

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE -BLIDA-1



Département de Biologie des Populations et des Organismes

MÉMOIRE

De Fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du

Diplôme de Master Académique

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Option : Génomique et Biotechnologie végétale

Thème

**Evaluation l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits
de *Moringa oleifera* Lam, de la région d'Adrar.**

Réalisé par :

Boudarn Sabah et Boukedroun Amina

Devant les membres de jury :

Mme TAKARLI S

Mme AMARA N

Mme MED OUALI D

Mme CHEBATA N

Maitre Assistante A (Université Blida)

Maitre Assistante A (Université Blida)

Maitre Assistante A (université Tizi Ouzou)

Maitre Assistante A (Université Blida)

Présidente

Examinatrice

Promotrice

Co-promotrice

Année Universitaire 2016 -2017

Remerciement

Au terme de ce rapport, nous avons le réel plaisir d'exprimer notre sincère Remerciements à tous ceux qui nous a accompagnées au cours de la réalisation de ce mémoire.

C'est avec l'aide de Dieu tout puissant, que ce modeste projet a pu être réalisé, Dieu qui nous a donné fois, raison et lucidité.

Dieu Merci.

*En deuxième lieu, nous tenons à exprimer nos remerciements et reconnaissances, les plus distingués, envers notre encadrent Madame **Mouhamed Ouali D** et Co-encadrent Madame **Chebata N** qui ont acceptées d'encadrer notre travail et nous a apportée de précieux conseils pour la réalisation de ce mémoire.*

*Notres remerciements et nos gratitudes vont aussi à Monsieur **Boutoumi** professeur dans la faculté de chimie industriel à Blida1 et particulièrement à Madame **Kebour Dj** qui nous a orientés, aidés et conseillés et à Monsieur **Djamel Teffahi** responsable de labo d'hygiène de Blida .*

*Notres remerciements s'adressent aux membres du jury Madame **Takarli S** et Madame **Amara N** pour avoir acceptés de juger ce travail et à tous nos professeurs de la Faculté de Science et de la vie de Blida.*

Nous sommes également reconnaissants à notre collègues de la licence et du Master pour tous les bons moments que nous avons partagés ensemble pendant toute la période de formation.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A toute ma famille

A mes amis et mes collègues

A tous ceux qui aiment la nature

SABAH

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*A mes parents .Aucun hommage ne pourrait être à la
hauteur de
l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu
leur procure
bonne santé et longue vie.*

*A celui qui m'a soutenue tout au long de
ce projet : mon mari SOFIENE , et bien sur A mes
frères
KHEIREDDINE, AMINE BILLEL et ABD EL
MOUMENE sans oublié ma belle sœur LILA et mes
beaux-parents que j'aime.*

*A toute ma famille, et mes amis,
A mon binôme SABAH et toute la famille
BOUKEDROUN.*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour
que ce
projet soit possible, je vous dis merci.*

AMINA

Liste des figures et tableaux

Figures

Figure n°1. Aspect morphologique de <i>M. oleifera</i> Lam	04
Figure n°2. Les différents organes de <i>M.oleifera</i> Lam	06
Figure n°3. Squelette de base des flavonoides	10
Figure n°4. Quelques exemples des flavonoides	10
Figure n°5. Localisation de la région d'échantillonnage	17
Figure n°6. Méthodes d'extraction et de dosage des anthocyanes et des aglycones flavoniques des feuilles et des racines de <i>M oleifera</i> Lam	20
Figure n°7. Teneurs absolues exprimées en mg.g^{-1} mvs des anthocyanes et aglycones flavoniques des feuilles et racines de <i>M. oleifera</i> Lam	30
Figure n°8. Teneurs absolues exprimées en mg.g^{-1} de mvs des aglycones totaux, flavones et flavonols des feuilles et racines de <i>M oleifera</i> Lam	30
Figure n°9. Teneurs en alcaloïdes exprimées en mg/g mvs des feuilles et des racines de <i>M. Oleifera</i> Lam	31
Figure n°10. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits de feuilles et racines de <i>M oleifera</i> et de l'acide ascorbique ..	36

Tableaux

Tableau n°1. Résultats des tests phytochimiques effectués sur des feuilles et racines de <i>M. oleifera</i> Lam	28
--	----

Tableau n°2. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne des extraits aqueux et flavoniques des feuilles et des racines de *M. oleifera* Lam33

Tableau n°3. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne des alcaloïdes des feuilles et racines de *M oleifera* Lam34

Liste des abréviations

APG III : Angiosperm phylogeny group III.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DPPH : Diphényle picryl hydrazyle.

***M.oleifera* Lam** : *Moringa oleifera* Lamarck.

MVS : Matière végétale sèche.

PI : Pourcentage d'inhibition.

ZI : Zone d'inhibition.

UV : Ultraviolet

Résumé

Notre travail est basé sur l'étude de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits de *Moringa oleifera* Lam, espèce résistante à la sécheresse, introduite dans les zones arides du Sahara Algérien pour un développement rural durable en Algérie.

Le screening phytochimique des feuilles et des racines a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires notamment les flavonoïdes, les anthocyanes, les alcaloïdes, les tanins, les mucilages, les glucosides. Néanmoins, les saponines se sont avérées absentes. Les teneurs en anthocyanes et en aglycones flavoniques (flavones, flavonols) sont nettement plus importantes au niveau des feuilles par rapport aux racines. Les flavonols restent le groupe le plus dominant des aglycones flavoniques, tandis que les flavones demeurent absentes dans les deux organes analysés. Le dosage des alcaloïdes a montré que leurs teneurs est plus importante au niveau des racines de *M. oleifera* Lam.

L'activité antioxydante des extraits flavoniques des feuilles et des racines de *M. oleifera* Lam a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats ont montré que l'extrait des feuilles possède une activité antioxydante très importante, tandis que les racines n'ont pas montré d'activité remarquable. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25293), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853)) et une levure (*Candida albicans*), selon la méthode de diffusion sur disques. Les résultats indiquent que l'extrait flavonique possède une meilleure activité antibactérienne vis à vis les souches testées, alors que l'extrait aqueux est efficace contre une seule souche bactérienne (*Staphylococcus aureus*). Par ailleurs, l'extrait des alcaloïdes des feuilles et des racines s'est avéré efficace contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Cependant, seule la levure *Candidat albicans* s'est avérée résistante à tous les extraits.

Mots clés : Développement durable, zones arides, *Moringa oleifera* Lam, flavonoïdes, alcaloïdes, activité anti oxydante et antibactérienne.

Abstract

We have undertaken, among other things, in this section a biological study consisting of a contribution to the study of some biological activities of extracts of *Moringa oleifera* Lam, a drought-resistant species, introduced in the arid zones of the Algerian Sahara for sustainable rural development in Algeria. . Phytochemical screening of leaves and roots revealed the presence of secondary metabolites including flavonoids, anthocyanins, alkaloids, tannins, mucilages and glucosides. Nevertheless, the saponins proved to be absent. The levels of anthocyanins and flavonic aglycones (flavones, flavonols) are much higher in the leaves than in the roots,. Flavonols remain the most dominant group of flavonic aglycones, However, the flavones remain absent in the two organs analyzed. The determination of the alkaloids has shown that their contents are more important in the roots of *M. oleifera* Lam. The antioxidant activity of flavone extracts of leaves and roots of *M. oleifera* Lam was evaluated by the DPPH free radical scavenging method. The results showed that the leaf extract has a very important antioxidant activity, while the roots have not shown remarkable activity. The antimicrobial activity was determined on three bacterial strains (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25293), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853)) and a yeast (*Candida albicans*), according to the diffusion method. on discs. The results indicate that the flavonic extract has a better antibacterial activity, whereas the aqueous extract is effective against a single bacterial strain (*Staphylococcus aureus*).

Key words: Sustainable development, arid zones, *Moringa oleifera* Lam, flavonoids, alkaloids, antioxidant and antibacterial activity.

ملخص

لقد قمنا في هذا الجزء بدراسة بيولوجية تتمثل في دراسة بعض الانشطة البيولوجية لمستخلصات من المورينغا أوليفيرا المقاومة للجفاف في المناطق القاحلة في الصحراء الجزائرية من اجل التنمية الريفية المستدامة في الجزائر .

سمح الفرز او الفحص الكيميائية للاوراق و الجذور بتسليط الضوء على وجود مركبات ثانوية كالفلافونويدات ،الأوتوسيانين،القلويدات ،التانينات ،مواد مخاطية و غلوكوزيدات مع غياب الصابونين . يظهر محتوى الأوتوسيانين و الفلافونويد الزلفوني (الفلافون و الفلافونول) أعلى بكثير في الأوراق مقارنة بالجذور يبقى الفلافونول المجموعة المهيمنة من الفلافونويد في حين الفلافون يبقى غائبا في العضوين المدروسين.أظهر التقدير الكمي للقلويدات أن محتوياتها كانت أعلى في الجذور مقارنة بالأوراق.تمت دراسة النشاط المضاد للاكسدة للأوراق و الجذور لمورينغا أوليفيرا عن طريق تثبيط الجذرالحر DPPH وأظهرت النتائج أن مستخلص الاوراق له قدرة عالية على كبح هذا الجذر في حين الجذور لم تبد أي نشاط ملحوظ.تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على ثلاث سلالات بكتيرية وخميرة وفقا لطريقة الانتشار على الاقراص وأظهرت النتائج أن المستخلص الفلافوني يمتلك نشاطا أفضل بالنسبة للسلالات المختبرة في حين أن المستخلص المائي فعال ضد سلالة بكتيرية واحدة . بالإضافة الى ذلك ثبت ان مستخلصات القلويدات للأوراق و الجذور فعالة ضد *E coli* , والمكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* في حين الخميرة *idaCand albicans* أثبتت مقاومة لجميع المستخلصات.

الكلمات الدالة : التنمية المستدامة – المناطق القاحلة – مورينغا أوليفيرا – الفلافونويد – القلويدات – نشاط مضاد للاكسدة و مضاد للبكتيريا .

Table des matières

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
1. Présentation de <i>Moringa oleifera</i> Lam	3
1.1. Généralités	3
1.2. Classification	3
1.3. Description botanique	4
1.4. Ecologie et répartition géographique de la plante	5
1.5. Propriétés et utilisation	7
2. Métabolites secondaires	7
2.1. Généralités	7
2.2. Les polyphénols	8
2.2.A. Biosynthèse des polyphénols	8
2.2.B. Rôle et intérêt des composés phénoliques	9
2.2.1. Les flavonoïdes	9
2.2.1.1. Structure des flavonoïdes	9
2.2.1.2. Classification des flavonoïdes	10
2.3. Les alcaloïdes	11
2.3.1. Structure des alcaloïdes	11
2.3.2. Classification des alcaloïdes	11
2.3.2.1. Les alcaloïdes vrais	11
2.3.2.2. Les pseudo-alcaloïdes	11
2.3.2.3. Les proto-alcaloïdes	12
2.3.3. Rôle des alcaloïdes	12
3. Les activités biologiques	12
3.1. Activité anti-oxydante	12
3.1.1. Les radicaux libres	12
3.1.2. Les antioxydants	13
3.1.2.1. Sources d'antioxydants	13
A. Source endogène	13
• La superoxydedismutase (SOD)	13

• La catalase	13
• La glutathion-peroxydase	13
• Les chélateurs de métaux	13
B.Source exogène	14
• Les polyphénols	14
• Les flavonoïdes	14
• Tanins	14
3.2. Activité antimicrobienne	14
3.2.1. Généralités	14
3.2.2. Infections bactériennes	14
3.2.3. Substances antimicrobiennes	14
3.2.4. Les antibiotiques	15

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel	16
1.1. Matériel végétal	16
1.2. Souches microbiennes	17
2. Méthodes	17
2.1. Screening phytochimique	17
2.2. Extraction des polyphénols	19
2.3. Extraction des flavonoïdes	19
2.3.1 Extraction des aglycones flavoniques et des anthocyanes	19
2. 3.2. Dosage des anthocyanes	22
2.3.3. Dosage des aglycones flavoniques	22
2.4. Extraction des alcaloïdes	23
2.4.1. Calcul de la teneur en alcaloïdes totaux	24
2.5. Les activités biologiques	24
2.5.1. Activité antimicrobienne	24
2.5.1.1. Conservation des souches	24
2.5.1.2. Préparation des disques	25
2.5.1.3. Préparation des dilutions des extraits	25
2.5.1.4. Préparation des milieux de culture	25

2.5.1.5. Ensemencement	25
2.5.1.6. Dépôt des disques	25
2.5.1.7. Incubation	25
2.5.1.8. Lecture des résultats	26
2.5.2. Activité antioxydante	26
2.5.2.1. Expression des résultats	27

Chapitre III: Résultats et discussion

1. Screening phytochimique	28
2. Dosage des anthocyanes et des aglycones flavoniques	29
3. Teneurs des alcaloïdes	31
4. Les activités biologiques	32
4.1. L'activité antimicrobienne	32
4.2. L'activité antioxydante	35
Conclusion	37

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la multiplication mitochondriale de radicaux (Meddour *et al.*, 2013).

De ce fait, la présence d'antioxydants dans l'alimentation est devenue essentielle pour la qualité et la sécurité de l'aliment. Les études épidémiologiques récentes ont montré une corrélation inverse entre la plus grande consommation des antioxydants naturels et le risque de certains désordres induits par le stress oxydatif (Barros, 2010).

En effet, ces dernières années, l'attention s'est portée sur certaines activités biologiques notamment l'activité antioxydante des plantes médicinales en raison du rôle qu'elles jouent dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'alzheimer en combattant le stress oxydant (Meddour *et al.*, 2013).

Aussi, la maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale (Benbrinis, 2012).

Face à ce problème de résistance, se justifie l'extension des recherches menées sur les propriétés antimicrobiennes de substances d'origine naturelle, en partant du postulat que ces dernières sont moins nocives que les substances d'origine chimique (Martini et Seiller, 2006).

Les végétaux furent de plus en plus utilisés pour l'extraction des substances physiologiquement actives ou pouvant être transformées en médicament. L'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydante et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (Teixeira Da Silva, 2004).

