Poumaye et al. (2012).
<ul style="list-style-type: none"> • Utilisation Industrielle : Les graines contiennent 40% d'huile, celles-ci sont utilisées comme lubrifiant dans la machinerie fine et dans l'industrie des parfums, comme elle a un potentiel pour être utilisée en tant que biocarburant. Fabrication de colorants à partir du bois et de la pâte à papier. 	Ramachandran et al. (1980) ; Tsaknis, et al. (1999) ; Rashid et al. (2008) ; Mofijur et al. (2013).

II.2.6. Qualité nutritionnelle

L'arbre de Moringa a été utilisé pour lutter contre la malnutrition, en particulier chez les nourrissons et les mères allaitantes (**Fuglie, 2001**). Les feuilles séchées de Moringa contiennent : Par gramme, 4 fois plus de protéines que la viande de bœuf, 3 fois plus de potassium que la banane, 2 fois plus de protéine que le lait, 4 fois plus de calcium que le lait, 4 fois plus de vitamines A que les carottes, 7 fois plus de vitamines C que les oranges (**Ramachandran 1980 ; Jideani et Diedericks, 2014**). Elles possèdent également les 10 acides aminés essentiels à l'être humain (**Ndonget *al.*, 2007**) et sont reconnues au plan mondial comme un excellent complément alimentaire (**Anwar *et al.*, 2007**). Les graines de Moringa contiennent 40% d'huile et le profil de l'acide gras de l'huile démontre qu'elles contiennent 73% d'acide oléique. L'huile de Moringa se rapproche donc d'une huile de qualité supérieure, telle que l'huile d'olive (**Ayerza, 2011 ; Adejumo, 2013**).

Cependant, ces feuilles contiennent des facteurs anti-nutritionnel tels que : les sucres ; raffinose et stachyose qui produisent des flatulences chez les monogastriques (**Foidl *et al.*, 2001**) mais aussi les nitrates, l'oxalate, les saponines et les phytates (**Reddy *et al.*, 1982**).

II.2.7. Propriétés médicinales

Toutes les parties (feuilles, fleurs, fruits, écorces et racines) de *Moringa oleifera* ont des vertus médicinales confirmées par des années de recherches et d'expérimentation (**Anwar *et al.*, 2007**). Le régime à base de Moringa augmente la réponse immunitaire (**Yang *et al.*, 2006**). La richesse de ces feuilles en flavonoïdes, leur confère une forte activité antimicrobienne (**Millogo-Koné, 2012**) et une activité anti-inflammatoire (**Coppin, 2012**). En effet, les graines contiennent un glucosinolate qui combat l'inflammation (**Ferreira *et al.*, 2008 ; Waterman *et al.*, 2014**).

M.oleifera contient des composés antioxydants luttant contre le stress oxydant (**Luqman *et al.*, 2012**) tels que les polyphénols (La quercétine, l'acide gallique, la catéchine...) et des vitamines : A, C et E (**Anwar *et al.*, 2007 ; Ndonget *al.*, 2007 ; Nandave *et al.*, 2009 ; Atawodi, 2011 ; Moyo *et al.*, 2012**).

Partie expérimentale

Chapitre III

Matériel et méthodes

III. Matériel et méthodes

III.1. Récolte

L'étude est réalisée sur les graines de *Moringa oleifera* provenant du Sud algérien. Les gousses (**Figure 08**) sont récoltées durant la période comprise entre septembre et novembre 2014.



Figure 08: Photographie des gousses de *Moringa oleifera*.

III.2. Préparation des échantillons

III.2.1. Décorticage des graines :

Les graines (**Figure 09**) sont retirées des gousses, puis décortiquées manuellement.



Figure 09: Photographie des graines de *Moringa oleifera*.

Deux échantillons sont utilisés : La graine entière sans ailes (**figure 10 A**) et l'amande (**figure 10 B**).

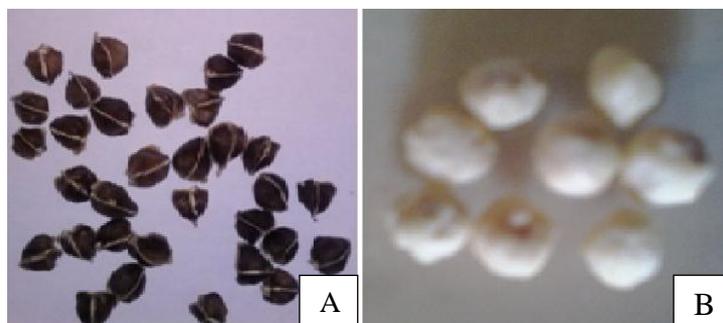


Figure 10: Photographie des graines entières sans ailes (**A**) et des amandes (**B**).

III.2.2. Broyage et tamisage :

Le broyage est réalisé avec un broyeur électrique de type « CGR- 8001 » jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Le tamisage est effectué avec un tamiseur électrique de type « Retch AS200 » en utilisant 3 tamis de diamètres : 2 mm, 1 mm et 0,5 mm, uniquement la poudre de granulométrie inférieure à 0,5 mm est récupérée et conservée dans des flacons en verre fermés hermétiquement puis stockés à l'abri de la lumière.

III.2.3. Extraction de la matière grasse :

Après broyage et tamisage des deux échantillons, on procède à un délipidage au Soxhlet par de l'éther de pétrole pendant 6 heures. La poudre délipidée (**Figure 11**) est conservée pour des utilisations ultérieures à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des bocaux en verre protégés avec du papier aluminium.



Figure 11 : Photographie de la poudre délipidée des graines entières (A) et de la poudre délipidée des amandes (B).

III.3. Extraction des composés phénoliques

L'extraction est obtenue par macération selon la méthode **d'Oomah et al. (2010)**. Trois solvants sont employés : L'eau distillée, L'éthanol 96% et l'éthanol 50% pour extraire les composés phénoliques des deux échantillons graine entière et amande (**Figure 12**).

Principe

Dans les processus d'extraction de molécules actives présentes dans un milieu solide, l'opération fait appel à la diffusion au sein du solide d'un solvant d'extraction ; l'extraction se présente ainsi comme une interaction solide/liquide (**Ben amor, 2008**). Le transfert de ces molécules actives recherchées, vers le milieu extérieur, a lieu grâce à une diffusion ayant pour élément moteur le gradient de concentration en soluté entre la solution au voisinage de la phase solide (plus concentrée) et la phase liquide. A la fin de l'opération, le système tend vers l'équilibre et la diffusion est quasi nulle (**Hamsi, 2013**).

Mode opératoire

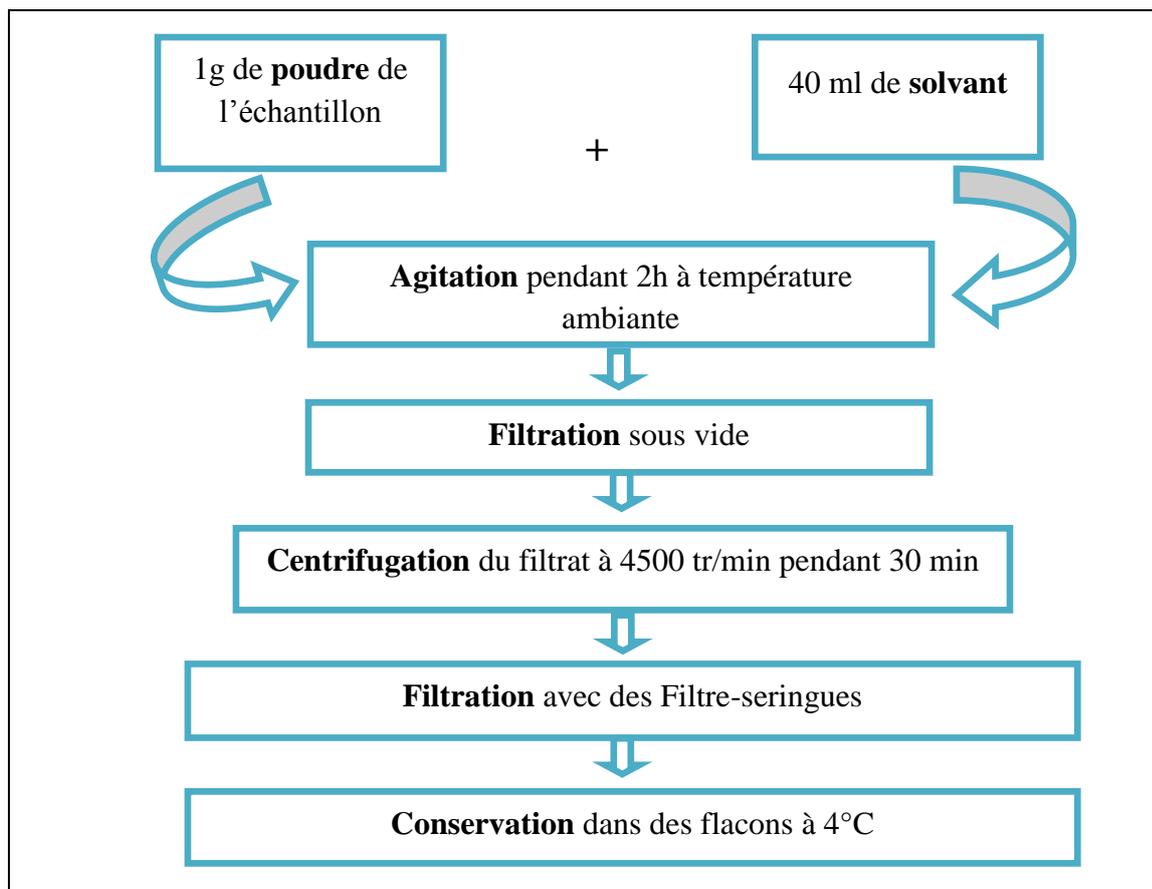


Figure 12: Protocole d'extraction des polyphénols (Oomah *et al.*, 2010).

