



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
جامعة البليدة 1
Université Blida 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'étude
En vue d'obtenir un diplôme de Master Académique

Option :
Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Sujet :

Formulation et Fabrication d'un complément alimentaire à base de *Moringa oleifera* :

Etude structurale et fonctionnelle de molécules bioactives Quercetin et Kaempferol

Date de Soutenance : 15/07/2021

Présenté par :

Adour Zakia Amira

Chachoua Hanane

Devant le Jury :

Pr DJAZOULI ALIM	PR	SNV, Blida1	Présidente
Dr SOUR S	MCB	SNV, Blida1	Examinatrice
Dr MOKRANE A	MCB	SNV, Blida1	Promotrice
Mme NADJI S	Maitre De Stage	centre ishak ibn hunain	Co-Promotrice

Remerciement

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce à Dieu et au concours de plusieurs personnes à qui on voudrait témoigner toute notre reconnaissance

on voudrait dans un premier temps remercier les jurys commençant par la présidente Mme Djazouli , l'examinatrice Mme Sour qui ont honoré la présentation de ce mémoire , notre promotrice Mme Mokrane ainsi que notre co-promotrice Mlle Nadji pour leur disponibilité , leurs judicieux conseils, qui ont contribué à agrainer notre réflexion durant tout notre travail; on les remercie de nous avoir encadré, orienté, aidé et conseillé .

On adresse nos sincères remerciements à tous les professeurs, participants dans la partie pratique de notre mémoire Mr Farés Messdour , Mr Sahraoui , Mr Bouttoui qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques , leurs services ont nourris et idéalisé et faciliter notre projet ainsi à Mme Faiza Kheddaouia et Mr Naceur Mohammed pour leurs temps qu'ils ont consacré à nous apporter les outils méthodologiques et pratique indispensables à la conduite de cette recherche , leurs exigences nous a grandement stimulé .

On voudrait aussi adresser toute notre gratitude envers nos parents Hakim et Fatiha Chachoua ; Badradine et Farida Adour qui ont toujours été là pour nous « Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous nous avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. On est redevable d'une éducation dont on est fier » ; pour leurs soutiens moral et intellectuel et financier tout au long de notre démarche

On souhaite particulièrement remercier Mr Badoui Khaled qui a été le transporteur patient durant tout ce projet de fin d'études, que grâce à lui les distances ont été raccourcies

Enfin on remercie nos sœurs et frères, cousines, amies pour leur sincère amitié et confiance, et à qui on doit notre reconnaissance et notre attachement.

À tous ces intervenants, on présente nos remerciements, nos respects et notre gratitude

Liste Des abréviations

CA	Complément Alimentaire
MO	Moringa Oleifera
M	Moringa
CYTO C	cytochrome c
IL-1β	L'interleukine-1
PGE-2	Prostaglandine E2
COX-2	Cyclooxygénase 2
INoS	Oxyde nitrique synthase
LC-MS	Chromatographie en phase Liquide couplée à la Spectrométrie en Masse
MCV	Maladie Cardio-Vasculaire
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
HSV-1	Virus Herpes simplex
SNC	Système nerveux central
HACCP	Système d'analyse des risques et de maîtrise des points critiques
CCB	Canal Calcique Bloquant
MDR	Résistance Multi-médicamenteuse
KRAS	V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
JNK	c-Jun N-terminal kinases
ISO	Organisation internationale de normalisation
ERK 1/ 2	Extracellular signal-regulated kinases
NFKB	nuclear factor-kappa B
TAC	capacité antioxydante totale
GK	Glucokinase regulatory
JNK	kinases c-Jun N-terminales
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
ISC	inflammation systémique chronique
LPS	Lipopolysaccharides
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance

Liste des figures

Figure 01 : Nombre d'articles scientifiques par terme et par année de 2000 à 2010	5
Figure 02 : Moringa Oleifera « les feuilles » et la poudre	7
Figure 03 : Description botanique du Moringa Oleifera	8
Figure 04 : Comparaison de la valeur nutritionnelle de poudre de Moringa Oleifera avec d'autres aliments	10
Figure 05 : Effet anti-inflammatoire de M. Oleifera	11
Figure 06 : activation de la voie extrinsèque et la voie intrinsèque de l'apoptose par M. oleifera	13
Figure 07 : Structure chimique du principe actif quercétine	18
Figure 08 : Signalisation de l'activité anti-apoptotique de la quercétine	19
Figure 09 : Effet de la quercétine sur l'anti-angiogénèse	20
Figure 10 : Effet de quercétine sur le cycle cellulaire	21
Figure 11 : Structure chimique du principe actif « kaempferol »	22
Figure 12 : Effet anti-apoptotique du kaempferol	23
Figure 13 : Mécanismes d'action de l'activité anti-inflammatoire du kaempférol	24
Figure 14 : Mécanisme d'action des flavonoïdes.	26
Figure 15 : Les Ingrédients des compléments alimentaires	27
Figure 16 : Processus de Fabrication d'un complément alimentaire	30
Figure 17 : Les principes de l'Approche HACCP	32

Figure18 : Biodisponibilité du complément alimentaire à base de Moringa oléifère	33
Figure 19 : Diagramme de flux	35
Figure 20 : Diagramme d'Ishikawa	50
Figure 21 : Chromatogramme d'HPLC	52
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes	53
Figure 23 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de acide ascorbique	55
Figure 24 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique du brocoli	55
Figure 25 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique du moringa	56
Figure 26 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique de l'armoise	56
Figure 27 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique de l'ortie	57
Figure 28 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration de l'aspirine	58
Figure 29 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration de l'armoise	58
Figure 30 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration du brocoli	59
Figure31 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration du moringa	59
Figure 32 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration de l'ortie	60

Liste des Tableaux

Tableau I : matériel non biologique utilisé	35
Tableau II : matériel végétal utilisé	36
Tableau III : Formulation du complément alimentaire	36
Tableau IV : Programme d'éluion pour l'analyse des flavonoïdes	39
Tableau V : les Résultats explicatifs du chromatogramme d'HPLC	52
Tableau VI : Teneurs en flavonoïdes des extraits méthanoliques	54
Tableau VII : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50) (l'activité antioxydante)	57
Tableau VIII : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50) (l'activité antinflammatoire)	60
Tableau IX : sensibilité et CMI (mg/ml) des souches bactériennes testées aux extraits méthanolique Des cinq espèces étudiées	61
Tableau X : Résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de Moringa oleifera.	62
Tableau XI : Résultats d'analyses microbiologiques de la matière première	64
Tableau XII : Résultats d'analyses microbiologiques du produit fini	65

Sommaire

INTRODUCTION.....	1
Chapitre I : Partie Bibliographique.....	3
I.1. Généralité sur le complément alimentaire	3
I.1.1. Définition d'un complément alimentaire	3
I.1.2. Définition d'un nutriment	4
I.1.3. Définition du terme « autres substances à but nutritionnel ou physiologique »	5
I.1.4. Complément alimentaire à base de plante.....	5
I.2. Moringa oleifera	6
I.2.1. Définition	6
I.2.2. Composition chimique	8
I.2.3. Valeurs nutritionnelles	9
I.2.4. Effets thérapeutiques	10
I.2.5. L'effet synergique de Moringa oleifera avec d'autres plantes médicinales.....	16
I.2.6. L'effet des flavonoïdes sur certaines maladies	17
I.3. Formulation d'un complément alimentaire	26
I.3.1. Concept général sur la norme ISO 22000.....	28
I.4. Fabrication d'un complément alimentaire.....	29
I.4.1. L'approche HACCP	30
I.5- La biodisponibilité du complément alimentaire à base de Moringa oleifera	32
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	34
II.1. Matériel.....	35
II.1.1. Matériel non biologique	35
II.1.2. Matériel végétal	36
II.2. Méthodes.....	36
II.2.1. Formulation du complément alimentaire :	36
II.2.2. Préparation des poudres de plantes.....	37
II.2.3. Identification des principes actifs de Moringa oleifera par HPLC.....	38
II.2.4. Dosage des flavonoïdes	39
II.2.5. Evaluation des activités biologiques	40
II.2.6. Analyse physico chimique.....	42
II.2.7. Analyse microbiologique.....	48
II.2.8. L'analyse des dangers	49

Chapitre III : Résultat et discussion.....	52
III.1. Qualité du Produit	52
III.1.1. Identification des Principes actifs du <i>Moringa oleifera</i>.....	52
III.1.2. Dosage des Flavonoïdes.....	53
III.1.3. Evaluation des activités biologiques.....	54
III.1.4. Analyse physico-chimique.....	62
III.1.5 Formulation et Fabrication.....	63
III.1.6. Analyse microbiologique.....	64
III .1.7. L'analyse des dangers.....	65
Conclusion et perspectives	
Références bibliographiques	
Annexes	

| Résumé |

Les compléments alimentaires sont des denrées alimentaires, dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments : Vitamines, Magnésium, Fer, Calcium

Malgré certaines ressemblances aux produits pharmaceutiques, ces produits ne sont pas des médicaments et ne peuvent pas réindiqué d'effet thérapeutique.

Les travaux effectués dans le cadre de cette étude consistaient à monter l'intérêt des compléments alimentaires à base de *Moringa oleifera*, ainsi que l'effet des molécules bioactives de cette dernière au niveau moléculaire.

L'application de la norme 22000 permet de démontrer une aptitude à identifier et à maîtriser les dangers liés à la sécurité des compléments alimentaires, cette norme est liée à l'approche HACCP qui a pour objectif la prévention, l'élimination ou la réduction à un niveau acceptable de tout danger « biologique, chimique, et physique » au regard de la sécurité des produits, mais aussi à fournir en permanence des produits finis et sûrs.

Au cours de notre étude, plusieurs techniques d'analyses ont été réalisées : l'identification des principes actifs, l'évaluation des activités biologiques, dosage des flavonoïdes, analyses physico-chimiques, et analyses microbiologiques.

Les résultats obtenus de ces analyses confirment la présence des flavonoïdes dans le *Moringa oleifera* par une valeur de 12.547 mg EQ/g plus précisément les molécule bioactive acide chlorogénique et l'isoquercétine ; et assurent que la plantes étudiées a des activités biologiques (activité antioxydant de 0.040 mg/ml., anti-inflammatoire 0,154/ml , et antibactérienne avec toutes les souches étudié mise appart l'*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 , *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 , et *Serratia marcescens*, qui sont résistante au *moringa oleifera*) dans le but de stabiliser la formule.

L'étape de fabrication est précédée en appliquant le contrôle exigé par la norme ISO 22000 Pour assurer la qualité de produit fini une analyse microbiologique est faite

A la fin de ce processus on peut dire que notre produit est biostable, sain et sûr.

Mots clés : Complément alimentaire , Moringa oleifera , ISO 22000, HACCP , Isoquercétine .

| Abstract |

Food supplements are foods intended to supplement the normal diet and constitute a concentrated source of nutrients: Vitamins, Magnesium, Iron, and Calcium...

Despite some similarities to pharmaceuticals, these products are not medications and cannot reindicate therapeutic effects.

The work carried out in this study consisted in raising the interest of food compliments based on *Moringa oleifera*, as well as the effect of the bioactive molecules of *Moringa oleifera* at the molecular level.

The application of standard 22000 demonstrates an ability to identify and control the safety hazards of food supplements. This standard is linked to the HACCP approach, which aims to prevent, eliminate or reduce to an acceptable level any "biological, chemical, and physical" hazards with regard to the safety of products, but also to provide permanent and safe finished products.

During our study, several analytical techniques were performed: identification of active ingredients, assessment of biological activities, flavonoid determination, physicochemical analysis, and microbiological analysis.

The results obtained from these analyzes confirm the presence of flavonoids in *Moringa oleifera* by a value of 12,547 mg EQ / g, more precisely the bioactive molecules chlorogenic acid and isoquercetine; and ensures that the plants studied have biological activities (antioxidant activity of 0.040 mg / ml., anti-inflammatory activity 0.154 / ml, and antibacterial with all the strains studied apart from *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, and *Serratia marcescens*, which are resistant to *moringa oleifera*) to stabilize the formula

The manufacturing process is carried out by applying the control required by ISO 22000 to ensure the quality of the finished product a microbiological analysis is made

At the end of this process we can say that our product is stable, healthy and safe.

Keywords: Food supplement, *Moringa oleifera*, ISO 22000, HACCP, Isoqercetin.

| ملخص |

المكملات الغذائية هي الأغذية، والغرض منها هو تكملة النظام الغذائي العادي، الذي يشكل مصدراً مركزاً من مصادر النظام الغذائي الفيتامينات، المغنيسيوم، الحديد، الكالسيوم ...

على الرغم من بعض أوجه التشابه مع المستحضرات الصيدلانية، ولكن هذه المنتجات هي ليست ادوية ولا يمكن إعادة ترخيصها للتأثير العلاجي وتمثلت أعمال هذه الدراسة في إبراز صورة المجتمع الدولي الإطراء الغذائي على تأثير *Moringa oleifera* النشاط الأحيائي للأخيرة على المستوى الجزيئي ل

ويتيح تطبيق معيار الـ 22000 إثبات القدرة على تحديد هوية الأشخاص الذين يعيشون في مناطق معينة مكافحة المخاطر المتصلة بسلامة المكملات الغذائية، وهذا المعيار هو فيما يتعلق بنهج الاتفاق، الذي يهدف إلى تحقيق هدفه الوقاية أو القضاء أو تخفيض أي خطر "بيولوجي وكيميائي وفيزيائي" إلى مستوى مقبول فيما يتعلق بسلامة المنتجات، ولكن أيضاً لتوفير المنتجات على أساس مستمر منتهية وأمنة

أثناء دراستنا، أجريت العديد من التقنيات التحليلية تحديد المبادئ الفعالة، وتقييم الأنشطة البيولوجية، والجرعة الفلافونويدات والتحليل الكيميائي الفيزيائي والتحليل الميكروبيولوجي

تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها من هذه التحليلات وجود مركبات الفلافونويد في المورينغا أوليفيرا بقيمة 12،547 مجم EQ / g ، وبشكل أكثر دقة الجزيئات النشطة بيولوجياً حمض الكلوروجينيك والأيزوكسيتين ؛ ويضمن أن النباتات المدروسة لها أنشطة بيولوجية (نشاط مضاد للأكسدة يبلغ 0.040 مجم / مل ، ونشاط مضاد للالتهابات 0.154 / مل ، ومضاد للبكتيريا مع جميع السلالات المدروسة باستثناء *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ، و *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ، و *Serratia marcescens* ، التي تقاوم المورينجا أوليفيرا) لتثبيت التركيبة

وتنفذ خطوة التصنيع بتطبيق الرقابة المطلوبة بموجب المعيار ISO 22000 لضمان جودة المنتج النهائي يكون التحليل الميكروبيولوجي يكون مفعول ISO 22000 لضمان جودة المنتج النهائي

وفي نهاية هذه العملية يمكننا أن نقول إن منتجنا مستقر حيويًا وصحيًا وآمن

الكلمات المفتاحية: مكمل غذائي ، مورينجا أوليفيرا ، آيزو 22000 ، نظام تحليل المخاطر ونقاط التحكم الحرجة ، كيرسيتين

| INTRODUCTION |

INTRODUCTION

Les compléments alimentaires sont des sources concentrées de nutriments, c'est-à-dire de vitamines et de sels minéraux, de substances à but nutritionnel ou physiologique, ou de plantes et de préparations de plantes qui ont pour but de pallier les carences du régime alimentaire régulier d'une personne (Directive 2002/46/CE , 2002).

Cependant leur marché est toujours un secteur en croissance, porté par l'engouement pour les compléments alimentaires naturels formulés à base de plantes, qui connaissent une forte hausse depuis maintenant près de 10 ans (Sophia,2015) ; La part du bio dans les compléments alimentaires enregistre actuellement une forte augmentation en parapharmacie et en pharmacie ; tant que les consommateurs souhaitent se tourner vers des solutions plus naturelles pour améliorer au quotidien leur niveau de bien-être et leur santé, ou pour soutenir une alimentation qu'ils jugent souvent déséquilibrée et appauvrie en nutriments.

Notre étude consiste à la formulation et la fabrication d'un complément alimentaire à base de *Moringa oleifera* suite à ses valeurs nutritionnelles avec comme objectifs :

- Éprouvé la valeur nutritive de cette plante miracle.
- Assurance de la présence des molécules bioactives dans la poudre de *Moringa oleifera*.
- Fabriquer un complément alimentaire sein et sur selon la norme ISO 22000.
- Evaluer le marché des compléments alimentaires à base de plantes en Algérie.

Pour atteindre nos objectifs, nous avons :

- Appris à faire l'application de la norme ISO 22000 et l'approche HACCP, ainsi, on a appris à réaliser une formulation de plantes.
- Appris à manipuler dans un laboratoire de microbiologie, de physico-chimie et la manipulation par chromatographie haute performance en phase liquide
- Analysé les résultats de l'identification des principes actifs de *Moringa oleifera*, les analyses des activités biologiques, et les analyses physico-chimiques.

Ce projet sera amené à se poursuivre, mais dépendra principalement de certaines mesures nécessaires à mettre en place au niveau scientifique moléculaire et règlementaire selon la norme ISO 22000 et approche HACCP.

Notre étude comporte trois chapitres. Dans le premier, nous rapportons des rappels bibliographiques sur les compléments alimentaires à base de plantes, le *Moringa oleifera* et ses effets moléculaires suivi par la signalisation approfondie de la Quercétine et du Kaempferol, Nous décrivons le matériel et les techniques utilisés dans le deuxième chapitre. Les résultats obtenus sont rapportés et discutés dans le troisième chapitre.

A la fin, une conclusion et perspectives sont présentées.

| Chapitre I : Partie Bibliographique |

I.1. Généralité sur le complément alimentaire

I.1.1. Définition d'un complément alimentaire

A mesure d'un mode de vie particulier de certaine population dont leur régime alimentaire n'est pas vraiment équilibré (femmes enceintes, personnes âgées, sportifs, personnes à maladies chronique ...), il est nécessaire qu'il soit complété par des apports en vitamines, minéraux et autres nutriments par les compléments alimentaires dans la plupart des cas donnent des résultats satisfaisants (Valette, 2015).

Contrairement aux idées reçues, les compléments alimentaires ne sont en aucun cas des médicaments. En effet, ils n'ont pas le pouvoir de traiter ni de prévenir d'éventuelles maladies. Ils ne disposent pas de vertu thérapeutique. Par contre, ils peuvent interférer sur des pathologies causées par des carences alimentaires (Valette, 2015).

La directive N°2002/46/CE permet d'établir une définition complète et commune des compléments alimentaires au niveau Européen. D'après cette directive, « les compléments alimentaires, et les denrées alimentaires ont pour but de compléter le régime alimentaire normal qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seul ou combiné, commercialisés sous forme de doses, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis d'un compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité» (Directive 2002/46/CE , 2002).

