

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Sciences alimentaires
Option : Bioprocédé et technologie alimentaire



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Teneur en composés phénoliques et activité
antioxydante d'extrait de fleurs de *Moringa
oleifera***

Présenté par :

M^{elle} Chelghoum Nadine

Soutenu le : **16 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

M^r ZAIDI F

M^{me} HASSISSENE N

M^{elle} BRAHMI F

M^{elle} BRAHAM F

Professeur

MCA

MAA

Doctorante

President

Encadrice

Examinatrice

Invitée

Année universitaire : 2015 / 2016



Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu, le Généreux qui a enseigné à l'Homme ce qu'il ne savait pas et aussi de m'avoir donné la force afin d'accomplir ce travail.

Ma profonde gratitude est exprimée à ma promotrice M^{me} Hassissène Nadia, qui m'a fait l'honneur de diriger ce travail et m'a guidée tout au long de sa réalisation, ainsi que pour la qualité de son encadrement, sa constante disponibilité, ses conseils et sa gentillesse.

Ainsi que le Professeur Zaidi Farid pour sa disponibilité, ses conseils précieux, et son encouragement.

Je tiens aussi à remercier chaleureusement Braham Fazia, la copromotrice pour son dévouement, ses conseils, sa disponibilité, et sa patience pour l'achèvement de ce travail.

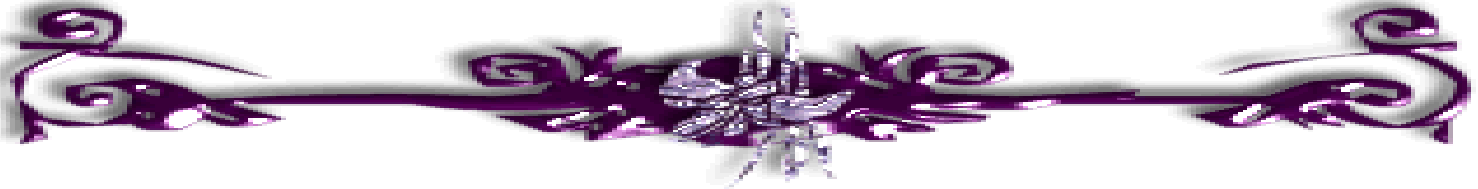
Je voudrais également remercier l'honorable jury en l'occurrence Mr Zaidi Farid et M^{elle} Brahmi, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

A toute l'équipe du laboratoire Nutrition et Alimentation pour leur accompagnement et collaboration.

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail en facilitant la récolte des échantillons. Nos plus vifs remerciements vont particulièrement à :

- + Mr DADA MOUSSA recteur de l'université d'Ouargla (Ex-recteur de l'université Tamanrasset).*
- + Mr CHINOUNE recteur de l'université de Tamanrasset.*
- + M^{me} SAHKI (responsable à l'INRF Tamanrasset)*
- + Mr BENBERJ (chef de sécurité de l'université de Tamanrasset)*
- + Mr ZENDRI et sa femme*
- + Mr BENADEKRIM (Agent à la pépinière Abalessa)*
- + La conservation des forêts de Tamanrasset*
- + Les agriculteurs d'Outoul et Tanghakfi.*

Enfin, mes remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Je dédie ce mémoire à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant sa réalisation surtout à :

Mes chers et précieux parents pour leur bonté par excellence, qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance, de tendresse, d'amour et de force. Je suis fière et reconnaissante de vous avoir comme parents.

A Mes très chers et irremplaçables frères :

Amine et Kosso pour leur aide, conseil et sympathie.

A mes très chers cousins et cousines

A mes tantes et leurs familles

A mes oncles et leurs familles

A la mémoire de ma grand-mère paternelle

A mes deux grand-mères maternelles

A mes petits(es) bibiches et bibichattes :

Laetitia, Darine, Houhou, Yani, Sami, Islam, Adam, Rassin, Iliane

A mes précieux amis(es) : Samir, Mounir, Fatima, Jugo, Wassim,

Mustapha, Salim, Lydia, Yasmine joe, Sabine, Nesrine, Nawel,

Wissem, Wahiba, Chosen, et Mitchy.

A mes camarades : Fairouz, Katia, Abdou, Amer, Kahina, Chahinaz,

Latifa, Nachida, Leila, Kahina, et Nadira

A mon mignon et adorable Happy pupuce

Nadine.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Effet protecteur des polyphénols contre les radicaux libres.....	05
Figure 2. Effet des radicaux libres sur la cellule.....	06
Figure 3. Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant.....	07
Figure 4. Arbre de <i>Moringa oleifera</i>	10
Figure 5. Quelques parties de la plante <i>Moringa oleifera</i>	11
Figure 6. Fréquence et usages médicaux de <i>Moringa oleifera</i>	13
Figure 7. Protocole d'extraction des polyphénols.....	16
Figure 8. Réaction du Chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes.....	17
Figure 9. Protocole de dosage des flavonoïdes.....	18
Figure 10. Protocole de dosage des tannins hydrolysables.....	18
Figure 11. Protocole de dosage des phénols polymérisés par la méthode de précipitation par la BSA.....	19
Figure 12. Réduction du radical DPPH°.....	21
Figure 13. Activité antioxydante de chélation de fer ferreux.....	22
Figure 14. Taux d'extraction des composés phénoliques.....	24
Figure 15. Teneur en phénols totaux solubles.....	24
Figure 16. Teneur en flavonoïdes.....	25
Figure 17. Teneur en tanins hydrolysables.....	26
Figure 18. Teneur en phénols non liés à la protéine.....	27
Figure 19. Mise en évidence des saponines dans les extraits.....	27
Figure 20. Mise en évidence des alcaloïdes dans les extraits.....	28
Figure 21. Mise en évidence des terpénoïdes dans les extraits.....	28
Figure 22. Activité antiradicalaire du DPPH° des extraits brut.....	29
Figure 23. Effet de la concentration des extraits sur l'activité antiradicalaire du DPPH°.....	29
Figure 24. IC ₅₀ des différents extraits contre le radical DPPH°.....	30
Figure 25. Chélation du fer ferreux des extraits.....	31
Figure 26. Pouvoir réducteur des extraits.....	31
Figure 27. Effet de la concentration des extraits sur le pouvoir réducteur.....	32
Figure 28. Effet de la concentration des extraits sur le pouvoir réducteur.....	33
Figure 29. IC ₅₀ des différents extraits contre le pouvoir réducteur.....	33

LISTE DES FIGURES INSERES EN ANNEXE

Annexe 2 : Courbes d'étalonnages

Figure 1. Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Figure 2. Dosage des flavonoïdes.

Figure 3. Courbe d'étalonnage des tanins hydrolysables.

Figure 4. Courbe d'étalonnage des phénols non liés à la protéine.

Figure 5. Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Résultat des tests de Mise en évidence de quelques métabolites secondaires 32

LISTE DES TABLEAUX INSERES DANS LES ANNEXES

Annexe 1 : Généralités sur la plante

Tableau I. Exigences environnementales de Moringa

Tableau II. Répartition de quelques composés contenus dans le *Moringa oleifera*

Tableau III. Parties de la plante et leurs intérêts

Annexe 3 : Préparation des solutions

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Synthèse bibliographique	
Chapitre I. Métabolites secondaires	2
I. Métabolites secondaires	2
I.1. Différents types de métabolites secondaires	2
I.1.1. Saponines	2
I.1.2. Terpènes	2
I.1.3. Alcaloïdes	2
I.1.4. Composés phénoliques	3
1. Acides phénoliques	3
2. Flavonoïdes.....	4
3. Tanins	4
I.1.4.1. Rôle des composés phénoliques	4
I.1.4.2. Propriétés thérapeutiques des composés phénoliques.....	5
I.1.4.3. Propriétés antioxydantes des composés phénoliques	5
Chapitre II. Radicaux libres et antioxydants.....	6
II. Radicaux libres et antioxydants.....	6
II.1. Radicaux libres	6
II.1.1. Source des radicaux libres	6
II.2. Stress oxydatif.....	6
II.3. Antioxydants	7
Chapitre III. Généralités sur la plante	8
III. Généralités sur <i>Moringa oleifera</i>	8
III.1. Dénomination et taxonomie	10
III.2. Description de <i>Moringa oleifera</i>	10
III.3. Composition chimique	11
III.4. Qualité nutritionnelle	12
III.5. Propriétés médicinales	12
III.6. Autres domaines d'utilisation	13

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Matériel et méthodes	14
I.1. Récolte et origine	14
I.2. Préparation des échantillons	14
I.2.1. Séchage	14
I.2.2. Broyage	14
I.2.3. Tamisage	14
I.3. Extraction et dosage des composés phénoliques	14
I.3.1. Extraction.....	14

I.3.2. Dosage des composés phénoliques	16
1. Dosage des phénols totaux solubles	16
2. Dosage des flavonoïdes	17
3. Dosage des tanins hydrolysables	18
4. Dosage des phénols non liés à la protéine	19
5. Mise en évidence de quelques métabolites secondaires	20
I.4. Etude de l'activité antioxydante.....	20
I.4.1. Test du pouvoir antiradicalaire du DPPH°	20
I.4.2. Test de chélation du fer ferreux	21
I.4.3. Test du pouvoir réducteur	22
I.5. Analyse statistiques des résultats.....	23
II. Résultats	24
II.1. Rendement d'extraction	24
II.2. Teneur en composés phénoliques.	24
II.2.1. Teneur en phénols totaux solubles	24
II.2.2. Teneur en flavonoïdes	25
II.2.3. Teneur en tanins hydrolysables	25
II.2.4. Teneur en phénols non liés à la protéine	26
II.3. Mise en évidence de quelques métabolites secondaires	27
II.3.1. Saponines	27
II.3.2. Alcaloïdes	28
II.3.3. Terpénoïdes	28
II.4. Activité antioxydante	29
II.4.1. Activité antiradicalaire du DPPH°	29
II.4.2. Chélation du fer ferreux	31
II.4.3. Pouvoir réducteur	32
III. Discussion.....	34
Conclusion	36
Références bibliographiques	
Annexes	



INTRODUCTION

Introduction

Les plantes ont toujours été vitales pour l'Homme. Elles sont très bénéfiques spécialement dans les pays qui souffrent de pauvreté et de mal nutrition.

Les végétaux supérieurs ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques complexes, de nombreux composés qu'ils utilisent pour diverses fonctions adaptatives.

Il est par ailleurs reconnu que les plantes constituent une source importante de molécules bioactives qui présentent une large variété d'activités biologiques : antitumorale, antivirale, antimicrobienne et antioxydante (**Pothitirat et al., 2009**).

L'oxygène est essentiel pour la vie de tous les organismes eucaryotes (**Gruber et al., 2008**). Cependant la carence en substances nutritives protectrices nécessaire ou en substances antioxydantes dans le régime alimentaire peut influencer négativement l'équilibre entre les prooxydants et les antioxydants (**Butterfield et al., 2002**). En effet, si la quantité de radicaux libres et le stress oxydatif excèdent la capacité du système de défense antioxydant du corps, des dégâts oxydatifs peuvent en résulter (**Halliwell et Gutteridge, 1984**) entraînant des pathologies telles que l'arthrite, l'asthme, et le cancer (**Muller, 1993**).

Moringa oleifera (Moringaceae) aussi appelé « l'arbre de la vie » est largement utilisé dans la médecine traditionnelle. C'est un arbuste, originaire du sud d'Asie, Afrique, Pacifique et des îles de caraïbes (**Alhakmani et al., 2013**).

Les nombreuses propriétés valorisables de cette plante en font un sujet d'étude très intéressant, elle apparaît comme l'une des espèces les plus prometteuses en fonction de sa teneur en nutriments, de l'activité antioxydante (**Laleye et al., 2015**) des composés phytochimiques, de la facilité de culture et de transformation et des qualités organoleptiques (**Foidl et al., 2001**).

Ce présent travail sera divisé en deux parties :

- ❖ Une partie relative à l'étude bibliographique résumant les généralités sur la plante, les composés phénoliques, et radicaux libres ainsi que les antioxydants.
- ❖ Une partie abordant l'étude expérimentale qui a porté sur deux aspects :
 - Extraction et dosage des composés phénoliques de fleurs de *Moringa oleifera*.
 - Etude de l'activité antioxydante des extraits au moyen de trois tests.



***SYTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE***



Chapitre I.
METABOLITES
SECONDAIRES

I-Métabolites secondaires

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En dehors des molécules du métabolisme primaire (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), les plantes possèdent la capacité de produire un nombre important d'autres types de molécules dites « métabolites secondaires » (**Hennebelle et al., 2004**). La fonction physiologique de ces derniers n'est pas toujours connue. Les produits du métabolisme secondaire sont nombreux mais en faible quantité. Ils ont un intérêt multiple. Leur répartition dans la plante n'est pas égale. Ils représentent une source importante de molécules utilisées par l'Homme dans des domaines variés, allant de la pharmacologie à l'agroalimentaire en passant par la cosmétique (**Macheix et al., 2005**).

I-1- Différents types de métabolites secondaires

I-1-1- Les saponines

Les saponines sont généralement connues comme étant des composés non-volatils, Le nom «saponine» est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie «savon». En effet, les molécules de saponines au contact de l'eau forment une solution moussante. Ce sont des composés qui servent de défense à la plante (**Manase, 2013**).

I-1-2- Les terpènes :

Les terpènes constituent le plus grand ensemble des métabolites secondaires des végétaux, notamment les plantes supérieures. Ils sont également rencontrés dans les autres types d'organismes vivants (algues, mousses, et champignons).

Un terpène est construit par un assemblage d'un nombre variable d'unités isopréniques (C_5H_8) (2-méthylbuta-1,3-diène).

Ils jouent un rôle très divers, ils peuvent être des constituants dans les savons, les parfums, et médicaments, et sont employés également dans l'agroalimentaire.

Ils sont particulièrement actifs en tant qu'antifongiques, antitumoraux, antibactériens et anti-inflammatoires (**Dehak, 2013**).

I-1-3- Les alcaloïdes

Composés organiques azotés, d'origine naturelle, le plus souvent végétale, ils sont présent à divers endroits selon la plante en raison de leurs propriétés biologiques et de leur

diversité structurale. Quelques structures sont relativement simples, tandis que d'autres sont tout à fait complexes (Nevez, 2007).

I-1-4- Les composés phénoliques

Tous les végétaux contiennent des composés phénoliques et leur répartition qualitative et quantitative dans la plante est inégale selon les espèces, les organes, les tissus, et les stades physiologiques (Scalbert et Williamson, 2000).

Les polyphénols (principalement, flavonoïdes, acides phénoliques, tannins) sont présents dans toutes les parties de la plante. Ils entrent dans la composition des produits de consommation les plus courants, en particulier les fruits et légumes mais également dans celle des produits transformés comme le chocolat, le thé et le vin rouge (Hennebelle *et al.*, 2004). Le nombre de composés phénoliques augmente sans cesse, ce qui en fait un groupe chimique particulièrement important.

Ce sont des éléments intervenant dans les qualités sensorielles (couleur, astringence,...) et nutritionnelles des végétaux ; ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes,... etc).

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un cycle aromatique (benzoïque) portant au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction chimique : éther, méthylique, ester, sucre...etc (Sarni-Manchado, 2006).

Les composés phénoliques sont répartis en plusieurs classes, parmi elles : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins.

1. Acides phénoliques

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués :

- Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique,
- Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique (Ribéreau-Gayon, 1968).

2. Flavonoïdes

De structures générales en C_{15} ($C_6-C_3-C_6$), ils ont une très grande importance biologique et technologique. Les flavonoïdes se définissent comme étant des pigments végétaux, simples ou glycosylés, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois mêmes des feuilles (**Krief, 2003**).

3. Tanins

Substance d'origine végétale, inodore, elle est utilisée par l'Homme depuis l'antiquité pour le traitement des peaux d'animaux, pour la rendre imputrescible en se fixant sur les protéines. Les tanins ont une importance économique et écologique considérable et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes (**Haslam, 1996**). Ils sont très répandus et en quantités importantes, aussi bien dans les écorces, qu'au niveau des racines, des feuilles, et des fruits.

Leur structure est très variable, ce qui les divise en deux groupes principaux :

A. Tanins hydrolysables

Ce sont des esters formés d'acide gallique et de molécules de glucose ; ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique, ce qui libère alors une partie non phénolique (souvent du glucose) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique ou un dimère de cet acide (**Macheix et al., 2005**).

