



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Chadli Bendjedid El-Tarf



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département d'Agronomie – Filière des Sciences Alimentaires

Master académique en sécurité agroalimentaire et assurance qualité

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master II en sécurité agroalimentaire et assurance  
qualité

Thème

**Analyse Comparative des Antioxydants et de l'Activité  
Antimicrobienne des Plantes en vue de leur Emploi comme  
Additifs Alimentaires**

Réalisée par :

**Merzougui Meriem**

Encadrant : Dr. Medjeldi Saida

MCA ; Université C. Bendjedid El –Tarf

Co-encadreur : Dr. Delimi Amel

MCB ; Université C. Bendjedid El- Tarf

**Devant le jury composé de :**

Présidente : Dr. Benrachou Nora

MCA ; Université C. Bendjedid El-Tarf

Examinatrice : Dr. Bouchelaghem Sabrina

MCA ; Université C. Bendjedid El-Tarf

Soutenue le : 23/06/2024

Année universitaire : 2023/2024



## Remerciements

Avant tous nous remercions Dieu \*ALLAH\* le tout puissant de nous avoir accordé la force ; le courage et la patience pour terminer ce travail.

La réalisation d'un mémoire est la somme d'un travail collectif où l'apport de chacun bien que d'importance inégale, est toujours indispensable et précieux.

Un grand merci au encadrante Dr. Medjeldi Saida, je la remercie pour sa gentillesse, sa disponibilité, sa patience pendant des intenses et rationnelles discussions qui m'a permis de réaliser ce travail dans de bonnes conditions.

Je remercie la Co encadreur Dr, Delimi Amel Pour tout cela et aussi pour son aide, sa confiance et son soutien moral.

Bien évidemment, je tiens aussi à remercie la responsable du laboratoire de chimie « Hayat » à l'université Chadli Benjedid elTarf d'avoir accordé sa confiance que pour nous avoir guidés dans notre travail.

J'exprime mes sincères remerciement et mon profonde à les membres de jury de cette soutenance Dr Benrachou et Dr Bouchlaghem

Enfin je veux dire merci au chef de départements d'agronomie et les enseignants à université Chadli Bendjedid elTarf pour l'aide pendant nos formations d'étude

A toutes les personnes qui nous ont aidé de proche ou de loin.



## Dédicace



Je dédie ce travail :

A maman (Latifa) pour son amour, et qu'elle m'a toujours accordé en témoignage de ma reconnaissance envers sa confiance, ses sacrifices et sa tendresse

A mon père (Nour Eddine) source d'espoir et de motivations

A mes chers sœurs (Bouchra) et (Djaouher) source de joie et de bonheur

A ma grande mère source de mes efforts

A tous les cousins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant

\*Meriem \*

## Résumé

Cette étude s'insère dans le cadre général de recherche de plantes performantes en composés antioxydants et activités biologiques. Le but de ce travail proprement dit est la comparaison de la performance en composés antioxydants et propriétés biologiques des feuilles de la plante *M.oleifera* Algérienne (*MoA*) et celle de provenance du Mali (*MoM*). L'étude a porté tout d'abord sur l'optimisation de la méthode d'extraction par macération ou Soxhlet, ainsi que l'optimisation des solvants d'extraction : H<sub>2</sub>O (EA), 50% hydro-éthanol (EHE) et 100% éthanol (EE). L'analyse des composés phytochimiques a été déterminée par spectrophotomètre et celle de l'activité antioxydante par piégeage du radical libre 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH). L'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur gel en employant les extraits aqueux (EA *MoA* et EA *MoM*) contre sept souches ATCC dont trois bactéries Gram (+), trois bactéries Gram (-) et une levure. Les rendements d'extraction les plus considérables sont ceux obtenus par soxhlet et ceux obtenus par macération avec l'éthanol pur (EE). La teneur remarquable en polyphénols est attribuée à l'extrait EE *MoA*. Pour ce qui est des flavonoïdes totaux (FT), on a rapporté que leur teneur est significativement plus élevée par macération pour (EHE *MoM*). Les tannins sont mieux extraits par la méthode au soxhlet avec une teneur considérable rapportée pour l'extrait *MoA*. L'activité antioxydante est nettement supérieure dans les extraits obtenus par macération que ceux par soxhlet avec une considération pour les extraits EA *MoA* et EA *MoM*. Toutes les souches testées ont montré une sensibilité vis à vis des deux extraits (EA *MoA* et EA *MoM*), cependant les souches bactériennes Gram(+) sont les plus sensibles, principalement *Staphilococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Ces résultats suggèrent que bien que l'extrait *MoA* soit légèrement plus performant que celui *MoM*, cependant tous les deux peuvent être aisément employés EA dans les secteurs agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

**Mot clés :** *Moringa oleifera*, composé phénolique, activité antioxydantes, activité antimicrobienne, feuilles

## **Abstract**

This study falls within the general framework of research into plants that perform well in terms of antioxidant compounds and biological activities. The aim of the work itself is to compare the antioxidant performance and biological properties of the leaves of the Algerian *M.oleifera* plant (MoA) with those of the Malian *M.oleifera* plant (MoM). The study focused firstly on optimizing the maceration or Soxhlet extraction method, as well as optimizing the extraction solvents: H<sub>2</sub>O (EA), 50% hydro-ethanol (EHE) and 100% ethanol (EE). Phytochemical compounds were analyzed by spectrophotometer, while antioxidant activity was determined by trapping the free radical 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH.). Antimicrobial activity was assessed by gel diffusion using aqueous extracts (EA MoA and EA MoA) against seven ATCC strains, including three Gram (+) bacteria, three Gram (-) bacteria and one yeast. The highest extraction yields were obtained by soxhlet and by maceration with pure ethanol (EE). The remarkable polyphenol content is attributed to the EE MoA extract. As for total flavonoids (FT), their content is reported to be significantly higher by maceration for (EHE MoM) .

Tannins are better extracted by the soxhlet method, with a considerable content reported for the MoA extract. Antioxidant activity was significantly higher in extracts obtained by maceration than by soxhlet, with EA MoA and EA MoA extracts being particularly noteworthy. All strains tested showed sensitivity to both extracts (EA MoA and EA MoM), although Gram(+) bacterial strains were the most sensitive, mainly *Staphilococcus aureus* and *Bacillus cereus*. These results suggest that, although the MoA extract performs slightly better than the MoM extract, both can be readily used as EA in the food, pharmaceutical and cosmetics sectors.

**Keywords** *Moringa oleifera*, phenolic compound, antioxidant activity, antimicrobien activity, leaves

## الملخص

تندرج هذه الدراسة في الإطار العام للبحث في النباتات ذات الأداء الجيد من حيث المركبات المضادة للأكسدة والأنشطة البيولوجية. كان الهدف من العمل نفسه هو مقارنة أداء المركبات المضادة للأكسدة والخصائص البيولوجية لأوراق نبات : مورينجا أوليفيرا الجزائري ونبات : مورينجا أوليفيرا المالي. ركزت الدراسة أولاً على تحسين طريقة النقع أو طريقة استخلاص سوكليت, وكذلك تحسين مذيبات الاستخلاص: 100%المائي و50% من الإيثانول المائي و100% من الإيثانول. تم تحليل المركبات الكيميائية النباتية بواسطة مقياس الطيف الضوئي وتم تحديد النشاط المضاد للأكسدة عن طريق محاصرة الجذور الحرة 2،2-ثنائي فينيل-2-بيكريل هيدرازيل. وتم تحديد النشاط المضاد للميكروبات عن طريق الانتشار الهلامي باستخدام المستخلصات المائية ضد سبع سلالات من بكتيريا ، بما في ذلك ثلاث بكتيريا (+) غرام، وثلاث بكتيريا (-) غرام، وخميرة واحدة. تم الحصول على أعلى غلة استخلاص عن طريق السكليت والنقع بالإيثانول النقي . ويُعزى محتوى البوليفينول الملحوظ إلى مستخلص الإيثانول النقي. أما بالنسبة لمجموع مركبات الفلافونويد، فقد تم الإبلاغ عن أن محتواها أعلى بكثير عن طريق النقع باستخدام (EHE MoM)

تم استخلاص العفص بشكل أفضل باستخدام طريقة السوكليت مع الإبلاغ عن محتوى كبير في مستخلص مورينجا أوليفيرا الجزائري. كان النشاط المضاد للأكسدة أعلى بشكل واضح في المستخلصات التي تم الحصول عليها عن طريق النقع مقارنةً بالسكليت، حيث كانت مستخلصات مورينجا أوليفيرا الجزائري و مورينجا أوليفيرا المالي جديرة بالملاحظة بشكل خاص. أظهرت جميع السلالات التي تم اختبارها حساسية لكلا المستخلصين (مورينجا أوليفيرا الجزائري و مورينجا أوليفيرا المالي)، على الرغم من أن السلالات البكتيرية التي تم اختبارها كانت الأكثر حساسية، وخاصةً المكورات العنقودية الذهبية والعصيات المخية. تشير هذه النتائج إلى أنه على الرغم من أن أداء مستخلص مورينجا أوليفيرا الجزائري أفضل قليلاً من مستخلص مورينجا أوليفيرا المالي ، إلا أنه يمكن استخدام كلاهما بسهولة كخلاصة بكتيرية في قطاعات الأغذية الزراعية والأدوية ومستحضرات التجميل.

**الكلمات الرئيسية:** مورينجا أوليفيرا، مركب فينولي، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا، الأوراق

## Sommaire

Résumé .....	I
Abstract .....	II
المخلص .....	III
Liste des figures .....	V
Liste des tableaux .....	VI
Liste des abréviations .....	VII
<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>

## Partie1 : Etude bibliographique

### chapitre I: présentation de la plante

1. Histoire de la plante <i>Moringa</i> .....	3
2. Description géographique .....	4
3. Description botanique .....	4
4. Les différentes parties de la plante .....	5
4.1.Les feuilles.....	6
4.2.Les fleurs . .....	6
4.3. Les graines .....	7
5. Classification de <i>Moringa oleifera</i> .....	7
6. La valeur nutritive et l'utilisation de la plante .....	8
6.1. La valeur nutritive .....	8
6.2.Utilisation de la plante <i>Moringa Oléifera</i> .....	9

### chapitre II : Métabolite secondaire et activité anti oxydantes

1 .1 Définition.....	12
1.2. Caractéristiques des métabolites secondaires.....	12
a. Non essentiels pour la survie . .....	12
b. Diversité chimique .....	12
c. Production spécifique .....	12
1.3.Biosynthèse des métabolites secondaires .....	12
a. Précurseurs primaires.....	12
b. Enzymes spécifiques : .....	12
c. Voies métaboliques:.....	13
d. Régulation.....	13

1.4.Les composés phénoliques .....	13
1.4.1. Généralités .....	13
1.4.2. Classification des composés phénoliques .....	13
2. Les antioxydants.....	16
2.1.Classification des antioxydants .....	166
2.1.1.Les antioxydants naturels :.....	166
2.1.2. Les antioxydants synthétique.....	198
2.1.3.Les antioxydants enzymatiques : .....	18
3.Activité anti oxydantes :.....	19
3.1.Aperçue général .....	19
3.2.Les techniques les plus cour l'activité antioxydante .....	19
<input type="checkbox"/> a/Le test du 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH) .....	19
<input type="checkbox"/> b/L'ABTS (2,2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acide) .....	19
<input type="checkbox"/> c/FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) .....	19
<input type="checkbox"/> d /ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) .....	19
<b>chapitre III : Radicaux libres et stress oxydatif</b>	
1. Le radical libre .....	20
2. Caractéristiques des Radicaux Libres .....	20
a. Réactivité Chimique.....	20
b. Formation .....	20
c. Types de Radicaux Libres .....	20
3. Stress oxydatif.....	21
<b>Chapitre IV: Bactéries et levures</b>	
1.Généralité .....	22
2. Mécanisme d'action .....	22
2.1Perturbation de la membrane cellulaire .....	22

2.2/Inhibition de la synthèse des protéines .....	23
2.3/Inhibition de la synthèse de l'ADN et de l'ARN.....	23
2.4/Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire .....	23
2.5/Action antioxydante.....	23
2.6/Chélation des ions métalliques essentiels.....	23
2.7/Induction de stress oxydatif.....	24
3.Les souches microbiennes :.....	24
□ 3.1/ <i>Bacillus cereus</i> .....	24
□ 3.2/ <i>Streptococcus aureus</i> .....	24
□ 3.3/L' <i>Escherichia coli</i> génère le BLSE.....	25
□ 3.4/ <i>Klebsiella pneumoniae carbapenemase</i> .....	25
□ 3.5/ <i>Serratia</i> .....	26
□ 3.6/La salmonelle .....	26
□ 3.7/ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	26
□ 3.8/L' <i>Acinetobacter</i> .....	27
□ 3.9/ <i>Candida albicans</i> .....	27
4. Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne .....	27
1. Méthode de diffusion sur disque (méthode de Kirby-Bauer).....	27
2. Méthode de dilution en milieu liquide (MIC et MBC) .....	27
3. Méthode de diffusion en puits.....	27
4. Méthode de l'agar incorporé (incorporation en gélose).....	28

## Partie II : Etude expérimentale

<b>chapitre I : Matériel et Méthodes</b> .....	29
1. Matériels .....	29
1 .1/ Matériel végétales.....	29
1.2/Réactifs et produits chimiques.....	29
1.3/ Matériels de laboratoire .....	29
2 .Méthodes .....	29
2.1/ Préparations des échantillons .....	29
2.2/ Extraction des polyphénols.....	29
2.2.1/ Extraction par macération.....	30
2.2.2/ Extraction par soxhlet .....	30
2.3/Analyse des composés phyto-chimiques.....	32

33

2.3.1/ Dosage des polyphénols totaux .....	32
2.3.1.1/Principe .....	32
2.3.1.2/Protocole .....	32
2.3.2. Dosage des flavonoïdes .....	33
2.3.2.1/ Principe .....	33
2.3.2.2/ Protocole .....	33
2.3.3 Dosage des tanins condensés .....	34
2.3.3.1/ Principe .....	34
2.3.3.2/Protocole .....	35
2.4/Evaluation du pouvoir antioxydant .....	35
2.4.1/Piégeage du radical libre DPPH .....	35
2.4.1.1/Principe .....	35
2.4.1.2/Protocole .....	36
2.4.1.3/Expression de l'activité anti radicalaire.....	36
3.Evaluation de l'activité antibactérienne .....	36
3.1/ Matériel végétale .....	36
3.2/ Les souches bactériennes.....	37
<input type="checkbox"/> 3.2.1/ Gram positif,.....	37
<input type="checkbox"/> 3.2.2/Gram négatif.....	37
<input type="checkbox"/> 3.2.3/Levure.....	37
3.3/ Les milieux de culture .....	37
3.4/ Protocole.....	37
3.5/Exemple de préparation d'une dilution décimale ou au dixième : 1/10.....	38
3.5.1/Matériel.....	38
3.5.2/Réalisation : .....	38

## chapitre II : Résultats et Discussion

1/Rendement des différents extraits .....	39
2/ Analyses des extraits de (MoA) et MoM .....	39
2.1/Teneur en polyphénols totaux .....	40
2.2/ Teneur en flavonoïdes totaux .....	40
2.3/ Teneur en tanins .....	41
2.4/Discussion.....	42
3/Evaluation de l'activité antioxydantes par piégeage du radical libre DPPH .....	44

4 Evaluation de l'activité antibactérienne .....	49
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>52</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>53</b>
<b>Les Annexes.....</b>	<b>60</b>

Liste des figures

**Figure 1** : Situation géographique de *Moringa oleifera* (Anonyme).....4

**Figure 2** : les feuilles de la plante *Moringa oleifera* (Louni, 2009).....6

**Figure3** : fleurs de *Moringa oleifera* (Oder, 1998).....7

**Figure 4** : graines de *Moringa oleifera* (Optima, 2000).....7

**Figure 5** : Protocole de macération (Merzougui, 2024).....30

**Figure6** : Extraction par soxhlet (Merzougui, 2024).....31

**Figure 7** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour l'analyse des polyphénols.....33

**Figure 8** : courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes .....34

**Figure 9** : la réaction des tanins en présence de la vanilline.....34

**Figure 10** : variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de BHT .....36

**Figure 11** : Test de l'activité antibactérienne (Merzougui,2024).....38

**Figure 12** : Teneur en polyphénol des extraits de MOA et MOM .....40

**Figure 13** : teneur en flavonoïdes des extraits de MOA et MOM .....41

**Figure 14** : Teneur en tanins des extraits des feuilles de MoA et MOM).....42

**Figure 15** : Variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de MoA .....44

<b>Figure 16 :</b> Variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de MoM .....	45
<b>Figure 17 :</b> Variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait hydro- éthanolique de MoA .....	45
<b>Figure 18 :</b> Variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait hydro- éthanolique de MoM .....	46

**Figure 19:** Variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de MoA .....46

**Figure 20 :** Variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de MoM .....47

**Figure 21 :** Variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de MoA (soxhlet ).....47

**Figure 22 :** Variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de MoM (Soxhlet) .....48

**Figure 23 :** Photos montrant l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de *M. oleifera* contre les souches les plus sensibles. (Merzougui, 2024.....50