Les comportements relatifs à la santé et à l'alimentation peuvent varier d'un pays à l'autre, il est donc important de mener des études nationales sur la consommation de compléments alimentaires.

Traditionnellement, en Algérie les compléments alimentaires à base de plantes sont bien connus sur le plan commercialisation et utilisation , mais inconnus sur le plan scientifique. Ces produits bénéficient d'une forte confiance concernant leur sécurité d'utilisation et leur consommation sans risque ; une étude a montré que 63 % de la population enquêtée consommant les compléments alimentaires se plaignaient de symptômes cardiovasculaires et 30% d'allergies cutanées. Ceci va permettre d'une part, d'évaluer les risques qui sont mal connus par la population et d'autre part de vérifier la conformité de ces produits à la réglementation car les compléments alimentaires ne sont pas tous des produits inoffensifs, leur mésusage peut conduire à des effets indésirables et des intoxications graves (Chermat et *al.*, 2018). C'est pourquoi l'intégration des

normes ISO 2200 sont obligatoire afin de mieux cerner ce problème et prendre de nouvelles dispositions réglementaires et analyser ces produits avant leur commercialisation.

Le décret du 20 mars 2006 précise que des ingrédients ne peuvent être employés dans la fabrication des compléments alimentaires « que s'ils conduisent à la fabrication de produits sûrs, non préjudiciables à la santé des consommateurs, comme cela est établi par des données scientifiques généralement acceptées ». Seuls peuvent être utilisés pour la fabrication des compléments alimentaires les nutriments, les substances à but nutritionnel ou physiologique, les plantes et les préparations de plantes, ainsi que les autres ingrédients dont l'utilisation en alimentation humaine est traditionnelle ou reconnue comme telle, les additifs alimentaires, les arômes et les auxiliaires technologiques (Rapport de l'académie nationale de pharmacie , 2018).

I.1.2. Définition d'un nutriment

Il est connu que les nutriments sont les vitamines et les minéraux qui constituent une famille essentielle et une des plus consommée des compléments alimentaires. Les vitamines ne sont pas synthétisées par notre organisme (à l'exception de la vitamine D), on les retrouve dans notre alimentation. Les industriels les extraient donc à partir d'aliments et les concentrent sous différentes formes pharmaceutiques (comprimés, gélules, solutions buvables...). Les vitamines utilisées dans la fabrication des compléments alimentaires sont : les vitamines A, D, E, K, B1, B2, B6, B12 et C, la Niacine, l'acide pantothénique, l'acide folique et la biotine. La commercialisation des vitamines en tant que compléments alimentaires est très encadrée par les autorités : l'arrêté du 9 mai 2006 (Caro et *al.*, 2010)

Les quantités minimales et maximales, de vitamines et de minéraux présents dans les compléments alimentaires, sont fixées en fonction de :

- La portion journalière recommandée.
- La recommandation du fabricant.
- Les limites supérieures de sécurité selon le groupe de consommateurs.
- Les quantités maximales et minimales sont arrêtées selon la procédure de la Décision 1999/468/CE (Decision1999/468/CE, 1999).

Les nutriments pouvant être aussi définis comme les additifs, les arômes et les auxiliaires technologiques dont l'emploi est autorisé dans l'alimentation humaine et dans les conditions prévues dans la réglementation (Precepta, 2007).

I.1.3. Définition du terme « autres substances à but nutritionnel ou physiologique »

La biotechnologie est une nouvelle source considérable d'ingrédients de compléments alimentaires (Decret, 2006), on dit « Substances à but nutritionnel ou physiologique » qui est défini dans le Décret n° 2006-352 du 20 mars 2006 comme les substances chimiquement définies possédant des propriétés nutritionnelles ou physiologiques et des substances possédant des propriétés exclusivement pharmacologiques (Decret, 2006).

Il y a de plus en plus de substances innovantes faisant l'objet d'études cliniques publiées dans des revues spécialisées (Rectificatif du règlement, 2007). Ci-dessous (Figure 01) illustre la croissance des publications relatives à ces substances innovantes.

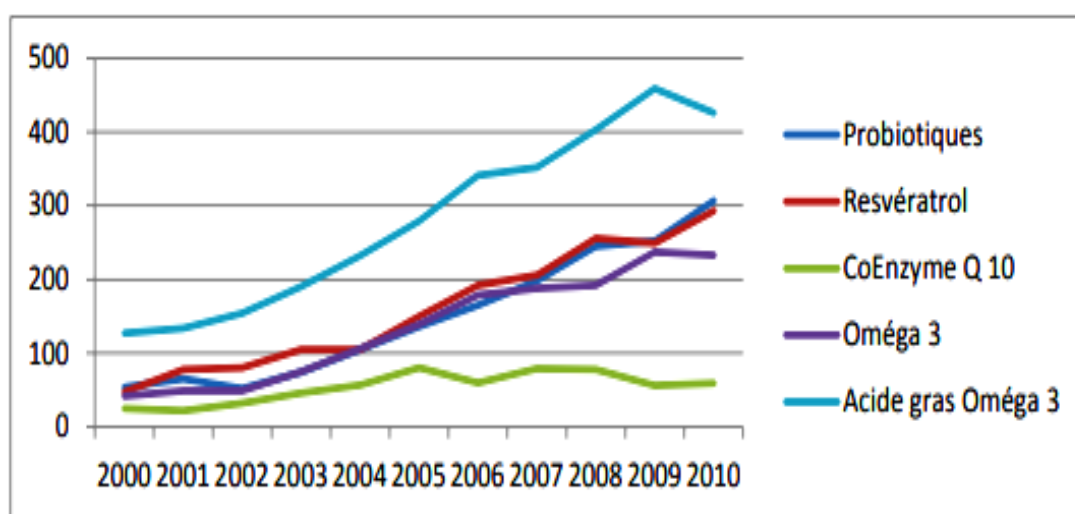


Figure 01 : Nombre d'articles scientifiques par terme et par année de 2000 à 2010
(Mylle, 2012)

Cette dernière catégorie d'ingrédients suscite toujours plus d'intérêt. La recherche est plus que jamais de rigueur pour le développement de nouvelles substances, et de nouvelles allégations sont recherchées par les industriels du complément alimentaire (Mylle, 2012).

Cependant, l'arrêté fixant la liste des substances à but nutritionnel ou physiologique pouvant être employées dans les compléments alimentaires n'a pas encore été publié (Mylle, 2012).

I.1.4. Complément alimentaire à base de plante

Il s'agit des « ingrédients composés de végétaux ou isolés à partir de ceux-ci, à l'exclusion des plantes ou préparations de plantes possédant des propriétés pharmacologiques et destinées à un usage exclusivement thérapeutique ». C'est donc tout naturellement qu'elles sont utilisées à foison dans les formules de nombreux compléments alimentaires sur le marché (Briand, 2006).

L'utilisation des plantes pour leurs propriétés sur la santé remonte à l'antiquité et est ancrée dans toutes les cultures. Les plantes à usage traditionnel détiennent une place importante dans les ingrédients utilisés dans les compléments alimentaires (Briand, 2006).

La Directive 2004/24/CE permet une demande d'autorisation simplifiée en ce qui concerne les plantes à usage traditionnel pour lesquels un effet réel sur la santé n'a pas été démontré mais l'usage traditionnel permet de garantir leur innocuité et sécurité.

I.2. *Moringa oleifera*

I.2.1. Définition

Moringa oleifera (Moringaceae) est un petit arbre à croissance rapide originaire des régions subhimalayennes du nord de l'Inde, qui s'est répandu dans le monde entier dans les régions tropicales et subtropicales (Rajangam, 2001), elle est largement utilisée dans la phytothérapie traditionnelle en tant que riche source des nutriments et le large spectre d'ingrédients phytochimiques qui est dans les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, et l'huile de graines (Dhakad, 2019), donc chaque partie du *Moringa oleifera* a des propriétés bénéfiques qui peuvent être utiles à l'homme.

Moringa appartient à une famille monogénérique. Il existe 14 espèces, 9 d'entre elles sont Africaines, 2 Malgaches, 2 Indiennes et 1 en Arabie. Les espèces les plus courantes sont : *Moringa oleifera*, *Moringa stenopetala*, *Moringa conxanensis*, *Moringa drouhardii*, *Moringa longituba* et *Moringa peregrina* (Malo, 2014). L'arbre porte différents noms selon les régions, Dans les pays Francophones, il est appelé « Mouroungue », « *Moringa* ailé », « Ben ailé », « Benzolive » et « Poisquéniq », dans les pays Anglophones, il est appelé « Radish Tree », « Never die Tree », « Drumstich Tree », « Horseradish tree » (Foidl et al., 2001). Aux Philippines, il est appelé « le meilleur ami des mères » et « Malunggay » (Belkebir, 2018).

Classification (Figure 02)

- **Domaine** : *Biota*
- **Règne** : *Plantae*
- **Sous-Règne** : *Viridaeplantae*
- **Infra-Règne** : *Streptophyta*
- **Classe** : *Equisetopsida*
- **Clade** : *Tracheophyta*
- **Clade** : *Spermatophyta*
- **Sous-Classe** : *Magnoliidae*
- **Super-Ordre** : *Rosanae*
- **Ordre** : *Brassicales*
- **Famille** : *Moringaceae*
- **Genre** : *Moringa*
- **Espèce** : *Moringa oleifera* (Lam., 1785). (Roloff, 2009)



Figure 02 : *Moringa oleifera* « les feuilles »
et la poudre

Description botanique

Moringa est un arbre pérenne, à croissance rapide, qui peut atteindre 7 à 12 mètres de hauteur et dont le tronc mesure 20 à 40 cm de diamètre.

Les feuilles de Moringa sont duveteuses et semblables à celles des fougères avec des teneurs élevés en nutriment et anti-oxydant (Figure 03). Elles sont riches en vitamine A et la vitamine C ; et représentent une bonne source de la vitamine B et une des meilleures sources végétales des minéraux ainsi Leurs teneurs en calcium sont très élevés (Osman, 2012). La valeur nutritive varie selon le mode de préparation, l'âge de la feuille et la saison de la récolte.

Les gousses sont appelées baguette de tambour, les grains mures contient 40% d'huile dont 70% l'acide oléique. Les fruits en capsule triangulaire sont de longue gousse qui contient des grains rondes, aillés, ailé, brune et riche en huile (Figure 03) (Osman, 2012).

Les fleurs parfumées ont des sépales et pétales blancs fleurissent pendant la saison séché (Figure 03) (Osman, 2012).

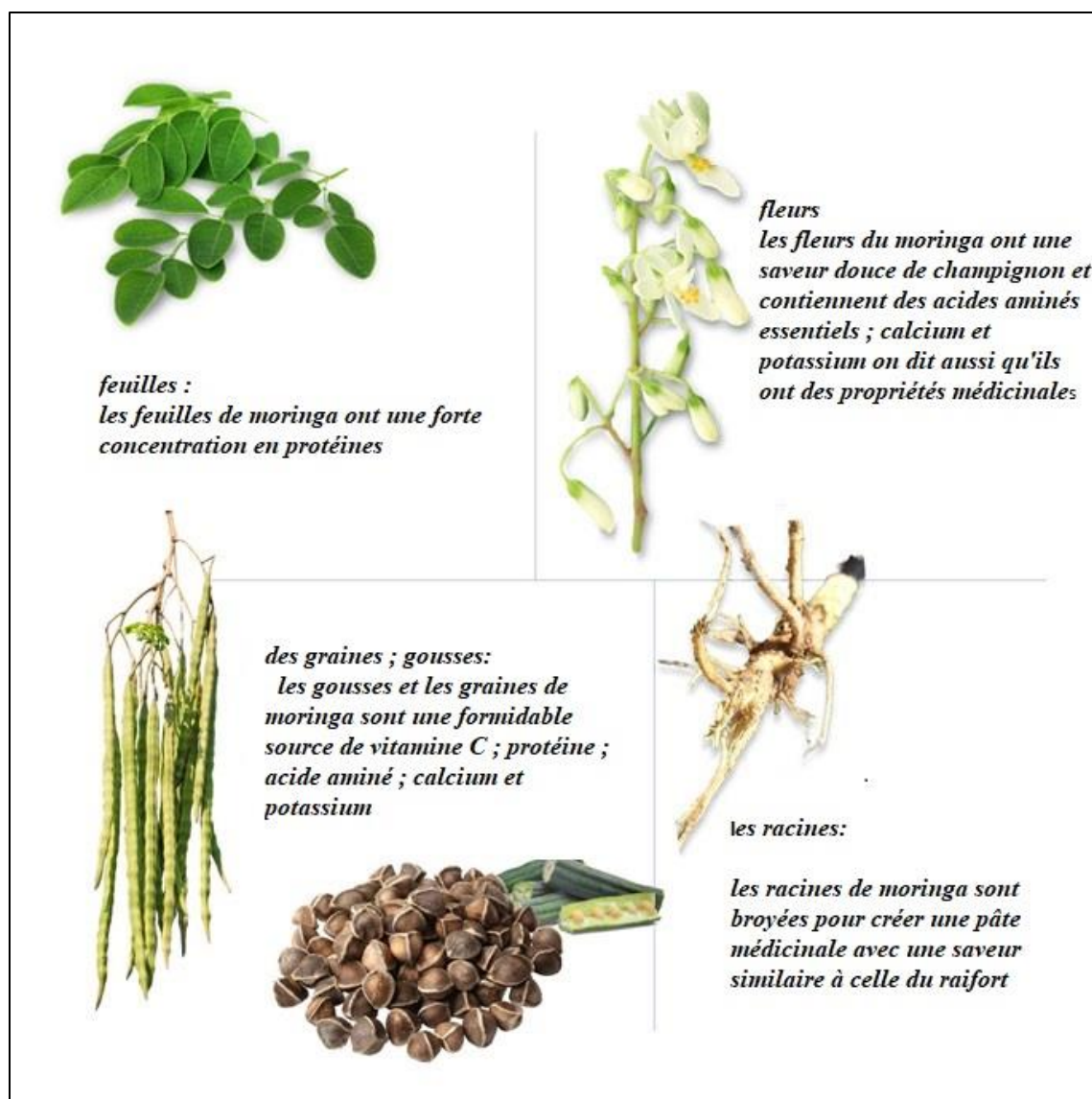


Figure 03 : Description botanique du *Moringa oleifera* (Adapter de Osman, 2012)

I.2.2. Composition chimique

Moringa oleifera (*M. oleifera*) est riche en composés contenant un sucre simple : le rhamnose et un groupe particulier de composés appelés glucosinolates et les isothiocyanates (Roloff, 2009). L'écorce de la tige contient deux alcaloïdes, à savoir la moringine et la moringinine. Des composés comme la vanilline, β -sitosterol, le β -sitostenone l'acide octacosanoïque, 4- hydroxymellin ont été isolés de la tige de *M. oleifera*. Les fleurs contiennent 9 acides aminés, le saccharose, le D-glucose, des traces d'alcaloïdes, de cire, de quercétine et de kaempferol (Maunder, 2003 ; Osman, 2012) .

La valeur nutritive des feuilles de Moringa est d'une richesse rarement observée (Laley et *al*, 2015). En effet les feuilles contiennent certains pigments flavonoïdiques tels que le kaempferol, le rhamnetin, l'isoquercitrine et le kaempferitrin. Les composés antihypertenseurs tels que le

thiocarbamate, l'isothiocyanate et les glycosides ont été isolés de la phase acétate de l'extrait éthanolique des gousses de Moringa (Henoune et *al.*, 2015).

Les feuilles contiennent une concentration élevée en acide ascorbique, des flavonoïdes, des composés phénoliques, les caroténoïdes, du phosphore, du cuivre, les vitamines A, B et C, de riboflavine, l'acide nicotinique, des acides aminés comme la méthionine, la cystéine, et la lysine (Osman, 2012). Une nouvelle molécule le O-éthyl- 4-(β -L-rhamnosyloxy) carbamate de benzyle avec 7 autres composés bioactifs connus tels que : 4 (α -L- rhamnosyloxy)-isothiocyanate de benzyle, niazimicin, 3-O-(6'-O-oleoyl- β -D-glucopyranosyl)- β -sitostérol, β -sitostérol-3-O- β -D glucopyranoside, niazirin, β -sitostérol et glycerol-1-(9-octadecanoate) ont été isolés de l'extrait éthanolique de la graine de Moringa (Osman, 2012).

I.2.3. Valeurs nutritionnelles

Le Moringa *oleifera* est riche en sucres simples. 9 acides aminés, du saccharose, du D-glucose, des traces d'alcaloïdes, et de la cire et de la quercitrine sont les contenant principales de ces fleurs (Siddhuraju, 2003). Cette plante miracle contient des quantités de protéines et de micronutriments utiles pour prévenir la malnutrition (Faizi, 1998).

Les feuilles de la plante contiennent plus le fer que les épinards, plus de vitamine C que l'orange (7 fois plus de vitamine C que les oranges), plus de calcium que le lait, 4 fois plus de vitamine A que les carottes et plus de potassium que les bananes et contiennent une grande quantité d'acides aminés et de protéines (Figure 04) (Laleye, 2015).

Dans les pays en développement, des arbres de Moringa *oleifera* ont été utilisés pour lutter contre la malnutrition en particulier pour les mères allaitantes et les nourrissons. Moringa *oleifera* a été utilisé comme anti-inflammatoire, anti-cancéreux, anti-fertilité, antibactérien, anti-hyperlipidémique, anti-dépresseur, et anti-hépatotoxique (Dhakar, 2011).



Figure 04 : Comparaison de la valeur nutritionnelle de poudre de *Moringa oleifera* avec d'autres aliments (adapter de Laleye, 2015)

I.2.4. Effets thérapeutiques

- **Effet anti-inflammatoire**

L'inflammation est une réponse physiologique visant à protéger le corps contre les infections et à restaurer les lésions tissulaires (Moyol, 2011). Cependant, une inflammation chronique à long terme peut conduire au développement de maladies et de troubles associés à l'inflammation chronique tels que le diabète, le cancer, les maladies auto-immunes, les maladies cardiovasculaires, la septicémie, la colite et l'arthrite.

Les cytokines inflammatoires telles que l'interleukine-1 bêta (IL-1 β) et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) peuvent réguler à la haute production d'oxyde nitrique (NO \bullet) et de prostaglandine E2 (PGE-2), stimulant ainsi l'expression ou améliorant l'activité de la NO synthase inducible (iNOS), de la cyclooxygénase-2 (COX-2) et de la PGE synthase-1 microsomale (mPGES-1) dans les cellules cibles (Council, 2008).

Des études mesurées dans un premier temps les activités antioxydantes des trois organes (feuilles, graines et racines) de *M. oleifera* et de leurs flavonoïdes totaux contenus, en outre déterminé leurs activités anti-inflammatoires, puis a évalué leurs profils phytochimiques par LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) en attendant de fournir des informations précieuses sur *M. oleifera* en tant que source naturelle d'antioxydants et d'anti-inflammatoires pour

favoriser leurs applications en alimentation fonctionnelle ou valeurs médicinales dans un proche avenir (Nair, 2006).