B. Tanins condensés

Les tanins condensés sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ols dérivés de la (+) catéchine ou de ses nombreux isomères. Contrairement aux tanins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Ils ont la propriété de complexer les protéines notamment celles du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux d'animaux (**Sarni-Manchado, 2006**).

I-1-4-1- Rôle des composés phénoliques

Ils peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante, dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique, dans les critères de qualité, dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques et dans la protection de l'Homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leurs propriétés antioxydantes (**Legrand, 1977**).

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs, ce qui déduit leur importance dans la qualité organoleptique des fruits et légumes (Macheix, 2006).

I-1-4-2- Propriétés thérapeutiques des composés phénoliques

De nos jours, les propriétés des polyphénols sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-cancer (Scalbert et Williamson, 2000). Certains flavonoïdes peuvent inhiber l'athérosclérose et par conséquent réduire le risque des maladies cardiovasculaires (Nkhili, 2009).

I-1-4-3- Propriétés antioxydantes des composés phénoliques

Les antioxydants d'origine alimentaire contribuent vraisemblablement à la défense de l'organisme contre le stress oxydant et ses conséquences (Figure 01). A ce titre, les polyphénols, particulièrement abondants dans une alimentation riche en produits végétaux, pourraient jouer un rôle protecteur important (Achat, 2013). Les études ont montré que de nombreux polyphénols peuvent lutter contre le rancissement des aliments et le vieillissement biologique des tissus. En effet, les polyphénols ont la particularité d'engendrer la formation d'un radical fortement stabilisé, ce qui leur confère un caractère antioxydant (Sreelatha, 2009).

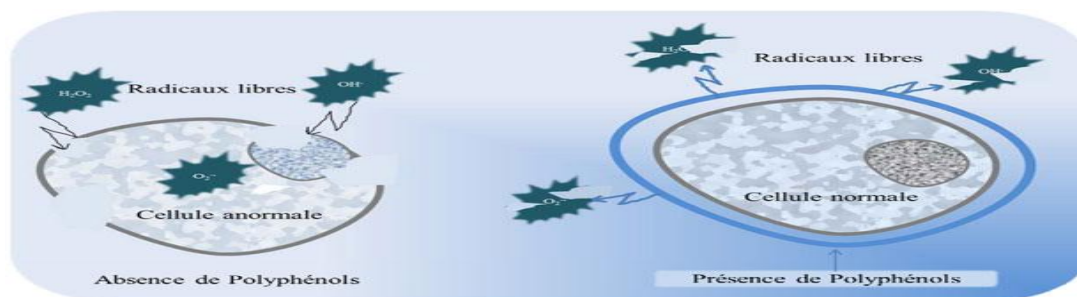


Figure 01: Effet protecteur des polyphénols contre les radicaux libres (Bouchet, 2016).



Chapitre II.
RADICAUX LIBRES ET
ANTIOXYDANTS

II-Radicaux libres, stress oxydatif, et antioxydants

II-1- Les radicaux libres

Un radical libre peut être défini comme toute molécule qui contient un électron non apparié dans une orbitale atomique (Judde, 2004) ; ce nombre impair d'électrons rendant la molécule instable. Il peut soit faire un don d'un électron ou accepter un électron d'autres molécules, donc se comporter comme un oxydant ou un réducteur. Un exemple d'intérêt biologique est la molécule de dioxygène qui gagne un électron lors de la respiration cellulaire pour conduire au radical superoxyde O_2^- (Devasagayam *et al.*, 2004).

II-1-1- Source des radicaux libres

Les radicaux libres sont dérivés soit des processus métaboliques essentiels normaux dans le corps humain ou à partir de sources externes telles que l'exposition aux rayons X, l'ozone, les polluants atmosphériques et les produits chimiques industriels. La formation de radicaux libres se produit en continu dans toutes les cellules (Figure 02) et en faible quantité dans les mitochondries. Il s'agit des ions oxygènes, hydroxyde, et de peroxyde d'hydrogène qui est libéré lors des réactions biochimiques (Kebbab, 2014 ; Halliwell, 1999).

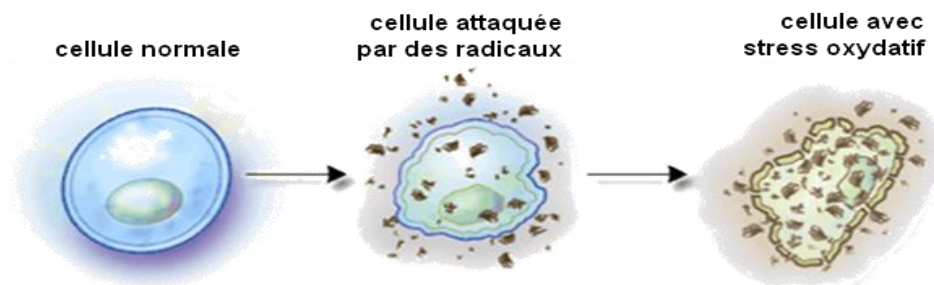


Figure 02 : effet des radicaux libres sur la cellule (Bouchet, 2016).

II-2- Stress oxydatif

En condition physiologique, le dioxygène, élément indispensable à la vie, produit au niveau de la mitochondrie des espèces oxygénées réactives (EOR) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire. Ces EOR, dont font partie les radicaux libres, sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques : lipides, protéines, ADN, glucose,...etc (Nishikawa *et al.*, 2008).

Il y a un équilibre parfait entre la production des espèces oxygénées réactives (EOR) au niveau des mitochondries et les systèmes de défenses antioxydants. Lorsque cet équilibre est défavorable (Figure 03), il entraîne un stress oxydatif, ce qui a pour conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (**Gutteridge et Halliwell, 1993**).

Le stress oxydant provoque de nombreux dégâts dans les tissus, les organes, et peut modifier certains gènes. Il est impliqué dans de nombreuses maladies comme la cataracte, l'arthrite, les maladies cardio-vasculaires ou les cancers (**Aravodis, 2005**).

Un excès de stress oxydatif peut conduire à l'oxydation des lipides et protéines, qui est associée à des changements dans leur structure et les fonctions (**Hennebelle et al., 2004**).

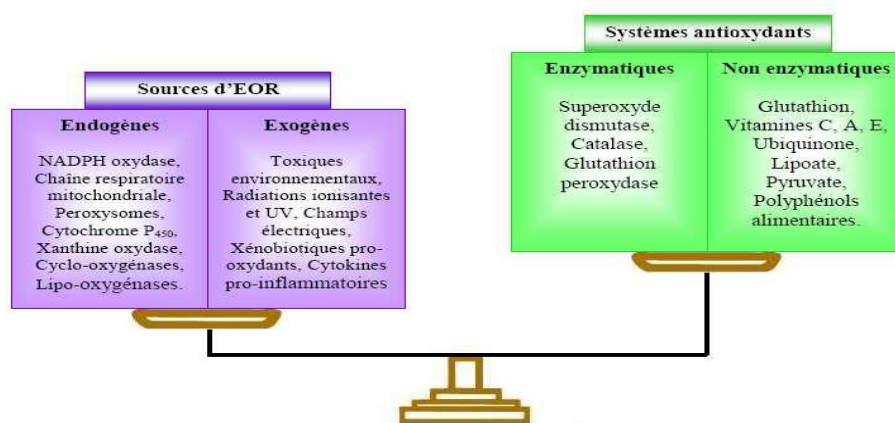


Figure 03 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant (**Achat, 2013**).

II-3- Les antioxydants

L'oxydation est une des plus importantes manifestations à l'origine des détériorations des produits alimentaires et des cosmétiques (**Berset et Cuvelier, 1997**). Les dégradations oxydatives affectent les qualités nutritionnelles et sensorielles des aliments et peuvent avoir des conséquences sur la santé du consommateur (**Velioglu, 1998**).

Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent l'oxydation d'autres molécules. Il y a deux catégories de base d'antioxydants, d'origine naturelle et synthétique (**Sanchez et al., 2007**). D'une manière générale, les antioxydants naturels peuvent être des composés phénoliques (flavonoïdes, et les acides phénoliques), des composés azotés (alcaloïdes, des acides aminés et des amines), ou des caroténoïdes ainsi que l'acide ascorbique. Alors que les antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA)

et le butylhydroxytoluène (BHT) ont été utilisés en tant qu'antioxydants depuis le début de ce siècle (**Meddour et al., 2013**).

A faible dose, les radicaux libres ne sont pas délétères puisqu'ils nous aident à lutter contre les virus et les microbes. En revanche, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme, les antioxydants interviennent pour les empêcher de nuire (**Pincemail et al., 2007**).

Un antioxydant est une molécule assez stable pour faire don d'un électron à un radical libre déchaîné et le neutraliser, réduisant ainsi sa capacité à endommager. Ces antioxydants retardent ou inhibent les dommages cellulaires principalement par leur propriété de piégeage des radicaux libres. Certains de ces antioxydants, y compris le glutathion, l'ubiquinol et l'acide urique, sont produits au cours du métabolisme normal dans le corps. D'autres antioxydants plus légers se trouvent dans le régime alimentaire sous forme de vitamines : vitamine E (α -tocophérol), la vitamine C (acide ascorbique), et la β -carotène. Ne pouvant pas être synthétisés par l'organisme, ces micronutriments doivent être fournis dans le régime alimentaire (**Popovici et al., 2009**).

Les antioxydants regroupent un système de défense efficace contre le stress oxydant, de nombreux antioxydants naturels (enzymes et vitamines) ont des propriétés anti-radicalaires : la vitamine C inhibe les radicaux libres à l'intérieur de la cellule alors que la vitamine E et les caroténoïdes jouent le même rôle au niveau de la membrane cellulaire (**Halliwel, 1999**).



Chapitre III.
GENERALITES SUR LA
PLANTE

III- Généralités sur *Moringa oleifera*

Moringa 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**) ; c'est un arbre originaire du Nord-Ouest de l'Inde et du Pakistan au bord de l'Himalaya. Arbuste très résistant à la sécheresse, il se retrouve au niveau des sols drainés (Annexe 1). L'espèce est maintenant largement distribuée dans les régions tropicales du Sud et centrale d'Amérique, d'Afrique, d'Asie, le Pacifique, et des Îles des Caraïbes (**Alhakmani et al., 2013**).

Cette plante a de nombreuses propriétés valorisables, ce qui fait d'elle un sujet d'étude très intéressant.

Cette espèce est très prometteuse en fonction de :

- Teneur en nutriment,
- Activité Antioxydante,
- Composés phytochimiques,
- Facilité de culture et de transformation,
- Qualités organoleptiques.

A la fin des années 1980, quelques chercheurs se sont intéressés aux graines de *Moringa* uniquement pour leurs propriétés dans le traitement des eaux et le développement des systèmes de culture du *Moringa*-feuille en Afrique.

Pendant les années 90, des chercheurs contribuèrent à faire avancer les connaissances sur l'agronomie du *Moringa*, l'utilisation de ses feuilles en alimentation et l'intérêt de ses graines comme source d'huile non négligeable.

En 2006, une centaine d'organisations et entreprises travaillant sur la feuille de *Moringa* (ONG américaines telles que Church World Service au Sénégal et ECHO en Mauritanie) ont promu l'utilisation des feuilles séchées et broyées en poudre dans l'alimentation. Sous cette forme, les propriétés nutritionnelles du *Moringa* sont concentrées et quelques grammes par jour aident à lutter contre les carences en vitamines, minéraux et protéines (**Broin et Saint Sauveur, 2010**).

III-1- Dénomination et taxonomie

Moringa oleifera appartient à la famille monogénérique des arbustes et arbres des Moringaceae qui comprend environ 13 espèces, dont la plus connue et répandue est l'espèce *Moringa oleifera* (Foidl et al., 2001).

Nom scientifique de *Moringa oleifera* Lamk (synonyme : *Moringa parvifolia* Noronha), elle possède aussi d'autres dénominations, en anglais, connue sous « west Indian tree », ou « Drumstick 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).

Systématique de *Moringa oleifera* (Laleye et al., 2015).

- Règne: Plantae
- Sous-règne: Tracheobionta
- Classe: Magnoliopsida
- Ordre: Capparales
- Famille : Moringaceae
- Division: Magnoliopyte
- Genre: *Moringa*
- Espèce: *oleifera*

III-2- Description de *Moringa oleifera*

Moringa oleifera est un petit arbre (Figure 04), parfois même considéré comme un arbuste, mesurant en moyenne entre 4 à 5 mètres, il peut atteindre 20 mètres, et son diamètre jusqu'à 3 mètres, selon l'environnement. L'arbre croît rapidement et peut se régénérer lorsqu'il subit une coupure très sévère (Delpha, 2011).



Figure 04 : Arbre de *Moringa oleifera* (Saint Sauveur et Broin, 2010)

Ses feuilles (Figure 05-a) sont duveteuses, bi ou tripennées, et se développent principalement dans la partie terminale des branches. Ses fleurs (Figure 05-b) mesurent

2,5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires de 10 à 25 cm, elles sont blanches ou couleur crème, avec des points jaunes à la base.



a- Feuilles

b- Fleurs

c- Gousses et graines

(Atakpama *et al.*, 2014) (Saint Sauveur et Broin, 2010) (Atakpama *et al.*, 2014)

Figure 05 : quelques parties de la plante *Moringa oleifera*

Les fruits forment des gousses à trois lobes mesurant 20 à 60 cm de long. Les gousses sèches (figure 05-c) s'ouvrent à trois parties en libérant 12 à 35 graines ; ces dernières sont arrondies, ailées, avec une coque marron semi perméable. Le poids moyen d'une graine est de 0,3 g dont 25% sont représentés par la coque (Makkar et Becker, 1997 ; Laleye *et al.*, 2015).

III-3- Composition chimique

Moringa oleifera est riche en composés contenant un sucre simple. Les fleurs contiennent neuf acides aminés, le saccharose, le D-glucose, des traces d'alcaloïdes, de cire, de quercétine (Laleye *et al.*, 2015).

Selon Makkar et Becker, (1996), la présence de stérols, des glycosides, des alcaloïdes, des terpénoïdes, des flavonoïdes, des caroténoïdes, des tanins se répartit au niveau de toutes les parties de *Moringa* ; quelques exemples de composés sont cités dans l'annexe 1.

Les feuilles de *Moringa oleifera* contiennent une très grande concentration de vitamines, de protéines, et certains minéraux. Elles renferment aussi des acides aminés et acides gras essentiels.

Les graines sont oléagineuses, révélant un profil d'acide gras très élevé. Elles présentent les mêmes avantages pour la santé que celle d'huile d'olive (Anwar, 2005).

III-4- Qualité nutritionnelle

Moringa oleifera est une plante à hautes valeurs nutritives. Elle constitue un excellent constituant de compléments alimentaires.

Toutes les parties de l'arbre : feuilles, gousses, graines immatures, fleurs, les fruits et les jeunes racines sont comestibles (**Foidl et al., 2001**). *Moringa oleifera* est appelé "légume Miracle" parce qu'il est à la fois un médicament et un aliment fonctionnel.

Moringa oleifera a la plus haute proportion d'acides aminés essentiels et des quantités importantes dans de nombreux rapports (**Makkar et al., 1996**). Les fleurs sont riches en calcium et potassium et antioxydants, et sont très utilisées dans l'alimentation humaine principalement en Philippine (**Laleye et al., 2015**).

Cette plante a été recommandée comme aliment pour le bétail produisant du lait ou pour le tilapia du Nil, et comme un aliment complémentaire pour les chèvres et les agneaux. L'huile de la graine est utile comme huile végétale. En outre, cette huile de graine possède également une résistance à la dégradation par oxydation (**Foidl et al., 2001**).

III-5- Propriétés médicinales

Moringa oleifera est décrite comme une plante médicinale, thérapeutique.

En tant que produit alimentaire traditionnellement important, *Moringa oleifera* a reçu une attention comme une «alimentation naturelle des Tropiques». En plus de ses innombrables utilisations et avantages nutritionnels élevés, *Moringa oleifera* a également des attributs médicaux surprenants, notamment dans le traitement de l'ascite, les rhumatismes, et comme stimulant cardiaque et circulatoire (**Steingass et al., 2012**).