**Figure 24 :** Résultats de dosage des polyphénols totaux (Merzougui, 2024).....61

**Figure 25 :** Résultats de dosage des flavonoïdes (Merzougui, 2024).....61

**Figure 26 :** Résultats de dosage des tanins (Merzougui, 2024).....62

**Figure 27 :** Résultats de test de l'activité antioxydante (Merzougui, 2024) ..... 62

**Figure 28 :** Matériels utilisées pour l'activité antibactérienne (Merzougui, 2024) ..... 62

Liste des tableaux

**Tableau 1** : présent une description botanique de la plante *Moringa oleifera* la diverse variété et l'origine de l'espèce.....4

**Tableau 2** : utilisation de *Moringa oleifera* dans différentes domaines.....9

**Tableau 3** : Classification des composés phénoliques .....13

**Tableau 4**: Rendement d'extraction de deux plantes *Moringa oleifera* .....39

**Tableau 5** : Activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Moringa oleifera* évaluer par le calcul du diamètre des zones d'inhibition.....49

**Tableau 6** : dosage de polyphénol totaux de l'extrait éthanolique de MoA.....60

**Tableau 7**: dosage de polyphénol totaux de l'extrait éthanolique de MoM.....60

**Tableau 8** : dosage de polyphénol totaux de l'extrait hydro- éthanolique de MoA.....60

**Tableau 9** : dosage de polyphénol totaux de l'extrait hydro- éthanolique de MoM.....60

**Tableau 10** : dosage de polyphénol totaux de l'extrait aqueux de MoA.....60

**Tableau 11** : dosage de polyphénol totaux de l'extrait aqueux de MoM .....60

**Tableau 12** : Absorbance de différentes concentration d'extrait éthanolique avec DPPH de MoA .....60

**Tableau 13** : Absorbance de différentes concentration d'extrait éthanolique avec DPPH de MoM .....60

**Tableau 14** : Absorbance de différentes concentration d'extrait hydro- éthanolique avec DPPH de MoA.....60

**Tableau 15** : Absorbance de différentes concentration d'extrait hydro- éthanolique avec DPPH de MoM .....61

**Tableau 16**: Absorbance de différentes concentration d'extrait aqueux avec DPPH de MoA.....61

**Tableau 17** : Absorbance de différentes concentration d'extrait aqueux avec DPPH de MoM .....61

## Liste des abréviations

Alca : chlorure d'aluminium

Bht : l'hydroxy toluène butyle

C : degré Celsius

*C .albicans* : *Candida albicans*

Clso : concentration inhibitrice 50.

CMI : concentration minimum d'inhibition

CPT : concentration de polyphénols totaux

CF : concentration de flavonoïde

CT : concentration de tanins

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

DO : densité optique

DZI : diamètre de zone d'inhibition

E : extrait

G : gramme

H : heure

H3 PW12 O40 : acides phospho tungstique

Hcl : acide chlorhydrique

Km : kilomètre

*M.oleifera* (Algérienne) : *Moringa oleifera* algérienne

mg : milligramme

mg EAG/g MF : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière fraîche

mg EAC/g MF : milligramme équivalent d'acide catéchine par gramme de matière fraîche

ml : millilitre

ul : micro litre

mm : millimètre

min : minute

MoM : *Moringa oleifera* Malienne

*M. oleifera* (Malienne) : *Moringa oleifera* (Malienne)

*M.oleifera* : *Moringa oleifera*

MoM : *Moringa oleifera* Algérienne

nm : nanomètres

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> : carbonate de sodium

NaNo<sub>2</sub> : nitrite de sodium

Noah : hydroxyde de sodium

PI% : pourcentage d'inhibition

R : radical libre

R : le rendement

S : signification

UFC/g : unité fermante colonie par gramme

UV : ultra-violet

W8O23 : tungstène

# Introduction

### Introduction

Au cours des dernières décennies, on constate une hausse de l'usage de substances naturelles, ce qui explique l'augmentation de la production de certaines plantes aromatiques et médicinales. Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales ont été employées en raison de leurs propriétés médicinales et de leur influence sur la saveur des aliments. Actuellement, on utilise des extraits et des poudres sèches provenant d'échantillons de plantes médicinales et aromatiques pour développer une médecine alternative **(Baydar et al., 2004)**.

Il est bien établi que la Terre est remplie de trésors. Ce ne sont pas des matières premières qui sont en question, mais plutôt des plantes, des fruits et des racines, dont les avantages sont méconnus, voire inconnus du grand public. Le *Moringa* fait partie de cela. **(Muthu et sa collaboration, 2006)**

Selon **Sreelatha et al. (2009)**, *M. oleifera*, également connu sous le nom d'« arbre de la vie », est cultivé dans de nombreux pays asiatiques et africains et est largement employé dans la médecine traditionnelle **(Alhakmani et al., 2013)**. Les feuilles, les fleurs, les fruits et les gousses immatures de cet arbre sont employés dans différentes formulations alimentaires classiques, médicaments et produits industriels. Les composés phénoliques et les vitamines présents dans les feuilles sont abondants **(Makkar et al., 1996 ; Coppin et al., 2013)**.

Selon **Mehta et al. (2003)**, les fleurs sont employées pour soigner diverses affections telles que l'inflammation, les maladies musculaires, l'hystérie, les tumeurs, l'agrandissement de la rate et la diminution du taux de cholestérol dans le sérum.

On peut utiliser la racine comme équivalent du raifort **(Armelle et broin, 2010)**.

Leur grande valeur nutritionnelle : 25 grammes de protéines et 12 grammes de minéraux (calcium, magnésium, fer, zinc, potassium, chrome et sélénium) seront présents dans 100 grammes de *Moringa*. Nous avons 15 g de fibres, 40 g de glucides et 8 g de lipides (Omégas 3,6,9), ainsi qu'un panel complet de vitamines avec la vitamine A, les vitamines du groupe B (dont la vitamine C), les vitamines du groupe B (dont la vitamine D) et la vitamine E.

En examinant sa composition, on constate que le *Moringa* est l'un des aliments les plus riches en antioxydants (46 antioxydants, soit 157.000  $\mu\text{mol TE/ 100g}$ ), supérieur au curcuma (127.068  $\mu\text{mol TE/100g}$ ) et bien supérieur au thé vert (1253  $\mu\text{mol TE/100g}$ ).**(Broin, 2005)**

Notre recherche vise à comparer la quantité de composés phénoliques, flavonoïdes et tanins présents dans deux plantes *Moringa oleifera* (Algérienne et Malienne) qui sont en pleine croissance. Ensuite, nous analyserons le pouvoir antioxydant des extraits phénoliques des plantes étudiées et l'estimation de leur activité anti microbienne.

Ce travail est organisé en deux parties distinctes :

### **Partie I : Etude bibliographique**

**Chapitre I** : présentation de la plante

**Chapitre II** : Métabolite secondaire et l'activité anti oxydantes

**Chapitre III** : Radicaux libre et stress oxydatif

**Chapitre IV** : Bactéries et Levures

### **Partie II : Etude expérimentale**

**Chapitre I** : Matériels et Méthodes

**Chapitre II** : Résultats et discussions

Et à la fin la conclusion

# **Etude Bibliographie**

# Présentation de la plante

### 1. Histoire de la plante *Moringa*

À la fin des années 1980, alors que certains chercheurs se concentraient exclusivement sur la capacité de ses graines à traiter les eaux, Au cours des années 90, divers chercheurs, entreprises et organisations non gouvernementales ont joué un rôle essentiel dans l'avancement des connaissances sur l'agronomie du *Moringa*, l'utilisation de ses feuilles en alimentation et de ses graines en tant que source d'huile et de floculant. En 2001, il a organisé un colloque international en Tanzanie afin de mettre en relation les personnes les plus engagées et de faire un bilan des résultats obtenus. Après cette réunion, le réseau *Moringa news* et son site Internet ont été établis.

Lors d'un deuxième séminaire au Ghana en 2006, j'ai réuni une centaine d'organisations et d'entreprises qui se concentrent sur la feuille de *Moringa*. Selon Moringanews / Moringa Association of Ghana (2006), ces rencontres internationales et le site de *Moringa news* ont joué un rôle essentiel dans le développement des connaissances et des utilisations du *Moringa*.

L'utilisation de la poudre de feuilles de *Moringa* dans le cadre de ces projets était restreinte à une utilisation locale et strictement contrôlée, avec des résultats encourageants sur la santé des bénéficiaires (**Moringanews / Moringa Association of Ghana, 2006**).

## 2. Description géographique

Le *Moringa* est un arbre très résistant originaire d'Inde, est maintenant cultivé dans de nombreuses régions tropicales d'Asie et d'Afrique. Parmi toutes les espèces existantes, le *Moringa oleifera* est généralement cultivé et consommé (**Baydar et al, 2004**)



**Figure1** : situation géographique de *Moringa oleifera* (**Anonyme**)

## 3. Description botanique

Le **tableau 1** présente une description botanique de la plante *Moringa oléifère*, qui fait partie du genre *Moringa cearae* et comprend 14 espèces connues. Les diverses variétés de *Moringa* et leurs racines Origine de l'espèce :

Espèce	Origine
01 L'espèce <i>Moringa oleifera</i>	est la plus cultivée pour ses propriétés médicinales et nutritionnelles ( <b>Fuglie, 2001</b> )
02 L'espèce arborescente <i>Moringa arborea</i>	provient de Madagascar et des îles de l'océan Indien ( <b>Ramavovololona et al, 2007</b> )

03. L'espèce <i>Moringa borziana</i>	est originaire de l'Éthiopie ( <b>Teshome et al, 2007</b> )
04 La <i>Moringa concanensis</i>	est une espèce de petite taille qui vient de l'Inde ( <b>Rao et al, 2001</b> )
05 La <i>Moringa drouhardii</i>	est une espèce arborescente originaire de Madagascar ( <b>Rasoanaivo et al, 2011</b> )
06 La famille <i>Moringa hildebrandtii</i>	est une espèce arborescente originaire d'Afrique de l'Est ( <b>Kamau et al, 2008</b> )
07. La <i>Moringa longituba</i>	est une espèce de petite taille originaire du Yémen. ( <b>El mahmood et al, 2008</b> )
08 La <i>Moringa ovalifolia</i>	est une espèce arborescente originaire de Namibie ( <b>Rosch et al, 2011</b> )
09 La petite espèce <i>Moringa pygmaea</i>	est endémique de Madagascar. ( <b>Annadurai et al, 2018</b> )
10 <i>Moringa stenopetala</i>	également connue sous le nom d'« arbre-bouteille », est une espèce arborescente originaire d'Afrique de l'Est ( <b>Mekonnen et al, 1999</b> )
11 La petite espèce de <i>Moringa rivae</i>	est originaire d'Éthiopie. ( <b>Bizuneh et al, 2011</b> )
12 <i>Moringa hainanensis</i>	Petit espèce de la chine abrite ( <b>Lij et al, 2011</b> )
13 La <i>Moringa ruspoliana</i>	est une espèce arborescente d'Afrique de l'Est ( <b>Gabrehiwot et al, 2009</b> )
14 L'espèce de petite taille <i>Moringa peregrina</i>	est originaire du sud-ouest de l'Arabie ( <b>Morton ,1991</b> )

#### 4. Les différentes parties de la plante

Le *Moringa* est un arbre qui se développe rapidement ; il faut seulement trois à six mois pour récolter ses premières feuilles et un an et demie pour récolter ses premiers fruits. Les nombreuses vertus de ses feuilles sont reconnues à l'échelle mondiale. Ils contribuent à l'alimentation des habitants locaux. (ANONYME)

**4.1.Les feuilles :** elles ont des composées tripennées plumeuses avec des folioles elliptiques de 1 à 2 cm (0,4 à 0,8 po) de long. En raison de ses feuilles, l'arbre est souvent confondu avec une légumineuse. Les feuilles ont été pennées deux ou trois fois pour le suppléant.

Pousse principalement vers le bout des branches. Lorsqu'ils sont jeunes, ils sont duveteux grisâtres et mesurent 20 à 70 cm de long. Ils ont un long pétiole de 8 à 10 paires de pennes portant chacune deux paires opposées, des folioles elliptiques ou obvales et une à l'extrémité, de 1 à 2 cm de long.



**Figure 2 :** les feuilles de la plante *Moringa oleifera* (Louni, 2009)

**4.2.Les fleurs :** sont bisexuées, zygomorphes, avec 5 mères ; les sépales sont libres, de 7–14 mm de long, souvent inégaux ; les pétales sont libres, oblongs-spatulés, de 1–2 cm de long, inégaux, le plus grand dressé, avec une pubescence veloutée, blancs ou crème ; les étamines sont 5, avec des filets de 7–8 mm de long, anthères d'un jaune cireux ou orange, alternant avec 3–5 staminodes. Selon (Andrian, 2013) un ovaire supère, pédonculé, cylindrique, de 3–5 mm de long, avec une base rose, une densité poilue, un loculaire, un style mince et glabre, sans lobes stigmatiques.



**Figure 3** : fleurs de *Moringa oleifera* ( Odee , 1998)

**4.3. Les graines** : ont une forme ronde et une coque semi-perméable de couleur marron. La coque est constituée de trois ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet avec une variation de 120 degrés. Par an, un arbre peut générer entre 15000 et 25000 graines. En moyenne, une graine pèse 0,3 g et la coque constitue 25% du poids total de la graine. **Selon (Fodl et al, 2001)**. D'après les données de la FAO en 1982, les graines renferment de substantiels cotylédons charnus huileux, représentant jusqu'à 42% d'une huile comestible qui ne rancit presque pas.



**Figure 4** : les graines de la plante *Moringa oleifera* (Optima, 2000)

## 5. Classification de *Moringa oleifera*

- **Règne** : plantae
- **Sous règne** : Tracheobionta
- **Division** : Magnoliophyta
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Sous classe** : Dilleniidae
- **Ordre** : Capparales

- **Famille :** *Moringaceae* (Cronquist, 1981)

### 6. La valeur nutritive et l'utilisation de la plante

#### 6.1. La valeur nutritive

Pour en savoir plus sur les avantages nutritionnels du *Moringa* pour notre corps, voici quelques valeurs nutritionnelles :

- Il contient 7 fois plus de vitamine C que l'orange
- Quatre fois plus de carotènes que la carotte et trois fois plus de potassium que la banane
- Quatre fois plus de calcium que le lait et cinq fois plus de vitamine E que les amandes
- Trois fois plus de fer que les épinards
- Deux fois plus de protéines que le yaourt

Leurs fonctions sont essentielles pour l'ensemble du corps :

- **La phénylalanine** aide la mémoire et la vitalité corporelle.
- **Leucine** (2050 mg/100g): contribue à la vigilance et à l'énergie du corps .
- **méthionine** : contribue aux reins, aux ongles, à la peau, aux cheveux et au foie .
- **lysine** : contribue aux os, aux anticorps et à l'équilibre des nutriments du corps .
- **isoleucine** (1140 mg/100g): contribue au cerveau.
- **La valine** (1400 mg/100 g): aide la coordination et l'esprit .
- **la thréonine** aide le foie et la digestion.
- **le tryptophane** aide le système immunitaire et lutte contre l'insomnie.