Le Sahara Algérien dispose d'une biodiversité floristique exceptionnelle, constituée d'environ 500 espèces végétales (Ozanda, 1991). Ce sont en effet des réservoirs de substances naturelles à intérêt majeur pour les oasiens. *Moringa oleifera* Lam, est une espèce introduite dans les zones arides du Sahara Algérien et plus particulièrement dans la région d'Adrar,

connu des autochtones pour leur apport nutritionnel et médicinal et qui résistent bien à la sécheresse. Elle est introduite dans les zones arides du Sahara Algérien pour un développement rural durable en Algérie. Cependant, peu d'études scientifiques se sont consacrées à cette espèce notamment au niveau Algérien (Foidl et *al.*, 2001 et Saint Sauveur A., Broin M., 2010).

Ce travail est en effet une première ébauche pour présenter l'espèce et essayer de la valoriser sur le plan thérapeutique. Cette étude rentre dans la thématique de l'axe de recherche sur la biodiversité floristique algérienne et plus particulièrement des plantes aromatiques et médicinales au niveau du laboratoire sur les zones arides de Bab Ezzouar.

L'étude comporte deux parties:

La première partie est une synthèse bibliographique, se présente en deux volets : l'un est consacré à la présentation de *Moringa oleifera* Lam et, l'autre portera sur le métabolisme secondaire. La seconde partie concerne la partie expérimentale, qui comporte deux chapitres, l'un sur les matériels et les méthodes et l'autre, regroupera l'ensemble des résultats qui seront suivis d'une discussion. Enfin nous terminons notre travail par une conclusion et certaines perspectives pour les travaux ultérieurs.

1. Présentation de *Moringa oleifera* Lam.

1.1. Généralités

Moringa oleifera Lam ou *Moringa pterygosperma* Gaertner appartient à la famille monogénérique des arbres et arbustes : les **Moringaceae**. Cette famille comprend environ 12 à 14 espèces (Lalas et Tsaknis, 2002). Les plus connues sont : *M. arborea*, *M. borziana*, *M. concanensis*, *M. drouhardii*, *M. hildebrandtii*, *M. longituba*, *M. ovalifolia*, *M. peregrina*, *M. pygmaea*, *M. rivaie*, *M. ruspoliana*, *M. stenopetala* (Fuglie, 2002).

Originnaire du nord-est de l'Inde, au sud de la chaîne des montagnes de l'Himalaya (Morton, 1999 ; Price, 2007), elle est rencontrée sur trois continents et dans plus de cinquante pays tropicaux et subtropicaux (Afrique, Arabie, Sud-est asiatique, Îles du Pacifique, Amérique du Sud). Son introduction en Afrique, plus précisément en Afrique de l'Est a eu lieu au début du 20^{ème} siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes (Foidl et al., 2001), où elle est cultivée jusqu'aujourd'hui. Des essais d'introduction de *M. oleifera* Lam en Algérie ont été réalisés à titre expérimental à partir de semences en provenance de Dar el Salem (Tanzanie) en raison de ses nombreuses applications qui ont valu le surnom de « l'arbre à multiples usages » ou « arbre miracle » pour certains.

Diverses appellations sont attribuées à *M. oleifera* Lam : en Afrique francophone, l'arbre est appelé nébéday, nom vraisemblablement dérivé de l'anglais "*never die*" (immortel), en référence à sa capacité de résistance à la sécheresse, à son aptitude à se propager rapidement à partir de semis ou de boutures et à se régénérer même après des coupes très sévères (Fuglie, 2001). En Inde, il est appelé Dumstick pour rappeler la forme du fruit qui ressemble à une baguette (Pousset, 1999). Au Soudan, il est connu sous le nom de Shagarat al Rauwaq qui signifie l'arbre purificateur (Jahn et Dirar, 1979 ; Jahn, 1981). En Algérie, dans la région d'Adrar, est connu sous le nom de Shadjarat El Hahyète.

1.2. Classification

Selon APG III (2009), *M. oleifera* Lam appartient à :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Brassicales

Famille : Moringaceae

Genre : *Moringa*

Espèce : *Moringa oleifera* Lam

1.3. Description botanique

M. oleifera Lam est un arbre pérenne à croissance rapide qui peut atteindre 7 à 12 mètres de hauteur (fig.1) et dont le tronc mesure 20 à 40 cm de diamètre (Foidl et *al.*, 2001).

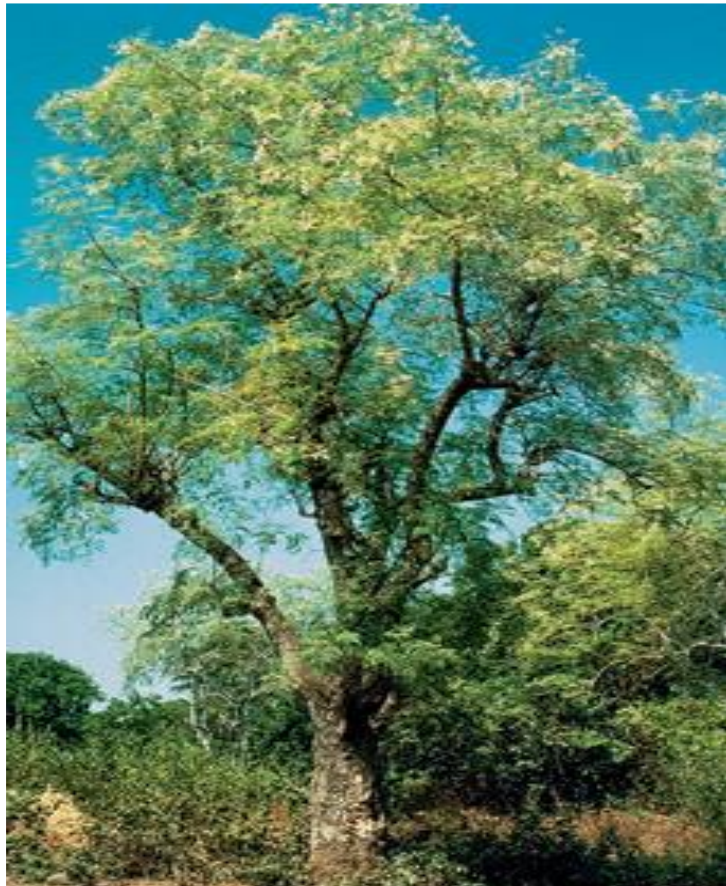


Figure 1. Aspect morphologique de *M. oleifera* Lam (www.Google photos).

Le système racinaire est formé d'un pivot central qui peut s'enfoncer dans le sol jusqu'à 1,30 m de profondeur, ce qui lui vaut sa grande résistance à la sécheresse (fig.2a).

La racine est de couleur blanche, gonflée, qui a une odeur piquante caractéristique et, dotée de racines latérales formant une chevelure dense (Foidl *et al.*, 2001).

Le tronc est généralement droit, mais parfois très peu développé. En général, il atteint 1,5 à 2 mètres de haut avant de se ramifier, les branches poussent de manière désorganisée et la canopée est en forme de parasol (Foidl *et al.*, 2001).

Les feuilles, alternes bi ou tripennées, se développent principalement dans la partie terminale des branches. Elles ont un long pétiole avec 8 à 10 paires de pennes composées chacune de deux paires de folioles opposés, plus un à l'apex, ovales ou en forme d'ellipse, et mesurant 1 à 2 cm de long (fig.2b), elles peuvent être cueillies plusieurs fois dans l'année (Morton, 1991).

Les fleurs se présentent sous forme de panicules axillaires et tombantes de 10 à 25 cm. Elles sont généralement abondantes et dégagent une odeur agréable. Elles sont blanches ou de couleur crème, avec des points jaunes à la base (fig.2c). Les sépales, au nombre de cinq, sont symétriques et lancéolés. Les cinq pétales sont minces et spatulés, symétriques à l'exception du pétale inférieur et entourent cinq étamines.

Les fruits forment des gousses à trois lobes, mesurant 20 à 60 cm de long, qui pendent des branches (fig.2d). Lorsqu'ils sont secs, ils s'ouvrent en trois parties. Chaque gousse contient entre 12 et 35 graines.

Les graines sont rondes, avec une coque marron semi-perméable. La coque présente trois ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet (fig.2d). Un arbre peut produire 15000 à 25000 graines par an (Makkar et Becker, 1997). La récolte des graines se fait deux fois par an en Avril- Mai et Septembre-Octobre (Mohamed Ouali, 2016).

1.4. Ecologie et répartition géographique de la plante

Cet arbre se rencontre à l'état naturel jusqu'à 1000 m d'altitude, il pousse relativement bien sur les versants mais est plus répandu dans les zones de pâturages et les bassins, des rivières, même dans des zones recevant moins de 400 mm de précipitations annuelles (Odee, 1998). *M. oleifera* Lam est de nos jours cultivée à travers le Moyen-Orient, ainsi que tout le long de la ceinture tropicale (Foidl, 2001).

M. oleifera présente des racines fortes, très résistantes à la sécheresse et tolère 300 à 1100 mm /an. C'est une espèce végétale qui préfère un sol sablonneux, neutre ou légèrement acide (pH entre 5-7) mais, tolère aussi d'autres conditions de sol, des altitudes au-dessous de 500 m, supporte des températures entre 25°- 35°C mais, peut vivre à 45° dans l'ombre (Mohamed Ouali, 2016).

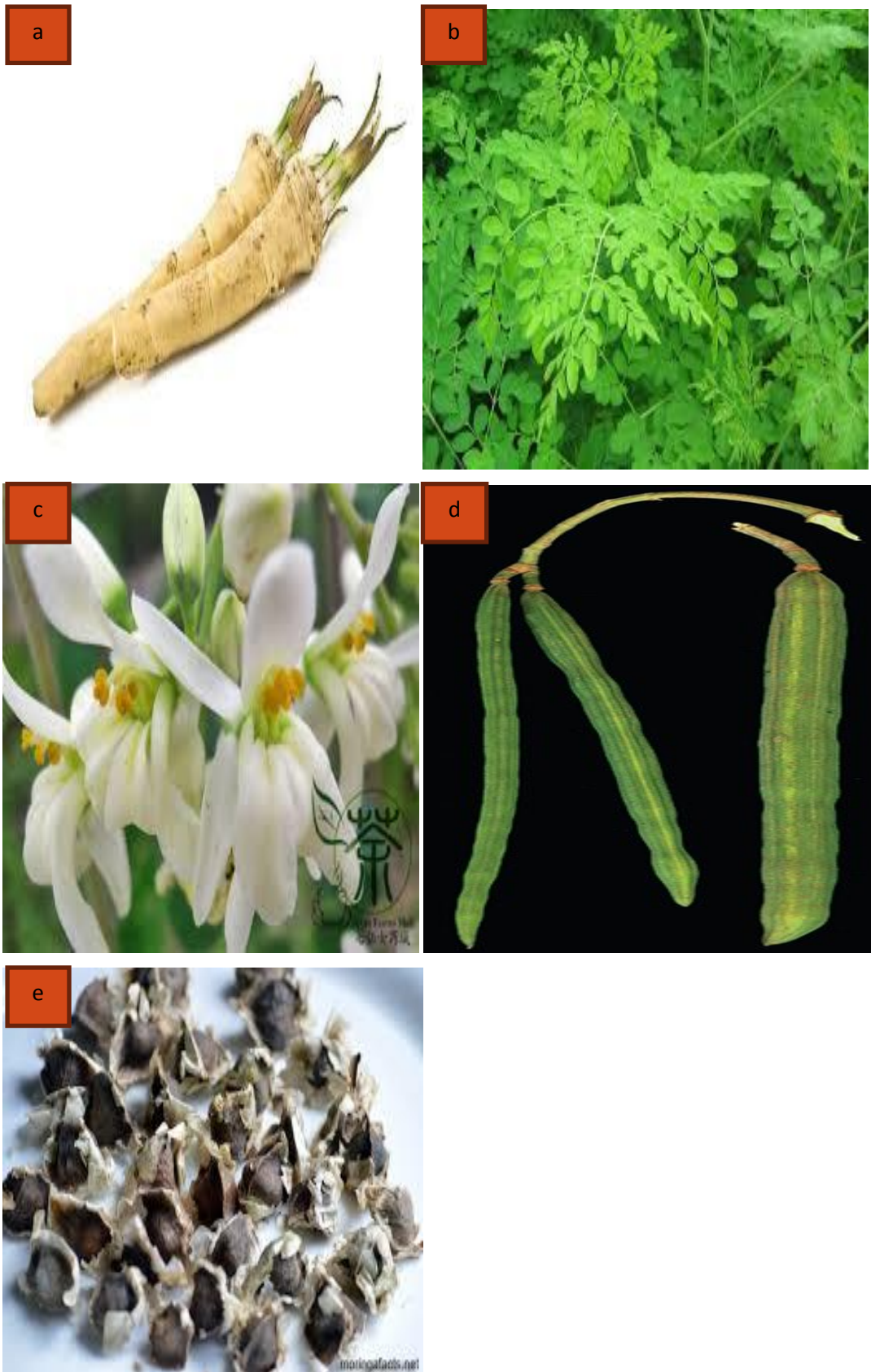


Figure 2. Les différents organes de *M.oleifera* Lam.. **a.** Racine ; **b.** Feuilles ; **c.** Fleurs ; **d.** Gousses; **e.** Graines (www.Google photos).

1.5 Usages et propriétés

Les feuilles fraîches, riches en sels minéraux, vitamines (A, C, B, E), protéines et acides aminés présentent diverses utilisations : elles sont Antiscorbutiques, compléments nutritionnels, fortifiants, Anti-inflammatoires, antispasmodiques, diurétiques, rubéifiantes (Yang., 2006).

La racine renferme des athomines et des ptérygospermines qui sont des antibiotiques et les écorces des racines contiennent des alcaloïdes notamment la moringine et la moringinine utilisées en médecine comme stimulant cardiaque. Elles présentent également des effets antiscorbutiques, tonifiants, bactéricides et fongicides (Yang, 2006).

Les graines sont très utilisées pour le traitement final dans des unités d'épuration des eaux usées. Elles sont riches en matière grasse, contiennent 13% d'acides saturés et 82% d'acides gras insaturés, pour cela, elle est donc équivalente sous tous ses aspects à une huile de qualité supérieure telle que l'huile d'olive. Elle est également exploitée 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). Grâce à sa capacité à absorber et à retenir les substances volatiles, elle est également intéressante dans l'industrie des parfums pour stabiliser les senteurs (Ramachandran et *al.*, 1980).