Toutes les parties de cette plante: racines, écorce, gomme, feuille, fruits (gousses), fleurs, graines et l'huile de graines (Annexe 1) ont été utilisées pour divers maux dans la médecine dans le traitement des maladies inflammatoires et infectieuses ainsi que les maladies cardio-vasculaire, gastro-intestinal, hématologique et troubles hépatologiques (**Kasolo et al., 2011**).

Selon **Atakpama et al, (2014)** *Moringa oleifera* est plus fréquemment employé dans les maladies infectieuses avec un pourcentage de 18,18% (Figure06).

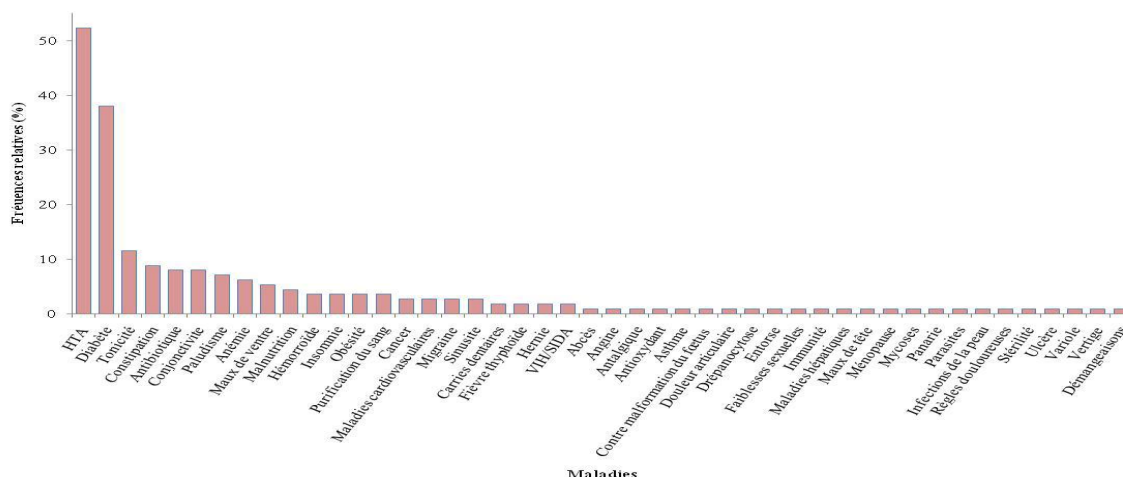


Figure 06 : Fréquence et usages médicaux de *Moringa oleifera* (Atakpama *et al.*, 2014).

III-6- Autres domaines d'utilisation

Moringa oleifera est une espèce d'arbre à usage multiple typique avec un potentiel économique élevé (Anwar *et al.*, 2007).

L'arbre est utilisé pour la conservation des sols, ombre, brise-vent,...etc. Les feuilles peuvent être utilisées comme fourrage pour le bétail en particulier pour les chèvres, les chameaux, et les ânes. Le bois blanc brûle sans fumée et donne un bleu colorant. En Inde, la pulpe a été utilisée pour fabriquer du papier approprié pour le papier journal, l'emballage, l'impression l'écriture, le textile et le cellophane (Guha et Negi, 1965). Le « ben-oil » issu des graines conserve sa qualité et peut donc lubrifier des machines de précision. Il est également utilisé pour l'illuminant, cosmétiques-parfums et la coiffure. Les huiles ont révélé être particulièrement efficaces dans la fabrication de savon produisant une mousse stable et lavante à haute efficacité adaptée pour certains pays d'Afrique. Le tourteau considéré comme impropre à l'alimentation animale en raison de la forte teneur en alcaloïdes et des saponines est principalement utilisé comme engrais. Les graines et le tourteau, résidu de l'extraction de l'huile, peuvent être utilisés pour la purification de l'eau (Panda *et al.*, 2008).



***PARTIE
EXPERIMENTALE***



***I. MATERIEL ET
METHODES***

I-Matériel et méthodes

I-1- Récolte et origine

Les échantillons de fleur de *Moringa oleifera* utilisés proviennent du sud d'Algérie Tamanrasset, récoltée fin octobre 2015.

I-2-Préparation des échantillons

I-2-1- Séchage:

Après récolte, les fleurs de Moringa ont été séchées à l'abri de la lumière.

I-2-2- Broyage:

Un broyeur électrique est utilisé pour broyer les fleurs et obtenir une poudre.

I-2-3- Tamisage:

La poudre obtenue est ensuite tamisée à l'aide d'un tamis électrique (Retsh-AS 200) afin d'obtenir une poudre dont la taille des particules est inférieure à 0,5 mm.

Le broyat est alors conservé dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière pour éviter toute détérioration des échantillons.

I-3- Extraction et dosage des composés phénoliques

I-3-1-Extraction

L'extraction des composés phénoliques (Figure 07) 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%).

➤ Principe :

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**).

➤ **Mode opératoire :**

2,5 g de poudre de fleurs de
Moringa oleifera

100ml de solvant (Méthanol 60%,
Méthanol 80%, Méthanol 100%, Eau distillée)



Agitation pendant 2H



Filtration sous vide



Centrifugation à 4500 tours/ 15min



Filtration avec des filtres seringues

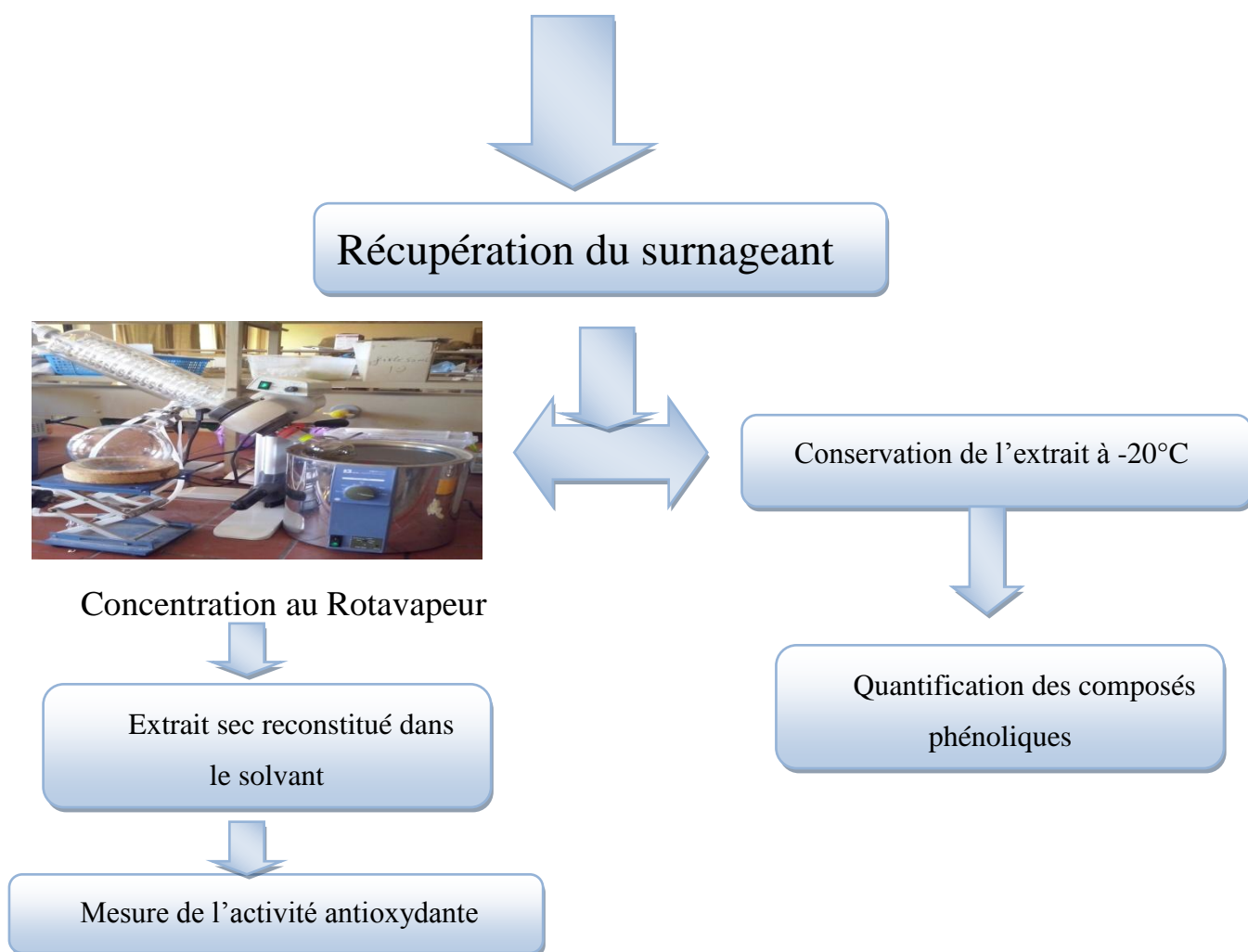


Figure 07 : Protocole d'extraction des polyphénols (Oomah *et al.*, 2010).

Le rendement d'extraction est calculé comme suit :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = \left[\frac{P_f}{P_i} \right] * 100$$

P_f : Poids de l'extrait sec (g).

P_i : Poids de l'échantillon initial(g).

I-3-2-Dosage des composés phénoliques

1. Mise en évidence de quelques métabolites secondaires

✓ Saponine :

On prélève 1ml de l'extrait auquel sont ajoutés 3ml d'eau distillée. Le mélange est agité au vortex pendant 2min, la formation d'une mousse persistante nous indique la présence de saponines dans l'extrait (Yadav et Agarwala, 2011).

✓ Alcaloïdes :

Quelques gouttes du réactifs de Bouchardat sont ajoutées à 2ml d'extrait ; la présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité brun-noir, brun-terne, jaune-brun (Amana, 2007).

✓ Terpénoides :

D'après Aziman *et al*, (2012), 1ml de chloroforme est ajouté à 2,5ml d'extrait, puis le mélange est homogénéisé avant d'ajouter 1,5ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré.

La formation d'un anneau brun-rouge à l'interface indique la présence de terpénoides dans l'extrait.

✓ Tanins :

2 à 3 gouttes de chlorure ferrique (FeCl₃ à 2%) sont ajoutées à 1ml d'extrait. L'apparition d'une coloration vert foncée indique la présence de tanins catéchiques, et une coloration bleue verdâtre indique la présence simultanée des types de tanins (Soulama *et al.*, 2014)..

2. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux est fait selon la méthode de Skerget *et al*, (2005).

➤ Principe :

Le réactif de Folin Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968 ; Boizot *et al*, 2006). La coloration bleue produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans le milieu réactionnel.

➤ Mode opératoire :

500 µl d'extrait sont mélangés avec 2,5 ml du réactif Folin-ciocalteu. Après 5 à 8 minutes, 2 ml de carbonate de sodium (75g/l) sont ajoutés. Le mélange est incubé à 50°C pendant 5 minutes ; après refroidissement l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 760 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

Les concentrations en composés phénoliques sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec de l'acide gallique utilisé comme standard.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (Eq AG) par g d'échantillon (mg Eq AG/g MS).

La teneur en phénols totaux solubles de l'extrait est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe 03), préparée avec l'acide gallique, et exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg Eq AG/g Echan).

3. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe :

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) citée par **Djeridane et al, (2006)** est utilisée pour quantifier les flavonoïdes, cette méthode spectrophotométrique est basée sur la capacité des flavonoïdes à se complexer avec le chlorure d'aluminium (figure 08).

La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans l'extrait (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

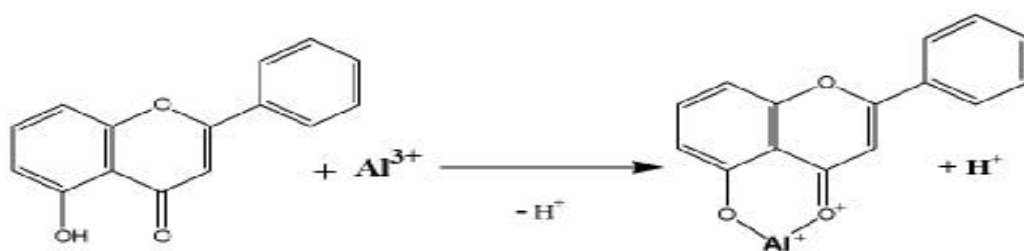


Figure 08 : Réaction du Chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes

(**Ribéreau-Gayon, 1968**).

➤ Mode opératoire :

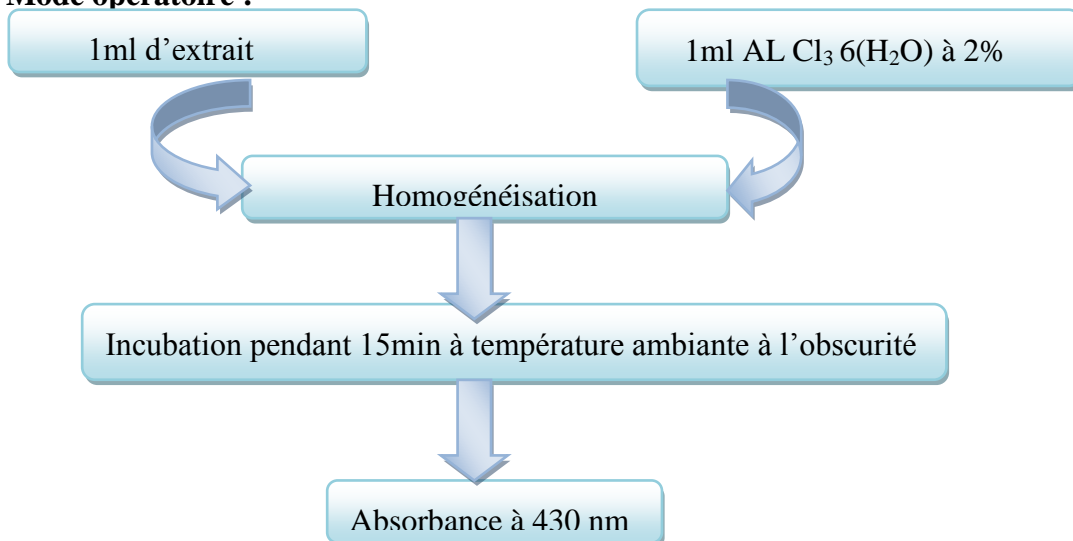


Figure 09 : Protocole de dosage des flavonoïdes (**Djeridane et al, 2006**).

Les résultats sont rapportés à une gamme d'étalonnage de quercétine, et exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme d'échantillon (mg Eq Q/g Echan).

4. Dosage des tanins hydrolysables

Le dosage des tanins hydrolysables est réalisé par la méthode au chlorure ferrique rapportée par **Mole et Waterman, (2001)**.

➤ **Principe :**

Les tanins hydrolysables réagissent avec le chlorure ferrique et donnent une coloration bleue mesurée par spectrophotométrie (**Mamadou, 2002**).

➤ **Mode opératoire :**

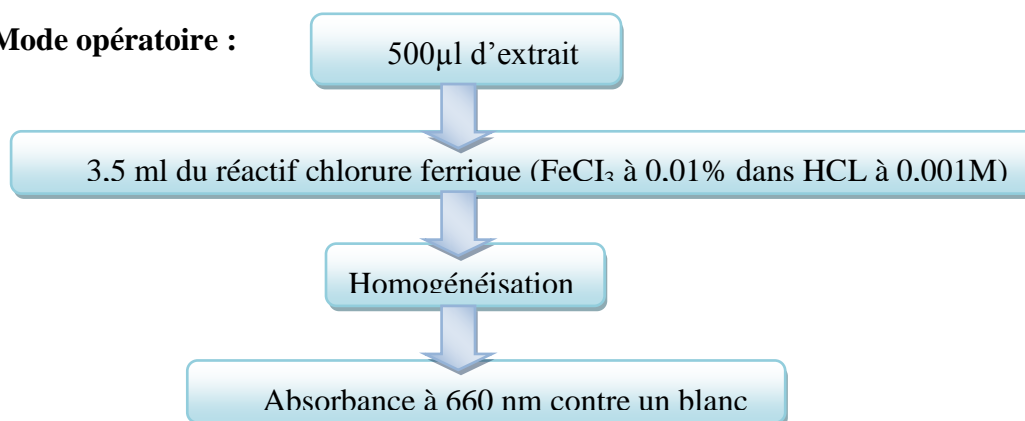


Figure 10 : Protocole de dosage des tannins hydrolysables (**Mole et Waterman, 2001**).