III.4. Evaluation de l'activité antioxydant des extraits

La capacité antioxydant de l'ensemble des extraits a été évaluée *in vitro* par trois méthodes spectrophotométriques. Le test de blanchiment du β -carotène (Figure 13) est déterminé selon la méthode de Prakash *et al.* (2011). Le pouvoir réducteur (Figure 14) est évalué selon la méthode d'Oyaizu *et al.* (1986) reprise par Atmani *et al.* (2009) et l'activité anti radicalaire : L'inhibition du DPPH (Figure 16) est mesurée selon la méthode de Brand-Williams *et al.* (1995). Pour chaque extrait, les tests ont été répétés trois fois. Une lyophilisation a été effectuée afin de conserver nos échantillons et étudier l'effet de la concentration sur le pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

III.4.1. Test de blanchiment du β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique

Principe

Dans le test du blanchiment du β -carotène, la présence des 11 doubles liaisons rend le β -carotène extrêmement sensible aux radicaux libres dérivés d'hydroperoxydes qui sont formés à partir de l'oxydation d'acide linoléique dans un système émulsion aqueuse en résultant le blanchiment du β -carotène (Belyagoubi, 2011). La capacité antioxydant est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (Liyana-Pathirana et Shahidi, 2006).

Mode opératoire

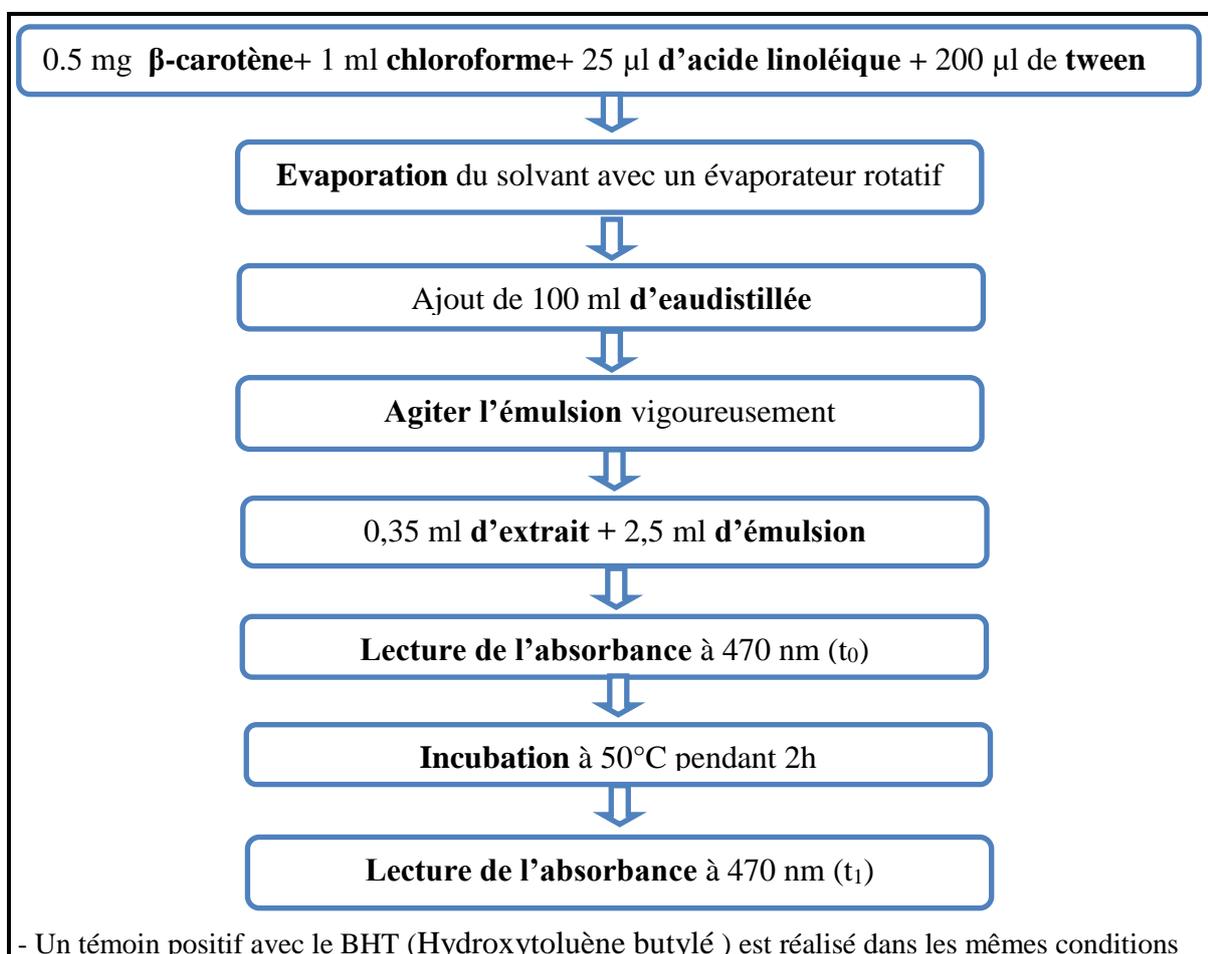


Figure 13 : Protocole du test de blanchiment du β -carotène (Prakash et al., 2011).

Le taux de dégradation (DR) est mesuré à l'aide de la formule suivante :

$$I\% = (A_t/A_0) \times 100$$

$A_t = 0$ absorbance initiale à $t = 0$

$A_t = t_1$ est l'absorbance à $t_1 = 120$ min

III.4.2. Mesure du pouvoir réducteur du fer

Principe

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à donner un électron (Li et al., 2009) qui va réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}) dans un milieu acidifié par l'acide trichloroacétique (Luqman et al., 2012 ; Sushma et al., 2013). En ajoutant FeCl_3 dans le mélange, un complexe de couleur bleue spécifique se produit (Dorman et al., 2003). De ce fait, La forme réduite se traduit par le changement de la couleur jaune vers une couleur bleue (Chung et al., 2006) et une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006).

Mode opératoire :

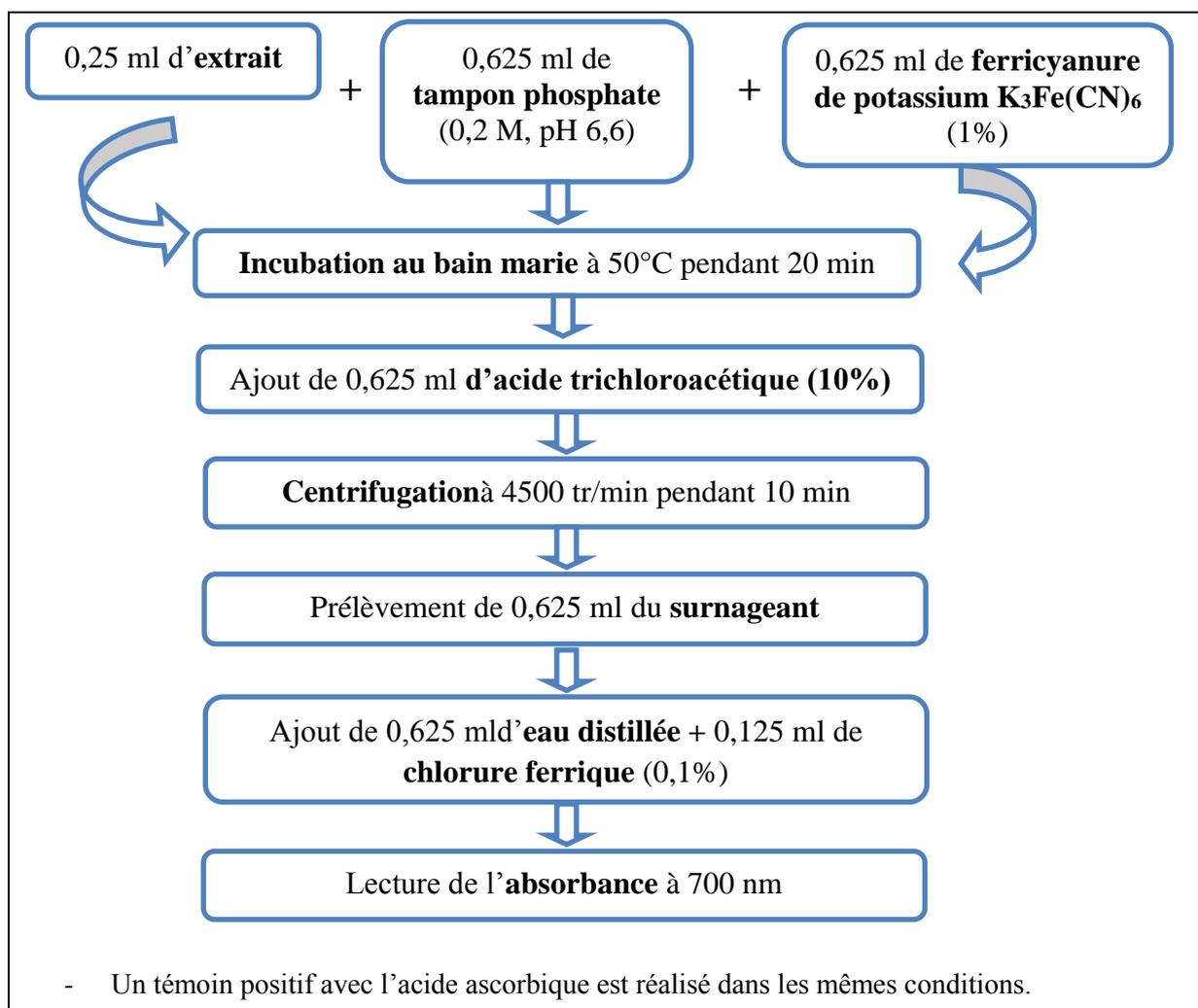


Figure 14 : Protocole de détermination du pouvoir réducteur (Oyaizu et al., 1986).

