

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE Science Alimentaire

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BOUKELLAL Naim et BOUKOULLA Hafid

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCE ALIMENTAIRE

Spécialité : Nutrition et Pathologie.

THÈME

**Étude de l'activité antioxydante de
*Moringa oleifera***

Soutenue publiquement le 16/09/2021

DEVANT LE JURY

Président	Mr A. CHAALEL	Grade	MCA	U. Mostaganem
Encadreur	Mme N. BOUKEZZOULA	Grade	MAA	U. Mostaganem
Examineur	Melle I. YAHLA	Grade	MCB	U. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire des Microorganismes bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS)

Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir données la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Nous adressons, notre profonde gratitude et tout notre amour à nos parents, nos sœurs et frères, qui ont su nous faire confiance

et

nous soutenir en toutes circonstances,

Nous tenons particulièrement à remercier notre promoteur, Dr N. Boukezzoula, Professeur à l'université de Mostaganem, département -des sciences alimentaires- pour avoir accepté la charge d'être rapporteur de ce mémoire, nous le remercions pour sa disponibilité, ses pertinents conseils sa patience et pour les efforts qu'il a consenti durant la réalisation de ce mémoire. Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre respect.

Nous voudrions remercier Melle M. Lakehal et Melle K. Bentiba, nous ne saurons jamais les remercier assez pour leur aide, disponibilité, soutien et sympathie.

Dédicaces

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

Je dédie du plus fond de mon cœur ce manuscrit :

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

À ma chère mère qui a toujours été là pour moi, je la remercie pour ces encouragements et son soutien.

. À mes meilleurs amies avec qui j' ai passé mes plus belles années

À ceux qui m' aiment.

À mon binôme Naim , elle m' a supporté tout le long de ce travail et à qui je souhaite tout le bonheur du monde et de la réussite.

À sa famille et à ces amies.

À tous mes ami(e)s.

À tous les gens de ma promotion NP (2020_2021), enseignants et étudiants.

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

Hafid

Dédicaces

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

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

À mon très cher binôme Hafid avec laquelle j'ai partagé ce travail.

À sa famille et à ces amies.

À tous ceux qui me connaissent.

À tous les étudiants de promotions NP 2020/2021

Naim

- **Liste des abréviations**

% : Pourcentage

Abs : Absorbance

Abs C : Absorbance du contrôle

Abs Ech : Absorbance Échantillon

Ac Asco : Acide ascorbique

AG : Acide galique

CMI : Concentration minimal inhibitrice

DPPH : 1,1 diphényle-2-picryl hydrazyle

ED : Eau distillée

Ech : Echantillon

M. oleifera : *Moringa oleifera*

PTS : Phénols totaux soluble.

Q : Quercétine

- **Liste des figures :**

Figure 01 : Préparation géographique de la Morinaga

Figure 02 : Différente partie de la Morinaga

Figure 03 : Utilisation des gousses de la Morinaga

Figure 04 : Protocole de macération

Figure 05 : Dosage de poly phénol totaux

Figure 06 : Etalonnage de quercitrine

Figure 07 : Dosage de Flavonoïde

Figure 08 : Réduction du radical DPPH

Figure 09 : La courbe de concentration de AG

Figure 10 : La courbe de concentration Q

Figure 11 : Effet antiradicalaire des extraits eau-méthanol de *Moringa oleifera*

sur la réduction du DPPH effet de l'acide ascorbique.

- **Listes des tableaux :**

Tableau 01 : Les systématiques de la *Moringa oleifera*

Tableau 02 : Les activités biologiques des composés phénoliques

Tableau 03 : Teneurs en Phénols totaux, et en flavonoïdes de la *Moringa oleifera*

- **Résumé :**

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

Ce travail est une contribution à l'étude de la teneur en polyphénols totaux et les flavonoïdes et d'évaluer l'activité antioxydant par la méthode de DPPH, les phénols totaux ont été déterminé par la méthode de réactif Folin-Ciocalteu et les flavonoïdes par la méthode au chlorure d'aluminium.

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

- **Abstract :**

Moringa oleifera is a tree belonging to the Moringaceae family, native to India. Is a plant of nutritional and medicinal interest, which is found in tropical regions. This work was devoted on the one hand to a chemical characterization of extracts from *M. oleifera* leaves: extractions, assays of phenolic compounds (total phenols, flavonoids), demonstration of certain secondary metabolism (saponins, alkaloids, terpenoids and tannins). On the other hand, the determination of antioxidant activity (anti-free radical activity, reducing power).

This work is a contribution to the study of the content of total polyphenols and flavonoids and to evaluate the antioxidant activity by the method of DPPH, the total phenols were determined by the method of Folin-Ciocalteu reagent and the flavonoids by the aluminum chloride method.

Key words: *Moringa oleifera*, antioxidant activity, phenolic compound, leaf. flavonoids, DPPH.

- **Sommaires :**

- I. Introduction
 - II. Chapitre 01 Partie Bibliographie : Préparation de plantes
 - 1 – Historiques et généralité
 - 2 – Systématiques et nomenclature
 - 3 – Description botanique de la Morinaga
 - 4 – Valeurs Nutritives et usage
 - a. Composition chimique
 - b. Importance Alimentaire
 - c. Vertus thérapeutique
 - d. Utilisation médicinales
 - e. Utilisation industriel
 - f. Autres utilisation
 - III. Chapitre 02 Métabolisme secondaire
 - a. Composés phénoliques
 - i. Classification des composés phénolique
 - ii. Propriétés des composés phénoliques
 - 1 Propriétés physico-chimiques
 - 2 Propriétés biologique
 - a. Activité antioxydant
 - IV. Chapitre 03 Matériels et les méthodes
 - a. . Matériel végétal
 - i. Origine des feuilles
 - ii. Préparation des échantillons
 - b. Détermination du rendements d'extraction
 - c. Dosages colorimétriques
 - 1 Dosage des phénols totaux solubles
 - 2 Dosage des flavonoïdes
 - d. Activité antioxydant
 - i. Activité anti-radicalaire
 - V. Chapitre 04 Résultats et discussions
 - i. Résultats
 - ii. Discussion
- Conclusion
- Listes des références

