

Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante et de
l'activité antibactérienne des extraits de
Moringa oleifera.**

Présenté par :

BEDHOUCHE Nesrine & BOUHOU I Cherifa

Soutenu le : **20 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M. Zaidi Farid	Professeur	Président
Mme. Meziani S.	MCB	Encadreur
Mme. Bouadam B	MAA	Examineur
Melle. Ouahrani S.	Doctorante	Invitée

Année universitaire : 2017 / 2018



Remerciement

Nous tenons à remercier en premier dieu le tout puissant pour nous avoir donné la force et le courage d'accomplir ce modeste travail.

Au terme de ce modeste travail, je tiens à présenter mes remerciements les plus sincères à l'égard de :

Mr Zaidi F. de nous avoir ouvert les portes de son laboratoire et d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.

Ainsi que Mme Bouadam-Ferhi B. d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Ce travail ne serait pas aussi riche sans l'aide de notre promotrice Mme Meziani S. on la remercie pour la qualité de son encadrement.

A Melle Ouahrani S. nous tenons à la remercier pour sa gentillesse, pour son aide et ses nombreuses orientations durant la préparation de ce travail mais surtout notre initiation à la recherche.

Nos profonds remerciements vont à l'ensemble du personnel du Laboratoire de nutrition.

Tout comme nous exprimons les mêmes sentiments de gratitude à tous les enseignants qui nous ont comptés parmi leurs étudiants tout au long de notre formation.

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





Dédicaces

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

Je dédie du plus fond de mon cœur ce manuscrit :

A mon cher père qui m'a toujours soutenu et conseils dans ma vie

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

A mes adorables frères : Imad, Athman, Badis et Ayoub

A mes oncles et mes tantes.

A mes cousins et mes cousines.

A mes meilleurs amies avec qui j'ai passé mes plus belles années : Ouassifa, Amira

A ceux qui m'aimes.

A mon binôme Cherifa, elle m'a supporté tout le long de ce travail et à qui je souhaite tout le bonheur du monde et de la réussite. À sa famille et à ces amies.

A tous mes ami(e)s.

A tous les gens de ma promotion BA (2017_2018), enseignants et étudiants.

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

NESRINE



Dédicaces

C'est avec un cœur rempli de joie que je dédie ce travail

À la mémoire de ma très chère cousine Karima à qui je dois beaucoup, tant le souvenir de ses conseils que de ses encouragements constants.

À ma mère et mon père, pour leurs conseils, leurs encouragements et leurs soutiens inconditionnels dans les moments importants de ma vie qui m'ont permis d'atteindre mes objectifs. Aucune dédicace ne saurait être assez expressive pour exprimer ma gratitude pour tous vos sacrifices pour moi.

Merci pour tout.

À ma sœur fatma et son époux Abed Karim

À mon frère Zoubir et son épouse Nissa

À mon frère Kassi et son épouse Souhila

À mes frères Saadi, Fayssal et Nassim

À mes nièces et neveux: Sami, Ishak, Islam, Mouna, allaa et Madghis

Je ne peux pas oublier de remercier chaleureusement mes très chères amies Dida, Ouissam, Danouche, fouzia, Rahima, Mahjouba, Chahou et Zahia pour l'ambiance cordiale et l'aide qu'ils m'ont apportés à tout moment. Je leurs souhaite, à tous bonne continuation et beaucoup de réussite.

À mon très cher binôme Nesrine avec laquelle j'ai partagé ce travail. À sa famille et à ces amies.

À tous ceux qui me connaissent.

À tous les étudiants de promotions biologie animal 2017/2018

CHERIFA

Liste des abréviations

% : Pourcentage

Abs : Absorbance

Abs C : Absorbance du contrôle

Abs Ech : Absorbance Échantillon

Ac Asco : Acide ascorbique

AG :acide galique

AT : Acide Tannique

ANOVA : Analyse des variances

ATB : Antibiotique

CMI : Concentration minimal inhibitrice

CMB : Concentration minimal bactéricide

DPPH : 1,1 diphényle-2-picryl hydrazyle

DMSO : Diméthylsulfoxyde

ED : Eau distillée

Ech : Echantillon

M100% :Méthanol100%

M80% : Méthanol 80%

M60% :Méthanol60%

MH : Miller Hinton

M oleifera : *Moringa oleifera*

ONG : Organisation non gouvernementale

PTS : Phénols totaux soluble.

Q : quercitine

Liste des figures

Figure 1 : Répartition géographique de <i>Moringa oleifera</i>	3
Figure 2 : Différentes parties de <i>Moringa oleifera</i> : (i) l'arbre de plein champ, (ii) ensemble de feuillage, (iii) Fleurs et (iv) fruit	5
Figure 3 : Quelques parties de <i>Moringa oleifera</i> : (v) graines, (vi) racines et (vii) troncs.....	5
Figure 4 : Utilisation des gousses de <i>Moringa oleifera</i> en alimentation humaine.....	6
Figure 5 : Protocole d'extraction des composés phénoliques.....	15
Figure 6 : Protocole d'extraction des composés phénoliques.....	16
Figure 7 : Protocole de dosage des phénols totaux solubles.....	17
Figure 8 : Protocole de dosage des tanins condensés.....	19
Figure 9 : Protocole de détermination des caroténoïdes.....	19
Figure 10 : Réduction du radical DPPH°.....	21
Figure 11 : Rendement d'extraction des composés phénoliques.....	26
Figure 12 : Teneurs en polyphénols solubles totaux des extraits de feuilles et de l'huile de <i>Moringa oleifera</i>	26
Figure 13 : Teneurs en flavonoïdes des extraits de feuilles et de l'huile des graines de <i>Moringa oleifera</i>	27
Figure 14 : Teneurs en tanins des extraits de feuilles et de l'huile des graines de <i>Moringa oleifera</i>	28
Figure 15 : Teneur en vitamine C de la poudre de feuilles et de l'huile des graines de <i>Moringa oleifera</i>	29
Figure 16 : Teneur en caroténoïde de la poudre de feuilles et de l'huile des graines de <i>Moringa oleifera</i>	30
Figure 17 : Mise en évidence la présence des saponines dans les extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	31
Figure 18 : Mise en évidence d'alcaloïdes dans les extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i> ..	31
Figure 19 : Mise en évidence des terpanoïdes dans les extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	32

Figure 20 : Mise en évidence des tanins dans les différents extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	32
Figure 21 : Pouvoir réducteur des extraits de feuilles et de l'huile des graines de <i>Moringa oleifera</i>	33
Figure 22 : Activité anti radicalaire (DPPH) des extraits de feuilles e de l'huile des graines de <i>Moringa oleifera</i>	34
Figure 23 : Effet antibactérien des feuilles et de l'huile de graines de <i>Moringa oleifera</i> sur <i>PCC</i>	36
Figure 24 : Effet antibactérien des feuilles et de l'huile de graines de <i>Moringa oleifera</i> sur <i>S. aureus</i>	37

Liste des tableaux

Tableau I: Quelques noms vernaculaires du <i>Moringa oleifera lam</i>	3
Tableau IX : Analyse de la variance des polyphénols totaux solubles	28
Tableau X : Analyse de la variance des flavonoïdes.....	30
Tableau XI: Analyse de la variance des tanins hydrolysables	31
Tableau XII : Analyse de la variance des tanins condensés	33
Tableau XIII : Résultats de mise en évidence de Saponines, Terpénoïdes et Alcaloïdes	36

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur *Moringa oleifera*

I.1. Origine et répartition géographique	3
I.2. Systématique et nomenclature.....	4
I.3. Description botanique de <i>Moringa oleifera</i>	4
I.4. Valeurs nutritives et usage	6
I.4.1. Composition chimique	6
I.4.2. Importance Alimentaire	6
I.4.3. Vertus thérapeutique	7
I.4.4. Utilisation médicinale.....	7
I.4.5. Utilisation industriel.....	8
I.4.6. Autres utilisations.....	8

Chapitre II : Métabolites secondaires

II: Métabolites secondaires.....	9
II.1. Composés phénoliques	9
II. 1.1. Classification des composés phénoliques.....	10
II.1.2. Propriétés des composés phénoliques	10
II. 1.2.1. Propriétés physico-chimiques	10
II. 1.2.2. Propriétés biologiques.....	10
II. 1.2.2.1.Activité antioxydant	11
II. 1.2.2.2.Activité antibactérienne.....	11

II .1.2.2.3. Autre propriété des composé phénolique.....	12
II.2. Les alcaloïdes.....	13
II.3. Les terpènes	13

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

III. Matériel et méthodes.....	14
III .1. Matériel végétal	14
III. 1.1. Origine des feuilles.....	14
III. 1.2. Préparation des échantillons.....	14
III.2. Extraction des composés phénoliques	14
III. 2.1. Extraction à partir des feuilles de <i>Moringa</i>	14
III. 2.2. Extraction à partir de l'huile des graines de <i>Moringa</i>	16
III.3. Dosages colorimétriques.....	17
III. 3.1. Dosage des phénols totaux solubles.....	17
III. 3.2. Dosage des flavonoïdes.....	18
III. 3.3. Dosage des tanins condensés.....	18
III. 3.4. Teneur en caroténoïdes.....	19
III. 3.5. Teneur en acide ascorbique.....	20
III.4. Mise en évidence de la présence d'autres métabolites secondaires.....	20
III.4.1. Saponines.....	20
III.4.2. Alcaloïdes.....	20
III.4.3. Terpénoïdes.....	20
III.4.4. Tanins.....	20
III.5. Activité antioxydant.....	21
III.5.1. Activité anti-radicalaire	21
III.5.2. Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium.....	22
III.6. Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de <i>moringa</i>	22
III. 6.1. Souches bactériennes utilisées.....	22

III.6.2. Préparation des extraits.....	22
III. 6.3. Préparation de l'inoculum.....	23
III. 6.4. Détermination de l'effet antibactérien <i>in vitro</i>	23
III .6.5.Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques	24
III. 6.6. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	24
III. 6.7. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB).....	25
III.7. Analyse statistique.....	25

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV. Résultats et discussions.....	26
IV.1. Rendement d'extraction	26
IV.2. Teneur en composés phénoliques.....	26
IV. 2.1. Teneur en phénols solubles totaux	26
IV. 2.2. Teneur en flavonoïdes	27
IV.2.3. Teneur en tanins condensés.....	28
IV.2.4. Teneure en caroténoïde	29
IV. 2.5. Teneur en acide ascorbique.....	30
IV.3. Mise en évidence de quelques métabolites secondaires dans les extraits de feuilles....	30
IV. 3.1. Saponines.....	31
IV. 3.2. Alcaloïdes.....	31
IV. 3.3.Tétraploïde.....	32
IV. 3.4. Tanins.....	33
IV.4. Détermination de l'activité antioxydant.....	33
IV.4.1. Pouvoir réducteur.....	33
IV. 4.2. Activité anti radicalaire.....	34
IV.5. Détermination de l'activité antibactérienne.....	35
IV.5.1. Pouvoir antibactérien des extraits de <i>M. oleifera</i>	35
IV.5. 2 . Etude de la sensibilité des bactéries au antibiotiques.....	39
IV. 5.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	39

IV. 5.4. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB).....	40
IV. 5.5. Les rapports CMB/CMI.....	40
Conclusion	46

Références bibliographiques

Annexes

Introduction générale

Les plantes sont une source immense de molécules chimiques complexes exploitées par l'homme dans plusieurs industries telles que l'industrie cosmétique, l'industrie agro-alimentaire et l'industrie pharmaceutique. La diversité de ces molécules naturelles qui ne sont pas essentielles à la viabilité des plantes reste une énigme pour les biologistes qui essayent de décrypter leur rôle dans la nature.

Dans les dernières décennies, une augmentation de l'utilisation de composés d'origine naturelle est observée, justifiant l'accroissement de la production de certaines plantes aromatiques et médicinales. Les plantes médicinales ont été utilisées depuis l'antiquité pour leurs valeurs médicinales ainsi que pour influencer la saveur des aliments. De nos jours, les extraits et les poudres sèches d'échantillons d'espèces de plantes médicinales et aromatiques sont utilisés pour le développement d'une médecine alternative (**Baydar et al., 2004**).

Actuellement, il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde (**Muthu et al., 2006**). Parmi ces plantes médicinales *Moringa oleifera* (Moringaceae) est utilisée pour ses différentes propriétés et pour la qualité de son huile.

M. oleifera aussi appelé « l'arbre de la vie », cultivée dans plusieurs pays asiatiques et africains (**Sreelatha et al., 2009**), est largement utilisé dans la médecine traditionnelle (**Alhakmani et al., 2013**). La plupart des parties de cet arbre (feuilles, fleurs, fruits et gousses immatures) sont utilisées dans diverses formulations alimentaires traditionnelles, médicaments et à usage industrie. Les feuilles sont riches en vitamines et en composés phénoliques (**Makkar et al., 1996 ; Coppin et al., 2013**).

Le retour vers le naturel est devenu indispensable et doit suivre certaines conditions en vue de son utilisation dans le monde vaste des anti-infectieux. La condition principale pour ce regain, est une étude scientifique rigoureuse de l'activité antimicrobienne de différents extraits *M. oleifera*, plante alimentaire et médicinale utilisés depuis la nuit des temps dans plusieurs domaines.

Le présent travail concerne une partie limitée des agents antimicrobiens : étudier et évaluer le pouvoir antibactérien des extraits de feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera*. L'objectif principal de ce travail consiste à déterminer la composition chimique des feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera* et d'évaluer l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne des extraits qui pourraient justifier des vertus reconnues à cette plante.

Le présent travail est divisé en trois parties :

Dans la première partie nous avons réalisé une étude bibliographique des propriétés de la plante et des composés phénoliques.

Dans la deuxième partie nous avons déterminé la teneur en composés phénoliques des extraits et évalué leur activité antioxydante (activité anti radicalaire, pouvoir réducteur).

Dans la troisième partie nous avons déterminé l'activité antimicrobienne des extraits de *M. oleifera* contre certaines bactéries pathogènes et phytopathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pectobacterium atrosepticum*, *Dickeya solani*, et *Pectobacterium carotovorum*.

I. Généralités sur *Moringa oleifera*

I.1. Origine et répartition géographique

Moringa oleifera est une plante originaire d'Inde, où elle est déjà largement connue par la population indienne. Elle pousse dans les zones tropicales et subtropicales (Fig.1). *M. oleifera*, arbre tropical, courant en Afrique, est passé, en une décennie, du statut de plante inconnue à celui de nouvelle ressource alimentaire et économique pour les pays du Sud (Atakpama et al., 2014). Très largement répandu à travers le monde, cette espèce suscite plus d'intérêts auprès des organisations non gouvernementales (ONG), des scientifiques et même des entrepreneurs (Olson, 2001 ; Sain Saveur et Broin, 2006).

Cet Arbuste très résistant à la sécheresse, se retrouve au niveau des zones très arides comme le Sahara ; mais il préfère les climats semi-tropicaux humides. Son introduction en Afrique de l'Est a eu lieu au début du 20^{ème} siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes durant cette période (Foidl et al., 2001).



Fig. 1 : Répartition géographique de *Moringa oleifera*.

(Anonyme 1)

I.2. Systématique et nomenclature

Moringa oleifera souvent appelée simplement *Moringa*, est le seul genre des *Moringaceae*. Il existe environ 13 espèces dont *M. oleifera* est la plus connue (**Foidl et al., 2001 ; Tahir Mahmood et al., 2010 ; Hédji et al., 2014**). La systématique de *M. oleifera* est représentée dans le tableau suivant (Tableau I).

Nom scientifique de *M. oleifera* Lamk (synonyme : *Moringa parvifolia* Noronha), elle possède aussi d'autres dénominations, en anglais, connue sous « west Indian tree », ou « Drums tick Tree », ou encore « Never die tree » en référence à sa résistance à la sécheresse, en arabe : « Rawag », ou « Shagara Al Ruwag » (**Fuglie, 2001 ; Lim, 2012**).

Tableau N° I : La systématique de *Moringa oleifera* (**Laleye et al., 2015**)

Règne	Plantae.
Sous-règne	Tracheobiophyta.
Division	Magnoliophyta.
Classe	Mangoliopsida.
Sous-classe	Dilleniidae.
Ordre	Capparales .
Famille	Moringaceae.
Genre	<i>Moringa</i> .
Espèce	<i>Moringa oleifera</i> .

I.3. Description botanique de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera est un arbuste ou arbre de 12 mètres de hauteur (Fig.2i) et son diamètre peut atteindre jusqu'à 40 centimètre (**Delpha, 2011**).

- ◇ Les feuilles (Fig.2ii) de forme caduques, imparipennées et composées de folioles ovales, ayant une couleur vert claire, d'environ 1 cm de long (**Saint-Sauveur, 2010**).

- ◇ Les fleurs (Fig.2iii) est de couleur blanc crème, composée de cinq pétales inégaux **(Rolaff et al., 2009)**.
- ◇ Le fruit (Fig.2iv) est une capsule déhiscente, mesure de 30 à 50 cm de long a maturité, sa couleur est beige à grisâtre **(Delpha, 2011)**.



Fig. 2 : Différentes parties de *Moringa oleifera* : (i) l'arbre de plein champ, (ii) ensemble de feuillage, (iii) Fleurs et (iv) fruits **(Sivanesan et al. 2016)**.