- **l'histidine** aide à la production de globules rouges et blancs et protège les nerfs (Malo, 2014)

**6.2. Utilisation de la plante *Moringa Oléifera***

**Tableau 2** : Utilisations de *Moringa Oléifera* dans différents domaines :

Domaine	Utilisation
Alimentation	<p>Grâce à leur grande teneur en fer, protéines, cuivre, diverses vitamines et acides aminés essentiels, les feuilles sont un super aliment exceptionnel et un excellent complément alimentaire.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Les feuilles peuvent être mangées entières ou en poudre.</li> <li>• Ils peuvent également être servis comme soupe ou salade.</li> </ul>
Médecine	<p>Des études expérimentales menées dans divers pays africains, asiatiques et panaméricains ont confirmé les vertus médicales de toutes les parties de <i>Moringa Oleifera</i>. utilisé pour traiter de nombreuses maladies</p> <p>Utilisé dans la médecine ayurvédique et dans de nombreuses autres médecines traditionnelles, la richesse en flavonoïdes de ces feuilles leur confère une forte activité antimicrobienne.</p> <p><i>M. oleifera</i> contient des composés antioxydants qui combattent le stress oxydant tels que les polyphénols</p>

	<p>(quercitrine, acide gallique, catéchine...) et des vitamines A, C et E.</p> <p>La poudre des racines peut être utilisée pour traiter l'épilepsie, l'hystérie, le hoquet, l'arthrite, les calculs rénaux, le rhumatisme, le fibrome, les kystes, le mal des dents, les œdèmes des pieds</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Le jus des feuilles fraîches lutte contre certaines maladies de semences liées à l'humidité</li> </ul>
Cosmétique	<p>Humectée à l'avance, la poudre de feuilles de <i>Moringa Oleifera</i> fonctionne mieux que le savon pour l'hygiène des mains, permettant à ses propriétés antiseptiques et détergentes de se réactiver grâce aux composés photochimiques de ses feuilles. L'huile de graines de <i>Moringa</i> est une matière première intrigante dans le secteur des cosmétiques et des parfums.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Il est utilisé pour les coiffures, la peau et la préparation de cosmétiques et de savon de toilette. filtration de l'eau</li> <li>• La poudre des graines de <i>Moringa Oleifera</i> est un floculant naturel capable de clarifier les eaux troubles et de dissiper 99 % des matières colloïdales.</li> </ul> <p>Une fois transformées en poudre, les graines de <i>Moringa Oleifera</i> deviennent un floculant naturel qui peut clarifier les eaux troubles et éliminer 90 à 99 % des bactéries. Ces graines sont un coagulant de premier ordre pour le traitement de l'eau des rivières</p>

	<p>possédant un haut niveau de matériaux solides en suspension car elles contiennent un poly électrolyte qui permet la sédimentation des particules en suspension dans l'eau</p>
<p>Industrie</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'huile de <i>Moringa Oleifera</i>, qui contient 40% d'huile et 73% d'acide oléique, est utilisée comme lubrifiant dans la machinerie fine comme l'horlogerie (en raison de sa faible tendance à se détériorer et à devenir collante). Elle aime également les cosmétiques et les parfums.</li> </ul> <p>Le bois de <i>Moringa Oleifera</i> est également excellent pour la pâte à papier, et l'huile de <i>Moringa</i> se rapproche de l'huile d'olive en conséquence. Il est utilisé dans la fabrication de corde, de gomme de tannage et de teinture.</p> <p>Il est utilisé dans la fabrication de corde, de gomme de tannage et de teinture.</p> <p>L'huile de <i>Moringa</i> peut être utilisée comme huile industrielle, comme huile végétale comestible et de cuisson (elle rancit très lentement), comme huile de qualité dans l'industrie cosmétique et de parfums, comme huile d'éclairage pour lampes à huile (elle produit une lumière claire presque sans fumée) ou comme base pour les peintures fines. <b>(Nazha, 2014)</b></p>

# **Métabolite secondaire et l'activité anti oxydantes**

## 1. Métabolite secondaire

### 1.1 Définition

Un métabolite secondaire est une molécule organique produite par les organismes vivants qui n'est pas directement impliquée dans les processus de croissance, de développement ou de reproduction de ces organismes. Contrairement aux métabolites primaires, tels que les acides aminés, les glucides, et les lipides, qui sont essentiels au métabolisme de base et aux fonctions cellulaires (**Rahman et al, 2015**)

### 1.2. Caractéristiques des métabolites secondaires

**a. Non essentiels pour la survie** : Ils ne sont pas indispensables à la survie immédiate de l'organisme mais confèrent un avantage sélectif dans l'environnement naturel.

**b. Diversité chimique** : Ils présentent une grande variété de structures chimiques et de fonctions biologiques.

**c. Production spécifique** : Leur production est souvent spécifique à certaines espèces, types de cellules, ou phases de développement

### 1.2. Biosynthèse des métabolites secondaires

La biosynthèse des métabolites secondaires suit souvent des voies métaboliques spécifiques, dérivées des voies métaboliques primaires. Voici comment elle se fait généralement :

**a. Précurseurs primaires** : Les métabolites secondaires sont souvent synthétisés à partir de métabolites primaires. Par exemple, les acides aminés, les acides gras et les sucres servent de précurseurs.

**b. Enzymes spécifiques** : Des enzymes spécifiques, souvent codées par des gènes de régulation spécialisés, catalysent les réactions qui convertissent les précurseurs primaires en métabolites secondaires. (**Rahman et al, 2009**)

**c. Voies métaboliques :** Ces réactions se déroulent dans des voies métaboliques complexes et bien régulées, par exemple :

- La voie de l'acide shikimique pour les composés phénoliques.
- La voie de la mévalonate pour les terpénoïdes.
- La voie de l'acide malonique pour les flavonoïdes.

**d. Régulation :** La production de métabolites secondaires est souvent régulée par des facteurs environnementaux (lumière, température, stress) et des signaux intracellulaires.

### 1.3 Les composés phénoliques

#### 1.3.1 Généralités

Les composants phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. Ils peuvent être trouvés dans toutes les parties des végétaux, y compris les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, les pollens, les fruits, les graines et le bois, et ils participent à de nombreux processus physiologiques, tels que la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits.


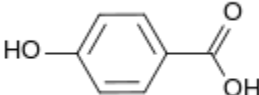
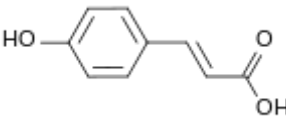
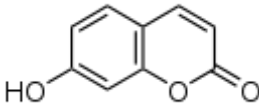
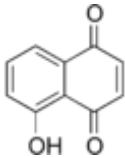
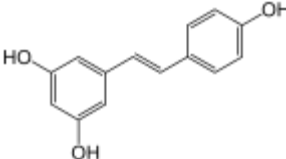
Les principaux composants phénoliques sont les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxy cinnamique, acide ferulique, acide...), les flavonoïdes, les coumarines et les tanins. Ces composés présentent plusieurs activités biologiques : anti- inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, anti radicalaires, antimicrobiens et vasoconstricteurs (**Djemai, 2008**).

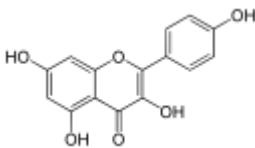
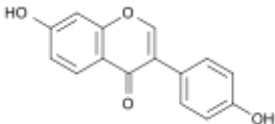
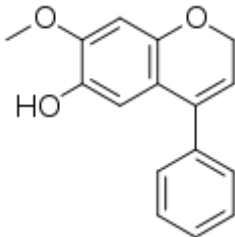
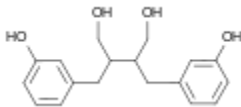

#### 1.3.2 Classifications des composés phénoliques

**Tableau 3.** Classification des composés phénoliques (**Macheix et al, 2006**)

<b>Composés phénoliques</b>
-----------------------------

Chapitre II : métabolite secondaire et l'activité antioxydant Etude bibliographique

Squelette carboné	Classe	Exemple	Structure	Origine
C <sub>6</sub>	<u>Phénols simples</u>	<u>hydroquinone</u>		<u>Busserole</u>
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	<u>Acides hydroxybenzoïques</u>	<u>acide parahydroxybenzoïque</u>		Épices, <u>fraises</u>
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	<u>Acides hydroxycinnamiques</u>	<u>acide paracoumarique</u>		<u>Tomates, ail</u>
	<u>Coumarines</u>	<u>ombelliférone</u>		<u>Carottes, coriandre</u>
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	<u>Naphtoquinones</u>	<u>juglon</u>		<u>Noyer</u>
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	<u>Stilbénoides</u>	<u>trans-resvératrol</u>		<u>Raisin</u>

C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	<u>Flavonoïdes</u> <i>lato sensu</i>	<u>kaempférol</u>		Fraises
	<u>Isoflavonoïdes</u>	<u>daïdzéine</u>		Graines de <u>soja</u>
	<u>Anthocyanes</u>	dalphiniol		<u>Dalbergia sissoo</u> , petits fruits rouges
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	<u>Lignanes</u>	<u>entérodiol</u>		Bactéries intestinales, <u>lin</u>
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	<u>Lignines</u>			<u>Bois</u> , <u>fruits à noyau</u>
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	<u>Tanins condensés</u>	<u>procyanidine</u>		Raisins, <u>kaki</u>

## 2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances chimiques capables de réduire les rancissements et de retarder la peroxydation lipidique sans affecter les propriétés sensorielles et nutritionnelles du produit alimentaire. Ils garantissent la qualité et prolongent la durée de conservation du produit. L'antioxydant alimentaire idéal doit également être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, non toxique, sans coloration, odeur ou saveur indésirable, résistant aux processus technologiques et stable dans le produit fini. (**Antonovich et al, 2002**).

### 2.1. Classification des antioxydants

Il existe plusieurs antioxydants synthétiques et quelques composés naturels (comme le tocophérol, l'acide ascorbique et le bêta-carotènes) qui sont officiellement autorisés à être utilisés dans l'alimentation. Il s'est également avéré nécessaire de les inclure dans les produits pharmaceutiques et cosmétiques afin d'éviter leur dégradation. Cependant, des études toxicologiques ont considéré que certains antioxydants synthétiques présentaient un risque. De nombreux industriels et scientifiques se concentrent sur la recherche de nouveaux antioxydants naturels. Des milliers de publications dans la littérature concernant les antioxydants naturels et leur impact sur l'organisme humain peuvent être consultées. (**Kanoun, 2011**)

#### 2.2.1. Les antioxydants naturels

Les antioxydants naturels se trouvent dans de nombreux aliments à base de végétaux et d'animaux. Ils jouent un rôle essentiel dans la protection de nos cellules contre les dégâts causés par les radicaux libres. Parmi ces antioxydants naturels, on distingue :

- **L'acide ascorbique (vitamine C)** : il joue un rôle dans la protection contre les maladies Cardiovasculaires et le vieillissement cellulaire . Parmi les aliments riches en vitamine C sont : les agrumes, les kiwis, les fraises
- **Les tocophérols (vitamine E)** : La vitamine E joue un rôle crucial dans la prévention des dommages causés par l'oxydation des membranes cellulaires (**Traber, 1999**).

Parmi les aliments riches en vitamine E on distingue Les noix, les graines, les huiles végétales et les épinards contiennent cette substance.

- **Les polyphénols :** Les polyphénols présentent des effets positifs en tant qu'antioxydants et anti-inflammatoires pour la santé. **(Rizvi, 2009)**. sont des substances telles que les flavonoïdes présents dans les fruits, les légumes et le thé. Les anthocyanes présents dans les baies et les cerises, et les catéchines présents dans le thé vert.
- **Sélénium :** Le sélénium joue un rôle essentiel en tant que cofacteur des enzymes antioxydantes et joue un rôle essentiel dans la prévention du stress oxydatif. **(Rayman, 2000)**. On retrouve cet oligo-élément dans les noix du Brésil, les poissons, la viande et les œufs.
- **Les caroténoïdes :** Ces caroténoïdes possèdent des propriétés antioxydantes et sont liés à la santé oculaire et cardiovasculaire **(Krishnaswamy, 2005)**. englobe le bêta-carotène (contenu dans les carottes, les patates douces), la lutéine (dans les épinards, les kales) et le lycopène (dans les tomates).
- **L'acide alpha-lipoïque :** est un antioxydant qui se dissout dans l'eau et les graisses. Il renforce les défenses antioxydantes de l'organisme en régénérant d'autres antioxydants tels que la vitamine C, la vitamine E et le glutathion.

### 2.2.2. Les antioxydants synthétiques

Ce sont des substances fabriquées en laboratoire afin de présenter des caractéristiques antioxydantes similaires à celles des antioxydants naturels. quelques illustrations d'antioxydants artificiels fréquemment employés :

- **Le BHA (Butylhydroxyanisole)** est un antioxydant artificiel qui est employé dans de nombreux produits alimentaires et cosmétiques afin de prévenir l'oxydation des graisses et des huiles par l'oxydation (**Williams, 2002**).
- **Le BHT (Butylhydroxytoluène)** : est un autre antioxydant artificiel couramment employé dans le secteur alimentaire afin de prolonger la durée de conservation des aliments contenant des matières grasses. (**Kahl, 1993**).
- **TBHQ : Tert-Butylhydroquinone** Un antioxydant artificiel appelé TBHQ est employé dans les aliments transformés afin de prévenir la rancidité des graisses et des huiles. (**Jin, 2004**).
- **Le propyl gallate** est un autre antioxydant artificiel employé dans les aliments afin de prévenir l'oxydation des graisses et de maintenir les saveurs stables (**Ash, 2004**).
- **Acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA)** : L'EDTA est une substance chimique synthétique qui sert d'antioxydant dans les aliments et les produits cosmétiques afin de prévenir la dégradation due aux métaux lourds (**Bjørklund, 2019**).

### 2.2.3 Les antioxydants enzymatiques

Les enzymes présentes dans l'organisme sont appelées antioxydants enzymatiques, et elles jouent un rôle essentiel dans la neutralisation des radicaux libres et la protection contre le stress oxydatif. Voici quelques exemples d'enzymes antioxydantes et de leurs rôles :

- **Dismutase de superoxyde (SOD)** : D'autres enzymes telles que la catalase et la glutathion peroxydase neutralisent le radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène grâce

à cette enzyme. Les mitochondries, le cytosol et les espaces extracellulaires renferment la SOD.

- **Le peroxyde d'hydrogène** est décomposé par la catalase en eau et en oxygène, ce qui permet de réduire les dommages oxydatifs causés par ce peroxyde. L'essentiel de sa présence se trouve dans les peroxysomes cellulaires
- **Le coenzyme Q10 (CoQ10)** est : Malgré son statut d'antioxydant primaire, la CoQ10 joue également un rôle essentiel en tant qu'enzyme clé dans la chaîne de transport des électrons de la mitochondrie, ce qui permet de maintenir le potentiel redox et de réduire la production de radicaux libres.

### 3. Activité anti oxydante

#### 3.1. Aperçue général

Les composés les plus utilisés en tant qu'antioxydants synthétiques sont le carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol, la quercétine, la rutine et le picnogénol. Tous les structures des antioxydants soit d'origine naturelle ou de synthèse renferment des structures hydroxy phénoliques. Ces structures ont la capacité à piéger les radicaux libres tels que les groupements hydroxyles (OH) et les super oxydes (O<sub>2</sub>) (Antonovich et al, 2002).

#### 3.2. Les techniques les plus courantes l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante est évaluée par plusieurs méthodes telles que :

- Le test du 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH)
- L'ABTS (2,2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acide)
- FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)
- ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity (Rahman et al, 2009)

# **Les radicaux libres et stress oxydatif**

## 1. Le radical libre

Un radical libre est une molécule ou un atome qui contient un ou plusieurs électrons non appariés dans son orbite externe. Ces électrons non appariés rendent les radicaux libres extrêmement réactifs, car ils cherchent à s'apparier avec d'autres électrons, ce qui peut provoquer des réactions chimiques rapides et parfois destructrices ( **Balouiri et al, 2016**)

## 2. Caractéristiques des radicaux libres

**a. Réactivité Chimique :** Les radicaux libres sont hautement réactifs en raison de leurs électrons non appariés. Ils peuvent facilement interagir avec d'autres molécules, provoquant des réactions en chaîne qui peuvent endommager les cellules et les tissus.

**b. Formation :** Les radicaux libres peuvent être formés par plusieurs processus naturels et environnementaux, y compris :

- Les processus métaboliques normaux dans le corps (comme la respiration cellulaire).
- L'exposition aux radiations, à la pollution, aux produits chimiques toxiques et au tabagisme.
- Les réactions de l'organisme à des infections ou inflammations.

**c. Types de Radicaux Libres :** Les radicaux libres les plus couramment rencontrés dans les systèmes biologiques incluent :

- **Radical hydroxyle ( $\bullet\text{OH}$ ):** Très réactif et peut causer des dommages importants à toutes les classes de macromolécules cellulaires, y compris les glucides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques.

- **Anion superoxyde ( $\text{O}_2\bullet^-$ ):** Peut donner naissance à d'autres espèces réactives de l'oxygène (ERO) plus réactives.

- **Radical peroxyde ( $\text{ROO}\bullet$ ) et Radical alkoxyde ( $\text{RO}\bullet$ ) :** Formés lors de la dégradation des peroxydes lipidiques.

- **Radical nitrique ( $\text{NO}\bullet$ ) :** Peut réagir avec l'oxygène ou d'autres radicaux libres pour former des espèces réactives de l'azote (ERON), comme le peroxyde d'azote ( $\text{ONOO}^-$ )

(**Rahman et al, 2015**)

### 3. Stress oxydatif

On parle de stress oxydatif lorsqu'elle pour le système antioxydant n'arrive pas à éliminer le cumul de Radical libre.

En temps normal, l'organisme dispose de systèmes antioxydants endogènes, comme les enzymes superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPx), qui neutralisent les espèces réactives d'oxygène (ERO) qui préviennent les dommages cellulaires. Cependant, lorsque la production des ERO dépasse les capacités de défense antioxydante, un déséquilibre se produit, conduisant à un stress oxydatif. Ce stress provoque des altérations des structures cellulaires, telles que l'oxydation des lipides membranaires, la modification des protéines et les dommages à l'ADN, pouvant entraîner des dysfonctions cellulaires et contribuer au développement de diverses pathologies, notamment les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et cancéreuses. (Phaniendra, 2015)

# Bactéries et levures

## 1. Généralité

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1  $\mu\text{m}$ . On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (Nauciel et Vildé, 2005).

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections (CCE, 2001). Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides : lorsque la substance détruit totalement les bactéries.