La capacité antioxydant de nos échantillons est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• suivant l'équation :

$$\% \text{Inhibition} = \frac{\text{Abscontrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abscontrôle}} \times 100$$

Abs contrôle : Correspond à l'absorbance du contrôle.

Abs échantillon : Correspond à l'absorbance de l'échantillon.

Calcul de l'IC₅₀ :

Comme le pourcentage d'inhibition du radical DPPH calculé est inférieur à 50%, une concentration des solutions reconstituées de lyophilisat a été effectuée.

L'IC₅₀ est déterminée en traçant la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration par le biais du logiciel graph pad.

III.5. Analyse statistique

Toutes les déterminations sont menées en triple. Les résultats sont exprimés par la moyenne ± écart type.

Les résultats ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) suivie d'une comparaison multiple des moyennes grâce au logiciel Statistica version 5.5 et la comparaison des données est prise à la probabilité $P < 0,05$.

Chapitre IV

Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion :

IV.1. Test du blanchiment du β -carotène

Nos résultats montrent une variabilité du pouvoir d'inhibition de blanchiment du β -carotène des différents extraits (46,90% à 76,18%). L'étude statistique (**Tableau V**) montre un effet significatif ($p < 0,05$) aussi bien du facteur échantillon (graine ou amande) que du facteur solvant (Eau distillée, éthanol 50% ou éthanol 96%) avec une interaction significative ($p < 0,05$) entre eux.

Tableau V : Analyse de la variance du test de l'inhibition de blanchiment du β -carotène.

	SS	Degr. of	MS	F	p
		Freedom			
Interception	131956,014	1	131956,014	238432,848	0
Echantillon	8544,72575	2	4272,36288	7719,78188	0
Solvant	1496,52926	2	748,264628	1352,04801	0
Echantillon*Solvant	766,513195	4	191,628299	346,255389	1,1102E-16
Error	9,9617493	18	0,55343052		

Globalement, les extraits de graines manifestent une inhibition du blanchiment du β -carotène significativement supérieure ($p < 0,05$) à celle des extraits d'amande (**Figure 17A**). Nous notons également que les extraits à l'éthanol 96% (**Figure 17B**) enregistrent les plus fortes activités ($p < 0,05$).

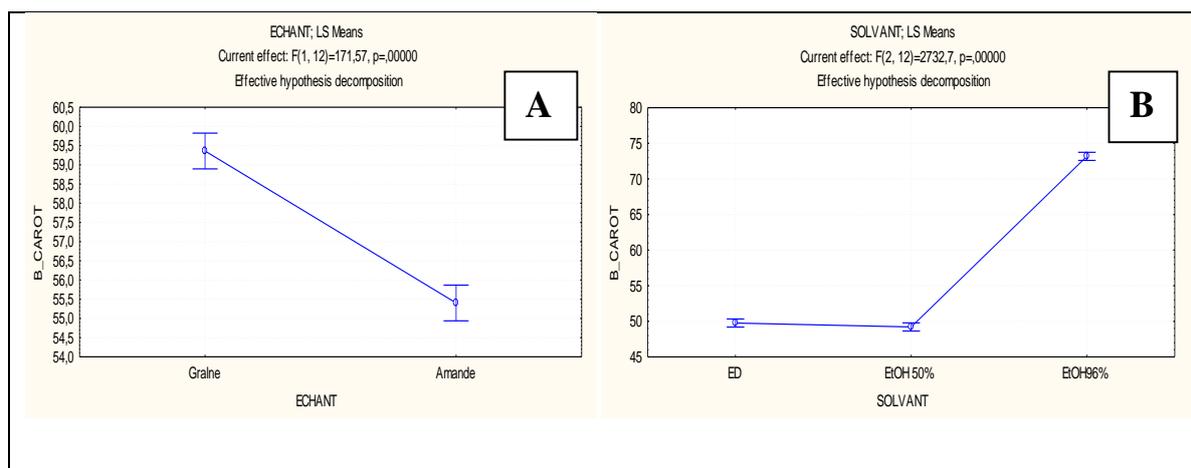


Figure 17 : Effet de la nature de l'échantillon (**A**) et du solvant (**B**) sur l'inhibition du β -carotène.

Dans nos conditions expérimentales, l'inhibition du blanchiment du β -carotène par les extraits est inférieure à celle induite par le BHT utilisé à une concentration de 2mg/ml.

La substitution de l'eau distillée par l'éthanol s'accompagne de différences de comportement (**Figure 18**) entre extraits de graine et d'amande.

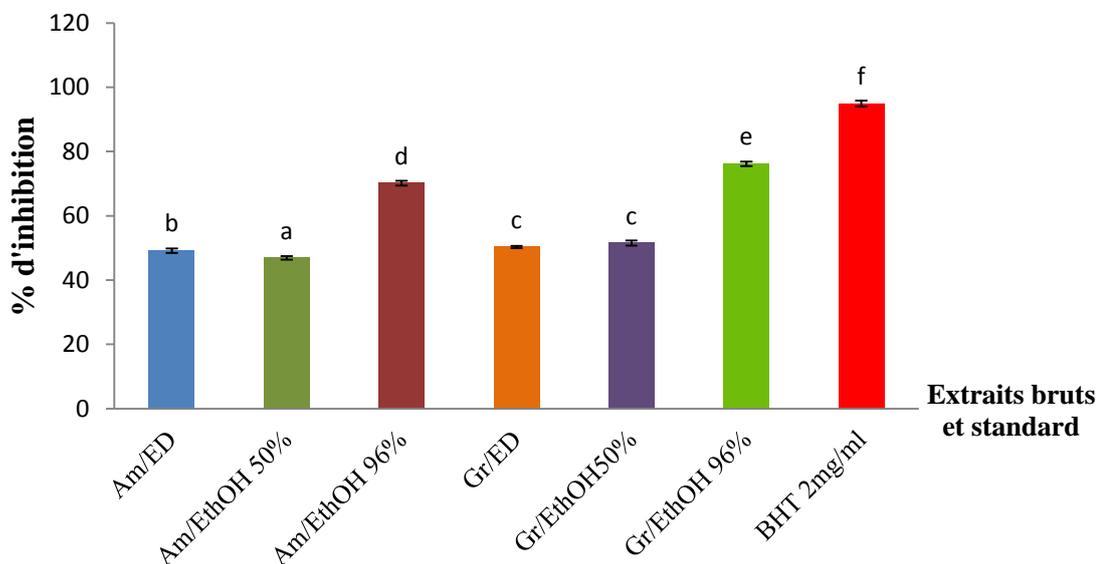


Figure 18 : Inhibition du blanchiment du β -carotène.

Les histogrammes qui portent la même lettre ne sont pas significativement différents ($p > 0.05$).

Pour l'amande, nous notons que l'utilisation de l'éthanol 50% induit une diminution significative ($p < 0,05$) de l'activité de l'extrait de 4,56%. Par contre, nous enregistrons une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité pour l'extrait à éthanol 96% de 42,74%.

Pour la graine nous enregistrons une similitude d'action pour les extraits aqueux et éthanoliques 50% ; ce dernier n'augmente ($p > 0.05$) l'activité de l'inhibition du blanchiment du β -carotène que de 2,40%. Par contre, la substitution de l'eau par de l'éthanol 96% induit une augmentation significative ($p > 0.05$) de l'activité de l'extrait : elle passe de 50,30 à 76,18%.

IV.2. Pouvoir réducteur

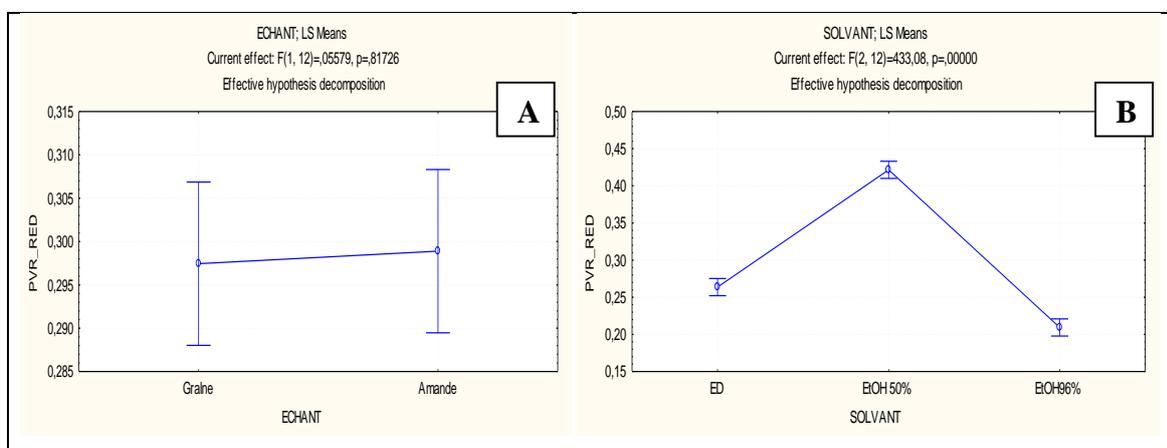
Nos résultats montrent une variabilité du pouvoir réducteur des différents extraits. Leur analyse statistique (**Tableau VI**) révèle un effet significatif aussi bien du facteur échantillon (graine ou amande) que du facteur solvant (Eau distillée, éthanol 50% ou éthanol 96%) avec une interaction significative ($p < 0,05$) entre eux.

Tableau VI : Analyse de la variance du pouvoir réducteur.

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Interception	4,642608	1	4,642608	35270,2352	0
Echantillon	0,73291089	2	0,36645544	2783,98903	0
Solvant	0,09717089	2	0,04858544	369,107203	2,4425E-15
Echantillon*Solvant	0,12354889	4	0,03088722	234,652504	2,8866E-15
Error	0,00236933	18	0,00013163		

La figure 19A montre que les extraits d'amande enregistrent le pouvoir réducteur le plus élevé. L'éthanol 50% (Figure 19B) manifeste le meilleur pouvoir réducteur que les autres solvants.