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires courants dans les plantes qui sont considérés comme bioactifs relativement non toxiques et jouent un large éventail d'effets biologiques ; l'action des flavonoïdes sur une variété des processus inflammatoires et les fonctions immunitaires ont été largement revu (Nair, 2006), et il a été démontré qu'ils pouvaient inhiber plusieurs enzymes activés dans certaines conditions inflammatoires.

Les extraits de plantes *M. oleifera*, les poudres de plantes et les huiles essentielles ont montré qu'ils possèdent des activités anti-inflammatoires et beaucoup de ces produits naturels végétaux ont des polyphénols comme composé principal (Khalil, 2010; Azab, 2016).

Cependant, les effets protecteurs des flavonoïdes dans les maladies cardio-vasculaires (MCV) par exemple via l'inhibition de NFκB n'ont pas encore été étudiées. Par conséquent, des études ont été concentrées sur les actions anti-inflammatoires des flavonoïdes via l'inhibition du NFκB (Figure 05).

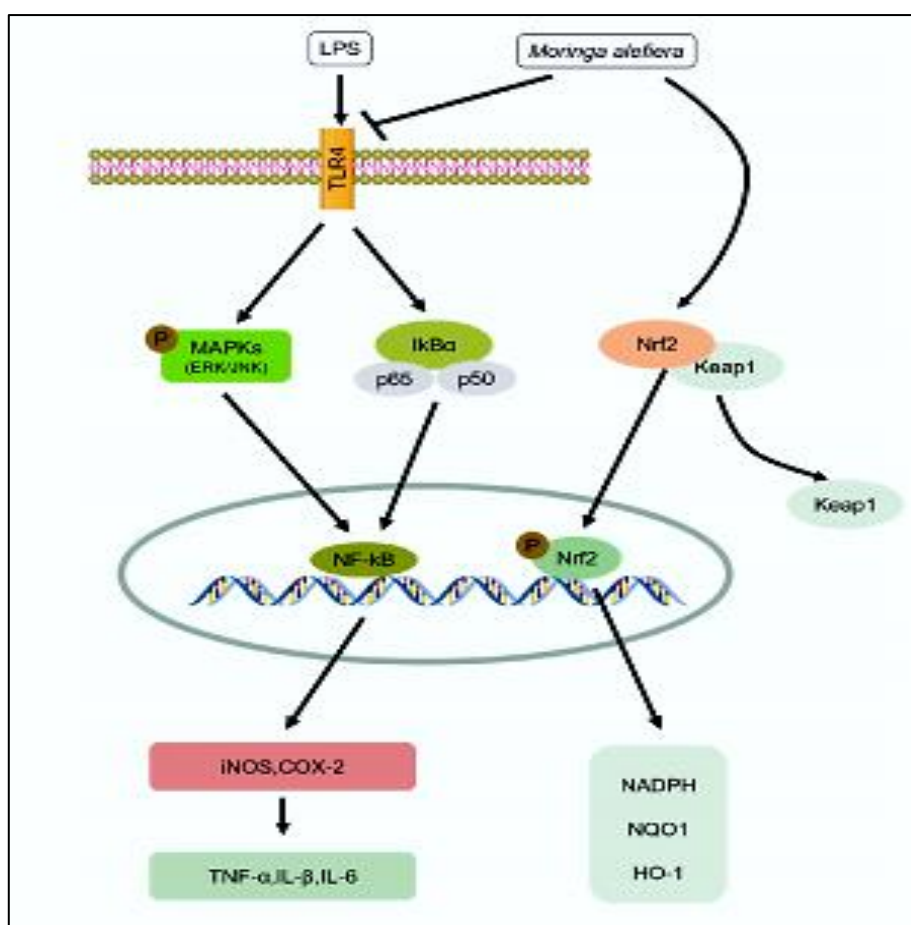


Figure 05 : Effet anti-inflammatoire de *M. oleifera* (Xianjuan et al., 2018)

▪ **Effet anti-Cancer**

Le cancer est une des principales causes de décès dans le monde. Le *Moringa oleifera* a été étudié pour ses propriétés anticancéreuse pour inhiber la croissance de plusieurs cellules cancéreuses humaines (Khalafalla, 2010).

Les feuilles de *Moringa oleifera* peuvent lutter contre les dommages oxydatifs de l'ADN, associés au cancer et aux maladies dégénératives, (Khalafalla, 2010). Des études que l'extrait des feuilles de *Moringa oleifera* a inhibé la viabilité de la leucémie myéloïde aiguë, leucémie lymphoblastique aiguë et cellules hépatocellulaires de carcinome (Khalafalla, 2010). Plusieurs composés bioactifs présent dans cette plante, peut être responsable de son propriétés anticancer. L'extrait de feuilles de *Moringa oleifera* s'est également avéré efficace pour réduire les cellules cancéreuses du pancréas et du sein.

Des études se sont concentrées sur l'apoptose pour comprendre les voies et mécanismes impliqués dans cet agent désigné peut être découvert pour cibler l'apoptose en inhibant le cancer et d'autres maladies apparentées. Fondamentalement dans la voie intrinsèque (Figure 06), lorsque l'agent anticancéreux est introduit dans la cellule dont il est perméable aux mitochondries, Bcl-2 et Bax seront exprimés (Rukayadi et al., 2016).

Bcl-2 et Bax sont des protéines régulatrices dans la voie intrinsèque qui libèrent le cytochrome c ou facteur d'induction de l'apoptose (AIF) alors l'apoptose se produira ; Cependant, les voies extrinsèques et intrinsèques sont interconnectées. L'induction des deux voies ont donné des valeurs bénéficiaires importantes (Rukayadi et al., 2016).

Dans l'étude d'extraits de feuilles de *M. oleifera* sur une lignée cellulaire tumorale humaine, l'extrait a pu provoquer une série des changements morphologiques tels que la formation de bulles membranaires des cellules, le rétrécissement de la membrane cytoplasmique, la perte de contact avec les cellules voisines et la formation de corps apoptotiques qui sont les caractéristiques indiquant la mort des cellules apoptotiques (Sreelatha et al., 2011). Les changements morphologiques sont causés par le clivage du substrat des caspases qui est impliqué dans les voies de l'apoptose. Il a été déterminé que l'apoptose induite par les extraits de feuilles de *M. oleifera* impliquait des voies intrinsèques (Figure 06).

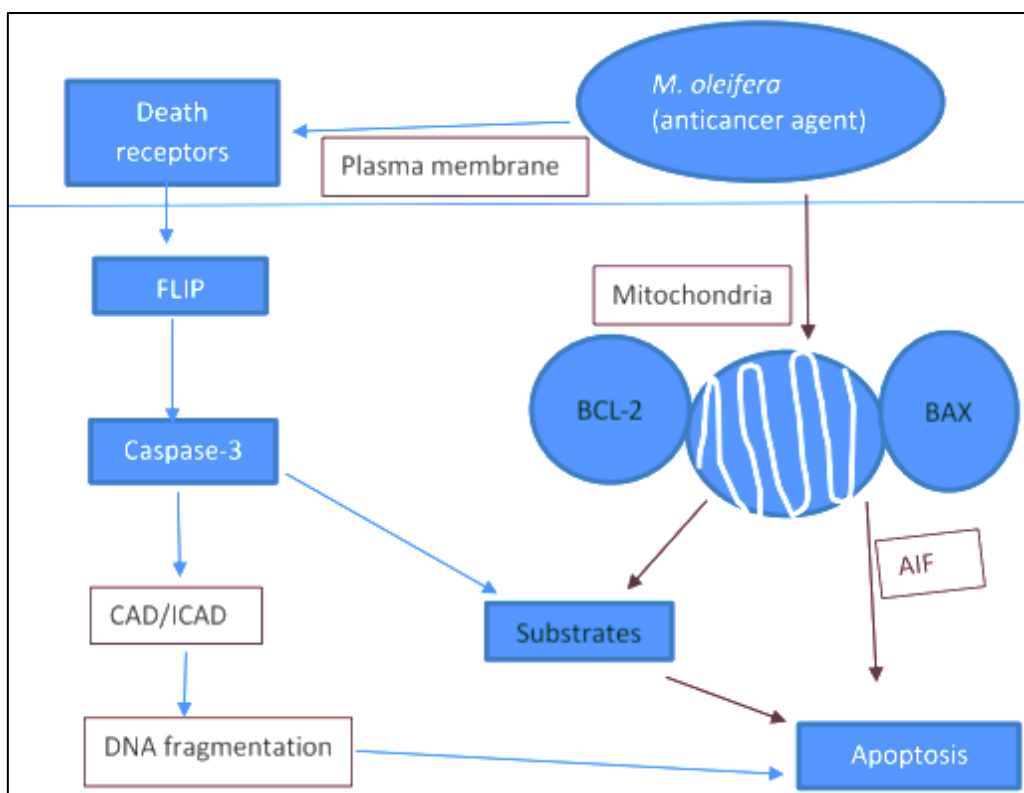


Figure 06 : Activation de la voie extrinsèque et la voie intrinsèque de l'apoptose par *M. oleifera* (Rukayadi et al., 2016)

▪ Effet anti-diabète

Le diabète est un trouble métabolique chronique et les actions pharmacologiques des feuilles de *M. oleifera* ont été rapportées pour le traitement traditionnel du diabète (Grover, 2002) . Les activités des feuilles pourraient probablement être dues à la présence de terpénoïdes et de flavonoïdes, qui participent à la stimulation des cellules β et à la décharge d'insuline qui en résulte. La glucomoringine (glucosinolates), la quercétine et le kaempférol (flavonoïdes) et l'acide aschlorigénique ont montré des propriétés hypoglycémiques (Sayed, 2012).

Il a été démontré que *M. oleifera* améliore l'élimination du glucose plasmatique chez les rats Goto-Kakizaki (GK) (Kar, 2003). De même, l'extrait méthanolique de sa poudre de fruit est riche en N-benzyl thiocarbamates, N-benzyl carbamates et benzyl nitriles qui peuvent déclencher la libération d'insuline par les cellules bêta pancréatiques de rongeurs, supprimer l'activité de la cyclooxygénase et inhiber la peroxydation lipidique (Mbikay, 2012).

M. oleifera s'est avéré réduire significativement le glucose à des niveaux normaux sans aucune cytotoxicité évidente par rapport aux rats diabétiques de type 2 induits par l'alloxane du groupe modèle (Omabe, 2014). La supplémentation en extrait aqueux de feuilles de *M. oleifera* à

la dose de 100 mg / kg peut améliorer la sensibilité à l'insuline, augmenter la capacité antioxydante totale (TAC) et améliorer la tolérance immunitaire (Tuorkey, 2016) , ce qui est cohérent avec un autre rapport selon lequel *M. oleifera* peut améliorer l'intolérance au glucose (Ndong, 2007).

L'extrait de *M. oleifera* peut également réduire les complications liées au diabète. Des études récentes ont montré que l'administration d'extrait de feuille de *M. oleifera* pendant six semaines joue un rôle essentiel dans la réduction des complications du diabète en protégeant les lésions rénales et l'inflammation induites par le diabète chez un modèle de rat diabétique induit par la streptozotocine (Omodanisi et al., 2017).

De plus, l'administration de poudre de graines de *M. oleifera* peut améliorer la néphropathie diabétique et restaurer l'histologie normale des reins et du pancréas par rapport à un groupe témoin diabétique positif (Al-Malki et al., 2015).

▪ Effet antiviral

En tant que plante médicinale traditionnelle, des propriétés antivirales ont été observées dans *M. oleifera* comme indiqué dans des études précédentes le traitement du virus avec un extrait de *M. oleifera* pourrait retarder le développement des lésions cutanées, prolonger la durée moyenne de survie et réduire la mortalité des souris infectées par le HSV-1 (Khan, 2005).

Waiyaput et al, ont proposé que l'extrait à 80% d'éthanol de fruits *M. Oleifera* ait démontré un effet anti-virus de l'hépatite B en réduisant la réplication du virus de l'hépatite B avec une cytotoxicité douce sur les cellules HepG2 (Waiyaput et al., 2012). Le *M. oleifera* a également été utilisée comme complément au traitement antirétroviral de l'infection à VIH (Monera, 2010).

Les feuilles de *M. oleifera* ont généralement été utilisées dans le traitement des effets secondaires liés au VIH, potentiellement à un stade précoce de l'ineffectivité des particules lentivirales du VIH-1 dans un dépistage basé sur un vecteur viral (Nworu et al., 2013). En évaluant ces recherches discutées, il est conclu que *M. oleifera* pourrait être utilisé dans l'amélioration des médicaments antiviraux prometteurs.

▪ Effet neuro-protectif

Les feuilles ont eu un impact neuroprotecteur en faisant progresser la survie neuronale et la croissance des neurites (Hannan et al., 2014).

L'extrait de feuille a eu un impact défensif contre la maladie d'Alzheimer en ajustant les niveaux de monoamine cérébrale et les impulsions électriques (Ganguly, 2008).

En outre, il a été découvert que l'action dépressive du système nerveux centrale est médiée par ses propriétés analgésiques et anticonvulsivants en raison des triterpénoïdes, des saponines et des flavonoïdes dans les feuilles (Bakre, 2013; Ray, 2003).

Le *M. oleifera* a été utilisé pour améliorer la mémoire par le mouvement nootropique et se protéger contre la pression oxydative dans la maladie d'Alzheimer (Ganguly, 2008). Un modèle a été proposé par Ganguly et Guha (2008) pour la maladie d'Alzheimer incluant l'infusion de colchicine dans le cerveau des rongeurs. Ils ont montré que le *M. oleifera* induisait la modification des monoamines cérébrales et des schémas électriques. Un effet protecteur contre la neurodégénérescence a été rapporté par en raison des glucosinolates (R, S-Sulforaphane-SFN), qui offrent une protection (Giacoppo, 2015).

▪ Effet antimicrobien

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des espèces de *Moringa* avec les rapports que les extraits de différentes parties de la plante *M. oleifera* - y compris graines, écorce de tige, feuilles et écorce de racine peuvent exercer un potentiel antimicrobien (Elgamily et al., 2018).

La lectine hydrosoluble isolée de l'extrait de graines de *M. oleifera* a des effets inhibiteurs sur la croissance, survie et perméabilité cellulaire de plusieurs espèces de bactéries pathologiques (Mehta et al., 2003).

De plus, l'extrait de racines de *M. oleifera* contiendrait un antibiotique actif ptérygospermine qui apuissants effets antibactériens et fongicides. L'aglycone de désoxy-niazimicine isolée de la fraction chloroforme d'un extrait éthanolique d'écorce de racine de *M. oleifera* est responsable des activités antibactériennes et antifongiques (Nikkon et al., 2003), tandis que le jus de l'écorce de tige présente un effet antibactérien contre *Staphylococcus aureus* (Mehta et al., 2003).

Les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *M. oleifera* ont des propriétés antibactériennes prometteuses, avec de forts effets inhibiteurs sur les espèces à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*) sur les espèces à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Aeromonas caviae*) (Peixoto et al., 2011). De plus, l'extrait éthanolique de feuilles de *M. oleifera* a démontré la zone inhibitrice moyenne la plus élevée contre la croissance des mutants de *S. aureus* et de *Streptococcus* lors de la comparaison entre le dentifrice expérimental contenant l'extrait de différentes parties de la plante *M. oleifera* et les solutions de bain de bouche (Nikkon et al., 2003).

I.2.5. L'effet synergique de *Moringa oleifera* avec d'autres plantes médicinales

Le terme synergisme signifie que l'effet de deux ou plusieurs substances entraîne une meilleure activité biologique que les substances pures administrées en une seule dose (Wagner, 2009). Dans ce contexte, cet effet se produit par différents produits chimiques et des moyens biologiques. Il existe de nombreux exemples de mono et multi-extraits combinaisons utilisées actuellement, qui présentent une efficacité synergique basée sur des cibles multiples mécanismes d'action (De Zwaan, 2011). Certains produits phyto-thérapeutiques disponibles sur le marché sous différentes formes (extrait ou fraction) présentent généralement synergisme qui a un effet important dans l'amélioration de la puissance thérapeutique.

L'effet synergique d'un certain nombre de composants à base de plantes est en fait beaucoup plus que la somme de chacun des composants individuels., la décoction d'une combinaison d'herbes est couramment utilisée pour la gestion de maladies chroniques (Item, 2012) . Lorsque les herbes sont combinées, l'effet résultant est généralement plus puissant pour améliorer les bienfaits pour le patient que lorsque les herbes sont prises seules. Cependant, un effet contraire peut parfois être observé, conduisant à une activité biologique appelée antagonisme. Bien que seules quelques études cliniques aient confirmé l'existence d'un synergisme, des études précliniques ont été largement décrites, et de grandes quantités de des preuves peuvent être trouvées dans la littérature, présentant des avantages pour la santé des humains, améliorer l'acceptation par les consommateurs et la valeur économique (Malongane, 2017) .

Les plantes alimentaires sont considérées comme relativement sûres car elles sont susceptibles de contenir des effets synergiques et / ou neutralisants combinaisons d'activités (Anwar et Gilani, 2007). *Moringa oleifera*, connu pour être riche en plusieurs produits chimiques actifs en médecine, peuvent être un bon candidat pour voir s'il contient une amélioration de l'effet et / ou effets secondaires neutralisant les combinaisons.

Les plantes médicinales sont relativement riches en leur contenu de canal calcique bloquants (CCB) qui sont connus pour posséder une large variété d'activités pharmacologiques telles que les antihypertenseurs, hépatoprotecteur, antiulcéreux, antiasthmatique, antispasmodique et antidiarroeal (Stephens, 1992).

- **Effet synergique de *Moringa oleifera* avec les médicaments chimiothérapeutiques**

La résistance multi-médicamenteuse (MDR) est l'une des principales raisons de l'échec chimiothérapeutique. La MDR aux médicaments chimiothérapeutiques entraîne souvent une réduction de l'efficacité du traitement et une récurrence du cancer (Kou et Fan, 2017). Il est bien connu que les composés phytochimiques présentent les avantages d'une faible toxicité, de faibles effets secondaires, de cibles multiples et d'une moindre résistance aux tumeurs ainsi que de fonctions anti-tumorales et de régulation immunitaire (Kou et Fan, 2017). Par conséquent, les composés naturels avec MDR inversé sont devenus le centre des études anticancéreuses. Bien que *M. oleifera* ne se soit pas encore développé en un agent chimiopréventif commercial. Les résultats de Jafarain et *al.*, ont révélé que la doxorubicine, un médicament chimiothérapeutique, associée à *M. oleifera* callus et aux extraits de feuilles, produit une synergie robuste sur l'inhibition de la croissance des cellules HeLa, qui est également corrélée à l'induction apoptotique (Jafarain et *al.*, 2014).