Selon (Bijal et Bhumika, 2015), la *Moringa* a été mentionnée pour ses propriétés antibactériennes remarquables. Les extraits de ses différents éléments (feuilles, fleurs, pulpe et graines) ont des propriétés antibactériennes prometteuses contre *E. coli* et *S. aureus*. D'autres extraits ont été suggérés pour être utilisés dans le traitement de différents troubles infectieux, soit seuls, soit en combinaison avec d'autres antibiotiques (Dzotametal, 2015). De plus, les feuilles fraîches et le liquide extrait des graines entravent la prolifération de *Pseudomonas aeruginosa* et de *S. aureus* (Caceres et al, 1991). Selon (Jabeen et al, 2008) la présence de différents métabolites et de substances lipophiles peut potentiellement entraîner une augmentation de l'action antimicrobienne.

## 2. Mécanisme d'action

Les extraits de *Moringa oleifera* possèdent des mécanismes d'action variés contre les bactéries, permettant une large gamme d'activités antibactériennes :

### 2.1 Perturbation de la membrane cellulaire

Les extraits de *Moringa oleifera* contiennent des composés tels que les saponines et les flavonoïdes, qui peuvent interagir avec les lipides de la membrane cellulaire des bactéries. Cette interaction augmente la perméabilité de la membrane, provoquant des fuites de

composants intracellulaires essentiels comme les ions, les acides aminés et les nucléotides, menant finalement à la lyse cellulaire. (Rahman et al, 2009)

### **2.2/Inhibition de la synthèse des protéines**

Certains composés bioactifs présents dans les extraits de *Moringa oleifera*, comme les peptides antimicrobiens, peuvent cibler les ribosomes des bactéries, perturbant ainsi la synthèse des protéines. Cela empêche la production de protéines nécessaires à la croissance et à la reproduction bactérienne, entraînant l'inhibition de leur développement.

### **2.3/Inhibition de la synthèse de l'ADN et de l'ARN**

Les isothiocyanates et autres composés contenus dans les extraits de *Moringa* peuvent interférer avec les enzymes impliquées dans la réplication de l'ADN et la transcription de l'ARN. En inhibant ces processus, les extraits empêchent la multiplication bactérienne et la production de nouvelles bactéries (Anwar et al, 2007)

### **2.4/Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire**

Les extraits de *Moringa oleifera* peuvent contenir des molécules qui inhibent les enzymes responsables de la biosynthèse de la paroi cellulaire bactérienne, comme le peptidoglycane. Cela affaiblit la structure de la paroi cellulaire, rendant les bactéries plus susceptibles de se lyser sous la pression osmotique.

### **2.5/Action antioxydante**

Les polyphénols et flavonoïdes présents dans les extraits de *Moringa oleifera* possèdent des propriétés antioxydantes. En neutralisant les radicaux libres produits par les bactéries, ces composés peuvent perturber les processus métaboliques bactériens et endommager les structures cellulaires telles que les protéines, les lipides et l'ADN.

### **2.6/Chélation des ions métalliques essentiels**

Certains composés, comme les tannins, peuvent se lier aux ions métalliques essentiels tels que le fer et le zinc, nécessaires aux enzymes bactériennes. La chélation de ces ions prive les bactéries des cofacteurs enzymatiques critiques, inhibant ainsi leur métabolisme et leur croissance.

### 2.7/Induction de stress oxydatif

Les composés bioactifs de *Moringa oleifera* peuvent induire un stress oxydatif chez les bactéries en augmentant la production de radicaux libres et de peroxydes. Ces espèces réactives de l'oxygène (ERO) endommagent les membranes, les protéines et l'ADN des bactéries, conduisant à la mort cellulaire (**Prashith et al, 2010**)

### 3.Les souches microbiennes :

- **3.1/*Bacillus cereus***

*Bacillus cereus* (*B. cereus*) est une bactérie Gram-positive, éventuellement anaérobie, qui forme des endospores, présente un gros bâtonnet et une morphologie coloniale d'environ 2 à 7 mm de diamètre, avec une semence granulaire blanche. La croissance optimale se situe entre 28 °C et 35°C, avec une température minimale de croissance de 4 °C (39,2 °F) et maximale de 48 °C (118,4 °F). La croissance peut avoir lieu dans des niveaux de pH allant de 4,9 à 9. Il est responsable de deux types de maladies alimentaires : i) une intoxication causée par une toxine préformée dans l'aliment et ii) une infection causée par l'ingestion de cellules productrices de phérodotoxines dans l'intestin grêle. La dose infectieuse requiert une grande quantité de bactéries, habituellement supérieure à 10<sup>5</sup>.

- **3.2/*Streptococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* est une bactérie à Gram positif, sous forme de cocci, d'un diamètre d'environ 0,8 µm à 1µm, de la famille des Staphylococcaceae. Immobile, généralement disposé en grappes, sans capsule visible au microscope optique. La flore humaine est constituée de *Staphylococcus aureus*, qui se trouve principalement dans le nez et sur la peau. *Staphylococcus aureus* se développe aisément dans des environnements ordinaires, qu'ils soient en aérobiose ou en anaérobiose, en créant des colonies lisses, brillantes et bombées, plus ou moins colorées en jaune doré, d'où son nom de staphylocoque "doré". Dans un environnement liquide, il génère un trouble homogène dans le bouillon.

La plupart des infections suppurées de la peau et des muqueuses sont causées par ce microorganisme pyogène, qui surinfecte souvent les plaies négligées. Selon (**Prescott et al, 2010**) la résistante à la méticilline (antibiotique) de *Staphylococcus aureus* est présente. À la différence du *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline (MSSA), le MRSA se développe de manière plus lente sur différents médias et a été découvert dans des colonies mixtes de

MSSA. Le MRSA contient le gène *mecA*, qui assure la résistance à plusieurs antibiotiques, tandis que le MSSA ne le contient pas.

- **3.3/L'*Escherichia coli* génère le BLSE.**

C'est une espèce d'*Escherichia coli* de la famille des Enterobacteriaceae. Il s'agit d'un bacille à Gram négatif qui présente une taille assez importante ( $1-1.5 \times 2-6 \mu\text{m}$ ), une aéro-anaérobiose optionnelle, une oxydase négative, un nitrate positif et qui fermente le glucose (Farmer et al, 2007). *E.coli* a une sensibilité naturelle à toutes les  $\beta$ -lactamines. Toutefois, il y a une augmentation du nombre de souches qui produisent une  $\beta$ -lactamase à large spectre (BLSE) au fil des années. La classe A de la classification des  $\beta$ -lactamases d'Ambler comprend ces BLSE. Il s'agit de l'hydrolyse de toutes les pénicillines et céphalosporines, à l'exception des céphamycines, du moxalactam et des carbapénèmes. Selon (Ahn et al, 2009) les souches d'*E.coli* qui produisent des BLSE sont généralement porteurs d'une enzyme de type CTX-M, ce qui entraîne une résistance plus élevée au céfotaxime que à la ceftazidime)

- **3.4/*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase**

Il s'agit d'une bactérie entérique, connue sous le nom d'entérobactérie à Gram négatif, avec une forme de bâtonnet, qui est non mobile et généralement encapsulée, ce qui limite sa capacité à se multiplier. En KPC, elle constitue une barrière physique pour échapper à la réponse immunitaire de son hôte. Les goûts sont généralement des anaérobies qui réagissent à la réponse, avec une largeur de 0,3 à 1,0  $\mu\text{m}$  et une longueur de 0,6 à 6,0  $\mu\text{m}$ . Ces bactéries sont également connues sous le nom d'Enterobacteriaceae résistueseste carbapenem, car elles produisent une enzyme capable de décomposer la classe d'antibiotiques appelée carbapenems. La présence naturelle de cette bactérie dans certains organes tels que le tube digestif ou les poumons est contrôlée par le corps, ce qui explique pourquoi elle ne provoque pas d'infection. Cependant, cette bactérie peut devenir "agressive" dans certaines situations, lorsque les défenses immunitaires sont réduites, comme chez les personnes alcooliques ou encore les personnes atteintes de diabète. Il s'agit d'un facteur majeur de pneumonie et d'infections pulmonaires d'origine communautaire ou nosocomiale, avec des symptômes clés tels que la fièvre et les frissons. Selon (Kitchel et al, 2009), elle peut causer des angines, des infections pulmonaires, parfois des infections urinaires ou des infections plus généralisées, telles que la septicémie et la méningite.

- **3.5/Serratia**

Les espèces du genre *Serratia* sont généralement isolées des végétaux (légumes, champignons, mousses), du tube digestif des rongeurs, des insectes, de l'eau et du sol. Dans l'environnement hospitalier, cette bactérie est rarement pathogène, mais elle est souvent présente et certaines souches sont responsables d'infections nosocomiales (**Abo et al, 2010**).

- **3.6/La salmonelle**

Les Salmonelles, présentes dans l'eau et dans différentes denrées alimentaires, sont des pathogènes tant pour l'homme (*Salmonella typhi*) que pour l'animal (*Salmonella abortus ovis*). Elles sont à l'origine de la fièvre typhoïde et des gastro-entérites chez l'homme. Les symptômes cliniques chez l'animal sont divers : avortements chez diverses espèces, septicémies chez les jeunes, entérites. La structure est similaire à celle des entérobactéries. Certaines souches qui sont généralement mobiles peuvent apparaître immobiles à l'isolement. En général, les colonies atteignent une taille de 1,5 à 3 mm après 24 heures à une température de 37°C et se manifestent lors de l'isolement sous forme S. (**Brener, 1981**) (**Carbonnelle et al, 1987**) (**Pilet et al, 1979**)

- **3.7/Pseudomonas aeruginosa**

Il s'agit d'une bactérie Gram négative dont les dents sont fines, droites et très mobiles. Elle a une taille de 0,5 à 1,0 µm de diamètre sur 1,5 µm de long, avec des structures strictes. Ce genre se trouve à proximité du sol, du pair ou de 1,5 à 3,0 mètres de long dans les environs hospitaliers, et surtout dans les endroits humides par exemple. La majorité des espèces présentent un taux de croissance élevé, allant de 4°C à 37°C. La *P. aeruginosa* peut entraîner des infections parfois graves chez les individus ayant une faible immunité. Les infections urinaires et bronchiques peuvent être causées par elle, tout comme les infections cutanées et les infections de l'oreille (otites). (**Avril et al, 1992**)

- **3.8/L'Acinetobacter**

Les *Acinetobacter* sont des bactéries omniprésentes, mais elles se retrouvent aussi sur les tissus cutanés chez l'homme et les animaux. La morphologie spécifique des *Acinetobacter* permet, presque certainement, de guider leur identification de manière adéquate. Dans les cultures liquides peptonées simples, l'analyse au microscope optique révèle la présence de diplobacilles à extrémités arrondies, toujours immobiles, isolés en petites chaînettes. Ces diplobacilles sont accompagnés de formes de cocci plus ou moins nombreuses, plus rarement

de formes allongées et massues, appelées formes souffrantes, qui seraient favorisées par l'agitation des cultures (Schuster, 2001 ; Marcos, 1993).

- **3.9/Candida albicans**

L'espèce de levure la plus importante et la plus célèbre du genre *Candida* est *Candida albicans*. *Candida albicans* est une espèce naturelle présente dans les muqueuses de l'organisme humain. Il est présent dans 80 % des individus et ne provoque généralement aucune maladie ou symptôme spécifique. Il s'agit d'une espèce commensale saprophyte. Elle entraîne des infections par des champignons (candidiase ou candidose). Lors de la culture en boîte de Pétri des *Candida* au laboratoire médical, on observe des colonies massives, rondes, de couleur blanche ou crème

#### **4. Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne**

##### **1. Méthode de diffusion sur disque (méthode de Kirby-Bauer)**

- **Principe** : Cette méthode évalue la capacité d'un échantillon à inhiber la croissance bactérienne sur une plaque de gélose.

- **Procédure** : Des disques de papier imprégnés de l'échantillon sont placés sur une plaque de géloseensemencée avec des bactéries. Après incubation, la zone d'inhibition (zone sans croissance bactérienne) autour des disques est mesurée. La taille de cette zone est proportionnelle à l'efficacité antibactérienne de l'échantillon.

##### **2. Méthode de dilution en milieu liquide (MIC et MBC)**

- **Principe** : Cette méthode détermine les concentrations minimales inhibitrices (MIC) et bactéricide (MBC) d'une substance antibactérienne.

- **Procédure** : L'échantillon est dilué en série dans un milieu de culture liquide contenant une concentration fixe de bactéries. Après incubation, la turbidité ou la croissance bactérienne est évaluée pour déterminer la MIC (la plus faible concentration inhibant la croissance visible). Les cultures sont ensuite subcultivées sur une gélose sans antibiotique pour déterminer la MBC (la plus faible concentration tuant 99,9% des bactéries).

##### **3. Méthode de diffusion en puits**

- **Principe** : Cette méthode est similaire à la diffusion sur disque mais utilise des puits creusés dans une plaque de gélose pour tester l'activité antibactérienne.

- **Procédure** : Des puits sont creusés dans une géloseensemencée avec des bactéries, puis remplis avec l'échantillon. Après incubation, la zone d'inhibition autour des puits est mesurée. Cette méthode permet de tester des volumes plus importants que la méthode de diffusion sur disque.

#### 4. Méthode de l'agar incorporé (incorporation en gélose)

- **Principe** : Cette méthode évalue l'activité antibactérienne en incorporant l'échantillon directement dans la gélose avant la solidification.

- **Procédure** : La substance antibactérienne est mélangée avec de la gélose fondue et versée dans des boîtes de Pétri. Une fois solidifiée, la gélose estensemencée en surface avec les bactéries. Après incubation, la croissance bactérienne est évaluée. Une absence ou une réduction de la croissance indique une activité antibactérienne (**Wiegand, 2008**)

# Etude Expérimentale

# Matériels et méthodes

## 1/Matériel et Méthodes

- ❖ Toutes les manipulations se rapportant aux extractions et aux dosages ont été réalisées aux Laboratoires de Biochimie et de Chimie de la Faculté des sciences de la Nature et de la vie de l'université Chadli Bendjedid d'El Tarf.

### 1.1/ Matériel végétales

Les parties aériennes (feuilles et tiges) de la plante *Moringa oleifera* sont utilisées comme matériel végétal. Le matériel végétal a été collecté au niveau des marchés locaux des deux pays : Algérie et Mali.

### 1.2/Réactifs et produits chimiques

- **Solvant organiques** : éthanol, eau distillé
- **Acide /Base** : acide chlorhydrique (HCl à 70%), vanilline à 4%
- **Etalon (composés phénoliques)** : acide gallique, catéchine
- **Réactifs** : Dpph, Folin -Ciocalcu
- **Sels** : carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ), hydroxyde de sodium (NaOH).

### 1.3/ Matériels de laboratoire

Entonnoir, les cuves, papier filtre, papier d'aluminium, Baro magnétiques, la hotte, portoir, cône bleu et jaune, pipette pasteur, Erlen meyer, les micropipettes, les éprouvettes, les béchers, les tubes eppendorfs, broyeur, le spectrophotomètre, balance de précision, agitateur, soxhlet, cartouche de papier épais, et la rota-vapeur

## 2.Méthodes

### 2.1/ Préparations des échantillons

Le végétal a été séché. On peut effectuer un broyage fin des feuilles séchées en utilisant un broyeur électrique. Ensuite, on tamise la poudre obtenue à l'aide d'un tamis. La poudre finale obtenue est stockée jusqu'à ce qu'elle soit utilisée.

### 2.2/ Extraction des polyphénols

L'objectif de l'extraction est de libérer les phénols totaux présents dans les structures vacuolaires par rupture du tissu végétal et par diffusion. Ces composés sont isolés par le

Procédé solide-liquide en s'inspirant des méthodes décrites par plusieurs auteurs entre autres (Atanosova et Ribarova, 2009)

### 2.2.1/ Extraction par macération

#### 2.2.1.1/Protocole

Trois méthodes ont été employées : Extraction aqueuse , extraction hydro-éthanolique et extraction éthanolique . Chaque plante est placée avec 10g de végétale dans deux erlenmeyers séparés, avec 100ml de solvant utilisé, puis laissée macérer pendant 24 heures. Préparer la solution afin d'obtenir le filtrat. Pour obtenir l'extrait éthanolique le filtrat est passé au rota vapeur à température ambiante. Le filtrat aqueux par séchage à l'étuve 40°C et pour le filtrat hydro-éthanolique par évaporation puis à l'étuve



### 2.2.2/ Extraction par soxhlet

#### 2.2.2.1/Principe

Une pièce de verrerie appelée extracteur de Soxhlet est employée dans le domaine de la chimie analytique et de la chimie organique pour extraire en continu un composé chimique

Présent dans une poudre solide. Le concept est identique à celui de toute extraction. Il est nécessaire d'effectuer un nombre considérable d'extractions successives afin d'obtenir une séparation adéquate.

L'extracteur de Soxhlet est une machine spécialement développée pour extraire en continu des substances solides-liquide

Il est nécessaire de porter à ébullition le solvant puis de le condenser avec le condenseur à boules dans le réservoir à siphon, qui contient le solide à extraire dans une cartouche de papier épais. Le solvant et le produit à extraire sont en contact dur.

Lorsque le solvant s'accumule dans le réservoir, puis lorsque le solvant atteint un niveau spécifique, il commence à s'accumuler dans le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute.

Selon (Penchev, 2010) ce cycle est répété à plusieurs reprises en fonction de la facilité avec laquelle le produit se diffuse dans le solvant.