2. Métabolites secondaires

2.1. Généralités

Le terme «métabolite secondaire», a été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme des molécules organiques complexes synthétisées à partir de métabolites primaires (glucides, lipides et protéines) et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Lutge et *al.*, 2002). Ces métabolites secondaires, ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal (Cuendet, 1999 ; Gravot, 2008).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches pour leur intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires.

Ces métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes : les composés phénoliques, les terpènes, et les alcaloïdes.

2.2. Les polyphénols

Le terme de polyphénols ou composés phénoliques remplace l'ancien terme de tanin végétal. Ce sont des composés synthétisés par les végétaux où l'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un cycle aromatique (benzoïque) portant au moins un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (Bruneton, 1993).

En effet, les composés phénoliques constituent le groupe le plus largement distribué chez les végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues (Lugasi *et al.*, 2003)

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot et Charpentier, 2006). Ils sont concentrés dans la vacuole où ils se trouvent sous formes simples et solubles ou polymérisées plus ou moins solubles (tanins). Par contre, les formes insolubles (lignines) sont directement associées à la paroi. Différents facteurs (lumière, rayonnement U.V., température, hormones, agents pathogènes ...etc.) sont fortement impliqués dans la régulation de l'expression du métabolisme phénolique, se traduisant par des différences qualitatives et quantitatives considérables entre les espèces, les organes et les stades physiologiques (Macheix, 1996).

Les diverses classes des composés phénoliques sont: les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes, les coumarines et les tannins (Harborne, 1980 ; Glombitza, 1985 ; Goodwin, 1988 ; Porter, 1989 ; Boros, 2010).

2.2. A. Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques sont issus de deux grandes voies (Bruneton, 2009) :

- La voie de shikimate (l'acide shikimique) :

Cette voie conduit à la formation du précurseur des phénols par désamination de la phénylalanine. La séquence biosynthétique qui suit, dénommée séquence des phénylpropanoïdes, permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques qui peuvent accéder aux principales classes des composés phénoliques avec quelques transformations.

- La voie de l'acétate : conduit à des poly- β -cétoster de longueur variable « les polyacétates » menant, par cyclisation à des composés polycycliques tels que les isocoumarines ou les quinones.

De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies (du shikimate et de l'acétate) dans l'élaboration de composés d'origine mixte, comme les flavonoïdes (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

2.2. B. Rôle et intérêt des composés phénoliques

✓ Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions avec certains microorganismes symbiotiques, parasites, bactéries, champignons, insectes), dans la résistance aux UV; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...); dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini (Fleuriet ; Jay-Allemand et Macheix, 2005).

✓ Chez les humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (Fleuriet ; Jay-Allemand et Macheix, 2005). Ils sont impliqués dans les activités anti-inflammatoires, antibactériennes, antivirales, anticancéreuses et analgésiques (Babar *et al.*, 2007).

2.2.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) sont des substances généralement colorées répandues chez les végétaux ; ils se trouvent dissous dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (Guigniard, 1996). Selon les espèces, ils se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophile. Dans le cas des fleurs, ils sont concentrés dans les cellules épidermiques (Bruneton, 1999).

2.2.1.1. Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui

sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (W- Erdman *et al.*, 2007) (fig.3).

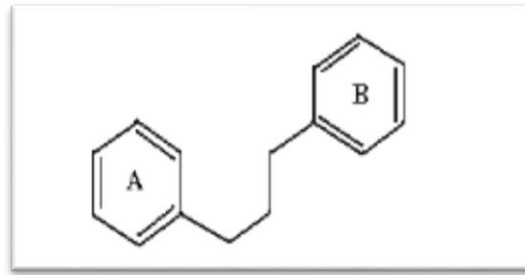
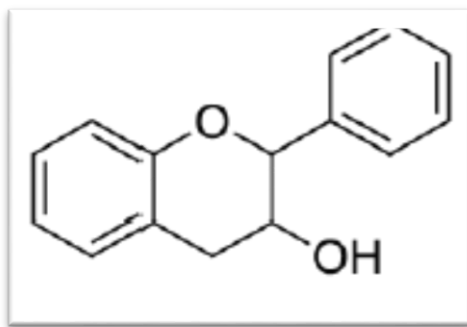


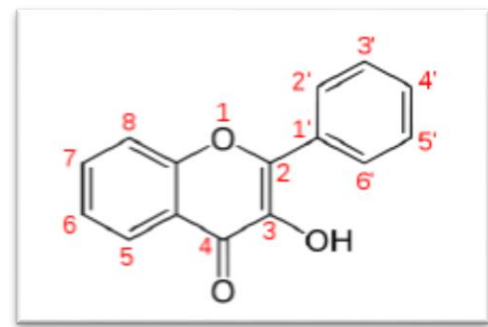
Figure 3. Squelette de base des flavonoïdes (Dean, 1963).

2.2.1.2. Classification des flavonoïdes

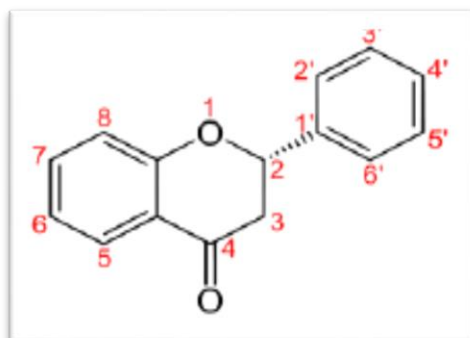
La famille des flavonoïdes se divise en différentes classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanes (Medic *et al.*, 2004). Quelques exemples de ces flavonoïdes sont représentés dans la figure 4.



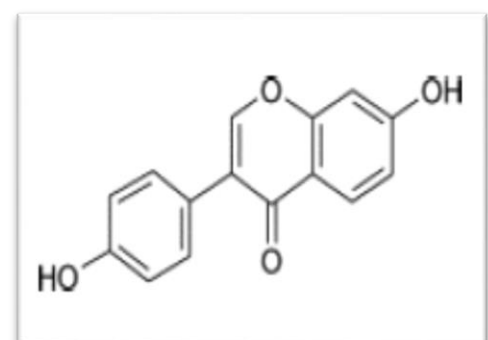
Flavanols



Flavonols



Flavones



Anthocyanes

Figure 4. Quelques exemples des flavonoïdes (Gnu, 2007).

2.3. Les alcaloïdes

Le terme d'alcaloïdes a été introduit par W. Meisner au début du XIX^{ème} siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases (Bruneton, 2009).

La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910 : « Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doués de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose » (Zenk et Juenger, 2007).

En général les alcaloïdes ne se concentrent pas dans une seule partie de la plante, ils se présentent avec des concentrations différentes dans les tiges, les fleurs, les racines et les feuilles. Cette même concentration se diffère selon la période de récolte.

Plus précisément, ils sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques; assises externes des écorces de tige et de racine, téguments des graine, etc. et rarement dans les tissus morts. Au niveau cellulaire, la synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique et le stockage dans les vacuoles (Krief, 2003).

2.3.1. Structure des alcaloïdes

La plupart des alcaloïdes dérivent des acides aminés tels que le tryptophane, L'ornithine, la lysine, l'asparate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplées à d'autres squelettes carbonés (Cyril, 2001).

2.3.2. Classification des alcaloïdes

Les alcaloïdes se divisent en trois classes :

2.3.2.1. Les alcaloïdes vrais

L'azote est inclus dans l'hétérocycle, ce groupe représente la majorité des alcaloïdes (Guignard, 2000).

2.3.2.2. Les pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Badiaga, 2011).

2.3.2.3. Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes dérivent d'acides aminés, mais l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique (Badiaga, 2011).

2.3.3. Rôle des alcaloïdes

A forte dose, la plupart des alcaloïdes sont très toxiques. À faible dose, ils peuvent avoir une valeur thérapeutique. En effet, les alcaloïdes ou des extraits qui en renferment ont été utilisés depuis la préhistoire comme médicaments relaxants musculaires, analgésique et tranquillisants (Hopkins, 2003). Chez les plantes synthétisantes, les alcaloïdes régulent la croissance et le métabolisme, ils désintoxiquent et transforment les substances nocives aux plantes, et les protègent contre les rayons ultraviolets comme ils ont des effets contre les herbivores (Mauro, 2006).

3. Les activités biologiques

3.1. Activité anti-oxydante

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, nous disons que la balance antioxydantes / prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé Stress oxydatif.

Il est maintenant admis que le phénomène de stress oxydant est impliqué dans l'étiologie de nombreuses maladies neurologiques (Alzheimer, Parkinson, Huntington), et dans les phénomènes de vieillissement (Favier, 2003).

3.1.1. Les radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule ou atome possédant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement actif (Vansant, 2004). L'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs est souvent appelé « espèces réactives de l'oxygène » (Favier, 2003).

Parmi ces radicaux libres :

-L'anion radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)

-Le radical perhydroxyle HO_2^{\cdot}

-Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

-Le radical peroxyde RO_2^{\cdot}

3.1.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques des espèces réactives de l'oxygène (Vansant, 2004).

3.1.2.1. Sources d'antioxydants

Nous avons principalement deux sources d'antioxydants :

A. Source endogène

Se compose de protéines, d'oligoéléments et d'enzymes qui constituent la première ligne de défense en participant à la neutralisation excédentaire en radicaux libres (Coene, 2004).

- **La superoxydedismutase (SOD)**

Cette enzyme existe sous deux formes : une cytoplasmique, qui nécessite comme cofacteur les ions de cuivre et de zinc (CuZnSOD) et l'autre mitochondriale, qui utilise le manganèse comme cofacteur (MnSOD) (Jacques et André, 2004). Elle transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui se transforme en O_2 et en eau par catalase (Allain, 1996).

- **La catalase**

Détruit l'eau oxygénée et évite ainsi la formation de radicaux OH.

- **La glutathion-peroxydase**

Se trouve dans les mitochondries, elle nécessite la présence de deux cofacteurs importants: le glutathion réduit et le sélénium. Elle détruit les peroxydases lipidiques.

- **Les chélateurs de métaux**

La ferritine, la transferrine, l'albumine qui par liaison aux métaux leur font perdre partiellement ou totalement leur activité de stimulation des réactions radicalaire (Traoré, 2005).

B. Source exogène

Peut-être soit des nutriments classiques (peptides et acides aminés, vitamines E et C) ou des composants bioactifs (flavonoïdes, caroténoïdes).

- **Les polyphénols** : doivent leur activité à un très grand nombre de résidus hydroxyle, qui sont autant de munition pour lutter contre les radicaux libres (Rolland, 2004).
- **Les flavonoïdes** : réagissent avec les radicaux libres empêchant les dégradations liées à leur intense réactivité au niveau des phospholipides membranaire. Cette capacité antioxydante serait liée à l'affinité pour les radicaux et donc à la structure du flavonoïde.
- **Tanins** : inhibent la peroxydation lipidique, ce sont des piègeurs de radicaux libres, des inhibiteurs de la formation de l'ion superoxyde (Bruneton, 1993).

3.2. Activité antimicrobienne

3.2.1. Généralités

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Elles ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. Nous pouvons 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 (Nauciel et Vildé, 2005).

La distinction des bactéries se fait grâce à la différence dans la composition chimique de leur paroi ; La coloration de gram est une technique utilisée pour les classer en deux groupes : celles qui retiennent la coloration violette (gram +) et celles qui ne la retiennent pas (gram -).

3.2.2. Infections bactériennes

Une infection bactérienne désigne la pénétration et/ou la multiplication d'un agent pathogène (bactérie) dans un organisme hôte. Elle entraîne une diminution des défenses du sujet et un accroissement de la virulence des germes (Khiati, 1998).

3.2.3. Substances antimicrobiennes

Les substances antimicrobiennes sont des substances capables de tuer les microbes ou d'empêcher leur multiplication. L'action antibactérienne ou antifongique va dépendre du microorganisme lui-même, de l'agent antimicrobien et de l'environnement où se situe

l'action. Nous parlons d'un effet bactériostatique lorsque la substance antibactérienne empêche la multiplication des bactéries et d'un effet bactéricide lorsqu'elle détruit totalement la bactérie (Meyer et Deiana, 1988).

Les antifongiques sont des substances qui manifestent un effet fongicide ou fongistatique. Ils sont efficaces sur les levures, les champignons, les dermatophytes et les moisissures. Les antifongiques sont éventuellement bactéricides.

3.2.4. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances d'origines naturelles, hémi-synthétiques ou synthétiques capables d'inhiber la croissance ou d'entraîner la mort des bactéries. Ils ont une activité sélective et spécifique liée à un mécanisme d'action précis. Ce sont les principales armes médicamenteuses les plus efficaces utilisées contre les infections bactériennes.

Cependant, la prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la création des souches multi-résistantes. Il est donc important d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et, surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de médicaments (Billing et Sherman, 1998).

Notre travail consiste à l'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits de *Moringa oleifera* Lam, de la région d'Adrar, notre stage s'est déroulé durant 4 mois allant de Mars à Juin.

Le screening phytochimique a été réalisé au niveau du laboratoire des Projets de Fin d'Etudes, université de Blida 1.

L'extraction des polyphénols et des flavonoïdes a été réalisée au niveau du Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides (LRZA), à la faculté de Biologie, Université des Sciences et Technologies Houari Boumediene.

L'extraction des alcaloïdes et l'étude de l'effet antioxydant des extraits flavoniques ont été réalisées au niveau laboratoire de recherche des plantes aromatique (LRPAM) au département d'agronomie, Université de Blida1.

L'étude de l'effet antimicrobien des extraits aqueux, flavoniques et des alcaloïdes a été réalisée au niveau du laboratoire d'hygiène de Blida.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

L'étude a porté sur les feuilles et les racines de *M. oleifera* Lam récoltés de la région d'Adrar durant le mois de Mars 2016.