I. Introduction :

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

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

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

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

L'objectif de notre étude est d'estimer la teneur des composés phénoliques et flavonoïdes dans la plante *Moringa oleifera* qui sont les florissantes, ensuite d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits phénoliques de la plante étudiée

Ce travail est subdivisé en quatre chapitres :

- Chapitre I : Généralités sur *Moringa oleifera*
- Chapitre II : Métabolites secondaires
- Chapitre III : Matériel et méthodes
- Chapitre IV : Résultats et discussions

- **Chapitre I :**
• **Partie bibliographique**

i. Présentation de la plante :

1 – Historique et généralité :

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

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



Figure 1: Répartition géographique de *Moringa oleifera*.

2. Systématique et nomenclature :

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

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

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

Tableau 1: La systématique de *Moringa oleifera*.

3. Description botanique de *Moringa oleifera* :

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

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

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



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

4. Valeurs nutritives et usages :

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

4.a. Composition chimique :

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

b. Importance Alimentaire :

Les feuilles peuvent se consommer fraîches ou en poudre (Broin, 2005) et même associées aux épices comme le piment. Elles peuvent également être préparées en soupe ou en salade. Les jeunes gousses vertes (Fig.3) peuvent être consommées bouillies comme des haricots (Foidl *et al.*, 2001).



Figure 3 : Utilisation des gousses de *Moringa oleifera* en alimentation humaine.

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

c. Vertus thérapeutiques :

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

d. Utilisation médicinale :

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

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

e. Utilisation industriel :

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

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

f. Autres utilisations :

Les graines de *M. oleifera* contiennent un poly électrolyte cationique qui a montré son efficacité dans le traitement primaire de l'eau (élimination de la turbidité), en remplacement du sulfate d'alumine ou d'autres flocculant (Lea, 2010). Elles sont aussi utilisées comme polypeptides naturels non toxiques qui neutralisent les matières colloïdales et provoquent la sédimentation des particules minérales et organiques (Foidl *et al.*, 2001). *M. oleifera* possède d'autres pouvoirs; ses graines sont utilisées pour purifier le lait et le miel. En raison de sa teneur en composés phytohormones de type cytokinines. Elle peut être utilisé comme un engrais pour activer la croissance des arbres et les rendements des plantes (Pamo Tendonkeng *et al.*, 2002 ; Gnangle *et al.*, 2010).

I. Métabolites secondaires :

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

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

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

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

II.1. Composés phénoliques :

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

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

II.1.1. Classification des composés phénoliques :

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

II.1.2. Propriétés des composés phénoliques :

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

a. Propriétés physico-chimiques :

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

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

Flavonoïde :

L'expression flavonoïde a été introduite en 1952 par Geissman et Hinreiner pour désigner les pigments ayant un squelette (C6-C3-C6), provenant du mot latin flavus qui signifie jaune (Bouakaz, 2006). Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes.

que 2 % environ du carbone organique photo-synthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, est converti en flavonoïdes (Lhuillier, 2007). Les plus couramment vendus ou utilisés en tant que compléments alimentaires. La vanilline et l'acide vanillique, le resveratrol, l'acide ellagique, les curcumine, stilbène, epigallocatechine gallate et la Quercétine (Ferguson, 2001).

L'intérêt nutritionnel pour les flavonoïdes date de la découverte de la vitamine C, à la suite des travaux de Szent Gyorgyi en 1938. Le scorbut expérimental cède à l'ingestion de jus d'agrumes mais résiste à la seule administration d'acide ascorbique. Plus pratiquement, les symptômes hémorragiques du scorbut liés à la fragilité des vaisseaux sont guéris par des extraits de Paprika et du jus de citron alors que l'acide ascorbique seul est inefficace. Les analyses chimiques ont montré que la fraction active était de nature flavonoïque.

Cette action des flavonoïdes sur la perméabilité vasculaire a été appelée propriété vitaminique P (P étant la première lettre du mot perméabilité). Cette notion de vitamine P n'existe plus à l'heure actuelle puisqu'elle ne correspond pas à la définition classique des vitamines. Ils sont considérés comme des micronutriments importants puisqu'ils peuvent jouer des rôles antioxydants ou posséder des propriétés biologiques diverses (Milane, 2004).

De plus les flavonoïdes ont un rôle de filtre contre le rayonnement UV ; ce qui explique leur localisation dans les tissus externes (Gould et Lister ; 2006). Enfin les flavonoïdes comme les dérivées hydroxycinnamique jouent un rôle important dans la résistance des plantes aux stress environnementaux (Walton et Brown, 1999)

b. Propriétés biologiques :

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

c. Activité antioxydante :

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

L'activité antioxydante des composés phénoliques est due à leur capacité à piéger les radicaux libres, donner l'atome d'hydrogène et un électron et de chélater les cations métalliques. La structure des composés phénoliques est l'élément déterminant de leur activité

(Balasundram *et al.*, 2006). Pour les flavonoïdes, la relation structure activité antioxydant est généralement plus compliquée que les acides phénoliques à cause de la complexité de la molécule de flavonoïdes (Bors *et al.*, 1997).

a. Autres propriétés des composés phénoliques :

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

Tableau 2 : Les activités biologiques des composés phénoliques (Bahorun, 1997).