La teneur en tanins hydrolysables est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique (annexe 03). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide tannique/g d'échantillon (mg EqAT / g Echan).

5. Dosage des phénols non liés à la protéine

Le dosage des phénols non liés à la protéine est obtenu selon la méthode de **Skerget et al, (2005)**.

➤ **Principe :**

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

➤ Mode opératoire :

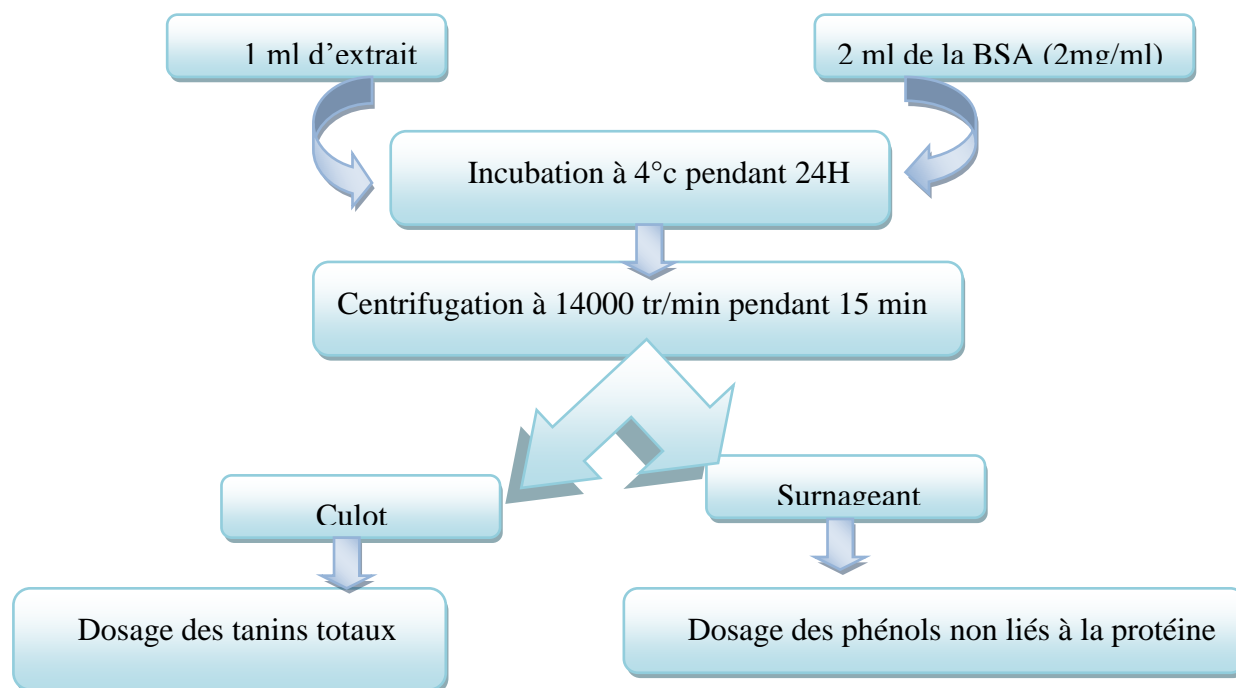


Figure 11: Protocole de dosage des phénols polymérisés par la méthode de précipitation par la BSA (Hagerman, 2002).

La méthode utilisée pour le dosage des phénols non liés à la protéine est celle de Skerget *et al.*, (2005) citée précédemment.

I-4- Etude de l'activité antioxydante

I-4-1-Test du pouvoir antiradicalaire du DPPH°

Le test du pouvoir antiradicalaire est réalisé selon la méthode **Brand William *et al.*, (1995)**.

➤ Principe :

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• (violet) qui sera transformé en une molécule neutre et stable DPPHH (jaune) (figure 12) ; 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).

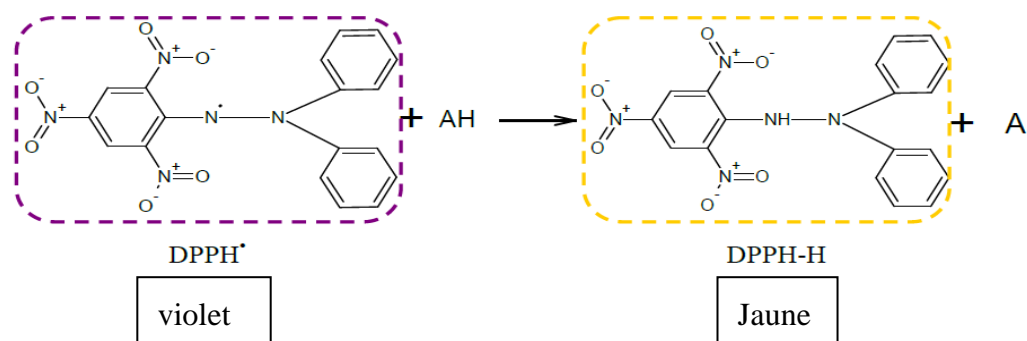


Figure 12 : Réduction du radical DPPH^\bullet .

➤ **Mode opératoire :**

3,9 ml de DPPH sont ajoutés à 0,1 ml d'extrait, le mélange est incubé pendant 30 minutes à l'obscurité ; un contrôle est préparé avec 0,1 ml du solvant utilisé et l'ajout de 3,9 ml de DPPH, puis incubation pendant 30 minutes à l'obscurité. La lecture se fait au spectrophotomètre à 515nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions (Brand William *et al.*, 1995).

Un témoin positif avec l'acide ascorbique et BHA est réalisé dans les mêmes conditions. La capacité antioxydante de nos échantillons est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH^\bullet suivant l'équation:

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

- Abs contrôle : correspond à l'absorbance du contrôle
- Abs échantillon : correspond à l'absorbance de l'échantillon

Ainsi, plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort.

La concentration (IC_{50}) en extrait brut permettant de réduire 50 % du DPPH est déterminée en traçant une courbe de pourcentage de réduction en fonction de la concentration par le biais du logiciel Origin 9.

I-4-2-Test de chélation du fer ferreux

La chélation du fer ferreux a été estimée selon la méthode de **Bourgou *et al.*, (2008)**.

➤ **Principe:**

La ferrozine réagit avec les ions divalents pour former un complexe violet ou rouge très soluble dans l'eau. L'absorbance du complexe ferrozine-Fe²⁺ est maximale à 562 nm (**Norshazila *et al.*, 2010**). En présence d'agents chélateurs, la formation de ce complexe est perturbée aboutissant à une diminution de la couleur qui est suivie au spectrophotomètre.

➤ **Mode opératoire :**

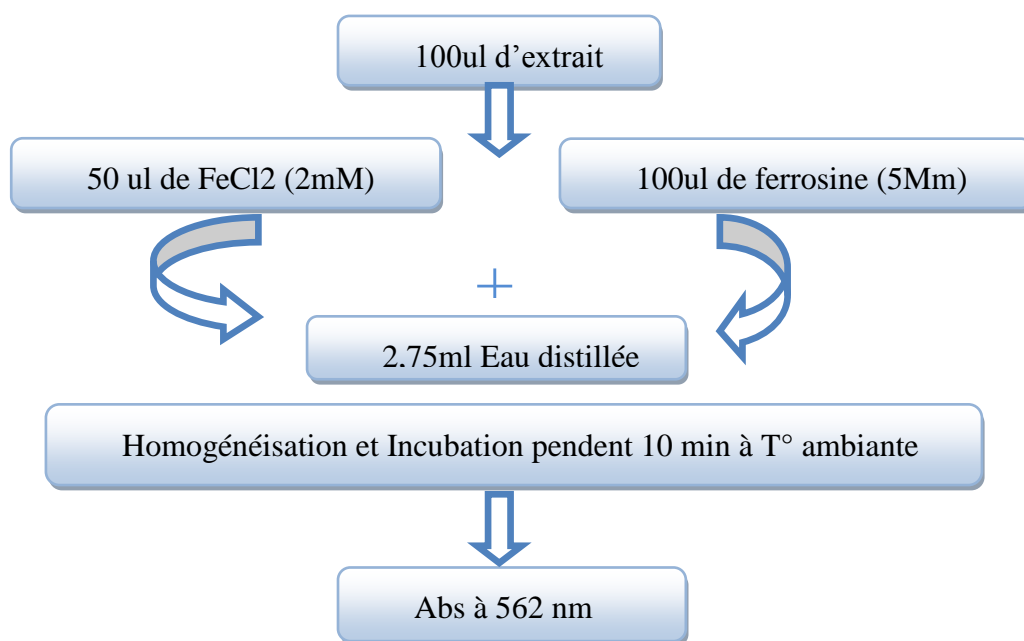


Figure 13: Activité antioxydante de chélation du fer ferreux (**Bourgou *et al.*, 2008**).

Un contrôle et un blanc sont réalisés dans les mêmes conditions.

Un témoin positif avec l'EDTA est réalisé de la même manière.

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

$$\% \text{Inhibition} = \frac{Ac - Ae}{Ac} \times 100$$

- Ac : correspond à l'absorbance du contrôle
- Ae : correspond à l'absorbance de l'extrait.

I-4-3- Test du pouvoir réducteur

L'activité antioxydante du pouvoir réducteur est estimée par la méthode de **Li et al., (2009)**.

➤ Principe :

la présence d'un composé réducteur dans les échantillons entraîne la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}), dans un milieu acidifié par l'acide trichloracétique, cette réaction se traduit par le virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers la couleur bleu verte, dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur (**Li et al., 2009**).

➤ Mode opératoire :

500 μl de tampon phosphate (0,2M, pH 6,75) et 500 μl de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) (1%) sont ajoutés à 200 μl d'extrait, le mélange est incubé pendant 20 minutes à 50°C. Après incubation 500 μl de d'acide trichloracétique (TCA 10%) sont ajoutés, et soumis à une centrifugation à 500 tr/min pendant 10 minutes ; 1 ml du surnageant est prélevé pour ajouter 1 ml d'eau distillée et 200 μl de chlorure ferrique (FeCl_3 0,1%) ; la lecture se fait au spectrophotomètre à 700 nm (**Li et al., 2009**).

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction du fer. La gamme étalon d'acide ascorbique est utilisée comme référence.

La concentration (IC_{50}) des extraits bruts permettant d'avoir une ABS de 0,5 (**Jabri-Karoui et al., 2012**) est déterminée en traçant une courbe des absorbances (ABS) en fonction de la concentration par le biais du Origin 9.

I-5-Analyse statistique des résultats

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

Les résultats ont fait l'objet d'une analyse de comparaison multiple des moyennes grâce au logiciel statistica.

Les IC_{50} des tests (DPPH et pouvoir réducteur) ont été calculés à l'aide de logiciel Origin Pro9.



II. RESULTATS ET DISCUSSION

II-Résultats

II-1-Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction (Figure 14) varient de 3,35% à 15,38% et dépendent des facteurs mis en jeu (solvant et concentration).

La substitution totale ou partielle de l'eau distillée par le méthanol s'accompagne d'une augmentation du rendement d'extraction de 2,85% à 4,52%.

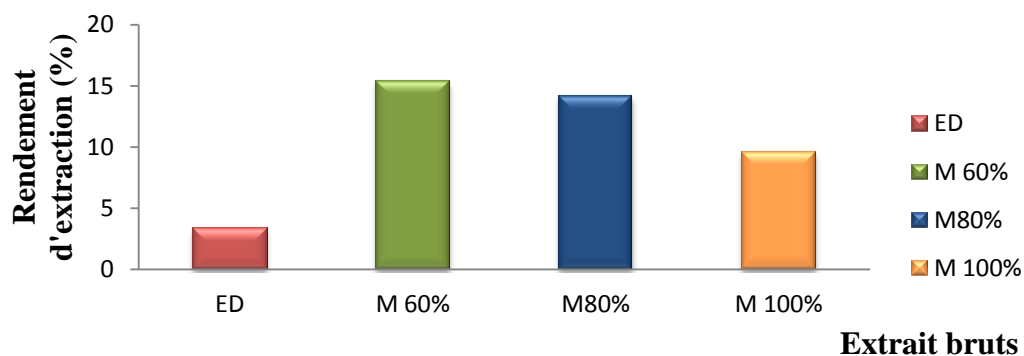


Figure 14 : Taux d'extraction des composés phénoliques

II-2- Mise en évidence de quelques métabolites secondaires :

Le tableau I résume les résultats de mise en évidence de la présence d'autres métabolites secondaires dans nos extraits.

Tableau I : Résultat des tests de mise en évidence.

	Saponines	Alcaloïdes	Terpénoides
Eau distillée	+	+	+
Méthanol 60%	++	+	+
Méthanol 80%	+	++	+
Méthanol 100%	+	+	+

(+) : présence de composé

(-) : absence de composé

II-2-1-Saponines :

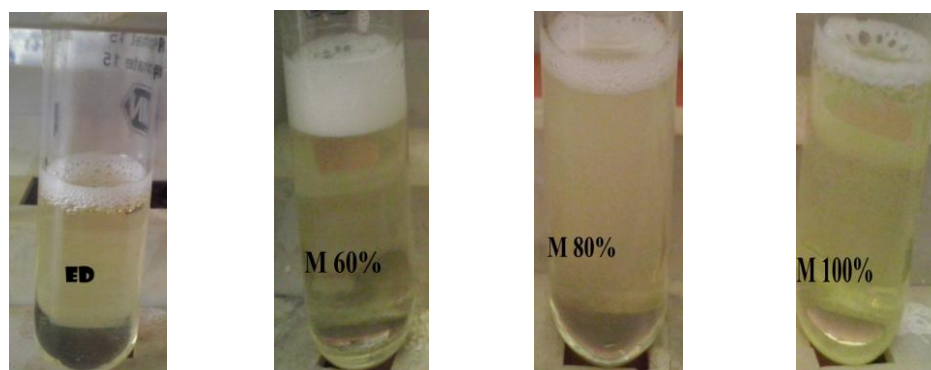


Figure 19 : Mise en évidence des saponines dans les différents extraits.

L'apparition de mousse traduit la présence de saponines dans chacun des extraits. Nous notons toute fois que la quantité de mousse est nettement plus importante dans l'extrait méthanol 60%.

II-2-2-Alcaloïdes :

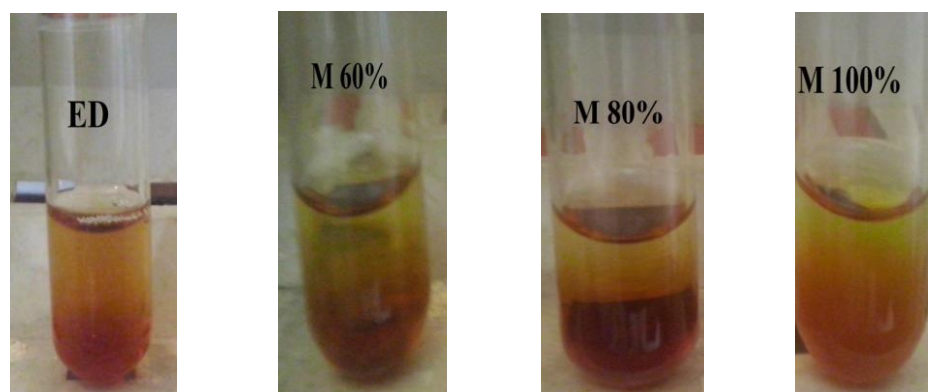


Figure 20 : Mise en évidence des alcaloïdes dans les différents extraits.

Nous observons la formation d'un précipité brun rouge au niveau de tous nos extraits (Figure 20) le précipité est plus évident avec le méthanol 80%.

II-2-3-Terpénoïdes :

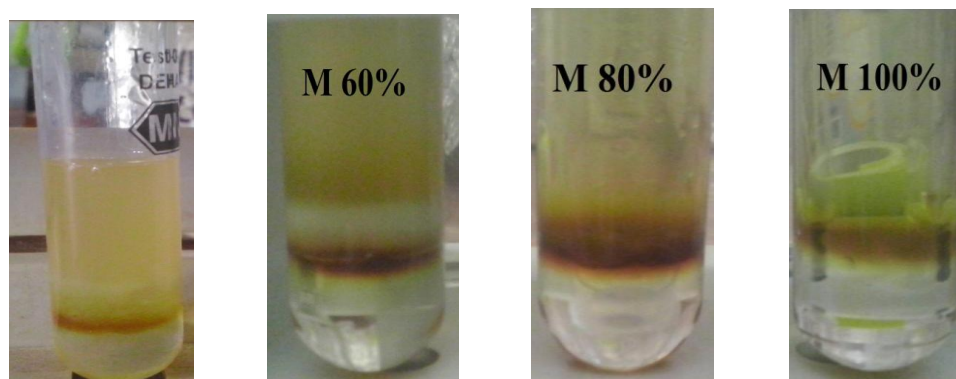


Figure 21 : Mise en évidence des terpénoïdes dans les différents extraits.