- ◇ Les graines (Fig. 2v) sphériques, noires, entourées d'un péricarpe qui forme trois ailes **(Delpha, 2011)**.
- ◇ La racine (Fig.2vi) blanche gonflée, tubéreuse qui a une odeur piquante caractéristique et dotée de racines latérales plutôt clairsemées **(Rolaff et al., 2009)**.
- ◇ Le tronc (Fig.2vii) peut généralement atteindre 1,5 à 2 mètres de haut, et 20 à 40 cm de diamètre **(Foidl et al., 2001)**.

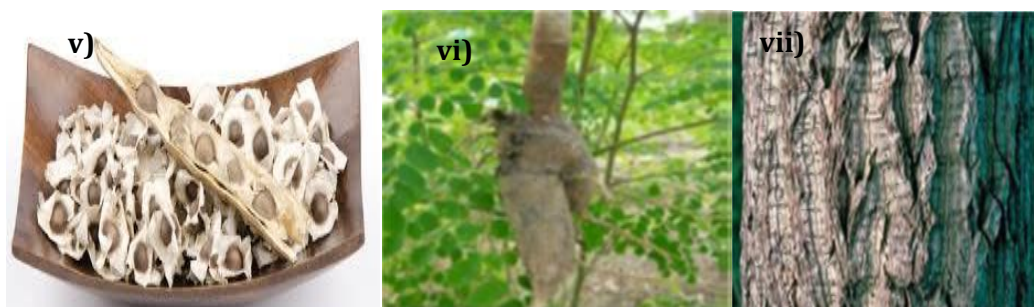


Fig.3 : Quelques parties de *Moringa oleifera* : (v) graines, (vi) racines et (vii) troncs **(Rolaff et al., 2009)**.

I.4. Valeurs nutritives et usages

M. oleifera se distingue par une grande utilité de toutes ses différentes parties dans plusieurs domaines. Elle est d'usage courant en médecine populaire et en alimentation humaine et animale dans les sociétés africaines et asiatiques (**Aberra et al., 2011; Giridhari et al., 2011**).

I.4.1. Composition chimique

La valeur nutritive des feuilles de *Moringa* est d'une richesse rarement observée. En effet, les feuilles contiennent une très grande concentration de vitamines, de protéines, de certains minéraux et, phénomène assez rare pour une plante, elle possède les 10 acides aminés et les acides gras essentiels (**Broin, 2005**).

I.4.2. Importance Alimentaire

Les feuilles peuvent se consommer fraîches ou en poudre (**Broin, 2005**) et même associées aux épices comme le piment. Elles peuvent également être préparées en soupe ou en salade. Les jeunes gousses vertes (Fig.4) peuvent être consommées bouillies comme des haricots (**Foidl et al., 2001**).



Fig.4 : Utilisation des gousses de *Moringa oleifera* en alimentation humaine
(Anonyme 2)

En alimentation animale, les qualités nutritives de *Moringa* sont excellentes, ce qui en fait une source de fourrage de très bonne qualité (**Foidel et al., 2001**).

I.4.3. Vertus thérapeutiques

Selon **Saint Sauveur et Broin (2006)**, les feuilles de *Moringa* sont maintenant utilisées dans certains programmes de lutte contre la malnutrition en particulier au Sénégal, en Inde, au Bénin et au Zimbabwe, De ce fait, les populations incluent les feuilles de *M. oleifera* dans la formulation de la poudre infantile à base de ces feuilles comme complément alimentaire des nourrissons (**Madi et al., 2012**). Toutes les parties (feuilles, fleurs, fruits, écorces et racines) de *M. oleifera* ont des vertus médicinales confirmées par des travaux et des études expérimentales dans les différents pays africains, asiatiques et panaméricains (**Kooltheat et al., 2014**).

I.4.4. Utilisation médicinale

Dans l'ethnomédecine, des feuilles de *M. oleifera* ont été employées par les guérisseurs traditionnels dans le traitement de divers maux tels que le malaise, les ulcères d'estomac, la diarrhée, la dysenterie, les infections gastriques et celle de la peau (**Nweze et al., 2014**).

En plus de leur intérêt alimentaire, les feuilles sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter les maladies inflammatoires et infectieuses. *M. oleifera* présentent plusieurs activités biologiques notamment : activité antioxydant (**Nickon, 2003 ; Chumarket al., 2008 ; Singh et al., 2009 ; Farooq et al., 2012 Alhakmani, 2014**), activité antibactérienne (**Nickon, 2003 ; Peixoto et al., 2011 ; Singh et Tafid, 2013 ; Kumar et al., 2013 ; Othman et Ahmed, 2017**), activité antifongique (**Nickon, 2003 ; Anwar et al., 2007**), activités Anti-tumorales (**Reda et al., 2017**) et activité anti-inflammatoire (**Pal, 1995 ; Bennett et al., 2003 ; Fahey, 2005 ; Cheenpracha et al., 2010 ; Mbikay, 2012**). Les feuilles sont utilisés pour apaiser la souffrance des diabétiques et des obèses (**Nickon, 2003 ; Jaiswal et al., 2009 ; Cerf, 2013**), abaissement le cholestérol (**Mehta, 2003**), antiépileptique (**Georgewill, Georgewill et al. 2010**) et utilisé comme antibiotique contre plusieurs bactéries infections (**Anonyme, 2015**).

I.4.5. Utilisation industriel

Les graines de *Moringa* contiennent 42% d'huile. L'huile de *Moringa* est équivalente sous tous ses aspects à une huile de qualité supérieure telle que l'huile d'olive et présente les mêmes avantages que celle-ci pour la santé (**Creighton, 2001**).

Grâce à ces propriétés, l'huile de *M. oleifera* peut être utilisée comme lubrifiant dans la machinerie fine comme l'horlogerie pour sa faible tendance à se détériorer et devenir rance et collante (**Ramachandran et al., 1980 in Foidl et al., 2001**). Elle est aussi utilisée comme huile végétale comestible et huile de cuisson, comme huile de qualité dans l'industrie cosmétique et de parfums (**Foidl et al., 2001**).

I.4.6. Autres utilisations

Les graines de *M. oleifera* contiennent un poly électrolyte cationique qui a montré son efficacité dans le traitement primaire de l'eau (élimination de la turbidité), en remplacement du sulfate d'alumine ou d'autres flocculant (**Lea, 2010**). Elles sont aussi utilisées comme polypeptides naturels non toxiques qui neutralisent les matières colloïdales et provoquent la sédimentation des particules minérales et organiques (**Foidl et al., 2001**).

M. oleifera possède d'autres pouvoirs; ses graines sont utilisées pour purifier le lait et le miel. En raison de sa teneur en composés phytohormones de type cytokinines. Elle peut être utilisé comme un engrais pour activer la croissance des arbres et les rendements des plantes (**Pamo Tendonkeng et al., 2002 ; Gnangle et al., 2010**).

II. Métabolites secondaires

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

Ces composés sont souvent considérés comme n'étant pas essentiels à la vie de la plante (**Levasseur-Garcia et al., 2013**), mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction; dont ils participent à la protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores, attraction des pollinisateurs (**Guillon, 2010**). Ils sont aussi des molécules très utiles pour l'homme, comme colorants, arômes, antibiotiques, herbicides, drogues... etc. (**Merzougui et Tadj, 2015**).

Les métabolites secondaires bioactifs sont répartis en trois grandes familles chez les végétaux (**Krief, 2003**) :

- Les composés phénoliques : tanins, quinones, coumarines, flavonoïdes.
- Les composés azotés : alcaloïdes.
- Les terpènes

II.1. Composés phénoliques

Les polyphénols également dénommés composés phénoliques sont des métabolites secondaires très largement répandues dans le règne végétal (**Xiuzhen et al., 2007 ; Quideau et al., 2011**). Ils sont très importants dans la contribution à la couleur et au goût des fruits et des végétaux. Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence (**Milane, 2004 ; Macheix et al., 2006**).

Les polyphénols ont tous en commun un cycle aromatique (C6) portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, libre ou engagées dans une autre fonction chimique (éther méthylique, ester, sucre....etc) (**Michalak, 2006**). Ils sont dotées de certaines propriétés biologiques et font partie de l'alimentation animale, par exemple, l'homme consomme quotidiennement jusqu'à 10g de composés phénoliques (**Nacz et Shahidi, 2004**).

II.1.1. Classification des composés phénoliques

Plus de 8000 composés phénoliques naturels ont été isolés (**Erdman et al., 2007 ; Batra et Sharma, 2013**). Les polyphénols sont repartis en plusieurs classes selon leur structure qui varie depuis les molécules simples vers les molécules les plus hautement polymérisés (**Harnly et al., 2007**). Parmi ces métabolites on cite : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et les coumarines (**King et Young, 1999 ; Tapiero et al., 2002**).

II.1.2. Propriétés des composés phénoliques

Durant ces dernières années, plusieurs chercheurs se sont intéressés aux composants phénoliques à cause de leur pouvoir à piéger les radicaux libres, les bienfaits potentiels de leur consommation sur la santé humaine et la protection des végétaux.

a. Propriétés physico-chimiques

Les polyphénols sont généralement des composés aromatiques solubles dans les solvants polaires tels que l'éthanol, le méthanol, le butanol, l'acétone, le diméthylsulfoxyde, l'eau, ... etc. (**Benkrief, 1990**).

Les polyphénols moins polaires comme les isoflavones, les flavonones, les flavones et les flavonols sont plus solubles dans d'autres solvants tels que l'éther et le chloroforme (**Verykokidou-Vitsaropoulou et Vajias, 1986**).

b. Propriétés biologiques

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

c. Activité antioxydante

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

L'activité antioxydante des composés phénoliques est due à leur capacité à piéger les radicaux libres, donner l'atome d'hydrogène et un électron et de chélater les cations métalliques. La structure des composés phénoliques est l'élément déterminant de leur activité (**Balasundram et al., 2006**). Pour les flavonoïdes, la relation structure activité antioxydante est généralement plus compliquée que les acides phénoliques à cause de la complexité de la molécule de flavonoïdes (**Bors et al., 1997**).

d. Activité antibactérienne

Les propriétés antimicrobiennes des plantes médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (**Yano et al., 2006**).

Les constituants des extraits de plantes sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons. Les polyphénols sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis d'une large gamme de microorganismes (**Cowan, 1999 ; Basli et al., 2012**).

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

e. Autres propriétés des composés phénoliques

Les différentes propriétés biologiques des composés phénoliques sont représentées dans le tableau suivant.

Tableau II : Les activités biologiques des composés phénoliques (**Bahorun, 1997**).

Polyphénols	Activités
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydants
Coumarines	Protectrices vasculaires Anti-oedémateuses
Flavonoïdes	Anti tumorales Anti carcinogènes Anti inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Anti oxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaire et veineuse
Pronthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Anti oxydantes Anti tumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiques	Anti-oxydantes

2. Les alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du 19^{ème} siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases. Ce terme est dérivé de l'arabe « Al Kaly » qui signifie la soude et de grec « Eidos » qui signifie l'aspect (**Mangambu et al., 2014**). Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels hétérocycliques avec l'azote comme hétéroatome. Ils dérivent des acides aminés, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (**Zenk et Juenger, 2007**) et sont produits dans les tissus en croissance (**Krief, 2003**).

Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques (**Muniz, 2006**). Ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12000 différentes structures. Les alcaloïdes ont plusieurs applications pharmaceutiques chez l'Homme : antalgiques (morphine, codéine), spasmolytiques (tubocurarine et papaverine) et antitussifs (codéine) (**Stöckigt et al., 2002**).

3. Les terpènes

Les terpènes ou terpénoïdes sont une classe importante de métabolites secondaires qui proviennent du même précurseur biosynthétique, l'acide mévalonique (**Rouessac et Rouessac, 2004**). Les terpénoïdes sont classés en fonction du nombre de leurs unités isoprènes (lemono terpène, avec deux unités isoprènes, les sesquiterpènes avec trois unités et les di terpènes quatre unités). Beaucoup de mono terpènes et les sesquiterpènes sont appelés huiles essentielles (**Raven et al., 2003**).

III. Matériel et méthodes

III.1. Matériel végétal

III.1.1. Origine des feuilles

Les feuilles de *Moringa oleifera* utilisés proviennent du sud d'Algérie exactement de Oued Souf, récoltées fin Juin 2016.

III.1.2. Préparation des échantillons

Après récolte, les feuilles de *M. oleifera* ont été séchées à l'air libre dans un endroit sec et ombragé. Un broyage fin des feuilles séchées est pratiqué à l'aide d'un moulin à café. La poudre obtenue est ensuite tamisée à l'aide d'un tamis. La poudre finale obtenue est conservée dans un bocal en verre fermé hermétiquement est stocké à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

L'huile a été extraite des graines par la méthode soxhlet.

III.2. Extraction des composés phénoliques

III.2.1. Extraction à partir des feuilles de *M. oleifera*

Quand une matrice est en contact avec un solvant, les composants solubles dans le matériel migrent vers le solvant ; ainsi, l'extraction est due au transfert de matière du principe actif de la matrice vers le solvant, selon un gradient de concentration (**Handa et al., 2008**).

L'extraction des composés phénoliques (Fig. 5) est faite par macération selon la méthode d'**Oomah et al., (2010)** ; quatre solvants d'extraction sont utilisés (eau distillée, méthanol 60%, méthanol 80%, méthanol 100%).

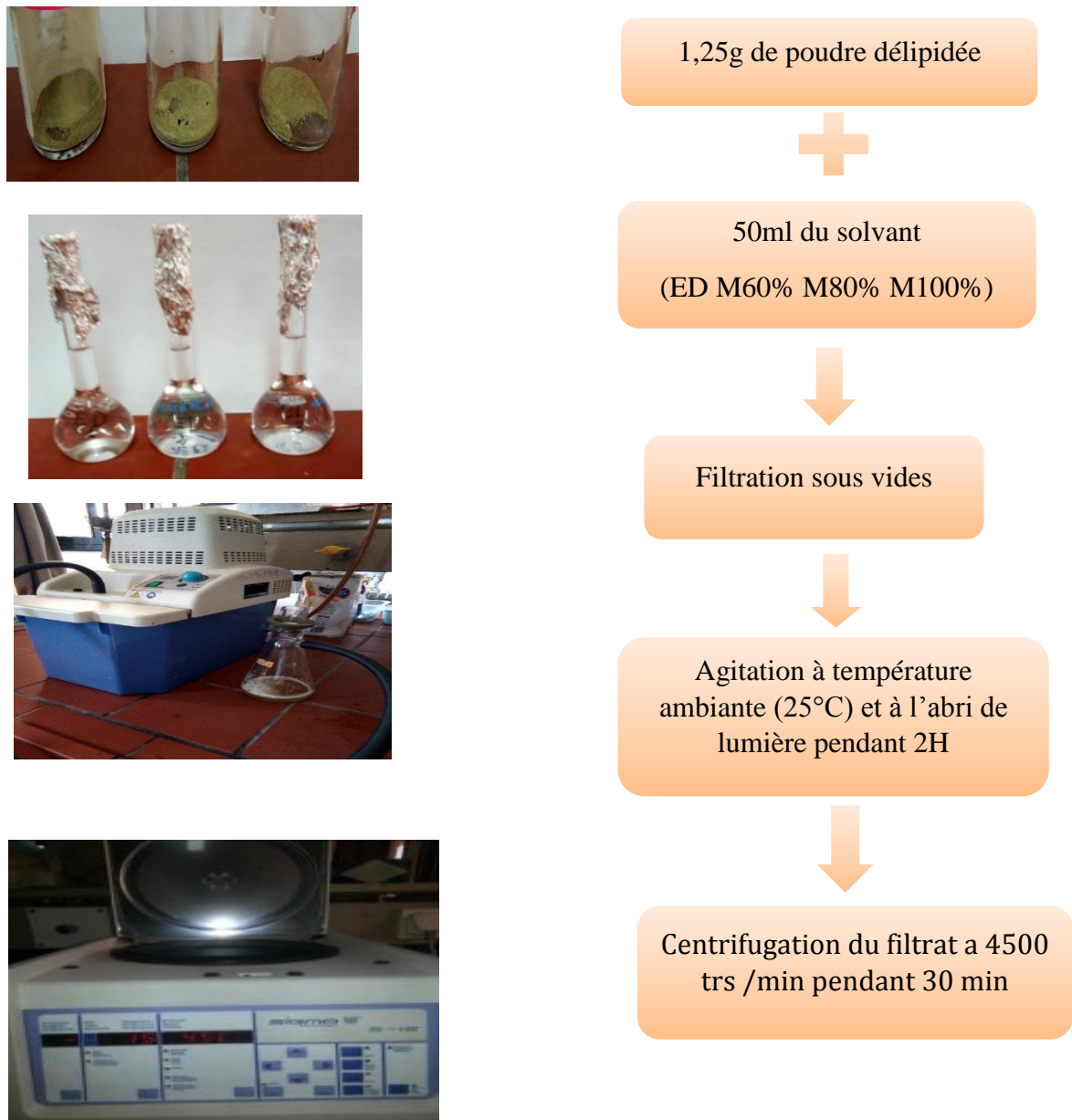


Fig. 5 : Protocole d'extraction des composés phénoliques (Oomah et al., 2010)

Détermination du rendement d'extraction

Le taux d'extraction des extraits de feuilles est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = [(P1-P0)] / E \times 100$$

P0 : Poids du bécher vide.