1.2. Souches microbiennes

Les souches microbiennes utilisées pour étudier l'effet antibactérien et antifongique des extraits des feuilles et des racines de *M. oleifera* Lam appartiennent à quatre genres, dont trois sont des souches bactériennes référentielles de l'American Type Culture Collection (ATCC), il s'agit de: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25293), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853). Par contre, la quatrième souche est une levure, *Candida albicans*. Ce matériel nous a été fourni par le laboratoire d'hygiène de Blida.

2. Méthodes

L'échantillonnage a été réalisé de manière aléatoire durant le mois de Mars 2016, à la station de Ouled Aissa, dans la région d'Adrar (27°54 Nord, 00°17 à l'Ouest de l'Algérie) (Fig.3), par une matinée ensoleillée à une température de 30°C.

Les organes étudiés ont été séchés à température ambiante, à l'air libre et à l'ombre pendant une semaine. Par la suite, ils ont été broyés, par un broyeur électrique. La poudre ainsi obtenue est conservée dans des sacs en papier en vue de leur utilisation ultérieure.

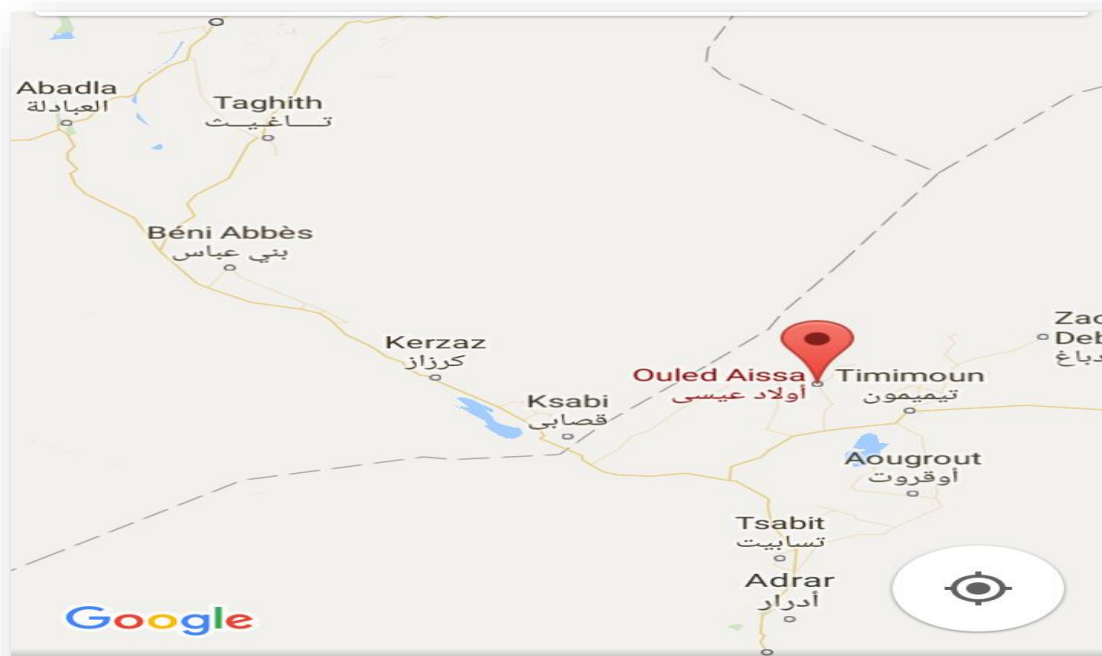


Figure 5. Localisation de la région d'échantillonnage (www.google map).

2.1. Screening phytochimique

Ce test est qualitatif, il est effectué soit sur le broyat, soit sur un infusé (Bouyer, 1996). Il constitue la première étape dans la recherche des molécules à activités thérapeutiques, et basé sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation.

Mode opératoire

A 10 g de poudre végétale, on a ajouté 100 ml d'eau distillée bouillante. On a laissé infuser pendant 15 min avec agitation de temps en temps et enfin nous avons filtré.

➤ Les anthocyanes

A 5 ml de l'infusé, on a ajouté quelques gouttes d'ammoniaque $\frac{1}{2}$. L'apparition d'une couleur rouge, indique la présence des anthocyanes.

➤ Les tanins :

A 5 ml d'infusé, on a ajouté quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 5%. La réaction donne une coloration bleu noir en présence des tanins.

✓ Les tanins catéchiques

On a additionné 7 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40% et 5 ml d'HCl concentré) à 15 ml de l'infusé. La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchiques.

✓ Les tanins galliques :

A 5 ml de l'infusé, on a ajouté 2 g d'acétate de Sodium et quelques gouttes de F_eCl_3 . La réaction donne une coloration bleue foncée en présence des tanins galliques.

➤ Les flavonoïdes

A 5 ml d'infusé, on a additionné 5 ml d'HCl, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool isoamylique. La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

➤ Les alcaloïdes

A 1g de poudre végétal, on a ajouté 10 ml d'acide sulfurique (10%). Après 2 mn d'agitation nous avons filtré. Au filtrat, on a ajouté 2 gouttes du réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité rouge orangé indique la présence des alcaloïdes.

➤ Les glucosides

A 2 g de poudre végétale, on a ajouté quelques gouttes d'acide sulfurique. La formation d'une coloration rouge brique qui vire ensuite au violet indique la présence des glucosides.

➤ Le mucilage

A 1ml de l'infusé, on a ajouté 5ml d'éthanol absolu. L'obtention d'un précipité floconneux indique la présence de mucilage.

➤ Les saponines :

A 2 ml de l'infusé, on a ajouté 1 ml d'eau distillée, la solution est fortement agitée. Le mélange est laissé pendant 20 mn et la teneur en saponosides est estimée en mesurant la hauteur de la mousse :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de plus de 2 cm = test fortement positif
- Mousse de 1 à 2 cm = test positif (Trease et Evans, 1987).

2.2. Extraction des polyphénols

La méthode d'extraction des polyphénols est basée sur le protocole décrit par Singleton et Rossi (1965).

5g de poudre végétale sont macérés dans 150 ml d'eau distillée pendant 24 h, sous agitation magnétique permanente (agitateur de type ANNOVA 2300). Ensuite, nous avons filtré sur du papier Wattman. Le macérât a servi pour tester l'activité antimicrobienne (Annexe 2).

2.3. Extraction des flavonoïdes

2.3.1 Extraction des aglycones flavoniques et des anthocyanes

La technique utilisée a été mise au point par (Bath Smith, 1954), reprise par (Lebreton et al., 1967) et enfin améliorée par (Laracine, 1984) (Fig. 4).

Mode opératoire

1 g de matière végétale est mis en suspension dans 80 ml d'HCL à 2 N. Après 5 minutes de contact à froid, le mélange est porté dans un bain marie à 100°C, pendant 40 minutes. Nous procédons à des insufflations d'air toutes les 10 minutes. Après refroidissement, les extraits sont filtrés pour éliminer les traces de la matière végétale.

Deux décantations à l'éther diéthylique (30 / 30) sont réalisées. À chaque décantation, deux phases sont obtenues (Annexe 9) :

- Hypophase (phase aqueuse) contenant les anthocyanes (anthocyanidines), de couleur rouge orangé selon les échantillons.
- Epyphase (phase organique) de couleur jaune vert contenant les aglycones flavoniques .

Celle-ci est récupérée dans des petits Béchers, puis mise à évaporer à l'air libre, pendant 24 h. Après évaporation, les aglycones flavoniques sont récupérés par 3 ml d'éthanol à 96 °, dans des tubes à essai et conservés à froid.

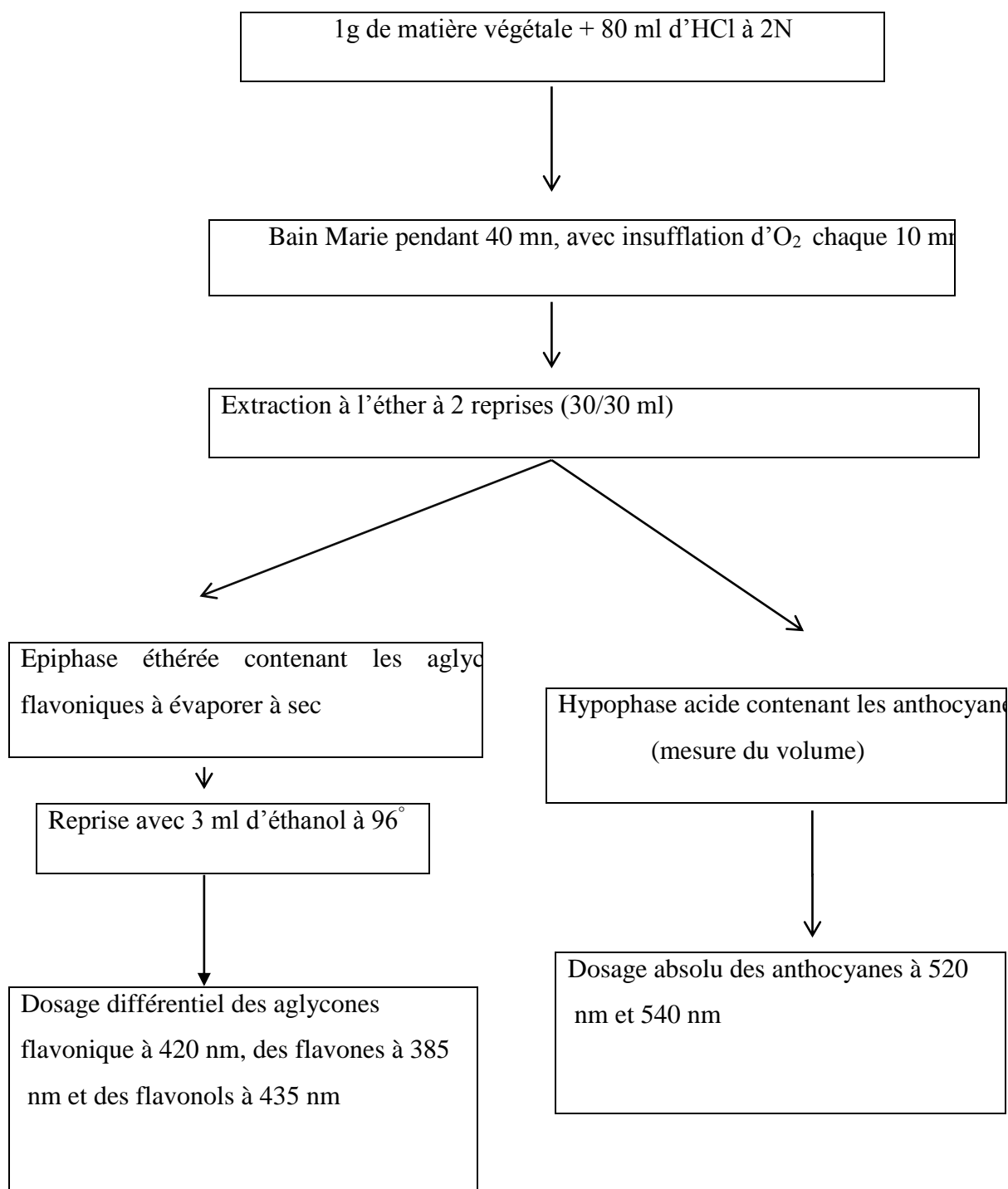


Figure 6. Méthodes d'extraction et de dosage des anthocyanes et des aglycones flavoniques des feuilles et des racines de *M. oleifera* Lam (Laracine, 1984).

2.3.2. Dosage des anthocyanes

Après la mesure de volume totale de la phase aqueuse contenant les anthocyanes, ces derniers sont dosés juste après au spectrophotomètre de type « JENWAY 6305 UV / VIS » (Annexe 5), aux longueurs d'onde 520 et 540 nm.

La teneur absolue en anthocyanidines (T) est exprimée en mg de cyanidines /g mvs de et donnée par la formule suivante :

$$T = 5.2 \times 10^{-2} \times DO \times V/p \times d$$

DO : densité optique à la longueur d'onde maximale, comprise entre 520 et 540 nm dans la phase aqueuse.

V : volume de la phase aqueuse mesuré.

d : facteur de dilution.

P : poids sec de matière végétale sèche en g.

2.3.3. Dosage des aglycones flavoniques

Pour déterminer la teneur en aglycones flavoniques, nous procédons à la méthode du dosage différentiel spectrophotométrique. Ce dernier fait intervenir les propriétés chélatantes du chlorure d'aluminium $AlCl_3$ à 1% en solution dans l'éthanol à 96°.

Le dosage est basé sur deux dilutions :

- La 1^{ère} dilution se fait dans de l'éthanol (2,9 ml d'éthanol + 0,1 ml de l'extrait éthanolique).
- La 2^{ème} dilution se fait dans la solution d' $AlCl_3$ (2,9 ml d' $AlCl_3$ + 0.1 ml de l'extrait éthanolique), laissées en contact pendant 10 minutes.

Le dosage mesuré à une longueur d'onde de 420 nm pour les aglycones flavoniques totaux, 435 nm pour les flavonols et 385 nm pour les flavones.

La hauteur du pic différentiel des deux solutions est proportionnelle à la concentration en aglycones flavoniques.

La teneur (T) en aglycones flavoniques et flavonols exprimée en quercétine et flavones exprimée en lutéoline est calculée par la formule suivante :

$$T = 1.3 \times 10^{-2} \times \Delta DO \times V/P \times d.$$

ΔDO : Densité optique du pic différentiel (DO AlCl₃-DO EtOH.).

V : Volume de la solution éthanolique d'aglycones flavoniques.

d : Facteur de dilution.

P : Poids sec de matière végétale sèche en g.

2.4. Extraction des alcaloïdes

Nous avons suivi la méthode décrite par Cahlíková et *al.*, (2011) et NIU Wei et *al.*, (2012).

Mode opératoire :

- Macérer 45g de matière végétale sèche frais dans 150 ml d'Ethanol absolue à température ambiante, sous agitation pendant 24h, puis filtrer.
- Le filtrat récupéré est évaporé sous pression réduite à 60°C par un Rotavapor de type BÜCHI Rotavapor R-20.
- L'extrait sec obtenu est dissous dans 10 ml d'HCl (2%), sous agitation pendant 15 min, puis filtrer.
- 15ml de diétyl éther sont rajoutés au filtrat. Le tout est agité durant 30 min, après lesquels, nous avons procédé à la première décantation. Deux phases se forment, l'épiphase (éliminée) et l'hypophase, qui est récupérée.
- Nous avons appliqué deux autres décantations à la phase récupérée selon la même méthode avec 5 min d'agitation, afin d'éliminer les composés neutres.
- La solution récupérée est basifiée par 15 ml d'ammoniac à 25 %.