Polyphénols	Activités
Acides phénols	Antibactériennes Antifongiques Antioxydants
Coumarines	Protectrices vasculaire Anti-oedémateuses
Flavonoides	Anti tumorales Anti carcinogènes Anti inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Anti oxydantes
Anthocyaness	Protectrices capillaire et veineuse
Pronthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Anti oxydantes Anti tumorales Anti fongiques Anti-inflammatoires
Tannins galliques et cartéchiqes	Anti-oxydantes

2. Les alcaloïdes :

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

Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques (Muniz, 2006). Ils constituent un des plus grands

groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12000 différentes structures. Les alcaloïdes ont plusieurs applications pharmaceutiques chez l'Homme : antalgiques (morphine, codéine), spasmolytiques (tubocurarine et papaverine) et antitussifs (codéine) (Stöckigt *et al.*, 2002).

3. Les terpènes :

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

Chapitre 03 : Matériel et Méthodes

a.i. Origine des feuilles :

a.ii. Préparation des échantillons :

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

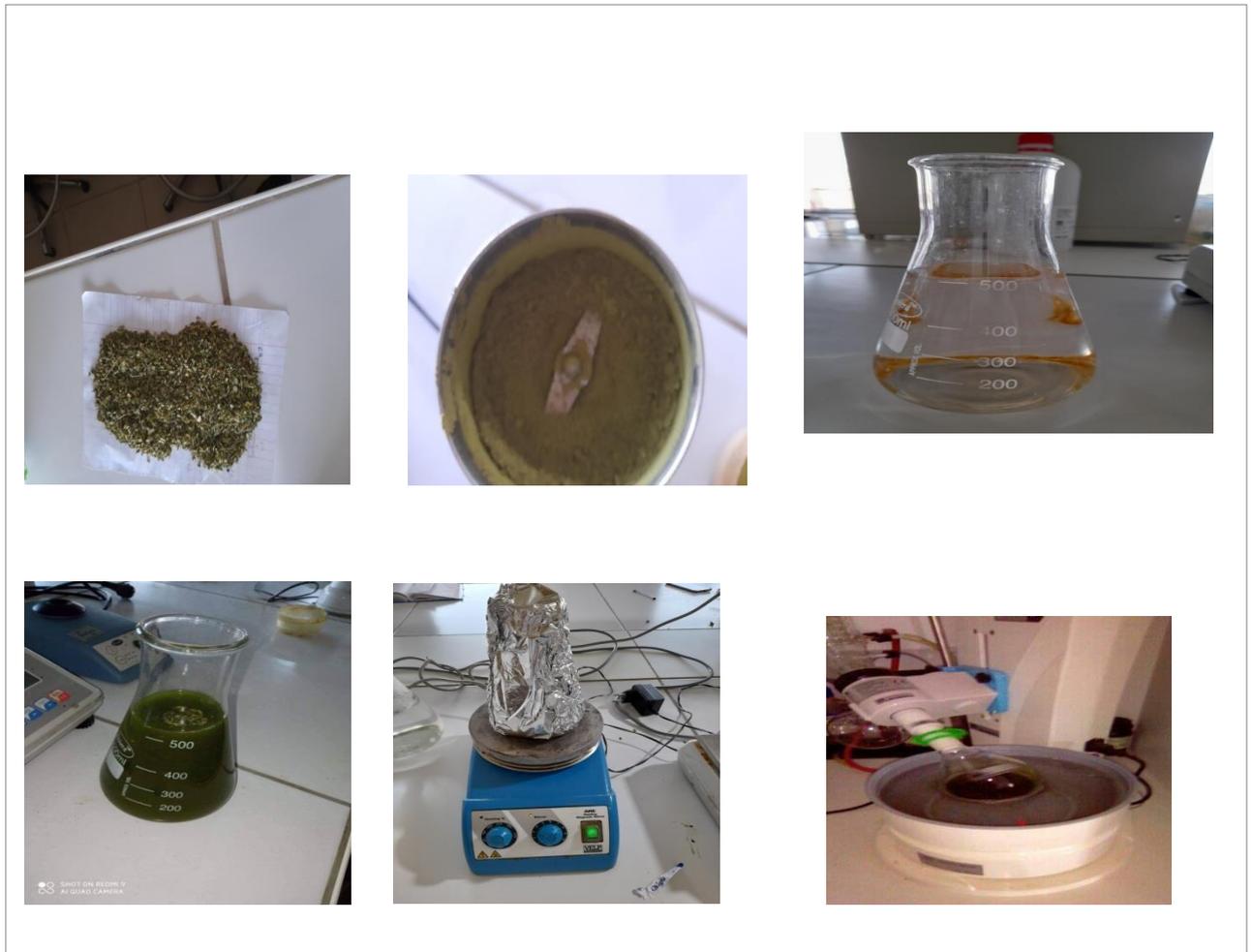


Figure 4: Protocole de macération.

- B. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction est déterminé par le rapport entre la masse des polyphénols extraits et la masse de la matière première végétale traitée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

P1 : poids du ballon après évaporation ;

P2 : poids du ballon avant évaporation ;

P3 : poids de la matière végétale de départ

C. Dosages colorimétriques :

C.1. Dosage des phénols totaux solubles :

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

100ul de notre extrait est additionnée à 1500ul de réactif Folin-Ciocalteu sont ajoutés. Après 5 minutes 1500 µl de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) sont additionnés.

Le mélange est agité et incubé à l'obscurité 2h à température ambiante. L'absorbance a été mesuré à 765 nm.

