

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique
Université Abderrahmane MIRA de Bejaia
Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique



Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

Thème

Analyse phytochimique de Produits de *Moringa oleifera*

Présenté par : CHIKH CHAHINEZ et IDIR LATIFA

Composition du Jury :

M ^r M. HAMMOUM	MAB	Président
M ^r F. ZAIDI	Professeur	Encadreur
M ^{me} N. HASSISSENE	MCA	Examinatrice
M ^{elle} F. BRAHAM	Doctorante	Invitée

Année universitaire : **2015 / 2016**

Remerciements

Avant tout nous tenant à remercier dieu le tous puissant qui nous a donné la santé, la volonté, la puissance et nous a guidé à réaliser ce modeste travail.

Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer notre profonde gratitude à Mr. Zaidi. F notre promoteur d'avoir accepté de nous encadrer et pour ses conseils et ses orientations.

Nous remercions également notre Co-promotrice, Melle Braham. F pour sa disponibilité, ses conseils et ses encouragements.

Nous tenant à remercier aussi :

Mr Hammoum. M d'avoir accepté de présider le jury chargé d'évaluer ce travail.

Mme Hassissene .N d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions les membres du laboratoire pour leur accueil et la bonne ambiance qui a régné tout au long de la préparation du mémoire.

Nous remercions aussi toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

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 :

-M^r DADA MOUSSA recteur de l'université d'Ouargla (Ex-recteur de l'université Tamanrasset).

-M^r CHINOUNE recteur de l'université de Tamanrasset.

-M^{me} SAHKI (responsable a l'INRF Tamanrasset)

-M^r BENBERI (chef de sécurité de l'université de Tamanrasset)

-M^r ZENDRI et sa femme

-M^r BENADEKRIM (Agent a la pépinière Abalessa)

-La conservation des forêts de Tamanrasset

-Les agriculteurs d'Outoul et Tanghakli



Dédicaces

Avant tout je remercie dieu tout puissant qui a guidé mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études

A mes chers parents, merci de m'avoir toujours soutenu durant mon enfance et pendant les années d'études, pendant les bons moments et les plus difficiles, merci de m'avoir toujours encouragé et cru en moi et merci pour tout ce que vous m'avez appris et apporté.

A mes chères sœurs (Hafida et Rachida)

A mon cher frère (Azzedine)

A mon cher neveu (Badis)

Aux autres membres de ma famille

A mes chères amies (Yasmine et Meriem).

Enfin le mérite de ce travail revient à toutes les personnes qui ont participé à sa réalisation et aux quelles j'exprime ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements.

Latifa

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

A ceux qui m'ont encouragée et soutenue dans mes moments les plus difficiles

Et ceux à qui je dois tant

A mes chers parents pour leur amour et leur support continu

Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A mes chers et agréables frères : Athmane, Farouk et Yanis

A ma belle-sœur : Kahina.

A toute la famille : Chikh et Halou

A ma très cher copine Yasmine et sans oublié : Meriem, Kahina, Zahida et Amel

A ma collègue Latifa et toute sa famille

A toutes les mains qui m'ont été tendues...

A toute la promotion biochimie appliquée : 2015/2016.

chahinez

Liste des abréviations :

AA : Acides aminés.

Abs : Absorbance.

BSA : Sérum bovin albumine.

C° : Degré Celsius.

DMSO : Dimethylsulfoxyde

DNS : Dinitrosalicylique.

E .AG : Equivalent acide gallique.

E. AT : Equivalent acide tannique.

ED : Eau distillée.

E Q : Equivalent quercetine.

H : Heure.

M : Molarité.

min : Minute

MS : Matière sèche.

N : Normalité.

pH : Potentiel d'hydrogène.

PLNP : Phénols non liées à la protéine.

PTS : Phénols totaux solubles.

SDS : Sodium Dodécyl Sulfate.

TC : Tanins condensés.

TEA : tétraéthylamonium.

TH : Tanins hydrolysables.

rpm : Tour par minute

UV : Ultraviolet.

Liste des figures

Figure 1 : Distribution de <i>Moringa oleifera</i> dans le monde.....	02
Figure 2 : Arbre de <i>Moringa oleifera</i>	05
Figure 3 : Feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	05
Figure 4 : Fleurs de <i>Moringa oleifera</i>	06
Figure 5 : Gousses fraîches et gousses sèches de <i>Moringa oleifera</i>	06
Figure 6 : Graines et amandes de <i>Moringa oleifera</i>	07
Figure 7 : Consommation des gousses.....	09
Figure 8 : Utilisation des graines dans la purification de l'eau.....	10
Figure 9 : Principaux types d'acide hydroxybenzoïque.....	12
Figure 10 : Principaux types d'acide hydroxycinnamique.....	13
Figure 11 : Structure de base des flavonoïdes.....	14
Figure 12 : différentes classes des flavonoïdes.....	14
Figure 13 : Quelque exemple de tanins hydrolysables.....	15
Figure 14 : Quelque exemple de tanins condensés.....	15
Figure 15 : Quelque exemple des terpènes.....	16
Figure 16 : Quelque exemple d'alcaloïdes.....	17
Figure 17 : Structure de l' α amylase.....	18
Figure 18 : Les différents mécanismes potentiel d'interaction entre les polyphénols et les protéines.....	19
Figure 19 : Plante et feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	20
Figure 20 : Poudre de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	20
Figure 21 : Extraction des matières grasses par soxhlet.....	21
Figure 22 : Schéma d'extraction des différentes classes de protéine de réserve.....	24
Figure 23 : Protocole d'extraction des sucres totaux.....	26
Figure 24 : Réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes.....	29
Figure 25 : Protocole de dosage des tanins totaux et des phénols non liés à la protéine.....	31

Liste des figures

Figure 26 : Composition chimique de la poudre de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	35
Figure 27 : Teneurs des différents types de protéines des extraits de feuilles de <i>Moringa</i> ...	35
Figure 28 : Teneurs en phénols totaux solubles des différents extraits.....	36
Figure 29 : Teneurs en flavonoïdes des différents extraits.....	37
Figure 30 : Teneurs en tannins hydrolysables des différents extraits.....	38
Figure 31 : Teneurs en phénols non liés à la protéine des différents extraits.....	39
Figure 32 : Mise en évidence des saponines dans les extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	40
Figure 33 : Mise en évidence des terpénoïdes dans les extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	40
Figure 34 : Mise en évidence des alcaloïdes dans les extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	41
Figure 35 : Mise en évidence des tannins dans les extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	41

Liste des tableaux

Tableau I : Classification de *Moringa oleifera*.....03

Tableau II : Conditions environnementales de *Moringa oleifera*.....04

Tableau X : Dispositif expérimentale utilisés pour l' α - amylase.....32

Tableau XI : Résultats de la mise en évidence des saponines, terpénoïdes, alcaloïdes et tannins.....42

Introduction.....	1
-------------------	---

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la plante

I. Données générales sur <i>Moringa oleifera</i>	2
I.1.Origine et répartition géographique	2
I.2.Dénomination et taxonomie.....	2
I.3.Propagation et croissance	3
I.4.Exigences environnementales.....	3
I.5.Morphologie et caractéristiques physiologiques.....	4
I.6.Composition nutritionnelle de <i>Moringa oleifera</i>	7
I.6.1.Composition chimique des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	7
I.7.Utilisations.....	8
I.7.1.Alimentation.....	8
I.7.1.1.Alimentation humaine.....	8
I.7.1.2.Alimentation animale.....	9
I.7.2.Domaine médical et pharmacologique.....	9
I.7.3.Purification de l'eau.....	9
I.7.4.Accélérateurs de croissance végétale.....	10

Chapitre II : Métabolites secondaires

II. Métabolites secondaires.....	11
II.1.Définition.....	11
II.2.Classification.....	11

II.2.1. Les composés phénoliques.....	11
II.2.1.1. Les acides phénoliques.....	12
II.2.1.2. Les flavonoïdes.....	13
II.2.1.3. Les tannins.....	14
II.2.2. Les terpènes.....	16
II.2.3. Les alcaloïdes.....	17
II.3. Interactions polyphénols-protéines.....	17
II.3.1. Rappel sur les protéines.....	17
II.3.2. Rappel sur les enzymes.....	18
II.3.3. Mécanisme d'interaction.....	19
II.3.4. Influence des conditions externes sur l'interaction.....	19
II.3.5. Conséquences nutritionnelles d'interaction.....	19

Partie pratique

Chapitre III : Matériels et Méthodes

III.1. Matériel végétal.....	20
III.1.1. Origine et provenance des échantillons.....	20
III.1. 2. Préparation des échantillons.....	20
III.2. Composition chimique globale.....	21
III.2.1. Extraction et dosage des différents types de protéines.....	24
III.2.1.1. Extraction.....	24
III.2.1.2. Dosage.....	25
III.2.2. Extraction et dosage des sucres totaux.....	26
III.2.2.1. Extraction.....	26

III.2.2.2.Dosage.....	27
III.2.3.Dosage des sucres réducteurs.....	27
III.3.Extraction et dosage des composés phénoliques.....	28
III.3.1.Extraction.....	28
III.3.2.Dosage des phénols totaux solubles	28
III.3.3.Dosage des flavonoïdes.....	29
III.3.4.Dosage des tannins totaux et des phénols non liés à la protéine.....	30
III.3.5.Dosage des tannins hydrolysables.....	31
III.4.Mise en évidence de la présence d'autres métabolites secondaires.....	32
III.4.1.Saponines.....	32
III.4.2.Alcaloïdes.....	32
III.4.3.Terpénoïdes.....	32
III.4.4.Tannins.....	32
III.5.Effet des extraits des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> sur l'activité de l' α -amylase.....	33
III.6.Analyse statistique.....	34
Chapitre IV : Résultats et discussion	
IV. Résultats et discussion.....	35
IV.1. Composition chimique globale.....	35
IV.2. Teneur en composés phénoliques.....	36
IV.2.1. Teneur en phénols totaux solubles.....	36
IV.2.3. Teneur en flavonoïdes.....	37
IV.2.4. Teneur en tanins hydrolysables	38
IV.2.5. Teneur en phénols non liés à la protéine.....	39
IV.3. Mise en évidence de métabolites secondaires.....	39

IV.4. Effet des extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i> sur l'activité de l' α -amylase.....	42
V. Discussion générale.....	43
Conclusion et perspectives.....	45
Références bibliographiques.....	46
Annexes	

L'utilisation des plantes en phytothérapie, a été connue depuis l'antiquité. Ibn khaldoun (1958), dans son introduction dit que « l'Homme est le fils de son environnement », par conséquent l'Homme serait influencé par les composantes de son environnement, cette influence s'appuie sur ses comportements, ses traditions, sa culture ainsi que les ressources végétales (**Iserin, 2001**).

Les végétaux supérieurs ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques complexes, de nombreux composés phytochimiques qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation et en cosmétologie et de diverses fonctions notamment en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Les métabolites secondaires (terpènes, polyphénols, alcaloïdes...) se sont illustrés en thérapeutique et présentent des propriétés physico-chimiques très différentes et une large variété d'activités biologiques antioxydantes, antivirales et antimicrobiennes (**Vanisree et Hsin-sheng, 2004**).

Les espèces de Moringa, et en particulier *Moringa oleifera*, appartenant à la famille des Moringacées, originaire des régions du nord-est de l'Inde sont de plus en plus utilisées dans les projets de développement liés à l'alimentation, la santé et l'environnement. *M.oleifera* n'a commencé à attirer l'attention de certains chercheurs que très récemment. Plusieurs études réalisées dans différents pays ont prouvé les différentes vertus de cette plante, tant nutritionnelles que thérapeutiques grâce à la richesse de ses différents organes et en particulier les feuilles par leur richesse en éléments nutritionnels (**Jed et al., 2005**).

L'incorporation de poudre de feuilles de *M. oleifera* dans l'alimentation humaine s'est avérée bénéfique. Un certain nombre de facteurs antinutritionnels ont également été trouvés dans les feuilles (tannins, composés phénoliques...) provoquant des effets antinutritionnels pour leur action sur les protéines et les polysaccharides empêchant ainsi leur assimilation par l'organisme et par inhibition de l'activité des enzymes digestifs (**Gonçalves et al., 2010**).

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche et de la valorisation de *Moringa oleifera* récoltée dans le sud algérien. Dans une première étape nous avons déterminé la composition chimique globale de ses feuilles. Dans une seconde étape nous avons évalué les teneurs en composés phénoliques solubles des extraits au méthanol et à l'eau. Dans une troisième étape, nous nous sommes intéressées à la mise en évidence de la présence d'autres métabolites secondaires dans ces mêmes extraits aussi qu'une approche in vitro de l'effet inhibiteur de l'activité de l' α -amylase.

I. Données générales sur *Moringa oleifera lam*

I.1. Origine et répartition géographique

Moringa oleifera lam (synonyme : *M. pteriosperma gaetner*) appartient à une famille monogénérique d'arbres et arbustes. Les Moringacées (Jed *et al.*, 2005 ; Abdul Hannan *et al.*, 2014). Il a été utilisé par les anciens romains, grecques et égyptiens, il semble être originaire des régions d'Agra et de Oudh, au nord-est de l'Inde, au sud de la chaîne de montagne de l'Himalaya (Mishra *et al.*, 2012). Cet arbre se rencontre à l'état naturel jusqu'à 1000 m d'altitude, il pousse relativement bien sur les versants mais est plus répandu dans les zones de pâturages et les bassins des rivières. Il pousse rapidement, jusqu'à 6 ou 7 mètres en un an, même dans des zones recevant moins de 400mm de précipitations annuelles. *Moringa oleifera* est aujourd'hui cultivé à travers le Moyen-Orient, ainsi que tout le long de la ceinture tropicale (Figure 1). Il a été introduit en Afrique de l'Est au début du 20^{ème} siècle (Farooq *et al.*, 2007).



Figure1 : Distribution de *Moringa oleifera* dans le monde (Roloff *et al.*, 2009).

I.2. Dénomination et taxonomie

Moringa oleifera lam appartient à la famille des Moringacées qui comprend 13 espèces. Les douze autres espèces sont bien connues *M. arborea*, *M. borziana*, *M. concanensis*, *M. drauhardii*, *M. hildebrandtii*, *M. longituba*, *M. ovalifolia*, *M. peregrina*, *M. pygmaea*,

M.rival, *M.uspoloniana*, *M.stenopetala* (Hedji et al., 2014). Cet arbre porte différents noms vernaculaires selon les régions : Mouroungue, Moringa ailé, benzolive, poids quinique et néverdié (pays francophones), Malunggay ou meilleure amie des mères (aux Philippines), Rawag, Shagara al Rawag (pays arabes), Radish tree, Never die tree, Drumstick tree (pays anglophones), Ben ailé, Noix de behen, Moringoa ou Moringa, etc. (Paiva et al., 2011). Une classification classique pour *Moringa oleifera* a été réalisée comme plusieurs autres espèces (Tableau I, annexe 1).

Tableau I : Classification de *Moringa oleifera* (www.tela-botanica.org).

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

I.3. Propagation et croissance

Moringa oleifera est planté par semis direct ou en utilisant des boutures de tiges. Les feuilles de cet arbre persistent du mois de Janvier jusqu'à Décembre et elles tombent au mois Décembre ; une nouvelle croissance commence en Février jusqu'au Mars. Il fleurit après 8 mois de plantation ; la floraison commence en Janvier et persiste jusqu'au mois de Mars. Ses fruits deviennent matures à partir du mois d'Avril jusqu'à Juin (Agbogidi et Ilondu, 2012).

I.4. Exigences environnementales

Moringa oleifera tolère une large gamme de précipitations avec des exigences minimales en matière de précipitations annuelles estimées à 250 mm et au maximum à plus de 3000 mm. Moringa pousse dans des sols dont le pH varie entre 5 à 9 (Kafuku et

Mbarawa, 2010). *Moringa oleifera* s'adapte bien à différentes conditions climatiques parmi lesquelles le climat semi-désertique (annexe 1). La meilleure croissance est observée dans des sols sablonneux et secs grâce à ses capacités de résistance à la sécheresse (**Noumo Ngangmou et al., 2013**).

Tableau II : Conditions environnementales de *Moringa oleifera* (**Krishna Prasad, 2009**).

Paramètres	Valeur /Fourchette
Climat	Tropical ou subtropical
Altitude	0-2000 m
Température	25-35 °c
Pluviométrie	250mm-2000mm Irrigation nécessaire pour la production des feuilles si pluviométrie < 500mm
Type de sol	Limoneux, sableux ou sablo-limoneux
pH du sol	Légèrement acide à légèrement alcalin

I.5.Morphologie et caractéristiques physiologiques

Moringa est un arbre pérenne (Figure2) pouvant mesurer jusqu'à 10 à 12m. C'est un arbre à croissance rapide (2,5 m au bout de trois mois) qui demande très peu d'eau (**Dongmeza et al., 2006**). Une fois qu'il atteint la maturité, si les branches ne sont pas coupées pour récolter les feuilles, les arbres de *Moringa* fleurissent et produisent une grande quantité de fruits chaque année. Une fois que les fruits se dessèchent, les graines peuvent être facilement récoltées et pressées pour leur huile (**Lalas et Tsaknis, 2002**).

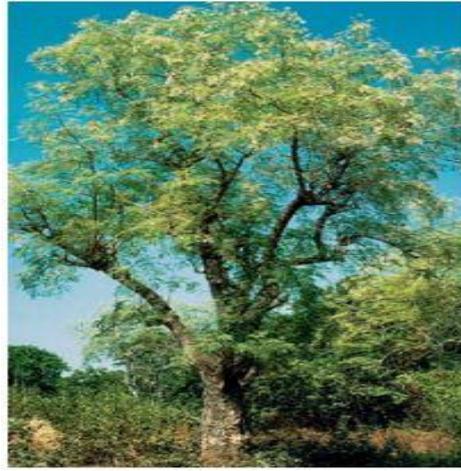


Figure 2 : Arbre mature de *Moringa oleifera* (Rolloff *et al.*, 2009).

Feuilles : Feuilles alternes, de 6,5-60cm de long, 2-3 pennées, munies de 4-6 paires de pennes ; stipules absents, mais pétiole à glandes stipitées à la base ; folioles elliptiques, arrondies à cunéiformes à la base, apex arrondi (Figure 3) (Orwa *et al.*, 2009).



Figure 3 : Feuilles de *Moringa oleifera* (Orwa *et al.*, 2009).

Fleurs : Inflorescence : panicules étalées de 8-30cm de long, portant un grand nombre de fleurs. Fleurs bisexuées, zygomorphes ; sépales libres, de 7-14mm de long, souvent inégaux ; pétales libres, oblongs-spatules, de 1-2cm de long, inégaux, le plus grand dressé, à pubescence veloutée, blancs ou crème ; étamines 5, filets de 7-8mm de long, anthères d'un jaune cireux ou orange, alternant avec 3-5 staminodes ; ovaire supère, pédonculé, cylindrique, de 3-5mm de long, rose à la base, densément poilu, 1-loculaire, style mince, glabre, sans lobes stigmastiques (Figure 4) (Olson, 2001 ; Reyes Sanchez *et al* 2006).



Figure 4 : Fleurs de *Moringa oleifera* (Rolloff *et al.*, 2009).

Fruits : Les gousses (Figure 5) sont des capsules allongées à 3 valves, de 10-50 cm de long, à 9 côtes, brunes à maturité, et contenant de nombreuses graines (Muhl *et al.*, 2011).

Graines : Les graines (Figure 6) sont rondes, avec une coque marron semi perméable. La coque présente trois ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet à 120 degré d'intervalle. Un arbre peut produire 15000 à 25000 graines par an. Une graine pèse en moyenne 0,3 g avec une coque qui représente 25% du poids de la graine (Foidl *et al.*, 2001).