Figure 19 : Effet de la nature de l'échantillon (A) et du solvant (B) sur pouvoir réducteur.



Dans nos conditions expérimentales, le pouvoir réducteur des différents extraits testés est inférieur à celui de l'acide ascorbique pris comme standard. La substitution de l'eau distillée par l'éthanol s'accompagne de différences de comportement entre extraits de graine et d'amande (Figure 20).

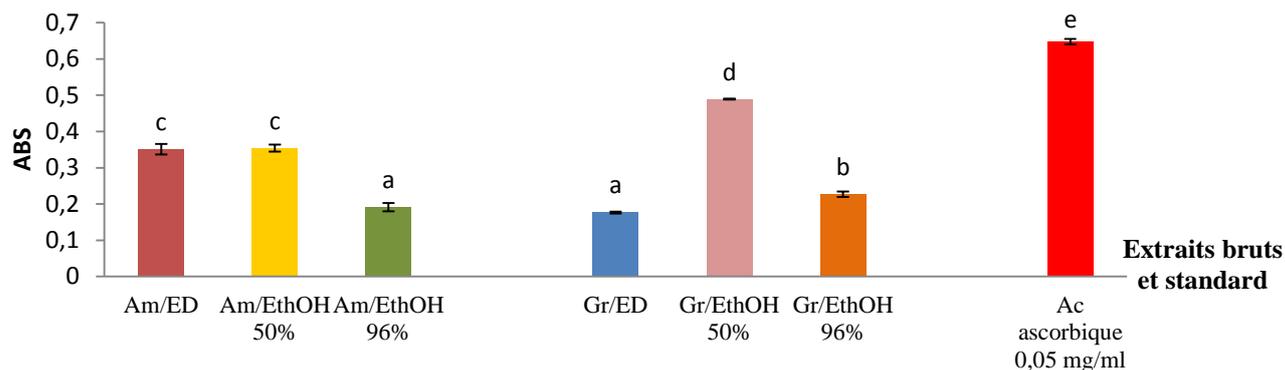


Figure 20 : Le pouvoir reducteur des extraits bruts

Les histogrammes qui portent la même lettre ne sont pas significativement différents ($p > 0.05$)

Pour l'amande, nous enregistrons une similitude d'action pour les extraits aqueux et à éthanol 50% (0,351 et 0,354) alors que l'extrait à éthanol 96% voit un pouvoir réducteur diminuer de 45,39%.

Pour la graine, nous notons une augmentation du pouvoir réducteur en présence d'éthanol dans le solvant : L'éthanol 50% augmente le pouvoir réducteur de 177,31 % alors que l'éthanol 96% ne l'augmente que de 28,73 %.

IV.3. Activité antiradicalaire : Inhibition du DPPH :

Nos données expérimentales montrent que tous les extraits testés manifestent un pouvoir antiradicalaire variable. L'analyse statistique de nos résultats (**Tableau VII**) indique que la réduction du radical libre DPPH par les extraits dépend aussi bien du facteur échantillon (graine ou amande) que du facteur solvant d'extraction utilisé (eau distillée, l'éthanol 96%), avec une interaction significative ($p < 0,05$) entre eux.

Tableau VII: Analyse de la variance de l'activité antiradicalaire du DPPH

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	P
Interception	47584,6931	1	47584,6931	108602,158	0
Echantillon	38441,47	2	19220,735	43867,327	0
Solvant	226,039791	2	113,019895	257,944387	5,6288E-14
Echantillon*Solvant	175,966837	4	43,9917093	100,40192	4,7289E-12
Error	7,88680901	18	0,43815606		

La figure 21A montre que les extraits de graines possèdent une activité antioxydante plus élevée que celles des extraits d'amande. Tous les extraits à l'éthanol 50% (Figure 21B) manifestent le meilleur pouvoir antiradicalaire.

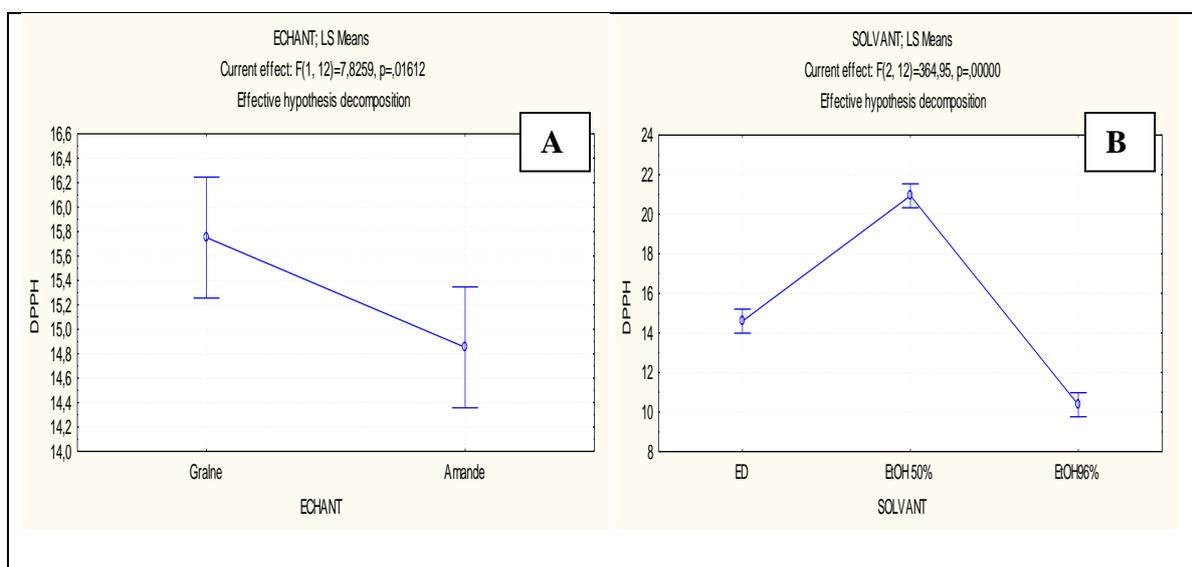


Figure 21 : Effet de la nature de l'échantillon (A) et du solvant (B) sur l'inhibition du DPPH.

La figure 22 montre que tous les extraits testés manifestent un pouvoir scavenger (7,92 à 21, 91%) nettement inférieur ($p < 0,05$) à celui de l'acide ascorbique utilisé comme standard (95,34%). L'éthanol 50% n'améliore que faiblement l'activité des extraits de graines et d'amandes (32,25% et 50,35 % respectivement).

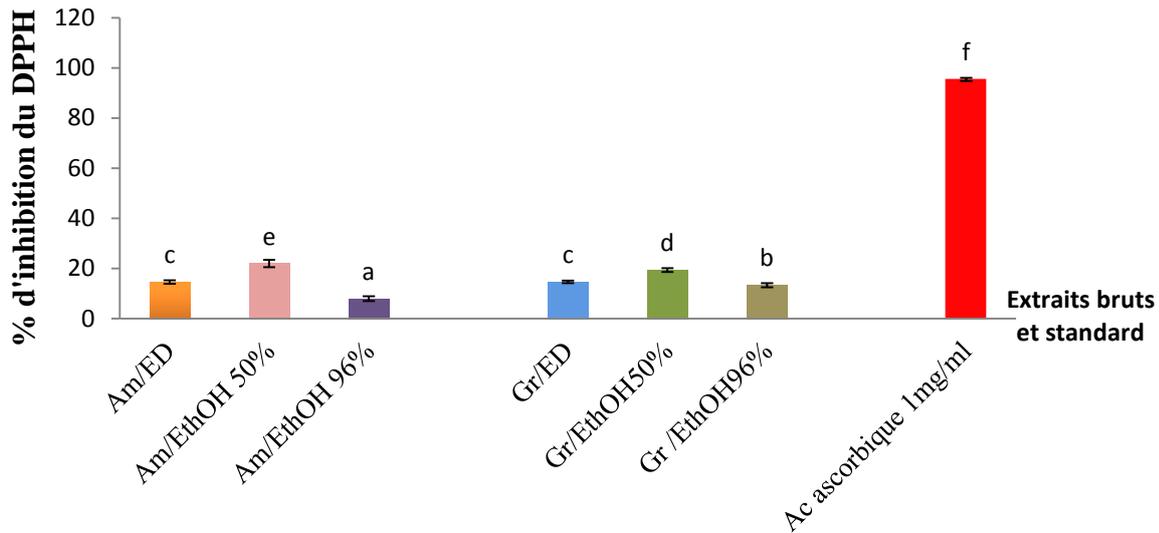


Figure 22 : Activité antiradicalaire du DPPH des extraits bruts

Les histogrammes qui portent la même lettre ne sont pas significativement différents ($p > 0.05$).

La figure 23 illustre l'augmentation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH avec l'élévation de la concentration d'extrait.

A l'exception de l'extrait d'amande à l'éthanol 50%, l'élévation de la concentration d'extrait s'accompagne dans un premier temps d'une augmentation progressive de l'activité (jusqu'à 30mg/ml) suivie d'une augmentation brusque au-delà 30mg d'extrait/ml.

L'extrait d'amande à l'éthanol 50% affiche une plus forte augmentation de son pouvoir scavenger avec l'élévation de sa concentration.