Les médicaments anticancéreux sont actuellement utilisés en association avec *M. oleifera* pourrait être une nouvelle stratégie thérapeutique pour les cancers.

I.2.6. L'effet des flavonoïdes sur certaines maladies

Les phytochimiques sont un groupe de produits chimiques produits par des plantes Par le métabolisme primaire ou secondaire qui protège contre des menaces temporaires ou continues et a joué un rôle dans la croissance et la reproduction des plantes (Samanta, 2017). Basé sur leur structure chimique, Les phytochimiques peuvent être classés en trois catégories principales : azote /composés contenant du soufre, terpènes et phénols, qui comprennent flavonoïdes, acides phénoliques et ligniers ou stilbènes (Heneman, 2008).

Les flavonoïdes sont un groupe de composés de diphenyl propane (C6-C3-C6) qui ne sont pas synthétisés par les humains, mais sont plutôt consommés régulièrement dans le régime alimentaire humain via des agrumes, légumes, Noix, Herbes épices.

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les auronnes, les anthocyanes et les tanins.

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Benguerba, 2008).

➤ Quercétine

La quercétine ou 3, 3', 4', 5, 7-pentahydroxyflvanone qui entre dans la catégorie des flavonols est largement présente également dans des plantes comme le Ginkgo biloba, *Hypericum perforatum*, ainsi que dans des légumes comme les pommes, les baies, les raisins, les oignons, les échalotes et les tomates (Li et *al.*, 2016) (Figure 07).

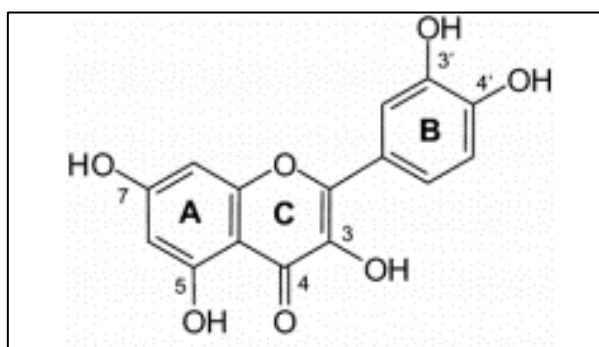


Figure 07 : Structure chimique du principe actif quercétine (Garicia-Mediavilla et *al.*, 2007)

▪ L'effet de quercétine sur le cancer

La quercétine a montré des effets bénéfiques significatifs sur de nombreuses maladies. En raison de doses raisonnables de quercétine n'ont pas d'effets secondaires toxiques évidents sur les cellules normales, de plus en plus des chercheurs prêtent attention à l'effet thérapeutique de la quercétine sur les tumeurs. De nombreuses études ont montré que la quercétine peut exercer des fonctions antitumorales dans une variété de mécanismes et a été confirmé dans des modèles *in vitro* et *in vivo* de diverses tumeurs, avec des résultats encourageants. La quercétine empêche significativement le cycle cellulaire, favorise l'apoptose, et inhibe l'angiogenèse et métastase *in vitro* (Vadafar et *al.*, 2020).

▪ Effet apoptotique

Les effets de la quercétine sur les cellules de cancer colorectal portant le gène mutant KRAS a révélé que la quercétine pourrait diminuer la viabilité cellulaire et augmenter l'apoptose dans les cellules cancéreuses sur la base du test MTT et de la formation de colonies. Les mécanismes sous-

jacents possibles sont la répression de la voie AKT et l'activation du c-Jun voie de la kinase N-terminale (JNK) dans les cellules mutantes KRAS (Yang, 2019) (Figure 08).

Selon les données de littérature, cette construction contenant de la quercétine peut augmenter l'apoptose via amélioration de la caspase-3, caspase-9 et provoqué plus libération du cytochrome c (cyto-c). Nanoparticule de quercétine également la voie de signalisation Akt / ERK1 / 2 est réprimée, la télomérase transcriptase inverse (hTERT) via immédiate AP-2β / hTERT et cyclooxygénase 2 (COX-2) à inactivé le NF-κB / COX-2 (Ren, 2017).

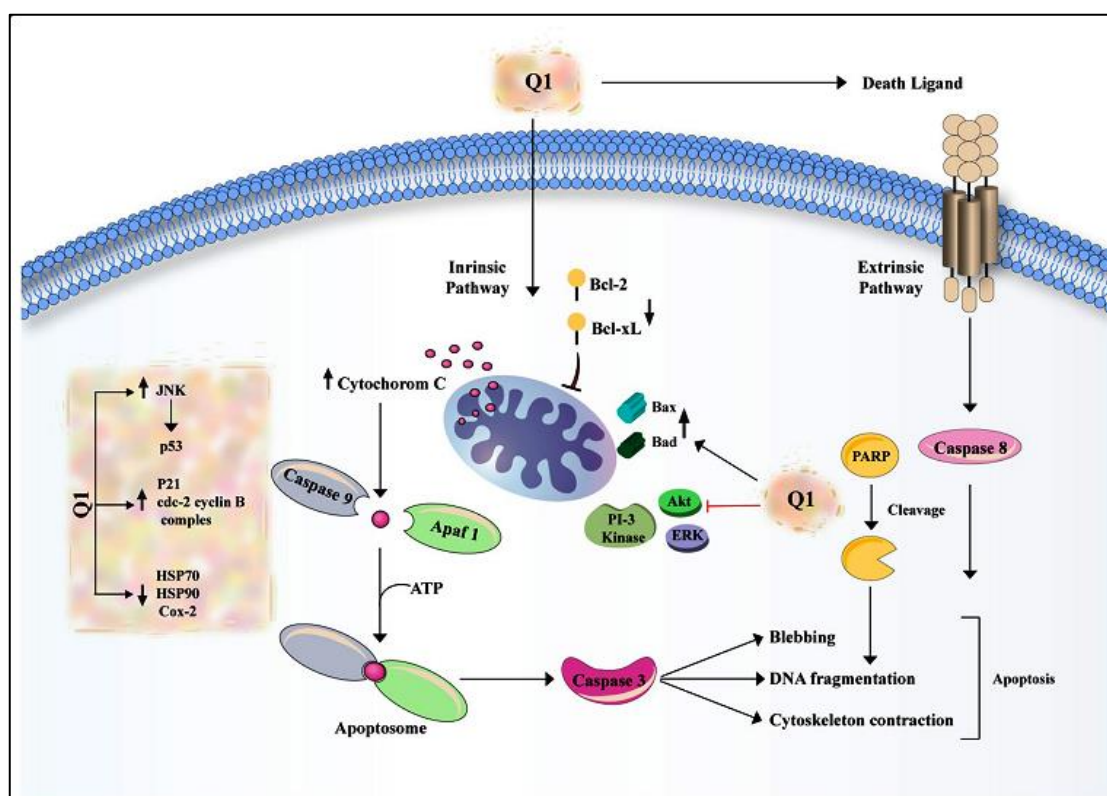


Figure 08 : Signalisation de l'activité apoptotique de la quercétine (Vadafar et *al.*, 2020)

▪ **Effet de la quercétine sur l'anti-angiogénèse**

L'angiogénèse est l'un des processus très importants liés au cancer. Il a été démontré que la quercétine exerce ses effets anti-angiogéniques dans divers cancers (Figure 09). De plus, la quercétine est capable de protéger contre les radicaux libres, y compris le tabagisme. Les radicaux libres provenant du goudron de cigarette peuvent causer des dommages irréparables aux membranes érythrocytaires. De plus, il a été rapporté que la quercétine et ses métabolites conjugués possèdent le potentiel de protéger les érythrocytes contre les dommages de la membrane résultant du tabagisme (Begum, 2002).

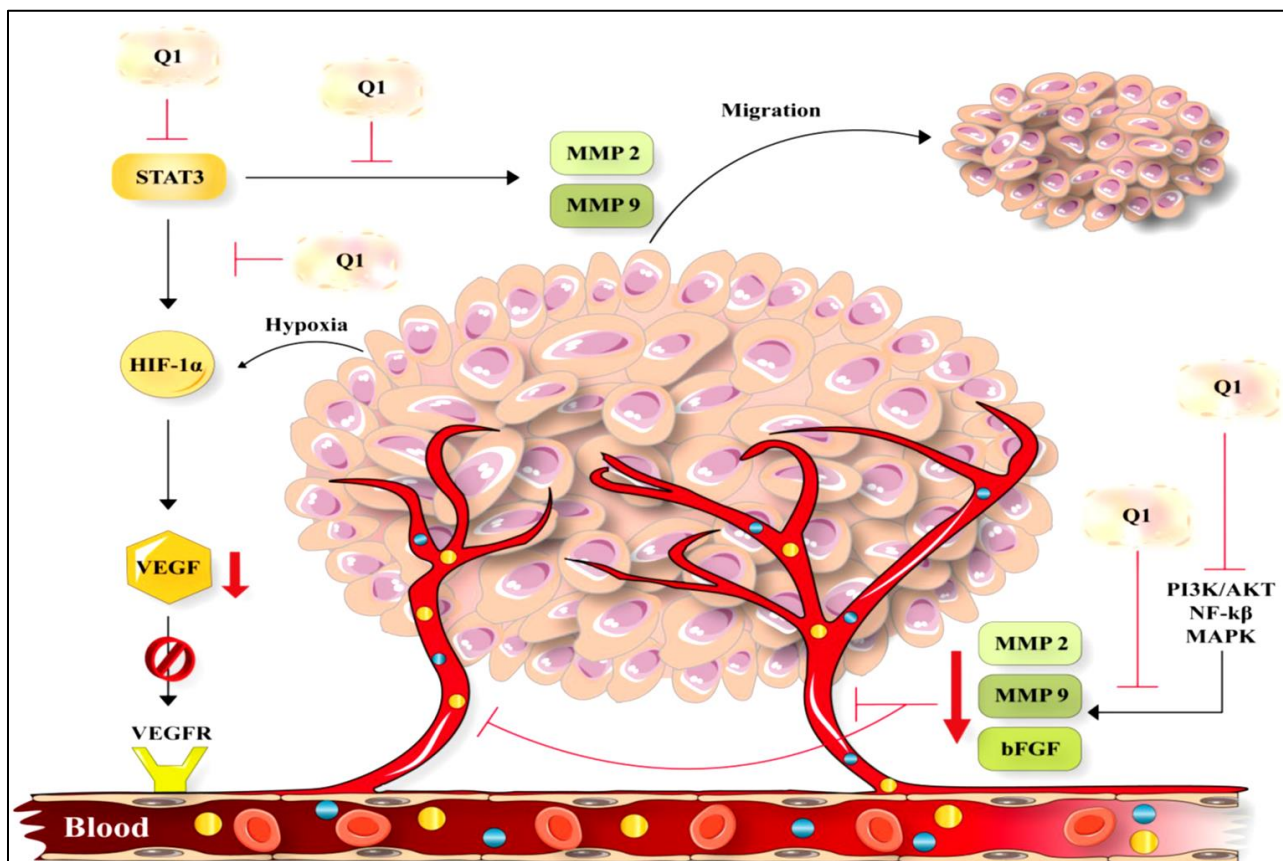


Figure 09 : Effet de la quercétine sur l'anti-angiogénèse (Vadafar et *al.*, 2020)

▪ Effet de la quercétine sur le cycle cellulaire

La quercétine peut réguler le cycle cellulaire en contraignant directement plusieurs cibles moléculaires et, en fonction de type et l'origine de cellule tumorale, il bloque le cycle de cellule à la transition G2/M ou à la transition G1/S. La quercétine bloque le cycle de la cellule en progression par la régulation ultérieure de P21 et P27 et P53. Sachant que P21 exerce une activité inhibitrice sur plusieurs CDK (Gibellini, 2011).

En particulier, P21 inhibe CDK2-Cycline E, avec l'inhibition résultant de CDK2-phosphorylation dépendante de la PRB et de la séquestration de E2F1 inhibant ainsi la transcription génique induite par E2F1 et la progression et à travers la phase S. P21 inhibe également CDK2-Cycline A et CDK1-Cycline B, qui sont essentiels à la progression de la phase S et G2, respectivement (Gibellini, 2011). P27 exerce plusieurs effets sur le cycle cellulaire, mais seulement dans certaines conditions, il peut inhiber les complexes CDK4-Cycline D et CDK6-Cycline D. Le suppresseur tumoral P53, une fois activé, peut induire plusieurs réponses cellulaires différentes, y compris la croissance arrestation et apoptose (Figure 10).

L'arrestation de croissance est essentiellement suscitée à travers la régulation ultérieure des gènes qui codent pour les inhibiteurs de la progression du cycle cellulaire, y compris p21 et p27. Dans différents modèles cellulaires, la quercétine stabilise P53 à la fois chez l'ARNm et les niveaux de protéines. En dehors de blocage de la croissance des cellules à travers l'action directe sur les modulateurs clés de cycle cellulaire, la quercétine est capable d'induire la voie de l'apoptose Mitochondrial (Figure 10). En effet, elle peut perturber le potentiel de la membrane mitochondrial qui provoque à son tour la libération du cytochrome c dans le cytoplasme, un phénomène qui active plusieurs caspases, tels que la caspase-3 et -7 (Gibellini, 2011).

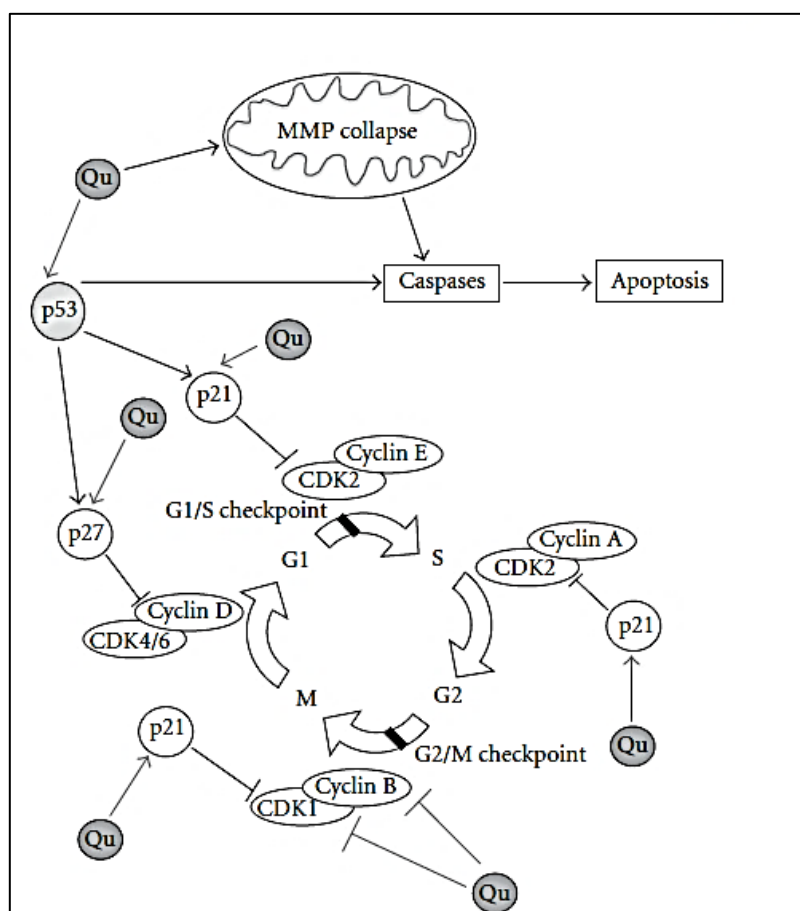


Figure 10 : Effet de quercétine sur le cycle cellulaire (Gibellini et *al.*, 2010)

▪ **L'effet de la quercétine sur l'inflammation**

Dans une étude clinique portant sur des patients souffrant d'inflammation systémique chronique (ISC) dans une maladie coronarienne stable, la quercétine a montré des effets anti-inflammatoires avec une réduction des indicateurs de l'ISC (Chekalina, 2018). La quercétine a diminué les niveaux d'IL-1 β et de TNF- α dans le sérum sanguin, en plus de diminuer l'activité transcriptionnelle de NF κ B dans les cellules mononucléaires sanguines (Chekalina, 2018).

Dans le modèle d'inflammation induite par la leptine utilisant des cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine, la quercétine a significativement supprimé la régulation à la hausse de l'expression d'Ob-Ra (récepteur de la leptine), la phosphorylation ERK1/2, NFκB et TNF-α (Indra, 2013).

➤ **Kaempferol**

Le kaempférol (3,4',5,7-tétrahydroxyflavone) est un flavonol qui est largement présent dans les fruits, les légumes et les herbes, y compris le raisin. (Smail, 2016) (Figure 11).

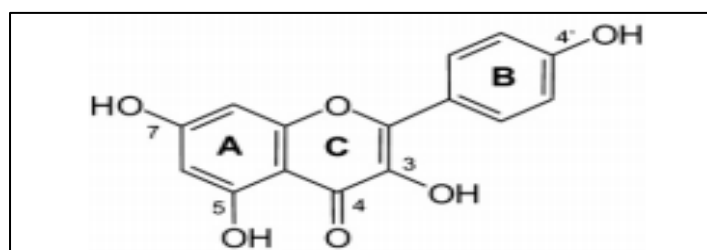


Figure 11 : Structure chimique du principe actif « kaempferol » (Garicia-Mediavilla et *al.*, 2007)

▪ **L'effet de Kaempferol sur le cancer**

Kaempferol augmente les niveaux d'enzymes et de protéines pro-apoptotiques, tels que caspase-9, -7, -3, P21, P53, BAX, PARP et P-ATM (Diantini, 2012) et diminuent les niveaux des protéines anti-apoptotiques BCL2, Kinase à la forme de polo 1 (PLK-1), PAKT, récepteur d'insuline phosphorylée substrat 1 (PIRS-1), protéine kinase activée par mitogène phosphorylé (PMEK) 1/2, dépendant de la cycline Kinase 1 (CDK1), cyclines A, B, D1 et E, et cathepsine D (Azevedo, 2015).

De plus, le kaempférol active de manière significative les cascades de la protéine Kinase (MAPK) activée par des mitogènes, qui sont des voies de signalisation clés impliquées dans la régulation de la prolifération cellulaire normale, de la survie et de la différenciation. En effet, Kaempférol active kinase (Erk) réglementée de signal extracellulaire, concomitante avec MEK1 et Elk; Bien qu'il réduise Emt et métastase. La voie de signalisation MAPK, lorsqu'elle est activée, conduit à la transcription de facteur activateur protéine-1 (AP-1), cathepsine B et D, activation de MMP-2 et -9, et par conséquent réduit l'adhésion, la migration et l'invasion cellulaire.