L'apparition d'un anneau brun rouge à l'interface est observée dans les différents extraits (Figure 21), traduisant ainsi la présence de terpénoïdes solubilisés par nos solvants d'extraction.

II-2-4- Tanins :

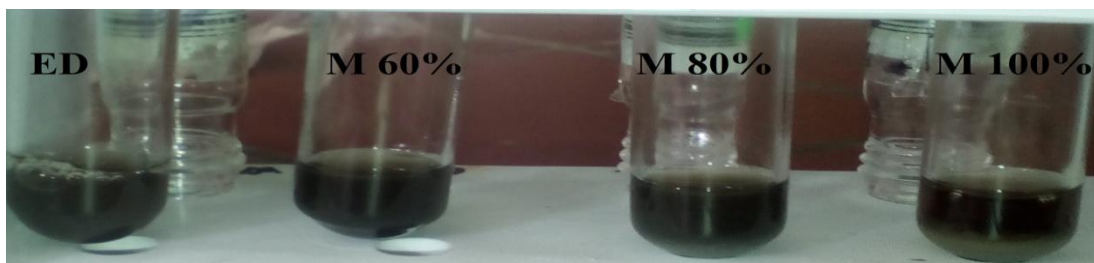


Figure 22 : Mise en évidence des tanins.

L'Apparition d'une coloration bleue verdâtre dans tous nos extraits (Figure 22) indique la présence des différents types de tanins.

II-3-Teneur en composés phénoliques

L'expérimentation a mis en jeu le facteur solvant d'extraction (eau distillée, méthanol 60%, méthanol 80%, méthanol 100%).

II-3-1-Teneur en phénols totaux solubles :

Les résultats de dosage des phénols totaux solubles obtenus (Figure 15) révèlent une variabilité de teneur entre les différents extraits. L'analyse de la variance de la teneur montre un effet significatif ($p < 0,05$) du facteur solvant.

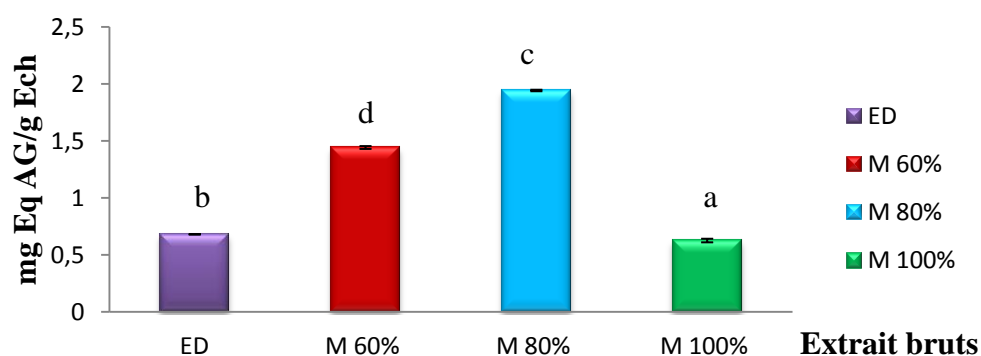


Figure 15 : Teneur en phénols totaux solubles

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes

La substitution partielle de l'eau distillée par méthanol 60% et méthanol 80% s'accompagne d'une meilleure solubilisation des phénols totaux solubles. Nous relevons des augmentations allant de 112,04% à 185,61%. Nous notons aussi que l'optimum d'extraction est atteint avec le méthanol 80%.

La substitution totale de l'eau distillée par le méthanol 100% révèle une diminution de 8,01%.

II-3-2-Teneur en flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes obtenu (Figure 16) montre une variabilité de teneur entre les différents extraits, en fonction du solvant d'extraction.

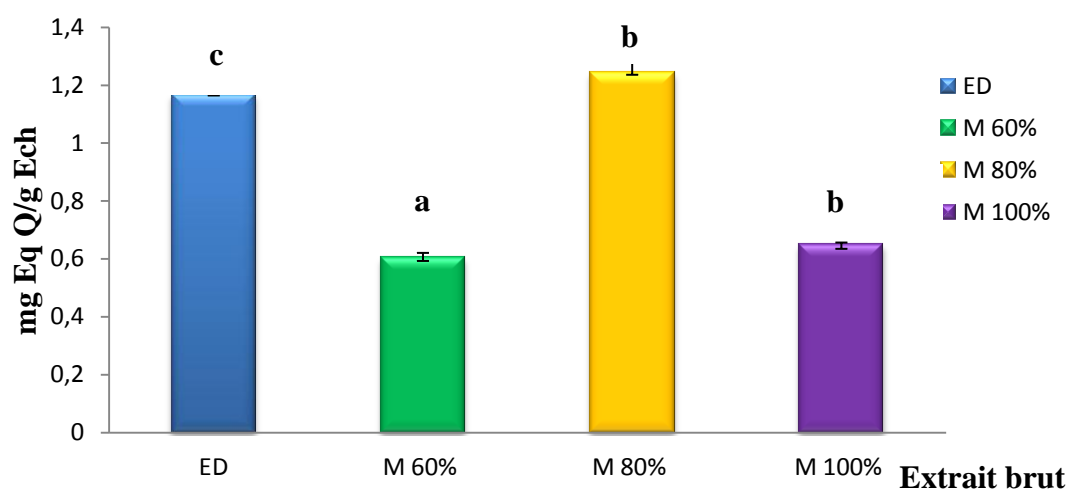


Figure 16 : Teneur en flavonoïdes

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes

L'incorporation du méthanol à 60% à l'eau distillée ou la substitution totale de celle-ci avec méthanol 100% entraîne une diminution de 48,15% et 44,26% respectivement.

C'est le solvant correspondant au méthanol 80% qui représente l'optimum pour une meilleure solubilisation des flavonoïdes.

II-3-3-Teneur en tanins hydrolysables :

Les résultats présentés dans la Figure 17 montrent que l'extrait méthanolique 80% est plus riche en tanins hydrolysables que les autres extraits employés.

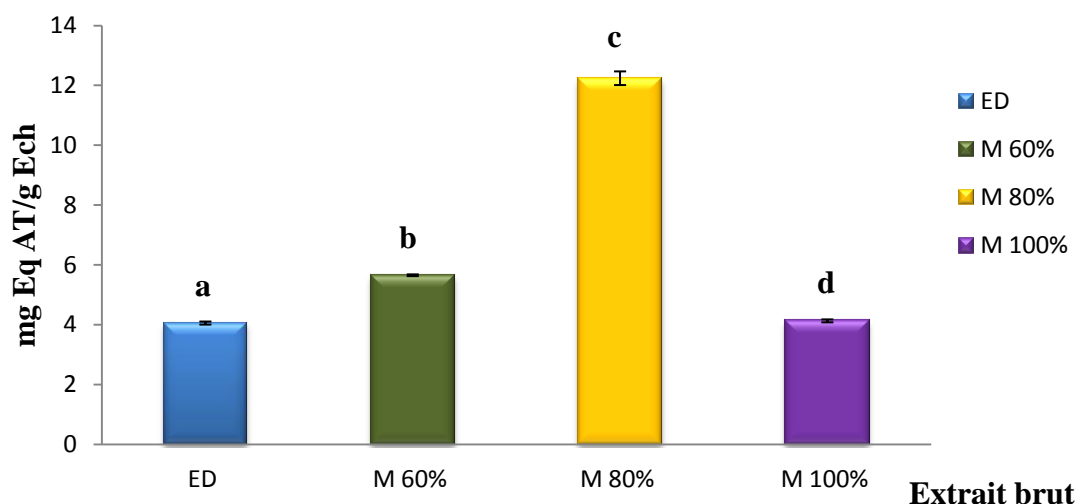


Figure 17 : Teneur en tanins hydrolysables.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes

La substitution partielle ou totale de l'eau distillée avec le méthanol 60%, 80%, 100% entraîne une meilleure solubilisation ce qui explique une augmentation de 1,79% à 201,51%. L'optimum d'extraction est obtenu avec le méthanol 80% avec un taux de 12,24 mg Eq AT/g Ech.

On note aussi une augmentation d'environ 36,88% à 196,18% pour le méthanol 60% et méthanol 80% respectivement par rapport au méthanol 100%.

II-3-4-Teneur en phénols non liés à la protéine :

D'après les résultats (Figure 18) nous constatons une variabilité des teneurs entre les différents extraits.

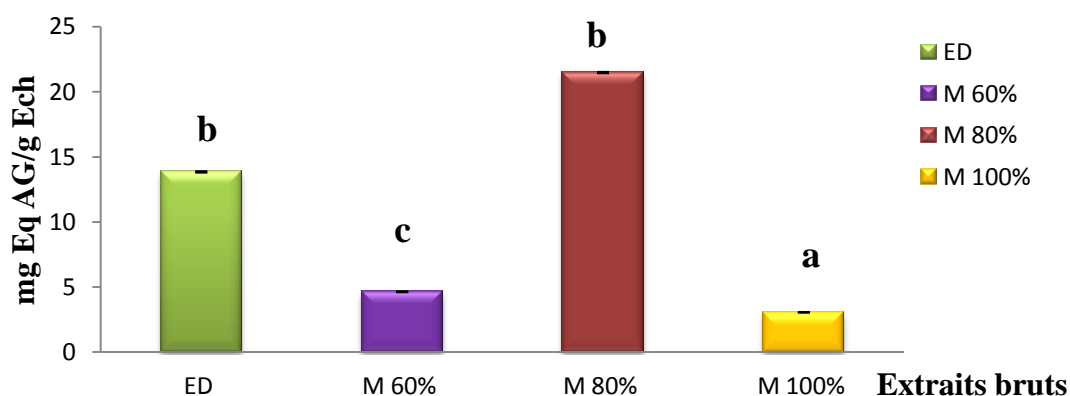


Figure 18 : Teneur en tanins phénols non liés à la protéine.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes

Le méthanol 60% et le méthanol 100% représentent de faibles teneurs par rapport à l'eau distillée et méthanol 80%, ce dernier est l'optimum d'une meilleure solubilisation des phénols non liés à la protéine.

La solubilisation partielle de l'eau distillée avec méthanol 80% s'accompagne d'une augmentation de 55,16%, par contre la solubilisation partielle ou totale avec méthanol 60% et méthanol 100% donne une diminution qui s'établit de 66,53% à 77,96%.

Méthanol 100% représente la plus faible teneur en phénols non liés à la protéine.

II-4- Activité antioxydante

II-4-1-Activité antiradicalaire du DPPH° :

La réduction du radical libre DPPH par les extraits dépend du solvant d'extraction utilisé.

Les résultats expérimentaux (Figure 23) montrent que l'activité antiradicalaire de l'acide ascorbique (98,57%) est supérieure ($p < 0,05$) à celle du BHA (95,45%) utilisé à la concentration de 5,965mg/ml.

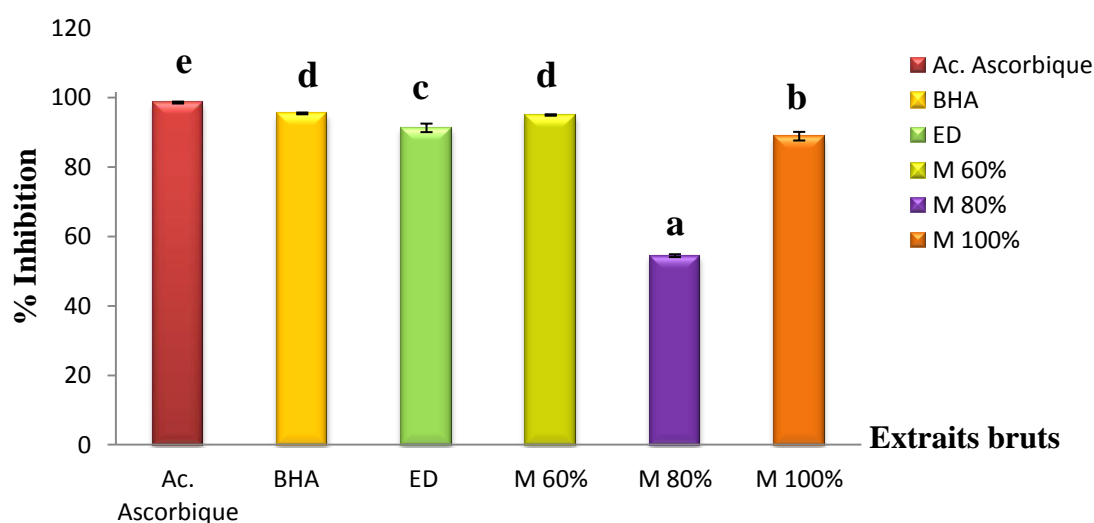


Figure 23 : Activité antiradicalaire du DPPH des extraits bruts

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes

Les extraits aqueux, méthanol 80%, et méthanol 100% présentent une activité significativement inférieure ($p < 0,05$) à celle de l'acide ascorbique et BHA ; nous constatons que le méthanol 60% (94,99%) présente une activité similaire ($p > 0,05$) à celle du BHA (Figure 23).

La substitution partielle de l'eau distillée avec le méthanol 60% augmente l'activité antiradicalaire du DPPH de 4,06% ; en présence de méthanol 80% , cette activité diminue de 40,31%.

La substitution totale de l'eau distillée avec le méthanol pur s'accompagne d'une diminution de l'effet scavenger de 2,62%.

Le méthanol 60% manifeste une forte et optimale activité antiradicalaire du DPPH° avec un taux de 94,99% et une concentration plus élevée (9,6125 mg/ml) par rapport à celle obtenue avec l'extrait aqueux (Figure 24) avec un taux de 91,28% (8,39 mg/ml).

Ces données montrent que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH° augmente proportionnellement avec celle des concentrations des différents extraits.