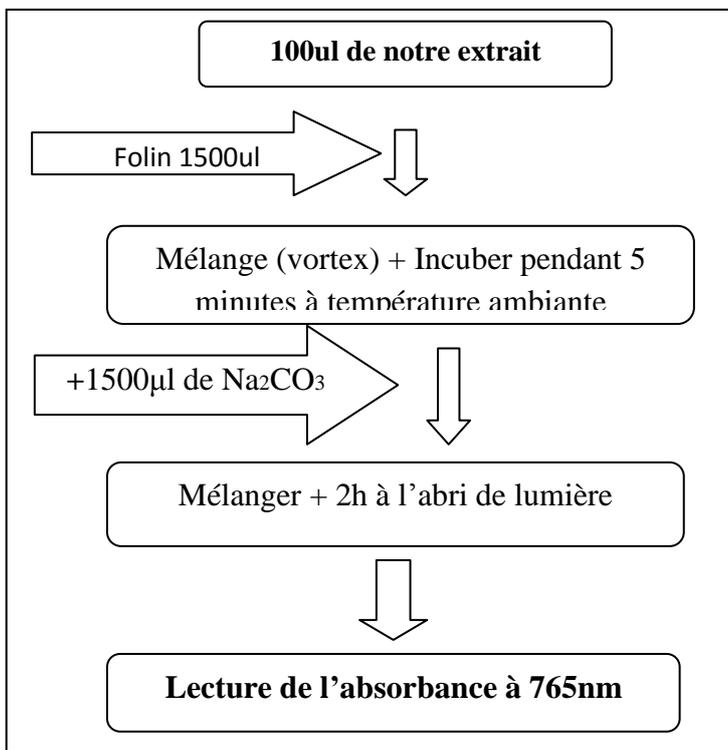


Figure 05 : Dosage de poly phénol totaux



Figure 6: Etalonnage.

C.2. Dosage des flavonoïdes :

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

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

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de Djeridane *et al.* (2006). Le dosage est réalisé par l'addition de 1ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium hydraté ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) à 2% à 1ml d'extrait. Le mélange est laissé pendant 10 minutes à l'obscurité et à température ambiante après avoir été vigoureusement agité. L'absorbance est mesurée à 430 nm contre un blanc. Les concentrations sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine . Les résultats sont exprimés en équivalent de quercétine (mg EQ/g Ech).

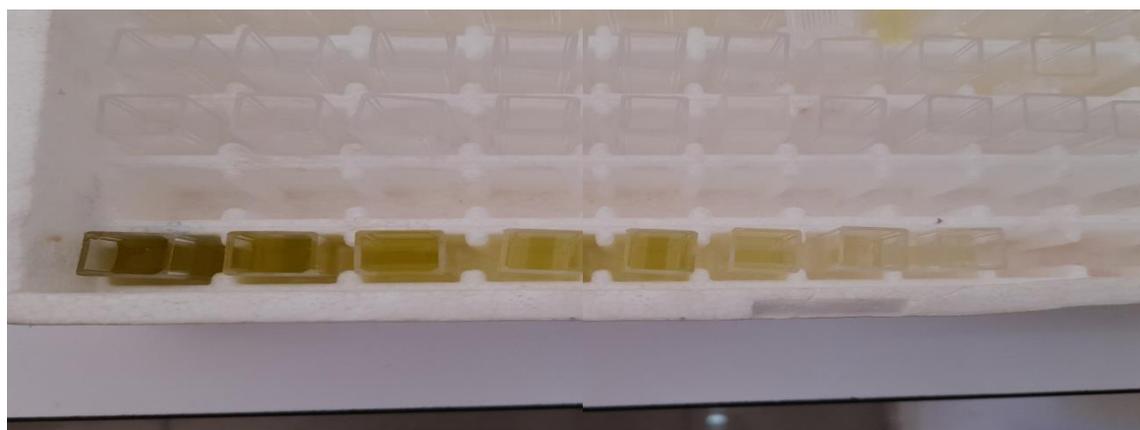


Figure 7: Dosage de flavonoïdes.

- Courbe d'étalonnage de la quercétine

La courbe d'étalonnage est effectuée par quercétine à différentes concentrations de 2 à 20 µg/l, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalents de quercétine par gramme de matière végétale fraîche.

d. Activité antioxydante

d- i- Activité anti-radicalaire :

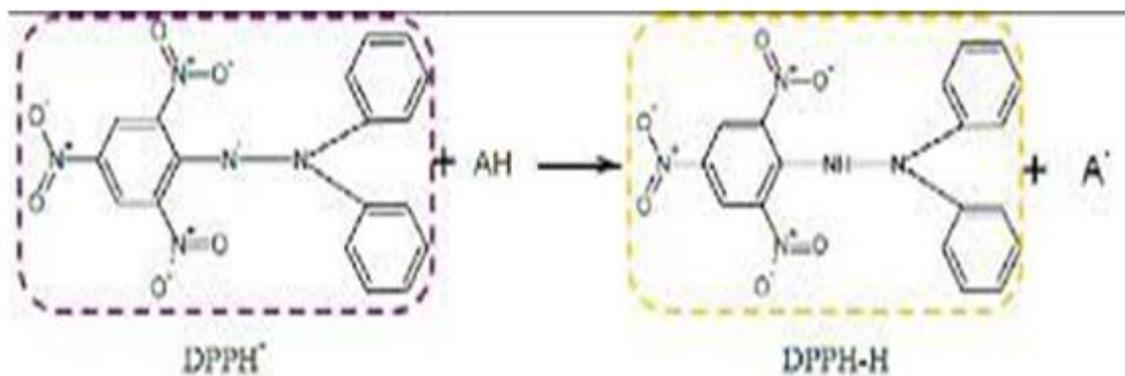


Figure 8 : Réduction du radical DPPH° (Haddouchi *et al.*, 2016).