P1 : Poids du bécher et l'extrait après évaporation du solvant.

E : Poids de la poudre.

III.2.2. Extraction à partir de l'huile des graines de *moringa*

L'extraction des composés phénoliques a été effectuée selon la méthode de **Gutfinger (1981)**, le protocole est donné par le diagramme de la (Fig. 6).

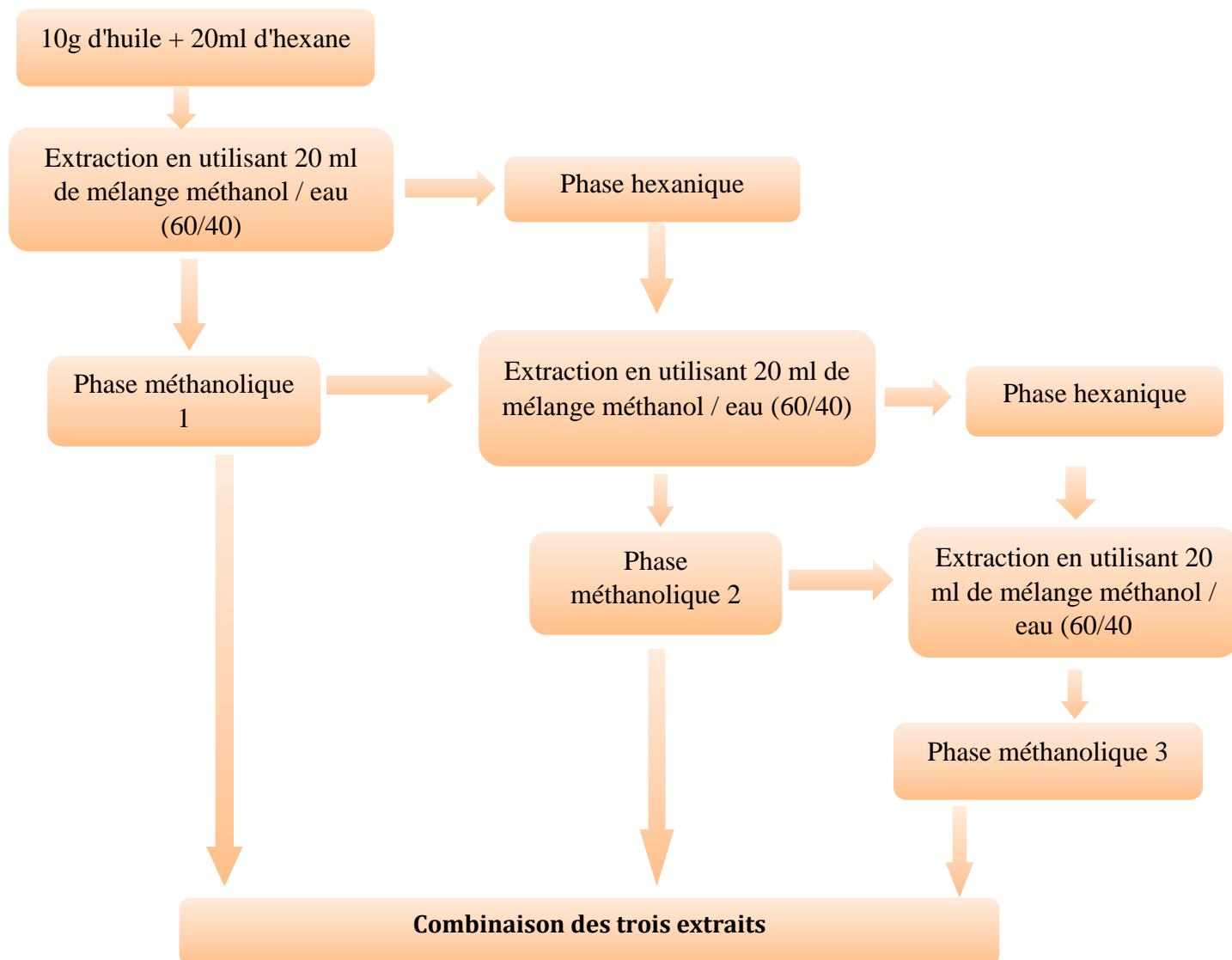


Fig.6 : Extraction des composés phénoliques (**Gutfinger, 1981**).

III.3. Dosages colorimétriques

III.3.1. Dosage des phénols totaux solubles

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

Le réactif de Folin-Ciocalteu (**Annexe I**), mélange de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) est réduit en présence de polyphénols en un mélange d'oxydes bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel (Ribéreau-Gayon, 1968 ; Lapornik *et al.*, 2005).

Le dosage des phénols totaux solubles est effectué par la méthode au Folin-Ciocalteu (Fig. 7) décrite par Skerget *et al.*, (2005).

L'absorbance de la couleur bleue obtenue est mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc. Les résultats obtenus sont rapportés à une courbe d'étalonnage préalablement réalisée avec un polyphénol témoin qu'est l'acide gallique (**Annexe I**). Les résultats sont exprimés en (mg Eq AG/g Ech).

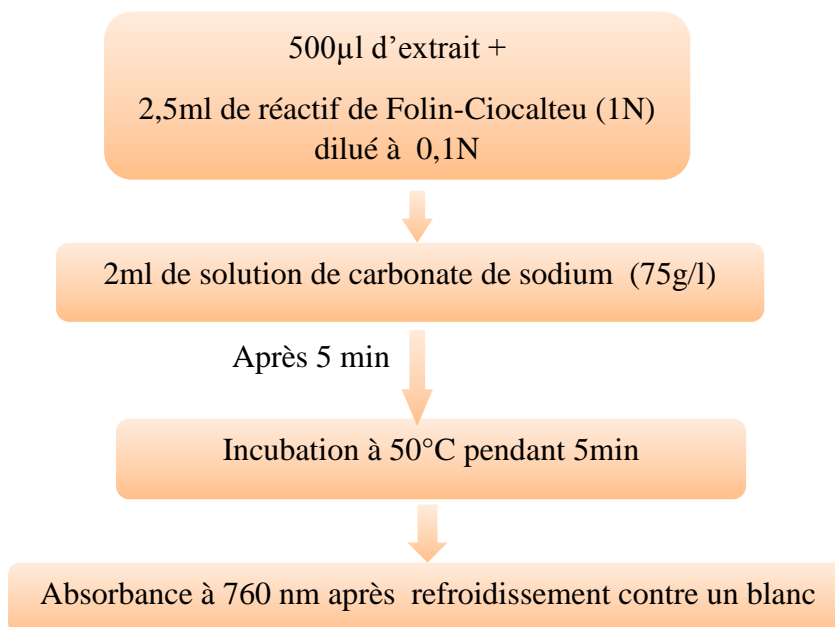


Fig.7 : Protocole de dosage des phénols totaux solubles (Skerget *et al.*, 2005).

III.3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de dosage utilisée afin de déterminer la teneur en flavonoïde des extraits de feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera* est la méthode colorimétrique de **Lamaison et Carnat (1990)** rapportée par **Bahorun et al., (1996)**.

Le dosage des flavonoïdes repose sur la capacité de ces derniers à former des complexes jaunâtre flavonoïde-aluminium par chélation des métaux. La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de **Djeridane et al. (2006)**. Le dosage est réalisé par l'addition de 1ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium hydraté ($AlCl_3 \cdot 6H_2O$) à 2% (**Annexe I**) à 1ml d'extrait.

Le mélange est laissé pendant 15 minutes à l'obscurité et à température ambiante après avoir été vigoureusement agité. L'absorbance est mesurée à 430 nm contre un blanc. Les concentrations sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine (**Annexe II**). Les résultats sont exprimés en équivalent de quercétine (mg EQ/g Ech).

III.3.3. Dosage des tanins condensés

Le réactif vanilline-HCl est spécifique pour les flavan-3-ols et les proanthocyanidines. La réaction est basée sur la condensation de l'aldéhyde phénolique (vanilline) avec la structure des flavan-3-ols et proanthocyanidines dans des conditions acides et produire un complexe rouge (**Reed, 1995; Naczki et al., 2004**).

Le dosage des tanins condensés est effectué par la méthode à la vanilline (Fig. 8) décrite par **Deshpande et al., (1986)**.

La concentration en tanins condensés des extraits analysés est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide tannique (**Annexe III**). Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide tannique (mg ET/g Ech).

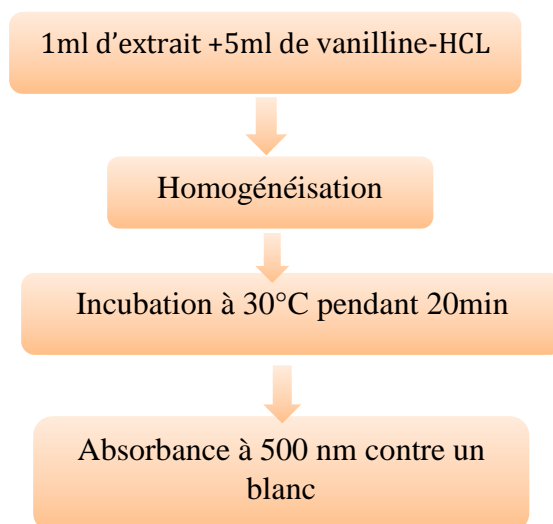


Fig. 8 : Protocole de dosage des tanins condensés (Deshpande et al., 1986).

III.3.4. Teneur en caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes (Fig. 9) a été estimée selon la méthode de **Sass-Kiss et al. (2005)**. Cette teneur a été exprimée en milligrammes d'équivalent β -carotène (β -CE) pour 100 g d'échantillon selon la courbe standard du β -carotène (**Annexe IV**).

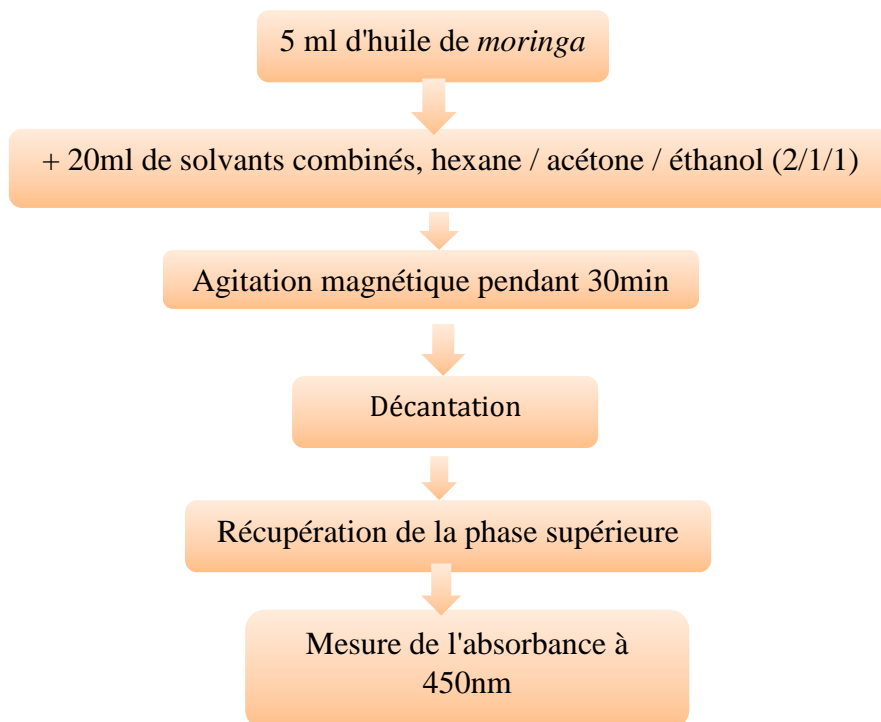


Fig.9 : Protocole de détermination des caroténoïdes (Sass-Kiss et al., 2005).

III.3.5. Teneur en acide ascorbique

La teneur en acide ascorbique a été estimée selon la méthode de **Mau et al. (2005)**. L'acide ascorbique a été extrait à partir de 200 mg de poudre d'échantillon avec 10 ml d'acide oxalique (3%). L'extrait a été agité pendant 60 min, suivi par une centrifugation pendant 15 min à 3000 tours/min et filtration; 100 µl du filtrat ont été mélangés avec 1 ml de la solution de 2,6-dichlorophénolindophénol. L'absorbance a été mesurée à 515 nm.

Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par 100 g de matière sèche (mg Eq As/100g MS), en se référant à une courbe d'étalonnage (**Annexe V**) réalisées avec l'acide ascorbique.

III.4. Mise en évidence de la présence d'autres métabolites secondaires

III.4.1. Saponines

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

III.4.2. Alcaloïdes

La présence d'alcaloïdes est révélée par la méthode **d'kpemissi (2007)**. Quelques gouttes du réactif de Bouchardat 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.

III.4.3. Terpénoïdes

La méthode d'**Aziman et al. (2012)** permet de mettre en évidence la présence de terpénoïdes. 2,5 ml d'extrait est ajouté à 1ml de chloroforme. Après homogénéisation, 1.5 ml d'H₂SO₄ concentré sont ajoutés au mélange. La formation d'une couleur brun-rouge à l'interface indique la présence de ces composés.

III.4.4. 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, une coloration bleue fanée indique la présence de tanins gallique et une coloration bleue verdâtre indique la présence de tanins (**Soulama et al., 2014**).

III.5. Activité antioxydante

III.5.1. Activité anti-radicalaire

L'activité antioxydante 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 DPPH-H (jaune) (Fig. 10); 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).

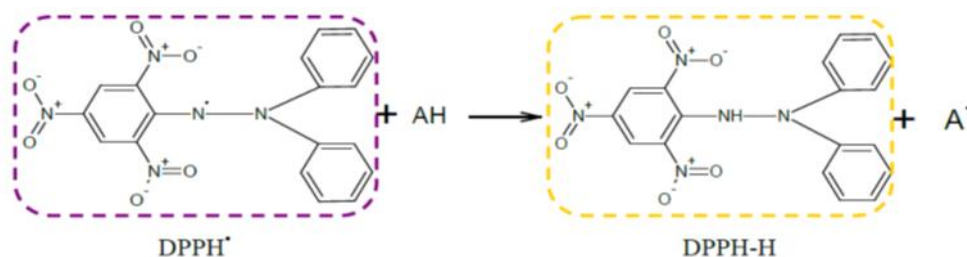


Figure. 10: Réduction du radical DPPH° (Haddouchi et al., 2016)

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 :

$$\% \text{ Inhibition} = (\text{Abs C} - \text{Abs Ech}) / (\text{Abs C}) * 100$$

Abs C : Absorbance du contrôle

Abs Ech : Absorbance Échantillon

III.5.2. Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium

Le test de phosphomolybdate d'ammonium est une méthode quantitative pour évaluer la capacité antioxydante. Il est basé sur la réduction du Mo⁺⁶ en Mo⁺⁵ avec la formation d'un complexe phosphate /Mo⁺⁵ de couleur verte en milieu acide (**Bougatef et al., 2009**).

L'évaluation de l'activité antioxydante est déterminée selon la méthode citée par **Silici et al. (2010)**.

- 0,2 mL de chaque extrait a été additionnée à un volume de 2 mL du solvant réactif (acide sulfurique à 0,6M, phosphate de sodium à 28 mM et molybdate d'ammonium à 4 mM) ;
- après agitation au vortex; les tubes sont incubés à 90°C pendant 90 minutes; l'absorbance est ensuite lue à 695nm.

III.6. Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de *M. oleifera*

III.6.1. Souches bactériennes utilisées

Dans cette étude, les souches bactériennes utilisées sont : *Escherichia coli* (ATCC25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC29213), *Dickeya solani* (CFBP899), *Pectobacterium Carotovorum* (PCC, CFBP88.22) , et *Pectobacterium atrosepticum* (PCA, CFBP53.84).

III.6.2. Préparation des extraits

Les extraits bruts sont dissouts dans l'eau distillée à une concentration finale de 400 mg/ml puis stérilisés par filtration sur membrane (0,45 µm).

Une série de dilutions (à ½) des solutions mères sont préparées à partir de chaque extrait stérile avec concentration allant de 400 mg /ml à 12,5 mg/ml pour les extraits de feuilles (ED, Méthanol 60%, Méthanol 80%, Méthanol 100%).

III.6.3. Préparation de l'inoculum

L'*inoculum* bactérien a été préparé à partir de colonies de moins de 24 heures dans l'eau distillée stérile. Une colonie isolée de la culture bactérienne a été prélevée à l'aide d'une anse de platine et homogénéisée dans 10 ml de l'eau distillée stérile 4 à 5 h à 27°C pour *Dickeya solani*, *Pectobacterium carotovorum* et *Pectobacterium atrosepticum* et à 37 °C pour *E. coli* et *S. aureus* pour avoir une pré-culture.

Après incubation, la suspension bactérienne est ajustée jusqu'à obtention d'une densité de 10^8 UFC/ml, qui correspond à une DO de 0,9 à 580 nm pour *PCC*, *PCA* et *D. solani*, une DO de 0,2 à 0,3 pour *E. coli* et une DO de 0,3 à 0,4 pour *S. aureus* à 620 nm. Cette suspension est diluée pour avoir un *inoculum* de 10^4 UFC/ml.