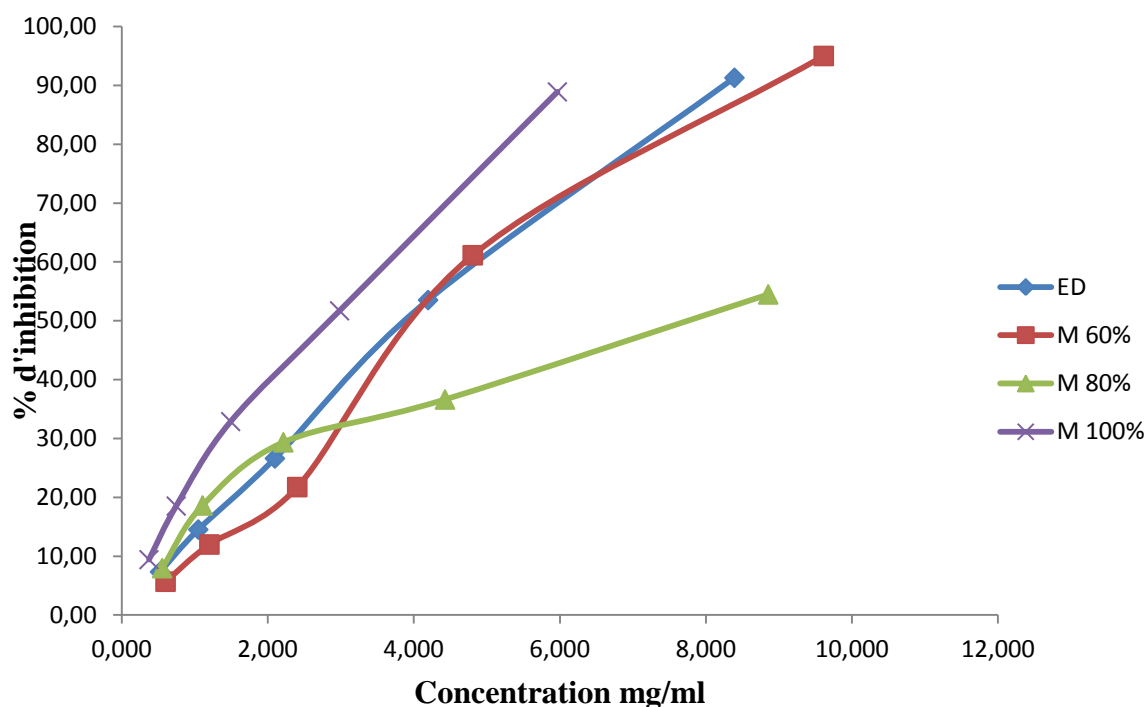


Figure 24 : Effet de la concentration des extraits sur l'activité antiradicalaire du DPPH

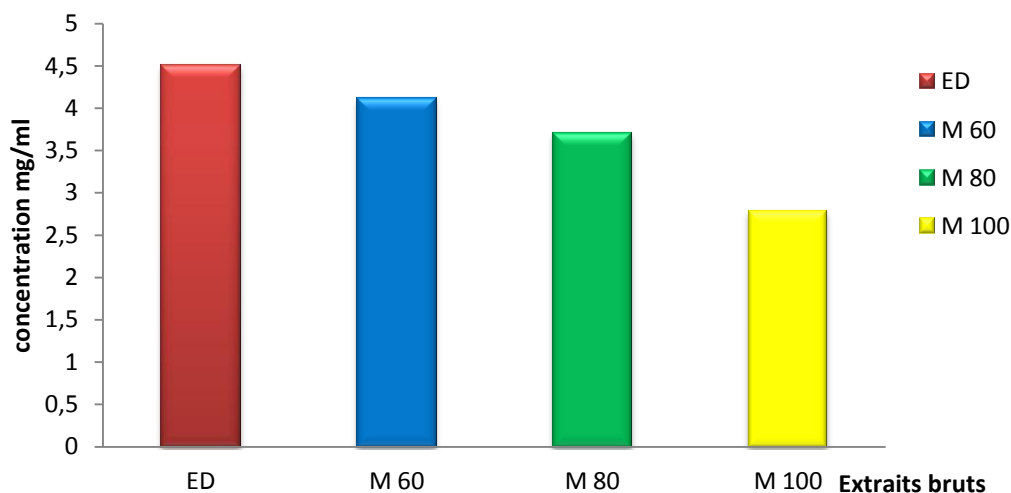


Figure 25 : IC_{50} des différents extraits contre le radical $DPPH^{\circ}$.

Les IC_{50} déterminées (Figure 25) montrent que le méthanol 100% représente une IC_{50} la plus faible (2,79 mg/ml), et une activité antiradicalaire élevée, les résultats indiquent aussi que méthanol 60% représente une IC_{50} faible et une activité inhibitrice élevée.

Au fur et à mesure que l'eau est substituée par du méthanol l'extrait obtenu gagne en efficacité vis-à-vis du DPPH.

II-4-2-Chélation du fer ferreux :

Le pouvoir chélateur du fer par les extraits varie de 2,87 à 10,05% et dépend du solvant d'extraction utilisé.

Les résultats montrent que le pouvoir chélateur de L'EDTA à une concentration 33 μ g/ml est supérieur à celui de tous les extraits (Figure 26).

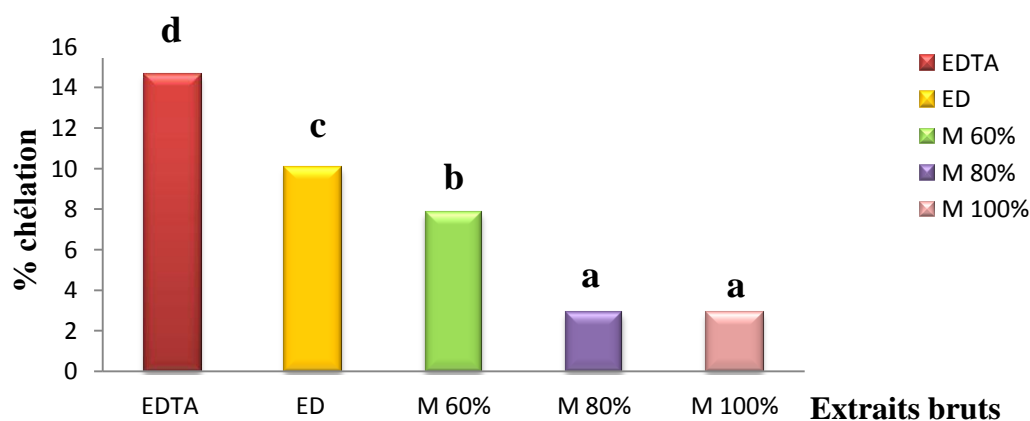


Figure 26 : Chélation du fer ferreux des extraits.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes.

La substitution partielle ou totale de l'eau distillée avec méthanol 60%, méthanol 80%, et Méthanol 100% s'accompagne d'une diminution du pouvoir chélateur de 22,13 à 71,30%.

L'incorporation de l'eau distillée à 20% et 40% dans du méthanol entraîne une augmentation du pouvoir chélateur de 8,13% à 171,30% pour méthanol 80% et méthanol 60% respectivement.

La substitution totale du méthanol par l'eau distillée induit une augmentation de 248,43% du pouvoir chélateur.

II-4-3-Pouvoir réducteur :

Les résultats du pouvoir réducteur (Figure 27), nous renseignent sur une légère différence entre les extraits, surtout entre eau distillée, méthanol 60% et méthanol 80%.

Tous les extraits montrent un pouvoir réducteur inférieur à celui de l'acide ascorbique pris comme témoin.

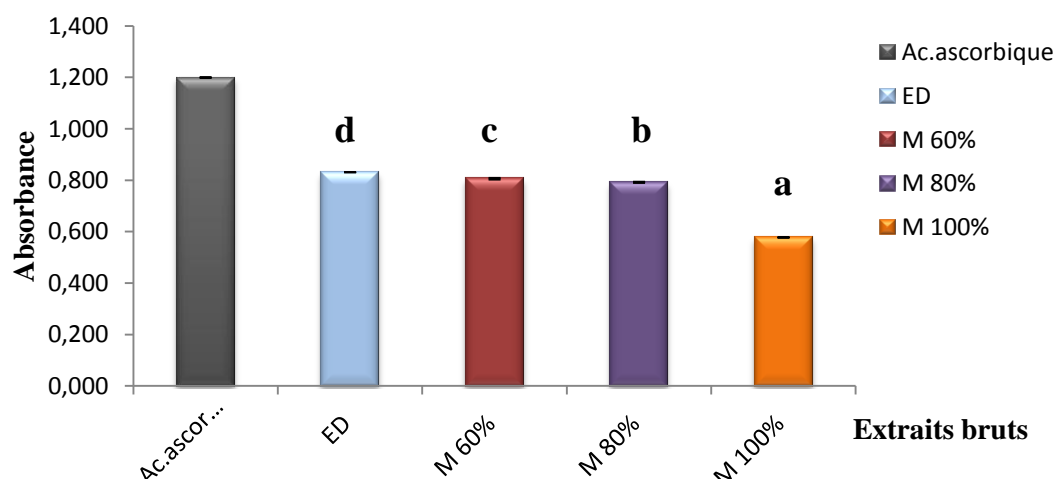


Figure 27 : Pouvoir réducteur des extraits.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes.

La substitution partielle de l'eau distillée par le méthanol 60% et le méthanol 80% s'accompagne d'une diminution du PR de 3,36% à 4,72% respectivement.

Concernant la substitution totale de l'eau distillée par méthanol 100% elle s'accompagne d'une faible réduction du pouvoir réducteur de 30,38%.

L'extrait méthanolique pur présente la plus faible activité réductrice.

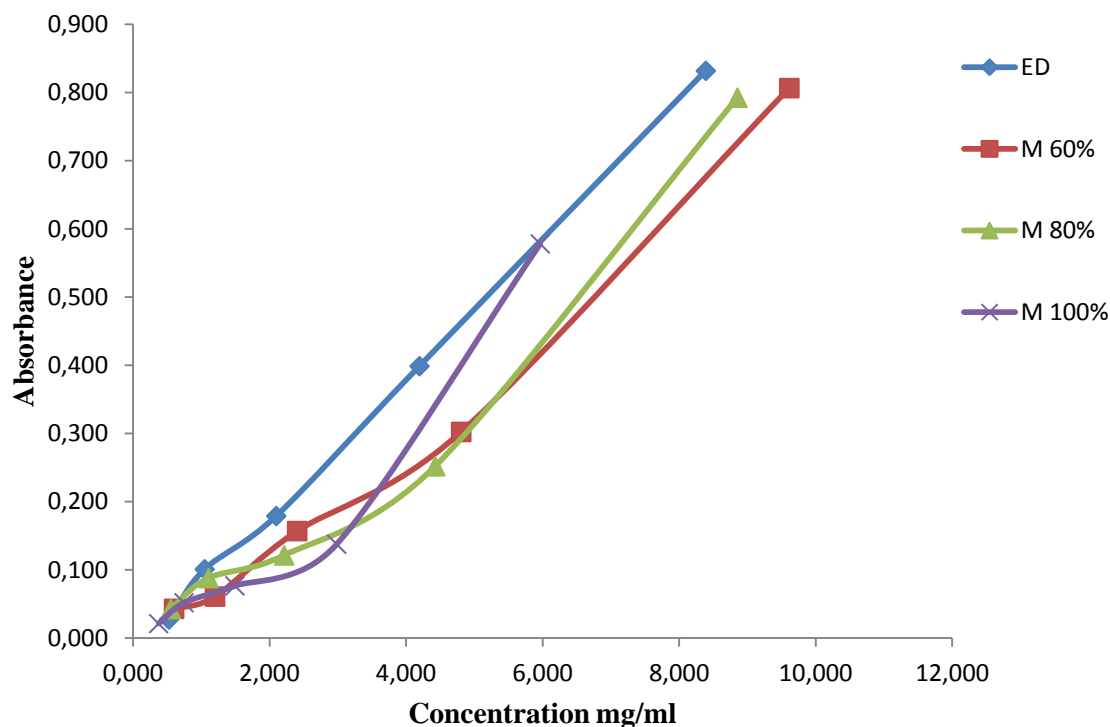


Figure 28 : Effet de la concentration des extraits sur le pouvoir réducteur

L'extrait à l'eau distillée voit son pouvoir réducteur augmenté brusquement dans de faibles concentrations. Les extraits à méthanol passent par une phase d'augmentation progressive suivie d'une phase brusque rejoignant celle de l'eau distillée (Figure 28).

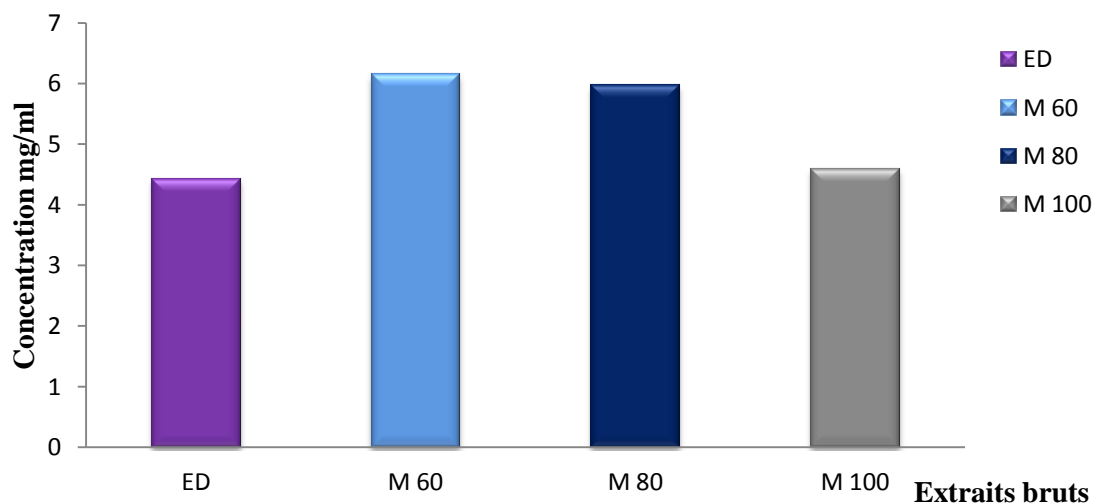


Figure 29 : IC₅₀ des différents extraits contre le pouvoir réducteur

Les valeurs des IC₅₀ des extraits testés (Figure 29) révèlent que les solvants binaires (méthanol 60% et 80%) sont comparables, néanmoins ils sont inférieurs aux solvants purs (eau distillée et méthanol 100%).

III-Discussion

L'objectif du travail réalisé est d'évaluer d'une part la teneur en composés phénoliques d'extrait de fleurs de *Moringa oleifera*, et mesurer l'activité antioxydante de ces extraits.

La présence de différentes classes de composés phénoliques (flavonoïdes, tanins,...etc) s'accorde avec les données de la littérature. La comparaison avec les données de la littérature n'est pas aisée, tant divers facteurs (végétal, saison, climat, variété, procédé d'extraction, solvant utilisé,...etc) peuvent influencer, ainsi le manque de données de la littérature sur les fleurs de *Moringa oleifera*.

L'extraction du matériel végétal a pour but de faire diffuser dans la phase liquide les composés phénoliques présents (**Ryan et al., 2002**) ; et dépend de divers facteurs cités ultérieurement et aussi le temps d'extraction nécessaire pour séparer les composants bioactifs (**Hayat et al., 2009**).

La teneur totale en composés phénoliques est inférieure par rapport aux données rapportées par **Alhakmani et al, (2013)** pour les fleurs de *Moringa oleifera* (19,31 mg Eq AG/g).

Dans nos conditions expérimentales, l'eau distillée n'est pas un solvant efficace pour l'extraction des composés phénoliques des fleurs de Moringa. En accord avec **Mustafa et Turner, (2011)**, nous avons noté que l'incorporation du méthanol à l'eau distillée améliore efficacement la solubilité des composés bioactifs.

Les résultats de la teneur en composés phénoliques (phénols totaux solubles, flavonoïdes et tanins) montrent que le système de solvant binaire (méthanol 60%, méthanol 80%) est plus performant et favorable pour l'extraction que le système de solvants purs : eau distillée, méthanol 100% (**Nawaz et al., 2006 ; Yang et Zhang, 2008**).

La présente étude montre que les fleurs de *Moringa oleifera* sont riches en composés phénoliques, mais les résultats obtenus sont inférieurs à ceux rapportés précédemment par **Verma et al, (2009)** concernant les feuilles de *Moringa oleifera*.

Pour les tanins hydrolysables, on note une variabilité de teneur plus ou moins importante entre les extraits, la teneur la plus élevée est obtenue avec méthanol 80% (12,24mg Eq AT/g échantillon).

Concernant les phénols non liés à la protéine, l'extrait aqueux donne une teneur (21,47 mg Eq AG/g échantillon) proche de celle obtenue avec méthanol 80%.

Tous nos extraits testés possèdent une activité antioxydante, ce potentiel antioxydant varie d'un extrait à un autre.

Selon **Kumbhare et al, (2012)** ; l'extrait méthanolique montre une activité antiradicalaire du DPPH plus importante que l'extrait au chloroforme et éther de pétrole appliqué au *Moringa oleifera*.

En comparant les extraits au standard acide ascorbique (98,57%), les extraits représentent des teneurs inférieures à l'exception du méthanol 60% (94,99%) et l'eau distillée (91,28%) qui sont relativement proche du standard BHA (95,45%), et on note aussi qu'une faible concentration inhibitrice s'accompagne d'une forte activité antioxydante.

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

Le potentiel réducteur de l'acide ascorbique est nettement supérieur à celui des extraits, l'extrait aqueux montre un pouvoir réducteur du fer ferrique (Fe^{3+}) plus élevé que méthanol 100% (0,578).

Nous avons noté que la capacité des extraits méthanoliques à chélater le fer est inférieure à celle de l'EDTA utilisé à une concentration de 33 μ g/ml.

L'extrait eau distillée représente un pourcentage élevé (10,05%), en accord avec les données de **Wang et al, (2009)** ; l'extrait aqueux a montré une capacité de chélation du fer plus élevée que les extraits méthanoliques.

La présence de saponines dans les extraits aqueux participerait à l'expression du pouvoir chélateur (**Ashraf et al., 2013**).

Un antioxydant efficace dans un test n'est pas forcément efficace dans un autre ; par conséquent, la connaissance du profil phénolique d'une plante fournirait des informations précises sur la relation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques (**Miliauskas et al., 2004**).