En outre, le kaempférol abaisse également la glycémie transporter 1 (GLUT1) au niveau d'ARNm et empêche l'absorption de (3) H-désoxy-d-glucose ((3)H-DG) et transporte le

monocarboxylate 1 (MCT1) de lactate cellulaire métabolisé menant au lactate extracellulaire provoquant une accumulation (Figure 12) (Azevedo, 2015)

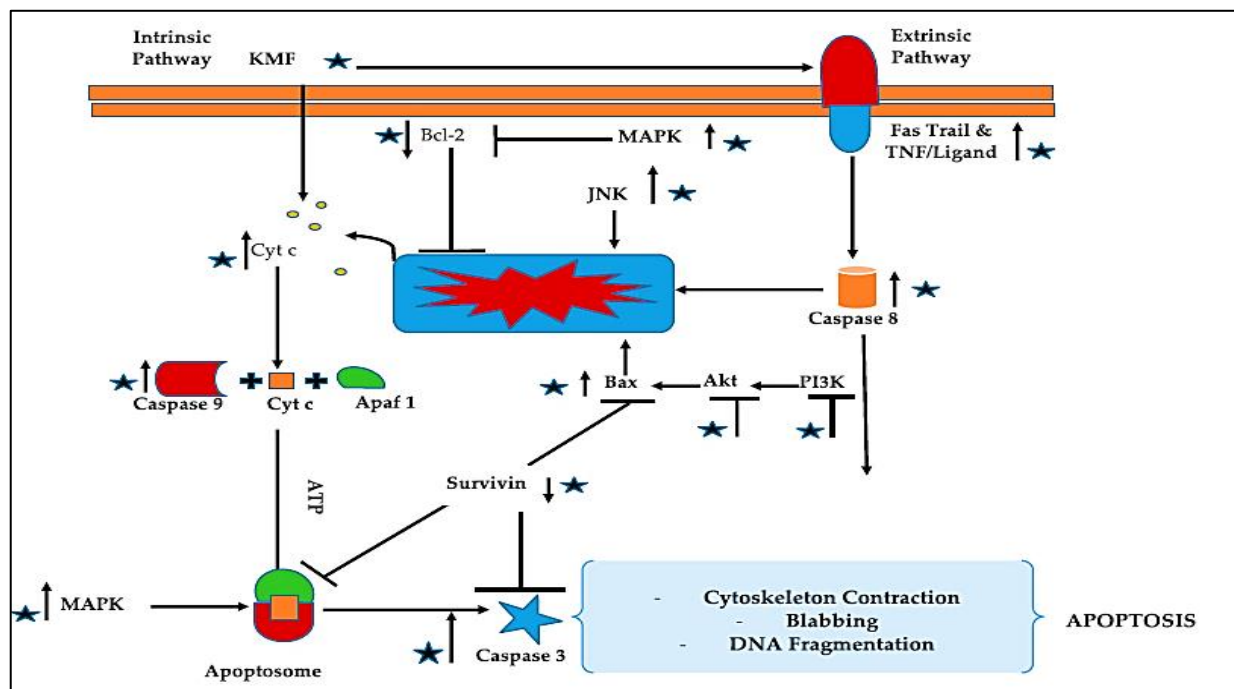


Figure 12 : Effet anti-apoptotique du kaempférol (Imran *et al.*, 2019)

▪ L'effet de kaempférol sur l'inflammation

Le kaempférol peut diminuer la libération de cytokines pro-inflammatoires en inhibant la phosphorylation de l'AKT et l'activation du NFκB (Liu *et al.*, 2015). Dans les lésions cardiaques induites par l'isoprénaline, le kaempférol peut améliorer les fonctions hémodynamiques et ventriculaire gauche chez les rats mâles. Ce qui a permis de réduire la concentration sérique accrue de la CK-MB et de LDH, par conséquent, la morphologie du myocarde est préservée, et les niveaux de cytokines pro-inflammatoires sont réduits (Suchal, 2016). De même, le kaempférol peut empêcher les dommages cardiaques en inhibant l'expression protéique de NFκB, p38 et JNK (Suchal, 2016), suggérant que l'action cardioprotectrice et anti-inflammatoire du kaempférol est associée à la voie de signalisation NFκB.

Sachant que la protéine C réactive (CRP) est une protéine de phase aiguë produite par les hépatocytes dont l'élévation sérique est considérée comme un indicateur d'inflammation chronique et dont l'interaction avec les cellules endothéliales peut être le lien mécaniste entre la CRP et l'athérosclérose (Liang, 2006).

Il est connu que les flavonoïdes varient selon le type et le nombre de modèles de substitution qui présentent des activités anti-inflammatoires et anti-radicalaires (Odontuya, 2005). Les flavones quercétine et kaempférol ont des capacités légèrement différentes pour moduler les voies de signalisation intracellulaires (Wang, 2003). Ce qui a permis d'analyser l'efficacité des deux flavonoïdes en tant que composés anti-inflammatoires, en évaluant leurs effets en termes de capacité à moduler l'expression d'iNOS, de COX-2 et de CRP, et à induire des changements dans la NF- κ voie B dans les cellules hépatiques (Figure 13) (Wang, 2003).

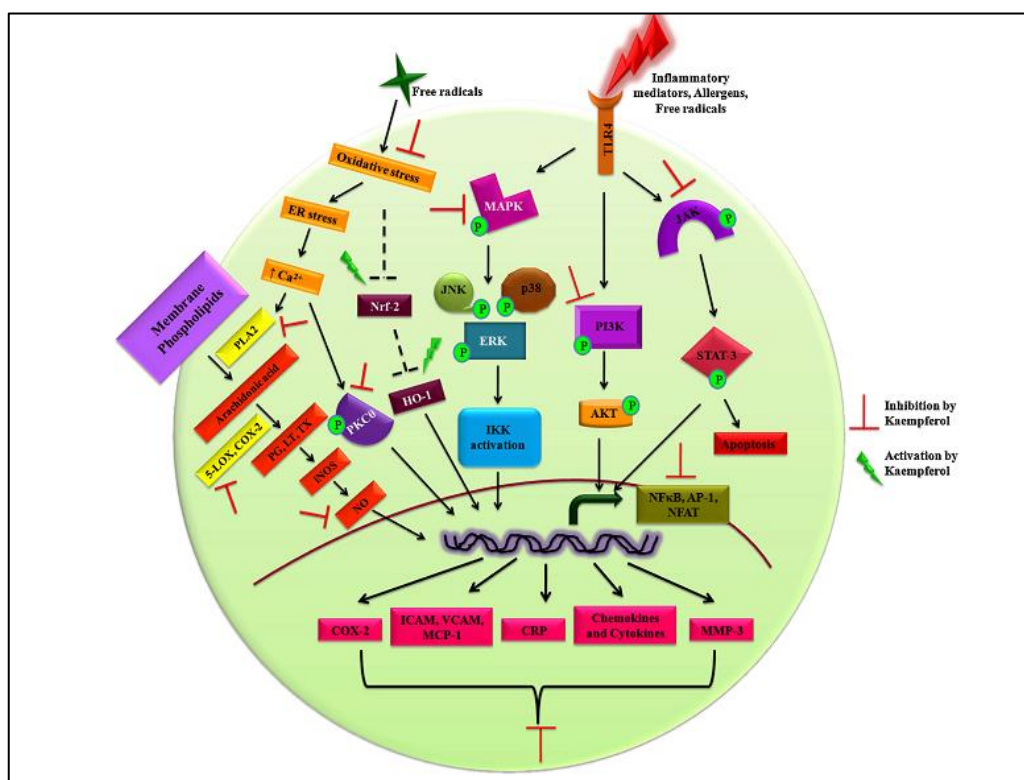


Figure 13 : Mécanismes d'action de l'activité anti-inflammatoire du kaempférol (Nabavi et al., 2015)

▪ La dynamique entre quercétine et kaempférol

Les activités anti-inflammatoires de la quercétine et du kaempférol ont été partiellement décrites dans la littérature, avec des différences qui pourraient être dues à des effets dépendants des tissus et de la concentration. Ils ont donc examiné les effets de ces derniers de manière dépendante de la concentration. Il a été rapporté que les flavonoïdes agissent sur les cascades de signalisation des protéines kinases et lipides kinases telles que PI3K, Akt / PKB, tyrosine kinases, protéine kinase C (PKC) et MAPK (Spencer, 2010), inhibant la transcription de facteurs comme AP-1 ou NF- κ B. L'activité inhibitrice exercée sur les kinases est due à la compétition avec l'ATP

pour la liaison aux sites catalytiques de ces enzymes, bloquant ainsi les processus de transduction du signal et d'activation cellulaire dans les cellules du système immunitaire (Freitas et *al.*, 2015).

Les effets inhibiteurs ou stimulants exercés sur ces voies sont susceptibles d'affecter le fonctionnement cellulaire en modifiant l'état de phosphorylation des molécules cibles et en modulant l'expression des gènes (Williams, 2004).

En tant qu'agents anti-inflammatoires, les flavonoïdes ont un mécanisme d'action similaire aux AINS, car ils inhibent les COX responsables de la synthèse des PG, qui sont également impliqués dans les processus physiologiques. L'activité *in vitro* des flavonoïdes dans la réponse inflammatoire implique également d'autres médiateurs inflammatoires tels que les cytokines, les molécules d'adhésion et les chimiokines (Agati G, 2012). Ils ont été décrits comme de bons modulateurs de la production de cytokines. Les exigences structurelles pour qu'un flavonoïde exerce une bonne inhibition du TNF stimulé par le LPS α la libération sont la présence d'une double liaison en position C2-C3, avec une fonction « oxo » en position C4 et la présence de groupes OH en positions 3'; Effet inhibiteur des flavonoïdes sur ROS, NO et PG. Le LPS se lie au TLR4 et déclenche la génération de ROS qui activent la translocation nucléaire de NF- κ B. Le NF- κ B médie l'expression d'iNOS et de COX. Ces enzymes synthétisent respectivement NO et PG. le symbole en forme de T représente l'activité inhibitrice (Leyva-López, 2016).

Les activités moléculaires des flavonoïdes comprennent l'inhibition de facteurs de transcription tels que NF- κ B et AP-1, ainsi que l'activation du facteur nucléaire érythroïde 2 liés au facteur 2 (Nrf2) (Tuñón , 2009) (Figure 14).

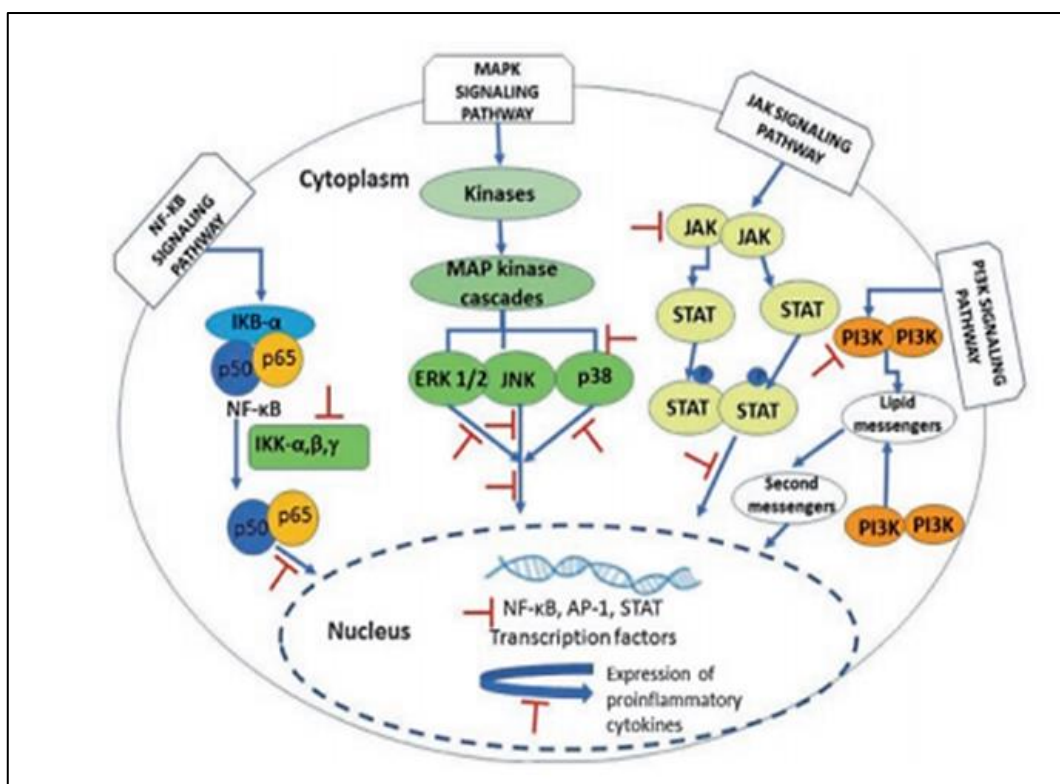


Figure 14 : Mécanisme d'action des flavonoïdes (Muschiatti et *al.*, 2018)

I.3. Formulation d'un complément alimentaire

La formulation de compléments alimentaires de qualité pharmaceutique ayant une stabilité physique et chimique adéquate ainsi que sûr, rentable et techniquement réalisable peut entraîner de nombreux défis. Contrairement aux médicaments qui sont généralement bien définis entités chimiques, les plantes sont des ingrédients complexes contenant plusieurs composants chimiques et souvent plusieurs classes de composés sont présents dans un seul produit. Beaucoup de ces composés sont instables à la chaleur, à la lumière, à l'oxygène, au pH alcalin et à une humidité élevée. Ils peuvent également avoir un écoulement, une densité apparente et une distribution granulométriques variables médiocres (Rane , 2012).

Ainsi, le développement réussi des nutraceutiques nécessite des connaissances des aspects fondamentaux des propriétés physiques et chimiques des différentes formes des ingrédients (Figure 15), l'utilisation des techniques de fabrication adéquates, la sélection du bon excipient et l'ajout de dépassements de fabrication appropriés en fonction sur des études de stabilité critique. Les exigences réglementaires posent également des défis pour le développement des compléments alimentaires. Basé sur les ingrédients et les allégations, dont formule peut entrer dans différentes catégories dans différents pays. Complexité et calendrier d'inscription varie considérablement selon la catégorie et le pays avec un examen de plus en plus minutieux.

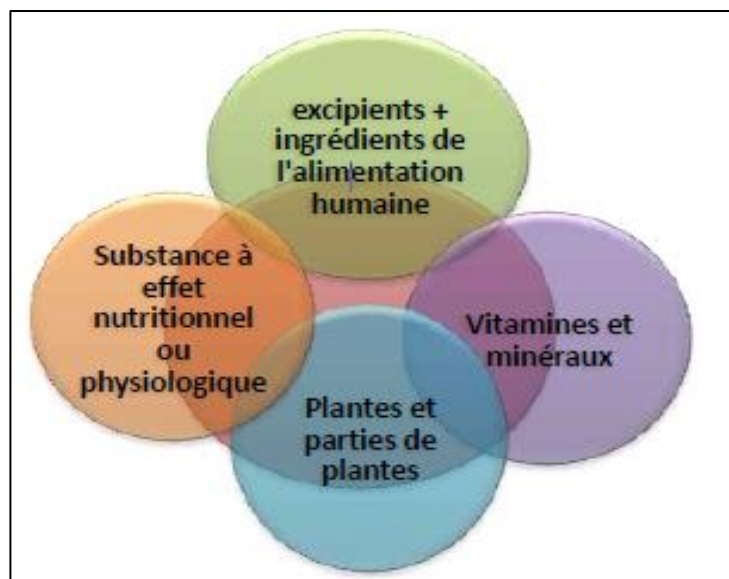


Figure 15 : Les Ingrédients des compléments alimentaires (Mylle, 2012)

Aujourd'hui, les médicaments à base de plantes sont plus préférés au produit médicamenteux synthétique parce que le produit synthétique ayant de nombreux effets secondaires. La plantes contenant la composition chimique fait partie de la fonction physiologique de la flore vivante et bien compatible avec le corps humain. De nombreuses plantes sont signalées pour traiter la maladie de l'Antiquité (Rane , 2012). La qualité nutritive des aliments est un élément clé dans le maintien du bien-être physique global de l'homme est une force durable pour la santé et le développement et la maximisation du potentiel génétique humain, donc pour la solution de l'insécurité alimentaire et de la malnutrition profondément enracinée, la qualité de l'alimentation doit être prise en considération (Singh, 2012). Par conséquent, un mélange Moringa et d'autre plante constituerait un complément alimentaire de bonne qualité.

La Réglementation définit le complément alimentaire dans le but de garantir la sécurité du consommateur (Mylle, 2012), comme :

- Des denrées alimentaires
- En complément de l'alimentation
- Source concentrée de nutriments ou d'autres substances
- Ayant un effet nutritionnel ou physiologique
- Commercialisées sous forme de doses

1.3.1. Concept général sur la norme ISO 22000

La norme ISO 22000 est une norme de système de management de la sécurité des aliments (SMSA) ; Elle a été créée pour faire face à une demande de plus en plus importante des clients de démontrer l'aptitude des organismes de la chaîne alimentaire à identifier et maîtriser les dangers liés à la sécurité des aliments ; lorsqu'un organisme veut démontrer son aptitude à maîtriser les dangers liés à la sécurité des aliments afin de garantir en permanence la fourniture des produits sûrs répondant aux exigences convenues avec les clients et celles des règlements applicables en la matière. La norme ISO 22000 reconnaît que la sécurité des denrées alimentaires ne peut être assurée que par les efforts combinés de tous les acteurs de la chaîne alimentaire (Natouri, 2013). Mettre en place un système de management de la sécurité des aliments selon l'ISO 22000, c'est faire la démonstration des moyens mis en œuvre par une organisation afin d'assurer la sécurité des aliments ; c'est également apporter la confiance à ses fournisseurs, ses clients et les parties intéressées de la chaîne alimentaire.

L'ISO 22000 permet d'identifier les dangers potentiels pouvant survenir en amont comme en aval de cette chaîne et de définir une procédure de communication de crise conjointe à déclencher si un problème survient. L'ISO 22000 facilite aussi le respect des exigences réglementaires. Elle est d'ailleurs reconnue en cela par les services officiels de contrôle. L'ISO 22000 harmonise l'ensemble des exigences réglementaires en matière de gestion de la sécurité des denrées alimentaires. Lors de l'analyse des dangers, l'organisme détermine la stratégie à mettre en œuvre pour assurer leur maîtrise en combinant les Programmes Prérequis (PreRequisit Programs : PRP), les PRP Opérationnels (Yacine, 2019)

Les moyens mis en œuvre pour satisfaire toutes les exigences de la présente Norme internationale peuvent être réalisés par l'utilisation de ressources internes et/ou externes.

Cette norme définit des exigences pour permettre à un organisme de :

- ✓ Planifier, mettre en œuvre, exploiter, maintenir et mettre à jour un système de management de la sécurité des denrées alimentaires destiné à fournir des produits qui, conformément à leur usage prévu, sont sûrs pour le consommateur.
- ✓ Démontrer la conformité avec les exigences légales et réglementaires applicables en matière de sécurité des denrées alimentaires.