100µl de cet *inoculum* ont été uniformément étalés à la surface de la gélose de Mueller- Hinton (MH). Des disques stériles de 5 mm de diamètre sont imprégnés chacun avec 25 µl de chaque extrait à différentes concentrations et déposés sur la gélose. Les disques témoins sont imprégnés de 20µl du DMSO. Après 24 heures d'incubation à l'étuve à 27°C pour *PCC*, *PCA* et *D. solani* et à 37°C pour *S. aureus* et *E. coli*. Les mesures des diamètres des zones d'inhibition sont effectuées à l'aide d'une règle millimétrée sur la surface inférieure de la boîte, sans ouvrir le couvercle.

III.6.4. Détermination de l'effet antibactérien *in vitro*

Pour la réalisation des tests nous avons opté pour la méthode de diffusion sur milieu gélosé telle que décrite par **Chan et al. (2007)** et qui repose sur la diffusion de l'extrait à partir des disques imprégnés et déposés sur le milieu solide, en créant un gradient de concentration faisant apparaître une zone circulaire claire exempte de colonies appelées zones d'inhibitions.

100µl de cet *inoculum* déjà préparé sont uniformément étalés à la surface de la gélose de Mueller-Hinton (MH). Des disques stériles de 6 mm de diamètre, sont chargés chacun avec 25µl de chaque extrait à différentes concentrations et déposés sur la gélose (**Karabay-Yavasoglu et al., 2007**). Les disques témoins sont imprégnés de 20 µl du DMSO. Les boîtes de Pétri sont mises au réfrigérateur à 4°C pendant trois heures pour une pré-diffusion (**Bansemir et al., 2006**).

Après 24 heures d'incubation à l'étuve, le diamètre des zones d'inhibition autour des disques est mesuré au moyen d'une règle graduée (**Karabay-Yavasoglu et al., 2007**).

III .6.5. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Nous avons mis à profit la méthode de diffusion en milieu gélosé préconisée par **Vandepitte et al. (1994)**. Une suspension bactérienne du germe à tester est ensemencée dans des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton. Des disques d'antibiotiques sont ensuite déposés sur la gélose ; puis les boîtes de Pétri sont mises à incuber à 37°C en étuve.

Après 24 h d'incubation, l'on procède à la lecture des résultats ; celle-ci consiste à mesurer le diamètre de chaque zone d'inhibition. Les mesures des diamètres des zones d'inhibition sont effectuées à l'aide d'une règle millimétrée sur la surface inférieure de la boîte, sans ouvrir le couvercle.

III.6.6. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration inhibant toute croissance bactérienne après 18 à 24 heures d'incubation (**Caquet, 2004**).

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont déterminées par la méthode de **Santoyo et al. (2009)**. Les CMI des extraits vis-à-vis des souches bactériennes cibles sont déterminées selon la technique de dilutions sur milieu liquide en utilisant les microplaques 96 puits.

Les puits sont remplis par 165µl de bouillon Mueller Hinton, 5 µl de l'*inoculum* ayant une concentration finale de 10⁶UFC/ml, et de 30µl d'extrait à différentes concentrations allant de 100 à 40mg/ml. Le volume final de chaque puits est de 200 µl. Les microplaques sont incubées à 37°C pour *S. aureus* et 27°C pour *PCC* pendant 24h. Deux témoins sont réalisés : un témoin négatif (sans l'inoculum) : Bouillon Mueller Hinton + 30µl d'extrait et un témoin positif (sans extrait) : Bouillon Mueller Hinton + 30µl de DMSO 5% + 5µL de l'inoculum.

La CMI de chaque extrait est déterminée par une inspection visuelle des fonds des puits, la croissance bactérienne est indiquée par la présence d'une pelote blanche au fond du puits (**Santoyo et al., 2009**).

III.6.7. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration de substance qui laisse au plus 0,01% de germes survivants (**Meyer et al., 1994 ; Toty, 2013**).

A l'aide d'une anse calibrée à 2 μ l, les contenus des tubes dans lesquels aucun trouble n'a été observé ont été prélevés et ensemencés sur une gélose Mueller-Hinton en commençant par le tube de la CMI.

L'ensemencement a été fait par stries parallèles de 5 cm de long à la surface de la gélose. Après 24 h d'incubation à l'étuve à 27°C pour *PCC* et à 37°C pour *S. aureus*, le nombre de colonies sur les stries a été comparé à celles de la boîte de numération de l'*inoculum*. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de germes présents sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10⁻⁴ correspondra à la CMB.

III.7. Analyse statistique

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

IV. Résultats et discussions :

IV.1. Rendement d'extraction :

Les rendements d'extractions (Fig. 11) dépendent des facteurs mis en jeu (solvants et concentrations). Le meilleur rendement est noté avec l'eau distillée (ED) par rapport aux extraits méthanoliques (M60%, M80% et M100%).

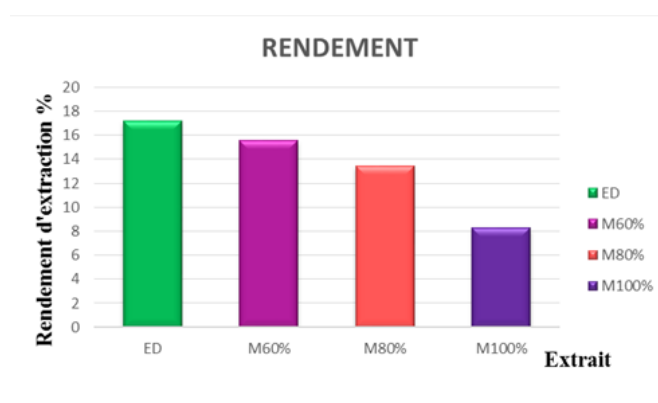


Fig.11 : Rendement d'extraction des composés phénoliques

IV.2. Teneurs en composés phénoliques :

IV.2.1. Teneur en phénols solubles totaux :

Les résultats de l'analyse colorimétrique en phénols totaux solubles (PTS) des différents extraits de feuilles (ED, M100%, M80%, M60%) et de l'huile de *M. oleifera* sont illustrés dans la figure suivante (Fig. 12).

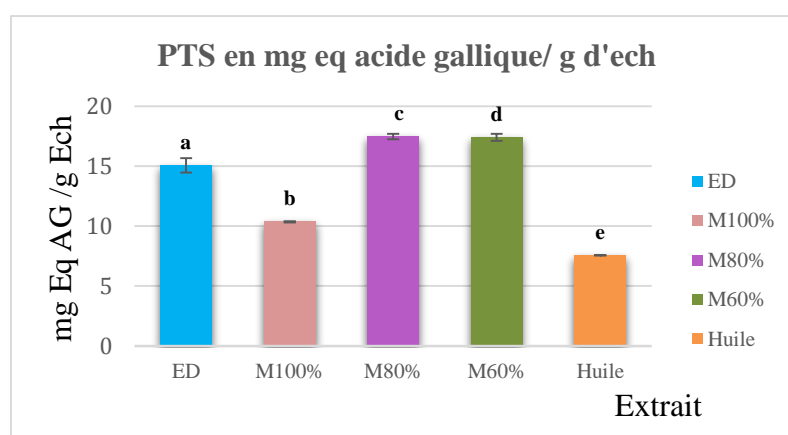


Fig. 12 : Teneurs en polyphénols solubles totaux des extraits de feuilles et de l'huile de *M. oleifera*.

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

Les résultats montrent que la plante étudiée est riche en polyphénols et les teneurs en PTS dans les extraits varient entre 7,5 à 17,47 mg Eq. AG/g ech.) (Fig. 12).

L'analyse statistique des résultats a révélé un effet significatif ($p < 0,05$) entre les deux parties de la plante étudiées (feuilles et graines). Les extraits de feuilles de *M. oleifera* présentent des teneurs en PTS plus élevées par rapport à l'extrait de l'huile des graines (7,5 mg Eq AG/g Ech.).

On observe également une différence de signification ($p < 0,05$) au niveau des extraits de feuilles et cela est en relation avec le solvant d'extraction. La teneur en PTS la plus élevée est obtenue avec le méthanol 80% (17,47 mg Eq. AG/g Ech.) et le méthanol 60% (17,40 mg Eq. AG/g ech.) par rapport à l'eau distillée (15,05 mg Eq. AG/g ech.) et au méthanol 100% qui présente une teneur faible (10,35 mg Eq. AG/g ech.) .

IV.2.2. Teneur en flavonoïdes :

Les résultats des dosages des flavonoïdes des feuilles (ED, M100%, M80%, M60%) et de l'huile des graines de *Moringa oleifera* sont représentés dans la figure suivante (Fig. 13).

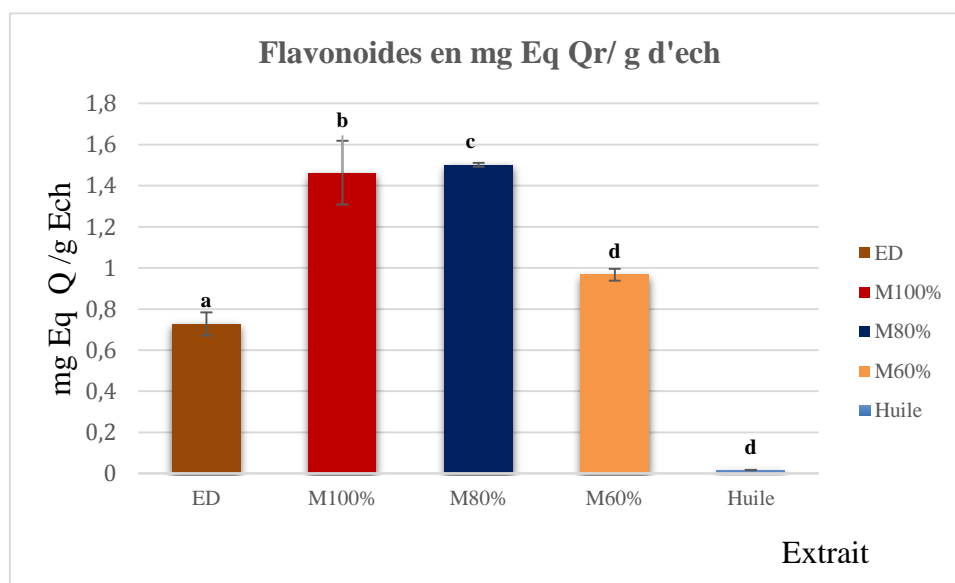


Fig. 13 : Teneurs en flavonoïdes des extraits de feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera*.

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

D'après l'histogramme (Fig. 13), le contenu en flavonoïdes est différent en fonction de l'échantillon (extraits de feuilles et huile des graines), la différence est significative ($P < 0,05$). Les teneurs en flavonoïdes varient de 0,017 à 1,50 mg Eq. Qr/g Ech respectivement pour les graines et les feuilles. La teneur en flavonoïdes est nettement plus élevée dans les extraits de feuilles que dans l'huile des graines.

Pour les feuilles de *M. oleifera*, le contenu en flavonoïde diffère aussi en fonction du solvant d'extraction (M100%, M80%, M60% et ED), la différence est significative ($P < 0,05$). Les résultats illustrés (Fig. 13) indiquent que l'extrait M80% a donné la teneur en flavonoïde la plus élevée (1,50 mg Eq. Q/g Ech.) par rapport à l'extrait M100% et à l'extrait M60%. Par contre, l'extrait ED présente la plus faible teneur en flavonoïde des feuilles de *M. oleifera* (0,73 mg Eq. Q/g Ech.).

IV.2.3. Teneur en tanins condensés :

Les résultats des dosages des tanins condensés des feuilles (ED, M100%, M80%, M60%) et de l'huile des graines de *M. oleifera* sont représentés dans la figure suivante (Fig. 14).

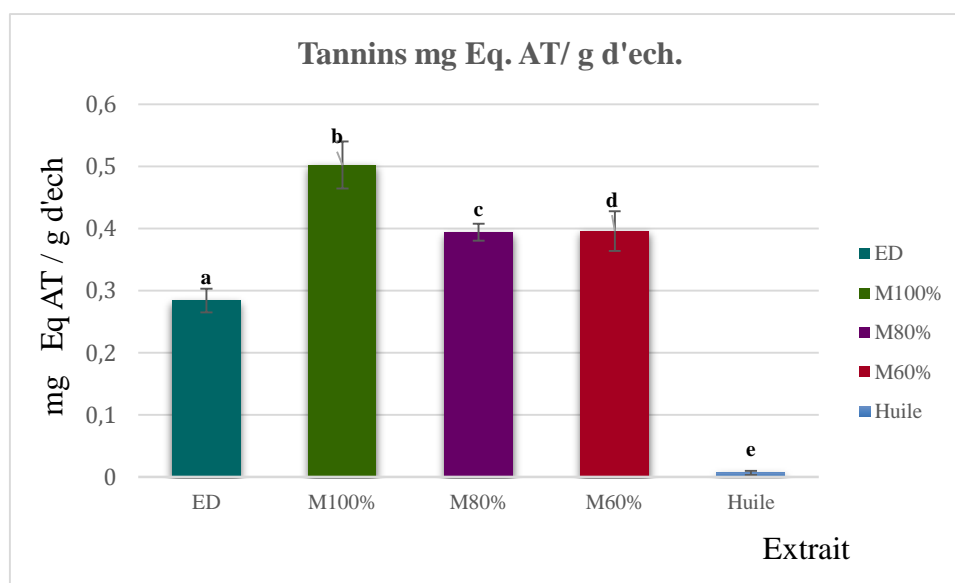


Fig. 14 : Teneurs en tanins des extraits de feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera*.

◇ Les lettres différentes indiquent que les résultats sont significativement différents ($p < 0,05$)

D'après l'histogramme (Fig. 14), le contenu en tannins est différent en fonction de l'échantillon (feuilles et graines) et du solvant d'extraction. La teneur la plus faible en tannins est enregistrée pour de l'huile des graines de *M. oleifera* (0,006 mg Eq ag / g Ech).

Les feuilles de *M. oleifera* ont été marquée par le contenu élevé en tannins : 0,2 à 0,5 Eq. TA/g Ech respectivement pour l'extrait ED et l'extrait M100%, la différence est significative ($p < 0,05$).

IV.2.4. Teneur en caroténoïde

Les résultats des dosages des caroténoïdes de la poudre de feuilles et de l'huile graines de *M. oleifera* sont représentés dans la figure suivante (Fig. 15).

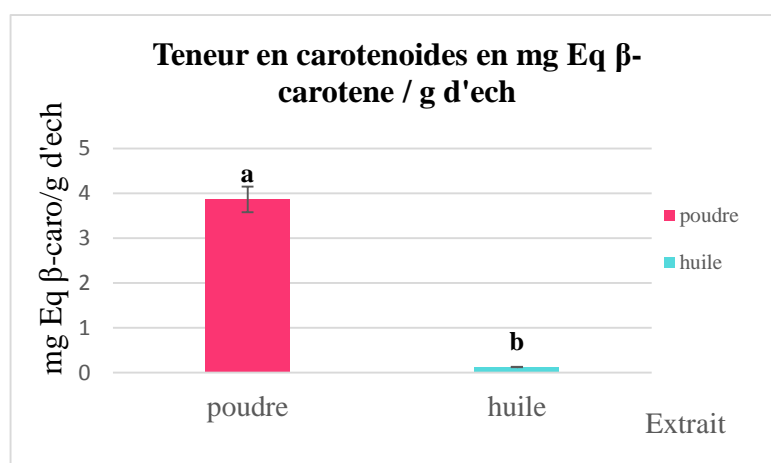


Fig. 15 : Teneur en caroténoïde de la poudre de feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera*.

◇ Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

D'après les résultats obtenus (Fig. 15), on remarque que la poudre de feuilles présente une teneur en caroténoïde nettement plus élevée (3,86 mg Eq β -carotène/g d'Ech) que l'huile des graines qui présente une teneur très faible (0,12 mg Eq β -carotène/g d'Ech), la différence est fortement significative ($p < 0,05$).

IV.2.5. Teneur en acide ascorbique :

Les résultats du test de vitamine C de la poudre de feuilles et de l'huile de *Moringa oleifera* sont présentés dans la figure suivante.

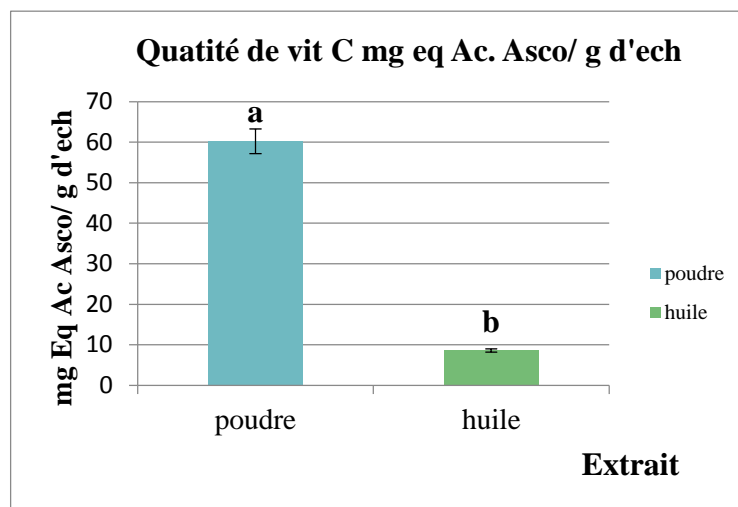


Fig. 16 : Teneur en vitamine C de la poudre de feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera*.