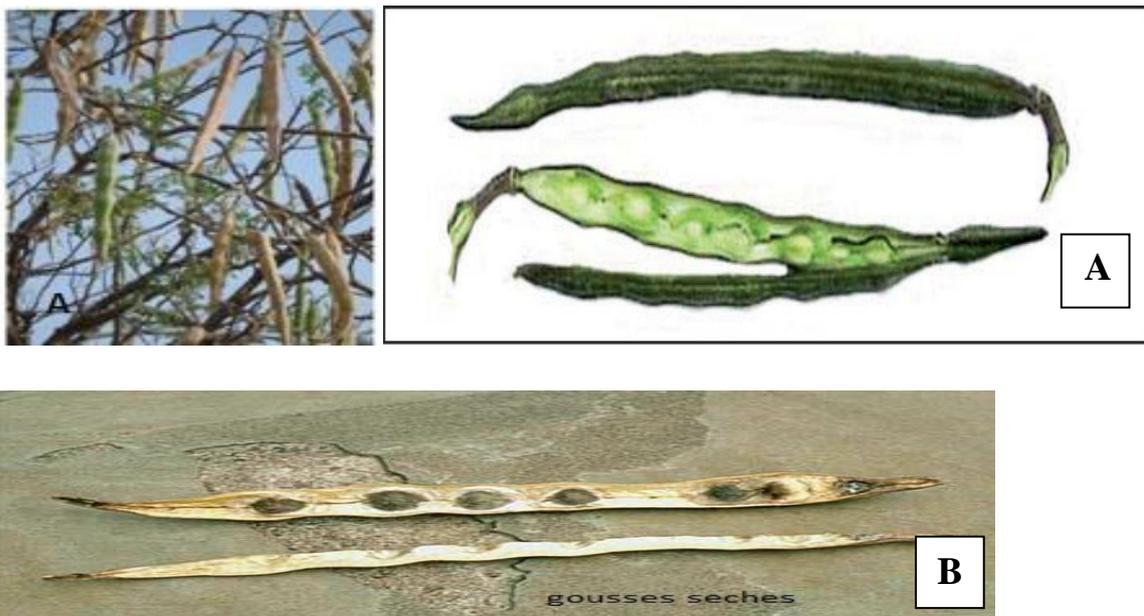


Figure 5 : Gousse fraîche (A) et gousse sèche (B) de *Moringa oleifera* (www.moringanews.org).

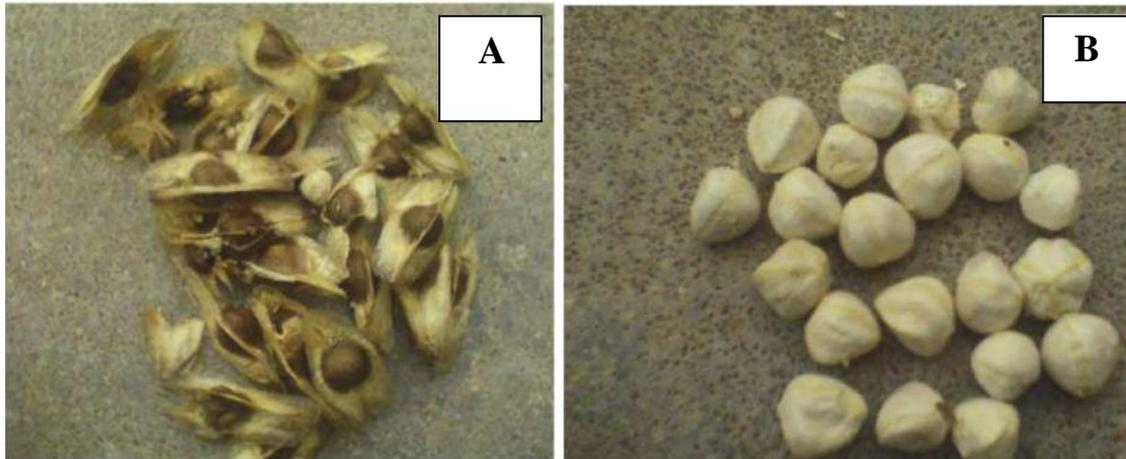


Figure 6 : Graines (A) et amandes (B) de *Moringa oleifera* (www.moringanews.org).

I.6.Composition nutritionnelle de *Moringa oleifera*

Moringa est une plante très appréciée, elle possède selon **Ndong *et al* (2007)** une haute valeur nutritive. Les différentes parties de cette plante contiennent un profil de minéraux important (calcium, cuivre, fer, potassium, etc.) et une bonne source en protéines, vitamines, β -carotène, acides aminés, acides gras et de différents phénols (flavonoïdes, anthocyanines, pro anthocyanidines et cinnamates). Cette plante se dispose d'une combinaison riche et rare en zéatine, quercétine, β -sitostérol, caféoylquinic et kaempferol (**Farooq *et al.*, 2007**) (annexe 1, Tableau III).

I.6.1Composition chimique des feuilles de *Moringa Oleifera*

Les feuilles de *Moringa oleifera* sont considérées comme un légume de bonne qualité nutritionnelle. Elles sont riches en protéines, vitamines (A et C) et certains minéraux (et en particulier le fer), elles contiennent aussi les acides aminés et les acides gras essentiels (Tableau IV) (annexe 1) (**Musa *et al.*, 2015**). Par ailleurs, si l'on compare les feuilles de Moringa avec d'autres aliments connus pour leur richesse en un élément particulier (annexe 1, Tableau V) , on voit bien l'intérêt de ces feuilles en nutrition : en équivalent de poids, les feuilles fraîches renferment plus de protéines et de calcium que le lait frais, plus de vitamine C que les oranges, autant de potassium que la banane, autant de magnésium que le chocolat, presque autant de fer que les lentilles et presque autant de vitamine A que les carottes (**Asare *et al.*, 2012**).

Les feuilles fraîches contiennent des quantités négligeables de tannins (1,4%) (Facteurs antinutritionnels), dont des tannins condensés sont indétectables (Tableau V) (annexe 1). La teneur en phénols totaux est de 3,4% (Foidl *et al.*, 2001).

I.7.Utilisations

Moringa oleifera Lam, arbre tropical est passé en une décennie, du statut de plante marginale à celui de nouvelle ressource alimentaire et économique permettant ainsi une utilisation multiple de cette plante (Atakpama *et al.*, 2014).

I.7.1.Alimentation

I.7.1.1.Alimentation humaine

Moringa oleifera est l'espèce la plus importante par ses multiples utilisations. Ses feuilles se consomment en salade ou cuites, en soupes et dans des sauces (Olson, 2001 ; Azeez *et al.*, 2013).Elles se révèlent riches en protéines, dont la carence est responsable du "gros ventre" des enfants souffrants de malnutrition. Les feuilles sont également riches en vitamines, notamment A et C, et en sels minéraux ou oligo-éléments. Elles sont également connues pour leur richesse en calcium et en fer. Elles sont de ce fait, particulièrement indiquées pour compléter le régime alimentaire des nourrissons et des femmes enceintes et allaitantes.

Les fleurs se consomment aussi comme légume, ou dans des sauces. Au soudan, elles sont écrasées en une pâte que l'on fait frire.

Les graines sont consommées au Nigeria, et auraient le même goût que les cacahuètes. Dans certains endroits, les graines sont ajoutées aux sauces pour leur saveur amère. L'huile des graines connue sous le nom d'huile de ben ou huile de behen qui est particulièrement riche en acide oléique (70%), peut être aussi employée en cuisine (Figure 7) tandis que les huiles végétales classiques contiennent généralement de l'ordre de 40% de cet acide (Abdulkarim *et al.*, 2005).



Figure 7 : Consommation des gousses (www.moringane ws.org).

I.7.1.2. Alimentation animale

Moringa oleifera (les feuilles, les gousses ou les jeunes branches) peut être utilisé comme fourrage des bétails (vaches, moutons, chèvres, porc, lapins) (www.treesforlife.org/project/moringa).

I.7.2. Domaine médical et pharmacologique

En plus de ses propriétés nutritionnelles *Moringa oleifera* possède un intérêt médical (Tableau VII) (annexe 1) car il peut être utilisé dans le traitement de nombreuses maladies (Goyal B.R *et al* 2007). Toutes les parties (feuilles, fleurs, fruits, écorces et racines) de *Moringa oleifera* ont de vertus médicinales confirmées par des années de recherches et d'études expérimentales dans les différents pays africains, asiatiques et panaméricains (Kooltheat *et al.*, 2014).

I.7.3. Purification de l'eau

Les graines sont utilisées dans les procédés traditionnels de purification de l'eau. Ces graines contiennent en effet 30 à 40% d'une protéine de réserve chargée positivement et soluble dans l'eau : il s'agit d'un polyélectrolyte naturel. Cette protéine est responsable d'un phénomène de réticulation et forme une sorte de maillage où sont piégés les bactéries, virus et matières organiques (Figure 8). Lesté de la sorte, ce maillage sédimente au fond, l'eau de surface devenant limpide et pure (Kabor *et al.*, 2013).

Les amandes de Moringa peuvent être broyées et l'extrait aqueux est utilisé pour purifier l'eau. Dans les pays en développement cet extrait aqueux peut substituer de façon viable les coagulants chimiques tels que le sulfate d'aluminium (Foidl *et al.*, 2001).



Figure8 : Utilisation des graines de Moringa dans la purification d l'eau
(www.moringanews.org).

I.7.4. Accélérateurs de croissance végétale

L'extrait à l'éthanol à 80% obtenu à partir des feuilles de Moringa contient des facteurs de croissance (hormones de type cytokinine). Cet extrait peut être utilisé en aspersion sur les feuilles pour accélérer la croissance des jeunes plantes (annexe 1, Tableau VIII). Cette phytohormone augmente aussi la robustesse des plantes et leur résistance aux maladies. Par ce traitement, les fruits sont plus abondants et plus gros, ce qui augmente le rendement des arbres lors de la récolte. L'utilisation de cet extrait permet d'augmenter globalement les rendements de 20 à 35% (Foidl *et al.*, 2001).

II. Métabolites secondaires

II.1. Définition

On désigne par métabolites secondaires toute substance présente dans un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base des cellules vivantes (**Verscheure et al., 2002**). Le concept et l'histoire des métabolites secondaires sont attribués à Kossel (Kossel 1891), qui l'introduisait par opposition à celui des métabolites primaires. Chez les végétaux, ces composés sont spécifiques à un ou deux espèces, alors que d'autres peuvent être produits par plusieurs genres. Ils sont synthétisés à partir des précurseurs originaires du métabolisme primaire (acétyl CoA, acides aminés, acides gras). Le rôle majeur de ces composés résulte dans l'adaptation des végétaux à leur environnement en assurant des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores) et abiotiques (UV, température) (**Kabera et al., 2014**). Sur le plan organique, le rôle de ces molécules dans la protection des cultures est connu par la résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes et à certains insectes (**Bourgaud et al., 2001**).

II.2. Classification

Les métabolites secondaires sont caractéristiques des plantes supérieures. Ils sont répartis en trois grandes familles chimiques : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (**Bourgaud et al., 2001**).

II.2.1. Les Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols, des molécules du métabolisme secondaire du règne végétal, constituent l'un des groupes le plus nombreux des végétaux avec 8000 molécules. Ils ont été isolés et identifiés selon leurs caractéristiques structurales. Ils ont tous en commun la présence d'au moins un noyau benzénique portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (**Hennebelle et al., 2004**). Ces composés sont des monomères, polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 (**Harbone, 1993**).

Les polyphénols sont présents dans les parties supérieures des végétaux : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois (**Baizot et Charpentier, 2006**).

Du point de vue biosynthétique, les composés phénoliques peuvent être engendrés par deux voies métaboliques: la voie shikimate qui conduit à la formation des acides phénoliques, flavonoïdes et lignanes, et la voie des polyacétates qui est à l'origine des composés polycycliques tels que : les coumarines, les xanthones et les quinones (Macheix, 1996).

Les polyphénols ont un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs et contribuent selon Amiot *et al* (1989) à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume). Ils présentent des activités biologiques (antibactériennes, antifongiques...) (annexe1, Tableau IX), et ils interviennent dans la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif tels que : cancer, l'athérosclérose, diabète, maladies neurodégénératives et l'arthrite (Olivier N'guess *et al.*, 2011).

II.2.1.1. Les Acides phénoliques

Les acides phénoliques présents dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales et solubles dans les solvants organiques, représentent la forme la plus simple des composés phénoliques (Guignaud, 2001).

Les acides phénoliques se répartissent en deux groupes distincts : les acides hydroxybenzoïques (C_6-C_1) (Figure 9) et les acides hydroxycinnamiques (C_6-C_3) (Figure 10) (Han *et al.*, 2007).

a. Acides hydroxybenzoïques (Chira *et al.*, 2008)

- sont des dérivés de l'acide benzoïque.
- Ont une structure générale de base de type (C_6-C_1).
- Existents souvent sous forme d'esters ou de glycosides.

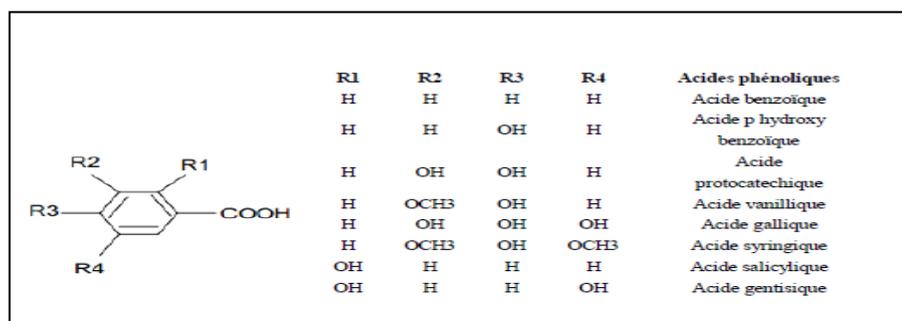


Figure 9 : Principaux types d'acide hydroxybenzoïque

(Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

b. Les Acides hydroxycinnamiques (Chira *et al.*, 2008)

- Dérivent de l'acide cinnamique.
- Ont une structure générale de base de type (C₆-C₃).
- Existents sous forme combinée avec des molécules organiques.
- Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules.

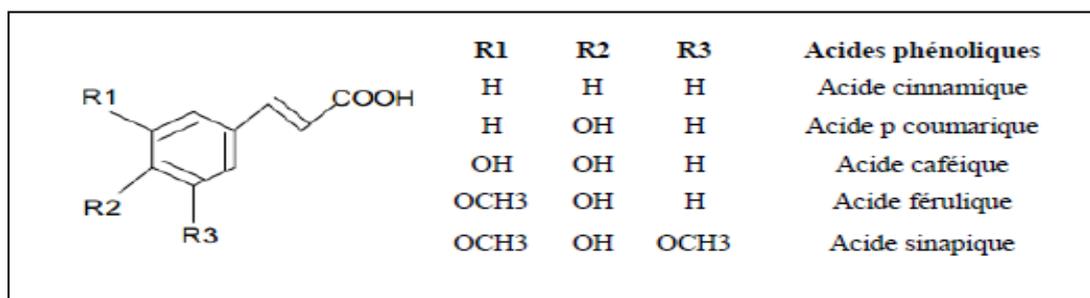


Figure 10 : Principaux types d'acide hydroxycinnamique (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

II.2.1.2 Les flavonoïdes

Le nom de flavonoïde provient du terme "flavédo" désignant la couche externe des écorces d'orange ; cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a une origine latine « flavus =jaune » (Hennebelle, 2004).

La structure de base de ces composés (Figure 11) est le diphényle propane à 15 atomes de carbones (C₆-C₃-C₆), constitués de deux noyaux aromatiques reliés par un hétérocycle oxygéné portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (Atamasova et Bibaroua, 2009). Le squelette des flavonoïdes peut être substitué par différents groupements (Figure 12) comme le groupement hydroxyl, méthyl, benzyl, isoprényl. Les flavonoïdes sont des polyphénols hydrolysables répandus dans le règne végétal et sont responsables de la couleur des fleurs et des fruits (Amiot *et al.*, 1989).

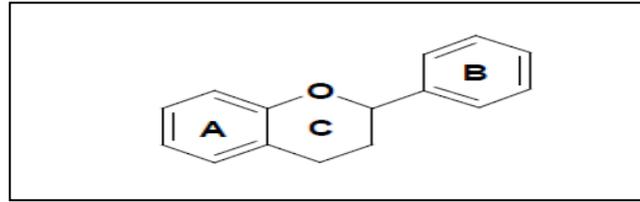


Figure 11 : Structure de base des flavonoïdes (Erdman *et al.*, 2007).

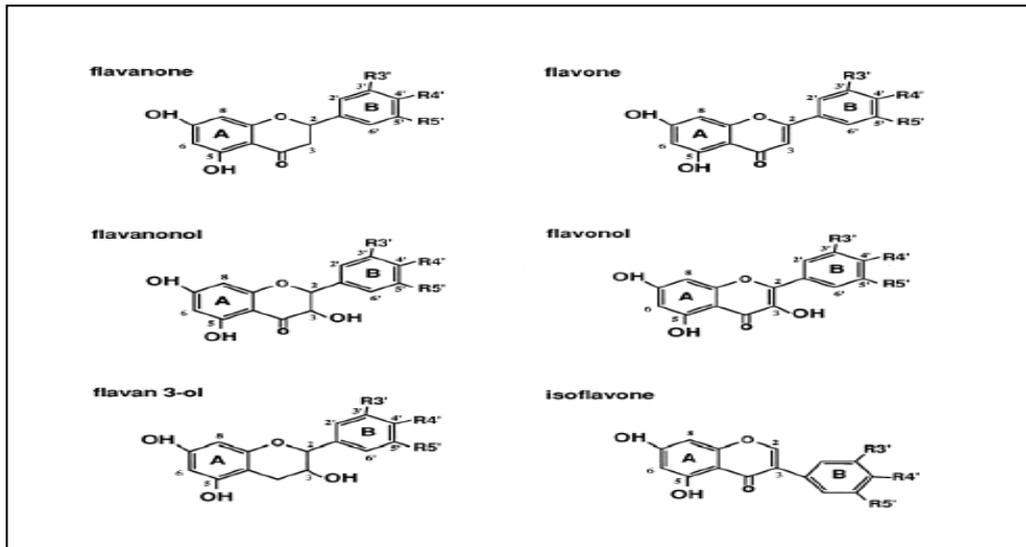


Figure 12: Les différentes classes des flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008).

II.2.1.3 Les Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques présents dans la nature sous forme polymérisés. Les tanins sont solubles dans l'eau et ayant des poids moléculaires compris entre 500-3000 (Doat, 1978). Ils ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible, le cuir ; cette propriété de tannage provient de la création de la liaison entre la molécule du tanin et les fibres de collagène de la peau (Bruneton, 1999) et ont des propriétés telles que l'aptitude à la précipitation des alcaloïdes, de la gélatine et d'autres protéines (Sereme *et al.*, 2010).

Selon la nature des assemblages moléculaires, les tanins sont classés en deux groupes (Hagermane, 2002).

a. Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des oligo ou polyester d'un sucre en général qui est le glucose et de molécule d'acide phénol qui est l'acide gallique (Figure 13) ou un de ces dérivés (acid ellagique, acide mi-digallique), d'où le nom de pyrogallique et d'ellagitanins (Sereme *et al.*, 2008). Le terme tanin hydrolysable décrit leur sensibilité à l'hydrolyse acide qui donne après cette hydrolyse une fraction glucidique et une fraction polyphénolique, l'hydrolyse peut être aussi par voie enzymatique par une diastase (Bruneton, 1999).

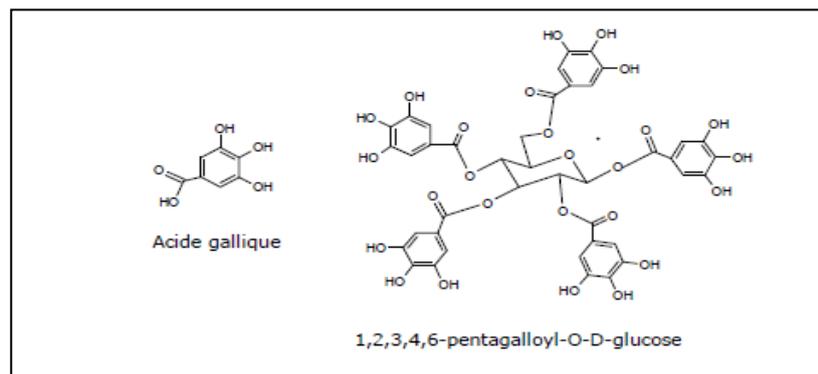


Figure 13 : Exemples de tanins hydrolysables (Bruneton,1999).

b. Les tanins condensés

Les tanins condensés ou proanthocyanidols (Figure 14) résultent de la polymérisation de molécules élémentaires des flavanes (flavane-3-ol, flavane-4-ol et flavane-diol 3,4), ils sont désignés aussi sous le nom de tanin « catechique » (Sereme *et al.*, 2008). Ces composés secondaires sont présents dans les vacuoles des cellules des feuilles, tiges, racines, fleurs et enveloppe des graines. Ils jouent selon Aufferre *et al* (2012) un rôle dans la protection contre les rayons ultras violet, la sécheresse et contre les prédateurs naturels (insectes et herbivores).