- 15 ml d'acétate d'éthyle sont additionnés à la solution précédente. Le tout est agité pendant 10 min, puis laisser décanter. L'hypophase est dans ce cas éliminée et l'épiphase qui est récupérée. Comme précédemment, nous avons suivi les mêmes étapes pour deux les autres décantations, avec 5 min d'agitation.
- Le filtrat récupéré est évaporé sous pression réduite à 60°C.

L'extrait alcaloïdique récupéré (avec une petite quantité de solvant) est filtré dans un tube à essai (préalablement pesé). Le tube, est mis dans le bain marie à 60°C pour évaporer le reste du solvant. Ainsi nous obtenons les alcaloïdes totaux.

2.4.1. Calcul de la teneur en alcaloïdes totaux

La teneur (T) en alcaloïdes totaux, exprimée en mg/g de matière végétale sèche, est calculée selon la formule suivante :

$$T = \frac{P - P_0}{ms}$$

Où

P : poids du tube à essai avec extrait.

P₀: poids du tube à essai à sec.

ms : matière végétale sèche.

2.5. Les activités biologiques

2.5.1. Activité antimicrobienne

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits des feuilles et des racines, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) qui a pour but de déterminer la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique (Burnichon et texier, 2003).

***Il est à noter que la préparation de l'inoculum a été faite par le personnel du laboratoire.**

2.5.1.1. Conservation des souches

Les souches ont été conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive).

2.5.1.2. Préparation des disques

Des disques de papier buvards stériles de 9 millimètres de diamètre sont mis dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 30 minutes, à 120°C et conservés jusqu'à utilisation.

2.5.1.3. Préparation des dilutions des extraits

Nous avons préparé une gamme de concentrations des extraits (flavoniques et alcaloïdes) par dissolution de ces derniers dans le diméthylsulfoxyde (DMSO).

Ces concentrations varient de 10 à 20 mg ml⁻¹ pour l'extrait flavoniques. Pour les alcaloïdes la gamme de concentration est de 25,30, 50 et 100 µg ml⁻¹.

Nous avons opté pour la concentration (20 mg/ml) pour l'extrait aglyconique et (30 µg/ml) pour les alcaloïdes.

2.5.1.4. Préparation des milieux de culture

Nous avons utilisé la gélose Mueller-Hinton comme milieu de culture pour les bactéries et le milieu Sabouraud pour les levures. Ces derniers ont été coulés dans des boîtes de pétrie stériles, dans un milieu stérile en présence de bec benzen. (Annexe 11)

2.5.1.5. Ensemencement

Nous avons trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ou levure, tout en pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum et nous l'avons frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas avec répétition de l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois, en faisant pivoter l'écouvillon sur lui-même et de le passer sur la périphérie de la gélose. (Annexe 12)

2.5.1.6. Dépôt des disques

À l'aide d'une pince stérile nous avons déposé les disques imprégnés de différentes solutions des extraits à la surface du milieu ensemencé.

Nous avons utilisé des disques témoins négatifs imbibés par le DMSO et des témoins positifs : l'antibiotique Gentamicine 80 mg /2 ml, et l'antifongique Fluconazole 50 mg.

2.5.1.7. Incubation

Les boîtes sont laissées 1 h à température ambiante puis retournées et incubées à 37±1°C pendant 18-24 h pour les bactéries, à 30±1 °C pendant 24-48 h pour les levures.

2.5.1.8. Lecture des résultats

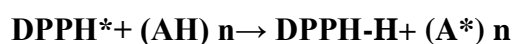
Les diamètres des zones d'inhibition (ZI) apparues sous formes de halos claires autour des disques sont mesurés (Choi et *al.*, 2006), à l'aide d'une règle graduée. (Annexe 13).

D'après Chifundera et *al.*, (1990), les intervalles de la zone d'inhibition sont interprétés comme suit :

- $ZI < 9$ mm : souche résistante
- $10 \leq ZI < 15$ mm : souche sensible
- $16 \leq ZI < 20$ mm : souche sensible intermédiaire.
- $ZI > 20$ mm : souche très sensible.

2.5.2. Activité antioxydante

Le radical DPPH· est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante (Kanoun, 2011). Il est de couleur violette, et présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm. Cette couleur vire au jaune lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002), selon la réaction suivante:



Où:

(AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (Brand-William et *al.*, 1995).

Mode opératoire

Cette activité a été étudiée selon la méthode décrite par Brand et al. (1995).

Nous avons récupéré les extraits de *M. oleifera* Lam avec le même volume du méthanol. Pour chaque extrait, nous avons préparé des dilutions de (0,8 mg/ml ; 0,6 mg/ml ; 0,4 mg/ml et 0.2 mg/ml).

Une solution méthanolique de DPPH est préparée en mélangeant 4mg de DPPH et 100 ml de méthanol.

A 100 µl de chaque dilution de l'extrait considérée, nous avons rajouté 2 ml de la solution de DPPH. En parallèle, un témoin positif, représenté par l'acide ascorbique est préparé selon le même protocole.

Les tubes sont incubés à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 mn, après lesquelles l'absorbance est mesurée à 517 nm.

Les résultats sont exprimés en tenant compte de la moyenne de trois mesures obtenues.

Pour chaque extrait, nous avons déterminé la concentration du substrat causant la perte de 50% de l'activité du DPPH : la IC₅₀ (Samarth et al., 2008).

2.5.2.1. Expression des résultats

Pourcentage d'inhibition (PI)

Selon sharififar et al. (2007), l'inhibition du radical DPPH exprimée en pourcentage (I%) est calculée par la formule suivante :

$$PI\% = (Abs\ c - Abs\ d) / Abs\ c \times 100$$

Avec :

Abs c : Absorbance du contrôle.

Abs d : Absorbance pour chaque dilution.

Un autre paramètre est introduit pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire, la IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50%) ou la EC₅₀ (Efficient concentration 50), qui représente la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement en représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testées, selon la formule suivante :

$$Y = a x + b$$

1. Screening phytochimique

Les résultats du screening phytochimique sont reportés dans le tableau 1 :

Tableau 1. Résultats des tests phytochimiques effectués sur des feuilles et racines de *M. oleifera* Lam.

Organes Métabolites II	Feuilles	Racines
Anthocyanes	+	+
Tanins	+	+
Tanins catéchiques	+	+
Tanins galliques	+	+
Flavonoïdes	+	+
Alcaloïdes	+	+
Glucosides	+	+
Mucilage	+	+
Saponines	-	-

+ : Présence

- : Absence

Le tableau 1 montre que : (Annexe 8)

Le screening phytochimique des feuilles et des racines de *M oleifera* Lam nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaire (Tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, glucosides, mucilage, saponines, anthocyanes) et l'absence des saponines.

La mise en évidence de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation, un changement de couleur (Kanoun, 2011).

La présence des flavonoides dans les feuilles et d'alcaloïdes dans les racines de *M oleifera* Lam à été également mise en évidences par Siddhuraju et Becker (2003) et Kasolo et al.(2010), respectivement au Bénin et dans la région d'Uganda.

Cette analyse phytochimique a permis de déterminer qualitativement les composés non nutritifs mais biologiquement actifs qui confèrent la saveur, la couleur et d'autres caractéristiques à la plante. En effet, le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux (Mohammedi, 2013).

L'ensemble des groupes chimiques ainsi identifiés, ayant des propriétés pharmacologiques diverses (Ouedraogo, 2001), justifient l'utilisation multiple de *M.oleifera* Lam en thérapeutiqueet, de l'autre côté, pour se défendre et pouvoir subsister aux contraintes imposées par le climat et le milieu en zones arides (Rira, 2006). En effet, Les flavonoïdes jouent un rôle dans la coloration des végétaux (Ribéreaugayon et Reynaud, 1968), protègent les plantes contre le stress hydrique et génère une tolérance des plantes aux métaux lourds présents dans les sols. Plusieurs effets pharmacologique sont attribués aux flavonoïdes notamment dans la protection des aliments d'origine végétale de l'oxydation, ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti radriculaire (Makhloufi, 2010).

Les tanins, sont connus pour donner un goût amer aux plantes notamment l'écorce ou aux feuilles et les rendent ainsi impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (Eberhard et *al.*, 2005). Ils sont également produits en réponse à un stress environnemental, suscité par différents facteurs: déficience en éléments nutritifs, sécheresse, températures élevées et l'intensité lumineuse (Rira, 2006).

Aux alcaloïdes, diverses activités biologiques le sont attribuées (Milcent et Chau, 2003). A faibles doses, ils sont d'anesthésiques locaux, analgésique, antibiotiques, antiparasitaires, antipaludique, anti-tumoraux et amoebicides (Chenni, 2010).

2. Dosage des anthocyanes et des aglycones flavoniques

Les teneurs absolues et différentielles exprimées en milligramme de cyanidine pour les proanthocyanes, de lutéoline pour les Cglycosylflavones et de quercetine pour les aglycones flavoniques par gramme de matière végétale sèche sont calculées a la suite de dosages effectués a des longueurs d'ondes maximales pour chaque type d'extrait natif de la plante. Les teneurs en anthocyanes et en aglycones flavoniques sont représentées dans la figure 7.

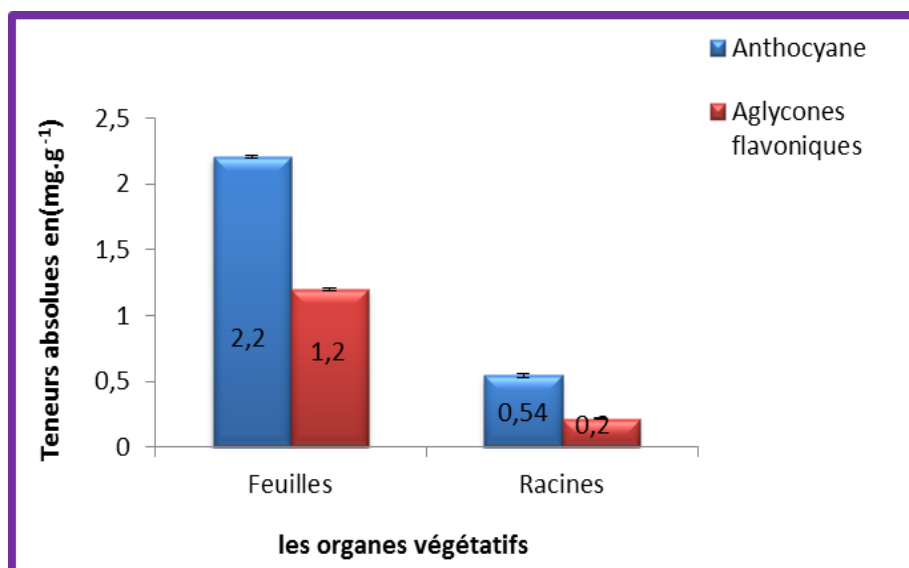


Figure 7. Teneurs absolues exprimées en mg.g^{-1} MVS des anthocyanes et aglycones flavoniques des feuilles et racines de *M. oleifera* Lam.

La figure 7 montre que les teneurs en anthocyanes sont plus importantes dans les deux organes par rapport aux aglycones flavoniques. Néanmoins, ce sont les feuilles qui sont les plus riches en anthocyanes et aglycones flavoniques par rapport aux racines avec respectivement des teneurs de l'ordre de $2,2 \pm 0,009 \text{ mg g}^{-1}$ et $1,2 \pm 0,01 \text{ mg g}^{-1}$ de MVS. Pour ce qui concerne les aglycones flavoniques, les teneurs des flavones et flavonols sont représentées dans la figure 8.

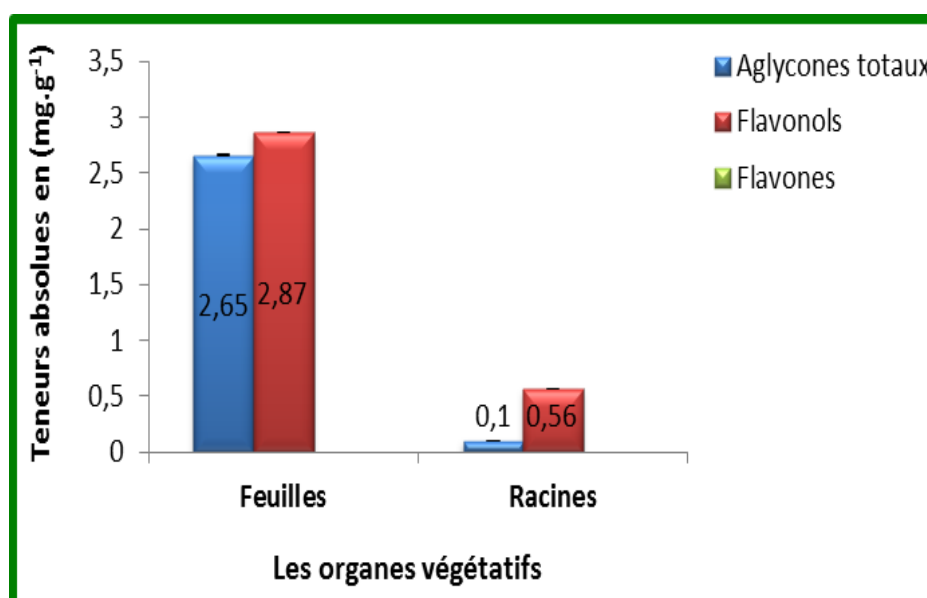


Figure 8. Teneurs absolues exprimées en mg.g^{-1} de MVS des aglycones totaux, flavones et flavonols des feuilles et racines de *M. oleifera* Lam.

Ce sont les feuilles qui sont les plus riches en aglycones flavoniques par rapport aux racines avec une teneur moyenne de $2,65 \pm 0,01 \text{ mg g}^{-1}$ MVS. Les flavonols sont les composés majoritaires par rapport aux flavones dans les deux organes analysés avec une teneur de l'ordre de $2,87 \text{ mg} \pm 0$ dans les feuilles et de $0,56 \pm 0,003 \text{ mg g}^{-1}$ MVS dans les racines. Néanmoins les flavones, sont absents dans les deux organes.