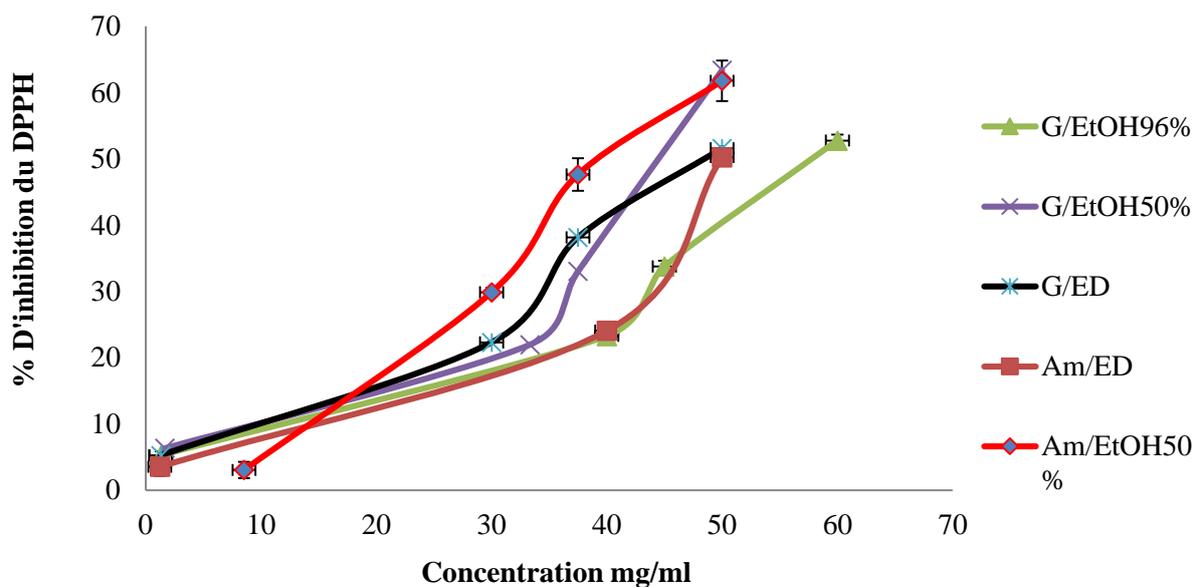


Figure 23: Effet de la concentration sur l'inhibition du radical DPPH

Remarque : La quantité de lyophilisat de l'extrait d'amande à l'éthanol 96% n'est pas suffisante pour déterminer l'IC50.

Les valeurs de l'IC50 (**Figure 24**) varient de 39,58 à 57,82 mg/ml. L'extrait d'amande à l'éthanol 50% se caractérise par la plus faible IC50 (39,58) alors que l'extrait de graine à l'éthanol 96% affecte la valeur la plus élevée (57,82 mg/ml).

Selon les valeurs de l'IC50%, le classement des extraits s'établit comme suit :

L'extrait d'amande à l'éthanol 50% > L'extrait de graine à l'éthanol 50% > L'extrait de graine aqueux > L'extrait d'amande aqueux > L'extrait de graine à l'éthanol 96%.

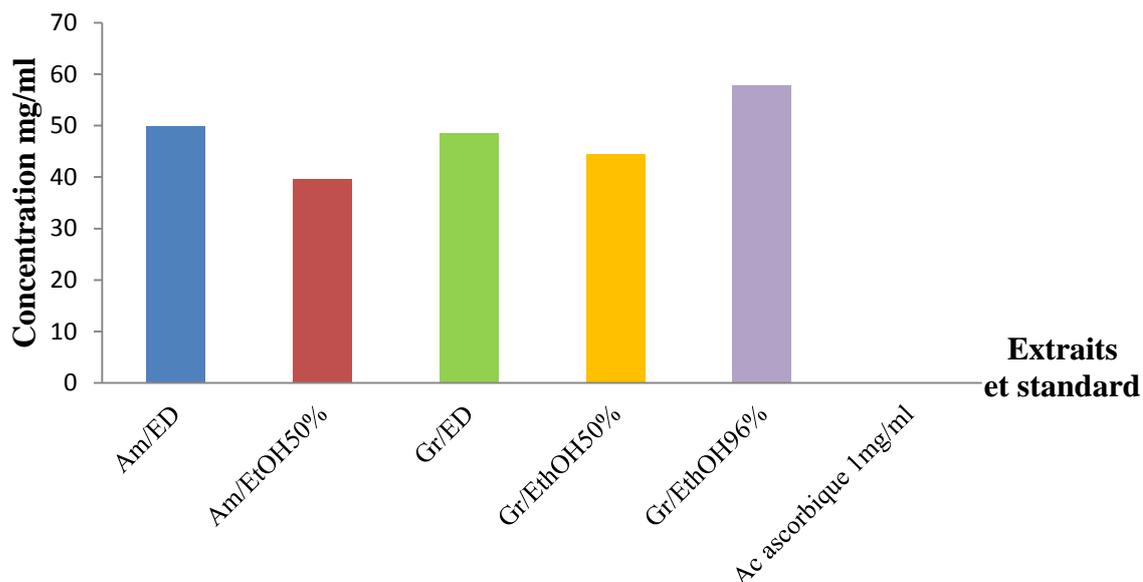


Figure 24 : IC₅₀ des différents échantillons contre le radical DPPH

IV.4. Corrélation entre activités antioxydantes et teneur en composés phénoliques

A partir de nos données d'activité antioxydante et celles de **Djermoune et Henoune, (2015)** pour les teneurs en composés phénoliques, nous avons calculé les corrélations entre elles.

Le **tableau VIII** résume l'ensemble des corrélations calculées entre activités antioxydantes et composés phénoliques des extraits.

Tableau VIII : Matrice de corrélation des activités antioxydantes avec les teneurs des extraits en composés phénoliques.

	PTS	Flavonoïdes	Tanins hydrolysables	Tanins condensés	Polyphénols liés	Polyphénols non liés	Pouvoir réducteur	DPPH	B-Carotène
PTS	1	0,2942	0,4286	0,1925	0,4624	0,9733	0,5754	0,8739	-0,7401
		p=,571	p=,397	p=,715	p=,356	p=,001	p=,232	p=,023	p=,093
Flavonoïdes		1	-0,4654	-0,7684	0,0344	0,3127	0,2805	0,3469	-0,0283
			p=,352	p=,074	p=,948	p=,546	p=,590	p=,501	p=,958
Tanins hydrolysables			1	0,8335	-0,2212	0,5257	0,0362	0,0636	-0,5973
				p=,039	p=,674	p=,284	p=,946	p=,905	p=,211
Tanins condensés				1	0,002	0,2099	-0,1269	0,0238	-0,5498
					p=,997	p=,690	p=,811	p=,964	p=,258
Polyphénols liés					1	0,2465	0,0364	0,6221	-0,1205
						p=,638	p=,945	p=,187	p=,820
Polyphénols non liés						1	0,6195	0,7942	-0,7777
							p=,190	p=,059	p=,069
Pouvoir réducteur							1	0,7126	-0,5252
								p=,112	p=,285
DPPH								1	-0,7019
									p=,120
B-Carotène									1

Pour le blanchiment du β -carotène, nous ne notons pas de corrélation significative avec les composés phénoliques de nos extraits.

Le pouvoir réducteur de nos extraits est faiblement corrélé ($p < 0,05$) à leurs teneurs en composés phénoliques, les valeurs de R varie de -0,126 à 0,575. Pour l'inhibition du DPPH, nous relevons une corrélation élevée avec leur teneurs en phénols solubles ($R = 0,8739$). Pour les autres constituants, des corrélations non significatives ($p > 0,05$), R varie de 0,02 à 0,34.

Discussion générale

Dans le présent travail, nous avons étudié l'activité antioxydante des extraits au moyen de trois tests : l'inhibition du blanchiment du β -carotène, le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire du DPPH.

Les résultats du test de blanchiment du β -carotène (50,30 à 76,18%) sont inférieurs aux résultats d'activité (99,74%) rapportés par **Compaoré et al. (2011)**.

Le pouvoir réducteur de nos extraits de graine de *Moringa oleifera* (0,023mg/ml à 0,063mg/ml) est très faible comparé à celui d'extrait de graine de *Moringa oleifera* (7,5mg/ml) noté **Brahma et al. (2009)** en Inde.

Pour le test du DPPH, le taux d'inhibition par nos extraits de graine est comparable aux données d'**Ilyas et al. (2015)** et **Kumbhar et al. (2012)**.

Les études réalisées par différents auteurs (**Singh et al., 2013 ; Kumar et al., 2013**) ont montré que les différents extraits de graine, et d'amande, de *Moringa oleifera* manifestent une activité antioxydante.

La comparaison de nos données aux résultats bibliographiques est difficile en raison de la diversité d'origine des échantillons et de la variation des conditions expérimentales.

La concentration qui inhibe 50% du radical DPPH (39,58 à 57,82 mg/ml) de nos échantillons est supérieure à celle des feuilles de *Moringa oleifera* (14,57 à 32,56 μ g/ml récoltée dans différentes régions du monde (**Ndhlala et al., 2014**).

Diverses études ont déterminé expérimentalement les capacités des extraits naturels à piéger les radicaux libres. Cette activité dépend d'un certain nombre de paramètres : la dose, la structure, les substituants et le degré de polymérisation de la molécule (**Mohammedi Zohra, 2013**).

Les différences de potentiel antioxydant constatées entre les échantillons analysés peuvent être partiellement attribuées aux variations quantitatives et qualitatives des composés phénoliques présents dans les extraits, à l'effet de la région et aux conditions expérimentales.

En effet, les dosages réalisés par **Djermoune et Henoune, (2015)** ont montré une grande variabilité de teneurs en divers acides phénoliques ; il agirait de différences quantitatives mais également qualitatives.

Les solvants de haute polarité utilisés sont des piègeurs de radicaux plus efficaces que ceux ayant une faible polarité, ce qui indique que des antioxydants ou composés actifs de polarité différente pourraient être présents dans l'extrait (**Turkmen et al., 2006**).

Il est connu que les composés phénoliques ne manifestent pas tous le même potentiel antioxydant.

Selon **Pabuccuoglu et al. (2003)** ; **Cai et al. (2006)**, les composés phénoliques ont une action antiradicalaire due à leurs groupements phénoliques hydroxyles. **Madi, (2010)** affirme que l'activité antioxydante dépend essentiellement du nombre de groupements hydroxyles, leur position et les radicaux liés au squelette moléculaire. Des différences de teneur en composés phénoliques totaux sur le plan quantitatif que qualitatif surviennent à l'origine de ces différences.