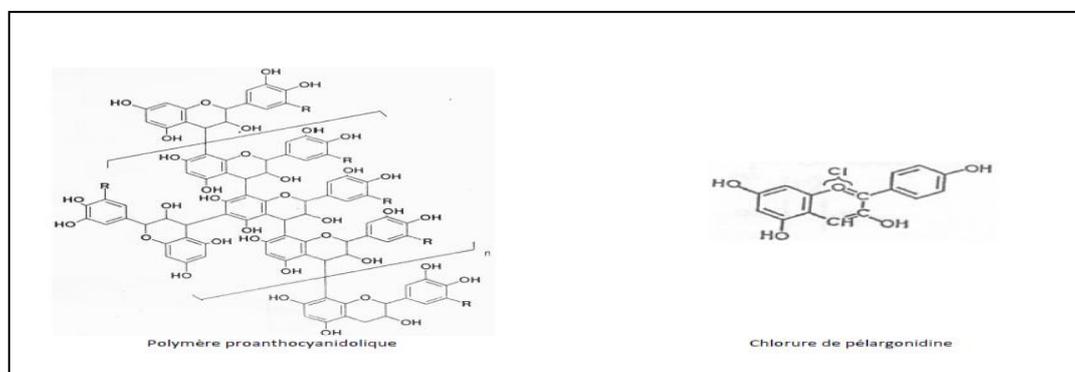


Figure 14 : Exemples des tanins condensés (Sereme *et al.*, 2008).

II.2.2 Les terpènes (terpénoides)

Le terme terpène déclaré par Kekulé vient de leur origine historique de l'arbre de térébinthe «*Pistacia terebinthus* » (terpentine), le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone) (**Breilmaier, 2006**).

Du point de vue structural, les terpènes constituent une grande famille de composés phénoliques c'est-à-dire homologues à un enchaînement isoprénique. Ces substances sont plus répandues dans la nature ; en effet plus de 36000 structures différentes ont été identifiées et isolées à partir des fleurs, tiges, racines et différentes parties de la plante (Figure 15). Elles sont rencontrées également chez les animaux, insectes et les organismes marins (**Agostini-Costa et al, 2012**).

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) reconnue par **Wallach dès 1887 (Lamarti et al., 1994)**. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpène (C_5), monoterpène (C_{10}), sesquiterpène (C_{15}), diterpène (C_{20}), sesterpène (C_{25}), triterpène (C_{30}), tetraterpène (C_{40}) et les polyterpènes (**Croteau et al., 2000**).

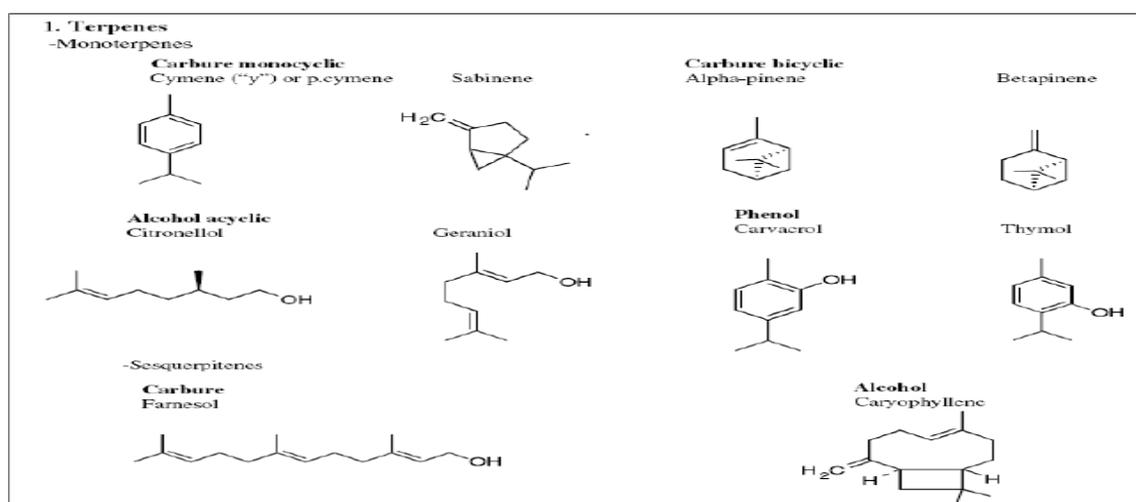


Figure 15 : Quelques exemples des terpènes (**Bruneton, 1993**).

II.2.3 Les alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit pour la première fois par le pharmacien allemand Meissner qui a défini les alcaloïdes comme étant des substances dérivées de plantes et qui réagissent comme alcalins. Les alcaloïdes ne sont pas isolés simplement des plantes mais également des champignons et du règne animal et n'ont pas forcément un caractère basique (Kabera *et al.*, 2014). C'est un composé organique cyclique contenant un atome d'azote dans un degré d'oxydation négatif qui a une distribution limitée à certains organismes vivants (Kennedy et Wightman, 2011). Les alcaloïdes dérivent des acides aminés et constituent l'un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10000 à 12000 différentes structures (Figure 16). Par leur toxicité ces plantes protègent les plantes contre les herbivores et pathogènes (Agostini-Cost *et al.*, 2012). La classification des alcaloïdes tient compte de deux paramètres distincts : la position d'atome d'azote au sein de la structure et les différentes fonctions qui en déclenchent (Hesse, 2002).

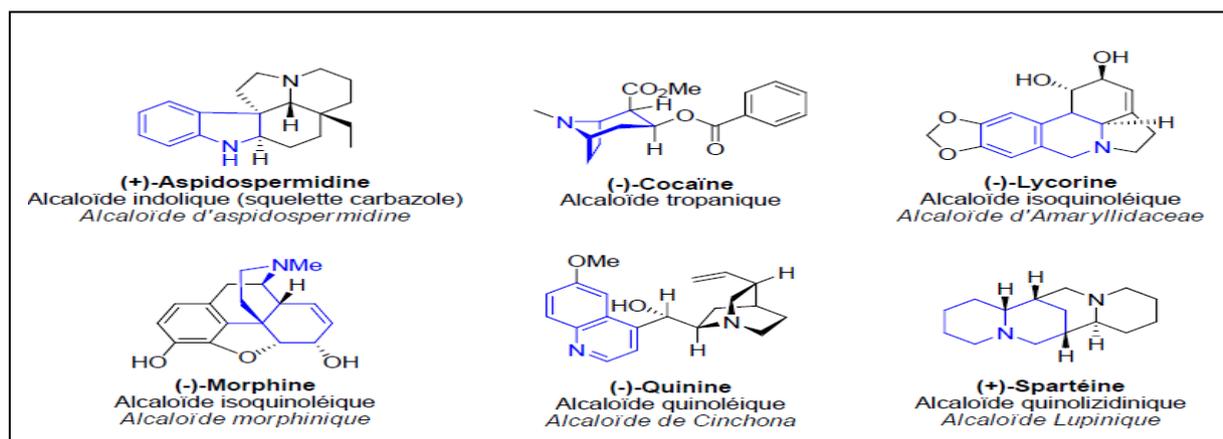


Figure 16 : Quelques exemples d'alcaloïdes (Hesse, 2002).

II.3. Interactions polyphénols-protéines

II.3.1. Rappel sur les protéines

Les protéines sont caractérisées par un enchainement d'acides aminés reliés par des liaisons peptidiques. Ces acides aminés sont arrangés de façon linéaire, définie par le code génétique et correspondent à la structure primaire des protéines. Selon la séquence de résidus protéiques qui constituent cette structure primaire, les protéines peuvent adopter différentes structures secondaires, les principales étant les hélices alpha ou les feuillets bêta. Dans cette structure secondaire, les protéines se replient sur elles-mêmes pour permettre la formation de liaisons

hydrogènes entre les acides aminés. Enfin, les structures secondaires s'organisent les unes par rapport aux autres pour former une structure tertiaire, impliquant des ponts disulfures (Kauffman *et al.*, 1991).

II.3.2. Rappel sur les enzymes

Les enzymes, catalyseurs biologiques des organismes vivants, sont des macromolécules de nature protéique. Elles sont constituées de plusieurs acides α -aminés de la série L unis entre eux par une liaison formée par condensation entre le groupement carbonyle d'un acide aminé et le groupement d'un autre acide aminé afin de former une liaison amide. Les enzymes sont donc des polypeptides de masse moléculaire élevée entre 10 à 1000 KDa.

Le pouvoir catalytique des enzymes permet de produire de nouvelles substances et de l'énergie indispensables au bon fonctionnement des organismes vivants. C'est en fonction de leur activité catalytique que celles-ci sont classées (Vincent, 1996).

La structure d'une enzyme présente un site actif qui a pour rôle la fixation sélective du substrat et sa transformation en produits.

L'amylase (ou α -amylase) est une enzyme appartenant à la classe des hydrolases, elle catalyse l'hydrolyse des polymères d'alpha D- Glucose au niveau des liaisons C1-C4 (Figure 17). Elle est produite sous la forme de deux groupes d'isoenzyme génétiquement distincts, définis selon leur origine (pancréatique P, ou salivaire S). L'amylase est retrouvée dans les larmes, le lait maternel, la sueur ainsi que dans divers cellules ou organes : leucocytes, plaquettes, anthérocytes, poumons, prostate ou appareil génital féminin. Elle est filtrée par le glomérule et éliminée dans les urines.

Le rôle principal de l'amylase est l'hydrolyse de l'amidon présent dans l'alimentation, générant le Glucose, maltose et dextrine (Sundarram et Krishma Murty, 2014).

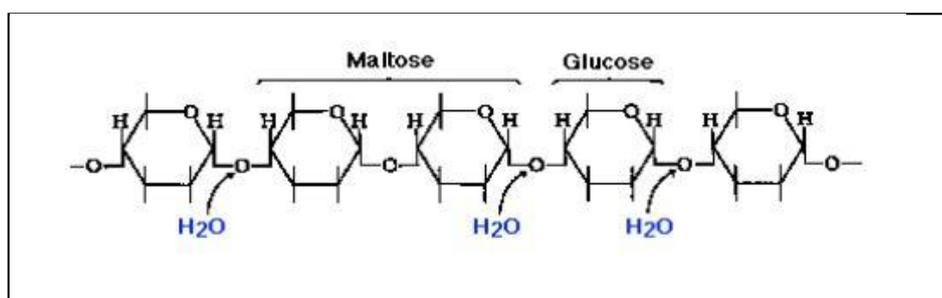


Figure 17 : La structure de l' α -amylase (Sundarram et Krishma Murty, 2014).

II.3.3. Mécanismes d'interactions

La précipitation des protéines par les tannins implique la formation des liaisons hydrogènes entre les groupements hydroxyles des composés phénoliques et les groupements carbonyles et amines des protéines, mais aussi des interactions hydrophobes entre les noyaux aromatiques des polyphénols et les acides aminés apolaires des protéines (**Bourvellec et Renard, 2012**). Des liaisons ioniques peuvent également être impliquées entre les ions phénolates et les cations protéiques (Figure 18).

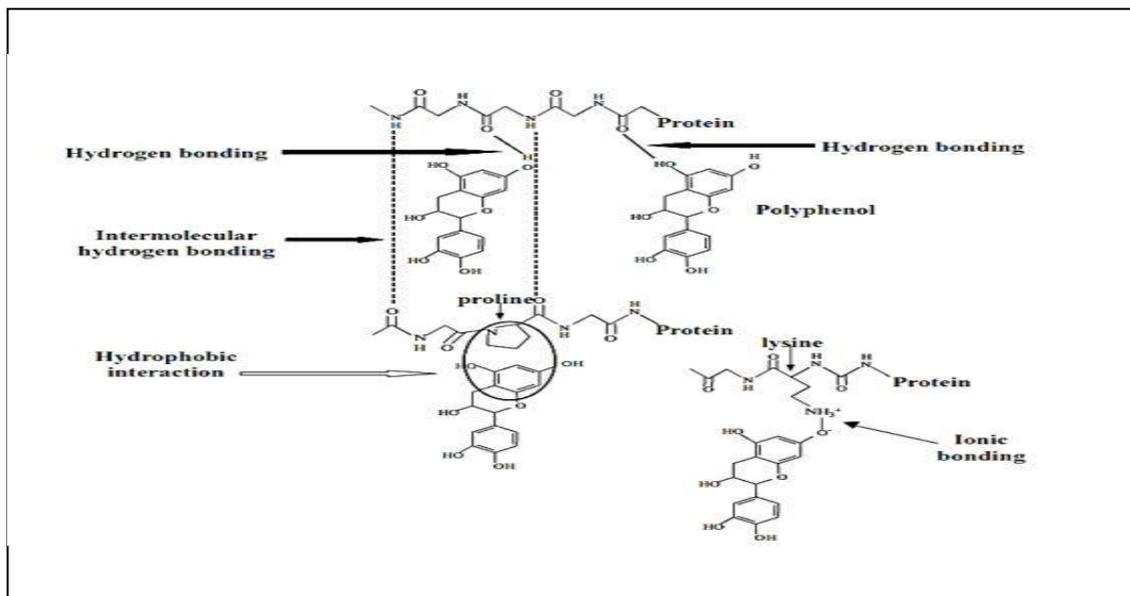


Figure 18 : Les différents mécanismes potentiels d'interactions entre polyphénols et protéines (**Bourvellec et Renard, 2012**).

II.3.4. Conséquences nutritionnelles des interactions

La conséquence la plus immédiate des interactions entre des polyphénols et des protéines est la perception d'astringence. Cette interaction provoque la précipitation des protéines salivaires (les protéines riches en proline, l' α -amylase et les histamines) et la formation d'agrégats constitués des complexes protéines-tannins qui est à l'origine de la sensation d'astringence. De plus, l'association entre les polyphénols et les protéines en font un inhibiteur enzymatique comme par exemple l'association des polyphénols à la trypsine, au peptide β -amyloïde impliqué dans la maladie d'Alzheimer, ou à des protéines impliquées dans la réponse anti-inflammatoire (**Gonçalves et al., 2010**).

III Matériel et méthodes

III.1 Matériel végétal

III.1.1. Origine et provenance des échantillons

Les échantillons (Feuilles de *Moringa oleifera* Lamark) (Figure 19) utilisés au cours de ce travail proviennent du Sahara algérien (Wilaya de Tamanrasset) ; les feuilles ont été récoltées fin octobre 2015.



Figure 19 : Plante (A) et feuilles (B) de *Moringa oleifera*.

III.1.2. Préparation de l'échantillon

Après avoir été triées et nettoyées, les feuilles sont mises à sécher à l'air libre et à l'abri de la lumière ; elles sont ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue (Figure 20) a été ensuite tamisée (tamis électrique (Retsch-AS 200)) pour obtenir une poudre (de taille des particules inférieure à 0,5 mm) est conservée dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière pour éviter toute détérioration.



Figure 20 : Poudre de feuilles de *Moringa oleifera*.

III.2 Composition chimique globale

La composition chimique globale de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* est déterminée selon les méthodes de l'AOAC (1990).

La matière sèche est obtenue par dessiccation d'un échantillon de poids connu à l'étuve à 105°C pendant 24h jusqu'à poids constant (AOAC, 1990).

Pour l'obtention des cendres, l'échantillon est soumis à une incinération à 550°C ; (pendant 5h), le résidu obtenu est déterminé par pesée des cendres.

Les matières grasses sont déterminées par La méthode de soxhlet (Figure 21) qui consiste à libérer la matière grasse à l'aide d'un solvant organique non miscible à l'eau, suivi de l'évaporation du solvant et de la pesée de l'extrait obtenu après dessiccation à 105°C pendant 24 heures.



Figure 21: Extraction des matières grasses par soxhlet

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de Kjeldahl. Le taux en protéines est calculé en utilisant un facteur de conversion de l'azote (6,25).

Cette technique est basée sur le dosage de l'azote total présent dans l'échantillon. Elle s'effectue en trois étapes :

- **Minéralisation**

Pendant l'étape de la minéralisation, l'azote protéique est transformé en azote ammoniacal par oxydation de la matière organique dans l'acide sulfurique concentré à haute température 400°C, en présence d'un catalyseur.

L'acide sulfurique concentré a pour but d'oxyder la matière organique et de transformer l'azote protéique en ammoniac NH_3 . Il sert également à piéger l'ammoniac gazeux sous la forme de sulfate d'ammoniac.

- **Distillation**

Une distillation à froid de l'ammonium par l'ajout d'un excès de soude afin de changer le pH acide en un pH basique. Cette étape a pour effet d'obtenir l'ammoniac qui sera entraîné par la vapeur de distillation. L'ammonium sera ainsi piégé par l'eau formée après condensation en hydroxyde d'ammonium.

- **Titrage**

Un titrage de l'ammoniac complexé avec de l'acide borique (H_3BO_3) par une solution titrant de l'acide sulfurique en présence d'un indicateur coloré.

➤ **Mode opératoire**

On introduit une prise d'essai de 0,5g d'échantillon, 2g de catalyseur (3g de sélénium, 20g de sulfate de cuivre, 80g de sulfate de potassium) et 20ml d'acide sulfurique (98%) dans des matras. Ces derniers sont placés sur un bloc minéralisateur chauffé à 400°C pendant une heure sous une hotte qui aspire les vapeurs sulfureuses résultantes de la décomposition partielle de l'acide sulfurique. Le chauffage est maintenu jusqu'à obtention d'un filtrat limpide.

Un témoin est réalisé dans les mêmes conditions.

Après refroidissement des matras, le volume est ajusté jusqu'à 100ml avec de l'eau distillée.

L'ammoniac est distillé à l'aide d'un analyseur en présence de la soude 40%.

Le distillat recueilli dans un bécher contenant 20ml de solution d'acide borique est titré par l'acide sulfurique 0,01N jusqu'à avoir un virage du vert au rose clair.

➤ **Expression des résultats**

$$N\% = \frac{(V_1 - V_0)0,28}{P_{\text{essai}}} \times 100$$

Si on admet que l'azote représente une moyenne de 16% de la masse des protéines, la concentration en protéines sera :

$$P\% = N\% \times 6,25$$

N% : pourcentage d'azote.

P% : pourcentage de protéine.

V₁: volume en millilitre de l'acide chlorhydrique titré.

V₀: volume en millilitre de l'acide chlorhydrique utilisé lors de témoin.

P_{essai}: la masse en gramme de la prise d'essai.

III.2.1.Extraction et dosage des différents types de protéines

III.2.1.1 Extraction

L'extraction des différentes classes de protéines (Figure 22) est réalisée par la méthode (Nasri et Triki, 2007).