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (2, 2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), de formule brute (C₁₈H₁₂N₅O₆) le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert du radical H sur le DPPH (mauve) qui sera transformé en une molécule neutre et stable DPPH-H (jaune). La réduction du DPPH en DPPH-H se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH mesurable par spectrophotométrie de 515-518 nm (Popovici *et al.*, 2010).

i - Préparation du DPPH :

4 mg de DPPH est dissoute (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) est dissoute dans 100ml du méthanol pure (CH₃-OH) pour obtenir une solution de DPPH.

□ Préparation des échantillons

On a fait la dilution successive de l'extrait : 1mg/ml \longrightarrow 0.0039 mg/ml

Dilutions méthanoïque, après on ajoute DPPH 2.5 ml

Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de lumière à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture de la densité optique à 518nm. On prépare des solutions d'acide ascorbique de différentes concentrations et le même protocole que pour les échantillons est réalisé.

Chapitre 04 : Résultats et discussions

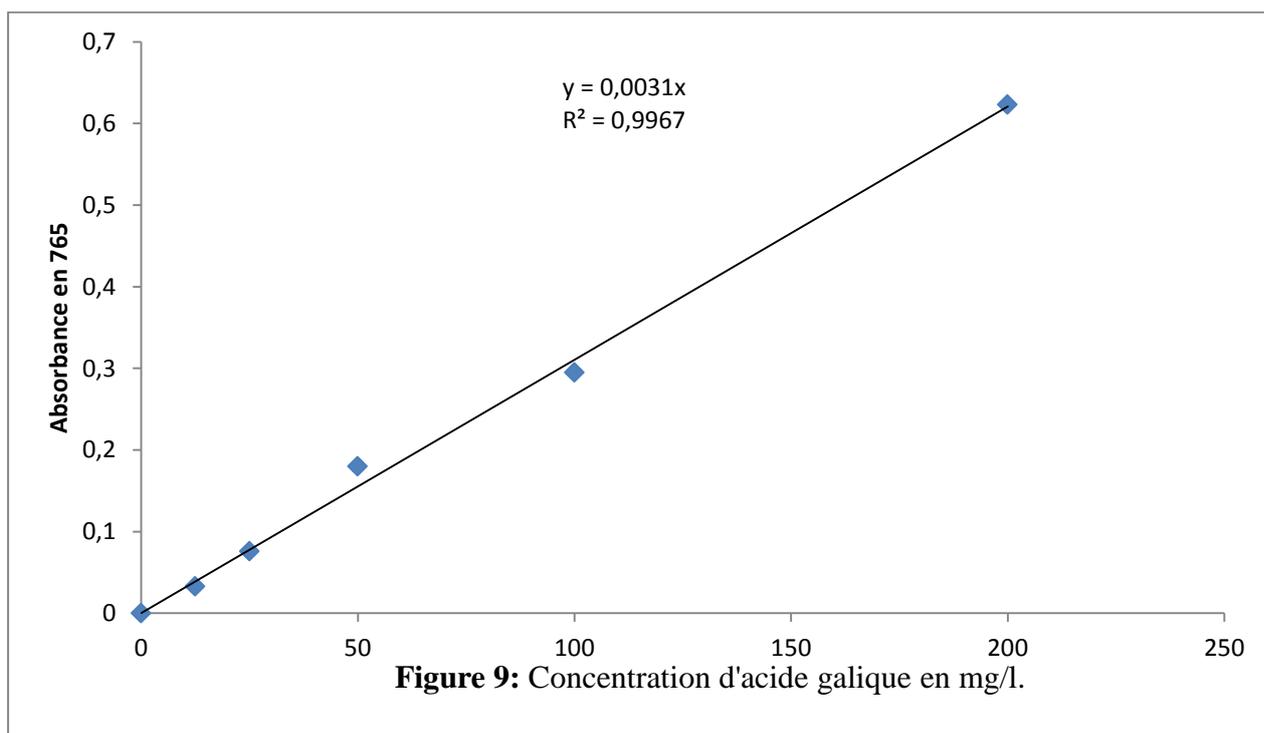
a. Teneurs en composés phénoliques :

- La teneur en Polyphénols totaux dans l'extrait eau-méthanol est déterminée à partir des équations de la régression linéaire de courbe d'étalonnage exprimées en μg . Eq acide gallique par mg d'extrait.

ABS

MO= 0,265

Phénols= 88,33 mg EAG/g d'extrait



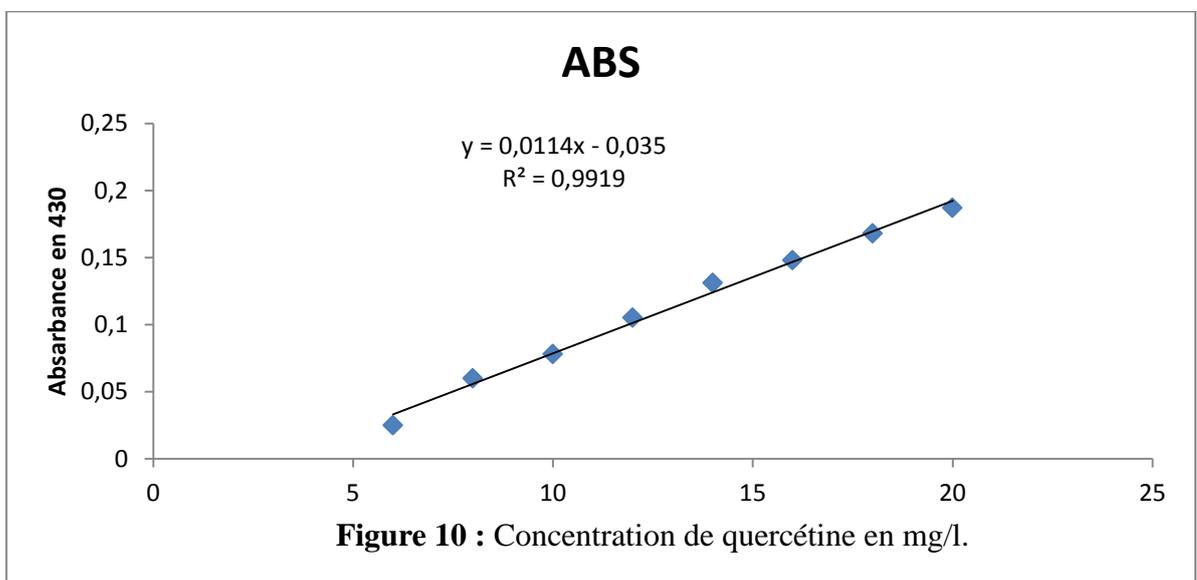
b. Teneur en flavonoïdes :