**Figure 6 : extraction par soxhlet (Merzougui, 2024)**

#### 2.2.2.2/ Protocole

Une cartouche contenant 20g de poudre de *Moringa* pesée est placée dans le Soxhlet, avec un réfrigérant à portée de ballon contenant 250ml de solvant d'extraction, à savoir de l'éthanol. Lorsque le solvant est chauffé, il s'évapore, se condense dans le réfrigérant, retombe dans

l'extracteur, solubilise les principes actifs et retourne dans le ballon de récupération. Cette opération est répétée à plusieurs reprises jusqu'à ce que la plante soit complètement épuisée (épuisement pour 6 cycles). Après l'extraction.

Le délai de traitement varie en fonction du solvant utilisé. Le solvant et les matières solubilisées sont éliminés du ballon en utilisant le Rota-vapeur.

## 2.3/Analyse des composés phyto-chimiques

### 2.3.1/ Dosage des polyphénols totaux

#### 2.3.1.1/Principe

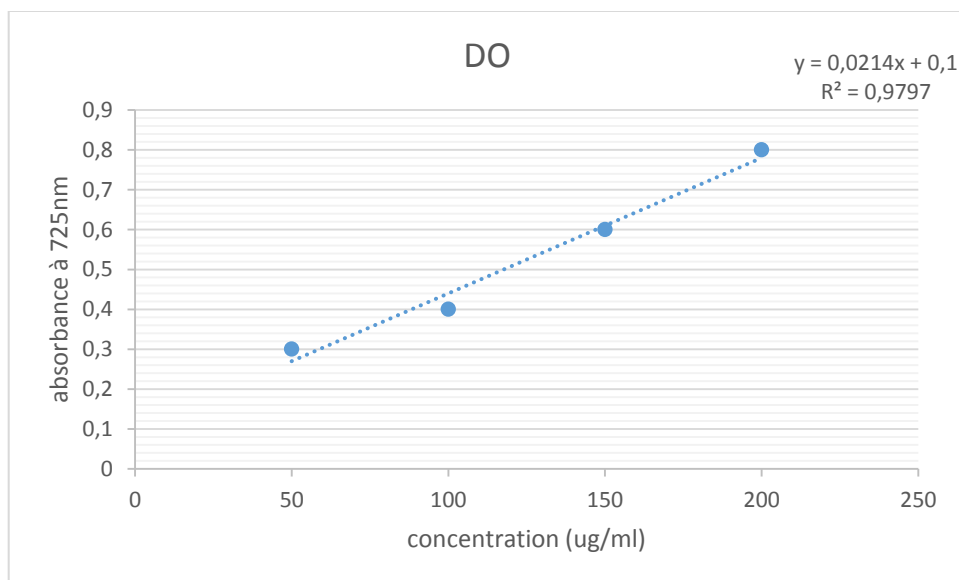
Une réaction d'oxydoréduction est à la base de ce dosage. Le réactif de Folin-ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acides phosphotungstique ( $H_3 PW_{12} O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3 PMO_{12} O_{40}$ ). Il est réduit au cours de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8 O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8 O_{23}$ ). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption entre 700 et 750 nm.

#### 2.3.1.2/Protocole

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode de (Dewanto et al, 2002) reprise et modifiée par (Medjeldi et al, 2018). A 100  $\mu$ l d'extrait (dilution appropriée) ou de standard, on ajoute 400  $\mu$ l du réactif de Folin-ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau ultra pure). Le mélange réactionnel est agitée, puis après 5 mn, la couleur bleue apparue est intensifiée et stabilisée par l'ajout de 500  $\mu$ l de sodium ( $Na_2 CO_3$ ) à 7.5 %. Après agitation au vortex, le mélange est incubé pendant 1h à l'obscurité et à température ambiante. La densité optique (DO) est mesurée à  $\lambda=725$  nm, à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 6300). Le tube « blanc » ne contenant pas d'extrait, sert à ajuster le zéro de l'appareil.

La quantification des polyphénols est réalisée à partir d'une gamme étalon d'acide gallique en concentrations finales (2,5 à 10  $\mu$ g/ml) en milieu aqueux.

Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière fraîche (mg EAG/g MF).



**Figure 07** : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour l'analyse des polyphénols

### 2.3.2. Dosage des flavonoïdes

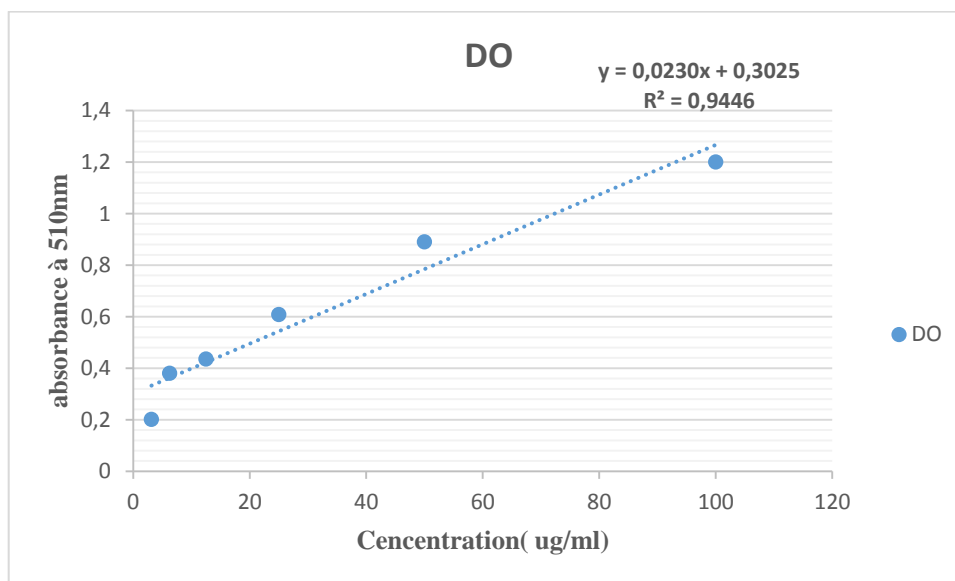
#### 2.3.2.1/ Principe

La formation d'un complexe entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium est à la base de ce dosage spectro-photométrique.

#### 2.3.2.2/ Protocole

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode rapportée par (**Medjeldi et al, 2018**) une prise de 100 µl d'échantillon convenablement dilué est mélangée à 400 µl d'eau distillée et 30 µl de NaNO<sub>2</sub> (5%). Après 5 mn de repos, on ajoute 60 µl d'une solution d'AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (10%) fraîchement préparée puis après 6 mn d'incubation, on ajoute 200 µl de NaOH (1M). le mélange réactionnel est ajusté à 1 ml avec de l'eau distillé. Après une incubation de 1 h à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est faite à 510 nm contre le tube « blanc » dans lequel l'extrait est remplacé par le solvant d'extraction.

Une gamme étalon de catéchine à des concentrations finales allant de 12,5 à 100 µg/ml est utilisée pour la quantification des flavonoïdes. Les teneurs en flavonoïdes sont exprimés en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de matière fraîche (mg EC/g MF).

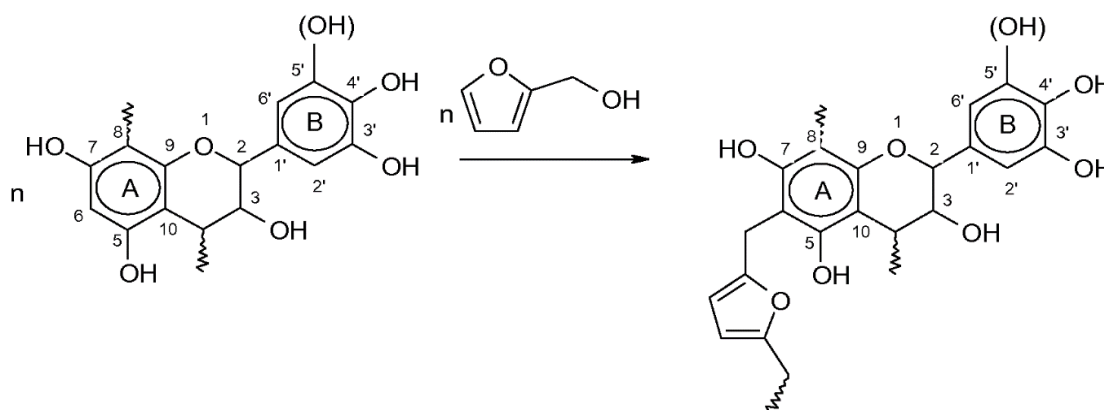


**Figure 8** : courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes

### 2.3.3 Dosage des tanins condensés

#### 2.3.3.1/ Principe

En présence d'acide concentré, les tanins condensés se dépolymérisent et en réagissant avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge spécifique,



mesurable par spectrophotométrie (*Figure 09*).

**Figure09** : la réaction des tanins en présence de la vanilline

#### 2.3.3.2/Protocole

Les tanins condensés sont analysés par la méthode colorimétrique (**Medjeldi et al, 2018**) une prise de 100 µl de l'extrait convenablement dilué est mélangée avec 600 µl de vanilline (4%) fraîchement préparé et 300 µl de HCL concentré. La solution obtenue est homogénéisée par agitation, puis maintenue au repos pendant 30 mn à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 510 nm.

La gamme étalon est préparée avec à des concentrations finales de catéchine allant de 12,5 à 100 µg/ml. Les teneurs en tanins sont exprimées en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MF). (Figure 11)

## 2.4/Evaluation du pouvoir antioxydant

### 2.4.1/Piégeage du radical libre DPPH

Cette méthode est décrite par plusieurs auteurs entre autres (**Iwashima et al, 2005 ; Rigane et al, 2011 ; Medjeldi et al, 2018**). C'est une technique avantageuse du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide.

#### 2.4.1.1/Principe

Le DPPH<sup>•</sup> (2,2 diphényl-1 picrylhydrazyl) est un radical stable qui absorbe dans le visible entre 515 à 520 nm. Le test consiste à faire réagir le DPPH de coloration violette avec des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à le réduire en DPPH-H de coloration jaune. Ce changement de couleur reflète le pouvoir de l'extrait végétal à piéger ce radical. Le phénomène peut donc être suivi par spectrophotométrie visible.

#### 2.4.1.2/Protocole

L'estimation de l'activité anti radicalaire est déterminée selon la méthode décrite par (**El-Haci et al, 2011**) avec quelques modifications. A 975 µl d'une solution méthanolique de DPPH à (4%) sont ajoutés 25 µl de l'extrait à différentes concentrations. Après agitation vigoureuse, le mélange est gardé à l'obscurité pendant 1h. L'absorbance est mesurée à 517 nm en se référant à un témoin sans extrait. Le méthanol est utilisé comme blanc.

#### 2.4.1.3/Expression de l'activité anti radicalaire

Elle est exprimée en pourcentage d'inhibition qui est calculé selon la formule suivante :

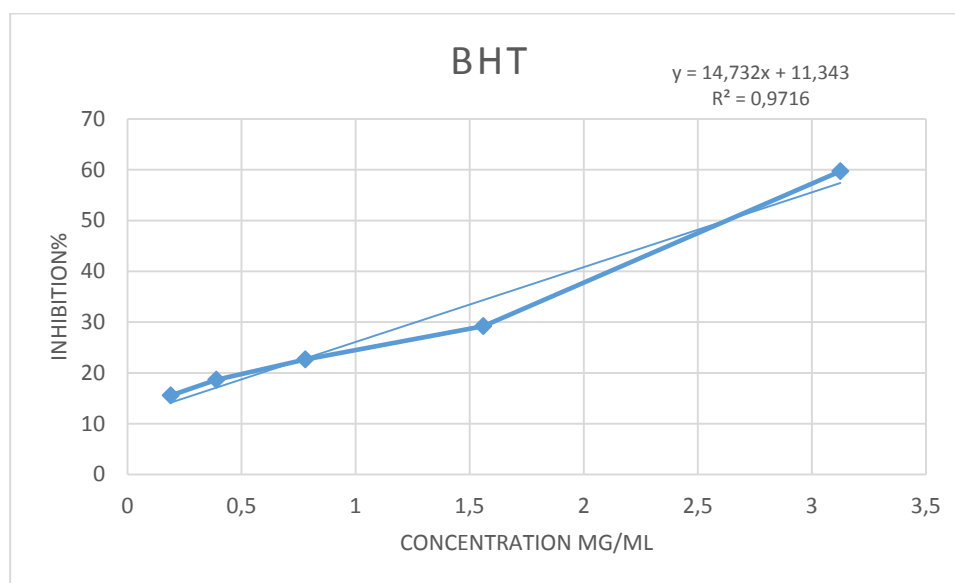
$$PI\% = [(DO_{\text{témoin}} - DO_{\text{extrait}}) / DO_{\text{témoin}}] \times 100$$

PI% : **pourcentage** d'inhibition

DO<sub>témoin</sub> : Absorbance de la solution témoin (DPPH)

DO<sub>extrait</sub> : Absorbance de la solution antioxydante (extrait)

La régression linéaire de la courbe :  $PI\% = f [C_{\text{extrait}}]$  permet de déterminer l'IC<sub>50</sub> qui correspond à la concentration en extrait responsable de l'inhibition de 50% de radical DPPH'. L'IC<sub>50</sub> est exprimée en unités de concentration de l'extrait. Le standard témoin utiliser le BHT avec plusieurs concentrations (figure 10)



**Figure10** : variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de BHT

### 3/ Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été testée avec les extraits végétaux. Le protocole d'extraction des extraits citée ci-dessous. La manipulation a été effectuée au Centre de Biotechnologie de Bordj Cédria (CBBC), Laboratoire des Substances Bioactives

#### 3.1/ Matériel végétale

Les extraits végétaux aqueux de la plante *Moringa oleifera* (Algérienne) et (Malienn)

#### 3.2/Les souches bactériennes

- **3.2.1/ Gram positif** (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 14759, *Lysteria monocytogenes* ATCC 192195), *Enterococcus faecalis* ATCC 192195),
- **3.2.2/Gram négatif** (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2134).
- **3.2.3/Levure** : *Candida albicans* (ATCC 10231).

### 3.3/ Les milieux de culture

La culture des bactéries a nécessité l'utilisation de milieux suivant : la gélose Mueller Hinton (MH), Luria-Bertani (LB)

### 3.4/ Protocole

La méthode appliquée est celle de la diffusion sur gel d'agar décrite par (**Medjeldi et al ,2018-2021**) avec quelques modifications. Brièvement, une suspension microbienne de chacune de ces souches (quelques colonies prélevées à partir d'une culture fraîche de 24h, sur milieu (Luria-Bertani) dans 10 ml d'eau physiologique) a été préparée. Chacune de ces suspensions a été parfaitement agitée au vortex et ajustée *par dilutions successives* jusqu'à atteindre une turbidité lue au densimètre donnant un dénombrement de  $10^6$  à  $10^7$  UFC (Unité Formant Colonie)/ ml. Sept boîtes de pétrie préalablement coulées avec la gélose nutritive dont six avec le milieu MH (Mueller-Hilton) pour les bactéries et une avec le milieu SD (Sabouraud Dextrose) pour la levure ont étéensemencées avec chacune des suspensions adéquates. Des puits ont été creusés à l'aide de pipettes Pasteur (ou à défaut en utilisant les cônes de pipette automatique). Les fonds des puits ont été tapissés d'agar mou (8 g/L) pour empêcher toute dispersion de l'échantillon ; 50  $\mu$ L de l'extrait aqueux, à une concentration convenable, ont été ajoutés dans les puits. Après séchage, les boîtes de pétrie ont été incubées toute une nuit à 37°C. Le solvant d'extraction (eau stérile) a été utilisé comme contrôle négatif, tandis que la tétracycline et la nystatine (30  $\mu$ g /puits) ont été utilisées comme contrôles positifs respectivement pour les bactéries et la levure.

L'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits indique la présence d'une activité antibactérienne de l'extrait. Pour plus de certitude, l'expérience a été répétée une deuxième fois et le résultat correspond à la moyenne des deux valeurs  $\pm$  l'écart type.

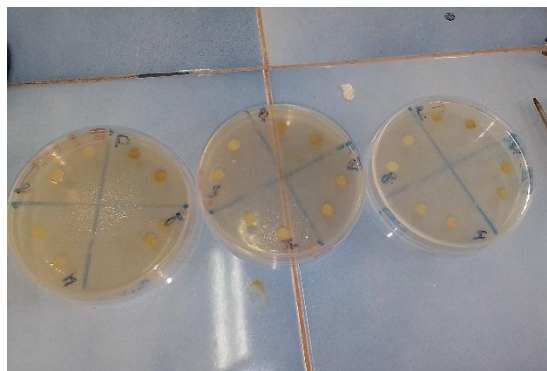
### 3.5/Exemple de préparation d'une dilution décimale ou au dixième : 1/10

#### 3.5.1/Matériel

- Un tube de diluant de 9 ml (eau distillée ou eau physiologique)
- Une pipette automatique P1000 avec cônes stériles
- Un vortex (facultatif)

### 3.5.2/Réalisation :

- Homogénéiser la suspension microbienne à prélever (agitation par mouvements circulaires pendant 10 secondes environ ou à l'aide d'un vortex).
- Ouvrir et flamber l'ouverture du tube.
- Prélever 1 ml de suspension à l'aide de la pipette automatique (Ne pas introduire la pipette dans la suspension de plus de 1 cm).
- Flamber et refermer le tube.
- Ouvrir le tube de 9 ml de diluant, flamber l'ouverture, y introduire le volume prélevé (sur la paroi sans toucher le liquide). Éviter tout contact entre la pipette contenant l'inoculum et le diluant stérile.
- Flamber et refermer le tube, jeter la pipette souillée dans le bac à eau de Javel.