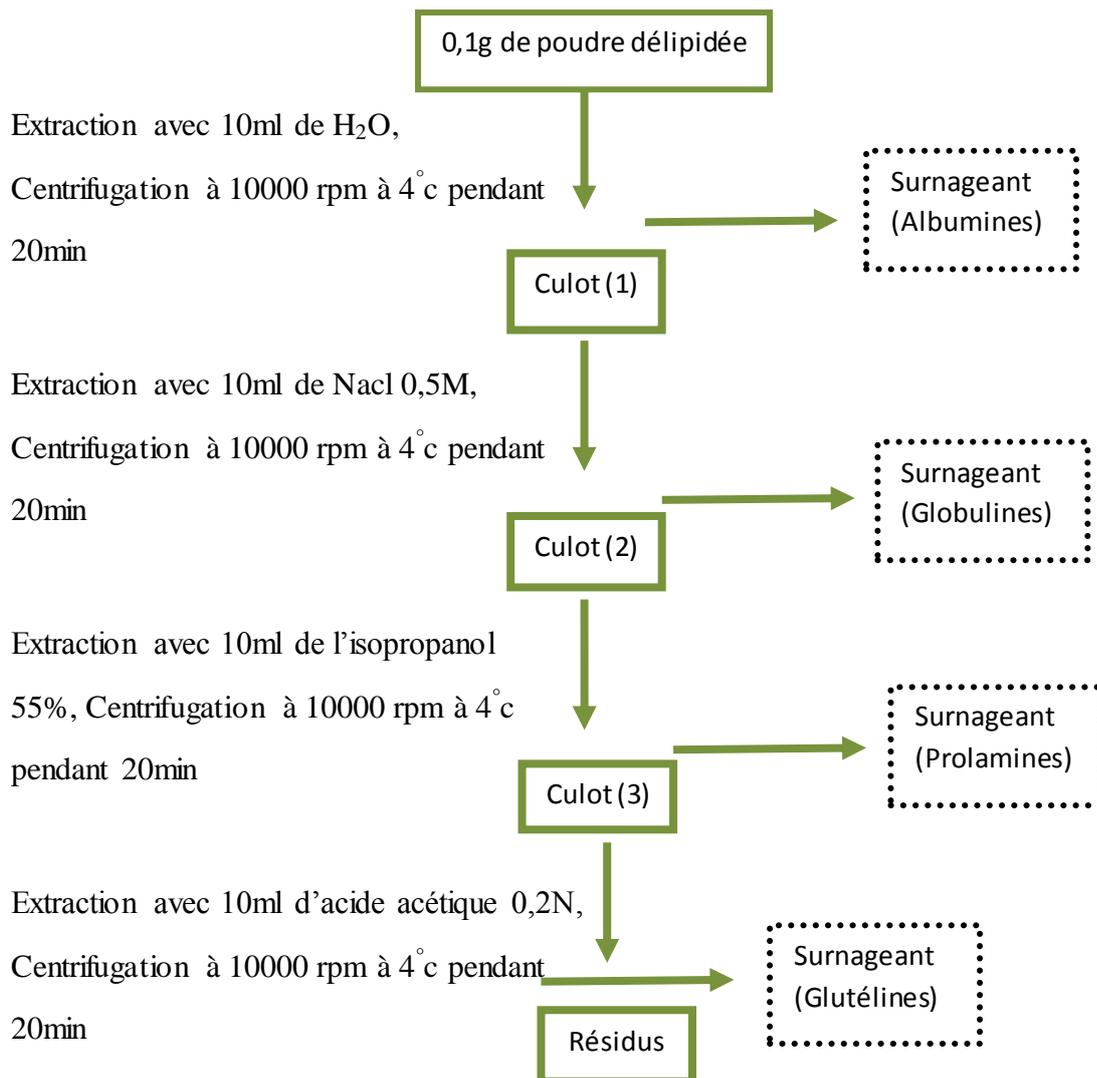


Figure 22 : schéma d'extraction des différentes classes de protéines de réserve (Nasri et Triki, 2007).

III.2.1.2 Dosage

Les protéines ont été dosées selon la méthode de **Bradford (1976)**.

➤ **Principe**

La méthode de Bradford utilise le réactif de bleu de Comassie. Sous sa forme cationique libre, ce réactif absorbe la lumière à une longueur d'onde de 465 nm. Lorsqu'il est mis en contact avec une solution protéique à doser, il se lie aux protéines présentes et aux groupements aromatiques ce qui a pour effet de déplacer sa principale raie d'absorption à 595 nm. (**Mensi et al., 2009**).

➤ **Mode opératoire**

50ul d'extrait de protéines sont additionnés à 50ul d'eau distillée et à 2ml de bleu de Comassie, après stabilisation de la couleur (5min), la lecture des absorbances est effectuée à une longueur d'onde de 595nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les concentrations sont déterminées par référence à une gamme étalon à base de BSA, préparée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons (annexe 3). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de BSA par g d'échantillon (mg E BSA/g).

III.2.2 Extraction et dosage des sucres totaux

III.2.2.1.Extraction

L'extraction des sucres totaux (Figure 23) est réalisée selon la méthode (Chow et Landhaisser, 2004).

➤ Mode opératoire

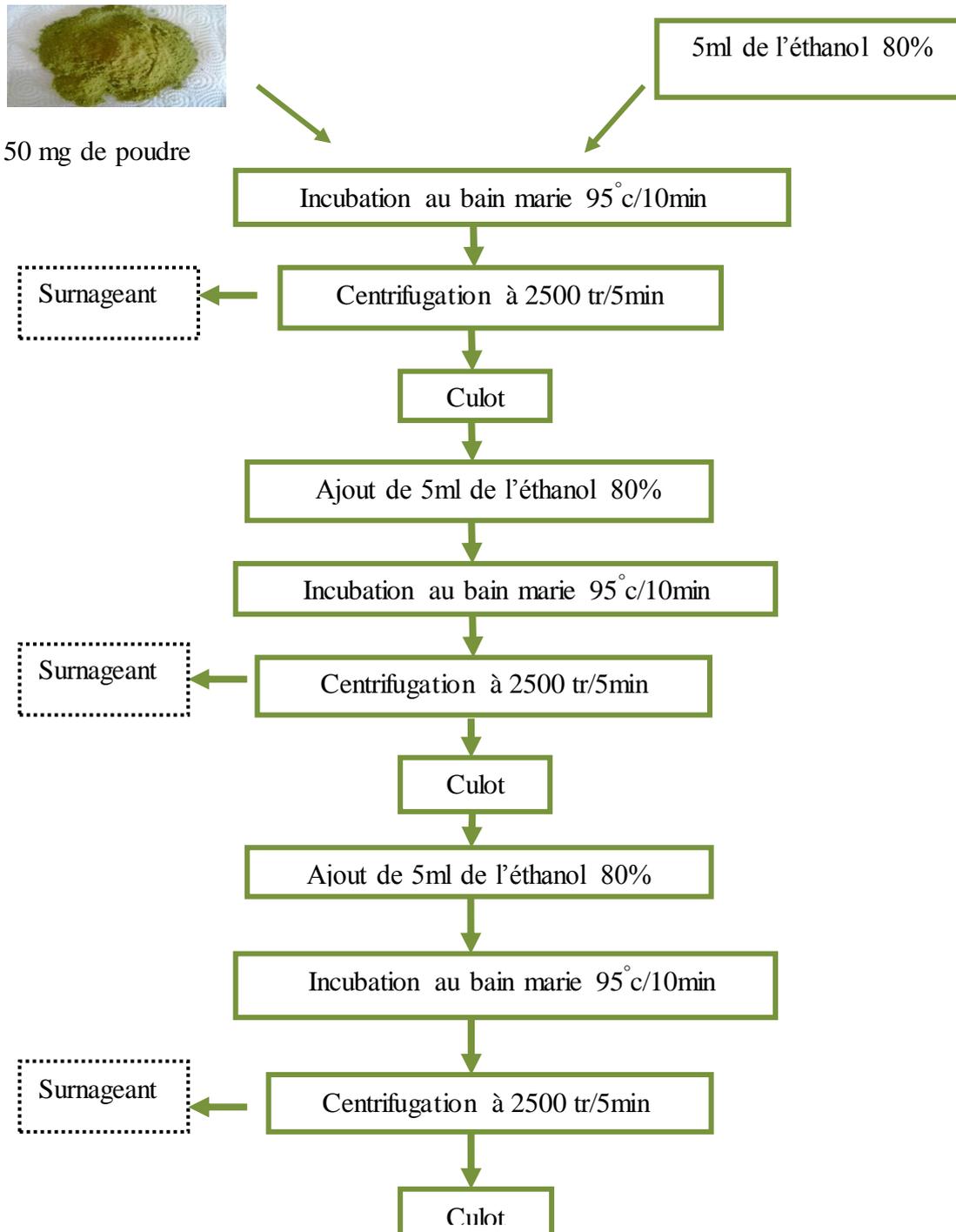


Figure 23 : protocole d'extraction des sucres totaux (Chow et Landhaisser, 2004).

III.2.2.2 Dosage

Le dosage des sucres totaux est réalisé selon la méthode de **Dubois *et al* (1956)**.

➤ Principe

En présence du Phénol et d'acide sulfurique concentré, les oses donnent une couleur jaune-orange dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en glucides. La densité optique est déterminé à 570nm (**Boulal *et al.*, 2013**).

➤ Mode opératoire

1 ml du surnageant a été mélangé avec 1 ml du phénol (5%), suivi de 5 ml d'acide sulfurique (98%). Le mélange est agité afin d'homogénéiser le contenu. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance de la solution est déterminée à 490 nm contre un blanc.

La teneur en sucres est rapportée à une gamme étalon obtenu avec du glucose utilisé comme standard (annexe III). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de glucose par g d'échantillon (mg EQ/g).

III.2.3 Dosage des sucres réducteurs

➤ Principe

Le DNS ou acide 2hydroxy-3.5-dinitrobenzoïque est un indicateur de la présence des sucres réducteurs ; sous forme oxydée il est jaune. En présence de sucres, il se transforme en sa forme réduite de couleur rouge (**Lindsay, 1973**).

➤ Mode opératoire

2 ml de 3,5 DNS sont ajoutés à 1ml d'extrait. Après homogénéisation, le mélange est incubé à 100°c pendant 10min. Après refroidissement à Température ambiante, 2ml d'eau distillée sont ajoutées et l'absorbance est mesurée à 570nm.

La teneur en sucres réducteurs est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec le glucose (annexe III). Les résultats sont exprimés en mg équivalent du glucose (EAG) par g d'échantillon (mg EAG/g).

III.3 Extraction et dosage des composés phénoliques

III.3.1 Extraction

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

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

2.5 g d'échantillon sont extraits avec 100 ml de solvant d'extraction (eau distillée, méthanol 60%, méthanol 80% et méthanol 100%). Après agitation magnétique pendant 2h à température ambiante, les extraits sont filtrés sous vide puis centrifugés pendant 30 min à 4500 tours/min. Les filtrats sont conservés au frigo pour la quantification des composés phénoliques

III.3.2. Dosage des phénols totaux solubles

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

➤ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu, mélange d'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 bleus 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**).

➤ **Mode opératoire**

500ul d'extrait sont mélangés avec 2.5 ml du réactif de Folin-ciocalteu (10%). Après 5 min, 2 ml de carbonate de sodium (75g /l) sont ajoutés. Le mélange est incubé à 50°c pendant 5 min ; après refroidissement l'absorbance est mesurée à 760nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

Les concentrations en phénols totaux solubles sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique (annexe III). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par g d'échantillon (mg EAG/g).

III.3.3. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes sont déterminés par la méthode **Lamaison et carnet, (1990)**.

➤ **Principe**

La méthode repose sur le principe du dosage direct par le chlorure d'aluminium (Figure 24). En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{3+} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans l'extrait (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

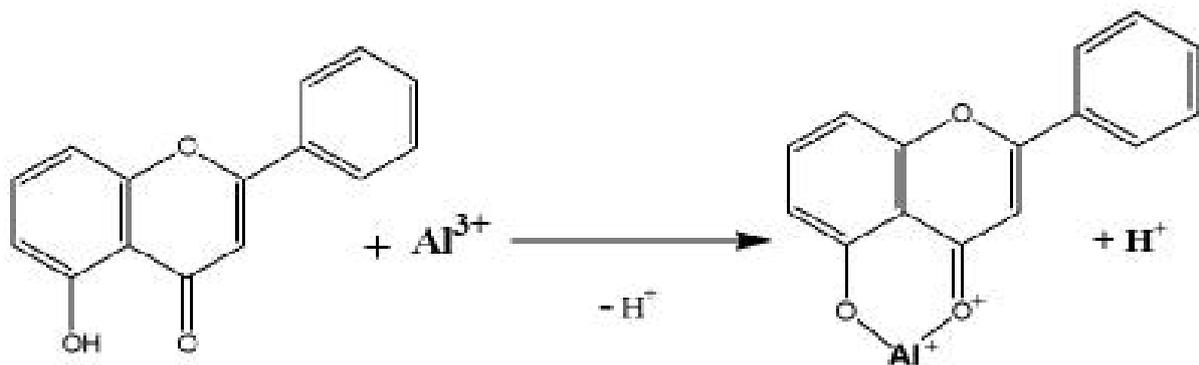


Figure 24 : Réaction du Chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

➤ **Mode opératoire**

1ml de chlorure d'aluminium ($\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$) à 2% sont ajoutés à 1ml d'extrait. Le mélange est homogénéisé et incubé à température ambiante pendant 15min à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 430 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la Quercétine (annexe 3). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de Quercétine (EQ) par g MS (mg EQ/gMS).

III.3.4. Dosage des tanins totaux et des phénols non liés à la protéine

Le dosage des tannins totaux (Figure 25) et des phénols non liés à la protéine (Figure 25) est effectué par la méthode de **Hagerman *et al.*, (2002)**.

➤ **Principe**

Les Tannins sont connus par leur propriété principale qui est la précipitation des protéines en fonction des facteurs liés au milieu réactionnel (pH). L'utilisation de la BSA dans le dosage des tannins en milieu acide a pour but de séparer ces derniers des autres polyphénols présents dans l'extrait. **Hagerman (2002)** rapporte que Le chlorure ferrique (FeCl_3) réagit avec les tannins en milieu alcalin : (SDS/TEA) pour former des chélateurs de couleur violette.

➤ Mode opératoire

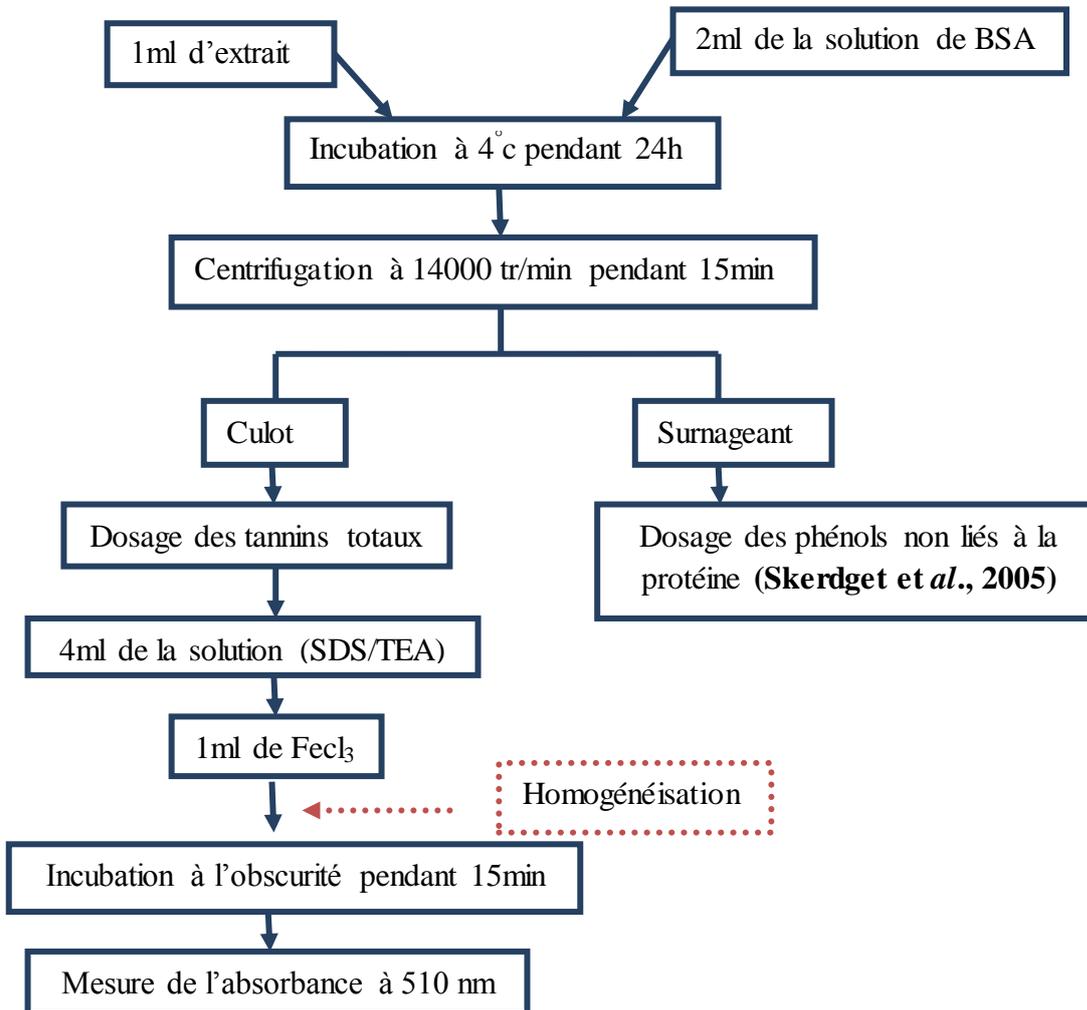


Figure 25 : protocole de dosage des tannins totaux et des phénols non liés à la protéine (Hagerman et al., 2002).

III.3.5. Dosage des tanins hydrolysables

Le dosage des tanins hydrolysables est réalisé par la méthode au chlorure ferrique rapportée par Mole et Waterman, (1987).

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

3,5ml du chlorure ferrique (FeCl_3 à 0,01M dans HCl à 0,001M) sont ajoutés à 1 ml d'extrait. Après homogénéisation, l'absorbance est mesurée à 660 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions

La teneur en tannins hydrolysables est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique (annexe 3). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide tannique/g d'échantillon (mg Eq AT / gMS).

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

III.4.1. Saponines

La présence de saponines est révélée par le test de **Yadav et Agarwala (2011)**. 1ml d'extrait est ajouté à 3ml d'eau distillée. Après agitation pendant 2 minutes, la formation d'une mousse persistante indique la présence des saponines.

III.4.2. Alcaloïdes

La détection d'alcaloïdes est réalisée selon la méthode **d'Amana (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. 2,5ml d'extrait est ajouté à 1ml de chloroforme. Après homogénéisation, 1,5 ml d' H_2SO_4 concentré sont ajoutés au mélange. La formation d'une couleur brun-rouge à l'interface indique la présence de ces composés.

III.4.4. Tannins

2 à 3 gouttes d'une solution de FeCl_3 (2%) ont été ajoutées à 1ml de chaque extrait. L'apparition d'une coloration bleu foncée signale la présence des tannins galliques, tandis que celle d'une coloration vert foncée indique la présence des tannins catéchiques. La coloration bleu-verdâtre a indiqué la présence des deux types de tannins (**Soulama et al., 2014**).

III.5.Effet des extraits des feuilles de *Moringa oleifera* sur l'activité de l' α -amylase

Nous avons mesuré la production du maltose par action de α -amylase sur l'amidon de pomme de terre en présence de deux doses (D1=2D2) d'extrait de feuilles de *Moringa Oleifera*.

➤ Mode opératoire

Les extraits sont reconstitués dans le DMSO (dimethylsulphoxide).

Le dispositif expérimental utilisé est résumé dans le tableau X

Tableau X : Dispositif expérimental utilisé pour l' α -amylase (Shrikant *et al.*, 2013).

	Témoin	Blanc de témoin	Ext D1	Blanc Ext D1	Ext D2	Blanc Ext D2
Extrait de plante	—	—	160 ul	160 ul	160 ul	160 ul
Solution d'amidon 0,5%	1,6ml	1,6ml	1,6ml	1,6ml	1,6ml	1,6ml
Eau distillé	640ul	1,44ml	640ul	1,44ml	640ul	1,44ml
Enzyme 4U/ml	800ul	—	800ul	—	800ul	—
DMSO	160 ul	160 ul	—	—	—	—

Ext D1 : extrait à dose 1

DMSO : dimethylsulphoxide

Ext D2 : extrait à dose 2

D1=2D2

- Incuber les 06 tubes à 25°C pendant 5min.
- Prélever 800 ul de chaque tube et ajouter 400 ul de DNS pour les 800 ul.
- Incuber à 85°C pendant 15 min puis ajouter 3,6 ml d'eau distillée.
- La lecture se fait à 540 nm.
- Tous les essais sont répétés 5 fois pour les 4 extraits.

Compte tenu de nos conditions expérimentales, nous nous sommes limitées à la lecture de l'absorbance des échantillons en présence d'extraits.