CONCLUSION

Conclusion

Le présent travail effectué sur les fleurs de *Moringa oleifera* est constitué de deux parties, d'une part le dosage des composés phénoliques et la mise en évidence de quelques métabolites secondaires, et d'autre part l'étude de l'activité antioxydante *in vitro*.

La présence des différentes classes de composés phénoliques (phénols totaux solubles, flavonoïdes, tanins) dans les extraits de fleurs de Moringa a été mise en évidence par différents dosages.

La teneur en phénols totaux solubles varie de 0,62 à 1,94 mg Eq AG/g Echantillon, et varie de 0,60 à 1,24 mg Eq Q/g Echantillon pour les flavonoïdes. Pour les tanins hydrolysables les teneurs sont très variables de 4,06 à 12,24 mg Eq AT/g Echantillon.

Les phénols non liés à la protéine (BSA) variant de 3,04 à 21,47 mg Eq AG/g Echantillon. La variabilité des concentrations en phénols totaux solubles, flavonoïdes, et tanins des différents extraits dépend du solvant d'extraction.

Nos données analytiques ont montré que les fleurs de *Moringa oleifera* originaire du sud d'Algérie (Tamanrasset) représentent des sources appréciables en composés phénoliques et en antioxydants.

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

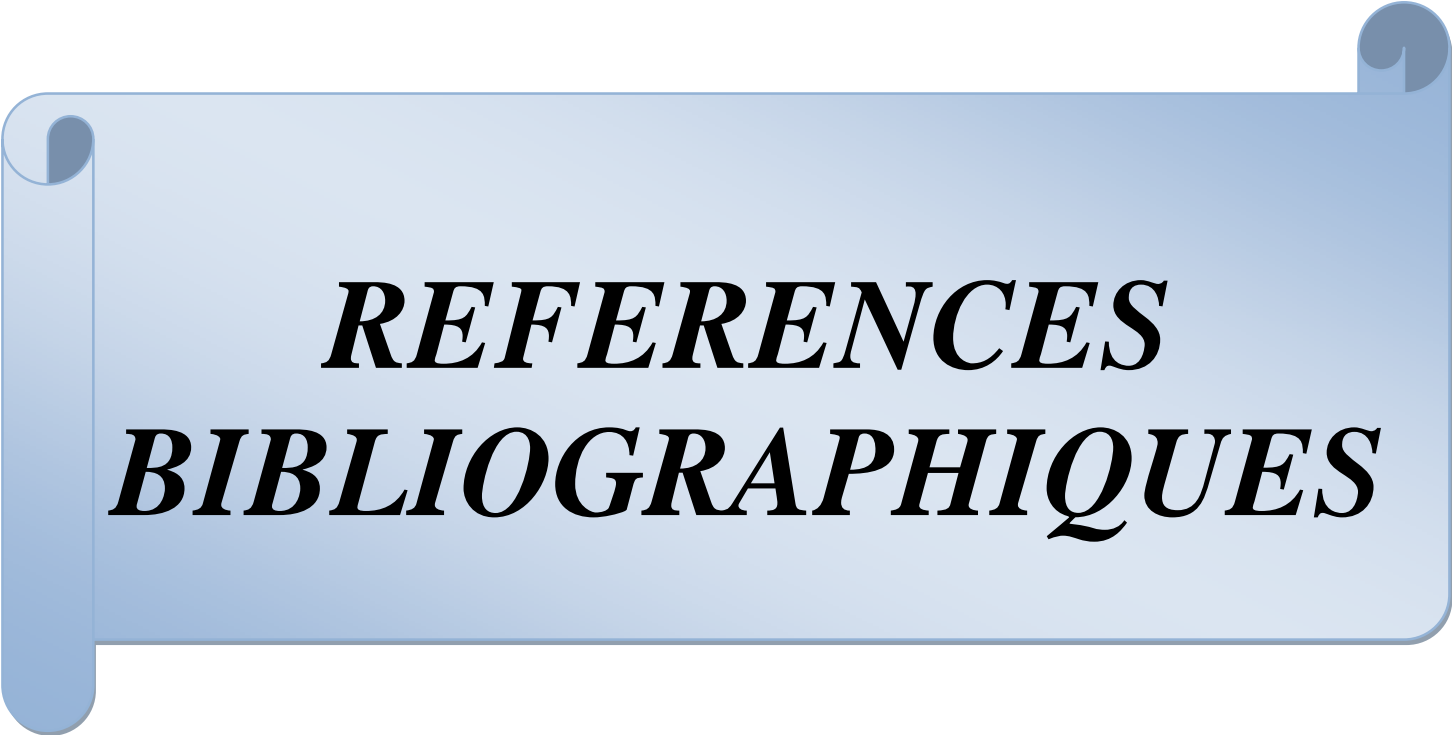
Tous les extraits de fleurs de Moringa étudiés ont la capacité de piéger le radical DPPH qui augmente en fonction de la concentration. Le meilleur résultat est obtenu avec l'extrait méthanol 60% de 94,99% contre 95,45% pour BHA ; l'IC₅₀ varie de 2,79 à 4,11 mg/ml pour les extraits méthanoliques contre 4,51 mg/ml pour l'extrait aqueux.

Pour le pouvoir réducteur l'extrait aqueux manifeste le potentiel le plus élevé avec une absorbance de 0,832 contre 0,578 à 0,806 pour les extraits méthanoliques ; il reste toute fois inférieur à celui de l'acide ascorbique (1,2).

Le pouvoir chélateur du fer des extraits méthanoliques montrent une activité nettement inférieure à celle de l'extrait aqueux (2,87 à 7,82% contre 10,05%) et reste inférieure à celle de l'EDTA (14,63%).

Perspectives

- ✚ Identification et quantification des différents constituants phénoliques.
- ✚ Identification, quantification et caractérisation des constituants non phénoliques solubilisés par les solvants d'extraction.
- ✚ Utilisation de l'activité antioxydante *in vivo* des extraits et effet sur la qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique des aliments.
- ✚ La maîtrise des techniques d'extraction de ses molécules bioactives.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

Achat S.2013. Polyphénols de l'alimentation : Extraction : pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de Doctorat de l'université A.Mira-Béjaia.261p.

Alhakmani F., Kumar S., Okindra A., et Khan A. 2013. Estimation of total phenolic content, *in vitro* antioxidant and anti inflammatory activity of flowers of *moringa oleifera*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 3(8): 623-627

Amana K. 2007. Les anacardiaceae du togo : Etudes botaniques, Ecologiques et propriétés antifongiques. Thèse de Doctorat de l'Université de Reims Champagne-Ardenne.182.

Anwar F., Ashraf M., Iqbal M., et Hanger B. 2005. Inter provenance variation in composition of *moringa oleifera* oil seeds from Pakistan.Jaocs. 1: 82

AOAC. 1975. Official Methods of Analysis. 12 Ed. Association of official Analytical chemists. AOAC Washington,D.C.

Aravodis E. 2005. Antioxidant potential of African medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 4 (2): 128-133.

Ashraf M.F M., Aziz A., Stanslas J., Ismail I., et Abdul Kadir M. 2013. Assessment of antioxidant and cytotoxicity activities of saponin and crude extracts of *Chlorophytum borivillianum*. The Scientific World Journal: 1-7.

Atakpama W., Kponor E.G.E., Kanda M., Dourma M., Nare M., Batawila K., et Akpagana K. 2014.*Moringa oleifera* Lamarck (Moringaceae): une ressource phytogénétique à usage multiple. Rev Cames, Sciences de la vie, de la terre et agronomie 2(1): 6-14.

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

B

Berset C., et Cuvelier M.E.2005. Phenolic compounds and plant extracts protect paprika against UV-induced discoloration. *International Journal of Food Science & Technology.* (1) : 67-73.

Boizot N., Charpentier J.P. 2006. Méthodes rapides d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. In *Amélioration Génétique et Physiologie Forestière, Laboratoire d'Analyse Biochimique.*

Bouchet P., « TANINS ou TANNINS », *Encyclopædia Universalis* [en ligne], consulté le 1 mai 2016. URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/tanins-tannins/>

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

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

Broin M., Saint-sauveur A. 2010. Produire et transformer les feuilles de moringa In *Moringa Association of Ghana.*

Butterfield D.A. 2002. Amyloid B-peptide (1-42) induced oxidative stress and neurotoxicity : Implication for neurodegeneration in alzheimer disease brain. A Review. *Free Radical Research.* (12) : 1307-1313.

D

Dehak K.D. 2013. Méthode d'extraction et de séparation des substances naturelles. Doctorat de chimie : analyse physicochimique et réactivité des espèces moléculaires. Université Kasdi Merbah Ouargla. P 1-16.

Delpha ISIS. 2011. Moringa (*Moringa oleifera Lam*): current uses and pharmacological interest.

Devasagayam TPA., Tilak JC., Boloor KK., SANE KS., ghaskadbi S.S., Lele RD.2004. Free radicals and antioxidants in human health : current status and future prospects. *J A Pl.*vol 52. P 794-804.

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.* P97.

F

Foidl N., Makkar H.P.S. et Becker K. 2001. Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits du Moringa. Dar es Salaam, Tanzanie.

Fuglie L. J. 2001. Combating malnutrition with Moringa. Development potential for Moringa products. Dar es Salaam, Tanzanie.

G

Greber N., Galloway J. 2008. An earth system perspective of the global nitrogen cycle.

Guha S.R.D., Negi J.S. 1965. Wrapping, printing, and writing paper from *Moringa pterygasperma*. Indian Pulp. (6): 377-379.

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

H

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

Halliwell B. 1999. How to characterize a biological antioxidant free radical. Research communication. 9: 1-32.

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

Haslam E. 1996. Natural polyphénols (vegetable tannins) as drugs : possible modes of action. J Nat Prod. (59) : 205-215.

Hayat K., Hussain S., Abbas S., Farook U., Ding B., Xias S., Jia C., Zhang X., Xia W. 2009. Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity *in vitro*. sept.sci.technol.70:63-70.

Hennebelle T. 2004. Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de la lamelles productrices d'antioxydants: *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*,

Références bibliographiques

Ballota pseudodictamnus (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées). Thèse de Doctorat en chimie organique de l'Université des Sciences et Technologies de Lille. 304.

J

Jabri-Karaoui I., Bettaieb I., Msaada K., Hammami M., et Marzouk B. 2012. Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus*. Journal of Functional Foods. 4: 661-669.

Judde A. 2004. Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique: mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quelles antioxydants pour quelles applications ?. Oléagineux, Corps Gras, Lipides. 11(6) : 414-418.

K

Kasolo J.N., Bimeny G.S., Ojok L., Ogwal-okeng J.W. 2011. Phytochemicals and acute toxicity of *Moringa oleifera* roots in mice. Journal of pharmacognosy and phytotherapy. Vol 3: 38-42.

Kebbab R. 2014. Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété Chamlal : évaluation de l'activité avant et après déglycosylation. Magister en biochimie appliquée aux bioindustries. Université de Tizi Ouzou. 171p.

Krief S. 2003. Thèse muséum national d'histoire naturelle. Métabolites secondaires de plantes et comportement animal, surveillance sanitaire et observation de l'alimentation de chimpanzés (*pan troglodytes schweinfurthi*) en ouganda ; Activité biologique et étude chimique de plantes consommées

Kunbhare M.R., Sivakumar G. 2002. Estimation of total phenol 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 et Laleye A. 2015. Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khayasenegalensis*(Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordicacharantia*Linn (Cucurbitaceae)

Références bibliographiques

et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). International journal of Biological and Chemical sciences.9 (5): 2682-2700.

Legrand B. 1977. Action de la lumière sur les peroxydases et sur la teneur en composés phénoliques des tissus de feuilles de cichurium in tibus L. Cultivé *in vitro*. Biologia Plantarum. 19(1) : 27-33

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

M

Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C.2005. Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires. Romandes : 101-121.

Macheix J. J., Fleuriet A., et Sarni-Manchado P. 2006. Composés phénoliques dans la plante-structure, biosynthèse, répartition et roles. In : « Les polyphénols en agroalimentaire ». Ed. Tec&Doc. Lavoisier.1-26

Mahmoudi S., Mustafa K., Nacera M. 2013. “Nature et technologie”.B- science agronomiques et biologique n°9. Etude de l’extraction des C.P de différentes parties de la fleurs d’artichaut(*cynara scolymus* l). 35-40.

Makkar H.P.S et Becker. 1996. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanolextracted*Moringa oleifera* leaves. *Animals feed and sciences technology* 63 : 211-228.

Mamadou B. 2002. Actions pharmacologique des tannins. Thèse de doctorat en pharmacie de l’Université Cheikh Anta Diop de Dekar.57.

Manasse M.J. 2013. Etudes chimique et biologique de saponines isolées de 03 espèces malgaches appartenant aux familles des Caryphyllaceae, Pittospraceae, et Solanareae. Thèse de doctorat spécialité pharmacognosie. Université de bourgogne. 222.

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

Miliauskas G., Venskutonis P. R., et Van Beek T. A. 2004. Screening of radical scavenging.

Références bibliographiques

Mole S., et 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.

Muller D., Peris M., Maquiera A. 1991. Determination of total polyphénols in beers by flow injection analysis. *Food Chemistry*.vol 40. (1): 1-8.

Mustafa A., Turner c. 2011. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction : a review. *Anal. Chim. Acta*.703:8-18.

N

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

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

Norshazila S., Syed Zahir I., Mustapha Suleiman K., Aisyah M. R., & Kamarul Rahim K. 2010. Antioxidant levels and activities of selected seeds of Malaysian tropical fruits. *Malaysian journal of nutrition*, 16(1), 149–59.

O

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

P

Panda S.K., Horie T., Kaneko T., Sugimota G., Sasano S., Shibasaka M., Katsuhara M. 2008. Mechanisms of Water transport mediated by PIP aquaporins and their regulation via phosphorylation events under salinity stress in barley roots. *Oxford Journals : Plant and Cell Physiology*. Vol 52 Issue 4. P. 663-675.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., et Defraigne J-O. 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16 : 233-239.

Références bibliographiques

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

Pothitirat W., Chomnwang MT., Supabphol R., Gritsanapan W. 2009. Comparison of bioactive compounds content, free radical scavenging and anti-acne inducing bacteria activities of extracts from the mangosteen fruit rind at two stages of maturity. Fitoterapia. 80:422-447.

R

Ribereau-Gayon P. 1968. Notion générale sur les composés phénoliques. In « Les composés phénoliques des végétaux ». Ed. Dunod. 1-40.

Ryan D., Antholovich M., Prenzler P. D., Robard K., et Lavee S. 2002. Biotransformation of phenolic compound in *Olea europia L.* Scientia Horticulturae. 92: 147-176.

S

Sarni-Manchado P., et Cheynier V. 2006. Structures phénoliques et gout. In « Les polyphénols en agroalimentaire ». Ed. Tec &Doc. Lavoisier. Paris. 89-134.

Sanchez D., Machado., José A., Gastélum N., Crauhtémo H., et Ramirez-wong B. 2010. Jaime dopez-cervantes, foods and méthodes nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*. 3: 175-180.

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

Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A., Simoniç M., et Knez Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activity. Food Chemistry. 89: 191-198.

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

Sreelatha S., et Padm R . 2009. Antioxidant activity and total phenolic contend of *moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. In Plant foods human nutrition.64: 303-311.

V

Velioglu S.Y., Mazza G., et Oomah B. 1998. Antioxydant activity and total phenolics in selected fruit, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*.

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.

W

Wang T., Jonsdottir R., et O lafsdottir G. 2009. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chemistry* 116: 240-248.

Y

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

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



ANNEXES

Tableau I : Exigences environnementales de Moringa (Saint Sauveur et Broin, 2010).

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

Tableau II : Répartition de quelques composés contenus dans le *Moringa oleifera* (Saint Sauveur et Broin, 2010).