◊ Les valeurs suivies de différente lettre présente une différence significatif élevé ($p < 0.05$)

Les résultats illustrés (Fig. 16) montre que la poudre de feuille est nettement plus riche en vitamine C que l'huile des graines de *M. oleifera*, la différence est fortement significative ($p < 0,05$).

IV.3. Mise en évidence de quelques métabolites secondaires dans les extraits de feuilles :

Les différents tests appliqués aux différents extraits ont révélé la présence d'autres métabolites secondaires.

Le tableau II Résume les résultats du screening chimique des extraits de feuilles (M100%, M80%, M60% et ED) de *M. oleifera* qui nous a permis de mettre en évidence la présence ou l'absence dans chacun des extraits les quatre métabolites secondaires recherchés (les saponines, les alcaloïdes, les terpénoides et les tannins).

Tableau III: Résultat du screening chimique des extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

Extraits	Saponines	Alcaloïdes	Terpénoides	Tanins
(ED)	–	–	–	+
M100%	++	–	–	+
M80%	–	–	–	+
M60%	+	–	+	+

(+) : présence de composé (++) : Présence en abondance (-) : absence de composé

IV.3.1. Saponines :

La présence de Saponines est déterminée par la formation d'une mousse persistante. Les résultats illustrés par la figure suivante (Fig. 17) montrent que la quantité de la mousse est nettement plus importante dans l'extrait M100% des feuilles de *M. oleifera*. L'extrait M60% des feuilles renferme également une quantité non négligeable de saponines, cela est en relation avec la quantité de la mousse observée.

Les deux autres extraits de feuilles (M80% et ED) semblent ne pas contenir de saponines ou présence de saponines à des quantités très basses.

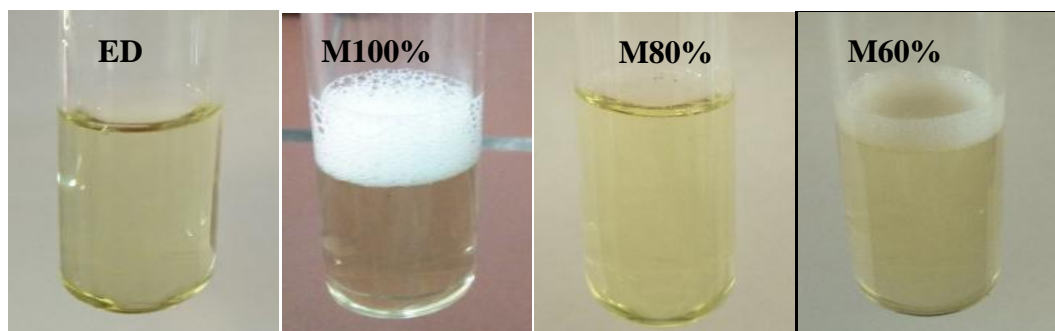


Fig. 17: Mise en évidence la présence des saponines dans les extraits de feuilles de *M. oleifera*.

IV.3.2. Alcaloïdes

La présence d'alcaloïdes est déterminée selon l'apparition ou non d'un anneau brun noir au niveau des extraits. Les résultats de cette étude (Fig. 18) montrent l'absence totale de formation d'anneau brun noir aux niveaux de tous les extraits de *M. oleifera*. Ce qui implique que les extraits de renferment pas d'alcaloïdes.

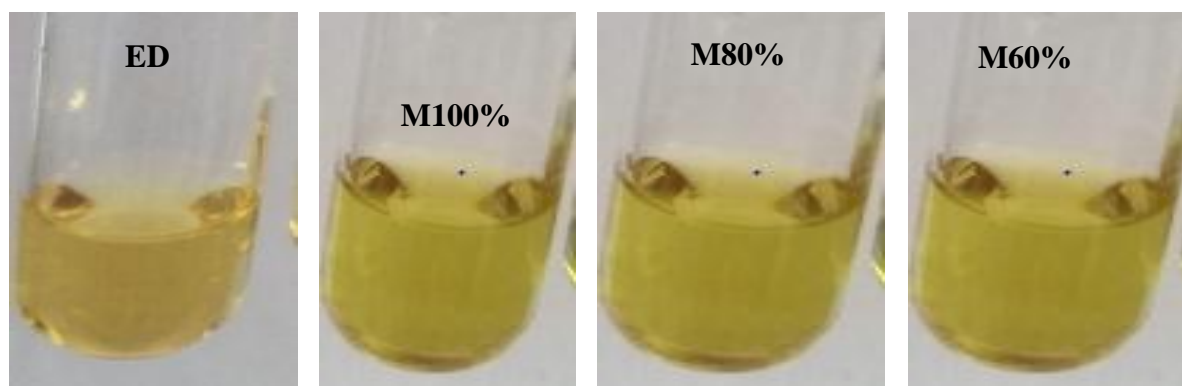


Fig. 18: Mise en évidence d'alkaloïdes dans les extraits de feuilles de *M. oleifera*.

IV.3.3. Terpènes

La présence de terpènes est déterminée par l'apparition d'un anneau brun-rouge à l'interface de l'extrait. Les résultats obtenus montrent l'apparition d'un anneau brun rouge à l'interface de l'extrait M60% (Fig. 19), traduisant ainsi la présence de Terpénoïdes solubilisés par notre solvant d'extraction.

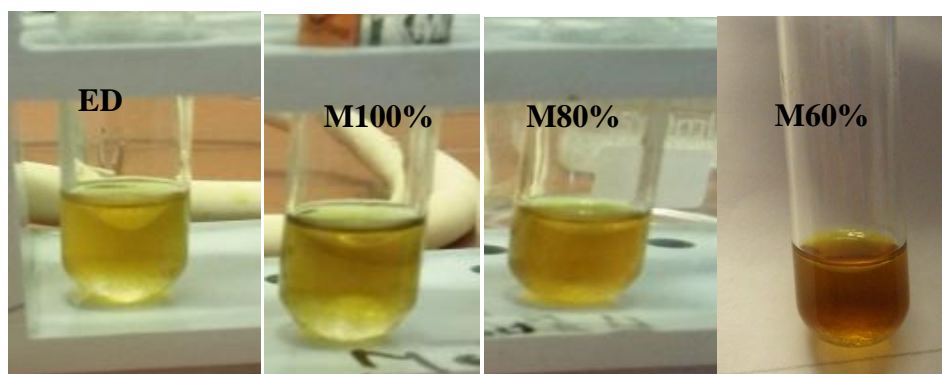


Fig. 19 : Mise en évidence des terpénoïdes dans les extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

IV.3.4. Tanins

La présence de tanins est déterminée par l'apparition d'une coloration vert-foncé dans les extraits. Les résultats obtenus (Fig. 20) montrent l'apparition de la coloration au niveau de tous les extrais, traduisant ainsi la présence de tanins catéchiques dans les extraits de feuilles de *M. oleifera*.

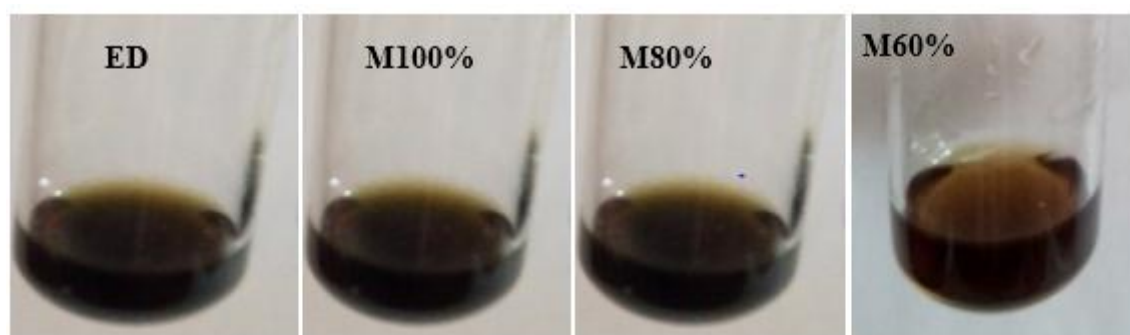


Fig. 20: Mise en évidence des tanins dans les différents extraits de feuilles de *M. oleifera*.

IV.4. Détermination de l'activité antioxydant

IV.4.1. Pouvoir réducteur

Les résultats du test du pouvoir réducteur des feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera* sont présentés dans la figure suivante (Fig. 21).

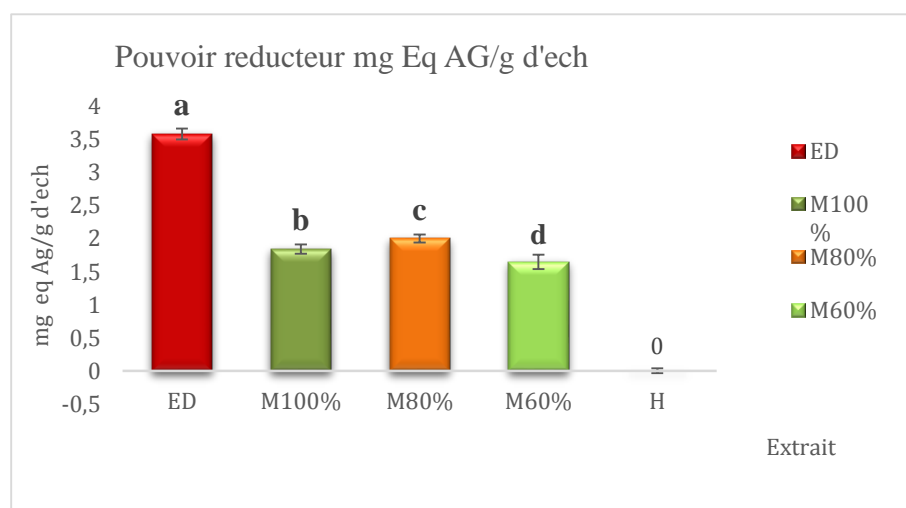


Fig. 21 : Pouvoir réducteur des extraits de feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera*.

◊ Les valeurs suivies de différente lettre révèlent une différence significatif élevé ($p < 0.05$)

Les résultats obtenus montrent une variabilité du pouvoir réducteur entre des différents extraits (solvants d'extraction) et entre les deux échantillons analysés (feuilles et graine), la différence est fortement significative ($p < 0,05$).

Les résultats illustrés (Fig. 21) montrent que l'extrait ED présente une meilleure activité réductrice de molybdate d'ammonium (3,5 Eq. Ag /g Ech.) par rapport aux extraits méthanoliques (M100%, M80% et M60%), tandis que l'huile des graines ne présente aucun pouvoir réducteur.

IV.4.2. Activité anti radicalaire :

La figure suivante présente les résultats de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits de feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera*.

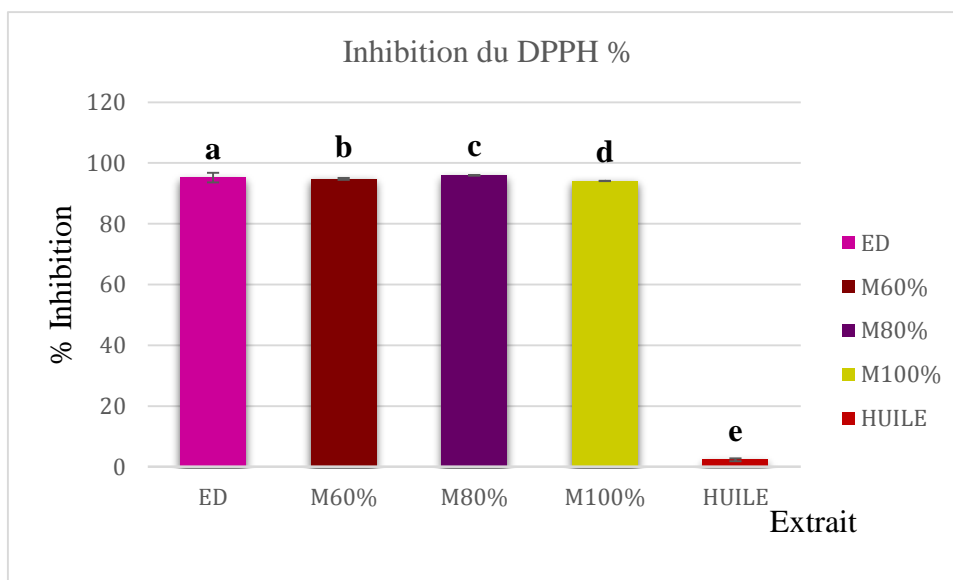


Fig. 22: Activité anti radicalaire (DPPH) des extraits de feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera*.

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

Les résultats (Fig. 22) montrent que l'activité anti radicalaire des extraits de feuilles est nettement plus importante que celles de l'huile des graines (2,31%) de *M. oleifera*, la différence est fortement significative.

On remarque également une différence significative entre les différents extraits de feuilles (M80% = 95,94%, M100% = 94,11%, M60% = 94,74, ED = 95,2%) de *M. oleifera* et que l'extrait M80% présente un potentiel DPPH plus élevé (95,94 %).

IV.5. Détermination de l'activité antibactérienne

IV.5.1. Pouvoir antibactérien des extraits de *M. oleifera*

La présente étude vise à montrer la présence ou l'absence d'une activité antibactérienne en présence des extraits de feuilles et l'extrait de l'huile des graines de *M. oleifera*. Les diamètres des zones d'inhibition obtenus sont enregistrés dans les tableaux IV, V et VI et leurs aspects sont montrés dans les figures 23 et 24.

Tableau IV : Activité antibactérienne des extraits de feuilles et l'huile de graines de *M. oleifera* sur *Pectobacterium carotovorum* (PCC).

PCC					
Concentrations des extraits	Extrait ED	Extrait M100%	Extrait M80%	Extrait M60%	Extrait Huile
C1 : 400mg/ml	16,25±0,353 ^C	13,60±0,577 ^{ab}	17,50±0,707 ^{abc}	17,50±0,707 ^{abc}	-
C2 : 200mg/ml	-	12,50±0,707 ^{abc}	12,50±0,707 ^{abc}	11,90± 0,141 ^{bc}	-
C3 : 100mg/ml	-	10,60±0,288 ^{bc}	-	12,25± 0,353 ^c	-
C4 : 50mg/ml	-	8,60± 1,154 ^a	-	15,50±0,500 ^{abc}	-
C5 : 25mg/ml	-	11,10±0,763 ^{abc}	-	10,50±0,500 ^{abc}	-
C6 : 12.5mg/ml	-	9,30± 0,577 ^a	-	15,50±0,500 ^{abc}	-

(-) : absence de zone d'inhibition

◊ Les valeurs portant les mêmes lettres ne diffèrent pas significativement ($P > 0,05$).

Tableau V : Activité antibactérienne des extraits de feuilles et l'huile de graines de *M. oleifera* sur *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

<i>S. aureus</i>					
Concentrations Des extraits	Extrait ED	Extrait M100%	Extrait M80%	Extrait M60%	Extrait Huile
C1 : 400mg/ml	15,50± 0,707 ^{cd}	-	10,60± 0,565 ^d	17,33± 0,565 ^d	-
C2 : 200mg/ml	6,66± 0,577 ^{ab}	-	10,66±0,577 ^{abc}	09,50±0,866 ^{bcd}	-
C3 : 100mg/ml	-	-	-	-	-
C4 : 50mg/ml	-	-	-	-	-
C5 : 25mg/ml	-	-	-	-	-
C6 : 12.5mg/ml	-	-	-	-	-

(-) : absence de zone d'inhibition

◇ Les valeurs portant les mêmes lettres ne diffèrent pas significativement (P>0,05).

Tableau VI : Activité antibactérienne des extraits de feuilles et l'huile de graines de *M. oleifera* sur *Pectobacterium atrosepticum* (*PCA*), *Dickeya solani* (*D. solani*) et *E. coli*.