III.6. Analyse statistique des résultats

Toutes les mesures sont réalisées en triple et les résultats exprimés par la moyenne \pm écart type.

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique au moyen du logiciel statistica 5.5 : analyse de la variance (ANOVA) et comparaison multiple des moyennes.

Les différences sont considérées significatives à $p < 0,05$.

IV. Résultats

IV.1. La composition chimique globale

La figure 26 résume la composition chimique globale des poudres de feuilles de *Moringa oleifera*.

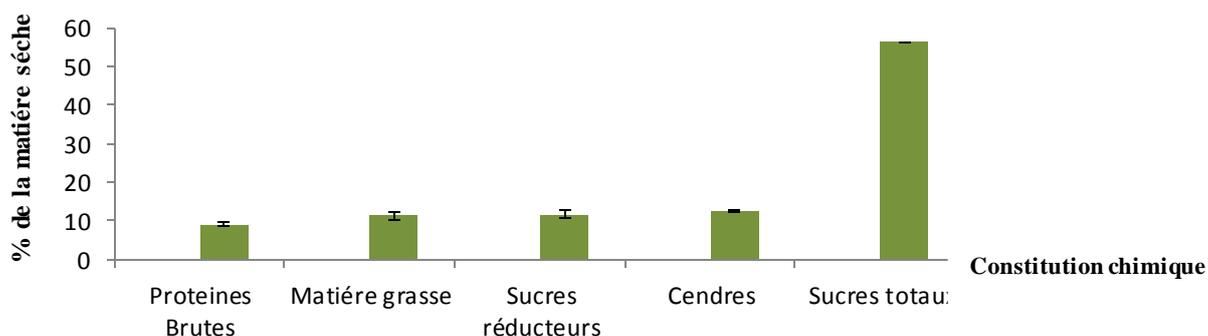


Figure 26 : Composition chimique de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera*.

Ces feuilles sont riches en sucres totaux (56.17%), avec des sucres réducteurs présents à hauteur de 11.68% de la matière sèche.

Les matières grasses représentent 11.36% de la matière sèche contre 9.11% pour les protéines brutes.

La figure 27 montre que les poudres de feuilles de *Moringa* renferment différents types de protéines.

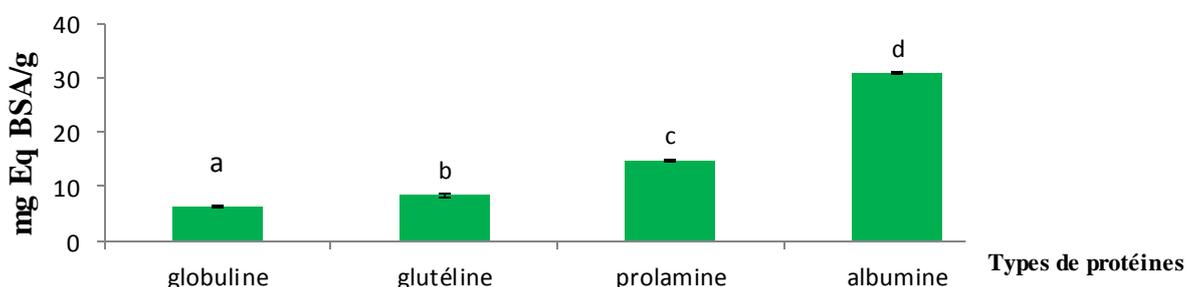


Figure 27: Teneurs des différents types de protéines des extraits de feuilles de *Moringa*

les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0.05$)

Les albumines sont les protéines majeures : elle forme 30.72 mg Eq BSA/g, suivie par les prolamines et les glutélines qui forment respectivement 14.81 mg Eq BSA/g et 8.28 mg Eq BSA/g. la fraction globuline est peu présente avec seulement 6.31 mg Eq BSA/g.

IV.2. Teneurs en composés phénoliques

IV.2.1 Phénols totaux solubles

Selon la figure 28, La teneur en phénols totaux solubles des différents extraits varie en fonction du type de solvant utilisé.

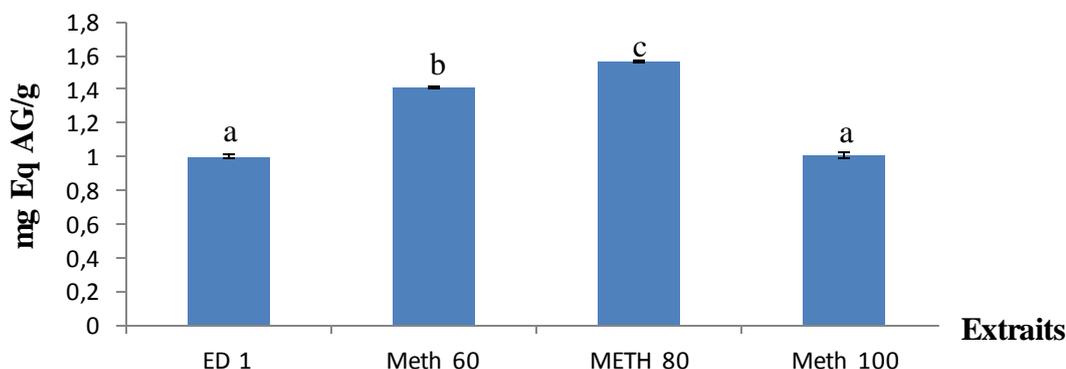


Figure 28: Teneurs en phénols totaux soluble des différents extraits
les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes
($p > 0.05$)

L'analyse statistique montre une variabilité significative des teneurs en phénols totaux solubles des différents extraits : la plus grande valeur est enregistrée avec le méthanol 80.

La substitution partielle de l'eau distillée par le méthanol 80 permet une amélioration significative ($p < 0.05$) de 56 % ; avec le méthanol 60 nous relevons une augmentation significative ($p < 0.05$) de 40%.

La substitution totale de l'eau distillée par le méthanol n'améliore pas significativement ($p > 0.05$) la teneur en phénols totaux solubles.

Nous notons que les extraits obtenus avec chacun des deux solvants (eau et méthanol) utilisés seuls ne manifestent pas de différences significative ($p > 0.05$) dans les teneurs en phénols totaux solubles.

IV.2.2. Flavonoïdes

Les résultats illustrés dans la figure 29 rapportent que le taux de flavonoïdes diffère d'un extrait à un autre.

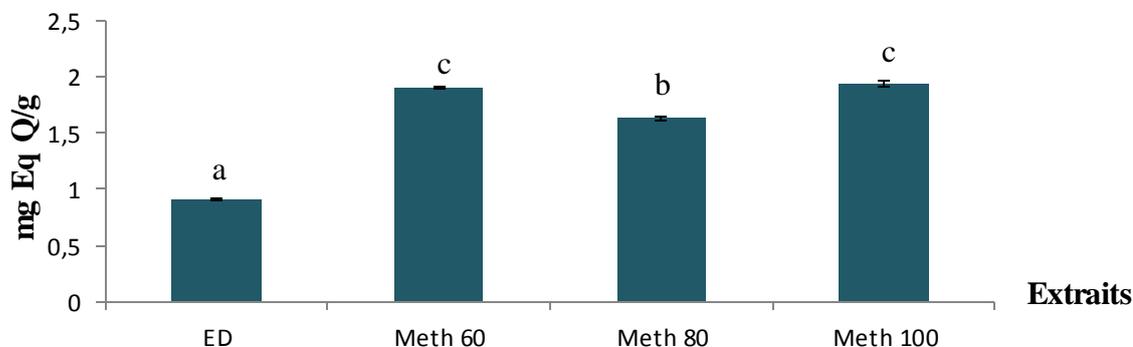


Figure 29: teneurs en flavonoïdes des différents extraits
Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0.05$)

Nos données analytiques montrent que les teneurs en flavonoïdes varient d'un extrait à un autre.

L'analyse de la variance montre un effet très significatif ($p < 0.05$) du facteur solvant d'extraction.

Nous notons que l'utilisation de l'eau s'accompagne de la plus faible teneur en flavonoïdes : 0.91 mg Eq Q/g Ech contre 1.62 (méthanol 80) à 1.93 mg Eq Q/g Ech (méthanol 100).

La substitution partielle de l'eau par le méthanol (60 ou 80) s'accompagne d'une augmentation significative ($p < 0.05$) des teneurs en flavonoïdes : + 77% (méthanol 80) à +107% (méthanol 60).

La substitution totale de l'eau par du méthanol induit une augmentation de la teneur en flavonoïdes de 111%.

IV.2.3. Tannins hydrolysables

La figure 30 révèle l'existence d'une variabilité significative ($p < 0.05$) des teneurs en tannins hydrolysables en fonction de la nature du solvant d'extraction.

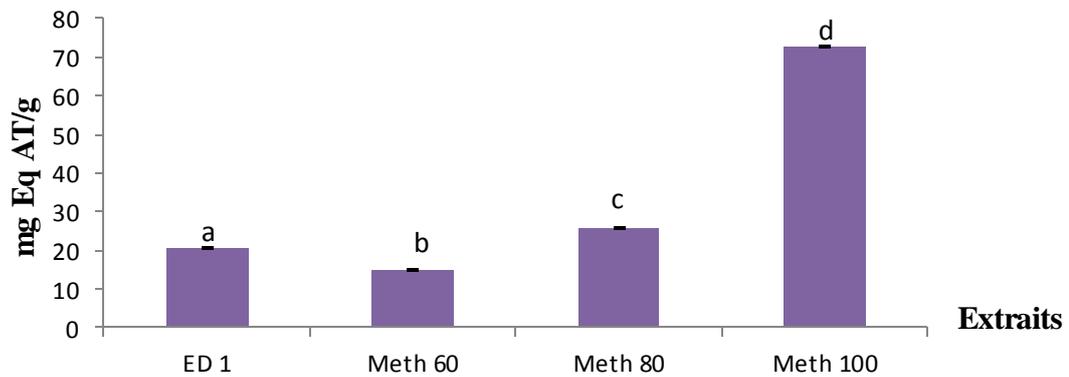


Figure 30 : Teneurs en tannins hydrolysables des différents
Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0.05$)

Les teneurs enregistrées varient de 15.01 mg Eq AT/g Ech (méthanol 60) à 72.89 mg Eq AT/g Ech (méthanol 100). L'effet de la présence du méthanol dans le solvant semble dépendre de son taux d'incorporation.

A faible taux (60% du milieu d'extraction), nous enregistrons une baisse significative ($p < 0.05$) de la solubilisation des tannins hydrolysables de 26.90%.

Lorsque le méthanol représente 80 ou 100% du solvant d'extraction, nous relevons par contre une augmentation significative ($p < 0.05$) dans la teneur en tannins hydrolysables : 25.83% (méthanol 80) et 254.95% (méthanol 100).

IV.2.4. Phénols non liés à la protéine

La figure 31 montre que la teneur en phénols non liés à la protéine varie avec le solvant d'extraction utilisé.

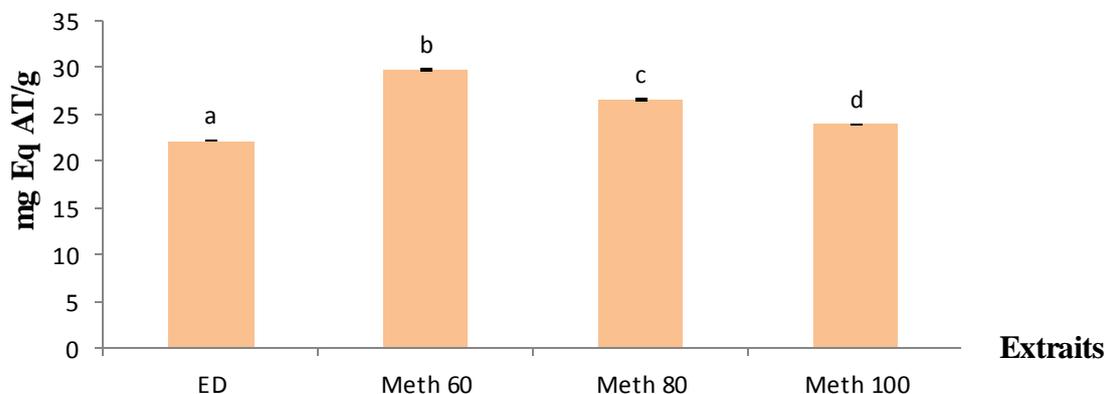


Figure 31: Teneurs en phénols non liés à la protéines des différents extraits.

les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p < 0.05$)

La présence de méthanol dans le solvant d'extraction modifie significativement les teneurs en phénols non liés à la protéine. Dans nos conditions expérimentales, nous notons que l'optimum de la teneur est enregistré avec le méthanol 60% : 29.67 contre 22.13 mg Eq AT/g ech.

Au-delà de 60%, nous relevons l'amorce d'une baisse des teneurs en phénols non liés à la protéine qui demeurent cependant supérieurs à celles des extraits aqueux.

IV.3. Mise en évidence d'autres métabolites secondaires

Les différents tests appliqués aux différents extraits ont révélé la présence d'autres métabolites secondaires : La présence de Saponines est déterminée par la formation d'une mousse persistante (figure 32). Les extraits hydro-alcooliques binaires (méthanol 60 et 80) ont donné des quantités de mousse importantes suivie de l'extrait aqueux avec une quantité de mousse moins importante. L'extrait méthanoïque pur semble contenir moins de saponines que les autres extraits.

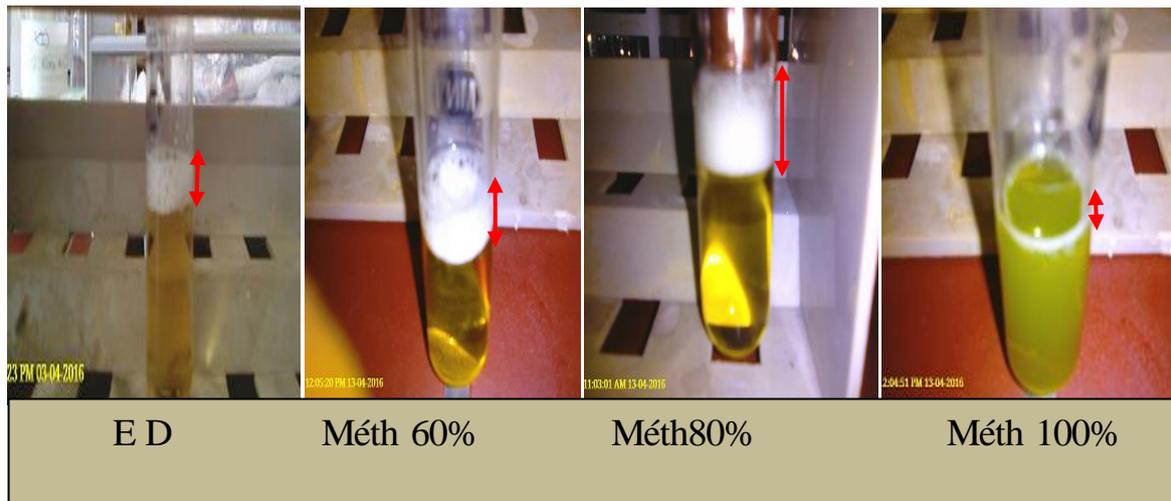


Figure 32 : Mise en évidence des saponines dans les extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

La présence des terpènes est déterminée par l'apparition d'une couleur brun-rouge à l'interface (figure 33). Les terpénoïdes sont uniquement détectés dans les extraits hydro-alcooliques binaires (méthanol 60 et 80).

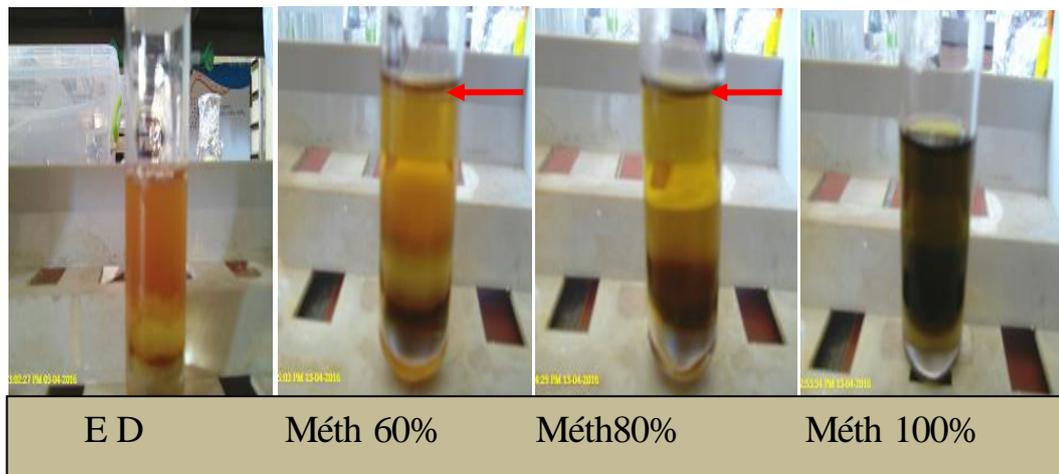


Figure 33 : Mise en évidence des terpénoïdes dans les extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

L'existence d'Alcaloïdes dans les différents extraits est déterminée par la formation d'un précipité brun-terne (Figure 34). L'extrait aqueux a révélé la présence d'alcaloïdes en abondance par la formation d'un précipité brun-terne remarquable suivie des extraits hydro-alcooliques binaires (méthanol 60 et 80) avec un précipité moins important. L'extrait méthanolique pur paraît contenir peu d'alcaloïdes.

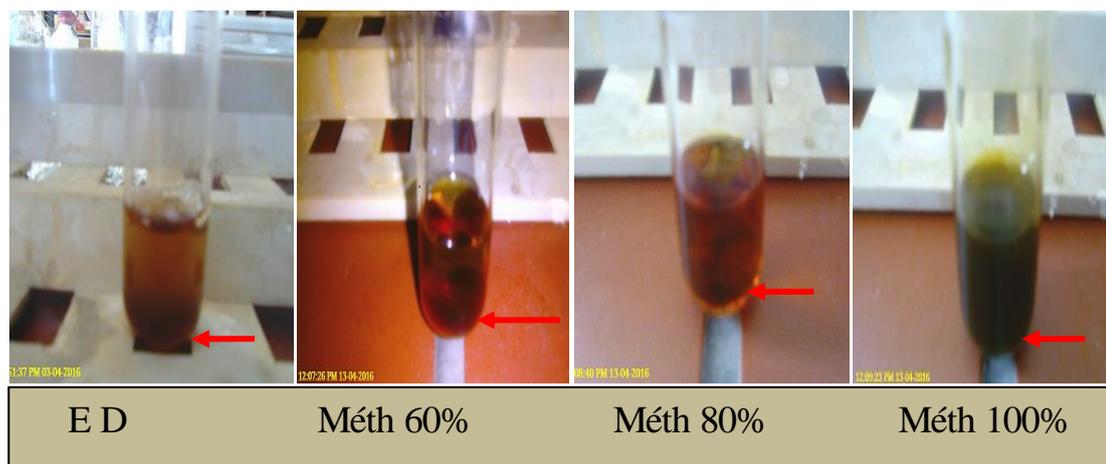


Figure 34 : Mise en évidence d'alcaloïdes dans les extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

L'apparition d'une coloration bleu foncée dans les différents extraits montre que les différents extraits sont pourvus en tannins. L'extrait méthanolique pur semble contenir la plus importante quantité en tannins (figure 35).