Équations de la régression linéaire de courbe d'étalonnage exprimées en µg. Eq Quercétine par mg d'extrait.

ABS

MO= 0,507

Flavonoïdes= 49,27 mg EQ/g d'extrait



	Phénols totaux (µg EA/mg extrait)	Flavonoïdes (µg EQ/mg extrait)
Extrait Brut	88.33	49.27

Tableau 03: Teneurs en Phénols totaux, et en flavonoïdes de la *Morinaga oleifera*

c. Test de réduction du radical stable le DPPH :

- Calcul des pourcentages d'inhibitions I%

Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

- $I\% = ((Ac - At) / Ac) * 100$
- **Ac** : absorbance du contrôle.
- **At** : absorbance du test effectué.

Evaluation de l'IC50

L'**IC50** est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée.

La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, est calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extrait préparé.

La concentration de l'acide ascorbique qui inhibe 50% du DPPH (IC50) est évaluée graphiquement à (1µg/ml). L'acide ascorbique présente donc un faible (IC50), ce qui est en accord avec le pouvoir anti radicalaire élevé obtenu.

$$IC50 = 3,47 \text{ mg}$$

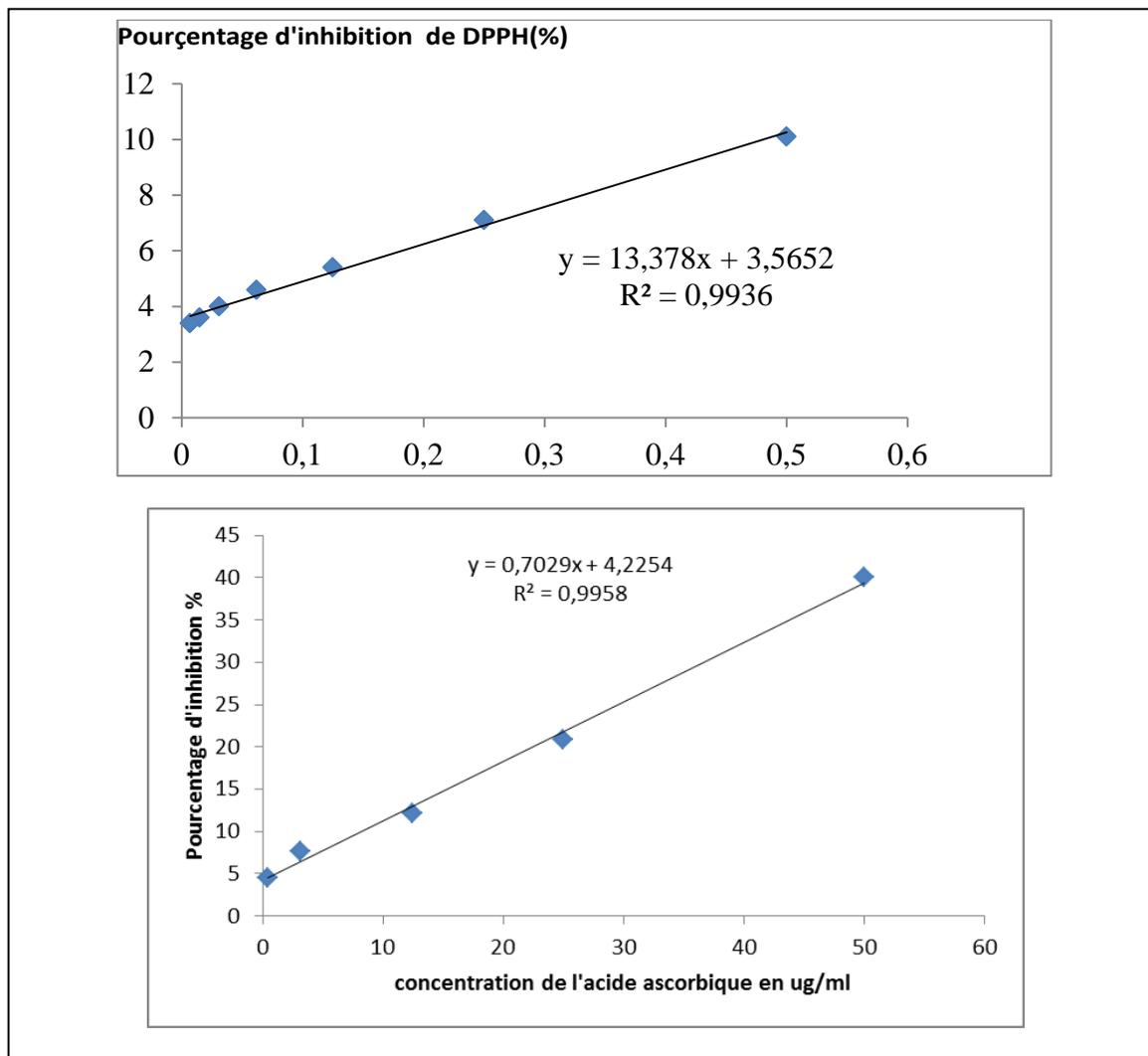


Figure 11 : Effet antiradicalaire des extraits eau-méthanol de *Moringa oleifera* sur la réduction du DPPH effet de l'acide ascorbique.