**Figure 11:** Test de l'activité antibactérienne (Merzougui, 2024)

## Résultats et discussion

**1/Rendement des différents extraits**

Le rendement d’extraction exprimé en pourcentage, est égal au rapport entre le poids de l’extrait et le poids du matériel végétal initial. Les valeurs déterminées pour les différents extraits, sont présentées au tableau (4)

**Tableau 4.**Rendements d’extractions de deux plantes (MoA) et (MoM)

Matériel végétale	Extraits	Rendements %
<i>Moringa oleifera</i> (Algérienne )	Extrait aqueux	<b>1,7</b>
	Extrait 50% éthanol	<b>5,3</b>
	Extrait éthanolique	<b>9,2</b>
	Extrait éthanolique (soxhlet)	<b>10</b>
<i>Moringa oleifera</i> (Maliennne)	Extrait aqueux	<b>1,2</b>
	Extrait 50% éthanol	<b>3,2</b>
	Extrait éthanolique	<b>7,5</b>
	Extrait éthanolique (soxhlet)	<b>8</b>

On remarque alors que l’extraction éthanolique est plus rentable que les autres extractions, et ceci pour les deux plantes. Par ailleurs, les meilleurs rendements sont attribués au (MoA)

Selon (Siddhuraju et Becker, 2003) le méthanol et l’éthanol sont les meilleurs solvants pour extraire les composés phénoliques. A titre d’exemple, (Fahey et al, 2012) ont rapporté pour la même espèce de *Moringa oleifera* des taux de rendements d’extraction, de l’ordre de 11% avec de l’éthanol, 9% avec le 50% éthanol et 5% avec l’eau.

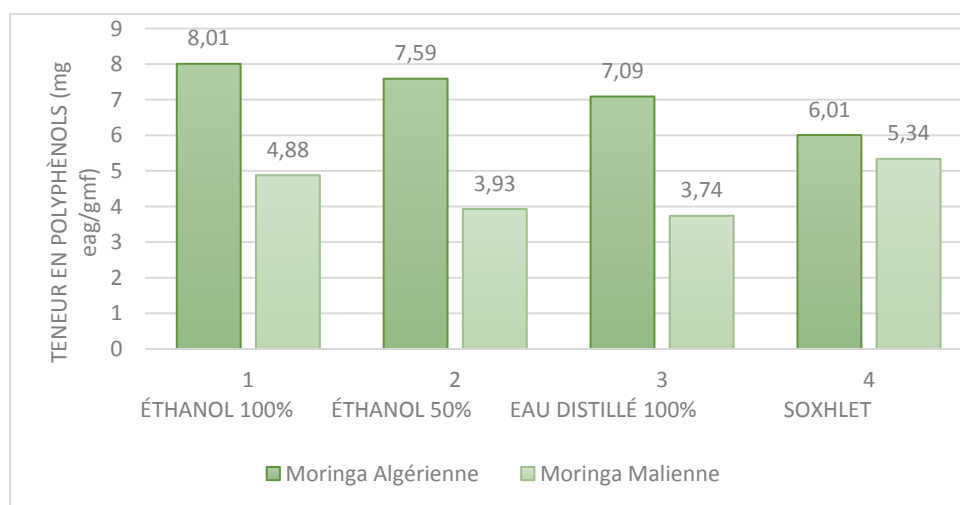
D’après nos résultats et ceux mentionnés par d’autres chercheurs, le rendement d’extraction semble être influencé par les degrés de polarité du solvant, ainsi que des divers composants de l’extrait tels que les constituants phénoliques.

**2/ Analyses des extraits de (MoA) et MoM**

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d’étalonnage.

### 2.1/Teneur en polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique d'équation  $y= 0.0214x +0.1$  . Le coefficient de régression de cette droite  $R^2= 0.9797$  étant proche de 1, ceci prouve la fiabilité de cette courbe dans la détermination des phénols totaux. Le résultat est exprimé en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière fraîche (mg EAG /g MF). Les valeurs calculées sont illustrées sur figure 17

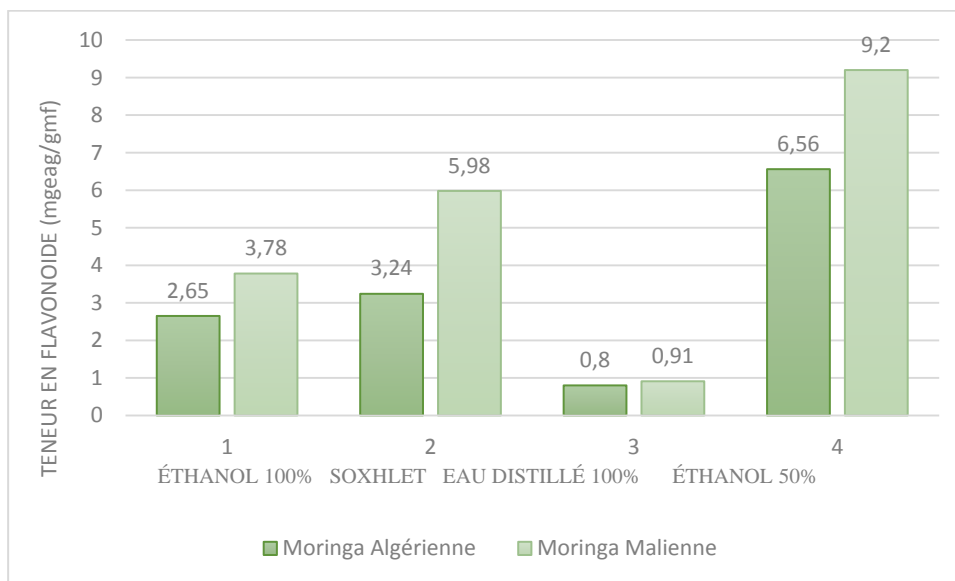


**Figure 12 :** Teneur en polyphénols des extraits de (MoA) et(MoM)

On remarque d'une part que les feuilles de *MoA* sont plus riches en phénols totaux que *MoM* pour les deux méthodes d'extraction macération et soxhlet et que d'autre part , l'extraction des composés phénoliques est meilleure avec l'éthanol qu'avec l'eau et 50% éthanol. Les résultats ne correspondent pas au rendements d'extraction le plus élevé qui est celui obtenu avec soxhlet.

### 2.2/ Teneur en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïde totaux est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée avec la catéchine d'équation  $y= 0,0230x+0,3025$  avec  $R_2 = 0,9446$  (figure13). Le résultat est exprimé en milligramme équivalent de catéchine par gramme de masse fraîche (mgEC/gMF). Les valeurs calculées sont représentées sur figure (16)

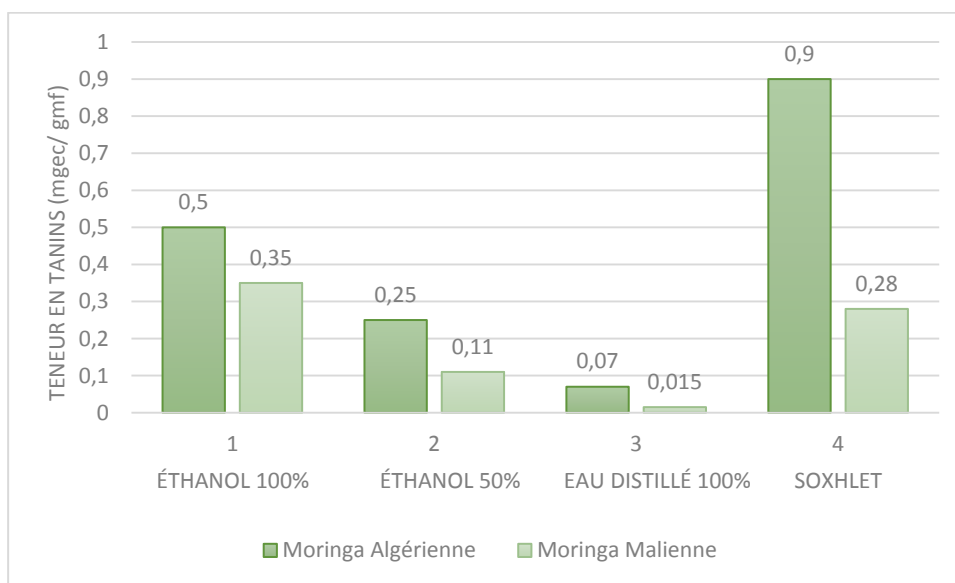


**Figure13** : Teneur en flavonoïde des extraits des feuilles de (MoA) et (MoM)

A travers ces résultats, on a déduit que les flavonoïdes chez les deux plantes sont mieux extraits avec 50% éthanol qu'avec de l'eau, soxhlet et l'éthanol pure et ceci est plus remarquable dans le cas de la plante Malienne.

### 2.3/ Teneur en tanins

La teneur en tanins des extraits est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée avec la catéchine d'équation  $y = 0,0230x + 0,3$  avec  $R_2 = 0,9446$  (figure09). Le résultat est exprimé comme dans le cas des flavonoïdes en (mg EC /g MF). Les valeurs des taux en tanins chez les deux plantes et dans les trois extraits sont présentés ci- dessous (Figure14)



**Figure14 :** Teneur en tanins des extraits des feuilles de (MoA) et (MoM)

Il ressort de ces résultats que *Moringa oleifera* Algérienne est plus riches en tanins que la plante Malienne. Par ailleurs, à l’encontre des flavonoïdes le type de tanins des deux plantes semble mieux extrait avec l’éthanol pur et soxhlet qu’avec l’éthanol 50% et l’eau.

#### 2.4/Discussion

En se référant juste à notre travail, on retient en composés phénoliques diffère selon le genre de plante et le type de solvant d’extraction. Pour ce qui est des phénols totaux (PT), on a rapporté que leur teneur est plus importante dans extrait éthanolique que dans l’extrait aqueux et l’extrait 50% éthanol et ceci dans la plante *Moringa oleifera* (Algérienne). Cependant, cette différence est significative chez *Moringa oleifera* (Malienne) (figure17).

- Une étude menée par (Lee et al, 2017) a montré que l'extraction avec 100% d'éthanol a produit des concentrations de polyphénols plus élevées par rapport à l'extraction avec 50% d'éthanol et 100% d'eau de *Moringa oleifera*.

- De même, les résultats obtenus par (Gupta et al, 2019) ont confirmé que l'utilisation de 100% d'éthanol comme solvant a conduit à des concentrations de polyphénols plus élevées par rapport à l'eau distillée et au mélange 50% éthanol.

Pour ce qui est des flavonoïdes totaux (FT), on a rapporté que leur teneur est significativement plus élevée dans l'extrait 50% éthanol que dans l'extrait éthanolique et aqueux pour *Moringa oleifera* (Maliennne), mais cette variation est légère dans le cas de *Moringa oleifera* (Algérienne) (figure18).

- D'une part une étude menée par (**Khan et al, 2018**) a révélé que l'extraction avec 50% d'éthanol a produit des concentrations de flavonoïdes plus élevées par rapport à l'extraction avec 100% d'éthanol et 100% d'eau de *Moringa oleifera*.

- D'autre part , les résultats obtenus par (**Ahmed et al, 2016**) ont montré que l'utilisation de 50% d'éthanol comme solvant a conduit à des concentrations de flavonoïdes plus élevées par rapport à l'eau distillée et au mélange 100% éthanol.

Il est connu que les flavonoïdes qui sont responsables de la coloration des plantes sont facilement ingérés par les humains et semblent présenter d'importantes activités anti-inflammatoires et anti-cancéreuses.

La teneur en tanins condensés (TC) dans l'extrait éthanolique est nettement supérieure à celle dans les extraits 50% éthanol et 100% éthanol et ceci pour les deux plantes testées sachant que la *M.oleifera*(Algérienne) est doublement plus riche que *M.oleifera*( Maliennne) (figure19)

- D'une part,( **Lee et al,2017**) a révélé que l'extraction avec 100% d'éthanol a produit des concentrations de tanins plus élevées par rapport à l'extraction avec 50% d'éthanol et 100% d'eau de *Moringa oleifera*.

- De même, les résultats obtenus par (**Gupta et al, 2019**) ont montré que l'utilisation de 100% d'éthanol comme solvant a conduit à des concentrations de tanins plus élevées par rapport à l'eau distillée et au mélange 50% éthanol.

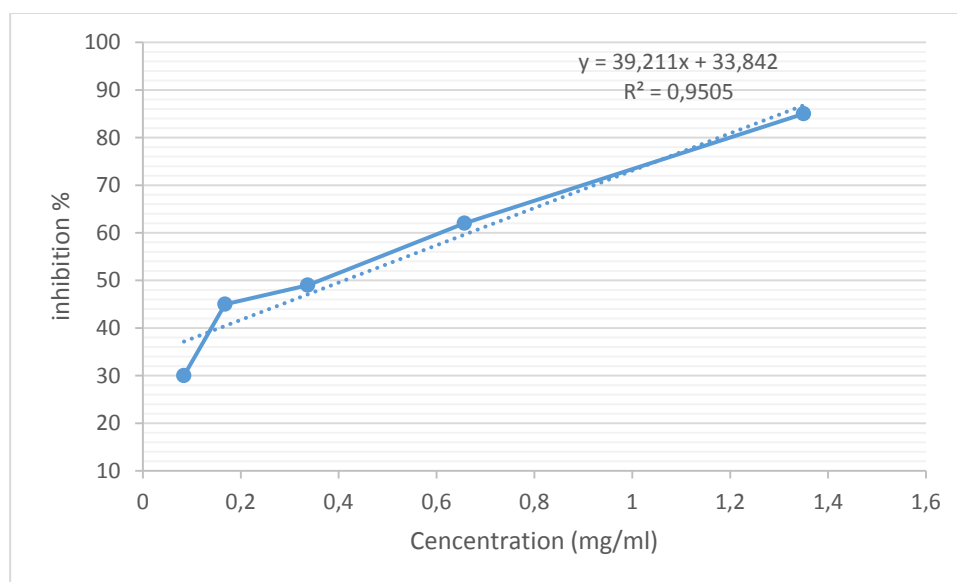
Enfin, toutes ces différences dans la teneur des composés phénoliques ne sont que le résultat d'influence des facteurs biotiques et abiotiques sur la synthèse de ces métabolites secondaires. En effet , les facteurs environnementaux , à savoir la température , l'humidité , l'intensité de la lumière , la fourniture d'eau , de CO2 agissent sur la production des métabolites secondaires (**Ramakrishna et al, 2011**)

### 3/Evaluation de l'activité antioxydantes par piégeage du radical libre DPPH

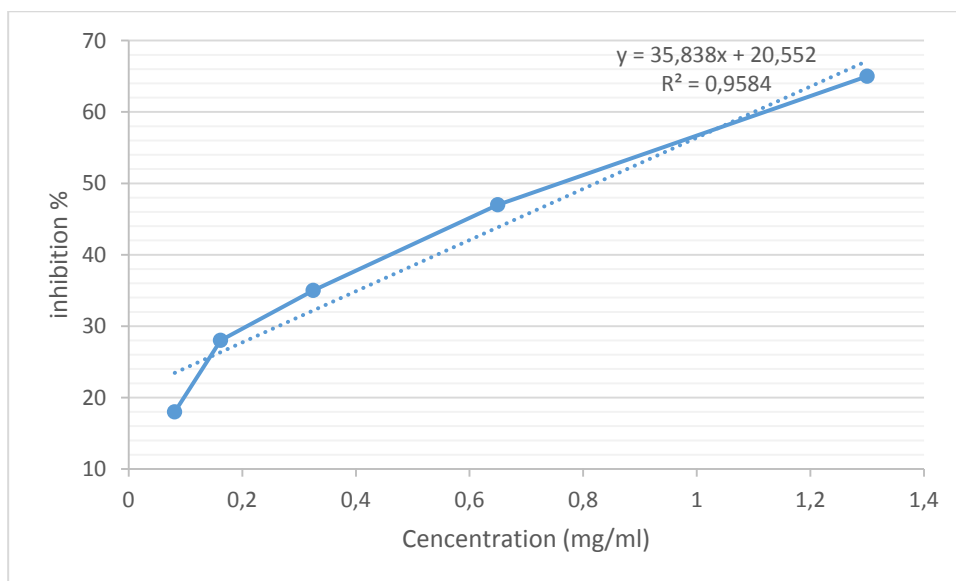
L'activité antioxydante des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH, a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurables à 517 nm. (**Rahmoni et Reghis, 2016**). Ce radical est l'un des substrats le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicalaire et la simplicité de l'analyse (**Bozin et al, 2008**).