Nos résultats d'activité antioxydante seraient le résultat d'une réaction synergique, additif et antagoniste des différents constituants phénoliques pour inhiber les espèces réactifs

Les différentes classes de composés phénoliques contenus dans les extraits bruts testés sont diversement corrélées avec les activités mesurées. **Miliauskas et al. (2004)** ont montré qu'un antioxydant efficace dans un test n'est pas forcément efficace dans un autre. En outre, la présence de glycosylation sur la molécule peut diminuer son activité anti oxydante (**Velazquez et Zevallos, 2009**).

Conclusion

Conclusion

La présente étude a permis de mettre en évidence l'activité antioxydante des extraits de nos graines entières et décortiquées.

Les extraits bruts à l'éthanol 96% de graine se caractérisent par un fort pouvoir d'inhibition du blanchiment du β -carotène. Pour le pouvoir réducteur, la meilleure valeur (absorbance = 0.489) est notée par l'extrait de graine à l'éthanol 50%.

Tous les extraits de la graine et de l'amande étudiés ont la capacité de piéger le radical DPPH qui augmente en fonction de la concentration, le meilleur résultat est obtenu pour l'extrait d'amande à l'éthanol 50% avec un pourcentage d'inhibition de 22.23%.

Des corrélations positives ont été observées entre l'activité antioxydante (Pouvoir réducteur et l'inhibition du DPPH) et les teneurs en composés phénoliques. Par ailleurs, l'absence de corrélation entre l'inhibition de blanchiment du β -carotène et les composés phénoliques révèle la présence d'autres composés responsables d'une activité antioxydante qui sont les métabolites secondaires.

L'ensemble des résultats obtenu ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances biologiquement actives. Il serait souhaitable de compléter et d'approfondir ce travail par :

- Une identification des composés de nos extraits et la confirmation des résultats mis en évidence.
- La maîtrise des techniques d'extraction de ses molécules bioactives.
- Une caractérisation des activités biologiques.
- La valorisation de ses principes actifs : Elaboration de produits alimentaires, cosmétique, pharmaceutiques et nutraceutique ce qui représente un potentiel économique énorme.
- L'évaluation de son activité antioxydante in vivo.
- L'enrichissement des aliments pour lutter contre la malnutrition.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

-A-

Achat S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. L'université A. Mira de Béjaia, 209p

Ahmad I. (2001). Hydrogen Peroxide (H₂O₂). Medical Laboratories Free Radical and Radiation Biology Program. University of Iowa, p. 1-10.

Ali-delille L. (2013). Les plantes médicinales d'Algérie. 3eme edition. Alger : Berti. 239p.

Altuntas I., Delibas N., Demirci, M., Kilinc I. et Tamer N. (2002). The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzymes: Role of vitamins E and C. *Archives of Toxicology*. 76(8):470-3.

Arimura G., Shiojiri K. et Karban R. (2010). Acquired immunity to herbivory and allelopathy caused by airborne plant emissions. *Phytochemistry*, 71 (14-15): 1642-1649.

Arousseau B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : Conséquences sur la production, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA, Unité de recherche sur les herbivores. 15 : 67-82.

Atkin M.A., Gasper A., Ullegaddi R. et Powers H.J. (2005). Oxidative Susceptibility of Unfractionated Serum or Plasma: Response to Antioxidants in Vitro and to Antioxidant Supplementation. *Clinical Chemistry*. 51:2138-2144.

Atmani D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*. 112 : 303-309.

Ayerza R. (2011). Seed yield components, oil content, and fatty acid composition of two cultivars of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) growing in the Arid Chaco of Argentina. *Industrial Crops and Products*, 389–394.

-B-

Barouki R, Morel Y. (2001). Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress: mechanisms and biological implications. *Biochem Pharmacol*, 511-6.

Ben Amor B. (2008). Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée
DIC : Doctorat, option génie des procédés industriels. La Rochelle : Université de la Rochelle, 175 p.

Bendich A.J. (1996). Structural analysis of mtDNA molecules from fungi and plants using moving pictures and pulsed-field gel electrophoresis. *Journal of molecularbiology*. 255(4): 564-588.

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

Bonnefont-Rousselot D, Therond P., Delattre J. (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. *In* : Biochimie Pathologique. Aspects moléculaires et cellulaires. C. Jardillier, Ed. Médecine-Sciences, Flammarion. 317 p.

Bonnot F. (2009). Super oxyde réductase : Mécanisme de transfert d'électrons vers le site actif et rôle de la lysine 48 dans la catalyse. Université Joseph Fourier-Grenoble I, p. 222.

Bruneton J.(1993). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. *Tec. & Doc.* Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.

Bouheroum M. (2007). Etude phytochimique des plantes médicinales Algériennes : *Rhantheriumadpressum* et *Onorisangustissima*. Thèse de Doctoratd'Etat En Chimie Organique Option : Phytochimie. Université Mentouri de Constantine, Faculté des Sciences Exactes, 158 p.

Bourgaud F., (2010). Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; exemple de l'apport des sciences cognitives à la production/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt. Plantes à parfum, aromatiques et médicinales. Plantes à parfum, aromatiques et médicinales. 5 p.

Brand-Williams W., Cuvelier ME., Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LebensmWiss Technology*. 28: 25-30.

Bredt DS., Schmidt HHHW. (1996). Thecitrulline assay. *In* : Feelisch M, StamlerJS, ed. Methods in Nitric Oxide Research. New York: John Wiley & Sons, p.249-255.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. *Tec. & Doc.* Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.

-C-

Cadenas E., Davies KJ. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology & Medicine.* 29(3-4): 222-30.

Carolina de Abreu and Cláudia Pessoa (2014). Safety and Efficacy of *Moringa oleifera* Lamarck (1785) — Therapeutic and Toxicological Properties. *Pharmacology and Therapeutics*, Dr. Sivakumar Joghi Thatha Gowder (Ed.), 978-953

Cheeseman KH., Slater TF. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* Jul, 49(3):481-93.

Coffi A., Philippe R., Boukari E. T., et Glitho I. (2012). Efficacité des composés métabolites secondaires extraits des folioles du palmier à huile contre les larves de la mineuse des feuilles, (Coleoptera: Chrysomelidae). *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB) Numéro spécial Productions Végétales & Animales et Economie & Sociologie Rurales.* 1840-7099.

Compaoré W.R., Nikièma P.A., Bassolé H .I., Savadogo A., et Mouecoucou J. (2010). Chimica composition and anti oxydantive proprieties of seeds of *Moringa oleifera* and pulp of *Purkia biolobosa* and *Adansonia digitata* Commonly used in Food Fortification in Burkina Faso. *Current Research Journal of Biological Science*, 64-72.

Costello R., Lecine P., Kahn-Perlès B., Algarté M., Lipcey C., Olive D., Imbert J. (1995). Activation du système de facteurs de transcription Rei/NF- κ 8. *Médecine/sciences.* 957-965.

-D-

DELPHA Isis. (2011). *Moringa* (*Moringa oleifera* lam.) (Current uses and pharmacological interest). Université Paul Sabatier (Toulouse). Faculté des sciences pharmaceutiques. 232 p.

Devendra BN., Srinivas N., Prasad. Talluri V.S.S.L., et Swarnalatha P. (2011). Antimicrobial activity of *moringa oleifera* lam., leaf extract, against selected bacterial and fungal strains.

Dirlouez, A.I. (2001). Vitamines anti oxydantes et pathologies dégénératives. Le cas de la vitamine C. *INA-PG*, 1-6.

Ducros, V. ; Favier, A. (2004). Selenium metabolism. *Emc-endocrinologie*. 1, 19-28.

-E-

Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*. Pages 264-270.

-F-

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Interet conceptuel et expérimentale dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 11 : 108-115.

Ferreira P., et al. (2014). Menthapiperita essential oil induces apoptosis in yeast associated with both cytosolic and mitochondrial ROS-mediated damage. *FEMS Yeast Res*,1006-1014.

Fisher J. ; Arnold J.R.P, (2001). L'essentiel en chimie pour biologiste. Berti édition. 109-113.

Foidl, N., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2001).The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. *The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa*, 45-76.

Fontaine, E. (2001). Production et élimination des radicaux libres oxygénés. Laboratoire de bioénergétique fondamentale. Université Joseph Fourier. 251-257

Frelon, S. (2001). Influence de métaux de transition sur la dégradation radicalaire de l'ADN. *Universite Joseph Fourier- Grenoble*. 4-193.

Fuglie, L., (2001). Le *Moringa* : une arme dans la lutte contre la malnutrition. *Church World Service, Bureau Régional de l'Afrique de l'Ouest*. Disponible sur <http://www.moringanews.org>. Consulté le 25/05/2015.

-G-

Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. et Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*. 91-96.

Gazengel JM., Orecchioni AM. (1999). Le préparateur en pharmacie - Guide théorique et pratique. Paris : Lavoisier. 2eme édition. 1443 p

Goudable J., Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et métabolisme*. 11 : 115-20.

Gravot A., (2009). Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Support de cours sur le métabolisme secondaire d'Antoine Gravot (Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV). Université de Rennes 1. 15p.

Gruber N., Galloway J. (2008). An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*. 451 (7176), 293-296

-H-

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P., (2007). Revue médicale de Liège. 62 : 10 : 628-638.

Halliwell B. (1989). Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *British Journal of Experimental Pathology*. 70(6): 737–757.

Halliwell B. (2006). Oxidative stress and neuro degeneration : where are we now?. *Journal of Neuro chemistry*. 1634–1658

Hamsi N. (2013). Contribution à l'étude de l'optimisation de l'extraction solide-liquide des lipides par Soxhlet du caroubier (*Ceratonia siliqua*) de la région de Tlemcen. Université Aboubeker Belkaid- Tlemcen. 38 p.