<i>PCA, D. solani, E. coli</i>					
Concentrations Des extraits	Extrait ED	Extrait M100%	Extrait M80%	Extrait M60%	Extrait Huile
C1 : 400mg/ml	-	-	-	-	-
C2 : 200mg/ml	-	-	-	-	-
C3 : 100mg/ml	-	-	-	-	-
C4 : 50mg/ml	-	-	-	-	-
C5 : 25mg/ml	-	-	-	-	-
C6 : 12.5mg/ml	-	-	-	-	-

(-) : absence de zone d'inhibition

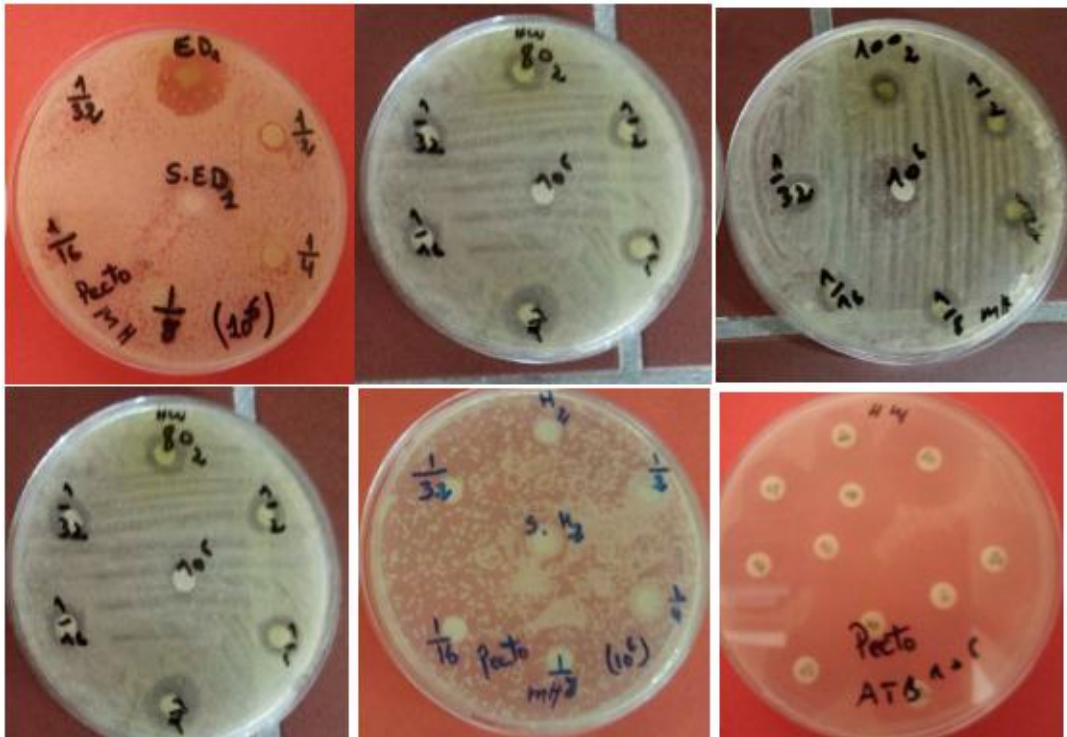


Fig. 23: Effet antibactérien des extraits de feuilles et de l'huile des graines de *Moringa oleifera* sur *P. carotovorum*.

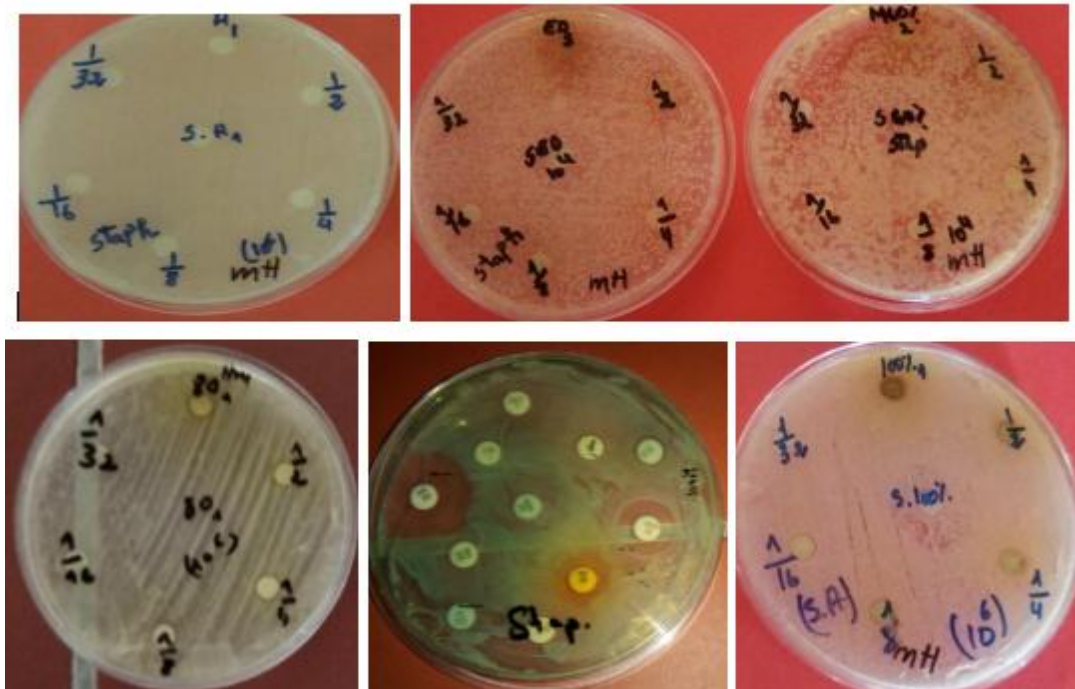


Fig. 24: Effet antibactérien des feuilles et de l'huile de graines de *Moringa oleifera* sur *S. aureus*.

Les résultats illustrés dans les figures 23 et 24, indiquent que les extraits de feuilles de *M. oleifera* testés manifestent des effets inhibiteurs vis-à-vis de *P. carotovorum* et *S. aureus* avec des zones d'inhibitions allant de 06,66 à 17,50 mm.

L'effet inhibiteur diffère d'un extrait à un autre (feuilles ou graines), en fonction de la concentration de l'extrait et du solvant d'extraction utilisé. L'huile des graines de *M. oleifera* ne présente aucun effet inhibiteur sur l'ensemble des bactéries testées.

PCC est plus sensible aux extraits de feuilles de *M. oleifera* (M100% et M60%), leur effet inhibiteur est signalé à partir de la concentration de 12,5mg/ml. L'extrait de feuilles de *M. oleifera* (M80%) inhibe la croissance de *PCC* à partir de la concentration de 200 mg/ml et suivi de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* (ED) qui inhibe la croissance de *PCC* de la dose de 400mg/ml. D'autre part les résultats illustrés dans le tableau III indiquent qu'à une concentration de 400mg/ml, tous les extraits testés possèdent une activité antibactérienne à l'égard de *PCC*. A cette même concentration l'effet inhibiteur le plus importante (17,5 mg/ml) est obtenu avec les extraits M80% et M60% des feuilles de *M. oleifera*.

Les extraits de feuilles de *M. oleifera* (ED, M80% et M60%) inhibent la croissance de *S. aureus* à partir de la concentration de 200mg/ml. L'extrait M100% ne présente aucun effet inhibiteur sur la bactérie.

Les extraits testés (Tableau VI) ne présente aucun effet inhibiteur sur la croissance des trois bactéries suivantes : *P. atrosepticum*, *D. solani* et *E. coli*.

IV.5.2. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Les antibiotiques utilisés comme produits de référence se caractérisent par leur forte activité inhibitrice de croissance sur les germes testés (Tableau VII),

Tableau VII: Antibiogramme

Bactéries	Type de bactéries	Références	Antibiogramme
<i>P. atrosepticum</i>	Gram-	CFBP 53.84	Sensible : céfalexin, chloramphénicol, doxycycline, ampicilline, céfotaxime, chloramphenicol, striméthoprine, céfotaxime. amikacin, augmentin,
<i>P. carotovorum</i>	Gram-	CFBP 88.22	Sensible : doxycycline, ampicilline, chlorophenicol, chloramphénicol, augmentin, céfalexin, amikacin, srimehoprine, céfixime, céfotaxime.
<i>D. solani</i>	Gram-	CFBP 8199	Sensible : céfotaxime, céfalexin, céfixime, strimethoprine. Intermédiaire : doxycycline Résistante : ampicilline, augmentin, chlorophénecol.
<i>E. coli</i>	Gram-	ATCC25922	Sensible : céfotaxime, ciprofloxacine, nitroxolline, amoxicilline, chloramphénicol. Résistante : ampicilline.
<i>S. aureus</i>	Gram+	ATCC29213	Sensible : gentamicine, rifampicine, amikacin. Résistante : vancomycine, érythromycine, céfalexin, spiramycine, amoxicilline, oxacilline, bactrim.

IV.5.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Les valeurs de CMI obtenues dans notre étude sont représentées dans le tableau VIII suivant.

Tableau VIII. Concentrations minimales inhibitrices des extraits de *M. oleifera*.

Bactéries	CMI (mg/ml)				
	ED	M100%	M80%	M60%	Huile
<i>PCC</i>	50	12,5	25	6,25	-
<i>S. aureus</i>	25	-	25	12,5	-

Les résultats obtenus (Tableau VIII) montrent que *PCC* (CFBP 88.22) est plus sensible aux extraits de feuilles de *M. oleifera*. La CMI la plus faible (6,25mg/ml) est enregistré avec l'extrait M60% et la CMI de 12,5mg/ml est enregistré avec l'extrait M100%. La plus grande CMI a été enregistré avec l'extrait ED (50mg/ml).

Concernant *S. aureus*, la plus faible CMI (12,5 mg/ml) a été enregistré avec l'extrait M60% de feuilles de *M. oleifera*. Les eux extraits M80% et ED de feuilles de *M. oleifera* présentent une même valeur de CMI (25 mg/ml) alors que pour l'extrait M100% aucun valeur de CMI n'a été trouvé.

L'huile des graines de *M. oleifera* ne présente aucun effet inhibiteur sur l'ensemble des bactéries testées, donc aucune CMI n'a été enregistrée.

IV.5.4. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)

Les valeurs de CMB obtenues sont représentées dans le tableau IX suivant.

Tableau IX: Concentrations minimales bactéricides des extraits de *M. oleifera*.

Bactéries	CMB (mg/ml)				
	ED	M100%	M80%	M60%	Huile
<i>PCC</i>	200	200	400	400	-
<i>S. aureus</i>	400	-	400	400	-

Il a été observé une diminution progressive de l'intensité du trouble induit par la croissance des bactéries au fur et à mesure que la concentration de l'extrait végétal augmentait.

PCC a été plus sensibles avec des valeurs de CMB égales à 200 mg/mL obtenues avec l'extrait de feuilles ED et M100% de *M. oleifera*. La plus grande valeur de CMB a été observée (**Tableau IX**) avec la souche *PCC* et *S. aureus* (400mg/ml).

IV.5.5. Les rapports CMB/CMI

Les résultats des calculs des rapports CMB/CMI sont représentés dans le tableau suivant (Tableau X). Le rapport CMB/CMI permet de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide d'un extrait de plante.

Tableau X: Paramètres antibactériens de l'extrait aqueux et leur interprétation

CMI (mg/ml)					
Bactéries	ED	M100%	M80%	M60%	Huile
<i>PCC</i>	50	12,5	25	6,25	-
<i>S. aureus</i>	25	-	25	12,5	-
CMB (mg/ml)					
Bactéries	ED	M100%	M80%	M60%	Huile
<i>PCC</i>	200	200	400	400	-
<i>S. aureus</i>	400	-	400	400	-
CMB/CMI (mg/ml)					
Bactéries	ED	M100%	M80%	M60%	huile
<i>PCC</i>	4	16	16	64	-
Effet	bactériostatique	bactériostatique	bactériostatique	bactériostatique	-
<i>S. aureus</i>	16	-	16	64	-
Effet	bactériostatique	-	bactériostatique	bactériostatique	-

Dans cette étude, les rapports CMB/CMI des extraits de feuilles de *M. oleifera* sont compris entre 4 et 64 pour les deux souches microbiennes (*PCC* et *S. aureus*). Les extraits de feuilles semblent donc exercer une action bactériostatique contre toutes les deux souches bactériennes de la présente étude.

Discussion générale

L'objectif principal de la présente étude consiste à déterminer la composition chimique des extraits de feuilles et de l'huile des graines de *Moringa oleifera*, et d'évaluer l'activité antioxydants et l'activité antimicrobienne de ses extraits.

Les résultats de la teneur en phénols solubles totaux des extraits indiquent que *M. oleifera* est riche en composés phénoliques. Les extraits de feuilles présentent des teneurs en PTS plus élevées (17,47 mg Eq. AG/g Ech.) par rapport à l'extrait de l'huile des graines (7,5 mg Eq AG/g Ech.). Selon les données de la littérature, les feuilles de *M. oleifera* sont connus pour être riches en composés phénoliques (**Kasoloetal., 2010 ; Moyo et al., 2011 ; Baba et al., 2015**).

Les teneurs en flavonoïdes de l'huile des graines et des feuilles de *M. oleifera* varient de 0,017 à 1,50 mg Eq Q/g Ech respectivement pour les graines et les feuilles. La teneur en flavonoïdes est nettement plus élevée dans les extraits de feuilles que dans l'extrait de l'huile des graines. **Makkar et Bakkar (1996)** indiquent que les feuilles de *M. oleifera* sont riches en flavonoïdes et que les résultats obtenus s'accordent avec ceux de **Charoensin (2014)**.

Les résultats des teneurs en tanins condensés indiquent que les extraits analysés sont faibles en tanins, l'extrait de l'huile des graines est très pauvre (0,006 mg Eq AT/g Ech). Le contenu en tannins différent en fonction de l'échantillon (feuilles et graines) et du solvant d'extraction. **Foidl et al. (2001)** révèlent que les feuilles fraîches de contiennent des quantités négligeables en tannins (1,4%), tandis que les tanins condensés sont indétectables. Ce qui explique la faible teneur en tanins des extraits de *M. oleifera* analysés dans la présente étude.

Les résultats des teneurs en composés phénoliques montrent que le système de solvant binaire (M60%, M80%) est plus performant et favorable pour l'extraction que le système de solvants purs (M100%). Les résultats s'accordent avec ceux de **Nawazet al. (2006)** et ceux de **Yang et Zhang (2008)**.

La variation de la concentration en composés phénoliques (phénols solubles totaux, flavonoïdes, tanins) dans les feuilles et les graines de *M. oleifera* dépend de plusieurs facteurs. En effet, Il a été démontré par plusieurs auteurs (**Miliauskas et al. 2004 ; Ebrahimi et al. 2008 ; Atanasova et Ribarova 2009, Tomas-Menor et al. 2013**) que la composition phytochimique des plantes dépend de plusieurs variables telles que l'âge de la plante, la saison de la récolte, la partie récoltée et les conditions climatiques. En plus de ces facteurs de variabilité, il s'ajoute l'effet de la méthode de préparation des feuilles et des techniques d'analyses des composés phénoliques.

Les résultats obtenus rapporte que la poudre de feuilles présente des teneurs en caroténoïde et en acide ascorbique nettement plus élevés que l'huile des graines qui présente une teneur très faible, la différence est fortement significative ($p < 0,05$). Les feuilles de *M. oleifera* ont été signalées comme étant une riche source en β -carotène et en vitamine C (**Dillard et German., 2000 ; Siddhuraju et Becker, 2003**). **Fuglie et al. (2005)** et **Olagbemide et al. (2014)** rapportent que les feuilles de *M. oleifera* sont plus riches en vitamine C que les graines, cela est probablement du a la différence géographique et au climatique.

Les résultats de la mise en évidence d'autres métabolites secondaires : saponines, alcaloïdes et terpénoïdes indiquent que les extraits de feuilles de *M. oleifera* renferment les saponines et des terpénoïdes et absence de caroténoïdes. Les résultats sont en accord avec ceux de la bibliographie (**Foidlet al., 2001; Sreelatha et Padma, 2009 ; Kumbhare et al., 2012 et Alhakmani et al., 2013**).

L'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de feuilles et de l'huile de graines de *M. oleifera* révèle un potentiel antioxydant important marqué par l'extrait ED des feuilles par rapport aux extraits méthanoliques des feuilles et l'extrait de l'huile des graines. Les résultats de l'étude de l'activité anti-radicalaire du DPPH révèlent que tous les extraits de feuilles (ED, M100%, M80%, M60%) possèdent un potentiel antioxydant important par rapport à l'extrait de l'huile des graines. Cette variation est en relation avec le solvant d'extraction. **Kumbhare et al. (2012)** signalent que l'extrait méthanolique montre une activité anti-radicalaire du DPPH plus importante que l'extrait au chloroforme et l'extrait à éther de pétrole.

Les résultats de l'activité antioxydante (inhibition de DPPH et pouvoir réducteur) des extraits de feuilles et de l'huile de graines de *M. oleifera* sont en accord avec les résultats obtenus par **Nisha et al. (2009)** et par **Wang et al. (2009)**. L'évaluation de l'activité antioxydants des extraits de feuilles de *M. oleifera* révèle un potentiel antioxydant important, les résultats sont en accord avec les données de la littérature. *M. oleifera* est en effet connue pour son pouvoir antioxydant et son intérêt dans la lutte contre les radicaux libres (**Dell'Agli et al., 2004 ; Sumathy et al., 2013**). **Chumark et al. (2008)** et **Verma et al. (2009)** rapportent que les extraits de feuilles de *M. oleifera* présentent *in vivo* et *in vitro* une forte activité antioxydant. Ce qui est attribué à l'apport en composés phénoliques contenu dans les extraits de feuilles de *M. oleifera*. Les feuilles de moringa sont plus riche en composés antioxydants tels que : l'acide ascorbique, les flavonoïdes, les composés phénoliques et les caroténoïdes et présente une activité anti-radicalaire DPPH et un pouvoirs réducteur supérieure à celui des graines (**Dillard et German., 2000 ; Foidl et al., 2001 ; Siddhuraju et Becker, 2003**).

Le test antibactérien réalisé avec les extraits montre que la susceptibilité des souches microbiennes varie d'une souche à une autre en fonction du type d'extrait. De même, les résultats diffèrent selon les concentrations en extraits utilisés. En effet, la quasi totalité des extraits testés à une dose initiale de 12,5mg/ml n'ont eu aucun effet inhibiteur sur les souches testées sauf sur *P. carotovorum* (*PCC*) ou un effet inhibiteur a été observé avec les extraits de feuilles (M100% et M60%). Pour cette raison, les concentrations ont été prises à la hausse dans l'ordre 25 mg/ml ; 50 mg/ml ; 100 mg/ml ; 200 mg/ml et 400 mg/ml.