Ces résultats sont proches de ceux obtenus par (Millogo-Koné et al., 2012) qui ont travaillé sur les feuilles de *M. oleifera* Lam de Burkina Faso.

Cette inégale répartition des flavonoïdes pourrait s'expliquer par le fait que les feuilles sont plus exposées à l'ensoleillement que les racines. En effet, les flavonoïdes assurent la protection des tissus de la plante contre les effets nocifs du rayonnement solaire (Gehin et al., 2006).

Aussi, la distribution de métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante ; ceci peut être liée aux conditions climatiques dures (la température, l'exposition solaire, la sécheresse et la salinité), qui stimulent la biosynthèse de métabolites secondaires notamment les polyphénols et les flavonoïdes (Falleh et al., 2008)

3. Teneurs des alcaloïdes

Les résultats des teneurs en alcaloïdes exprimées en mg g^{-1} de MVS sont consignés dans la figure 9.

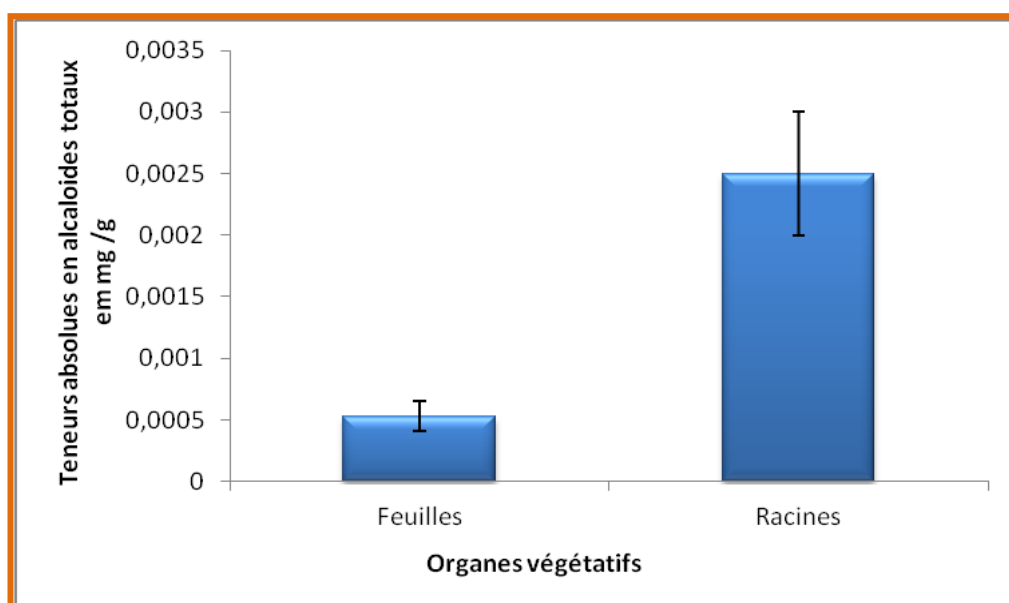


Figure 9. Teneurs en alcaloïdes exprimées en mg/g mvs des feuilles et des racines de *M. oleifera* Lam.

Au vu des résultats, nous constatons que les alcaloïdes existent sous forme de traces dans les deux organes analysés. Cependant, ce sont les racines qui présentent des teneurs les plus élevées, de l'ordre de $0.0025 \pm 0.0005 \text{ mg g}^{-1}$ par rapport aux feuilles qui présentent une teneur de $0.00053 \pm 0.00012 \text{ mg g}^{-1}$.

La différence des teneurs en alcaloïdes entre les deux organes végétatifs est probablement due soit au jeune âge de la plante qui n'a pas encore fini d'élaborer les étapes importantes de son métabolisme secondaire (Badiaga, 2012), ou encore à leur concentration au niveau des racines, qui représentent leur lieu de synthèse (Rakotonanahary, 2012). Même sous forme de traces, les alcaloïdes assurent certaines fonctions pharmacologiques marquées : anesthésiques locaux, analgésique, antibiotiques, antiparasitaires, antipaludique, anti-tumoraux et amoebicides (Chenni, 2010).

4. Les activités biologiques

4.1. L'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des extraits obtenus à partir des feuilles et des racines de *M. oleifera* Lam (extrait aqueux, aglycones flavoniques et alcaloïdes) a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque. Cette méthode permet de déterminer l'action des différents extraits dissouts dans le DMSO vis-à-vis des différentes souches microbiennes, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait.

Les résultats de l'évaluation antimicrobienne des extraits sont repris ci-dessous (tableaux 4 et 5). Dans ces tableaux sont présentées les valeurs en (mm) des zones ou diamètres d'inhibition de la croissance microbienne.

Tableau 2. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne des extraits aqueux et flavoniques des feuilles et des racines de *M. oleifera* Lam.

Concentrations (mg/ml)	Extraits	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			Normes selon Chifundra et al. (1990) Diamètre d'inhibition	
		Bactérie Gram +	Bactéries Gram -			Levure
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Candida albican</i>
	Flavonique feuilles	11.5 ± 0.5	12.25 ± 0.4	10.75 ± 0.43	/	Entre 0-9 mm : Souche résistante
	Flavonique	11,25 ± 0,4	12 ± 1,2	10 ± 0	/	

Résultats et discussions

20	racines					Entre 10-15 mm : Souche sensible entre 16-20 mm : souche Sensible intermédiaire Plus de 20 mm : souche très sensible
	aqueux feuilles	12,5 ± 0,5	/	/	/	
	Aqueux racines	11,5 ± 0,5	/	/	/	
	Antibiotique	24 ± 3	37,5 ± 2,5	34 ± 1	/	
	Antifongique	/	/	/	19 ± 1	
	Flavonique feuilles	/	11,25 ± 0,8	/	/	
10	Flavonique racines	/	10,75 ± 0,8	/	/	
	aqueux feuilles	/	/	/	/	
	aqueux racines	/	/	/	/	
	Antibiotique	26,5 ± 0,5	33 ± 1,4	30 ± 0,5	/	
	Antifongique	/	/	/	20,5 ± 0,5	

Antibiotique : Jentamicine

Antifongique : Fluconazole

Les résultats obtenus ont montré qu'à la concentration 20 mg/ml, toutes les souches bactériennes testées sont sensibles aux extraits flavoniques des feuilles et des racines de *M. oleifera* Lam avec des zones d'inhibition variant entre 10,75 ± 0,43 mm et 12,25 ± 0,4 mm pour l'extrait des feuilles et entre 10 et 12 ± 1,2 mm pour les racines, mais elles sont résistantes aux extraits aqueux sauf *Staphylococcus aureus* qui est sensible avec une zone d'inhibition de 12,5 ± 0,5 mm pour les feuilles et 11,5 ± 0,5 mm pour les racines.

Cependant à la concentration 10 mg/ml toutes les souches bactériennes sont résistantes aux extraits flavoniques et aqueux sauf *E coli* qui est sensible aux extraits flavoniques avec une zone d'inhibition de 11,25 ± 0,8 mm pour les feuilles et 10,75 ± 0,8 mm pour les racines. Par ailleurs, la levure *Candida albicans* s'est avérée résistante à tous les extraits.

Résultats et discussions

Tableau 3. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne des alcaloïdes des feuilles et racines de *M oleifera* Lam.

Concentrations µg/ml	Extraits des alcaloïdes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)				Normes selon Chifun-dra et al. (1990) Diamètre d'inhibition :
		Bactérie Gram +	Bactérie gram-		Levure	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	
100	Feuilles	/	10	/	/	Entre 0-9 mm : Souche résistante
	Racines	/	/	/	/	
	Antibiotique	23	31	26	/	
	Antifongique	/	/	/	23	
50	Feuilles	/	/	/	10	entre 10-15 mm : Souche sensible
	Racines	/	/	/	/	
	Antibiotique	24	28	25	/	entre 16-20 mm : souche Sensible intermédiaire
	Antifongique	/	/	/	14	
30	Feuilles	12	11	/	/	Plus de 20 mm : souche très sensible
	Racines	11	10	/	/	
	Antibiotique	22	28	24	/	
	Antifongique	/	/	/	10	
25	Feuilles	10	10	10	/	
	Racines	/	/	/	/	
	Antibiotique	22	31	25	/	
	Antifongique	/	/	/	10	

Selon les résultats du tableau 03, toutes les souches microbiennes ont présenté une résistance aux alcaloïdes des feuilles et des racines aux concentrations 100 et 50 µg/ml ; néanmoins *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* se sont montrés sensibles à la concentration 30 µg/ml. À la concentration 25 µg/ml les souches bactériennes sont sensibles juste aux alcaloïdes des feuilles.

A partir de ces résultats, nous pouvons dire que les alcaloïdes des deux organes végétatifs analysés pourraient constituer une source potentielle de nouveaux antibiotiques grâce à leur effet antimicrobien, qui pourrait être dû à la présence de principes actifs notamment la ptérygospermine qui est un agent antibactérien et anti fongique puissant , extrait par Raj et al.(2011), dans la racine de *M. oleifera* Lam.

Pour ce qui est de l'extrait aqueux, nos résultats rejoignent ceux de (Millogo-Koné et al.,2012) qui ont montré l'efficacité de l'extrait aqueux des feuilles de *M. oleifera* Lam de Burkina Faso contre plusieurs bactéries testées.

Pour les aglycones flavoniques, nous n'avons pas trouvé des résultats sur leur activité antimicrobienne. Ces aglycones flavoniques font partie des flavonoïdes qui possèdent des activités antimicrobiennes (Bruneton, 2009).

par contre, nos extraits n'ont pas montré d'activité antifongique, ce qui s'oppose aux résultats de Millogo-Koné et al.,2012 qui ont obtenu des résultats efficaces contre le *Candida albicans* et qui sont même plus efficace comparativement aux bactéries.

4.2. L'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits flavoniques des feuilles et des racines de *M. oleifera* Lam vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par un spectrophotomètre et mesurée à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (Majhenic et al.,2007).

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits de feuilles et racines de *M. oleifera* Lam ainsi que celle de l'acide ascorbique sont configurés dans la figure 10.

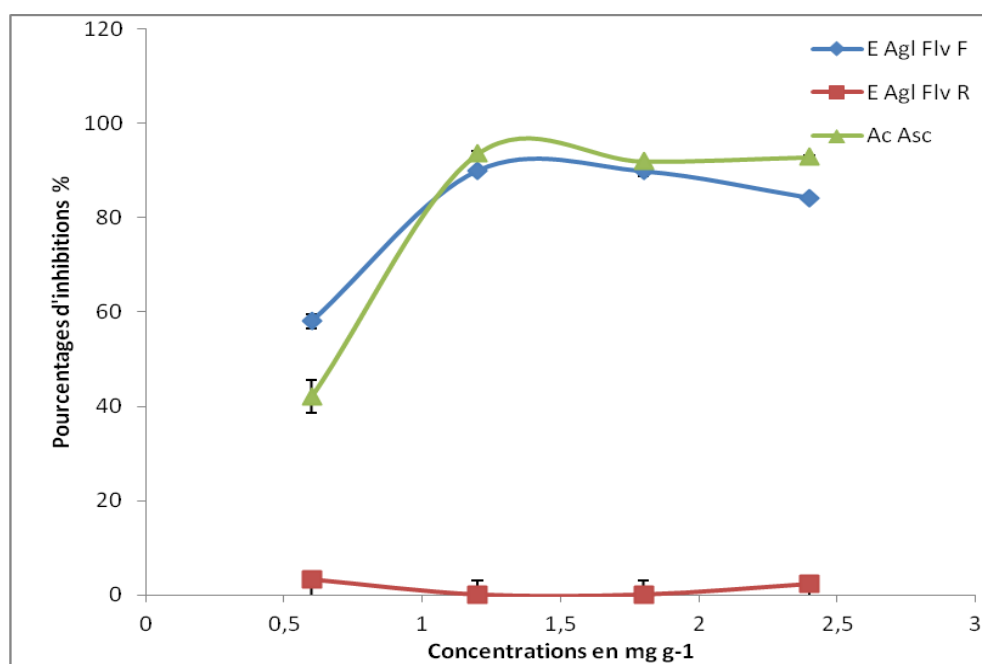


Figure 10. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits de feuilles et racines de *M. oleifera* Lam et de l'acide ascorbique.

Au vu des résultats, nous constatons qu'à la plus faible concentration (0.6 mg/ml), l'extrait flavonique des feuilles de *M. oleifera* Lam présente une meilleure activité antioxydante que l'acide ascorbique, mais au plus fortes concentrations (1.2mg/ml ; 1.8mg/ml ; 2.4mg/ml), la solution de référence (d'acide ascorbique) présente un pouvoir antioxydant supérieur à celui de l'extrait flavonique des feuilles de *M. oleifera* Lam , Cependant l'extrait flavonique des racines n'a pas présenté une activité antioxydante remarquable.

L'analyse chimique des feuilles de *M.oleifera* Lam confirme donc l'existence de propriétés antioxydantes révélées par le test DPPH. Ceci est lié à la richesse de *M.oleifera* Lam en polyphénols surtout en flavonoïdes, ces derniers sont des composés phénoliques connus par leurs activités anti-oxydantes et antiradicalaires (Barreca et *al.*, 2011 ; Osuagwn ; Eme, 2013). En effet, ces derniers peuvent être des capteurs puissant des radicaux libres (peroxydes) et peuvent aussi désactiver les espèces oxygénées réactives (ion superoxyde, radical hydroxyle, oxygène singulet) (Monica et *al.*, 2010). L'action de ces antioxydants est supposée d'être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes (Le et *al.*, 2007).

Conclusion

Le présent travail a porté sur l'évaluation de quelques activités biologiques des extraits d'une espèce médicinale *M. oleifera* Lam, de la famille des Moringaceae, espèce introduite dans les zones arides du Sahara Algérien et plus particulièrement dans la région d'Adrar.