Harborne J. (1998). Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. Edition. Chapman & Hall Pub. London, UK. 235-242.

Hopkins W., Evrard, CM. (2003). Physiologie végétale. [En ligne] Bruxelles : De Boeck. 532 pages. Disponible <http://www.worldcat.org/title/physiologie-vegetale/oclc/53109538> (Consulté le 03.05.2015).

Houndji B., Bodjrenou S., Londjis ., Ouetchehou R., Acakpo A., AmouzouK., et Dr. Hounmenou (2013). Amélioration de l'état nutritionnel des enfants âgés de 6 à 30 mois à

Lissèzou (Centre-Bénin) par la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* (Lam.). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*: 225-235.

Hu, J. (2001). Is beta carotene an antioxidant. Medical laboratories. Free radical and radiation biology program. University of Iowa. 1-10.

-I-

Ilyas M., Arshad M., Saeed F. et Iqbal M. (2015) .Antioxidant potential and nutritional comparison of *moringa* leaf and seed powders and their tea infusions. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, Page: 226-233.

-J-

Jadot, G. (1994). Antioxydant et vieillissement. [En ligne]. Montrouge : John Libbey Eurotext. 300 p. Disponible sur <http://www.worldcat.org/title/antioxydants-et-vieillissement/oclc/133129709> (Consulté le 05.04.2015).

Jadot, G. (1988). Les superoxydes dismutase : Biochimie, pharmacologie, thérapeutique. Masson. Paris : Masson. 224 pages.

Jideani VA. et Diedericks C. (2014). Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties of *Vigna subterranea* and *Moringa oleifera*. *-Antidiabetic Agents and Human Health.* 978-953.

Jun, L. (2001). Singulet oxygen. *Free radical and radiation biology program.* University of Iowa. 1-10.

-K-

Kathryn W., Tosney Ph.D., Pearson, D. (2012). *Moringa oleifera*. The Gifford Arboretum Newsletter. 128-133.

Knowles, RG. ; Moncada, S. (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *Biochemical Journal.* 249-258.

Kumar E. Harsha K. N, Shaik S., Rao N, et Babu G.(2013). Evaluation Of *In Vitro* Antioxidant Activity and *In Vivo* Hepatoprotective Activity Of *Moringa oleifera* Seeds Extract Against Ethanol Induced Liver Damage In Wistar Rats *Isr Journal of Pharmacy.* Pp 10-15.

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, 144-150.

Kouamé J., Gnoula C., Palé E., Bassolé H., Guissoui I.P., Simporé J., et Nikiéma J.B. (2009). Sciences et techniques, *Sciences de la santé*. 9-23.

-L-

Lacraz G. (2009). Relation entre Stress Oxydant et Homéostasie Glucidique au cours du Diabète de Type 2 : Adaptation de la Cellule β Pancréatique Tissues and Organs. Université Paris-Diderot - Paris VII, 276 pages.

Lebreton E. (2014). Plantes à usage cutané chez l'enfant. Université Joseph Fourier. 159 p.

Leverve X. (2009). Stress oxydant et antioxydant. Cahiers de Nutrition et de Diététique. Volume 44. Issue 5. Pages 219-224.

Lim T.K. (2012). Edible medicinal and non medicinal plants. Fruit. Volume 3. *Springer Dordrecht Heidelberg London New York*. 885 p.

-M-

Madi A. (2010). Caractérisation et comparaison du contenu poly phénolique de deux plantes médicinales (Thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Magister. Option : Biotechnologie végétale, Université Mentouri (Constantine). 208p.

Makkar, H.et Becker, K. (1997). Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. J Agric. Food Chem., 3152–3157.

Marfak, A. (2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes, étude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : Formation de depsides. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges. 187p

Mehesh P., Gupta H.O., Steimahesh P., Gupta Helmut O., Steinberg et Hart C. (1998). H₂O₂ causes endothelial barrier dysfunction without disrupting the arginine-nitric oxide pathway. *American journal of physiology*, 274(4): 508-515.

Michel Pobeda (2011). Les bienfaits des huiles végétales. Pris France. 320 p.

Miliauskas G., Venskutonis P. R., et Van Beek T. A. (2004). Screening of radical scavenging. 440-447

Millogo K., Guissou IP., Nacoulma O., Traore AS. (2008). Comparative Study of leaf and stem bark extracts of *Parkia Biglobosa* against enterobacteria. Afr J Tradit Complement Altern Med. : 238–243.

Mofijur M., Masjuki H., Kalam M.A., Atabani A.E. Shahabuddin M., Palash S.M. et Hazrat M.A (2013). Effect of biodiesel from various feedstocks on combustion characteristics, engine durability and materials compatibility: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 441–455.

Mohammedi Zohra(2013). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Université d'Aboubeker Belkaid, Tlemcen.

Morton JF. (1991). The horseradish tree, *Moringa pterygos perma* (Moringaceae) boon to arid lands? *Economic Botany* 45(3) 318-333.

Moulay Y., (2012). Investigation Phytochimique de l'*Acacia arabica* aux propriétés anti oxydantes et inhibitrices. Université kasdi Merbah Ouargla. 154 p.

-N-

Ndhlala A., Mulaudzi R., Neube B., Abdelgadir H., Plooy C. et Staden J.(2014). Antioxidant, Antimicrobial and Phytochemical Variation in Thirteen *Moringa oleifera* Lam. Cultivers. *Molecules*, 10480-10494.

Ndong M., Wade S., Dossou N., Guiro AT., Gning RD. (2007). Valeur nutritionnelle du *moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. *African journal of food, agriculture, nutrition and development*. VOL. 7, NUM. 3

-O-

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

Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction from glucose amine, 44: 307-315.

-P-

Pabuuccuoglu A., Kkivcak B. Bas M. et Mert T. (2003). Antioxydant activity of *Arbutus unedo* leaves. *Fitoterapia*. 74:597-599.

Packer L., Stefan U., Weber et Rimbach, G. (2001). Molecular Aspects of α -Tocotrienol Antioxidant Action and Cell Signalling. American Society for Nutritional Sciences. Volume 131.

Parrotta, JA. (1993). *Moringa oleifera* Lam. Reseda, horseradish tree. Moringaceae. Horseradish tree family. USDA Forest Service, *International Institute of tropical Forestry*. (SO-ITF-SM; 61).

Pencemail J., Meurisse M., Lim R. et Defraigne J.O. (1998). Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine. *Cancérologie, Médisphère*. 73 : 1-5.

Poston L., Raijmakers MT. (2004). Trophoblast oxidative stress, antioxidants and pregnancy outcome--a review. *Suppl A* : S72-8.

Prakash B., Mishra PK., Kedia A., Dubey NK. (2013). Antifungal, antiaflatoxin and antioxidant potential of chemically characterized *Boswellia carterii* Birdw essential oil and its in vivo practical applicability in preservation of *Piper nigrum* L. fruits. *Food Science and Technology*. 56: 240-247

Prodanović J., Šćiban M., Antov M. (2013). Improvement of waste water treatment by use of natural coagulants.

-R-

Rahal S. (2009). Chimie des Produits Naturels et des Etres Vivants. Office des Publications Universitaires. 162 p.

Rajangam J., Azahakia M. R. S., Thangaraj T., Vijayakumar A., Muthukrishan N. (2001). Production et utilisation du *Moringa* en Inde: la situation actuelle, 9p. Disponible sur <http://www.moringanews.org>. Consulté le 23/04/2015.

Rakotonanahary, M. (2012). Peumusboldus M. : de la botanique à la thérapeutique. [En ligne]. Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état. Faculté de pharmacie de Grenoble. 96 p. Disponible sur <http://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00724069/document> (Consulté le 25.05.2015).

Ramachandran C, Peter KV, Gopalakrishnan PK. (1980). Drumstick (*Moringa oleifera*): a multipurpose Indian vegetable. *Economic Botany*. 34(3) 276-283.

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

Ratnam VD, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar RMNV. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. *J Control Release*. 189–207.

Raven PH., Evert RF., et Eichhorn. (2003). Biologie végétale. Boeck Univeristé (1 ère édition. Paris. 968 p.

Richter, G. (1993). Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. *Presses polytechniques et universitaires*. Romande. 526p.

Roux, D. ; Catier, O. (2007). Les plantes dans la thérapeutique. In Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie. [En ligne]. France : Wolters Kluwer. 141 pages. Disponible sur <http://www.worldcat.org/title/botanique-pharmacognosie-phytotherapie/oclc/494492286> (Consulté le 02.05.2015).

-S-

Saleem R. (1995). Study of Chemical Constituents of *Moringa oleifera* Lam. Ph.D. thesis, University of Karachi, Karachi.

Serteyn D., Mouithys-Mickalad A., Franck T., Grulcke S., Lamy M., Deby C., et Deby-Dupont G. (2002). La nature chimique et la réactivité de l'oxygène. *Annals of Medicine*. 146 : 137-53.

Singh B. N., Singh B.R., Singh R.L., Prakash D., Dhakarey R., Upadhyay G. et Singh H.B.(2009) .Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera* .*Food and Chemical Toxicology*47, 1109–1116.

Sofowora, A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Paris : Karthala; Berne : Académie Suisse des sciences naturelles. 378 pages.

-T-

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

Thiebaul C., Sprumont P., (1998). L'enfant et le sport: Introduction à un traité de médecine du sport chez l'enfant. [En ligne]. Paris ; Bruxelles : De Boeck université. 464 p. Disponible sur<http://www.worldcat.org/title/enfant-et-le-sport-introduction-a-un-traite-de-medecine-du-sport-chez-lenfant/oclc/38158564>(Consulté le 08.04.2015).

Thomas L., S.T. Buckland E.A. Rexstad J.L., Laake S., Strindberg, S.L., Hedley J.R.B., Bishop et T.A. Marques (2010). Distance software : design and analysis of distance sampling surveys for estimating population size. *Journal of Applied Ecology*, 5-14.