Composés	Localisation
Lignine/cellulose	Branches et tronc
Alcool	Branches
Hormones	Feuille
Bioflavonoïdes	Feuilles, fleurs et pousses
Acide arachidique	Graines et feuilles
Acide oléiques	Graines et feuilles
Acide linoléiques	Graines et feuilles
Acide linoléique	Graines
Ptérygospermine	Fleurs

Tableau III : Parties de la plante et leurs intérêts (Saint Sauveur et Broin, 2010)

Partie de la plante	Intérêts ou usages
Feuilles	Alimentation, fourrage, biomasse, hormones de croissance végétale, médicinal
Fleurs	Alimentation, médicinal, miel
Fruits	Alimentation, médicinal
Graines	Cosmétique, alimentaire, traitement des eaux, médicinal
Racines	Médicinal
Bois	Papier, production d'alcool, alimentation animale, médicinal
Ecorces	Corde, teinture, gomme pour tannage, médicinal

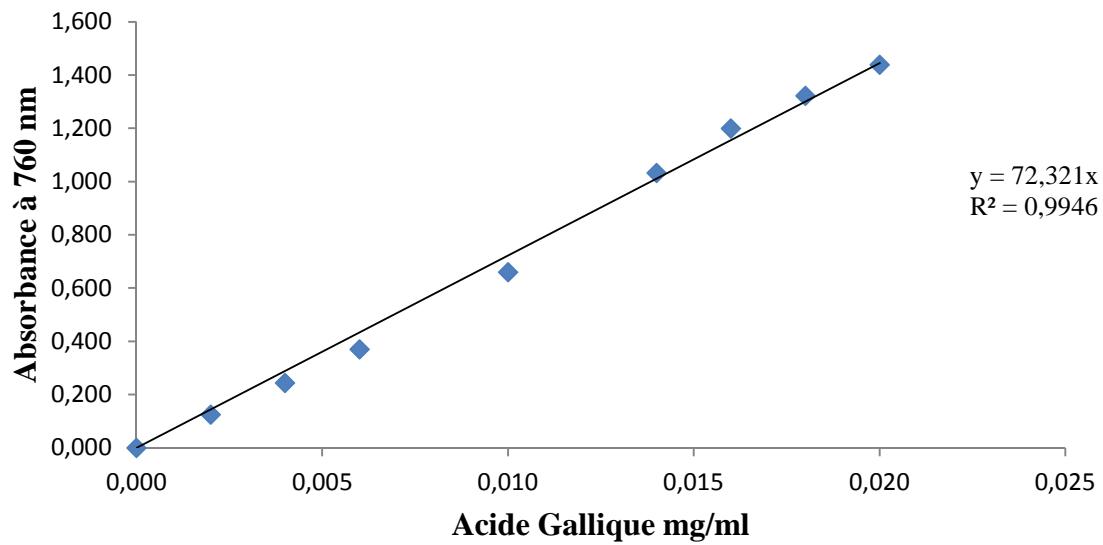


Figure 01: courbe d'étalonnage d'acide gallique

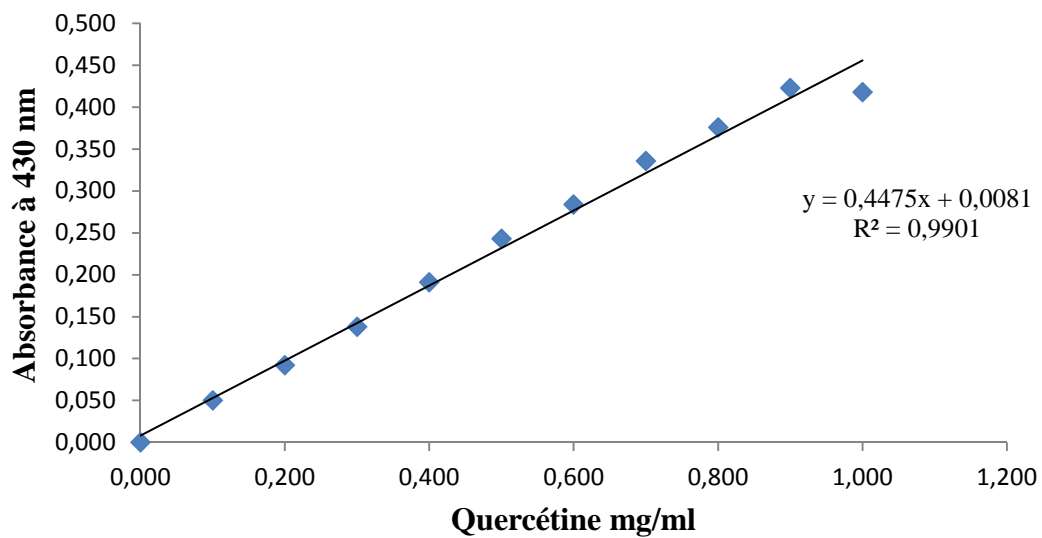


Figure 02 : Dosage des flavonoïdes

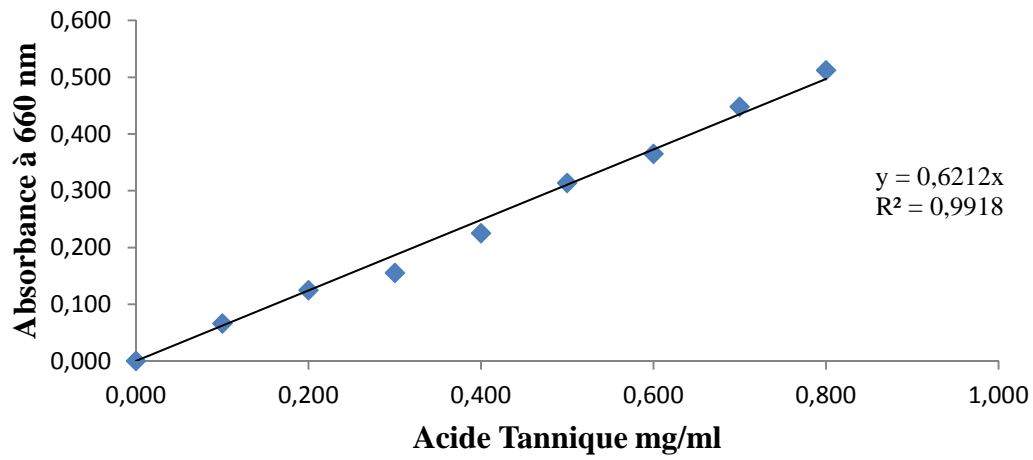


Figure 03 : Courbe d'étalonnage des tanins hydrolysables

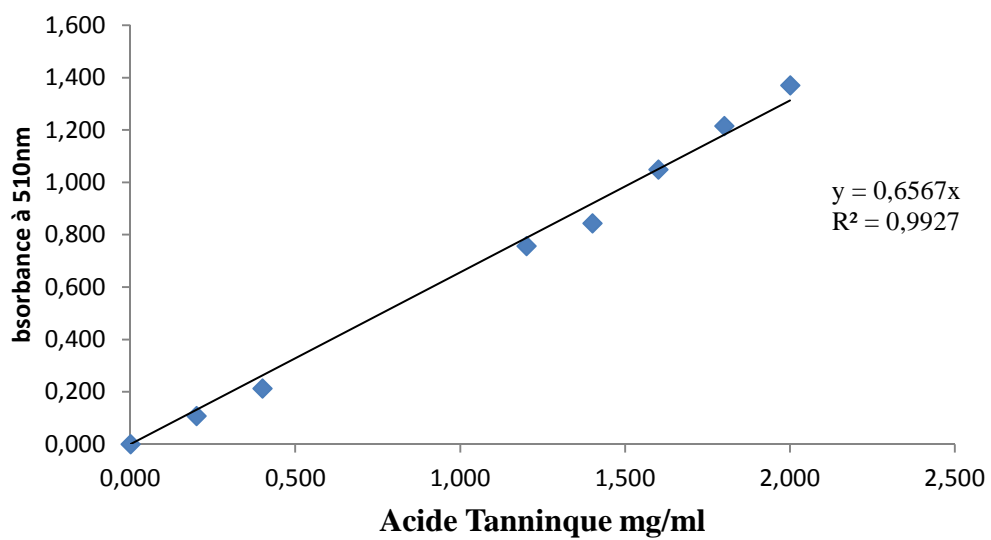


Figure 04 : Courbe d'étalonnage des phénols non liés à la protéine

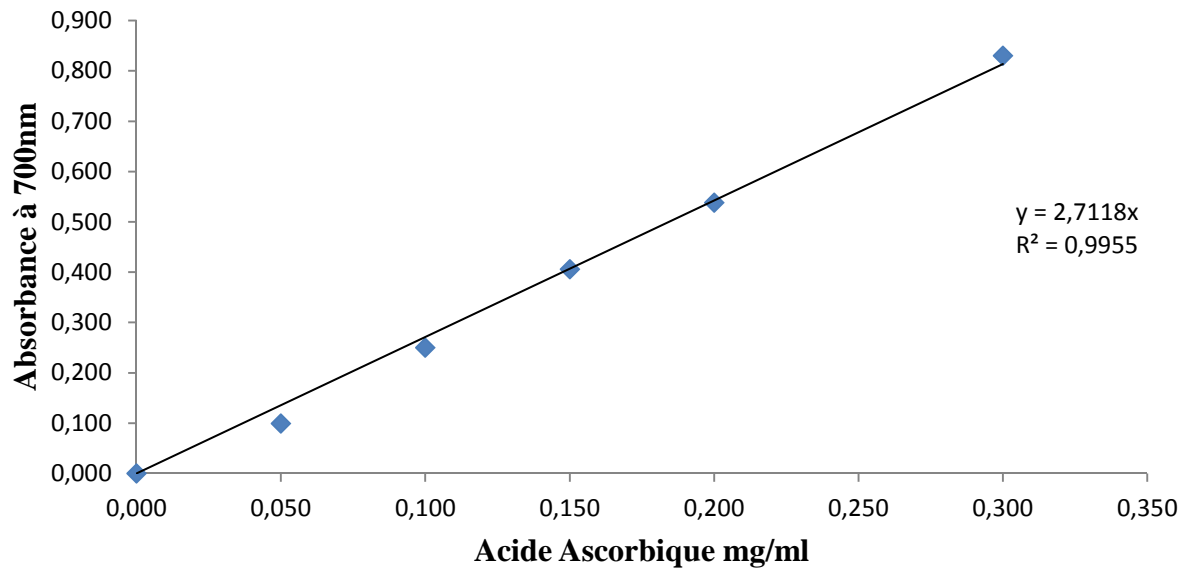


Figure 05: courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

Préparation des solutions:

solutions	Réactifs
Méthanol 60%	100 ml du méthanol pure +72.82 ml d'eau distillée.
Méthanol 80%	100ml du méthanol pure + 28.59 ml d'eau distillée.
Solution de folin ciocalteu (0.1N)	10 ml du folin- ciocalteu ajusté à 100 ml d'eau distillée.
Solution de carbonate de sodium(NO_2CO_3) 75g /l	7.5 g de carbonate de sodium ajusté à 100 ml d'eau distillée.
Solution de chlorure d'aluminium ($6\text{H}_2\text{O}$) a 2%	2g $\text{AlCl}_3 (6\text{H}_2\text{O})$ ajusté à 100 ml du méthanol 100%.
Réactif de bouchardat	2g de l'iode bisubliné (I_2) +2 g de KI ajusté a 100 ml de l'eau distillée.
Réactif C	0.085 ml de HCL concentré (36%) dilué dans 1 ml de l'eau distillée, on dissout 1.62 g de FeCl_3 de cette solution (1L HCL 0.01 M).
Tampon acétate	11.4 ml d'acide acétique glacial + 9.86 g de NaCl dissoudre dans 800 ml de l'eau distillée, puis ajusté le PH a 4.9 par NaOH, puis ajusté le tampon acétate a 1 L de l'eau distillée.
Solution de NaOH	16 g de NaOH ajusté a 100 ml d'eau distillée.
Solution de BSA	0.1 g de la BSA ajusté à 100 ml de tampon acétate.
Solution SDS/TEA	10 g de SDS ajusté à 50 ml de TEA puis ajusté a 1L de l'eau distillée.
NaOH 2M	16 g de NaOH + 200ml de l'eau distillée.
Solution DPPH (65$\mu\text{M/L}$)	0.0024g DPPH dans 100ml de méthanol pur
Tampon phosphate (0.2 M, pH 6.75)	0.68 gde KH_2PO_4 (acide) dans 100ml d'eau distillée 0.87 g de K_2HPO_4 (basique) dans 100ml d'eau distillée La solution acide est ajustée avec la solution basique jusqu'a l'obtention d'un PH=6.75

Ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) 1%	1g de K ₃ Fe(CN) ₆ dans 100ml d'eau distillée
Acide trichloracétique (TCA) 10%	10g de TCA dans 100 ml d'eau distillée
Chlorure ferrique (Fe Cl₃) à 0.1%(P/V)	0.1g de FeCl ₃ dans 100ml d'eau distillée
FeCl₂ (2H₂O) 2mM	0.025g de FeCl ₂ (2H ₂ O) dans 100ml d'eau distillée
Ferrozine 5mM	0.123gde ferrozine dans 50ml d'eau distillée
EDTA (33µg/ml)	33µg dans un 1ml d'eau distillée
Acide ascorbique	0.005965g dans un 1 ml méthanol 100% 0.0096125g dans un 1ml méthanol 100%
BHA	0.005965g dans un 1 ml méthanol 100% 0.0096125g dans un 1ml méthanol 100%
Chlorure ferrique (Fe Cl₃) à 2%	2g (Fe Cl ₃) dans 100ml l'eau distillée

Résumé

Les plantes renferment une large variété de molécules chimiques (peptides, terpènes, polyphénols, alcaloïdes...) de propriétés physico-chimiques très différentes et qui présentent une large variété d'activités biologiques (antitumorale, antivirale, antimicrobienne, antioxydante cicatrisante...). La valorisation de ces principes actifs d'origine naturelle représente donc un potentiel économique énorme.

En raison de l'incidence croissante de nombreuses maladies liés au stress oxydatif, il a été jugé essentiel d'inclure les composés bioactifs tels que les composés phénoliques dans la formulation d'aliments complémentaires.

Par sa composition *Moringa oleifera* est une plante d'intérêt nutritionnel et médicinal décrite pour sa richesse en métabolites secondaires (flavonoïdes, tanins... etc).

Le but de ce travail est d'évaluer d'une part, la teneur en composés phénoliques d'extraits méthanoliques et aqueux de fleurs de *Moringa oleifera* et d'autre part de mesurer leur potentiel antioxydant.

La teneur en composés phénoliques dépend du solvant d'extraction : les extraits méthanoliques révèlent une teneur plus élevée par rapport à celles révélées dans l'extrait aqueux.

L'activité antioxydante des extraits bruts a été étudiée en évaluant leur capacité à inhiber le radical DPPH°, en mesurant leur pouvoir réducteur, et en déterminant le pourcentage de chélation du fer ferreux.

Les résultats ont montré que l'extrait aqueux à un pouvoir réducteur (0,832) supérieur aux extraits méthanoliques, ainsi que la capacité de chélation du fer ferreux (10,05%) supérieure. L'activité antiradicalaire du DPPH° de l'extrait méthanolique (méthanol 60%) présente un pourcentage d'inhibition (94,99%) proche du standard BHA (95,45%).

Mots clés : *Moringa oleifera*, fleurs, composés phénoliques, Extrait brut, activité antioxydante,

Abstract

Plants contain a wide variety of chemical molecules (peptides, terpenes, polyphenols, alkaloids ...) physico-chemical properties quite different and that exhibit a wide variety of biological activities (antitumor, antiviral, antimicrobial, and antioxidant healing ...). The valuation of these active ingredients of natural origin represents an enormous economic potential.

Because of the increasing incidence of many oxidative stress-related diseases, it was considered essential to include bioactive compounds such as phenolic compounds in the formulation of complementary foods.

By its composition *Moringa oleifera* is a nutritional and medicinal plant described wealth for its secondary metabolites (flavanoids, tannins...etc).

The aim of this study is to evaluate the one hand, the phenolic content of méthaloniques and watery extracts of flowers of *Moringa oleifera* and secondly to measure their antioxidant potential.

The phenolic compound content depends on the extraction solvent, the methanol extracts reveal a higher content compared to those disclosed in the aqueous extract.

The antioxidant activity of the crude extracts was studied by evaluating their ability to inhibit the DPPH radical, by measuring their reducing power, and determining the percentage of ferrous iron chelation.

The results showed that the aqueous extract to a reducing power (0.832) is higher than methanol extracts, and the chelating ability of the ferrous iron (10.05%) higher. The DPPH radical-scavenging activity of methanolic extract (methanol 60%) has a percentage of inhibition (94.99%) close BHA standard (95.45%).

Keywords : *Moringa oleifera*, flowers, phenolics compound, crude extracts, antioxidant activity.