Le screening phytochimique effectué sur les feuilles et les racines a permis de mettre en évidence diverses classes de métabolites secondaires : les flavonoïdes, les anthocyanes, les alcaloïdes, les tanins (catéchiques et galliques), les mucilages, les glucosides. Cependant, les saponines se sont avérées absentes. La présence de ces composants est liée à leur rôle important dans les réponses des plantes aux stress environnementaux ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux.

Les teneurs en anthocyanes et en aglycones flavoniques (flavones, flavonols) sont nettement plus importantes au niveau des feuilles par rapport aux racines, avec respectivement des valeurs moyennes de l'ordre de $2,2 \pm 0,009$ mg g⁻¹ de MVS pour les anthocyanes et de $1,2 \pm 0,01$ mg g⁻¹ MVS pour les aglycones flavoniques. Les flavonols restent le groupe le plus dominant des aglycones flavonique, avec une teneur moyenne de l'ordre de $2,87 \pm 0$ mg g⁻¹ MVS dans les feuilles. Cependant, les flavones demeurent absentes dans les deux organes analysés.

Le dosage des alcaloïdes a montré que leurs teneurs est également plus importante au niveau des racines de *M.oleifera* Lam, avec une valeur moyenne de l'ordre de 0.0025 ± 0.0005 mg g⁻¹ de MVS.

L'activité antioxydante des extraits flavoniques des feuilles et des racines de *M. oleifera* Lam été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats ont montré que l'extrait des feuilles possède une activité antioxydante très importante avec un pourcentage d'inhibition maximum de l'ordre de $90,06 \% \pm 0,84$, à une concentration de $1,2$ mg ml⁻¹, tandis que les racines n'ont pas montré une activité remarquable.

L'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) a été déterminée sur trois souches bactériennes (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25293), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853)). et une levure (*Candida albicans*), selon la méthode de diffusion sur disque. Les résultats indiquent que l'extrait flavonique possède une meilleure activité antibactérienne vis à vis les souches testées, avec des zones d'inhibition variant entre $10,75 \pm 0,43$ mm et $12,25 \pm 0,4$ mm pour l'extrait des feuilles et

entre 10 et $12 \pm 1,2$ mm pour les racines, alors que l'extrait aqueux est efficace contre une seule souche bactérienne (*Staphylococcus aureus*) avec une zone d'inhibition de $12,5 \pm 0,5$ mm pour les feuilles et $11,5 \pm 0,5$ mm pour les racines.

Par ailleurs, l'extrait des alcaloïdes des feuilles et des racines s'est avéré efficace contre *Escherichia coli* avec des zones d'inhibition de (11 et 10 mm) et *Staphylococcus aureus* (12 et 11 mm). Cependant, seule la levure, *Candidat albicans* s'est avérée résistante à tous les extraits.

Ces résultats, suggèrent que *M.oleifera* Lam pourrait représenter une source naturelle et prometteuse de molécules chimiques qui possède des activités biologiques très importantes.

L'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, il est souhaitable de :

- ✓ compléter ce travail par la purification et l'identification de diverses molécules isolées, en utilisant des techniques chromatographiques, spectrales et spectrophotométriques.
- ✓ élargir d'un côté le panel des tests des activités et de l'autre côté, évaluer et tester les différents molécules isolées afin d'y trouver une application pharmaceutique.

Références bibliographiques

- BABAR ALI M., HAHN E.J., PAEK K.Y., 2007.** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in Panax ginseng Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molécules*. 12: 607-621.
- BAHORUN T., GRESSIER B., TROTIN F., BRUNET C., DINE T., LUYCKX M., VASSEUR J., CAZIN M., CAZIN J. C., PINKAS M., 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*. 46: 1086-1089.
- BARROS L., CARVALHO A. M., FERREIRA I. 2010.** Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food and Chemical Toxicology*. 48 (6): 1466-1472.
- BATE-SMITH E, 1954.** The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. *J. Linn , Soc. of London , 58 (371) p 95.*
- BEDIAGA M., 2011.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali . thèse de doctora. Universit de bamako . 10p.
- BENBRINIS S., 2012.** Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Thèse de Magister en biochimie. Université Ferhat Abbas-Sétif. Algérie. 84p.
- BILLING J. et SHERMAN P.W., 1998.** Antimicrobial function of spices. *Quarterly Review of Biology*. 73: p.49.
- BOIZOT N et CHARPENTIER J.P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. pp79-82.
- BOROS B., JAKABOVA S., DORNYEI A., HORVATH G., PLUHARE Z., KILAR F., FELINGERA A. (2010).** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*. p1217, 7972–7980.

Références bibliographiques

- BOUDJOUREF M., 2011.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 99 p.
- BOUYER J, 1996.** Méthodes statistiques, médecine biologique, 139p
- BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E., and BERSET C. 1995.** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28: 25-30.
- BRUNETON J, 1993.** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.* Technique et documentation. Ed. Lavoisier, Paris, 915 p.
- BRUNETON J, 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Ed. Tec & Doc. Paris. France. 1288 p.
- BRUNETON, J, 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3^{ème} Ed Techniques et documentations. Paris. 1288p.
- CHENNI M., 2010.** Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : *Bryonia dioica* Jacq. Thèse de Magister. Université d'Oranes-Senia, Oran. Algérie. 138 p.
- CHOI Y.M., NOH D.O., CHO S.Y., SUH H.J., KIM K.M., AND KIM J.M. (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT.* **39:**756-761.
- COENE I , 2004.** Les antioxydants et l'alimentation, nutrition information center NICE, Symposium, 23 Octobre 2004, Bruxelles, Belgique. *Nutrinews*, N°4.
- CYRIL T, 2001.** Etude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. 28p.
- DEAN F M, 1963 .** *Natural occurring Oxygen Ring Compounds*, Buttrworths. Londres.
- EBERHARD T., ROBERT A., ANNE LISE L, 2005.** Plantes aromatiques, épices aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 521p.

Références bibliographiques

FAVIER A, 2003. Le Stress Oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité Chimique*, novembre-décembre : 108-115.

FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C., MACHEIX J.J, 2005 . Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* : 121-216.

FOIDL N., MAKKAR H.P.S.et BECKER K, 2001. Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie, 39p. Disponible sur <http://www.moringanews.org>.

FUGLIE J, 2002. Noms vernaculaires du *Moringa oleifera* (163-167) In : L'arbre de la vie, Les multiples usages du Moringa.-Wageningen : CTA; Dakar: CWS.-177p.

FUGLIE L.J, 2001. Le *Moringa*: une arme dans la lutte contre la malnutrition, Church World Service, Bureau Régional de l'Afrique de l'Ouest, 4p. Disponible sur <http://www.moringanews.org>.

GEHIN A., GUYON C., NICOD L, 2006 . Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E. *Environ. Toxicol. Pharmacol*, 22, 27-34.

GLOMBITZA K. W. & GERSTBERGER G. (1985). *Phytochemistry* (Elsevier) p24, 543-551.

Gnu, 2007. GNU free Documentation License 19 Avril 2007 http://en.wikipedia.org/wiki/Wikipedia:Text_of_the_GNU_Free_Documentation_Licens.

GOODWIN T. W., & EDITOR (1988). *Plant Pigments*.

GRAVOT A, 2008. Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 – L2.

GUIGNARD J.L., 1996. Abrégé de biochimie végétale , Ed . Masson, Paris, 160 p.

GUIGNARD, J.L. 1998. Abrégé de botanique. Masson Ed. Paris, 212p.

HARBORNE J.B., (1980). Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series.p8, 329-402.

Références bibliographiques

HOPKINS. WILLIAM G, 2003. Physiologie végétale de bock université 2^{ème} édition. : 276-268.

JAHN, AL AZHARIA S & DIRAR H, 1979. Studies on natural coagulants in the Sudan, with special reference to *Moringa oleifera* seeds. *Water* **5** : 90-97.

JAHN , AL AZHARIA S, 1981. *Traditional water purification in tropical developing countries. existing methods and potential application.* Eschborn, Rep. Fed. de Alemania, Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ). Publ. N° 117.

KANOUN K, 2011. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Thèse de Magister en Biologie. Université aboubekr belkaid -Tlemcen. Algérie.110p.

KRIEF S, 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.

LALAS S., TSAKNIS J, 2002. Characterization of *Moringa oleifera* seed oil variety Priyakulam-1., *J. Food Compos. Anal.*, 15: 65-77.

LARACINE C, 1984. Etude de la variabilité flavonique infra-spécifique chez deux conifère : le *Pin sylvestre* et le *Genévrier commun* , Thèse de doctorat , université de Lyon I .

LEBRETON P ., JAY M., VOIRIN B, 1967. Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes, *Chimie Analytique* , Paris , 49(7): 375 – 383 pp.

LUGASI A., HOVARI J., SAGIK., and BIRO L, 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases.*J.Acta.biologica. szegediensis.* 47 (1-4):119-125.(Cited in Mohammedi Z, 2005).

LUTGE U., KLUGE M., BAUER G, 2002. Botanique 3^{ème} Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211p.

MACHEIX J.J, 1996. Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XX^{ème} siècle?, *Acta bot. Gallica*, 143(6). 473-479.

MAJHENIC L., KERGET M.S., KNEZ Z , 2007. Antioxidant and antimicrobial activity of Guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104 : 1258–1268.

Références bibliographiques

MAKHLOUFI, 2010. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre. Thèse de doctorat d'état en biologie, université aboubaker belkaid, Tlemcen. Algérie. 136 p.

MAKKAR, H.P.S. & BECKER, K, 1997. Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 128, 311-322.

MARTIN, S., ANDRIANTSITOHAINA, R, 2002. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie.* p51, 304–315.

MARTINI M. C. et SEILLER M, 2006. Actifs et additifs en cosmétologie.e 5^{ème} Ed. Lavoisier, Paris. 1080p.

MEDDOUR A., YAHIA M., BENKIKI N., AYACHI A, 2013. Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis Spinosa* L. *Lebanese Science Journal.* 14: 49-60.

MEDIC SANIC M, JASPRICA I, SMOLCIC BUBALO A ET MORNAR A, 2004. Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids. *Croatica chemica acta.* 361-366 p.

MEYER A. ET DEIANA J, 1988. Cours de microbiologie générale. Doin éditeurs, paris. p 201.

MILCENT R., Chau F, 2003. Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentale, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed. Francois chau EDP. Paris. France. 846p.

MILLOGO-KONZEH., KINI B. F., YUGBARZ Z., YARO M. B., SAWADOGO M ,2012. Etudes de la phytochimie et de l'activité antimicrobienne *in vitro* des feuilles de *Moringa oleifera* (Moringaceae). 1. Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST)- Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) – Département Médecine et Pharmacopée Traditionnelles-Pharmacie (MEPHATRA- PH) 2. Université de Ouagadougou – 03 BP 7021 – Ouagadougou 03 – BURKINA FASO 3. Bureau National des Sols (BUNASOLS) – 03 B.P. 7021 – Ouagadougou 03 – BURKINA FASO.

Références bibliographiques

MOHAMED OUALI D, 2016. Travaux en cours.

MOHAMMEDI, 2013. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 169 p.

MONICA G., SANDRA V.V., PATRICIA I.O., CESAR, 2010. Antioxdant action of flavonoids: Thermodynamic and kinetic analys. Archives of biochemistry and biophysics, 501p.

MORTON, J.F, 1991. The Horseradish Tree, *Moringa Pterygosperma* (Moringaceae) - A Boon to Arid Lands? *Economic Botany* 45, 318-333.

MORTON, J.F, 1999. Price, M. L. et Équipe ECHO; Le Moringa - ECHO Note Technique; Publié en 1985; Révision 2000, 2002 et 2007 par le personnel d'ECHO; 22p.

NAUCIEL. C., and VILDE J.L, 2005. Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson . Paris: 5-10.

NIKKON F, SAUD ZA, REHMAN MH, HAQUE ME, 2003. *In vitro* antimicrobial activity of the compound isolated from chloroform extract of *Moringa oleifera* Lam. *Pak. J.Biol. Sci.*, 22:1888–1890.

NIU W, 2012. Study on the Extraction Method of Alkaloids from *Narcissus tazetta* var. *chinensis* Roem (Research Institute of Horticultural Products Transport and Preservation, College of Horticulture) , Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 19p.

ODEE , D , 1998. Forest technology research in drylands of Kenya: the development of *Moringa* species. *Dryland Biodiversity*. 2:7-8.

OSUAGWN ; Eme, 2013. BARRECA D., BELLOCCO E., CARISTI C., LEUZZI U., KUMQUAT G.G., 2011- *Fortunella japonica* Swingle juice : Flavonoïd distribution and antioxidant properties. *Food Research International*. 44: 2190-2197.

OUEDRAOGO Y., NACOULMA O., GUISSOU I.P., GUEDE GUINA F,2001. Evaluation in vivo et in vitro de la toxicite des extraits aqueux d'ecorces de tige et de racines de *Mitragyna inermis* (wilid).o.ktz (rubiaceae). *Pharm. Méd. Trad.* 11 : 13-29.

OZANDA P, 1991. Flore et végétation du Sahara 3ème éd. Ed. CNRS, Paris. France. 662 p.

Références bibliographiques

PORTER L. J. (1989). Methods in Plant Biochemistry. p1, 389-419.

POUSSET, 1999. le *Moringa oleifera* est une plante miracle. Disponible sur <http://www.Essentialdrugs.org>. Consulté le 26/09/2013.

RAJ, A.J., GOPALAKRISHNAN, V.K., YADAY, S.A., DORAIRAJ, S, 2011. Antimicrobial activity of *Moringa oleifera* (Lam.) root extract. *Journal of Pharmacy Research* , 4 (5) : 1426-1427.

RAKOTONANAHARY M , 2012. thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.

RAMACHANDRAN, C., PETER, K.V. & GOPALAKRISHNAN, P.K, 1980. Drumstick (*Moringa oleifera*): a multipurpose Indian vegetable. *Economic Botany* 34, 276-283.

RIBEREAU-GAYON J., PEYNAUD E, 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Édition Dunod, Paris. France. 254 p.

RIRA M, 2006. Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p.

ROLLAND Y, 2004. Actualités Des Lipides En Cosmétique : Antioxydants Naturels Végétaux. *O.C.L.*, 11(6) : 419 – 424.