Le pourcentage d'inhibition de ce radical est calculé selon la formule indiquée dans la partie (Matériel et Méthodes). La diminution de l'absorbance du radical DPPH à 517nm induite par les antioxydants, est une indication de leur capacité de réduction. Le paramètre définit la concentration efficace de l'extrait qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH. L'effet antioxydant d'un extrait végétal est d'autant plus élevé que la valeur en IC<sub>50</sub> est plus faible.

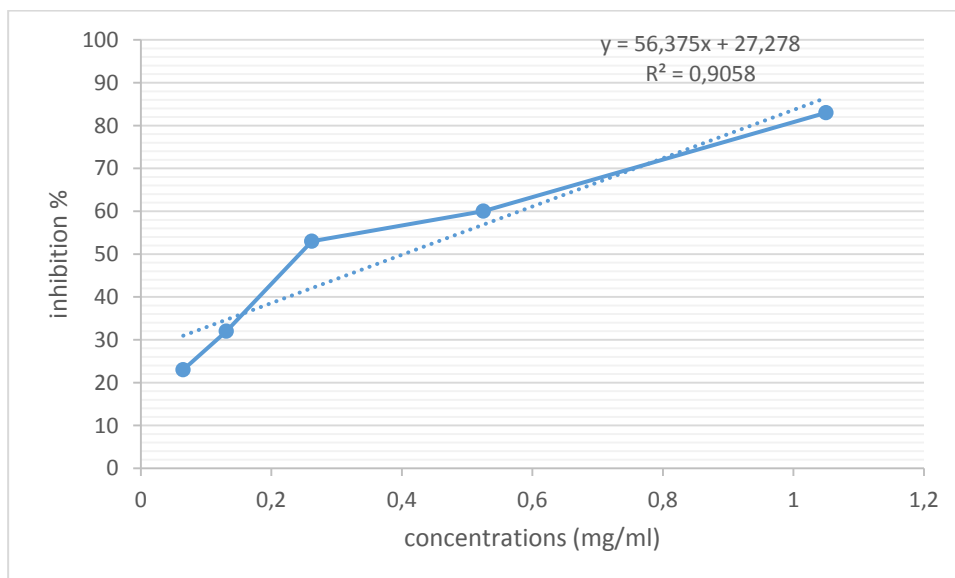
L'IC<sub>50</sub> des extraits de chaque plante est estimée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe : pourcentage d'inhibition (PI) en fonction des concentrations de l'extrait (figure 20, 21, 22, 23, 24 ,25 ,26 ,27).



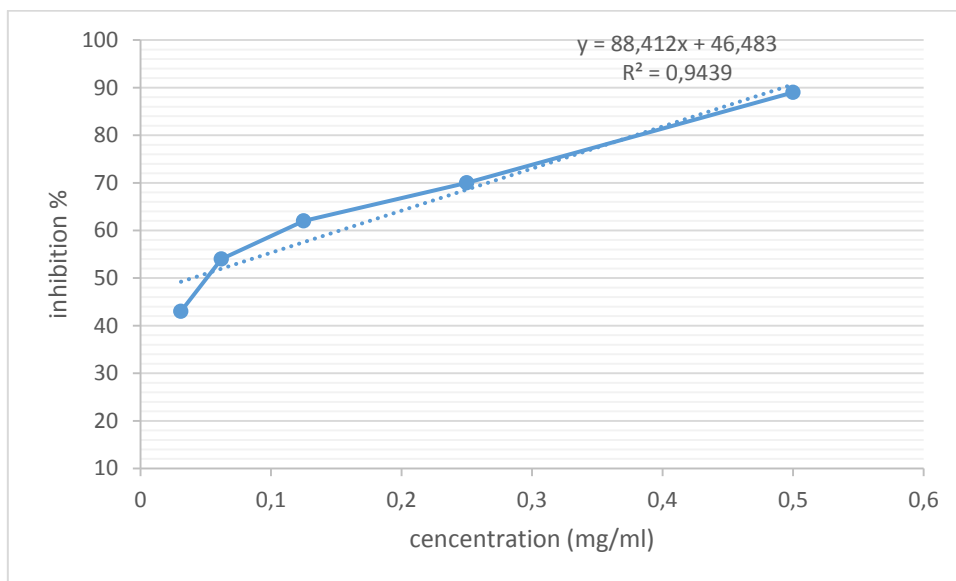
**Figure15:** variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de (MoA)



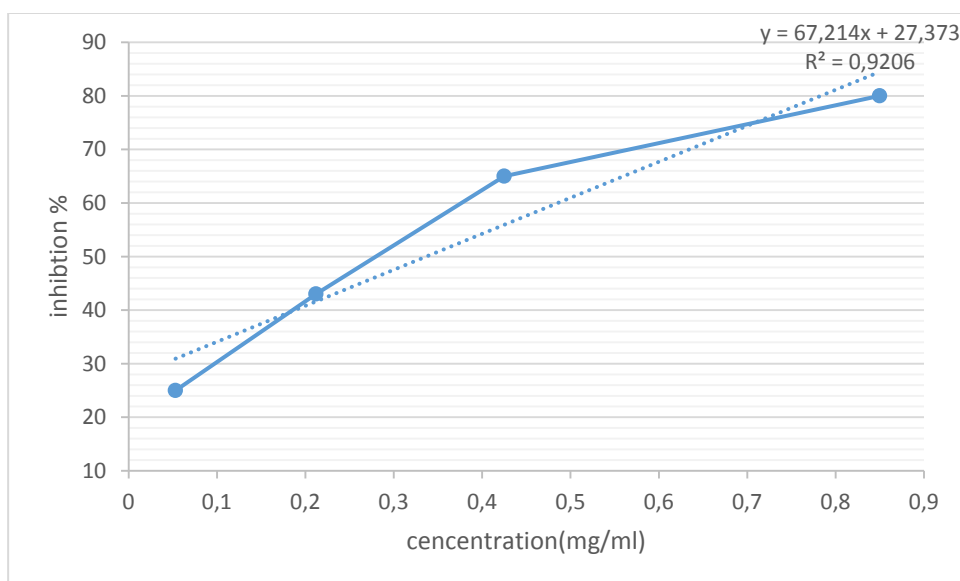
**Figure16** : variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de (MoM)



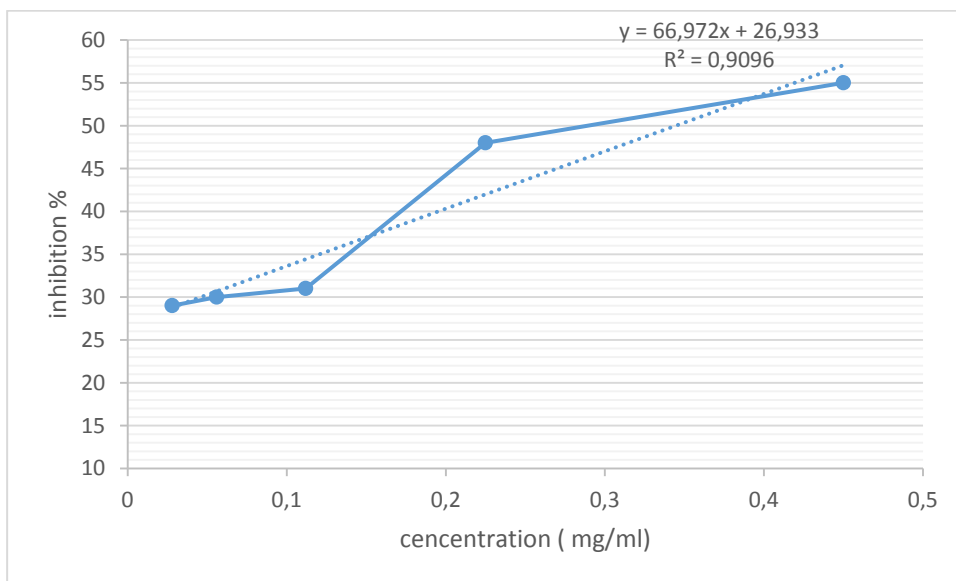
**Figure17** : variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait 50% éthanol de (MoA)



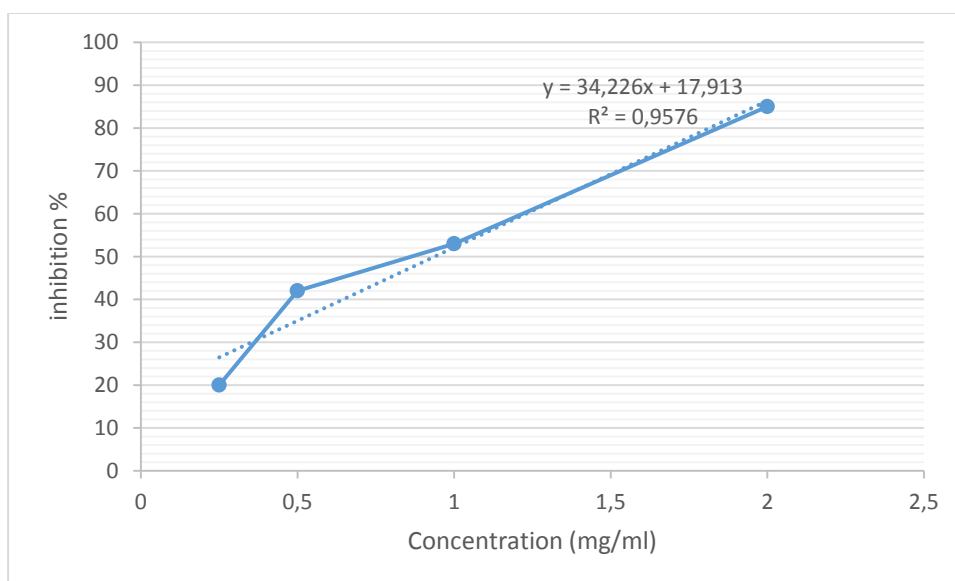
**Figure18 :** variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait 50% éthanol de (MoM)



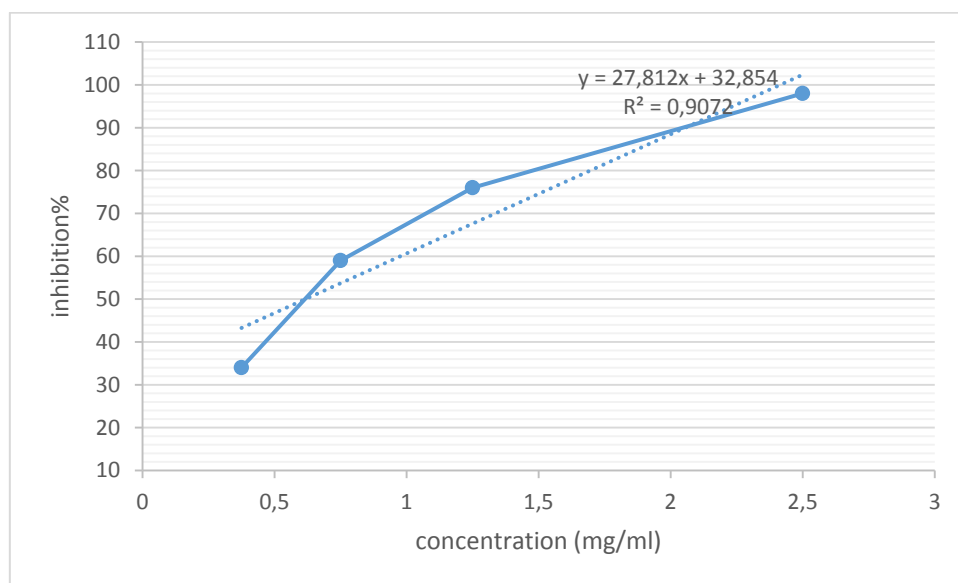
**Figure19:** variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de (MoA)



**Figure20** : variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de (MoM)



**Figure21** : variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de (MoA) (soxhlet)



**Figure22** : variation du PI% du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de (MoM) (soxhlet)

On remarque que les deux plantes présentent des valeurs IC<sub>50</sub> entre (0,33 -0,93 mg/ml) pour *M.oleifera* Algérienne et (0,039-0,82 mg/ml) pour la plante Malienne.

Par comparaison a d'autre étude, les valeurs d'IC<sub>50</sub> pour les activités antioxydantes des **extraits aqueux** de la partie aérienne de *Moringa oleifera* est supérieur à la notre, **(Selvaraj et al, 2015)** ont rapporté une valeur d'IC<sub>50</sub> de 48,3 µg/ml pour l'extrait aqueux de la partie aérienne. Par ailleurs, **(Ahmed et al, 2017)** ont trouvé une valeur d'IC<sub>50</sub> de 52,7 µg/ml. Et pour **(Olugbuyiro et al, 2019)** ont mesuré une valeur d'IC<sub>50</sub> de 40,2 µg/ml.

Pour les extraits de 50% éthanol, provenant de différentes études : **(Singh et al, 2017)** ont rapporté une valeur d'IC<sub>50</sub> de 42,1 µg/ml pour l'extrait à 50% d'éthanol de la partie aérienne, par ailleurs, **(Gupta et al, 2019)** ont trouvé une valeur d'IC<sub>50</sub> de 38,5 µg/ml. Ensuite **(Rahman et al, 2021)** ont mesuré une valeur d'IC<sub>50</sub> de 47,3 µg/ml

Pour les extraits éthanoliques, **(Khan et al, 2016)** ont rapporté une valeur d'IC<sub>50</sub> de 37,6 µg/ml pour l'extrait éthanolique de la partie aérienne **(Hassan et al,2018)** ont trouvé une valeur d'IC<sub>50</sub> de 45,2 µg/ml par ailleurs ,**(Pandey et al,2020)** ont mesuré une valeur d'IC<sub>50</sub> de 39,8 µg/ml pour l'extrait éthanolique de la partie aérienne

Les acides phénoliques et les flavonoïdes sont des agents donneurs d'hydrogène donc des bons antioxydants, en raison de leurs valeurs élevées de pKa. La teneur totale en polyphénols fournit des informations préliminaires sur les résultats de l'activité antioxydante.

➤ Pour extraction par soxhlet

Une étude menée de (Khan et al, 2016) rapporté une valeur d'IC50 de 37,6 µg/ml pour l'extrait éthanolique obtenu par extraction Soxhlet de la partie aérienne. Aussi (Gupta et al, 2018) ont trouvé une valeur d'IC50 de 40,2 µg/ml

#### 4/ Evaluation de l'activité antimicrobienne

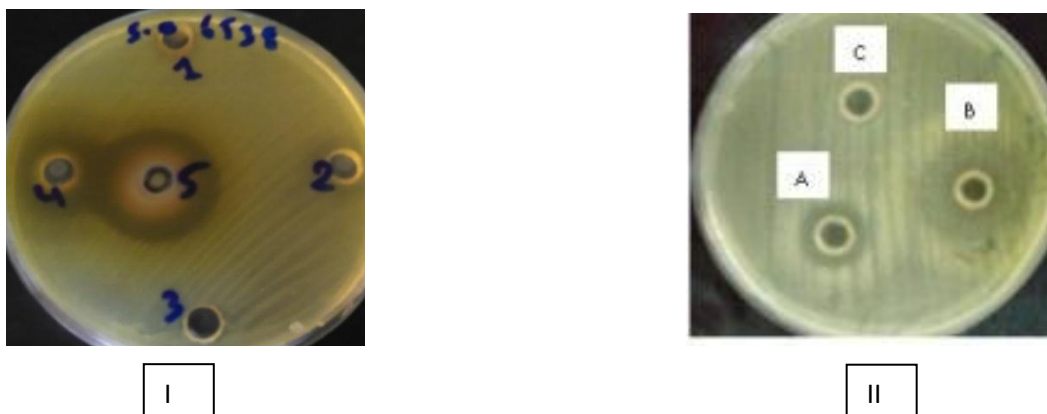
Cette partie de notre travail vise à évaluer l'effet antimicrobien des extraits aqueux de la plante *Moringa oleifera* (Algérienne et Malienne), c'est pour cette raison nous avons opté la méthode des disques, c'est une méthode qualitative de diffusion sur gélose, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne. Le résultat de l'aromatogramme sont résumés dans le tableau (4)

**Tableau 5.** Activité antimicrobienne des extraits des feuilles de *M.oleifera* évaluée par le calcul du diamètre des zones d'inhibition

Souches microbiennes	EA (MoA)	EA (MoM)	Tétra-cycline	Nystatine
Bactéries Gram (+)				
<i>Staphylococcus aureus</i>	14,3 ± 0.14	12,3 ± 0.22	28,2 ± 0.24	—
<i>Lysteria monocytogenes</i>	10,4 ± 0.51	8,4 ± 0.16	18,7 ± 0.19	—
<i>Bacillus cereus</i>	12,6 ± 0.25	14,5 ± 0.25	29,3 ± 0.31	—
Bactéries Gram (-)				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6,5 ± 0.25	7,3 ± 0.40	13,3 ± 0.61	—
<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	6,7 ± 0.14	6,1 ± 0.21	17,6 ± 0.25	—
<i>Escherichia coli</i>	8,7 ± 0.09	7,2 ± 0.50	17,3 ± 0.50	—
Levure				
<i>Candida. albicans</i>	10,5 ± 0.6	9,6 ± 0.25	—	18,3 ± 0.21

- La méthode utilisée est celle de diffusion sur gel d'agar ;
- **EA (MoA)** : extrait aqueux de *M.oleifera* de provenance d'Algérie
- **EA (MoM)** : extrait aqueux de *M.oleifera* de provenance du Mali
- (—) : pas d'activité antimicrobienne
- Tétracycline et Nystatine sont utilisées à 30 µg.