- Les résultats montrent que la plante étudiée est riche en polyphénols.
- Un antioxydant est une molécule qui ralentit ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques à leur contact.
- Les antioxydants se réduisent avec les radicaux libres en inhibant ainsi leur prolifération, la propriété antioxydante se trouve beaucoup dans les familles des thiols et des phénols.
- Après avoir eu un échantillon de la *Moringa* et avoir aussi passé par deux méthodes : DPPH nous avons constatés que la plante a un pouvoir réducteur et une absorbance moins importante que ceux de l'acide ascorbique.

- Les résultats obtenus montrent que *Moringa* a un effet significatif sur le pouvoir réducteur en captant les radicaux libres et ainsi empêcher leurs prolifération qui cause des dégâts certains à longt terme.
- Les résultats obtenus au cours de notre travail montrent que *Moringa* est une plante riche en polyphénols dans toute sa partie aérienne. L'activité antioxydante de cette plante a été prouvée dans ce travail et confirme l'utilisation très fréquente de cette plante en médecine
- De ce fait le méthanol reste le meilleur solvant pour extraire ces composés, cette affinité est appuyée par plusieurs travaux

Conclusion :

- Dans cette étude, nous avons constaté que l'extrait de *M. oleifera* est riche en polyphénols totaux (**88.3 µg EA/mg d'extrait**), et qui est responsable à des effets antioxydants important sur le DPPH, FRAP.

- En parallèle ; la quantification des flavonoïdes à été effectuée par la méthode (Ardestani et Yazdanparast, 2007), nous a permis d'observer également une teneur dans l'extrait étudié de **49.27 µg EQ/mg d'extrait**.

- La méthode d'extraction joue un rôle important dans la détermination du rendement ainsi que la composition chimique de l'extraits préparés .Le rendement d'extrait dépend de la nature du solvant utilisé et des propriétés chimiques des molécules à extraire (Michel *et al.*, 2012).

- Ce travail avait pour objectif d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydant de *M. oleifera* par la méthode colorimétrique.

- Très peu de travaux ont été réalisés sur l'étude des propriétés antioxydantes des algues ceci nous a insisté de rechercher l'effet antioxydant sur *M. oleifera*.

- Afin d'approfondir ce travail de recherche, nous proposons les perspectives suivantes :
 - Il serait intéressant de travailler sur d'autres sites avec un nombre plus élevé d'espèces.

 - De purifier et d'identifier les molécules responsables de l'activité antioxydant des *M. oleifera*.

 - Evaluation de l'activité antioxydante de cette *M. oleifera* par d'autres méthodes *in vitro*.

 - Recherche d'autres activités biologiques (antimicrobienne etc.).

- Références bibliographiques :

Aberra M., Workinesh T. and Tegene N. (2011). Effects of feeding *Moringa stenopetala* leaf meal on nutrient intake and growth performance of Rhode Island Red chicks under tropical climate. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 14: 485-492.

Anwar F., Latif S., Ashraf M. and Gilani A. H. (2007). *Moringa oleifera* : a food plant with multiple medicinal uses. *Phytother. Res.* 21: 17-25. Anonyme 1: www.treesforlife.org Anonyme 2 : www.moringa news.org Anonyme 2015 : American Society of Health – System Pharmacists. Retrieved Sep 4, 2015.

Atakpama W., Kponor E.G.E., Kanda M., Dourma M., Nare M., Batawila K. and Akpagana K. (2014). *Moringa oleifera* Lamarck (Moringaceae) : une ressource phytogénétique à usage multiple. *Rev. Cames SVT-A* 2 (1): 6-14. Aziman N., Abdullah N., Noor Z.M., Zulkifli K. S. and Kamarudin W.S.S.W. (2012). Phytochemical constituents and in vitro bioactivity of ethanolic aromatic herb extracts. *Sains Malays.* 41(11): 1437-1444.

Baba, M. D., Yakubu, G. Yelwa, J.M. and Haruna L. (2015). Costs and Returns of *Moringa (Moringa oleifera)* Production in Zuru Local Government Area of Kebbi State, Nigeria. *New York Sci. J.* 8(1): 36-40. Bahorum T. (1997). Substances Naturelles actives : La flore Mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. *Food Agric. Res.* 83-94. Bahorum T., Gressier B., Trotin F., Brunet C, Dine T., Locks M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. and pinkas M (1996).. *Arzneimtte-Forschung/ Drug Res.* 46 (11): 1086-1108.

Balasundram N., Sundram K. and Samman S. (2006).

Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99(1): 191-203. *Aquacul.* 252 : 79-84.. *Phytother.* 10 (1) : 2-9. Baydar H., Sađdic, O., Ozkan G., Karadođan T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control.* 15:169-172.

Benkrief R. (1990). Inventaire ethnobotanique des plantes médicinales de l'Est algérien: étude chimique de " *Hammada articulata*" (Moquin) Iljin ssp. *scoparia* Pomel. Etude chimique de 3 plantes néo-calédonniennes à monoterpénoïdes. Thèse doc. Pharmacognosie. Univ. Paris Descartes, Paris 5. France. Bennett R.N., Mellon F.A., Foidl N., et Pratt, J. H., Dupoint, S. M., Perkins, L., & Kroon, P. A. (2003). Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L (horseradish tree) and *Moringa stenopetala* L. J. Agric. Food Chem. 51: 3546-3553. Bors W., Michel C. and Stettmaier K. (1997). Antioxidant effects of flavonoids. Biofactors. 6(4): 399-402.