RUCKMANI K, KAVIMANI S, ANANDAN R, JAYKAR B, 1998. Effect of *Moringa oleifera* Lam on paracetamol-induced hepatotoxicity. *Indian J. Pharm. Sci.*, 60: 33–35.

SAINT SAUVEUR A ., BROIN M ., 2010. Produire et transformer les feuilles de *Moringa*. Editions CTA, CDE, Horizon Gémeno éd., France, 69 p.

SAMARTH R.M., PANWAR M., SONI A., KUMAR M., KUMAR A, 2008. Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain Radioprotective plant extract. *Food Chemistry*, 106 : 868-873.

SANCHEZ -MORENO C, 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. of Foods Sci. Tech.* 8: 121-137.

Références bibliographiques

SIDDHURAJU P, BECKER K, 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agro-climatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.), *J. Agric. Food Chem.*, 15: 2144–2155.

SINGLETON V.L., ROSSI J.A, 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16 : 144.

TEIXEIRA DA SILVA J. A, 2004. Mining the essential oils of the *Anthemideae*. *Afr. J. Biotechnol.* 3: 706-720.

TRAORE M. C, 2005. Étude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali. Thèse De Doctorat. Université De Bamako, Mali.

TREASE ET EVANS W.C, 1987 in **Karumiy.Onyeyili A et Ogugduaja V.O, 2004.** Identification des principes actifs de l'extrait des feuilles de *M.balsania*. *Journal of Medecine and Scientific*,4(3) : 179-182.

ANNEXES

Annexe 1. Appariages utilisés

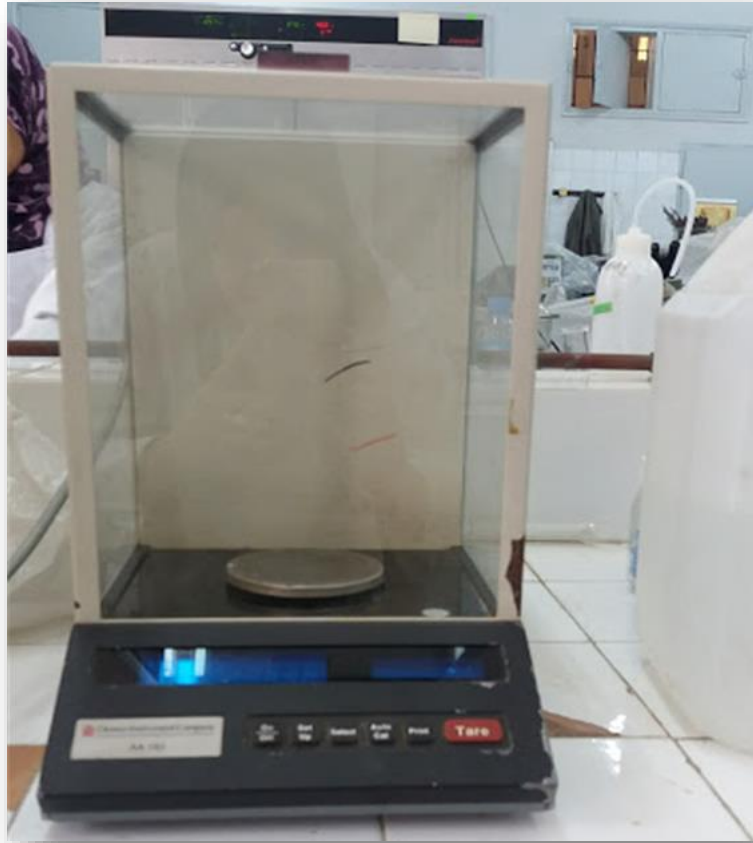
- Spectrophotométrie.
- Bain ultrasonique.
- Etuve.
- Rotavapor de type Buchi R-200.
- Balance de précision.
- Agitateur.
- Mortier.
- Autoclave.
- Plaque chauffante.
- Micropipette.
- Papier Filtre.
- Bec Benzène.
- Ans de platine.
- Ecouvillon stérile.
- Tube à essai.
- Pince stérilisée.
- Disques vide stériles.
- Réfrigérateur.
- Boites de pétrie.
- Entonnoir.



Annexe 2. Agitateur magnétique.



Annexe 3. Bain marie



Annexe 4. Balance de précision



Annexe 5. Spectrophotomètre



Annexe 6. Etuve



Annexe 7. Rotavapor



Annexe 8. Résultats du screening phytochimique.

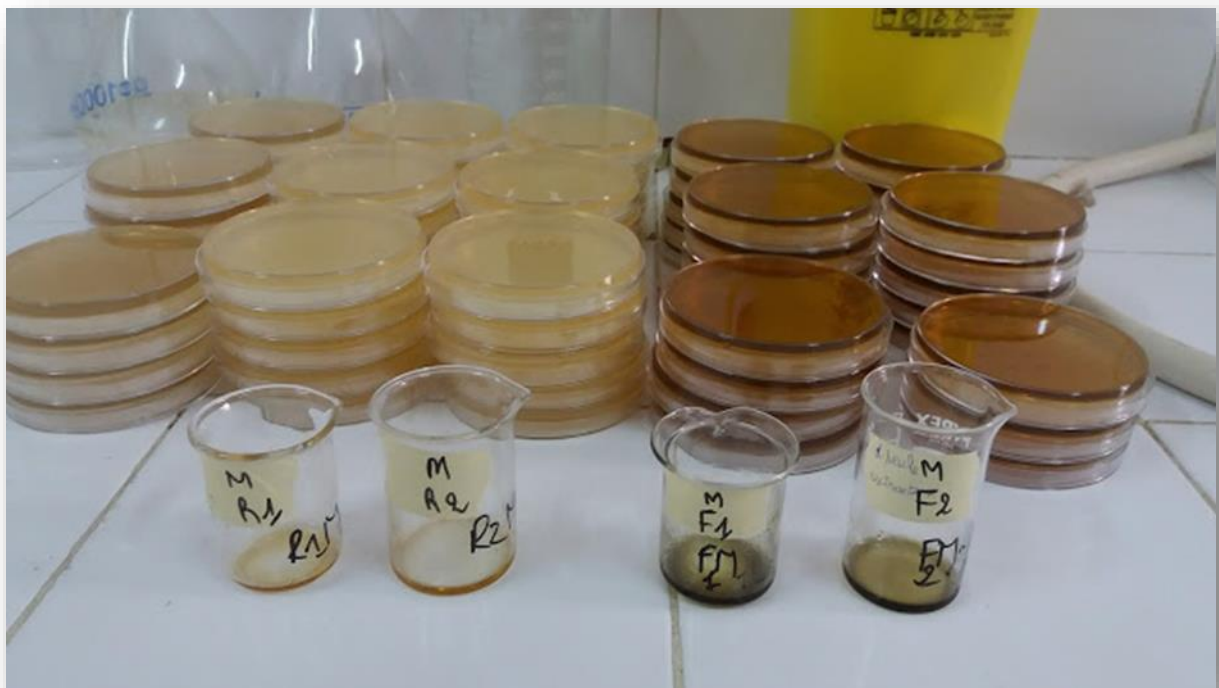


Annexe 9. Phase aqueuse continent les anthocyanes (rouge oranger)

Phase organique contenant les aglycones flavoniques (jaune vert).



Annexe 10. Les extraits flavoniques à l'aire libre pour evaporation



Annexe 11. Préparation des milieux de culture.



Annexe 12. Ensemencement des souches bactériennes.



Annexe 13. Lecture des résultats.

Photos n°1 : Essai 1 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Escherichia coli*.

Photos n°2 : Essai 2 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Escherichia coli*.

Photos n°3 : Essai 1 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Photos n°4 : Essai 1 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Staphylococcus aureus*.

Photos n°5 : Essai 2 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Staphylococcus aureus*.

Photos n°6 : Essai 1 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Gentamicine) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Escherichia coli*.

Photos n°7 : Essai 2 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Gentamicine) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Escherichia coli*.

Photos n°8 : Essai 2 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Photos n°9 : Essai 2 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Gentamicine) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Photos n°10 : Essai 2 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Staphylococcus aureus*.

Photos n°11 : Essai 2 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Gentamicine) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Staphylococcus aureus*.

Photos n°12 : Essai 1 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Amikoz) à la concentration 20mg/ml testé par le champignon *Candida albica*.

Photos n°13 : Essai 1 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Candida albica*.

Photos n°14 : Essai 2 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Amikoz) à la concentration 20mg/ml testé par le champignon *Candida albica*.

Photos n°15 : Essai 1 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 20mg/ml testé par la souche *Candida albica*.

Photos n°16 : Essai 1 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Escherichia coli*.

Photos n°17 : Essai 1 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Gentamicine) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Escherichia coli*.

Photos n°18 : Essai 2 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Escherichia coli*.

Photos n°19 : Essai 2 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Gentamicine) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Escherichia coli*.

Photos n°20 : Essai 1 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Photos n°21 : Essai 1 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Gentamicine) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Photos n°22 : Essai 2 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Photos n°23 : Essai 2 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Gentamicine) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Photos n°24 : Essai 1 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Gentamicine) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Staphylococcus aureus*.

Photos n°25 : Essai 1 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Staphylococcus aureus*.

Photos n°26 : Essai 2 de L'extrait aqueux de la feuille (AF) et de la racine (AR) plus le DMSO et le témoin+ (Gentamicine) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Staphylococcus aureus*.

Photos n°27 : Essai 2 de L'extrait aglycone flavonique des 2 échantillons de la feuille (F1 et F2) et de la racine (R1 et R2) à la concentration 10mg/ml testé par la souche *Staphylococcus aureus*.

Photos n°027 : Teste d'alcaloïdes des feuilles de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Escherichia coli* avec une concentration de 100µg/ml.

Photos n°028 : Teste d'alcaloïdes des feuilles de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Pseudomonas aeruginosa* avec une concentration de 100µg/ml.

Photos n°030 : Teste d'alcaloïdes des feuilles de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus* avec une concentration de 100µg/ml.

Photos n°031 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Escherichia coli* avec une concentration de 50µg/ml.

Photos n°032 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Pseudomonas aeruginosa* avec une concentration de 50µg/ml.

Photos n°033 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus* avec une concentration de 50µg/ml.

Photos n°034 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Pseudomonas aeruginosa* avec une concentration de 30µg/ml.

Photos n°035 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus* avec une concentration de 30µg/ml.

Photos n°036 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Escherichia coli* avec une concentration de 30µg/ml.

Photos n°037 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Escherichia coli* avec une concentration de 25µg/ml.

Photos n°038 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus* avec une concentration de 25µg/ml.

Photos n°039 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Pseudomonas aeruginosa* avec une concentration de 25µg/ml.

Photos n°048 : Teste d'alcaloïdes des feuilles de Moringa, le témoin + (Amikoz) et le DMSO vis-à-vis le champignon *Candida albica* avec une concentration de 100µg/ml.

Photos n°049 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Amikoz) et le DMSO vis-à-vis le champignon *Candida albica* avec une concentration de 25µg/ml.

Photos n°050 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Amikoz) et le DMSO vis-à-vis le champignon *Candida albica* avec une concentration de 30µg/ml.

Photos n°051: Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Amikoz) et le DMSO vis-à-vis le champignon *Candida albica* avec une concentration de 50µg/ml.

Photos n°063 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Bacillus* avec une concentration de 25µg/ml.

Photos n°064 : Teste d'alcaloïdes des feuilles et des racines de Moringa, le témoin + (Gentamicine) et le DMSO vis-à-vis la souche *Selmonila* avec une concentration de 25µg/ml.

Photos n°076 ; 077 ; 078 ; 079 ; 080 : Préparation des dilutions pour l'activité antioxydante.

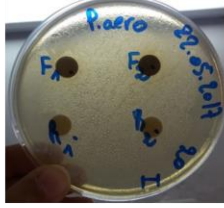
Annexe 14. Lecture des résultats de l'activité antimicrobienne (suite).



1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



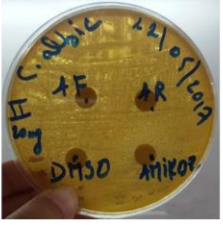
11



12



13



14



15



16



17



18



19



20



21



22



23



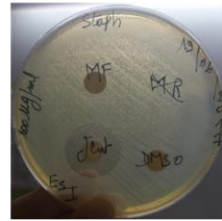
24



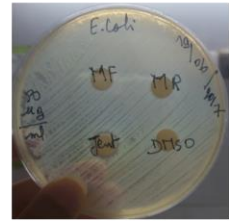
027



028



030



031



032



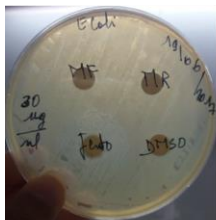
033



034



035



036



037



038



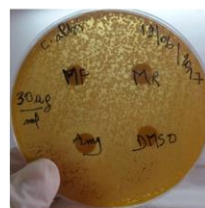
039



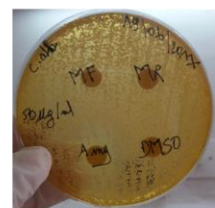
048



049



050



051



063



064



25



26



27

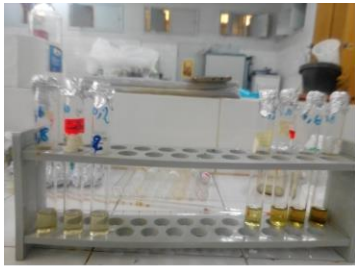


28



29

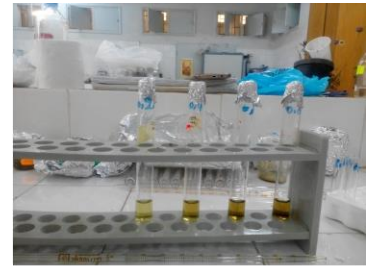
Annexes 15. Préparation des dilutions pour l'activité antioxydante.



076



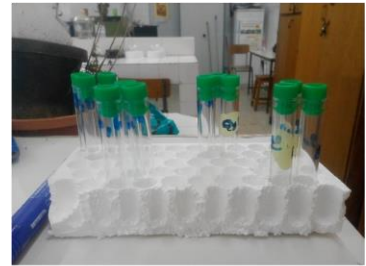
077



078



079



080

Annexe 16. Extraction des alcaloïdes.