Turkmen N., Sari F. et Velioglu Y-S.(2006). Effect of extraction solvents on concentration solvents and antioxidant activity of black and black tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu. *Food chemistry*.99: 835-841

Tsaknis J., Lalas S., Gergis V., DourtoglouV., et Spilitois V. (1999). Characterization of *Moringa oleifera* variety Mbololo seed oil of Kenya. *J. Agric. Food Chem.* 4495-4499.

-V-

Valko M., Rhodes C., Moncol J., (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biol Inter*, 1–40.

Velázquez J. D. A., et Zevallos L.C. (2009). Correlations of antioxidant activity against phenolic content revisited: a new approach in data analysis for food and medicinal plants. *Journal of Food Science*.74: 107-113.

Vercauteren J. (2011) Cours DCEP1.Pharmacognosie Générale.[En ligne].Université Montpellier I. Disponible sur <http://ens.pharma.univmontp1.fr/gnosie/plan%20FCB2011-compact.pdf> (Consulté le 03.05.2015).

-W-

Walz W. (1999). Cerebral ischemia: molecular and cellular pathophysiology. Totowa, New Jersey : Humana Press. 107-278 p.

Wolf from nigg, (1993). *Le Moringa Oleifera*, état des connaissances, programme d'investigations complémentaires, CIEH, 63 p.

Waterman C., Cheng DM, Rojas-Silva P. (2014). Stable, water extractable isothiocyanates from *Moringa oleifera* leaves attenuate inflammation in vitro. *Phytochemistry* : 1000.1016.

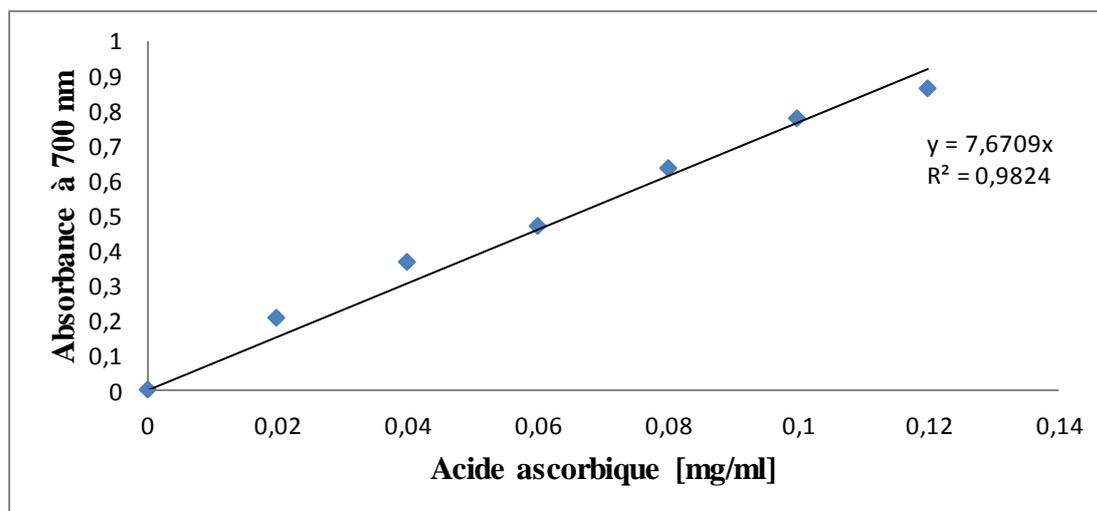
Annexes

Annexe 01 :

Espèces et origine du genre *Moringa* (Jideani et Diedericks, 2014).

Espèces	Origine
<i>M. oleifera</i>	Inde
<i>M. drouhardii</i>	Madagascar
<i>M. cocanensis</i>	Inde
<i>M. arborea</i>	Nord Est du Kenya
<i>M. hildebrandtii</i>	Madagascar
<i>M. borziana</i>	Kenya et Somalie
<i>M. ovalifolia</i>	La Namibie et l'Angola
<i>M. peregrina</i>	Corne de l'Afrique, la mer Rouge, en Arabie
<i>M. longituba</i>	Kenya, Ethiopie, Somalie
<i>M. stenopetala</i>	Kenya, Ethiopie
<i>M. pygmaea</i>	Nord de la Somalie
<i>M. rivaie</i>	Kenya, Ethiopie
<i>M. ruspoliana</i>	Kenya

Annexe 02 :



Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique 0,2 mg/ml.

Annexe 03 :

Préparation des solutions

Solutions	Réactifs
Ethanol 50%	100 ml de l'éthanol 96% + 98,15 ml d'eau distillée (Selon la table de Gay Lussac)
Solution DPPH (65µM/l)	0.0024g DPPH dans 100ml de méthanol pur 800nm<Abs _{DPPH} à 517nm<900nm
Tampon phosphate (0,2M, pH 6,6)	2,72 g de KH ₂ PO ₄ (acide) dans 100 ml d'eau distillée 3,48g de K ₂ HPO ₄ (basique) dans 100ml d'eau distillée La solution acide est ajoutée avec la solution basique jusqu'à l'obtention d'un pH 6,6
Ferricyanure de potassium (K ₃ Fe(CN) ₆) 1%	1g de K ₃ Fe(CN) ₆ dans 100ml d'eau distillée
Acide trichloracétique (TCA) 10%	10g de TCA dans 100ml d'eau distillée.
Chlorure ferrique (FeCl ₃) à 0,1 %(P/V)	0,1g de FeCl ₃ dans 100ml d'eau distillée

Annexe 04 :

Table pour la dilution de l'alcool (Table de Gay-Lussac).

		Concentration initiale													
		100	99	98	97	96	95	90	85	80	75	70	65	60	50
Concentration finale	95	6,5	5,15	3,83	2,53	1,25									
	90	13,25	11,83	10,43	9,07	7,73	6,41								
	85	20,54	19,05	17,58	16,15	14,73	13,33	6,56							
	80	28,59	27,01	25,47	23,95	22,45	20,95	13,79	6,83						
	75	37,58	35,9	34,28	32,67	31,08	29,52	21,89	14,48	7,2					
	70	47,75	45,98	44,25	42,54	40,85	39,18	31,05	23,14	15,35	7,64				
	65	59,37	57,49	55,63	53,81	52	50,22	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15			
	60	72,82	70,80	68,8	65,85	64,92	63	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	8,76		
	55	88,6	86,42	84,28	82,16	80,06	77,99	67,87	57,9	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47	
	50	107,44	105,08	102,75	100,44	98,15	95,89	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	
	45	130,26	127,67	125,11	122,57	120,06	117,57	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	11,41
	40	158,56	155,68	152,84	150,02	147,22	144,46	130,8	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	25,55
	35	194,63	191,39	188,19	185,01	181,85	178,71	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	43,59
	30	242,38	238,67	234,99	231,33	227,70	224,08	206,22	188,57	171,05	153,61	136,04	118,94	101,71	67,45
	25	308,9	304,52	300,18	295,86	291,56	287,28	266,12	245,15	224,3	203,61	182,83	162,21	141,65	100,73
20	408,5	403,13	397,79	392,47	387,17	381,9	355,8	329,84	304,01	278,26	252,58	226,98	201,43	150,55	
15	574,75	567,43	560,53	553,55	546,59	539,66	505,27	471	436,85	402,81	368,83	334,91	301,07	233,64	
10	907,09	896,73	886,4	876,1	865,15	855,15	804,5	753,65	702,89	652,21	601,6	551,06	500,50	399,85	

Comment lire le tableau : la table indique qu'il faut ajouter 105,34 ml d'eau à 100 ml d'alcool à 90° pour obtenir de l'alcool à 45°.

Résumé

Moringa oleifera est une plante d'intérêt nutritionnel et médicinal, originaire de l'Inde. La présente étude a pour but d'évaluer le potentiel antioxydant d'extraits bruts éthanoliques et aqueux de graines de *Moringa oleifera* provenant du Sud Algérien. L'extraction des graines a été réalisée avec trois solvants différents : éthanol 96%, éthanol 50% et eau distillée. L'activité antioxydante des extraits bruts a été déterminée en mesurant leur capacité à inhiber l'oxydation de l'acide linoléique, en mesurant leur pouvoir réducteur et en évaluant leur activité antiradicalaire contre le DPPH. Les pourcentages de l'oxydation de l'acide linoléique sont compris entre 46,90% à 76,18% et le pouvoir réducteur varie de 0,227 à 0,489. Les taux d'inhibition du DPPH varient de 7,92% à 21,33%. Les extraits de graine et d'amande à l'éthanol 50% et l'extrait de graine à l'éthanol 96% ont manifesté la plus grande activité antioxydante. Les différentes classes de composés phénoliques contenues dans les extraits bruts testés sont diversement corrélées avec les activités mesurées.

Mots clés : Activité antioxydante, *Moringa oleifera*, antioxydants, pouvoir réducteur, composés phénoliques.

Abstract

Moringa oleifera is a nutritional value and medicinal plant from India. This study aims to evaluate the antioxidant potential of ethanolic and aqueous crude extracts of seeds from southern Algeria. The extraction of the seeds was performed with three different solvent: 96% ethanol, 50% ethanol and distilled water. The antioxidant activity of the crude extracts was assessed by measuring their ability to inhibit the oxidation of linoleic acid, their reducing power and their antiradical activity against DPPH. Oxidation of the percentages of linoleic acid are between 46.90% to 76.18%, the reducing power is from 0.227 to 0.489. The rate of inhibition of DPPH vary from 7.92% to 21.33%. Seed extracts and almond ethanol 50% and the seed extract to 96% ethanol showed the highest antioxidant activity. The various classes of phenolic compounds contained in crude extracts tested are variously correlated with the measured activities.

Keywords: Antioxidant activity, *Moringa oleifera*, antioxidants, reducing power, phenolic compounds.