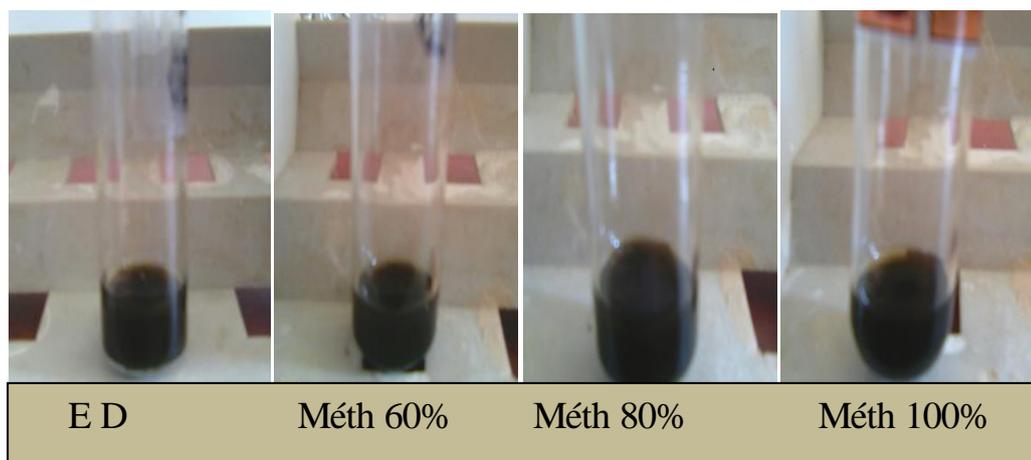


Figure 35 : Mise en évidence des tannins dans les extraits de feuilles de *Moringa oleifera*.

Le résultat de l'analyse phytochimique de nos extraits est résumé dans le tableau XI.

Tableau XI : Résultats de mise en évidence de saponines, terpénoïdes, alcaloïdes et tannins

Extrait	Saponines	Terpénoïdes	Alcaloïdes	Tannins
ED	++	-	+++	+
Meth 60%	+++	+++	++	+
Meth 80%	+++	+++	++	+
Meth 100%	+	-	+	++

++ : Présence du composé, +++ : Présence en abondance, + : Réaction faible.

ED : Extrait aqueux des feuilles, **Meth 60%** : Extrait méthanolique 60% des feuilles, **Meth 80%** : Extrait méthanolique 80% des feuilles, **Meth 100%** : Extrait méthanolique 100% des feuilles.

IV.4.Effet des extraits de feuilles de *Moringa oleifera* sur l'activité de l' α -amylase

Nos conditions expérimentales ne nous ont pas permis d'évaluer l'effet inhibiteur des extraits, des problèmes analytiques ou de qualité des produits serait à l'origine.

V. Discussion générale

Moringa oleifera est connue pour sa richesse en nutriments. Dans ce projet de travail, nous nous sommes intéressées à l'évaluation de la composition chimique de feuilles de *Moringa oleifera* ainsi que la teneur en composés phénoliques.

Globalement, la quantité de matières grasses (11.36 %) de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* s'intègre dans l'intervalle (1.4 à 17.1 %MS) des valeurs rapportées par **Foidl et al., (2001)** et **Abdalla ., (2013)**. Nos données pour Les cendres (12.49 % MS) et les protéines brutes (9.10%) sont comparables à celles rapportées par **Tchiégang et Aissatou, (2004)** pour les cendres (8 à 13 %MS) et pour les protéines (1.71 à 25.1 %MS) rapportées par **Sanchez-Machado et al., (2009)**.

La poudre des feuilles de *Moringa oleifera* s'avère une source importante en sucres totaux (56.17% MS). Cette valeur s'accorde avec les données (49.52 % MS) de **Tchiégang et Aissatou, (2004)** ; la teneur en sucres réducteurs (11.68 %MS) est plus faible par rapport à celle retrouvée dans la littérature (39.16 %MS) selon **Tchiégang et Aissatou., (2004)**.

La matière végétale étudiée renferme les quatre fractions protéiques (albumines, prolamines, glutélines et globulines). Les albumines sont les protéines majeures (30.72 mg Eq BSA/g), par contre les globulines sont présentes mais a des quantités faibles (6.31 mg Eq BSA/g). Ces résultats rejoignent les données et conclusions de **Nasri et Triki., (2007)**.

Il est difficile de comparer nos données à celles de la bibliographie, tant de nombreux facteurs peuvent intervenir : conditions agro-climatiques, nature du cultivar, origine géographique, partie de la plante, facteurs génétiques, degré de maturité, conditions de stockage ainsi que les méthodes analytiques.

Les différents dosages réalisés confirment la présence de plusieurs classes de composés phénoliques (phénols totaux solubles, flavonoïdes, tannins hydrolysables et les phénols non liés à la protéine).

La teneur des composés phénoliques présents est exprimée en mg équivalent d'acide gallique, et la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent quercétine/g de la matière végétale.

La teneur en phénols totaux solubles (1.001 à 1.559 mg Eq AG/g) s'avère faible par rapport aux données de la bibliographie (3.75 à 45.81 mg Eq AG/g) rapportées par **Sreelatha et Padma, (2009)**. La quantité des flavonoïdes présente dans les feuilles de *Moringa oleifera* (0.91 à 1.93 mg Eq Q/g) est inférieure à celle retrouvées dans la littérature (8.25 à 40.14 mg Eq Q/g) rapportée par **Vangsak et al., (2013)** et **Suphachai, (2014)**.

L'extraction a pour but de diffuser dans la phase liquide des composés phénoliques présents dans la matière végétale (**Ryan et al., 2002**). Comme le soulignent **Turkmen et al (2006)**, les solvants utilisés pourraient ne pas solubiliser et extraire les mêmes composés bioactifs. Nos données traduisent des différences de solubilité des composés dosés et corroborent les résultats de divers auteurs. Les systèmes de solvants binaires sont plus performants et favorables dans l'extraction des composés phénoliques dans la plante.

L'eau peut dissoudre des molécules indésirables telles que les protéines et les polysaccharides. La méthode du réactif du folin-ciocalteu donne une estimation brute des composés phénoliques présents dans l'extrait (**Wong et al., 2006 et Tawaha et al., 2007**). Certains interférents peuvent interagir avec le réactif donnant lieu à une concentration élevée en composés phénoliques. Le dosage par la méthode spectrale peut amener à une surestimation de la teneur en composés phénoliques totaux dans le matériel végétal, cela est dû au chevauchement des réponses spectrales et aux interférents tels que les substances réduites (**Naczk et Shahidi, 2004**).

L'analyse phytochimique de nos extraits a révélée la présence de diverses classes d'agents phytochimiques présents dans nos extraits à divers degrés. C'est le cas des saponines et terpénoïdes qui sont très présents dans les extraits à solvant binaires (méthanol 60 et 80) ; les alcaloïdes sont solubilisés surtout par l'eau distillée et dans une moindre mesure par le solvant binaire. Nos observations s'accordent avec les données rapportées par **Alhakmani et al. (2013)** et **Chouldhar et al, (2013)**. Les mêmes auteurs citent la présence de divers autres métabolites tels que les stérols, glycosides, caroténoïdes... dans *Moringa oleifera*. Un certain nombre de rapports scientifiques indiquent que certains terpénoïdes, stéroïdes et les composés phénoliques comme les tannins, coumarines et les flavonoïdes ont des effets protecteurs en raison de leurs propriétés antioxydantes (**Sreelatha et Padma, 2009**).

Conclusion générale et perspectives

La présente étude a permis d'évaluer d'une part la composition chimique globale et d'autre part la teneur en composés phénoliques de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera*, ainsi que la mise en évidence de la présence d'autres métabolites secondaires.

Les feuilles de *Moringa oleifera* sont un légume de bonne qualité nutritionnelle et sont l'un des meilleurs légumes tropicaux. La poudre de ses feuilles se caractérise par sa richesse en sucres totaux (56.17%), cendres (12.49%), sucres réducteurs (11.68%), matière grasse (11.36%) et en protéines brutes (9.11%).

La poudre des feuilles de *Moringa oleifera* renferme les quatre fractions protéiques. Les albumines sont les protéines majeures (30.72 mg Eq BSA/g), les prolamines et les glutélines sont présents respectivement à 14.81 mg Eq BSA/g et 8.28 mgEq BSA/g. La fraction globuline est peu présente avec seulement 6.31 mg Eq BSA/g.

Les différents dosages réalisés sur la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* ont révélés la présence de plusieurs classes de composés phénoliques : phénols totaux solubles (1.001 à 1.559 mg Eq AG/g ech), flavonoïdes (0.914 à 1.537 mg Eq Q/g ech), les tannins hydrolysables (15.012 à 72.899 mg Eq AT/g ech) et phénols non liés à la protéine (22.131 à 29.673 mg Eq AT/g ech). Les extraits hydro-alcooliques binaires et méthanoliques sont plus riches en composés phénoliques que les extraits aqueux.

Les tests phytochimiques ont permis de mettre en évidence des saponines, des alcaloïdes, des terpénoïdes et des tannins dans les différents extraits de poudre de feuilles de *Moringa oleifera*.

Ce travail mérite d'être poursuivi et approfondie par :

- ✓ Caractérisation approfondie des feuilles et autres parties de *Moringa* en vue d'une application nutritionnelle.
- ✓ Détermination des teneurs en composés phénoliques présents dans d'autres parties de la plante (tige, graine, amande, gousse, racines, ...), identification et caractérisation des activités biologiques des composés phénoliques.
- ✓ Des études *in vivo* sur des modèles animaux et les essais cliniques pour évaluer les intérêts thérapeutiques et pharmacologiques de cette plante.

-A-

AbdulHannan Md., Ji-Young K., Mohibbullah Md., Yong-Kih., Hyunsook L., Jaesuk C., In soon C. et Il soo M. (2014). *Moringa oleifera* with promising neuronal survival and neurite outgrowth promoting potentials. *Journal of Ethnopharmacology*.152: 142-150.

Abdulkarim S.M., Long K., Lai O.M., Muhammed S.K.S. et Ghazali H.M. (2005). Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. *Food chemistry*.93: 253-263.

Aberra M. (2011).Comparative assessment on chemical compositions and feeding values of leaves of *Moringa stenopetala* and *Moringa oleifera* using in vitro gas production method. *Ethiop.J.Appl.Sci.Technol*.2(2): 31-41.

Agbogidi O et Metlondu E.M. (2012). *Moringa oleifera* Lam: Its potentials as a food security and rural medicinal item. *J.Bio.Innovl*.(6) 156-167.

Agostini- Costa T., Vieira R.F., Bizzot H.R., Silveira D. et Gimenes M.A.

(2012). Secondary metabolites. *Chromatography and its application*.132-164.

AlhakmaniF., Kumar S. et Alam Khan K. (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.

Amaglo N.K., Bennett R.N., Lo curto R.B., Rosa E.A.S., Lo turcoV., Giuffrida A., Locurto A., Crea F. et Timpo G M. (2010). Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. *Food chemistry*.122:1047-1054.

Amana K. 2007. Les anacardiaceae du Togo : les études botaniques, écologiques et propriétés antifongiques. Thèse de doctorat de l'université de Reims champagne-ardenne.182.

Amiot M.J., Aubert S., Gonnet M. et Tachini M. (1989). Les composés phénoliques des miels : étude préliminaire sur l'identification par familles. *Elsevier INRA*. 20(2) :115-125.

AOAC. (1990). AOAC, Official Methods of Analysis Craithersburg, 15 th ed. MD, USA, Association of Official Analytical Chemists, Arlington ,VA.

Asare G.A., Gyan B., Bugyei K., Adjei S., Mahama R., Addo P., Otu-Nyarko L., Wiredu E.K. et Nyarko A. (2012). Toxicity potentials of the nutraceutical *Moringa oleifera* at supra-supplementation levels. *Journal of Ethnopharmacology*.39: 265-272.

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*. 2.

Atamasova M et Ribarova F. (2009). phénols et flavonoïdes totaux dans les extraits secs des feuilles des bouleaux argentés bulgares (*betula pendula*). *Revue de génie industriel*. 4 : 21-25.

Aufrere J., Theodoridou K. et Baumont R. (2012). Valeur alimentaire pour les ruminants des légumineuses contenant des tannins condensés en milieux tempérés. *INRA production animales*. 25 : 29-44.

Azeez F.A., Famuyid O.O., Nosiru M.O., Bello G.T., Clement N.A., et Amoon M.O. (2013). Technical efficiency of *Moringa oleifera* production in Isokan local government area of osun state, Nigeria. *Discourse Journal of Agriculture and Food sciences*. 1(2):78-84.

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-

Baizot N et Charpentier J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques*. 79-82.

Biaye M. (2002). Action pharmacologique des tanins. Thèse de doctorat spécialité pharmacie, université de Dakar. 53p.

Borges Teixeira E.M., Barbieri Cavalho M.R., Neves V.A., Silva M.A. et Arautes-Pereira L. (2014). Chemical characteristics and Fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. Leaves. *Food chemistry*. 147: 51-54.

Boulal A., Benbrahim Z., Benali B. et Ladjel S. (2013). Etude comparative de rendement de la production d'éthanol de deux variétés de dattes communes de faible valeur commerciale (Tinaceur et Aghmow) de sud-ouest de l'Algérie. *Revue des Energies Renouvelables*. 16(3) : 539-550.

Bourgaud F., Gravot A., Milesi S. et Gontier E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*. 161: 839–851.

Breitmarier E. (2006). Terpènes : importance, general structure, and biosynthesis.

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

Bruneton J. (1999). Tannins. In : pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *Tec & Doc(ED)*, Paris, 369-617.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} édition, université de Paris sud, France. 389-617.

-C-

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

Chira K., Suh J.H., Saucier C. et Teissedre P.L. (2004). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*. 6 : 75-82.

Choudhary M.K., Boudakhe S.H. et Gupta S.K. (2013). Assessment of the antiulcer potential of *Moringa oleifera* root-bark extract in rats. *Journal of Acupuncture and meridian studies*.6(4):214-220.

Chow P.S. et Landhaiser S.M. (2004). A method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissue *Tree Physiology*. *Heron Publishing- victoria, Canada*.24: 1129-1136.

Croteau R., Kutchan T. M. et Lewis N. G. (2000). Natural products (secondary metabolite). In B. Buchanan, W. Gruissem, and R. Joneas, eds., *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Biologists, Rockville, MD.1250–1268.

-D-

Da silva J.P.V., Serra T.M., Gossmann M., Wolf C.R., Meneghetti M.R. et Meneghetti S.M.P. (2010). *Moringa oleifera* oil: studies of characterization and biodiesel production. *Biomass and Bioenergy*.34: 1527-1530.

Debnath S., Bismas D., Ray K. et Guha D. (2011). *Moringa oleifera* induced potentiation of serotonin release by 5-HT₃ receptors in experimental ulcer model. *Phytomedicine*.18: 91-95.

Djeridane A., Youshi M., Nedjemi B., Boutassowa D., Stocker P. et Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*. 97: 654-660.

Doat J. (1978). les tannins dans les bois tropicaux. *Revue bois et forêts des tropiques*. 37-54.

Dongmeza E., Siddhuraju P., Francis G. et Becker K. (2006). Effects of dehydrated methanol extracts of moringa (*Moringa oleifera Lam.*) leaves and three of its fractions on growth performance and feed nutrient assimilation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus (L.)*). *Aquaculture*. 261:407-422.

Dubois M., Gilles K., Hamilton J.K., Roberts P.A. et Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal chem.* 28 : 350-356.

-E-

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

-F-

Farooq A., Sajid L., Muhammad A. et Anwarul H. (2007). *Moringa oleifera*: A food plant with multiple Medicinal uses. *Phytotherapy Research*. 21: 17-25.

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

-G-

Georgewill O A., Georgewill U O. et Nwankwoala RNP. (2010). Anti-inflammatory effects of *Moringa oleifera Lam* extract in rats. *Asian pacific Journal of tropical medicine*. 133-135.

Gonçalves R., Mateus M. et Freitas V. (2010). Biological Relevance of The interaction between procyanidine and trypsin: A multi technique Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(22): 11924-11931.

Goyal B.R., Agrawal B.B., Goyal R.K. et Mehta A.A. (2007). Phyto-pharmacology of *Moringa oleifera Lam.* An overview. *Natural Product Radiance*. 6 (4): 347-353.

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

-H-

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

Han X., Shen T. et Lou H. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *Int. J. Mol. Sci.* 8: 950-988.

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 Center for Science and High Technology Trieste Italy.* 21- 54.

Harbone J.B. (1993). Introduction to ecological biochemistry, 4th ED. *Academic press* : london.

Hedji C.C., Kpogué Gangbazo D.N.S., Houinato M.R. et Fiogbé E.D. (2014). Valorisation de *Azolla* spp, *Moringa oleifera*, *Son de riz*, et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale : synthèse bibliographique. *Journal of applied biosciences.* 81.

Hennebelle T., Sahpaz S. et Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie.* 1 : 3-6.

Hesse M. (2002). Alkaloids. *Nature's source or blessing.* 1-24.

-I-

Iserin P. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparation, soins. 2nd édition, Dorling Kinésie limited, London.

-J-

Jaiswal D., Kumar Rai P., Kumar A., Mehta S. et Watal G. (2009). Effect of *Moringa oleifera* therapy on hyperglycemic rats. *Journal of ethnopharmacology.* 123:392-396.

Jaiswal D., Kumar Rai P., Shatterji S., Shukla S., Kumar Rai D., Sharma G., Sharma B., Khair S. et Watal G. (2013). Role of *Moringa oleifera* in regulation of diabetes-induced oxidative stress. *Asian pacific Journal of tropical medicine.* 426-432.

Jed W. (2005). *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. *Part I. Trees for life journal.*

-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.

Kabor A., SavadagoB., Rosillon F., Straore A.S. et Dindou D.(2013). Optimization de l'efficacité des graines de *Moringa oleifera* dans le traitement des eaux de consommation en Afrique sub-saharienne : cas des eaux du Burkina Faso. *Revue des sciences de l'eau /Journal of water science.*26(3) : 209-220.

Kafuku G.et Mbarawa M. (2010). Alkaline catalyzed biodiesel production from *moringaoleifera* oil with optimized production parameters. *Applied energy.*87:2561-256.

Karadi R.V., Gadge N.B., Alagawadi K.R.et Savadi R.V.S. (2006).Effect of *Moringa oleifera* Lam. Root-wood on ethylene glycol induced wolithiasis in rats. *Journal of ethnopharmacology.*105: 306-311.

Kauffman D.L Bennick A., Blum M. et Keller P. (1991). Basic proline-rich proteins from human parotid saliva: relationships of the covalent structures of ten proteins from a single individual. *Biochemistry.* 30 (14): 3351-3356.

Kavitha C., Ramesh M., Kumaran S.S. et Lakshmi S.A. (2012). Toxicity of *Moringa oleifera* seed extract on some hematological and biochemical profiles in a fresh water fish, cyprinuscarpio. *Experimental and toxicologic pathology.*64: 681-687.

Kennedy D.O et Wightman E.L. (2011).Herbal extracts and phytochemicals : plant secondary metabolites and the enhancements of human brain function. *American society for nutrition.*2 : 32-50.

Kesharwani S., Prasad P., Roy A. et Kumar Sahu R. (2014). An overview on phytochemistry and pharmacological explorations of *Moringa oleifera*.UK Journal of pharmaceutical and Biosciences.2(1): 34-41.

Kooltheat N., Pankla Sranujit R., Chumark P., Potup P., Laytragoon-Lewis N. et Usuwanthim K. (2014). An ethyl acetate Fraction of *Moringa oleifera* Lam. Inhibits human macrophage cytokine production induced by cigarette smoke.*Nutrients.*6.

Krishna Prasad R. (2009). Color removal from distillery spent wash through coagulation using *Moringa oleifera* seeds: use of optimum response surface methodology. *Journal of Hazardous materials*. 165:804-81.

-L-

Lalas S et Tsaknis J. (2002).Characterization of *Moringa oleifera* seed oil variety "Periyakulam 1". *Journal of food composition and analysis*.15:65-77.

Lamaison J.L. et Carnet A. (1990).Teneurs en principaux flavonoïdes dans les fleurs et les feuilles de *Crataegus monogynajacq* et de *laevigata* (poiret) DC en fonction de la végétation. *Plant.Med.Phytother*.25:12-16.

Lamarti A., Badoc A., Deffieux G. et Carde J.P. (1994). Biogénèse des monotérpènes II- la chaîne isoprénique *Bull.Soc.Pharm.Bordeaux*.133 : 79-99.a

Leon A., Fiorillo G., Crisculi F., Ravasenghi S., Santagostini L., Fico G., Spadafranca A., Battezzati A., Schiraldi A., Pozzi F., Dilello S., Filippini S. et Bertoli S. (2015). Nutritional Characterization and Phenolic Profiling of *Moringa oleifera* Leaves Grown in Chad, Sahrawi Refugee Camps, and Haiti. *International Journal of Molecular Sciences*.16 : 18923-18937.