Les résultats montrent que ces extraits sont actifs sur la souche de *P. carotovorum* (*PCC*) à différentes concentrations surtout les extraits M60% et M80%. Cependant, les diamètres des zones d'inhibition produits par la concentration de 400 mg/ml sont supérieurs à ceux obtenus avec les autres concentrations des extraits. Les extraits de feuilles (ED, M80%, M60%) sont actifs contre la souche de *S. aureus* avec les concentrations de 200 et 400 mg/ml.

Aucune zone d'inhibition n'as été observé à l'égare des autres bactéries (*E. coli*, *P. atrosepticum* et *D. solani*) et à différentes concentrations. Résultats comparé à l'extrait de l'huile des graines qui ne présente aucun effet inhibiteur.

Les essais antimicrobiens effectués dans le cadre de la présente étude ont mis en évidence une activité inhibitrice de croissance des extraits des feuilles de *M. oleifera* sur uniquement deux bactéries (*PCC* et *S. aureus*) sur les cinq testés. Cette activité inhibitrice de croissance est une illustration de la sensibilité des germes étudiés vis-à-vis des extraits testés. Par ailleurs, cette sensibilité varie d'une souche bactérienne à l'autre au regard des CMI déterminées. La souche la plus sensible est celle qui présente les CMI les plus basses, toute chose qui permet de faire une classification par ordre de sensibilité croissante selon la CMI : *PCC* (CMI = 6,25 mg/ml) pour l'extrait M60%, c'est avéré la plus sensible, suivie par *PCC* (CMI = 12,5 mg/ml) pour l'extrait M100% et *S. aureus* (CMI = 12,5 mg/ml) pour l'extrait M60%, suivie par *PCC* (CMI = 25 mg/ml) pour l'extrait M80% et *S. aureus* (CMI = 25 mg/ml) pour les deux extraits ED et M60%, suivie *PCC* (CMI = 50 mg/ml) pour l'extrait ED.

D'après nos résultats et selon cette classification, le rapport CMB/CMI de tous nos extraits est supérieur à 4 ce qui leur confère un pouvoir bactériostatique. **Eberlin (1994)** rapporte que lorsque ce rapport est inférieur à 4 l'extrait est considéré comme bactéricide.

L'activité antibactérienne des composés phénoliques est bien connue. Celle-ci, rapportée par plusieurs auteurs (**Cowan 1999 ; Okuda et al., 2005 ; Taguri et al., 2006**). Certains auteurs ont noté que l'activité antibactérienne des composés phénoliques est probablement due à leur habilité à se combiner aux protéines solubles extracellulaires et ainsi aux parois cellulaires bactériennes (**Tsuchiya et al., 1996**). L'absence d'inhibition est probablement due aux faibles teneurs en flavonoïdes et en tanins de nos extraits.

Conclusion générale et perspective

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs. L'objectif de ce travail consiste à la caractérisation phytochimique des feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera*, la valorisation et la détermination des activités biologiques (activité antioxydant et activité antimicrobienne) des extraits actifs *vis-à-vis* de deux bactéries pathogènes (*E. coli* et *S. aureus*) et trois bactéries phytopathogènes (*D. solani*, *P. atrosepticum* et *P. carotovorum*).

L'extraction est l'étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préserve leurs propriétés biologiques. Dans cette étude, il ressort que le système de solvant binaire (M60%, M80%) est plus performant et favorable pour l'extraction que le système de solvants purs (M100% et ED).

Les résultats obtenus indiquent que les extraits de feuilles sont plus riches en PTS, en flavonoïdes, en tanins condensés, en caroténoïde et vitamine C par rapport à l'extrait de l'huile des graines de *M. oleifera*.

Les différents tests de mise en évidence réalisés sur les feuilles de *M. oleifera* ont révélées la présence d'autres métabolites secondaires tels que les saponines, les tanins, et les terpénoïdes. Alors que les alcaloïdes n'ont pas été délectés dans l'ensemble des extraits.

Les teneurs en métabolites secondaires diffèrent entre la poudre de feuille et l'huile, et ceci peut être due aux plusieurs facteurs tels que : mode de séchage, mode de conservation et l'âge de la plante.

L'activité antioxydant (DPPH, pouvoir réducteur) des extraits a été déterminée et les résultats montrent que les extraits de feuilles révèlent de fortes activités par rapport à l'extrait de l'huile des graines.

L'étude biologique montre que le pouvoir antibactérien diffère d'un extrait à l'autre. L'évaluation de l'activité antibactérienne par la détermination des CMI et des CMB montre que les souches *E. coli*, *D. solani* et *P. atrosepticum* sont résistantes à l'ensemble des extraits de feuilles testés (ED, M100%, M80%, M60%) et même à l'extrait de l'huile des graines de *M. oleifera*. *Staphylococcus aureus* et *P. carotovorum* sont plus sensibles au extrait (ED, M100%, M80%, M60%) des feuilles à différentes concentrations mais elles sont résistantes à l'extrait de l'huile de *M. oleifera*.

En perspective, plusieurs travaux peuvent être envisagés dans la continuité des travaux entamés :

- ◇ Elargir le cadre de l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques par l'utilisation d'autres méthodes d'extraction et d'autres parties de plante avec l'étude de l'effet des autres paramètres.
- ◇ Identification des principes actifs responsables de activités biologiques, avec la détermination des conditions optimales pour l'extraction de ces principes actifs.
- ◇ Elargir le panel des activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques.

Référence bibliographique

A

Aberra M., Workinesh T. and 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.

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

Anonyme 1: www.treesforlife.org

Anonyme 2 : www.moringa news.org

Anonyme 2015 : American Society of Health – System Pharmacists. Retrieved Sep 4, 2015.

Atakpama W., Kponor E.G.E., Kanda M., Dourma M., Nare M., Batawila K. and Akpagana K. (2014). *Moringa oleifera* Lamarck (*Moringaceae*) : une ressource phylogénétique à usage multiple. *Rev. Cames SVT-A 2* (1): 6-14.

Aziman N., Abdullah N., Noor Z.M., Zulkifli K. S. and Kamarudin W.S.S.W. (2012). Phytochemical constituents and *in vitro* bioactivity of ethanolic aromatic herb extracts. *Sains Malays.* 41(11): 1437-1444.

B

Baba,M. D., Yakubu, G. Yelwa, J.M. and Haruna L. (2015). Costs and Returns of *Moringa (Moringa oleifera)* Production in Zuru Local Government Area of Kebbi State, Nigeria. *New York Sci. J.* 8(1): 36-40.

Bahorum T. (1997). Substances Naturelles actives : La flore Mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. *Food Agric. Res.* 83-94.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C, Dine T., Locks M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. and pinkas M (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimtte-Forschung/ Drug Res.* 46 (11): 1086-1108.

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

Bansmir A., Blum M., Schröder S. and Lindequist U. (2006). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquacul.* 252 : 79-84.

- Basli A., Chibane M., Madani K. and Oukil N. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytother.* 10 (1) : 2-9.
- Baydar H., Sađdic,O., Ozkan G., Karadođan T. (2004).** Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control.* 15:169-172.
- Benkrief R. (1990).** Inventaire ethnobotanique des plantes médicinales de l'Est algérien: étude chimique de " Hammada articulata"(Moquin) Iljin ssp. scoparia Pomel. Etude chimique de 3 plantes néo-calédonniennes à monoterpénoïdes. *Thèse doc. Pharmacognosie. Univ. Paris Descartes, Paris 5.* France.
- Bennett R.N., Mellon F.A., Foidl N., et Pratt, J. H., Dupoint, S. M., Perkins, L., & Kroon, P. A. (2003).** Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L (horseradish tree) and *Moringa stenopetala* L. *J. Agric. Food Chem.* 51: 3546-3553.
- Bors W., Michel C. and Stettmaier K. (1997).** Antioxidant effects of flavonoids. *Biofactors.* 6(4): 399-402.
- Bougatef A., Hajji M., Balti R., Lassoued I., Triki-Ellouz Y. and Nasri M. (2009).** Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chem.* **114** (4): 1198-1205.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E. and Berset C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* 28: 25-30.
- Broin, M. (2005).** Composition nutritionnelle des feuilles de *Moringa oleifera*. *Moringa news.* <http://www.moringanews.org>.

C

- Caquet R. (2004).** 250 Examens de laboratoire : Prescription et interprétation. *Ed. Masson. Paris.* 453p.
- Cerf M.E. (2013).** Beta cell dysfunction and insulin resistance, *Front. Endocrinol.* 4. 1-12.
- Charoensin S. (2014).** Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. *J. Med. Plant Res.,* 8(7): 318-325.

Cheenpracha S., Park E-J., Yoshida W. Y., Barit C., Wall M., Pezzuto J. M. and Chang L. C. (2010). Potential anti-inflammatory phenolic glycosides from the medicinal plant *Moringa oleifera* fruits. *Bioorg. Med. Chem.* 18: 6598-6602.

Chumark P., Khunawat P., Sanvarinda Y. Phornchirasilp, S., Morales, P. N., Phivthong-ngam, L., Ratanachamnong, P., Srisawat, S., & Pongrapeeporn, K. S. (2008). The in-vitro and in-vivo antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves. *J Ethnopharm.* 116:439-446.

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

Coppin JP, Xu Y, Chen H. Pan M-H., Ho C-T., Juliani R and Simon T.E. (2013). Determination of flavonoids by LC/MS and anti-inflammatory activity in *Moringa oleifera*. *J. Funct. Food.* 5:1892-1899.

Creighton W. (2001) . Production de graines de *Moringa oleifera* en Tanzanie. Optima of Africa Limited, 5p. Disponible sur <http://www.moringanews.org>.

D

De Saint Sauveur A. and Broin, M. (2010). Produire et transformer les feuilles de Moringa. *Moringanews / Moringa Association of Ghana.* CDE, CTA. 36 p.

De Saint Saveure A. and Broin M. (2006). L'utilisation des feuille de *Moringa oleifera* contre les carences alimentaires : un potentiel encore peu valorisé. Moringa et autres végétaux à fort potentiel nutritionnel : Stratégies, normes et marchés pour un meilleur impact sur la nutrition en Afrique. *Accra, Ghana, 16-18 novembre 2006.*

Delpha I. (2011). Moringa (*Moringa oleifera* Lam.). Utilisations actuelles et intérêt pharmacologique. Thèse d'exercice pharmacie. Univ. Paul Sabatier Toulouse 3. 232 p.

Djeridane M., Yousfi M., Nadjema B., Boutassouna D., Stocher P. and Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97 .

E

Éberlin T (1994). Les antibiotiques Classification, mode d'action, utilisation thérapeutique. Nathan. Paris. 88p.

Erdman J.W., Balentine D., Arab L., Beecher G., Dwyer J.T., Folts J., Harnhy J., Hollman P., Keen C.L., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrow J. (2007). Flavonoïds and Heart Health: proceeding of the ILSI North America Flavonoïds Work shop, May 31 June 1, 2005, Washington DC1-4. *Am. Soc. Nutr.* 718-737.

F

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

Farooq F., Rai M., Tiwari A., Khan AA., Farooq S. (2012). Medicinal properties of *Moringa oleifera*: an overview of promising healer. *J Med Plants Res.* 6: 4368-4374.

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

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

Georgewill O.A., Georgewill U.O., Nwankwoala R.N.P. (2010). Antiinflammatory effects of *Moringa oleifera* lam extract in rats. *Asian. Pac. J. Trop. Med.* 3(2): 133-135.

Gnangle P. C., Glele kakai R., Oumorou M., N'djolosse K., Bonou W., et Sokpon N. (2010). Tests de croissance de jeunes plants de Néré (*Parkia biglobosa*, Jack, R. Br.) en pépinière. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 4 (6): 1939-1952.

Guillon, Y. (2010). Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula*: aspects évolutifs et physiologiques, Université Jean Monnet-Saint-Etienne.

H

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

Hedji C., Gangbazo D.N.S.K., Houinato M.R. and Fiogbén E.D. (2014). Valorisation de *Azolla spp.*, *Moringa oleifera*, sonderiz et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale : synthèse bibliographique. *J. Appl. Biosci.*, 81 : 7277-7289.

J

Jaiswal D., Kumar Rai P., Kumar A., Mehta, S., Watal,G . (2009). Effect of *Moringa oleifera* Lam. leaves aqueous extracts therapy on hyperglycemic rats. *J. Ethnopharmacol.* 123:392-396.

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.

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

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

Kasolo 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. *J. med. plant Res.* 4(9) : 753-757.

Kooltheat N., Sranujit R. P., Chumark P., Potup P., Laytragoon-Lewin N. and Usuwanthim K. (2014). An ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* Lam. inhibits human macrophage cytokine production induced by cigarette smoke. *Nutrients*, 6 (2) : 697-710.

Kpemissi A.E. (2007). Les anacardiaceae du togo : Etudes botaniques, Ecologiques et propriétés antifongiques. Thèse Doc. Univ. Reims Champagne-Ardenne et Univ. Lomé Togo. 142p.

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*pan troglodytes schweinfurthii*) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. *Thèse Doc. Ecologie et Chimie des substances naturelles. Muséum National d'Histoire Naturelle.* MNHN Paris. France. 346p.

Kumbhare 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

Laleye O.A.F., Ahissou H., Olounlade Ap., Azando E.V.B and Laleye A. (2015). Etude bibliographique de trois plantes antidiabétique de la flore béninoise : *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (*Meliaceae*), *Momordica charantia* Linn (*cucurbitaceae*) et *Moringa oleifera* Lam (*Moringaceae*). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 9 (5): 2682-2700.

Lamaison J.L. and Carnat A. (1990). Teneurs en principaux flavonoides des fleurs et des feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq. et de *Crataegus laevigata* (Poiret) DC en fonction de la végétation. *Pl. Med. Phytother.* 25: 12-16.

Lea M., (2010). Bioremediation of Turbid Surface Water Using Seed Extract from *Moringa oleifera* Lam. (Drumstick) Tree. *Curr. Protoc. Microbiol.* Tome 1. Chapitre 1: Unit1G.2.

Levasseur-Garcia C., Kleiber D., Surel O., (2013). Utilisation de la spectroscopie infrarouge comme élément d'aide à la décision pour la gestion du risque fongique et mycotoxique. *Cah. Agric.* 22 : 216-27.

M

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

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

- Mangambu M., Mushagalusa K., and Kadima N. (2014).** Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, RD Congo). *J. Appl. Bios.* 75(1), 6211-6220.
- Mates, J. (2000).** Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicol.* 153(1), 83-104.
- Mbikay M. (2012).** Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: a review. *Front Pharmacol* 3:24.
- Mehta L.K., Balaraman R., Amin A.H., Bafna P.A. and Gulati O.D. (2003).** Effect of fruits of *Moringa oleifera* on the lipid profile of normal and hypercholesterolaemic rabbits. *J. Ethnopharmacol.* 86: 191–195.
- Merzougui I. and Tadj H. (2015).** Etude de l'effet antibactérien et antioxydant d'*Ammoides verticillata* de la région de Tlemcen. *Mém. Ingén. Agro. univ. Abou-Bakr Belkaïd – Tlemcen.* 82p.
- Meyer A., Deiana J. and Leclerc H. (1994).** Cours de Microbiologie générale. Biosciences et techniques. *Ed. Doin. Paris.* 365p.
- Meziani S., Oomah B.D., Zaidi F., Simon-Levert A., Bertrand C., Zaidi-Yahiaoui R. (2015).** Antibacterial activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extracts against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium atrosepticum*. *Microb. Pathog.* 78. 95-102.
- Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques, Université Louis pasteur (Strasbourg).
- Miliauskas G., Venskutonis P.R. and Van Beek T.A. 2004.** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry,* 85, 231–237.
- Mole S. and Waterman P.G. (2001).** A critical analysis of technique for measuring tanins in ecological studies II. Technique for biochemically defining tannins. *Oecologia.* 72: 148-156.
- Montoro P., Braca A., Pizza C. and De Tommasi N. (2005).** Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chem.* 92(2) : 349-355.
- Moyo B., Masika P.J., Hugo A., Muchenje V. (2011).** Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Afr. J. Biotech,*10(60) : 12925-12933.

Muniz M.N. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)- camptothécine. *Thèse Doc. Chem. Univ. Joseph Fourier.* Grenoble 1. France. 186p.

Muthu C., Ayyanar M., Raja N. and Ignacimuthu S. (2006). Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu. *India. J. Ethnobiol. Ethnomed.* 2: 43p.

N

Nacz M. and Shahidi F. (1989). The effect of methanol–ammonia– water treatment on the content of phenolic acids of canola. *Food Chem.* 31: 159-164.

Nawaz H., Shi J., Mittal G.S. and Kakuda Y. (2006). Extraction of polyphénols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Sep. Purif. Technol.* 48(2): 176-181.

Nickon F., Saud Z.A., Rehman M.H. and Haque M.E. (2003). *In-vitro* antimicrobial activity of the compound isolated from chloroform extract of *M. oleifera* Lam. *Pak. J. Biol. Sci.* 22: 1888-1890

Nisha, P., Abdul Nazar P. and Jayamurthy P. (2009). A comparative study on antioxidant activities of different varieties of *Solanum melongena*. *Food Chem. Toxicol.* 47: 2640-2644.