Bougatef A., Hajji M., Balti R., Lassoued I., Triki-Ellouz Y. and Nasri M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. Food Chem. 114 (4): 1198-1205.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E. and Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Sci. Technol. 28: 25-30. Broin, M. (2005). Composition nutritionnelle des feuilles de *Moringa oleifera*. Moringa news. <http://www.moringanews.org>. C Caquet R. (2004). 250 Examens de laboratoire : Prescription et interprétation. Ed. Masson. Paris. 453p. Cerf M.E. (2013).

Beta cell dysfunction and insulin resistance, Front. Endocrinol. 4. 1-12. Charoensin S. (2014). Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. J. Med. Plant Res., 8(7): 318-325.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

H Hartmann, T. (2007). "From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism." Phytochemistry 68(22): 2831-2846. Hedji C., Gangbazo D.N.S.K., Houinato M.R. and Fiogbén E.D. (2014). Valorisation de *Azolla* spp., *Moringa oleifera*, sonderiz et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale : synthèse bibliographique. J. Appl. Biosci., 81 : 7277-7289.

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

K Kabera J.N. , Semana E., Mussa A.R. et He X.(2014). Plant secondary metabolite: biosynthesis, classification, function and pharmacy and pharmacology 2.377-392.

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

Kasolo J.N., Bimenya G.S., Ojok L., Ochieng J., Ogwal-Okeng J.W. (2010.) Mhytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities. J. med. plant Res. 4(9) : 753-757.

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

Kumbhare MR., Guleha V., et Sivakumar T. (2012). Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera*. Asian Pacific Journal of Tropical Disease .144-150

- Lamaison J.L. and Carnat A. (1990). Teneurs en principaux flavonoides des fleurs et des feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq. et de *Crataegus laevigata* (Poiret) DC en fonction de la végétation. *Pl. Med. Phytother.* 25: 12-16.
- Madi O.P., Bourou S. and Woin N. (2012). Utilisations et importances socioéconomiques du *Moringa oleifera* Lam. en zone de savanes d'Afrique Centrale. Cas de la ville de Maroua au Nord-Cameroun. *J. Appl. Biosci.*, 60 : 4421-4432.
- Mangambu M., Mushagalusa K., and Kadima N. (2014). Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, RD Congo). *J. Appl. Bios.* 75(1), 6211-6220.
- Mates, J. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicol.* 153(1), 83-104.
- Mbikay M. (2012). Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: a review. *Front Pharmacol* 3:24. Mehta L.K., Balaraman R., Amin A.H., Bafna P.A. and Gulati O.D. (2003). Effect of fruits of *Moringa oleifera* on the lipid profile of normal and hypercholesterolaemic rabbits. *J. Ethnopharmacol.* 86: 191–195.
- Merzougui I. and Tadj H. (2015). Etude de l'effet antibactérien et antioxydant d'*Ammoides verticillata* de la région de Tlemcen. *Mém. Ingén. Agro. univ. Abou-Bakr Belkaïd – Tlemcen.* 82p.
- Meyer A., Deiana J. and Leclerc H. (1994). Cours de Microbiologie générale. Biosciences et techniques. Ed. Doin. Paris. 365p.
- Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques, Université Louis pasteur (Strasbourg). Miliuskas G., Venskutonis P.R. and Van Beek T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85, 231–237.
- Mole S. and Waterman P.G. (2001). A critical analysis of technique for measuring tanins in ecological studies II. Technique for biochemically defining tannins. *Oecologia.* 72: 148-156.

- Montoro P., Braca A., Pizza C. and De Tommasi N. (2005). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chem.* 92(2) : 349-355.
- Moyo B., Masika P.J., Hugo A., Muchenje V. (2011). Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Afr. J. Biotech.* 10(60) : 12925-12933.
- Muniz M.N. (2006). Synthèse d’alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)- camptothécine. Thèse Doc. Chem. Univ. Joseph Fourier. Grenoble 1. France. 186p.
- Muthu C., Ayyanar M., Raja N. and Ignacimuthu S. (2006). Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu. India. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 2: 43p.
- N Nacz M. and Shahidi F. (1989). The effect of methanol–ammonia– water treatment on the content of phenolic acids of canola. *Food Chem.* 31: 159-164.
- Nawaz H., Shi J., Mittal G.S. and Kakuda Y. (2006). Extraction of polyphénols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Sep. Purif. Technol.* 48(2): 176- 181.
- Nisha, P., Abdul Nazar P. and Jayamurthy P. (2009). A comparative study on antioxidant activities of different varieties of *Solanum melongena*. *Food Chem. Toxicol.* 47: 2640-2644.
- Nweze N.O. and Nwafor F.I. (2014). Phytochemical, Proximate and Mineral Composition of Leaf Extracts of *Moringa oleifera* Lam. From Nsukka, South-Eastern Nigeria. *IOSR J. Pharm. Biol. Sci. (IOSR-JPBS).* 9: 99-103.
- O Okuda, T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochem.* 66(17) : 2012-2031.
- Olson M.E. and Carlquist S. (2008). Stem and root anatomical correlations with life form diversity, ecology, and systematics in Moringa (Moringaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 135 (4) : 315-348.
- Oomah B.D., Caspar F., Malcolmson L.J. and Bellido A.S. (2010). Phenolics and antioxidant activity of lentil and pea hulls. *Food Res. Int.* 44: 436-441.
- P Pal S.K., Mukherjee P.K. and Saha B.P. (1995). Studies on the antiulcer activity of *M. oleifera* leaf extract on gastric ulcer models in rats. *Phytother. Res.* 9: 463-465.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. and Stöckigt D. (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary

electrophoretic–electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *J. Chromatogr A*. 967: 85-113.

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

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

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