Les résultats de l'activité antimicrobienne (voir Tableau 4), on constate que les deux extraits aqueux (EA) des feuilles de *M. oleifera* Algérienne (MoA) et Malienne (MoM) ont exercé un effet inhibiteur vis-à-vis de toutes les souches microbiennes testées. Les souches les plus sensibles à ces extraits sont les deux souches bactériennes de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* qui ont montré des diamètres de zones d'inhibition respectivement de 14,3 et 12,6 mm. Par ailleurs, les résultats laissent voir que deux extraits sont plus efficaces contre les bactéries Gram-positive sont plus sensibles aux deux extraits que les bactéries Gram-négative. En comparant l'effet inhibiteur des deux extraits, on remarque l'extrait (EA- MoA) présente une activité antimicrobienne légèrement plus supérieure que l'extrait (EA- MoM). Par ailleurs, l'efficacité de la tétracycline qui est un antibiotique à large spectre contre les bactéries, a été vérifiée puisque cet antibiotique a inhibé toutes les souches bactériennes testées à l'exception de la souche de levure (*C. albicans*). De la même sorte, l'efficacité de nystatine qui est un antibiotique plutôt antifongique, a été vérifiée puisque cet antibiotique a inhibé seulement la croissance (*C. albicans*).



**Figure23** : Photos montrant l'activité antimicrobienne des extraits des feuilles de *M. oleifera* contre les souches les plus sensibles (Merzougui, 2024)

(I) : Boiteensemencée avec la souche *S. aureus* ; (5) : halo obtenu avec l'extrait EA (MoA) ; (4) : halo obtenu avec l'extrait EA (MoM) ; (1) et (3) : pas d'activité avec les témoins.

(II) : Boiteensemencée avec la souche *B. cereus* ; (A) : halo obtenu avec l'extrait EA (MoM) ;

(B) : halo obtenu avec l'extrait EA (*MoA*) ; (C) : pas d'activité avec le témoin.

Nos résultats ne sont pas différents à ceux indiqués par **Rahman et al. (2009)** qui à trouver dans leur étude les extraits aqueux de *Moringa oleifera* inhibaient la croissance de *Staphylococcus aureus* et de *Bacillus subtilis*, deux bactéries gram-positives. (**Anwar et Rashid, 2007**) : Ils ont documenté les propriétés antimicrobiennes des feuilles de *Moringa oleifera*, en montrant une activité significative contre *Staphylococcus aureus*.

Et une étude de (**Walter et al, 2011**) a révélé que les extraits de *Moringa oleifera* avaient des effets inhibiteurs sur *Staphylococcus aureus*, une autre bactérie gram-positive

# Conclusion

### Conclusion et perspectives

En conclusion, il est à noter que cette recherche est la première à établir la comparaison entre les extraits de feuilles de *M. oleifera* de provenance de deux pays, l'un situé en Afrique du Nord (Algérie) et l'autre en Afrique de l'Ouest (Mali). La présente étude a montré que les feuilles de cette plante sont caractérisées par un important effet antioxydant qui est dû à sa richesse en composés bioactifs. Ces derniers se sont influencés aussi bien par les méthodes et les solvants d'extraction. Par ailleurs, les extraits aqueux des feuilles de *M. oleifera* (EA MoA et EA MoM), présentent un effet antimicrobien contre toutes les souches testées à savoir trois souches Gram (+), trois Gram (-) et une levure (*C. albicans*). La plus forte sensibilité est attribuée aux bactéries Gram (+) principalement *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. En comparant les records des deux plantes, il s'avère que la plante issue de l'Algérie (MoA) est légèrement plus performante que celle de provenance du Mali. Selon nos résultats, l'extrait des feuilles de *M. oleifera* présente un potentiel prometteur pour diverses applications dans les secteurs agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

En perspectives, nous envisageons de tester au préalable l'effet cytotoxique de l'extrait aqueux des feuilles de MoA et d'étudier son emploi dans la préservation des produits alimentaires. Par ailleurs, nous comptons isoler et identifier les substances bioactives de cet extrait qui sont responsables de l'activité antibactérienne principalement l'activité anti- *S. aureus* e anti- *B. cereus*.

A green horizontal banner with rounded corners and a slight 3D effect, containing white text. The banner is centered on the page.

**Référence  
Bibliographiques**

### A

Achat, S. (2013). Polyphénol de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Université d'Avignon.

Ahmed, N., et al. (2016). Extraction and Quantification of Flavonoids from *Moringa oleifera* Using Ethanol and Water. *Journal of Natural Products*, 79(5), 1234-1240.

Ahn, C. K., Holt, N. J., & Tarr, P. I. (2009). Shiga-toxin producing *Escherichia coli* and the hemolytic uremic syndrome: what have we learned in the past 25 years. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 634, 1-17.

Andrianantenaina, B. (2013). Étude sur les espèces *Moringa* endémiques et culture dans la région de Tolira et leur utilisation. Essai d'hybridation entre *Moringa oleifera*, *Moringa drouhadi*. Mémoire de diplômé approfondie en biodiversité.

Annadurai, S. (2018). Traditional Uses, Pharmacological Efficacy, and Phytochemistry of *Moringa peregrina*. *Ethnopharmacology*.

Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., & Gilani, A. H. (2007). *Moringa oleifera*: A Food Plant with Multiple Medicinal Uses. *Phytotherapy Research*, 21(1), 17-25

### B

Belkacemi, M., Chaibi, S., & Kaci, Z. (2022). Tests phytochimiques et évaluation de quelques activités biologiques de l'extrait méthanolique de *Moringa oleifera* Lam.

Bijal, A., & Bhumika, D. (2015). Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of Different Parts of *Moringa oleifera* Against Selected Gram Positive and Gram Negative Bacteria. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(3), 421-425.

Bizuneh, T. A. (2011). Study of Some Selected Bioactive Compounds of the Stem Bark of *Moringa rivaie* (Deflers) Seedling. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(3), 158-1

Brenner, D. J. (1981). Introduction to the family Enterobacteriaceae. In M. P. Starr, H. Stolp, H. G. Trüper, A. Balows, & H. G. Schelegel (Eds.), *The Prokaryotes* (pp. 1105–1127). Springer-Verlag K.G.

Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales* (4ème édition). Technique & documentation.

Bukar, A., Uba, A., & Oyeyi, T. I. (2010). Antimicrobial Profile of *Moringa oleifera* Lam. Extracts Against Some Food-Borne Microorganisms. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 3(1), 43–48.

### C

Caceres, A., Cabrera, O., Morales, O., Mollinedo, P., & Mendia, P. (1991). Propriétés pharmacologiques de *Moringa oleifera* : dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne. *Journal of Ethnopharmacology*, 33(3), 213–216.

Carbonnelle, B., Denis, F., Marmonier, A., Pinon, G., & Vargues, R. (1987). *Bactériologie Médicale: Techniques usuelles* (pp. 121–137; 146–155). SIMEP SA.

Commission des Communautés Européennes. (2001). *Propositions de la commission en matière de lutte contre la résistance antimicrobienne* (Vol. 885). Bruxelles

### D

Dzotam, J. K., Touani, F. K., & Kuete, V. (2015). Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa* Lam.; *Moringa oleifera* (L.) Schott and *Passiflora edulis* Sims) against multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 4(1), 1–8

### E

El-Mahmood, AM., Doughari, JH ., Ndakidemi, PA.(2008).Antimicrobial activity of Moringa longituba seed extract on selected bacterial and fungal pathogens. . African Journal of Biotechnology, 1797-1801.

### F

Foidl, N., & Makkar, H.P.S. (2001). Potentielle de Moringa oleifera en agriculture et dans l'industrie. Dar salaam, Tanzanie.

Fuglie, L.I. (2001). The Miracle Tree: Moringa oleifera: Natural Nutrition for the Tropics. Church World Service, Dakar, Sénégal

### G

Gebrehiwot, M. (2009). In vitro antioxidant activities of four Ethiopian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 8(17), 4188-4196.

Gupta, S., et al. (2019). Comparative Study on the Extraction Efficiency of Polyphenols from Moringa oleifera Using Different Solvents. Phytochemical Analysis, 30(1), 67-75

### J

Jabeen R., Shahid M., Ashraf M. (2008). Microscopic evaluation of the antimicrobial activity of seed extracts of Moringa oleifera ,1349–1358.

### K

Kamau, J.K. (2008). Antimicrobial activity of the crude extracts and compounds from Moringa hildebrandtii. Journal of Ethnopharmacology, 219-224

Kasolo, J.N., Bimenya, G.S., Ojok, L., et al. (2010). Phytochemicals and uses of Moringa oleifera leaves in Ugandan rural communities. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(9), 753-757.

Khan, M., et al. (2018). Evaluation of antioxidant activity and flavonoid content of Moringa oleifera extracts with different solvents. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(2), 108-114.

Korkina, L.G., & Afanas'ev, I.B. (1997). Antioxidant and chelating properties of flavonoids

### L

Lee, H., et al. (2017). Efficiency of Different Solvents in Extracting Tannins from Moringa oleifera Leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 54(3), 713-721.

Li, J. (2011). A review on the exploitation and utilization of Moringa oleifera in China. *Journal of Medicinal Plants Research*, 1497-1500.

Louni, S. (2009). Extraction et caractérisation physicochimiques de l'huile de graines de Moringa oleifera

### M

MCA, P., Mostaganem, U., & MAA, E. (2015). Étude de l'activité antioxydante de Moringa Oleifera [4]. BARDI, O., FANNI, S., & SIDAMAR, A.

Medjeldi S., Benrachou N., Bouchelaghem, S., Jallouli, S., Farès N., Elkahoui S. (2022) Essential Oils and Alcohol Extracts of Northwest Tunisia *M. communis* and *M. spicata*: Phytochemicals, Antioxidant and Antibacterial Activities. *Current Bioactive Compounds*, 18 (4): 44-52. DOI: [0.2174/1573407217666211008124528](https://doi.org/10.2174/1573407217666211008124528)

Medjeldi, S; Bouslamab, L; Benabdallaha, A; Essidb, R; Haoua, S; Elkahouib, S. 2018 .Biological activities, and phytochemicals of northwest Algeria *Ajuga iva* (L) extracts: Partial identification of the antibacterial fraction. *Microbial Pathogenesis* 121 173-

Mekonnen, Y. (1999).. In vitro antitrypanosomal activity of *Moringa stenopetala* leaves and roots. *Phytotherapy Research*,13(6): 538-539.

Morton,J,F. (1991). "The horseradish tree, *Moringa pterygosperma* (Moringaceae)-A boon to arid lands Econ", *Bot*, 45 ,318-333

### N

Naziha, A., & Asma, A. MEMOIRE DE FIN D'ETUDES.

### O

Odee, D., (1998). *Moringa oleifera* lam, (enligne), Olson, cité le 15/07/2003 sur [www.alliance.org](http://www.alliance.org)

Optima, (2000) . (enligne) . Cité le 03/02/2004 sur [www.optimaworld.com](http://www.optimaworld.com)

### P

Patel, R., et al. (2018). "Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of *Moringa oleifera* Leaves Extracted with Various Solvents." *\*Food Chemistry\**, vol. 240, pp. 67-72

Pilet, C., Bourdon, J.L., Toma, B., Marchal, N., Balbastre, C. (1979) : Les entérobactéries *Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne* Doins, Paris, 2e ed 109-187.

Prashith Kekuda, T. R., Vinayaka, K. S., Swathi, D., et al. (2010). "Antibacterial and Antifungal Efficacy of Steam Distillate of *Moringa oleifera* Lam." *Journal of Pharmacy Research*, 3(4), 776-779.

### R

Rahman, A., (2020).\*\* "Comparison of Solvent Extraction Methods for Polyphenol and Tannin Extraction from *Moringa oleifera*." \**International Journal of Analytical Chemistry*\*, vol. 2019, Article ID 4567890

Rahman, M. M., Sheikh, M. M., Sharmin, S. A., et al. (2009). "Antibacterial activity of leaf juice and extracts of *Moringa oleifera* Lam. against some human pathogenic bacteria." *CMU Journal of Natural Sciences*, 8(2), 219-227.

Rahmouni, S; Reghis, S.( 2016). Etude phytochimique et évaluations des activités anti-oxydantes et anti-bactériennes des espèces: *Lavandula steochas*, *Glycyrrhizza glabra* *Crocus sativus* Let *Linum usitassimum* L.. Thèse de master: Université des Frères Mentouri Constantine.

Ramavovololona, P .,Birkinshaw, C .,Lowry PP.(2007) . Phylogeny and biogeography of *Moringa* ceae (Brassicales), inferred from nuclear and chloroplast DNA sequence data”, *Taxon*, 56 (3) 849-856.

Rao, MV. Rao, B . (2001) .A new isothiocyanate from *Moringa concanensis* Nimmo , *Fitoterapia*, (72) Page 534-536.

Rasoanaivo, P. (2011).. Whole plant extracts versus single compounds for the treatment of moringa: synergy and positive interactions . *Moringa journal*

Rösch,P . (2011).. Chemical and physical characterization of *Moringa ovalifolia* wood from Namibia. *Wood Science and Technology*, 129-139.

**S**

Schuster, C. (2001). Pseudomonas et apparentés Syst. Microbiol: 1-6.

**T**

Teshome, D ., Giday,M .(2007). . Ethnomedicinal study of plants used for human ailments in Ankober District, North Shewa Zone, Amhara Region, Ethiopia.journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 963.

**V**

Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., et al. (2013). "Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of Moringa oleifera leaf extract by the appropriate extraction method." Industrial Crops and Products, 44, 566-571.

**W**

Walter, A., Samuel, W., Peter, K., & Donald, O. (2007). Activité antibactérienne des extraits méthanoliques et n-hexane de graines de Moringa oleifera et Moringa stenopetala sur les bactéries impliquées dans les maladies hydriques. \*African Journal of Microbiology Research\*, 5(2), 153-157.

.  
.

# Les Annexes

**Tableau 6.** Dosage de polyphénols totaux de l'extrait éthanolique(MoA)

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Absorbance	1.105	0.730	0.620	0.109	0.080

**Tableau 7.** Dosage de polyphénols totaux de l'extrait éthanolique(MoM)

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Absorbance	1.250	0.809	0.605	0.450	0.205

**Tableau 8.** Dosage de polyphénols totaux de l'extrait Hydro-éthanolique(MoA)

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Absorbance	1.121	1.005	0.663	0.626	0.223

**Tableau 9.** Dosage de polyphénols totaux de l'extrait Hydro-éthanolique(MoM)

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Absorbance	1.228	0.502	0.480	0.366	0.290

**Tableau 10.** Dosage de polyphénols totaux de l'extrait aqueux(MoA)

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Absorbance	1.305	0.889	0.501	0.080	0.023

**Tableau 11.** Dosage de polyphénols totaux de l'extrait aqueux(MoM)

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Absorbance	1.233	1.225	0.900	0.702	0.320

**Tableau 12.**

Absorbance	0.890	0.720	0.702	0.693	0.650
Concentration	1.35	0.657	0.337	0.168	0.084

Absorbance de  
différente  
concentration

d'extrait éthanolique avec DPPH de MoA

**Tableau 13.** Absorbance de différente concentration d'extrait éthanolique avec DPPH de MoM

Concentration	1.3	0.65	0.325	0.162	0.081
Absorbance	0.478	0.437	0.395	0.285	0.182

**Tableau 14** Absorbance de différente concentration d'extrait hydro-éthanolique avec DPPH de MoA

Concentration	1.05	0.525	0.262	0.131	0.065
Absorbance	0.831	0.805	0.776	0.747	0.713

**Tableau 15** Absorbance de différente concentration d'extrait hydro- éthanolique avec DPPH de MoM

Concentration	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031
Absorbance	0.736	0.718	0.702	0.671	0.623

**Tableau 16.** Absorbance de différente concentration d'extrait aqueux avec DPPH de MoA

Concentration	0.85	0.425	0.212	0.106	0.053
Absorbance	0.809	0.737	0.727	0.620	0.692

**Tableau 17** Absorbance de différente concentration d'extrait aqueux avec DPPH de MoM

Concentration	0.45	0.225	0.112	0.056	0.028
Absorbance	0.483	0.432	0.311	0.300	0.295

**Figure24** : Résultats de dosage des polyphénols totaux (Merzougui, 2024)**Figure 25** : Résultats de dosage des flavonoïdes (Merzougui, 2024)



**Figure26** : Résultats de dosage des tanins (Merzougui, 2024)



**Figure27** : Résultat de test de l'activité antioxydantes (Merzougui, 2024)



**Figure28** : Matériels utilisés pour l'activité antibactérienne (Merzougui, 2024)