- ✓ Évaluer et apprécier les exigences du client, démontrer la conformité avec les exigences établies en accord avec lui et relatives à la sécurité des denrées alimentaires afin d'améliorer la satisfaction du client.
- ✓ Communiquer efficacement sur les questions relatives à la sécurité des denrées alimentaires avec ses fournisseurs, ses clients et les parties intéressées de la chaîne alimentaire.
- ✓ Garantir la conformité avec sa politique déclarée en matière de sécurité des denrées alimentaires.
- ✓ Démontrer cette conformité aux parties intéressées ; et faire certifier/enregistrer son système de management de la sécurité des denrées alimentaires par un organisme extérieur, ou effectuer une auto-évaluation/auto déclaration de conformité à la présente Norme internationale.

I.4. Fabrication d'un complément alimentaire

Le principe de fabrication est basique. Le ou les ingrédient(s) sélectionnés sont intégrés aux excipients. Le mélange homogène ainsi obtenu est présenté sous une forme galénique et commercialisée avec l'avis préalable de la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation, et de la Répression des Fraudes (DGCCRF). Le processus de fabrication est précis et s'enrichi à chaque étape par des contrôles qualité. Le schéma suivant reprend le principe du processus de fabrication d'un complément alimentaire (Arnaud, 2008). Dans la définition officielle du complément alimentaire, les autorités énumèrent plusieurs formes (Directive 2002/46/CE , 2002):

- Gélules ;
- Pastilles ;
- Comprimés ;
- Pilules et autres formes similaires ;
- Sachets de poudre ;
- Ampoules de liquide ;
- Flacons munis d'un compte-gouttes ;
- Autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre.

Le Syndicat des Compléments Alimentaires (SDCA) en partenariat avec le Syndicat des fabricants de produits naturels, diététiques et compléments alimentaires (SYNADIET) a mis en

place une charte de qualité des compléments alimentaires qui est diffusée auprès de tous les adhérents de SYNADIET depuis mars 2007.

En janvier 2010, une seconde version est réactualisée. Ce document reprend les bonnes pratiques et engage moralement tous les fabricants qui l'ont signé. La seconde version est complétée par les bonnes pratiques d'hygiène et les bonnes pratiques de fabrication (Figure 16). Ces acteurs se définissent eux-mêmes comme les acteurs de la qualité du complément alimentaire (Synadiet, 2010).

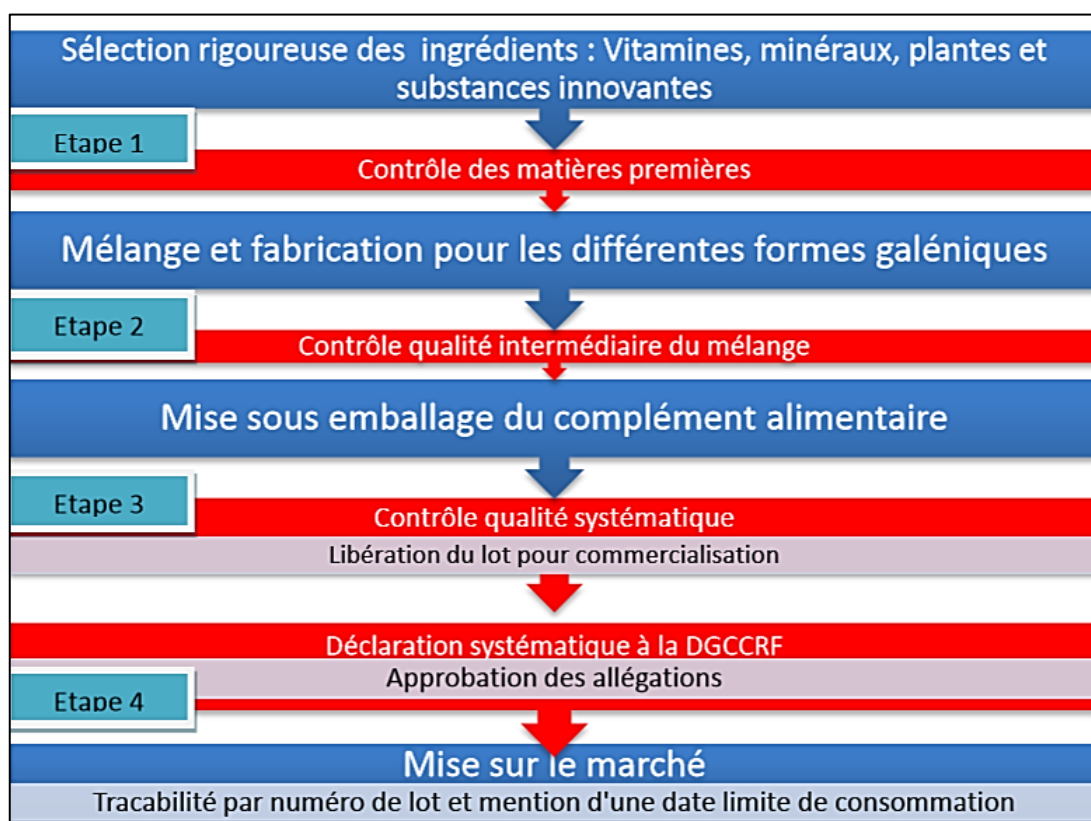


Figure 16 : Processus de Fabrication d'un complément alimentaire (Mylle, 2012)

I.4.1. L'approche HACCP

➤ Définition

HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) être traduit par : Analyse des Dangers Points Critiques pour leur maîtrise (Terfaya, 2004), est un système préventif désigné pour l'élimination ou bien la miniaturisation des dangers biologiques, chimiques et physiques basé sur une approche de la gestion de la sécurité alimentaire axée sur le bon sens (Caswell, 1996). Il recherche les dangers, puis prévoit des contrôles pour que le produit ne soit pas nuisible pour le consommateur (OMS, 2002).

Bien qu'il requière l'acquisition d'un certain niveau d'expertise le HACCP n'est qu'une démarche logique fondée sur une compréhension approfondie du produit, matière première et procédés, ainsi que les facteurs environnants (Caswell, 1996).

➤ **Objectifs du système HACCP**

L'objectif essentiel de la méthode est de promouvoir le choix raisonné des moyens adaptés à la prévention de dangers identifiés, la définition des modalités optimales de leur utilisation et la vérification de leur efficacité sans préjuger, à priori, de la nature de ces moyens.

- Accroître l'efficacité des processus en les améliorant à tous les niveaux de la chaîne : traçabilité, transformation, distribution, risques associés, mesures correctives (Bouali, 2010)
- Mettre à la disposition de tous les opérateurs des méthodologies permettant l'accès en temps réel et en tout point à l'information ainsi qu'une aide à la décision (Bouali, 2010).
- Accroître le professionnalisme des différents intervenants en améliorant leurs compétences (par une meilleure formation/information), la cohérence et la coordination de leurs actions ainsi que leur accès à l'information (Bouali, 2010).

L'HACCP doit permettre de prendre en compte toute évolution du marché (produits nouveaux), de la technologie (procédés innovants) ou des connaissances scientifiques (nouveaux germes pathogènes). Être capable de planifier une démarche HACCP et de mettre en œuvre une organisation conforme à ses principes et à la norme ISO 22000 (Bouali, 2010).

➤ **Principes de base de l'HACCP**

Les textes fondamentaux relatifs à l'hygiène des denrées alimentaires, notamment l'HACCP, ont été adoptés par la Commission du Codex Alimentarius en 1997 et 1999. Les lignes directrices relatives à la mise en place de l'HACCP ont été révisées en 2003. Le système HACCP peut être appliqué de la production primaire jusqu'à la consommation et consiste à suivre sept principes (Figure 17) :

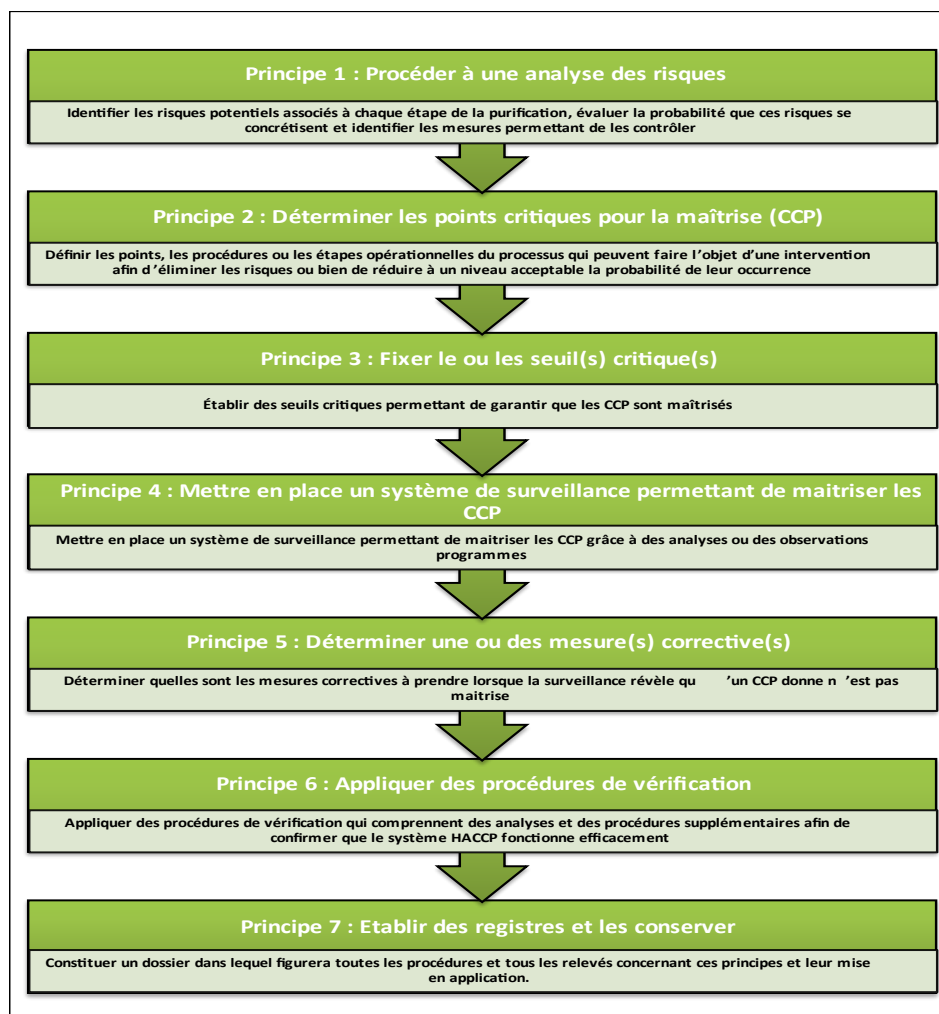


Figure 17 : Les principes de l'Approche HACCP (Originale)

I.5- La biodisponibilité du complément alimentaire à base de *Moringa oleifera*

La biodisponibilité des compléments alimentaires peut être définie comme proportion d'un composé digéré, absorbé et métabolisé par les voies normales.

Les flavonoïdes doivent être régulièrement complétés car ils sont métabolisés rapidement et ne s'accumulent pas facilement dans l'organisme (Lotito et Frei, 2006). De plus, le corps humain ne peut pas synthétiser les flavonoïdes, par conséquent, ils doivent être obtenus à partir de la nourriture. *M. oleifera* sachant qu'il contient divers composés flavonoïdes « le kaempférol, la quercétine ». Dans les feuilles de moringa, la plupart des composés flavonoïdes existent sous forme glycosylée. La différence de ces composés dans le moringa réside dans la variation de leur degré de glycosylation et d'alkylation, ainsi que dans le nombre et la disposition des groupes hydroxyle. Néanmoins, la glycosylation peut s'assurer que la structure des flavonoïdes n'est pas altérée dans le système gastrique (Takahama et al., 2018). De plus, les aglycones flavonoïdes étaient facilement absorbés dans les cellules épithéliales du gros intestin en raison de leur

lipophilie. Cependant, en raison de l'hydrophilie de leurs fractions de sucre, les aglycones des glucosides flavonoïdes alimentaires peuvent être absorbés par l'intestin grêle après hydrolyse par des enzymes intestinales, telles que la lactase phlorizine hydrolase (LPH), ou par la microflore colique (Figure 18) (Mengfei et *al.*, 2018).

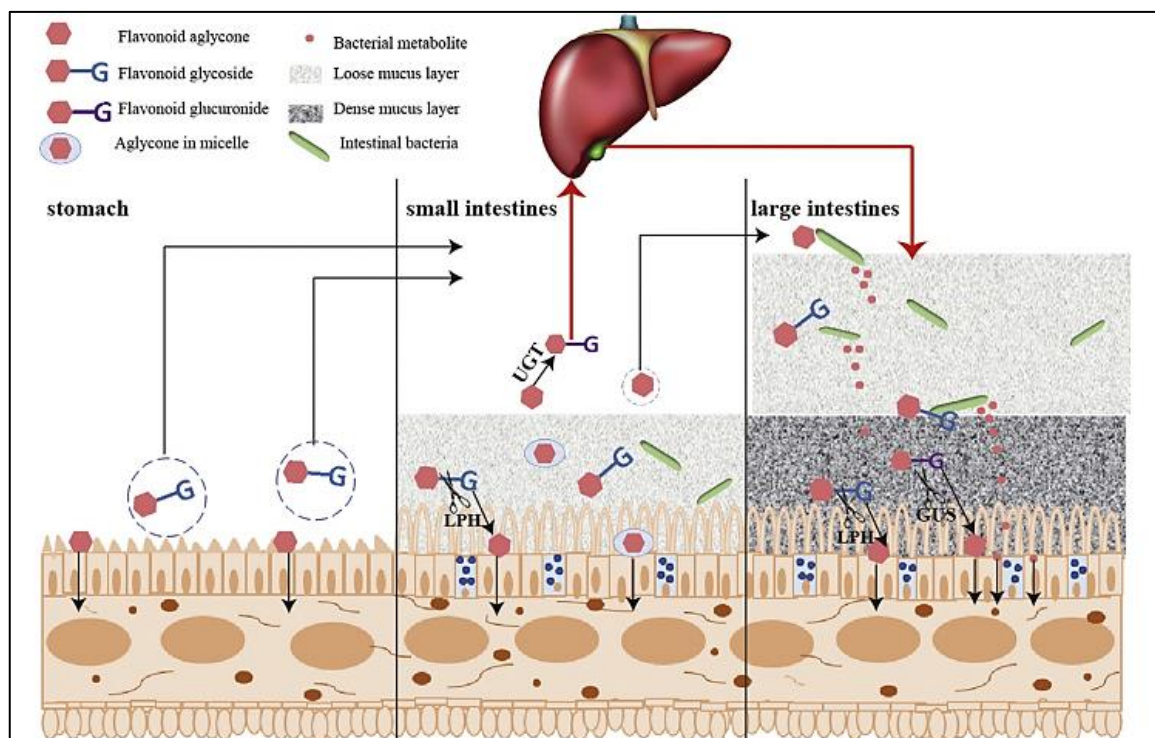


Figure 18 : Biodisponibilité du complément alimentaire à base de *Moringa oleifera* (Mengfei et *al.*, 2018)

Les aglycones flavonoïdes hydrophobes, plutôt que le glycoside flavonoïde, sont absorbés dans l'estomac. Le glycoside flavonoïde se déplace vers l'intestin grêle où le glycoside flavonoïde est clivé du glycoside, puis l'aglycone libérée peut diffuser passivement à travers les cellules cylindriques.

Dans l'intestin grêle, les micelles transportent l'aglycone à travers la couche de mucus jusqu'au bord de la brosse. De plus, l'UDP-glucuronosyl transférase (UGT), catalyse la conversion de l'aglycone en flavonoïde glucuronide, qui est produit dans l'intestin grêle puis absorbé par les hépatocytes et se dirige finalement vers le gros intestin via le canal biliaire. Dans le gros intestin, les aglycones sont métabolisés en acides phénoliques par les bactéries et le flavonoïde glycoside et le flavonoïde glucuronide libèrent de l'aglycone via l'action du LPH et du glucuronidases (GUS), respectivement (Figure 18) (Zeng et *al.*, 2016). Par conséquent, la glycosylation peut rendre l'absorption intestinale des glucosides flavonoïdes plus efficace que l'absorption gastrique.

| Chapitre II : Matériel et Méthodes |

L'objectif de notre étude est la fabrication et formulation d'un complément alimentaire selon la norme ISO 22000 dont l'HACCP est introduit avec lequel, nous avons tenu en compte les risques élevés durant toute notre pratique de la matière première (les feuilles) jusqu'au produit fini (le complément alimentaire) pour la consommation d'un complément alimentaire sain et sûr et de qualité et aussi pour ne pas retomber dans les risques.

Il s'agit d'une étude prospective, effectuée au niveau du Centre Ishak Ibn Honain de Boufarik sur une période allant du 07 Février 2021 au 11 Juillet 2021. Nos paramètres de recherche ont été réalisés dans des laboratoires différents en Algérie. Laboratoire d'analyse de la qualité « AFAK control Eurl » d'Oran. Laboratoire de développement et de contrôle des préparations pharmaceutiques hospitalières, Département de Pharmacie, Faculté de Médecine, Université Badji Mokhtar- Annaba. Laboratoire de contrôle de qualité et de conformité « Altesse » de Blida. D'autres paramètres ont été réalisés au Centre de la Recherche Scientifique et Techniques en Analyses physico-chimiques (CRAPC) Bousmail, Tipaza.

- Le travail va se focaliser sur les bases nécessaires qui contribuent à la mise en place d'**ISO 2200**, afin de valider les principales exigences pour être conforme à la norme.
- On a planifié et développer les procédés nécessaires à la réalisation des produits sains/sûrs.
- On a mis en œuvre, exploiter et assurer l'efficacité des activités planifiées et de toute modification de ces activités. Ceci comprend les **PRP**, les **PRP** opérationnels, le plan **HACCP** et aussi l'identification et la traçabilité du produit avec l'élaboration d'une procédure de retrait et de rappel.
- Pour évaluer l'efficacité de la mise en place des **PRP**, nous avons utilisé une grille d'évaluation appelée aussi check-list qui se base sur des exigences définissent dans le septième chapitre de **Planification et réalisation de produits sains et sûrs** figurant dans la norme **ISO22000**.

L'application de l'approche HACCP dans le cadre d'un système de management de la qualité permet :

- La compréhension et la satisfaction en permanence des exigences.
- La pris en compte des processus en termes de valeur ajoutée.
- L'obtention d'une performance effective des processus.

- L'amélioration des processus sur la base d'une évaluation de données et d'informations.

Le cycle PDCA peut s'appliquer à tous les processus et au système de management de la qualité dans son ensemble (Figure 19).