Nweze N.O. and Nwafor F.I. (2014). Phytochemical, Proximate and Mineral Composition of Leaf Extracts of *Moringa oleifera* Lam. From Nsukka, South-Eastern Nigeria. *IOSR J. Pharm. Biol. Sci. (IOSR-JPBS).* 9: 99-103.

O

Okuda, T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochem.* 66(17) : 2012-2031.

Olson M.E. and Carlquist S. (2008). Stem and root anatomical correlations with life form diversity, ecology, and systematics in *Moringa* (Moringaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 135 (4) : 315-348.

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

Othman A.S. and Ahmed N.A. (2017). Antibacterial effect of the ethanol leaves extract of *Moringa oleifera* and *Camellia sinensis* against multi drug resistant bacteria. *Int. J. Pharmacol.* 13 (2) : 156-165.

P

Pal S.K., Mukherjee P.K. and Saha B.P. (1995). Studies on the antiulcer activity of *M. oleifera* leaf extract on gastric ulcer models in rats. *Phytother. Res.* 9: 463-465.

Pamo Tendonkeng E.T., Boukila B., Tendonkeng F., Kana J.R., Tonfack L.B. and Momo M.C.S. (2002). Influence de la fumure organique, du NPK et du mélange des deux fertilisants sur la croissance de *Moringa oleifera* Lam. Dans l'Ouest Cameroun. 1-3.

Peixoto J.R., Silva G.C., Costa R.A., De Sousa Fontenelle J.L., Vieira G.H., Filho A.A. and Dos Fernandes Vieira R.H. (2011). *In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic Moringa leaf extracts. *Asian Pac. J. Trop. Med.* : 201-204.

Popovici C., Saykova I. and Tylkowski B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie Industriel.* (4) : 25-39.

R

Raven P.H., Evert R.F. and Eichhorn S. (2003). Biologie végétale. Ed. 3 De Boeck Paris. 968 p.

Reda F., Borjac J., Fakhouri R. and Usta J. (2017). Cytotoxic effect of *Moringa oleifera* on colon cancer cell lines. *Acta hortic.* 269-279.

Ribereau-Gayon P. (1968). Notion générale sur les composés phénoliques. Ed. Dunod. 254p.

Roloff A., Weisgerber H., Lang U. and Stimm B. (2009). *Moringa oleifera* Lam., 1785. Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch and Atlas der Dendrologie. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. *Enzyklopädie der Holzgewächse - 40. Erg.Lfg. 6/05.* 8p.

Rouessac F. and Rouessac A. (2004). Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes, Ed. 6 Dunod. Paris. 453p.

S

Santoyo S, Rodríguez-Meizoso I., Cifuentes A., Jaime L., García-Blairsy Reina G., Señorans F.J. and Ibáñez E. (2009). Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. *LWT - Food Sci. Technol.* 42, 1213-1218.

Sass-Kiss A., Kiss J., Milotay P., Kerek M.M. and Toth-Markus M. (2005). Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Res. Int.* 38: 1023-1029.

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

Singh K. and Tafid GM. (2013). Antibacterial activity of *Moringa oleifera* (lam) leaves extracts against some selected bacteria. *Int j pharm pharm sci.* 6 (9) : 52-54.

Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A., Simonič M. and Knez Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activity. *Food Chem.* 89: 191-198.

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

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

Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. and Stöckigt D. (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *J. Chromatogr A.* 967: 85-113.

Sumathy R., Sankaranarayanan S., Bama P., Ramachandran J., Vijayalakshmi M. and Deecaraman M. (2013). Antibacterial & antioxidant activity of flavanoid rich fraction from the petals of *cassia auriculata*—an in-vitro study. *Int. J. Pharm. Sci.* 5(3) : 492-497.

T

Taguri T., Tanaka T. and Kouno I. (2006). Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biol. Pharmacol Bull.* 29 Suppl. 11: 2226-2235.

Tahir Mahmood K. and MugalTandHaq I.U. (2010). *Moringa oleifera*: a natural gift-A review. *J. Pharm. Sci. Res.* 2 (11): 775-781.

Tapiero H., Tew K.D., Ba G. N. and Mathe G. (2002). Polyphenols: Do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomed. Pharmacoth.*, 56 : 200-207

Toty A.A., Guessennd N., Bahi C., KRA A.M, Otokore D.A. and Dosso M. (2013). évaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bull. Soc. Royal. Sci. Liège.* 82 : 12-21.

V

Vandepitte J., Engbaek K. and Piot P. (1994). Bactériologie Clinique: Techniques de Base pour le Laboratoire. *Organisation Mondiale de la Santé : Genève.* 117p.

Verma A.R., Vijayakumar M., Mathela C.S., Rao C.V. (2009). *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food Chem. Toxicol.* (47): 2196–2201.

Verykokidou-Vitsaropoulou E. and Vajias C. (1986). "Methylated flavones from *Teucrium polium*. *Planta Med.* 52 (05) : 401-402.

W

Wang H., Ullah M.M., Klaser A., Laptev I. and Schmid C. (2009). Evaluation of local spatio-temporal features for action recognition. Presented at BMVC 2009-*British Machine Vision Conference.*

X

Xiuzhen H., Shen T. and Hongxiang L. (2007). Dietary polyphénols and their biological significance. *Inter. J. Mol. Sci.* 8: 950-988.

Y

Yadav R. and Agawala M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *J. Phytol.* 3 (12) : 10-14.

Yang Y. and Zhang F. (2008). Ultrasound-assisted extraction of rutin and quercetin from *Euonymus Alatus* (Thumb.) Sieb. *Ultrasonics Sonochemistry.* 15(4): 308-313.

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

Z

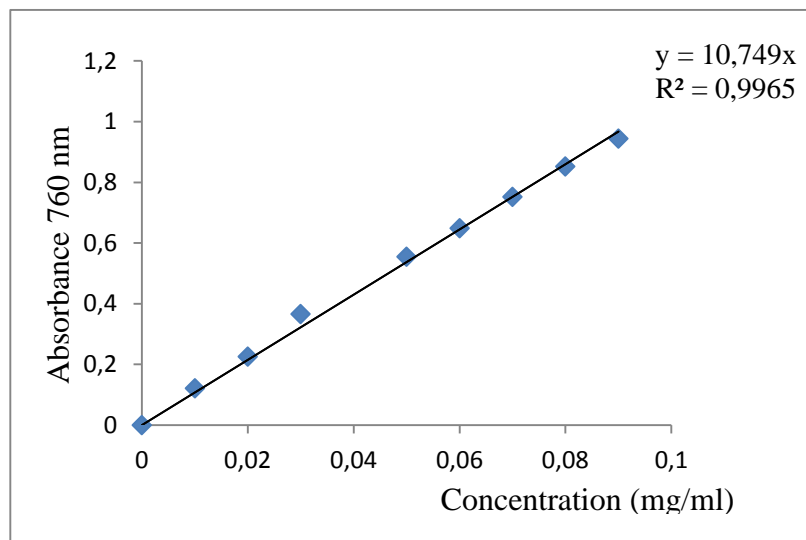
Zenk M.H. and Juenger M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compound. *Phytochem. Rev.* 68 : 2757-2772.

Annexe I : Annexe des préparations des solutions.

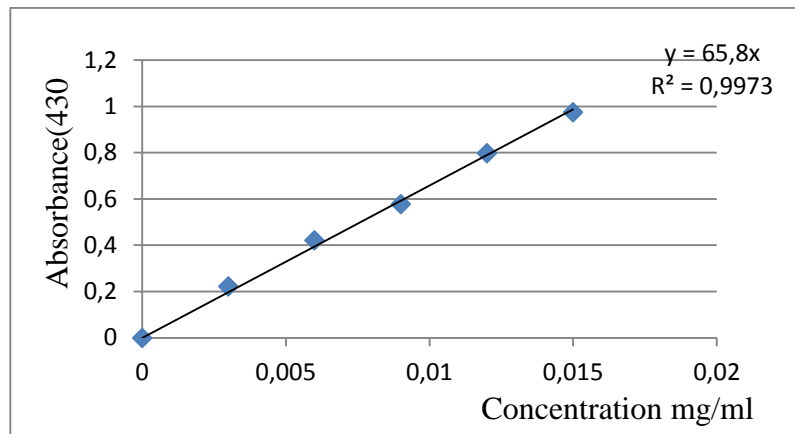
Solutions	Réactifs
Folin ciocalteau 1/10	10 ml de Folin ciocalteau à +90ml d'eau distillée
Tampon Acétate (0,2M acide acétique et 0,17M NaCl)	11.4 ml D'acide acétique +9.86 g NaCl +800ml eau distillé le pH est ajusté à 4.9 avec NaOH (4N) le volume est ajusté à 1L avec l'eau distillée.
HCl (0,01M)	0.085ml d'HCl 36% est ajusté à 1litre avec d'eau distillée.
Carbonate de sodium 75g/l	Dissoudre 7.5g de Na ₂ CO ₃ dans 100 ml d'eau distillé
FeCl₂ à 2mM	0,025g de FeCl ₂ .2H ₂ O dans 100ml d'eau distillé
Solution DPPH (65µM/l)	0,0024 g DPPH dans 100 ml méthanol pur. 800nm<Abs DPPH à 517nm<900nm
Tampon phosphate (0,2M, pH 6,6)	1,7 g de KH ₂ PO ₄ (acide) dans 250 ml d'eau distillée 2,7175g de K ₂ HPO ₄ (basique) dans 250ml d'eau distillée La solution acide est ajoutée avec la solution basique jusqu'à l'obtention d'un pH 6,6
Chlorure ferrique (FeCl₃) à 0,1%	0.1g de FeCl ₃ dans 100 ml d'eau distillée.
Acide sulfurique (H₂SO₄) à 0.255N	7ml H ₂ SO ₄ 96-98% ajustés à 1000ml avec l'eau distillée.La solution est ajustée jusqu'à l'obtention d'un PH6.75
Réactif vanilline HCl	Ça préparation est faite juste avant utilisation en mélangeant à volume équivalant la solution de vanilline à 5,8% et la solution d'HCl 24%.
Réactif de Bouchardat	2g d'iode bisublimé (I ₂) + 2 g de KI dans 100ml d'eau distillée.
Méthanol 80%	100ml du méthanol pure + 28.59 ml d'eau distillée
Solution de NaOH 1N	NaOH ajusté a 100 ml d'eau distillée.
Chlorure ferrique (Fe Cl₃) à 2%	2g (Fe Cl ₃) dans 100ml l'eau distillée.

Solution de chlorure d'aluminium (6H₂O) a 2%	2g AlCl ₃ (6H ₂ O) ajusté à 100 ml du méthanol.100%.
Acide ascorbique	0.005965g dans un 1 ml méthanol 100% 0.0096125g dans un 1ml méthanol 100%
Méthanol 60%	100ml du méthanol pure + 254.87 ml d'eau distillée
Méthanol 100%	100ml du méthanol pure
Solution de molybdate d'ammonium	3,313ml H ₂ SO ₄ +0,4368g de phosphate de sodium +0,4934 molybdate ajusté à 100ml d'eau distillée
Eau physiologie	9g Na Cl dissoudre dans 1000 ml d'eau distillée.
Miller Hinton	39g de Miller Hinton ajuter 1000ml d'eau distillée
DMSO	5% de DMSO ajuter 95% d'eau distillée

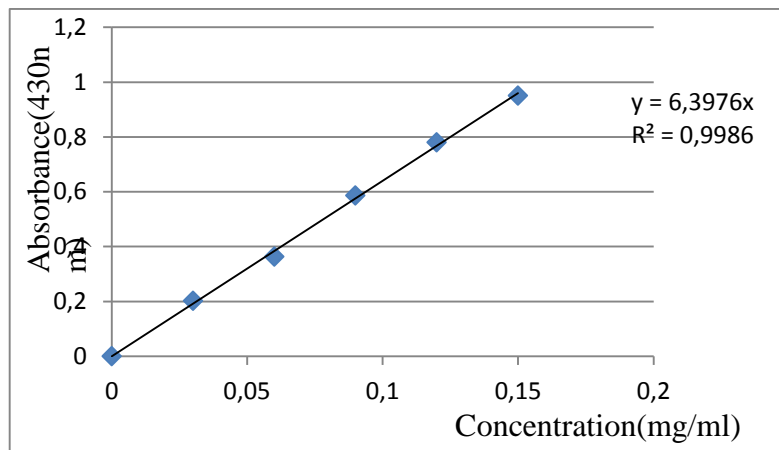
Annexes II : Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols totaux :



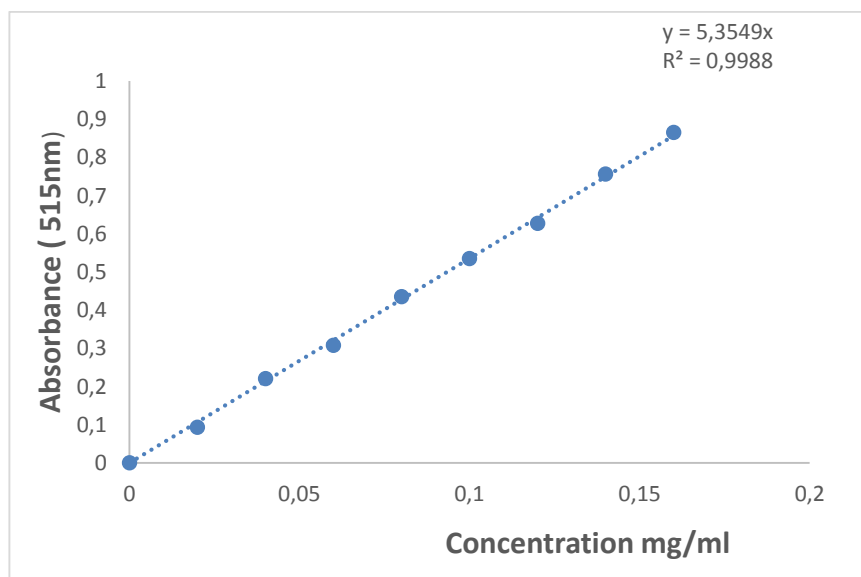
Annexes III : Courbe d'étalonnage du dosage des flavonoïdes :



Annexes IV : Courbe d'étalonnage du dosage des tanins totaux :



Annexes V : Courbe d'étalonnage du dosage des acides ascorbiques :



Résumé :

Moringa oleifera est un arbre appartenant à la famille des moringacées, originaire d'Inde. Est une plante d'intérêt nutritionnel et médicinaal, qui se trouve dans les régions tropicales. Ce travail a été consacré d'une part à une caractérisation chimique des extraits de feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera* : extractions, dosages des composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensé, caroténoïde et vitamine C), mise en évidence de certains métabolisme secondaires (saponines, alcaloïdes, terpénoïde et tanins). D'autre part, la détermination de l'activité antioxydant (activité anti-radicalaire, pouvoir réducteur) et l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits.

Les résultats de cette étude montrent que les feuilles de *M. oleifera* renferment des teneurs importantes de métabolites secondaires comparativement à l'huile des graines et la mise en évidence d'autres métabolites secondaires tels que : les alcaloïdes, les saponines, les terpénoïdes et les tanins. Les résultats ont montrés que les extraits de feuilles présentent des activités anti-oxydantes supérieures à celles de l'extrait de huile de graines. L'activité antimicrobienne des extraits de feuilles et de l'huile des graines de *M. oleifera* a été évaluée contre les bactéries sélectionnées (*E. coli*, *D. solani*, *P. atrosepticum* *P. carotovorum* et *S. aureus*). L'apparition de zones d'inhibitions indique que les deux souches bactériennes : *PCC* et *S. aureus*. *E. coli* sont sensible aux extraits de feuilles. Par contre *D. solani* et *PCA* ne présente aucune sensibilité contre les extraits de feuilles et l'extrait de l'huile de *moringa*.

Mot clé : *Moringa oleifera*, activité antioxydant, composé phénolique, feuille, activité antibactérienne.

Abstract:

Moringa oleifera is a tree belonging to the Moringaceae family, native to India. With an important nutritional and medicinal interest, which is found in tropical regions. This work was devoted, on the first part, to a chemical characterization of leaf extracts and of *M. oleifera* oil seeds: extractions, phenolic compound dosages (phenols, flavonoids, condensed tannins, carotenoid and vitamin C), demonstration of certain secondary metabolites (saponins, alkaloids, terpenoid and tannins). On the other part, the determination of the antioxidant activity (anti-radical activity, reducing power) and the evaluation of the antibacterial activity of the extracts. The results of this study show that *Moringa oleifera* leaves contain significant levels of secondary metabolites compared to seed oil and other secondary metabolites such as alkaloids, saponins, terpenoid, and tannins. The results showed that the leaf extracts exhibit antioxidant activities higher than those of the seed oil extract. The antimicrobial activity of leaf extracts and *M. oleifera* seed oil was evaluated against selected bacteria (*E. coli*, *D. solani*, *P. atrosepticum*, *P. carotovorum* and *S. aureus*). The results revealed the inhibition of the two bacterial strains: *PCC* and *S. aureus*. On the other part, *E. coli*, *D. solani* and *PCA* have no sensitivity against leaf extracts and moringa oil extract.

Key word: *Moringa oleifera*, antioxidant activity, phenolic compound, leaf, antibacterial activity.