Lindsay H. (1973). A colorimetric estimation of reducing sugars in potatoes with 3,5-dinitrosalicylic acid. *Method in Potatos Research*. 16 : 176-179.S.

-M-

Macheix J.J. (1996). Les composés phénoliques des végétaux : quelle perspective à la fin du XX^{ème} siècle ? *Acta Botanica gallica*. 143(6): 473-479.

Mensi F., Ksouri J., Hammami W. et Romdhane M.S. (2009). L'algue rouge *Graciloriaverrucosa* (Hudson) Papenfuss de la gône de Bizerte (Tunisie septentrionale): essai de culture en mode suspendu et composition biochimique. *Bull. Inst. Natn.Sci. Tech. Mer de Salammbô*.36: 125-137.

Mishra S.P., Singh P. et Singh S. (2012). Processing of *Moringa oleifera* leaves for Human consumption. *Bulletin of Environment, Pharmacology and life sciences*.2(1): 28-31.

Mole S. et Waterman P.G. (1987). A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies II. *Techniques for biochemically defining tannins oecologia*. 72: 148-156.

Muhl Q.E., Du toit E.S. et Robbertse P.J. (2011). Adaptability of *Moringa oleifera* Lam. (Horseradish) Tree seedlings to three temperature regimes. *American Journal of plant sciences*.2: 776-780.

Musa D.B., Garba Y., Jibril M.Y. et Lukman H. (2015). Costs and returns of *Moringa oleifera* production in Zuru local government area of Kebbi state, Nigeria. *New York science Journal*.8(1).

-N-

Nacz M , et Shahidi F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in foods. *Journal of chromatography A*. 105: 95-111.

Nasri N. et Triki S. (2007). Les protéines de réserve du pin pignon (*Pinus pinea L.*). *C.R.Biologies*. 330: 402-409.

Naumo Ngangmou T., Tatsadjeu Ngouné T., Montet D. et Carl Moses F.M. (2013). Effect of pure culture fermentation on Biochemical composition of *Moringa oleifera* Lam leaves powders. *Food and nutrition sciences*.4: 851-859.

Ndong M., Wade S., Dossou N., Guiro A.T. et Diagne Gning R. (2007). Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. *African Journal of food agriculture nutrition and development*.7 (3).

-O-

Olivier N'Guessan A.H., Deliko C.E., Mamybékova-békro J.A. et Békro Y.A. (2011). Teneur en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire. *Revue de genie industriel*.6 :55-61.

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

Oomah B.D., Corbé A. et Balasubramanian P. (2010). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Bean (*Phaseolus Vulgaris L.*) Hull. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 8225-8230.

Orwa C., Mutua A., Kindt R., Jamanadass R. et Anthony S. (2009). Agro forestree Database: a tree reference and selection guide version.4.0 (<http://www.worldagroforestry.Org/sites/treedbs/Treedatabases.asp>).

-P-

Paiva P.M.G., Santana G.M.S., Souza I.F.A.C., Albuquerque L.P., Agra-Neto A.C., Albuquerque A. C., Luz L.A., Napoleao T.H.et Caelho L.C.B.B. (2011). Effects of lectins from *Opuntia ficusindia* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. *International Bioterrorism and Biodegradation*. 65: 982-989.

-R-

Rahman I., Biswas S.K. et Kirkham P.A. (2006). Regulation of inflammation and redox Signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol*. 72: 1439-1452.

Rangkadilok N., Sitthimonchai S., Worasuttayangkurn L., Mahidol C., Ruchirawat M. et Satayavivad J. (2007). Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruits extract. *Food Chem. Toxicol*. 45: 328-336.

Reyes Sanchez N., Ledin S. et Ledin I.(2006). Biomass production and chemical composition of *Moringa oleifera* under different management regimes in Nicaragua. *Agroforestry systems*. 66:231-242.

Rébereau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Edition Sunod.Paris. 225.

Roloff A., Weisgerber H., Lang U.et Stimm B. (2009). *Moringa oleifera* Lam 1785. *Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie*.

-S-

Saha P., Jena R.C., Sahoo B., Sahoo K. et Lenka A. (2012). Sufficing Nutraceutical rich multipurpose leafy vegetable on earth: *Moringa*. *Odisha review*. 72-80.

Sanchez- Machado D.I., Lopez- Cervante J .etRiosvazquez N.J. (2006). High-performance liquid chromatography method to measure α - and γ -tocopherol in leaves, flowers and fresh beans from *Moringa oleifera*. *Journal of Chromatography A*. 1105: 111-114.

Sarni-Manchado P et Cheynier V. (2006). polyphénols en agroalimentaire. *Ed Tec Doc*, Paris, 2-10.

Sereme A., Milligo-Rasolodimby., Guinko S. et Nacro M. (2008). propriétés thérapeutiques des plantes à tannins du Burkina Faso. *Pharmacopée et Médecine traditionnelles Africaines*. 15:41-49.

Sereme A., Milligo- Rasolodimby J., Guinko S. et Nacro M. (2010). Anatomie et concentration des tanins des plantes tannifères du Burkina Faso. *Journal des sciences*. 10(2) : 24-32.

Shi J., Yu J., Pohorly J., Young C., Bryan M. et Wu Y. (2003). Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. *Food Agriculture and Environment*. 1: 42-47.

Skerjet M., Kotmik P., Hadolin M., Hras A., Simonic M. et Knez Z. (2005). Phenols, proanthocyanidine, flavones et flavonols in some plant material and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 89: 191-198.

Soulama S., Samon H.O., Meda R.N. et Boussim J.I. (2014). Teneurs en tanins de 15 ligneux fourragers du Burkina -Faso. *Afrique Science*. 10(4): 180-190.

Sreelatha S. et Padma P.R. (2009). Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Moringa oleifera* Leaves in Two Stages of Maturity. *Plant Foods Hum Nutr*. 64: 303-311.

Sundarram A et Krishma Murty T.P. (2014). α -amylase production and application : A review. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*. 2(4): 166-175.

-T-

Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammed M. et Elimat T. (2007). Antioxydant activity and total phenolic content of selecte djordanian plant species. *Food Chemistry*. 104 : 1372-1378.

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

Turkmen N., Sari F. et Velioglu Y.S. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food chemistry*. 99(4): 835-841.

-V-

Vanisree M et Hsin- Sheng T. (2004). Plant Cell cultures – An Alternative and Efficient Source for The Production of Biologically important secondary Metabolites. *International Journal of Applied science and Engineering*. 2(1): 29-48.

Vangsak B., Sithison L. et Gritsanapam W. Bioactive contents and free radical scavenging activity of *Moringa oleifera* leaf extract under different storage conditions. *Industrial crops and products*. 49: 419-421.

Verscheure M., Lognay G. et Marlier M. (2002). Revue bibliographique: les méthodes Chimiques d'identification et de classification des champignons. *Biotechnology Agron Soc Environ*. 6 (3): 131-142.

Vincent M. (1996). Blood glucose : Its measurement and clinical importance. *Clinica Chimica Acta* 251. 3-17.

-W-

Wong S.P., Leong L.P. et Koh J.H.W. (2004). Antioxydant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food chemistry*. 99 : 775-783.

-Y-

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

Yang Y.U., Chang L.C., Hsu J.C., Wang B.C., Palada M.C., Chalda M.L. et Lévasseur V. (2006). Propriété nutritionnelle et fonctionnelles des feuilles de Moringa du germoplasme, à la plante, à l'aliment et à la santé. 16-18.

<http://www.moringa.org>.consulté le: 11-02-2016.

<http://www.tela-botanica.org>.Consulté le : 23-02-2016.

[http://www.treesforlife.org /project/moringa](http://www.treesforlife.org/project/moringa).Consulté le 23-02-2016.

Annexe I

Tableau III : valeurs nutritionnelles des différentes parties de *Moringa oleifera* (Saha et al., 2012).

Partie de la plante	Nutriments
Feuilles	Riches en protéines, carotène, fer et acide ascorbique. Contient le magnésium et le potassium.
Fleurs	Cuivre : 0,62 mg, soufre : 137mg, chlore : 423mg, acide oxalique : 101mg et de la lysine.
Gousses	Riches en acides aminés (alanine, arginine, glycine, serine, thréonine, valine, acide glutamique et acide aspartique) et lysine.
Graines	Dérivé benzylisothiocyanate et benzoisothiocyanate.
Racines	Anthomine et pterygospermine (Antibiotiques).

Tableau IV : Composition moyenne des feuilles de *Moringa oleifera* (Broin, 2005).

Données pour 100 grammes de matière sèche			
Composition globale		Acides aminés (mg)	
Calories (kcal)	300	Arginine	1600
Protéines (g)	25	Histidine	530
Glucides (g)	40	Isoleucine	1140
Lipides (g)	8	Leucine	2050
Minéraux (g)	12	Lysine	1200
Fibres (g)	15	Méthionine	370
Teneur en eau %	75	Phénylalanine	1400
		Thréonine	1080
Minéraux (mg)		Tryptophane	580
Calcium	2100	Valine	1400
		Acide aspartique	1670

Cuivre	1	Acide glutamique	2470
Fer	27	Sérine	840
Potassium	1300	Glycine	960
Magnésium	405	Alanine	1260
Phosphore	310	Tyrosine	910
Manganèse	8	Cystéine	360
Soufre	740	Proline	1230
sélénium	2,6		850
Zinc	2,6		
Molybdène	0,5	Acides gras	
Sodium	100		
Vitamines		C 16: 0	530
Vitamine A(UI)	14300	C 18: 0	70
Vitamine C(mg)	850	C18: 1	60
		C 18 : 2	170
		C 18: 3	1140

Tableau V: Teneur en nutriments des feuilles sèches et fraîches (Aberra, 2011).

Nutriment	Aliment commun	Feuilles fraîches	Feuilles sèches
Vitamine A	Carotte 1.8 mg	6.8 mg	18.9 mg
Calcium	Lait 120 mg	440 mg	2003 mg
Potassium	Banane 88 mg	259 mg	1324 mg
Protéine	Yaourt 3.1 g	6.7 g	27.1 mg
Vitamine C	Orange 30 mg	220 mg	17 mg

Tableau VI : Teneur en phénols totaux des feuilles de *Moringa* fraîches et après extraction (Foidl *et al.*, 2001).

Echantillon	Phénols totaux (%)	Tannins (%)	Tannins condensés (%)	Saponines (%)	Phytates (%)
Feuilles sèches	1,6	0,0	0,0	0,2	2,5
Feuilles fraîches	3,4	1,4	0,0	5,0	3,1

Tableau VII : Importance médicinale des différentes parties de *Moringa oleifera*.

Activité pharmacologique	Nature de l'extrait	Composé responsable	Références
Activité antimicrobienne	-Extraits de feuilles, graines, racines et de l'écorce	-4-(<i>L</i> -rhamnopyranosyloxy) benzyl isothiocyanate -4-(<i>L</i> -rhamnopyranosyloxy) benzylglucosinolate -Pterygospermine	(Farooq <i>et al.</i> , 2007)
Activité anti-inflammatoire	-Extraits méthanoliques des racines, tiges, feuilles et fleurs. Extraits aqueux des racines -Extraits éthanoliques des graines	- acétate Aurantianide -1,3-dibenzyl urée	(Alhakmani <i>et al.</i> , 2013)
Activité anti-tumorale	-Différents extraits des feuilles - Extraits éthanoliques des graines	-Thiocarbamate -Isothiocyanate	(Kesharwani <i>et al.</i> , 2014)
Activité hépatoprotective	-Extraits éthanoliques des feuilles -Extraits alcooliques des graines	—	(Debnath <i>et al.</i> , 2011)
Activité antiépileptique	-Extraits méthanoliques des feuilles	—	(Saha <i>et al.</i> , 2012)
Activité antioxydante	- Extraits aqueux, méthanoliques et éthanoliques des feuilles et des racines	Kaempferol	(Georgewill <i>et al.</i> , 2010)

Activité cardiovasculaire	-Extraits éthanoliques des feuilles	Thiocarbamate et isothiocyanate glycosides	(Jaiswal <i>et al.</i> , 2009)
Activité antiulcer	-Extraits aqueux des feuilles	—	(Kavitha <i>et al.</i> , 2012 ; Saha <i>et al.</i> , 2012)
Activité antidiabétique	Extraits aqueux des feuilles	—	(Jaiswal <i>et al.</i> , 2013)
Activité antiasthmatique	-Extraits alcooliques des graines	—	(Jaiswal <i>et al.</i> , 2009 ; Farooq <i>et al.</i> , 2007)
Activité analgésique	-Extraits méthanoliques des racines	—	(Georgewill <i>et al.</i> , 2010 ; Choudhary <i>et al.</i> , 2013)
Activité diurétique	-Infusions des fleurs, feuilles, racines, graines et de l'écorce	—	(Kesharwani <i>et al.</i> , 2014)

Tableau VIII : quelques résultats obtenus par aspersion foliaire d'une phytohormone naturelle extraite du Moringa (Foidl *et al.*, 2001).

Culture	Effets de l'hormone de Moringa	Rendement avec hormone (kg /manzana *)	Rendement sans hormone (kg /manzana)
Arachide	Fleurs plus grandes MS plus élevée Rendement amélioré Fruits de meilleure qualité	3750	2954
Soja CEA-CH 86	Fleurs plus grandes Biomasse plus élevée Rendement amélioré	2182	1591
Maïs NB-6	Rendement amélioré	6045	4454
Oignon	Poids moyen plus élevé	2954	2591
Tomate	Floraison améliorée	-	-
Poivron	MS plus élevée	17380	11752
Café	Grains plus gros Production des fèves améliorée	1682	1408

Canne à sucre	Plus de pousses par souche plantée Pourcentages de sucres et minéraux plus élevés	82400	77320
---------------	--	-------	-------

1 manzana = 0,705 hectares ou 7050 m²

Tableau IX : Activités biologiques des composés polyphénoliques.

Polyphénols	Activités	Source
Acides Phénols	Antibactériennes, antifongiques et antioxydantes	(Rangkadilok et al., 2007)
Flavonoïdes	Antitumorales, anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, hypotenseurs, diurétiques et antioxydantes	
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydantes	(Rahman et al., 2006)
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydantes, antifongiques et anti-inflammatoires. antitumorales, et anti-	(Hennebelle et al., 2004)

Annexe III

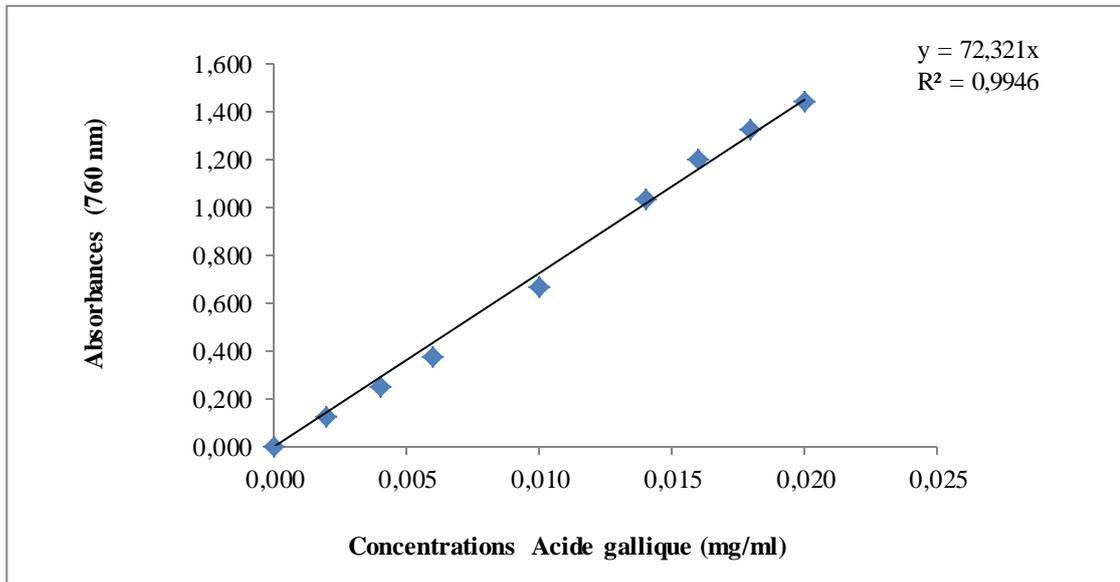


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de dosage des phénols totaux solubles.

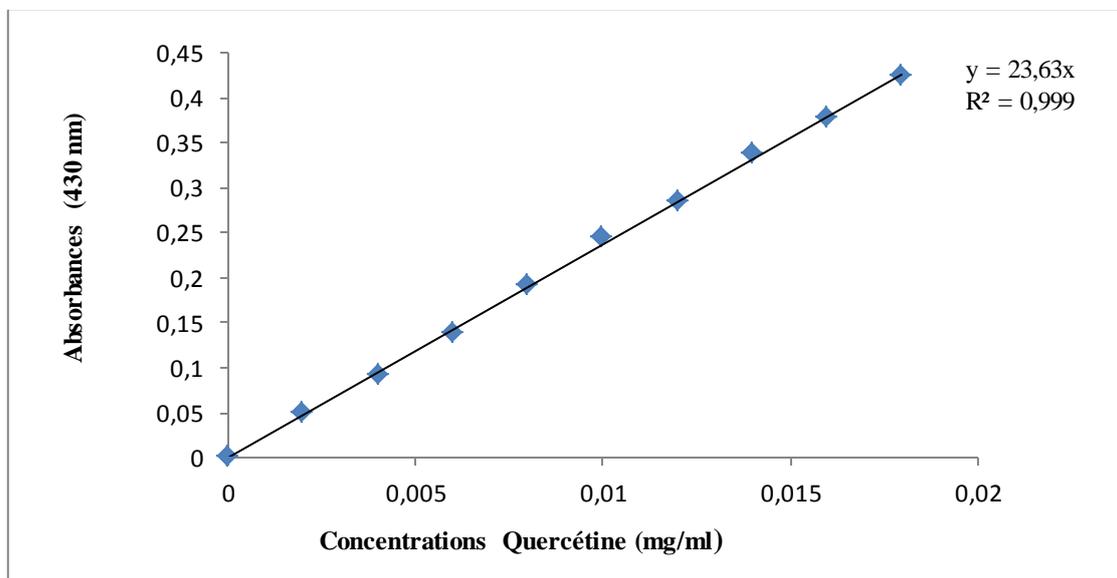


Figure 2: Courbe d'étalonnage de dosage des flavonoïdes.

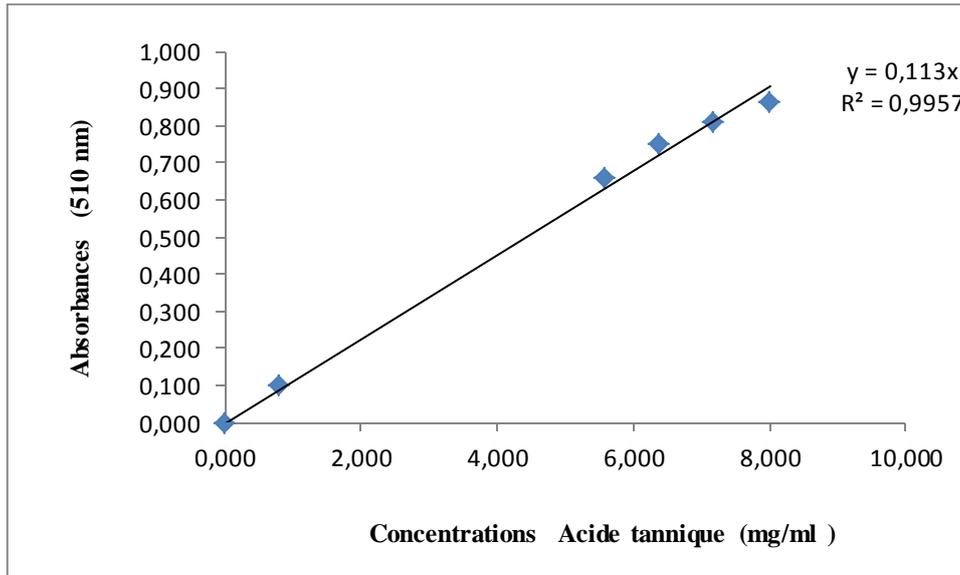


Figure 3: Courbe d'étalonnage de dosage des Tannins totaux.