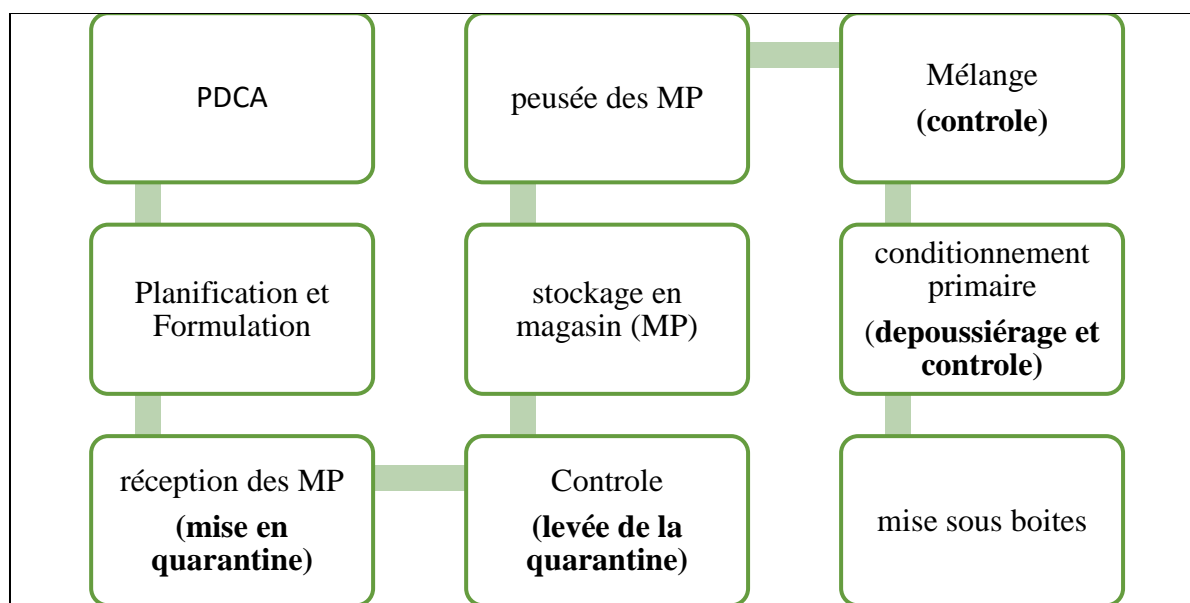


Figure 19 : Diagramme de flux

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel non biologique

Tableau I : Matériels non biologique utilisés

Préparation de la poudre	Extraction Et Identification	Analyses physico-chimique	Des activités Biologiques	Analyses microbiologique
Sécheuse	Balance analytique	Dessiccateur	Spectromètre	Boîte pétrie
Broyeur	Eprouvette graduée	Etuve	Bain marie	Tubes
Tamis de laboratoire	Bécher	Bain marie		Bec Benzène
Sous-vide	Filtre	PH- Mètre		Etuve
	Evaporateur	Spectrophotomètre		Spatule
		Photomètre a flemme		Incubateur

II.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal est le premier maillon essentiel de la chaîne de la production agricole qui conduit vers un circuit commercial Dans le domaine consacré au complément alimentaire dans notre étude nous avons utilisé les plantes suivantes

Tableau II : Matériel végétal utilisé

Feuilles de	Poudre	Grains
Moringa oleifera	Moringa oleifera	Brocoli
Arthemisia annua	Arthemisia annua	
Ortie	Ortie	

II.2. Méthodes

II.2.1. Formulation du complément alimentaire :

L'ensemble des informations listées dans le cahier des charges, ainsi que les recherches réalisées avant la pratique permettent alors de rédiger une formule théorique qui détaille les informations qualitatives et quantitatives du futur produit qui est notre complément alimentaire

Tableau III : proposition de formulation le moringa oleifera avec d'autres plantes

Formulation	Indication	Contre-indication	Principe actif
Moringa oleifera	Anti-apoptotique Anti-inflammatoire Anti-diabète Antianémique	Le consommer le soir peut provoquer des Trouble de sommeil Lors des premières prises elle peut provoquer de la diarrhée	Flavonoïdes : Quercétine kaempférol
M + Artemisia annua	Anti-covid	Troubles digestifs L'allergie	Flavonoïdes : Artemisinin
M + Urtica	Anti-inflammatoire Activité antioxydante	Les rares contre-indication : nausées, diarrhées, allergies Chez l'homme, des troubles de l'érection sont possibles. Déconseiller aux femmes enceintes ou qui allaitent	Flavonoïdes : Quercétine kaempférol

M + Brassica <i>oleracea</i> var <i>italica</i>	Anti-cancer cas métastatique	Absence	Le sulforaphane Acide alpha lipoïque
--	---------------------------------	---------	--

II.2.2. Préparation des poudres de plantes

La transformation des feuilles de plantes en poudre consiste en différentes étapes qui sont « l'effeuillage, lavage, égouttage, séchage, broyage et enfin le tamisage » concernant les trois premières étapes, elles étaient dépourvues car le centre « Ishak Ibn Hounain » importe directement des feuilles sèches de leurs pépinières situées à El Menia, donc notre travail est le suivant :

- **Deuxième Séchage**

Les feuilles de Moringa (Annexe I.10) importés nécessitent un séchage naturel/ traditionnelle dans une pièce bien sombre et fraîche qui n'es pas humide et qui doit être protégée des insectes, rongeurs et de la poussière, puis les feuilles sèches obtenues sont mises dans des sacs a tissus de 10 kg à 100 kg. Si l'humidité est élevée, le séchage électronique est exigé par la normes ISO à l'aide d'un déshydrateur alimentaire qui est un appareil électrique qui chauffe et fait circuler de l'air dans une cage fermée, où l'on place les feuilles sur des plateaux. L'air chaud chauffe ainsi les feuilles pour que l'eau qu'ils contiennent s'évapore ; la perte de l'eau et de son humidité permet d'augmenter la durée de conservation de cette dernière, la Moringa nécessite 1h30 à 2h à 65°C ; l'*Artemesia annua* nécessite 12h à 35°C ; pour l'ortie 24h à 65°C, ainsi que pour le brocoli et pour la pervenche.

- **Broyage**

Les feuilles sont broyées par un broyeur (Annexe I.5-I.6) qui est un moulin à grain électronique contenant deux lames de six pages : couteau à poudre, couteau rotatif, couteau à dépoussiérer, écrasement de la lame en acier inoxydable, aucune compression, bonne pulvérisation avec une lame amovible et nettoyable.

La poudre des plantes utilisées est réalisée par une pulvérisation de 10 secondes répéter de 3 à 5 fois.

- **Tamisage**

Il faut tamiser la poudre de feuilles si nécessaire avec un tamis (Annexe I.3-I.4) de laboratoire ou tamiseuse qui est généralement requis afin d'assurer une action uniforme pour avoir une poudre bien homogène

- **Conditionnement de la poudre**

Une fois la poudre est bien tamisée on doit la mettre dans des sacs est les sous-vidés de cette manière que l'aire ne se diffuse pas dans le sac (Annexe I.15-I.16-I.17-I.18).

II.2.3. Identification des principes actifs de *Moringa oleifera* par HPLC

- **Extraction des flavonoïdes**

- **Préparation de l'éthanol à 80%**

Pour 800 ml de l'éthanol à 80%, nous avons besoin de 640 ml de l'éthanol à 100% (Annexe II.1) et 160 ml de l'eau distillé par l'utilisation des étuves graduées (Annexe II.2) puis mélanger les deux préparations pour l'obtention de l'éthanol a 80%.

- **Préparation de l'Extrait éthanolique**

Peser 150g de la poudre de feuilles de la plante (Annexe II.3), puis transférer la poudre dans un erlenmeyer (Annexe II.4), suivie par l'ajoute de 800ml de l'éthanol à 80% déjà préparer (Annexe II.5), mélanger bien et laisser agir pour 48h.

Après 48h, filtrer l'extrait obtenue (Annexe II.7-II.8), on met l'extrait obtenue dans un flacon étiqueté et on le garde dans le réfrigérateur (Annexe II.9).puis on passe à l'étape de l'évaporation de l'extrait obtenue par l'évaporateur rotatif.

- **Analyse Qualitative des flavonoïdes**

La séparation des flavonoïdes a été réalisée par un système HPLC Shimadzu avec un détecteur UV, une colonne chromatographique C18 (4,6 X 25 mm, 5 µm).

La température de la colonne était maintenue à 45 °C.

La phase mobile est composée d'un solvant (A) : un mélange d'eau (80 %), acétonitrile (19 %), et acide formique (1 %), et d'un solvant (B) : un mélange d'acétonitrile (59 %), méthanol (40 %) et acide formique (1 %).

L'éluion était réalisée selon le programme suivant, (Tableau IV):

Tableau IV : Programme d'éluion pour l'analyse qualitative des flavonoïdes

Temps	Solvant B, %(v/v)
0	0
0-5	5
5-15	15
15-20	20
20-40	60
40-45	100
45-50	0

Le débit était de 1 ml/min, le volume d'injection était de 10 µl et la détection s'est faite à une longueur d'onde de 350 nm. La concentration de la solution injectée était de 5 mg/ml pour l'extrait méthanolique et de 1 mg/10 ml de standard pur dans du méthanol.

II.2.4. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par Zhishen (Zhishen et *al.*, 1999).

➤ **Principe**

Le dosage est basé sur la formation de complexes entre les flavonoïdes et le trichlorure d'aluminium. Les complexes produits, de couleur jaune, absorbent dans le visible à 510nm.

➤ **Mode opératoire**

500µL des extraits bruts sont mélangés avec 2mL d'eau distillée, et additionnés de 150µL de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5%. Après 5min d'incubation, 100µL de trichlorure d'aluminium à 10% est rajouté au mélange. Après une nouvelle incubation de 6min, ajouter 1mL de carbonate de sodium 1M. Le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu et l'absorbance de la solution est déterminée à 510nm contre un blanc. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercétine comme contrôle positif.

La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme (mg) équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (mg EQ/g MS).

II.2.5. Evaluation des activités biologiques

- **Activité antioxydante**

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de piégeage du radical diphénylpicrylhydrazyl (DPPH), selon les recommandations de Boulila (Boulila et *al.*, 2015).

- **Principe**

La méthode au diphenyle-picryl-hydrazyl (DPPH) est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable (DPPH) en présence d'un antioxydant, donneur d'hydrogène (AH), ce qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPH-H. La réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, initialement violet foncé sous sa forme libre, devient jaune pâle après transfert d'électrons par des composés antioxydants.

Cette réduction qui se traduit par une diminution de l'absorbance de la solution de DPPH• est suivie par spectrophotométrie à 515nm par rapport à un standard, l'acide ascorbique.

- **Mode opératoire**

2mL d'une solution méthanolique de DPPH, préparée à 0,04gr/l, sont ajoutés à 1mL de chacune des dilutions de l'extrait méthanolique et de l'acide ascorbique. Après 60 min d'incubation à l'abri de la lumière, les absorbances sont lues à 515nm. Les courbes exprimant le pourcentage de piégeage du DPPH en fonction de la concentration, en mg/mL, de l'extrait méthanolique et celle de l'acide ascorbique sont tracées.

- **Activité anti-inflammatoire**

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par la méthode de dénaturation des protéines, selon les recommandations d'Alhakmani (Alhakmani et *al.*, 2013).

- **Mode opératoire**

Le mélange réactionnel est constitué de 2ml d'extrait méthanolique de l'espèce étudiée à différentes concentrations (100-500µg/ml) et 2,8ml d'eau distillée ajustée à pH= 6,4 (tampon PBS), auquel est ajouté 2ml d'albumine d'œuf. Le tout est incubé à 37°C pendant 15 minutes. La

même expérience est répétée avec l'acide acétylsalicylique, utilisé comme standard. La dénaturation est induite en mettant le mélange réactionnel dans un bain-marie chauffé à 72°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 660nm en utilisant l'eau distillée comme blanc.

- **Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne a été évaluée en deux étapes :

- La sensibilité des souches bactériennes aux différents extraits a été recherchée par la méthode de diffusion sur disques.
- La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été réalisée par la méthode des micro-dilutions.

- **Mode opératoire**

- **Test de sensibilité**

Des suspensions bactériennes ont été préparées dans une solution physiologique à partir de colonies jeunes (18-24H), en ajustant la turbidité à 0,5 McFarland. À l'aide d'un écouvillon stérile, les bactéries en suspension ont étéensemencées sur une surface gélosée sèche (gélose Mueller-Hinton liquéfiée, coulée et refroidie dans des boîtes de Pétri).

Des disques stériles de papier (6 mm de diamètre) ont ensuite été placés puis imprégnés de 10µL d'extrait méthanolique. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24H.

La souche est considérée comme résistante pour un diamètre inférieur à 8mm, modérément sensible entre 8 et 14mm, sensible pour un diamètre d'inhibition entre 14 et 20mm et très sensible si le diamètre est supérieur à 20mm.

- **Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits méthanoliques**

Des suspensions bactériennes des cellules bactériennes jeunes ont été préparées dans des tubes stériles, contenant de l'eau physiologique à une valeur de 0,5 McFarland. Ces derniers, doivent être utilisés dans les 30min suivantes pour éviter le changement du nombre de cellules bactériennes. Dans les puits des plaques de micro-tubes, on mélange 50µl des différentes dilutions des extraits méthanoliques, préparées dans le DMSO, avec 100µl de Mueller Hinton liquide (MH liquide + rouge de phénol 20mg/ml et du glucose 20g/ml).

On ajoute dans chaque puits, 50µl de chaque suspension bactérienne. Pour vérifier que les résultats de sensibilité sont exacts, il faut inclure un témoin positif et un autre négatif pour chaque souche. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 24H.

II.2.6. Analyse physico chimique

- **Teneur de la matière sèche et humidité – NA 1213 (étuvage) -**

- **Principe**

La connaissance de l'extrait sec du produit est très importante dans la mesure où elle peut expliquer le comportement de la matière et son interaction avec le milieu externe. La détermination de la matière sèche est basée sur la perte d'eau suite à une dessiccation.

- **Mode opératoire**

On sèche les capsules avec leurs couvercles dans l'étuve pendant 30 minutes à 105°C puis les refroidir dans un dessiccateur (Annexe III.2).

On met 2g d'échantillon dans les capsules puis les étuvés à 105°C jusqu'à poids constant.

Formule et calcul :

M : Matière sèche.

$$M_{\text{sèche}} = [(m_1 - m_0 / P_e) \times 100]$$

Pe : Masse de la prise d'essai.

m₀ : masse de la capsule vide et couvercle.

m₁ : masse de la prise d'essai et capsule avec couvercle sortie d'étuve.

W : teneur en eau.

$$W = 100 - M_{\text{sèche}}$$

- **Détermination des cendres brutes -NA 650 (calcination)-**

- **Mode opératoire**

Chauffer les capsules dans le four pendant 30 minutes à 550°C, puis on pèse.

Mettre 2g de l'échantillon dans les capsules refroidi puis incinérer dans le four à 550°C jusqu'à poids constant (Annexe III.4).

➤ **Formule et calcule**

C : cendre.

$$C = (m_2 - m_0) \times 100 / m_1$$

m_0 : poids de la capsules vide.

m_1 : poids de la prise d'essai.

m_2 : poids de la prise d'essai après four.

• **Teneur en matière grasse – Extraction au Soxhlet-**

➤ **Réactifs**

Ether de pétrole température d'ébullition entre 60°C et 80°C.

➤ **Mode opératoire**

- **Extraction :** on met 2g d'échantillon dans un volume d'éther de pétrole, on le laisse pendant quelques heures ou une nuit.
- **Distillation :** Distillation l'éther de pétrole à l'aide d'un rota vapeur.
- **Étuvage :** étuvé le ballon avec son résidu pendant 1 heure, puis peser à chaque fois jusqu'à poids constant (Annexe III.7).

➤ **Formule et calcule**

MG : Matière grasse exprimé en %.

$$MG = (m - m_0) / P_e \times 100$$

m : masse du ballon avec résidu.

m_0 : masse du ballon vide.

P_e : masse de la prise d'essai.

- **Teneur en protéine brute – méthode de Kjeldahl –**

- **Réactifs**

- ❖ Sulfate de potassium
- ❖ Sulfate de cuivre II penta Hydrate.
- ❖ Acide sulfurique pure.
- ❖ Solution de NaOH 40% (m/V).
- ❖ Solution de NaOH : 0.1mol/L.
- ❖ Solution de H₂SO₄ : 0.1mol/L.

- **Mode opératoire**

- **Minéralisation :**

1g d'échantillon + 15g de sulfate de potassium + 1g sulfate de cuivre+ 25ml H₂SO₄ chauffer, après apparition de couleur verte compter 2 heures, et on ajoute 50ml eau.

- **Distillation :**

L'ajout de 100 ml de NaOH 40% , puis distillé complètement.

- **Tirage :**

Plonger l'extrémité de réfrigérant dans 25ml de H₂SO₄ + rouge de méthyl.

Titré avec le NaOH: 0.1N

Virage du rose au jaune

- **Formule et calcule**

P : protéine exprimée en %

$$P = [(v-v_0) \times C \times 0.014 \times 100 \times 6.25] / m$$

v₀ : volume de l'essai à blanc.

v : volume titré.

C : concentration du NaOH :0.1 mol/L.

m : prise d'essai.

- **Détermination du pH - Afnor, 1986-**

- **Principe**

Détermination en unité pH de la différence de potentiel existant entre deux (02) électrodes plongées dans le produit à analysées.

- **Mode opératoire**

On plonger l'électrode dans le produit (poudre de feuille du *M.oleifera* et en notant la valeur enregistrée bien sur après étalonnage du pH-mètre avec l'utilisation des solutions tampons (Annexe III.1).

- **Expression des résultats**

La valeur du pH prise en considération correspond à la moyenne arithmétique des différentes valeurs enregistrées.

NB : Avant chaque nouvelle mesure, on rince soigneusement l'électrode avec l'eau distillée et sécher à l'aide de papier joseph ou papier filtre.

- **Glucides**

$$100 - (\text{humidité} + \text{protéine} + \text{matière grasse} + \text{minéraux})$$

Extrair secs

- **Valeurs énergétiques**

Kcal : la somme (matière grasse×9 + proteine×4 + glucides×4)

Kj : la somme (matière grasse×37 + proteine×17 + glucides×17)

- **Sel (Nacl)**

- **Mode opératoire**

Peser 2g dans 50ml notre indicateur est le dichromate de potassium puis titrer avec le nitrate d'argent 0.1N (Annexe III.8).

On remarque le virage des couleurs vers le rouge brique

- **Formule et calcule**

(V de la chute × la concentration de AgNO₃ × la masse molaire du sel (NaCl) 5.85) / (la prise d'essais)

- **Teneur en fibre (cellulose)**

- **Réactifs**

Solution de H₂SO₄ : 0.13 mol/l.

Solution de NaOH: 0.23 mol/l.

- **Mode opératoire**

-Peser le creuset vide. Noter la masse.

-Digestion acide : Bouillir 2g d'échantillon dans 150ml H₂SO₄ : 0.13mol/l pendant 30 minutes puis filtrer et laver avec l'eau chaude 3 fois.