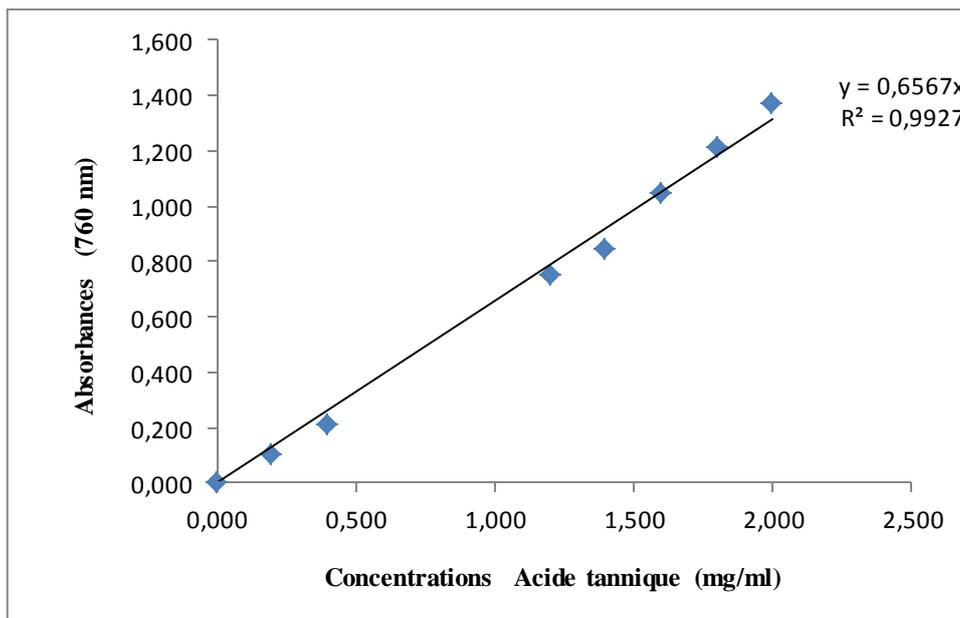


Figure 4: Courbe d'étalonnage de dosage des Phénols non liés à la protéine.

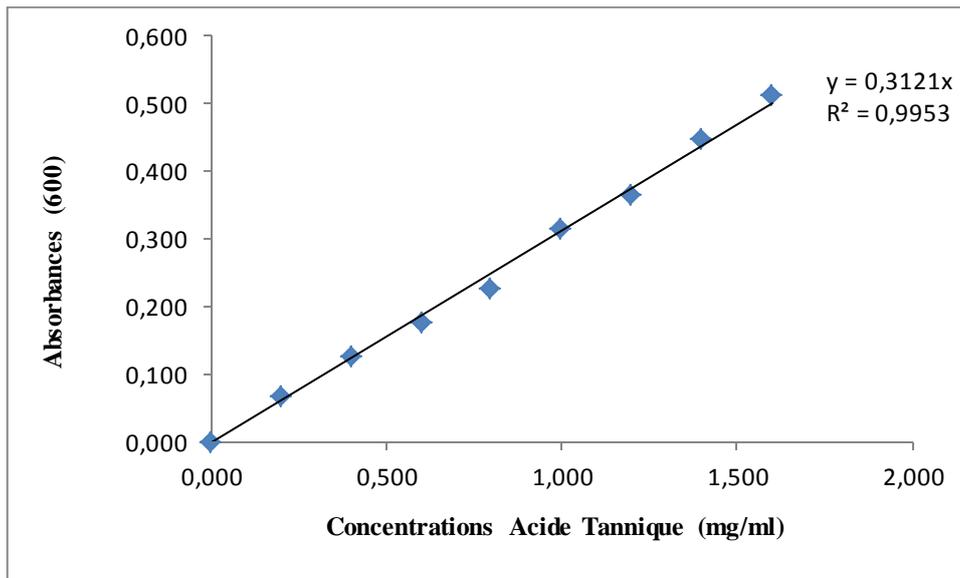


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de dosage des Tannins hydrolysables.

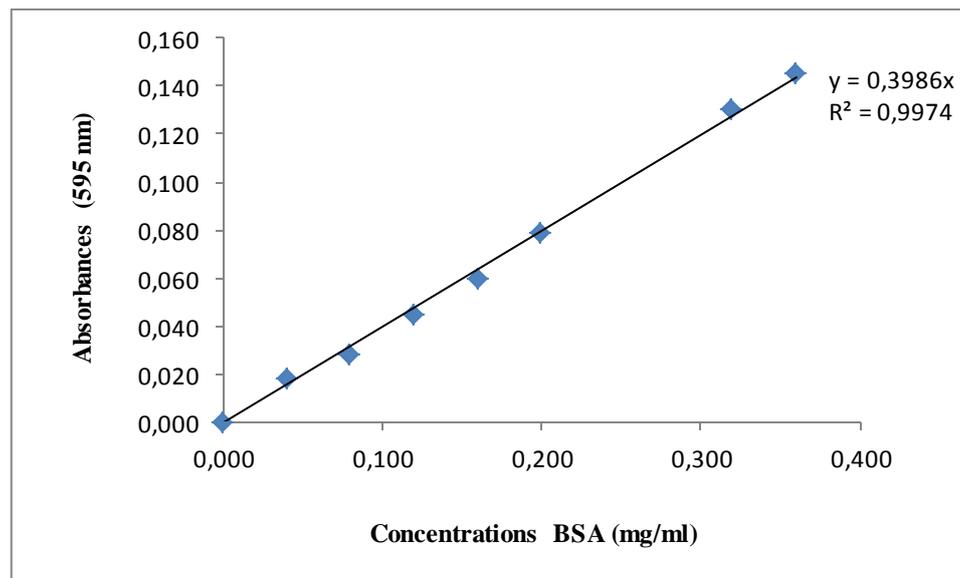


Figure 6: Courbe d'étalonnage de dosage des protéines.

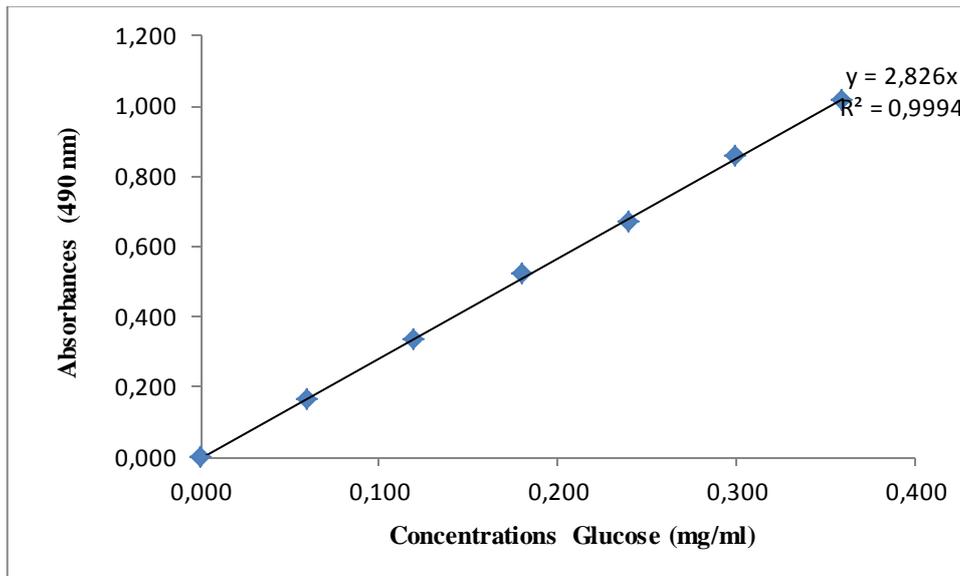


Figure 7: Courbe d'étalonnage de dosage des sucres Totaux.

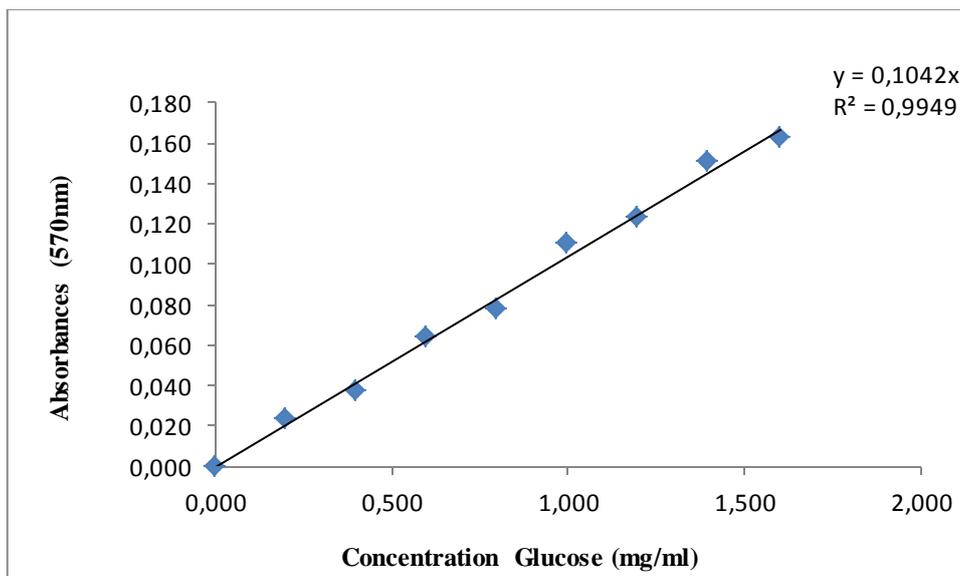


Figure 8: Courbe d'étalonnage de dosage des sucres réducteurs.

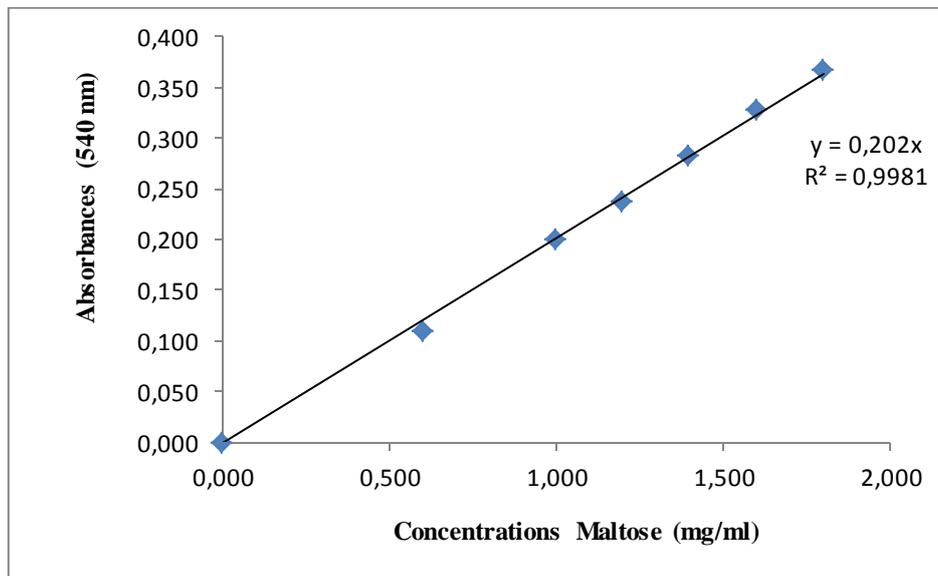


Figure 9: Gamme d'étalonnage du Maltose.

Annexe IV

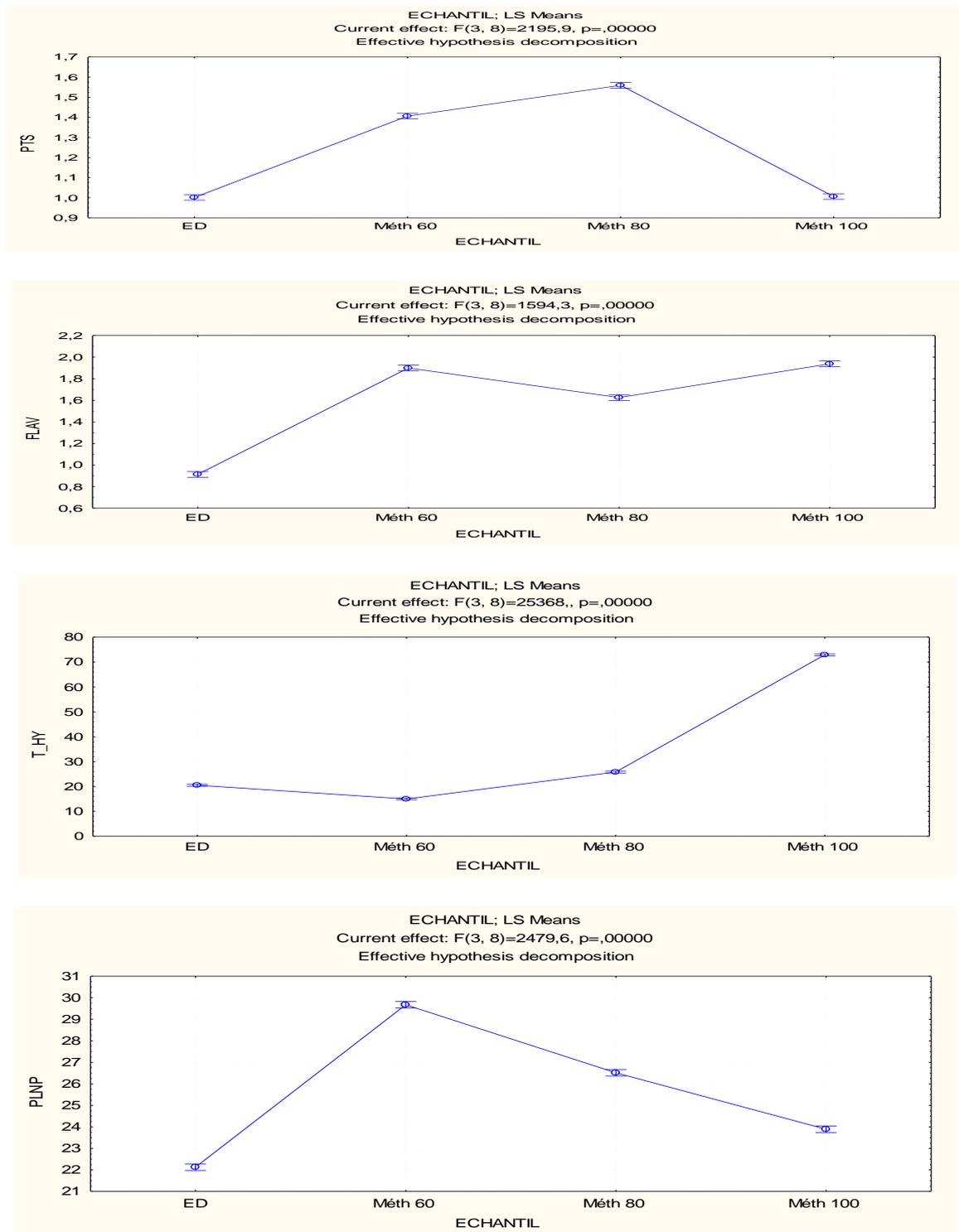


Figure : Teneur en composés phénoliques (phénols totaux solubles, flavonoïdes, tannins hydrolysables et phénols non liés à la protéine) : analyse de la variance.

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.
Ethanol 80%	100ml d'éthanol 96% +22.45 ml de l'eau distillée.
Solution de folincioalceu (0.1N)	10 ml du folin- ciocalceu 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 AlCl_3 ($6\text{H}_2\text{O}$) ajusté à 100 ml du méthanol 100%.
Réactif de bouchardate	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.
Phénol 5%	5 g de cristaux du phénol ajusté a 100 ml de l'eau distillée puis bien mélangé par agitation.
3.5 DNS	1g de DNS + 20 ml de NaOH+50 ml de l'eau distillée puis ajout de 30g de Na K tartrate tetrahydrate ajuster à 100 ml de l'eau distillée.
NaOH 2M	16 g de NaOH + 200ml de l'eau distillée.
Réactif de Bradford	-100 mg de bleu de coomassie G250. -50ml d'éthanol pur. -100ml d'acide orthphosphorique 85%. -ajuster à 1L d'eau distillée.
Isopropanol 55%	100 ml de propanol (99%) + 86.42 ml de l'eau distillée.
Acide acétique 0.2 M	10 ml d'acide acétique + 90 ml d'eau distillée.
NaCl 0.5 M	2.95g de NaCl ajustée a 100 ml d'eau distillée.

FeCl₃ 2%	2g de FeCl ₃ ajustée a 100 ml de l'eau distillée.
Solution de NaOH 35%	175 g de NaOH ajusté a 500 ml de l'eau distillée.
Acide borique 4%	8 g d'acide borique ajustée à 200 de l'eau distillée.
Acide sulfurique N/50	Prélever 27.17 ml d'acide sulfurique concentré ajusté a 1L puis prélever 20 ml de cette solution ajusté a 1L avec de l'eau distillée.
Tampon phosphate 0.22M à pH= 6.9	Dissoudre 1.77g de Na ₂ HPO ₄ (2 H ₂ O) et 1.99g de NaH ₂ PO ₄ dans 50 ml de l'eau distillée, agitation puis ajusté le pH à 6.9
Solution d'amidon	Dissoudre 0.75g d'amidon de pomme de terre dans 150ml de tampon phosphate à pH6.9, puis agitation.
Solution de α-amylase	Dissoudre 0.0056g de α-amylase dans 40ml d'eau distillée froid a une concentration de 4u/ml, puis agitation

Résumé

Moringa oleifera ou « arbre de la vie » est un arbre appartenant à la famille des moringacées, originaire d'Inde. Elle est décrite dans la littérature comme une plante d'intérêt nutritionnel et médicinal. Le présent travail a pour but de déterminer la composition chimique globale (sucres totaux, cendres, sucres réducteurs, matière grasse, protéines brute et les différentes classes des protéines), et la teneur en composés phénoliques (phénols totaux solubles, flavonoïdes, tannins hydrolysables et phénols non liés à la protéine) extrait par différents solvants (eau distillée, méthanol 60, méthanol 80 et méthanol 100) des feuilles de *Moringa oleifera* prévenants du sud Algérien, ainsi que l'analyse qualitative de quelque métabolites secondaires (saponines, alcaloïdes, terpénoïdes et tannins). Les résultats de cette étude montrent que les feuilles de *Moringa oleifera* renferment des teneurs importantes en sucres totaux, cendres, sucre réducteurs, matière grasse et protéines brutes. Le dosage des molécules bioactives a révélé la présence des phénols totaux solubles, flavonoïdes, tannins hydrolysables et phénols non liés à la protéine avec des teneurs significativement différentes selon le solvant d'extraction. Les tests phytochimiques réalisés ont permis la mise en évidence de saponines, alcaloïdes, terpénoïdes et tannins. De ceci on tire que *Moringa Oleifera* peut constituer une bonne source de composés phénoliques.

Mots clés : *Moringa oleifera*, composition chimique, composés phénoliques, métabolites secondaires.

Abstract

Moringa oleifera or "tree of life" is a tree belonging to the family Moringaceae, native to India. It is described in the literature as a plant nutritional and medicinal interest. This work aims to determine the overall chemical composition (total sugars, ash, reducing sugars, fat, crude protein and different classes of proteins), and the phenolic content (soluble total phenols, flavonoids, hydrolysable tannins and phenols unrelated to protein) extracted with various solvents (distilled water, methanol 60, methanol 80 and methanol 100) leaves of *Moringa oleifera* considerate of southern Algeria, as well as qualitative analysis of some secondary metabolites (saponins, alkaloids, terpenoids and tannins). The results of this study show that the *Moringa oleifera* leaves contain significant levels of total sugar, ash, reducing sugar, fat and crude protein. The quantification of bioactive molecules has revealed the presence of soluble total phenols, flavonoids, hydrolyzable tannins and phenol unrelated to protein with significantly different levels according to the extraction solvent. A Phytochemicals test enables the detection of saponins, alkaloids, terpenoids and tannins. From this we draw that can make a good source of phenolic compounds.

Keywords : *Moringa oleifera*, chemical composition, phenolic compounds, secondary metabolites.