-Digestion basique : Bouillir le résidu filtré dans 150ml NaOH : 0.23mol/l pendant 30 minutes puis filtrer et laver avec l'eau chaude 3 fois.

-Etuvage : Etuvé le résidu filtré de la digestion pendant 1 heure à 130°C, puis peser.

-Incinération : Mettre dans le four à 550°C pendant 1 heure, puis peser.

- **Formule et calcul**

C : cellulose exprimée en %

$$C = (b - c) / m \times 100$$

b : prise d'essai en g

c : perte de masse à l'étuvage.

m : perte de masse à la calcination.

- **Calcium**

Incinération de la prise d'essai dans un four à moufle à 550°C puis traitement des cendres obtenues par l'acide chlorhydrique 6N, filtration sur papier filtre.

Précipitation du calcium sous forme d'oxalate de calcium par l'oxalate d'ammonium (pH de précipitation 4.4-4.6), dissolution du précipité par l'acide sulfurique et titrage de l'acide oxalique formé par le permanganate de potassium (0.1 mol/l).

La teneur en calcium exprimée en grammes par 100 grammes d'échantillon, est égale :

$$\frac{2,004 \times V_1 \times C}{m} \times \frac{V}{V_2}$$

V1 : volume en ml de la solution de permanganate de potassium

V : volume en ml de la fiole jaugée (250ml)

V2 : volume en ml de la partie aliquote

m : est la masse de la prise d'essai de l'échantillon.

La spectroscopie de flamme est une technique analytique utilisée pour la détermination qualitative et quantitative d'un élément dans un échantillon. Dans cette méthode l'échantillon, sous la forme d'un liquide homogène, est introduit dans une flamme où des réactions thermiques et chimiques créent un atome "libre" capable d'absorber, émettant ou fluorescent à des longueurs d'onde caractéristiques.

Les radiations émises par une lampe à cathode creuse réalisée avec l'élément à doser, traversent une flamme air-acétylène dans laquelle on pulvérise la solution de l'échantillon à analyser. Les éléments dissociés de leurs composés chimiques et à l'état fondamental absorbent les radiations provenant de la lampe à cathode creuse, d'où abaissement de l'intensité de la lumière reçue par le photomultiplicateur.

L'absorbance est proportionnelle à la concentration des atomes libres dans la flamme, donnée par la loi de Lambert Beer :

$$\text{Absorbance} = \log \frac{I_0}{I_1} = K \cdot C \cdot L$$

I_0 : intensité du rayonnement incident émis par la source lumineuse

I_1 : intensité du rayonnement émis (quantité non absorbée)

K : constante (peut être déterminée expérimentalement)

C : concentration de l'échantillon

L : longueur du trajet optique

En pratique :

Pour la détermination des concentrations des échantillons la loi de Lambert Beer est simplifiée à :

$$A = f(c)$$

A : absorbance de l'échantillon

C : concentration de l'échantillon

Minéralisation par voie sèche de l'échantillon et voie humide des minéraux et Oligo-éléments

- métaux lourds :

Incineration de la prise d'essai dans un four à moufle à 550°C puis traitement des cendres obtenues par l'acide chlorhydrique 6N, filtration sur papier filtre.

- Analyse du magnésium :

Longueur d'onde : 285.2 nm

gamme d'étalon : 0,1-0,4 mg/l

- Analyse du potassium :

Longueur d'onde : 766.5 nm gamme d'étalon : 0,4-1,5 mg/l

- Analyse du sodium :

Longueur d'onde : 589 nm gamme d'étalon : 0,4-1,5 mg/l

- Analyse du fer :

Longueur d'onde : 248.3 nm gamme d'étalon : 2-9mg/l

- Analyse du plomb :

Longueur d'onde : 217 nm gamme d'étalon : 2.5-20 mg/l

- Analyse du cadmium :

Longueur d'onde : 228.8 nm gamme d'étalon : 0.2-1.8 mg/l

- Analyse du chrome :

Longueur d'onde : 357.9 nm gamme d'étalon : 2-15 mg/l

- Analyse du mercure :

Longueur d'onde : 253.7 nm gamme d'étalon : 20-100 mg/l

Le mercure étant un élément volatil, l'échantillon est traité directement par voie humide à l'aide de l'acide chlorhydrique, puis injection de l'échantillon dans le spectromètre d'absorption atomique équipé d'un système de réduction par le tétrahydroborate.

II.2.7. Analyse microbiologique

- **Détermination des coliformes**

Ils ont été déterminés selon la méthode ISO 4832. La recherche repose sur l'utilisation du Nombre le Plus Probable (NPP). Le Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant (BLBVB ; OxoidCM 31) a été utilisé comme milieu d'incubation et l'ensemencement a été réalisé dans la masse de la gélose à raison de 1 ml des dilutions 10⁻¹ et 10⁻². L'incubation a été faite à 30 °C ± 1 °C dans une étuve de marque Memmert pendant 24 à 48 heures.

- **Détermination des levures et des moisissures**

Elles ont été déterminées selon la méthode ISO 7957. Le milieu de culture utilisé est la gélose glucosée à l'oxytétracycline et l'ensemencement a été fait à raison de 0,1 ml de la suspension-mère en surface de la gélose et étalée. L'incubation a été faite à 25 °C ± 1 °C dans une étuve de

marque Memmert pendant 5 jours et la lecture a été faite tous les jours. Les levures, colonies muqueuses et brillantes ont été reprises et réisolées sur la gélose Sabouraud, puis soumises à une identification complète à l'aide de la galerie ID 32 C. Quant aux moisissures elles ont été identifiées après purification et culture en couche à l'aide des clés.

- **Détermination des spores de Clostridium sulfito-réducteurs**

Elles ont été recherchées selon la norme ISO 7954. Cinq millilitres du milieu Bacto-Sulfite Agar et 1 ml de la suspension mère ont été pasteurisés à 80 °C dans un autoclave de marque Bosch pendant 10 mn. Les colonies caractéristiques de Clostridium sont de couleur noire (formation du sulfure de fer) et restent le long ou au fond du tube.

- **Détermination des Salmonella sp**

La méthode utilisée est celle de la norme ISO 6579. Elle a consisté à ajouter à la PFMo de l'EPT. Ainsi, le mélange obtenu a été considéré comme le pré-enrichissement qui a été incubé à 37 °C ± 1 °C dans une étuve de marque Memmert pendant 24 h. Ensuite, un millilitre du mélange pré-enrichi a été incubé dans 9 ml de Rapaport-Vassiladis et incubé à 37 °C ± 1 °C dans une étuve de marque Memmert pendant 24 h. Le mélange ainsi obtenu a été incubé à 37 °C ± 1 °C pendant 24 h sur la gélose HEKTOEN. Les colonies suspectes (incolores ou incolores centre noir) ont été isolées à nouveau sur la gélose KLIGER (Hajna). L'identification a été réalisée à l'aide de la Xylose Lysine Décarboxylase (XLD) et de la gélose Triple Sugar Iron (TSI). Le test de l'uréase a été fait pour confirmer les Salmonella, sachant que Salmonella est uréase négative.

- **Détermination de Staphylococcus aureus**

Ces bactéries ont été dénombrées selon la norme NF EN ISO 6888-1 (1999). 0,1 ml de la suspension mère a été étalé sur la gélose Baird-Parker (BP OXOID CM0275) supplémenté avec 50 ml d'émulsion de jaune d'œuf dans 1000 ml de milieu de culture. L'incubation a été faite à 37 °C ± 1 °C pendant 24 h. *S. aureus* donne des colonies noires, brillantes, convexes, de 1,5 mm de diamètre, entourées d'un halo clair (protéolyse) de 2 mm à 5 mm.

II.2.8. L'analyse des dangers

Nous avons réalisé une analyse des dangers pour déterminer quels sont les dangers à maîtriser, le degré de maîtrise requis pour garantir la sécurité des aliments ainsi que les combinaisons de mesure de maîtrise correspondantes requises et la détermination des niveaux acceptable et en fin d'établir un plan de surveillance convenable (Figure 20).

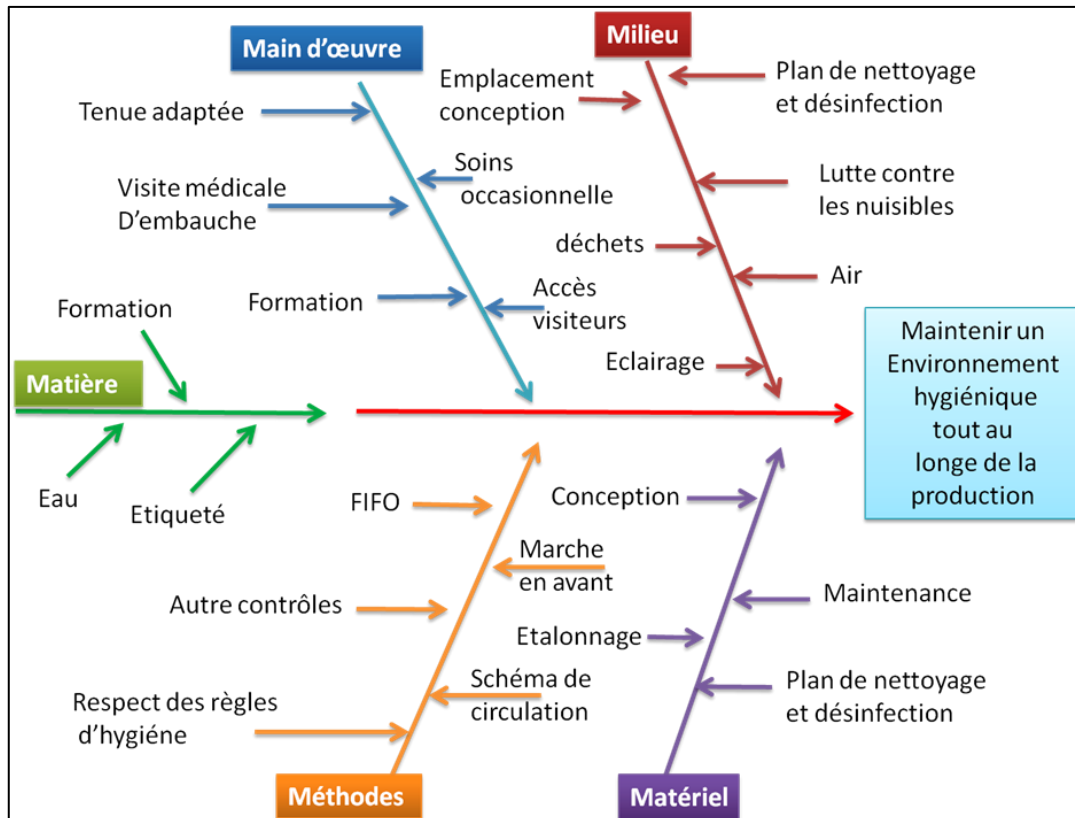


Figure 20 : Diagramme d'Ishikawa

Cette étape se caractérise par l'identification :

De la nature des dangers : physique, chimique ou biologique.

- Le niveau de risque de chaque danger.
- Les différentes causes de ces dangers et les mesures préventives afin de les bien contrôler.
- L'évaluation de ces dangers, se fait suite à la détermination de l'indice de criticité selon la formule suivante et le tableau en (Annexe 2 ; 3) :

$$\text{Criticité} = \text{Gravité} \times \text{Fréquence d'apparition}$$

La détermination des (PRP PRPO) ou (CCP) dépend de cette criticité (Annexe 4) :

- PRP : Programme Pré requis ou les dangers peuvent être régler avec une bonne hygiène
- PRPo : Programme Pré requis Opérationnelle : C'est une étape de la chaine alimentaire où il est possible de mettre en place une mesure de maitrise.

- CCP : Point Critique de Contrôle : C'est une étape de la chaîne alimentaire où il est nécessaire de mettre en place une mesure de maîtrise avec une limite critique dans ce cas le produit va être annulé

| Chapitre III : Résultats et Discussion |

III.1. Qualité du Produit

III.1.1. Identification des Principes actifs de *Moringa oleifera*

L'identification des flavonoïdes « quercétine et kaempferol » du *Moringa oleifera* a été effectuée par l'HPLC. Les résultats obtenus sont présentés, ci-dessous :

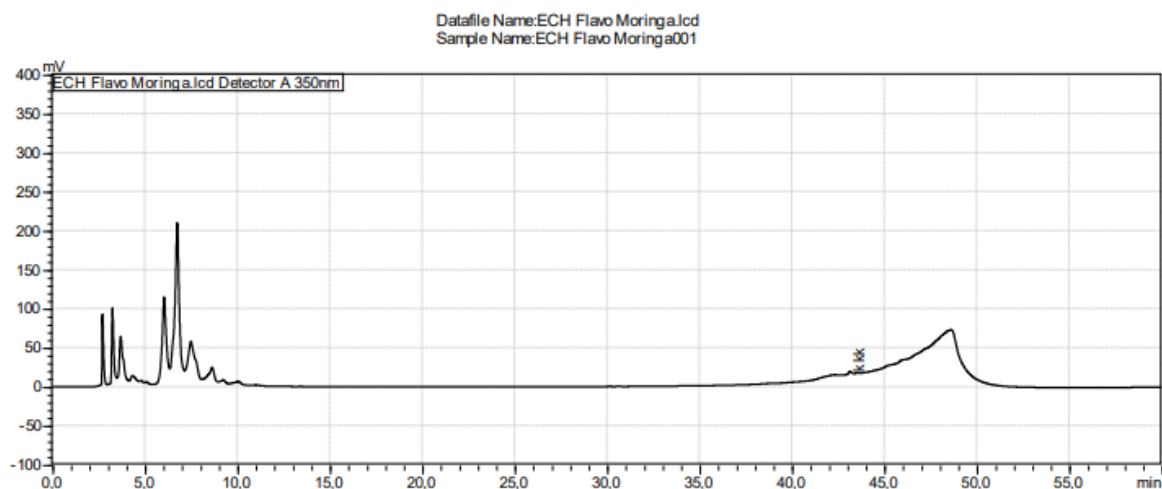


Figure 21 : Chromatogramme d'HPLC (Originale)

Tableau V : Les résultats explicatifs du chromatogramme d'HPLC (Original)

T_R (min)	$T_{R \text{ standard}}$ (min)	Identification
2,720	/	Non identifié
3,260	3.338	Acide chlorogénique
3,704	/	Non identifié
6,046	5.885	Isoquercétine
6,757	/	Non identifié
7,497	/	Non identifié

Les résultats obtenus par l'analyse qualitative d'HPLC qui sont présentés dans le tableau V peuvent confirmer la présence des molécules bioactives acide chlorogénique et l'isoquercétine.

Cette dernière est une dérivée de la quercétine dans le *Moringa oleifera* auquel le T_R 6.046 min est proche du T_R standard 5.885 min.

L'étude de Margareth et *al.*, (2015) consiste à identifier qualitativement les molécules bioactives l'isoquercétine et le Kaempferol, ainsi, l'acide chlorogénique (Margareth et *al.*, 2015), il a identifié les flavonoïdes dans le *Moringa oleifera* et quantitativement en valeur de :

- Acide chlorogénique (79.31 mg/g)
- Quercétine (137.81 mg/g)
- Isoquercitrine (75.65 mg/g)
- Kaempferol (106.75 mg/g)

Ses résultats Margareth et *al.*, (2015) montrent la présence de la molécule bioactive kaempferol dans les feuilles de *Moringa oleifera*, dans notre cas on n'a pas pu identifier cette molécule en raison de manque de l'étalon (kaempferol) (Margareth et *al.*, 2015).

III.1.2. Dosage des Flavonoïdes

Les taux des flavonoïdes des extraits de quatre espèces ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la quercétine comme standard (Figure 22). Ils sont exprimés en termes de mg EQ/gr MS (Tableau VI). Les résultats de dosage des flavonoïdes effectuée sur les quatre espèces sont présentés ci-après :

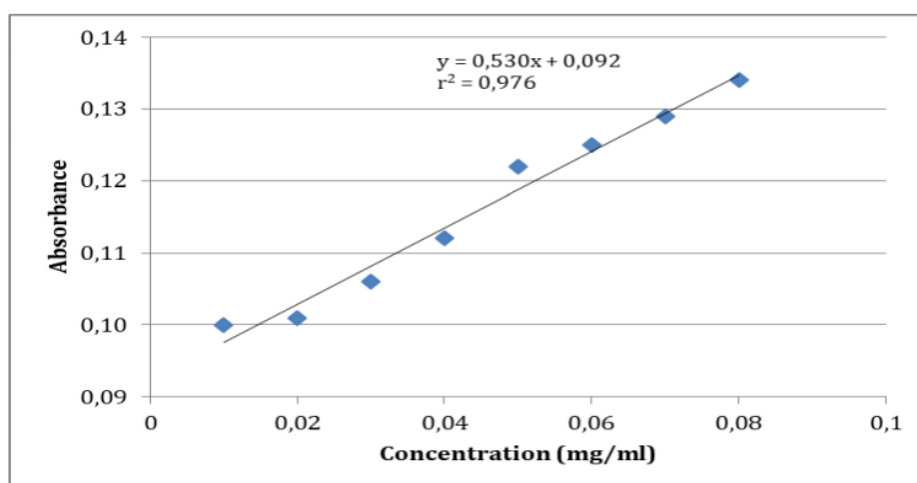


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes (Originale)

Tableau VI : Teneurs en flavonoïdes des extraits méthanoliques. (Original)

Espèce	Armoise	Brocoli	Moringa	Ortie
Teneur en mg EQ/gr MS	3,725	2,586	12,547	4,882

D'après les résultats obtenus, on déduit que le *Moringa oleifera* présente le taux le plus élevée de teneurs en flavonoïdes qui enregistrent 12.547 mg EQ/g par rapport aux autres plantes (Armoise 3.725 mg EQ/gr, Brocoli 2.586 mg EQ/gr, Ortie 4.882 mg EQ/gr).

Nos résultats rejoignent les résultats de Fachriyah et *al.*, (2020) qui montrent que l'extrait de *Moringa oleifera* Indonésien représente 10.77 mg EQ/gr des flavonoïdes qui ont enregistré un teneur élevé par rapport aux autres plantes (Fachriyah et *al.*, 2020).

III.1.3. Evaluation des activités biologiques

Nous avons évalué les activités biologiques (antioxydante, antiinflammatoire et antibactérienne) pour chaque plante étudiée afin de valoriser les effets des plantes. Les résultats obtenus sont les suivants :

- **Activité antioxydante**

L'activité antioxydante des quatre espèces été évaluée par le test de DPPH. Les courbes de piégeage antioxydantes tracées en utilisant l'acide ascorbique (Figure 23) et la méthode de piégeage du radical DPPH comme étalon en fonction de la concentration de l'extrait de chaque plantes (Figure 24, 25, 26, et 27), et sont exprimés en mg/ml (Tableau VII).

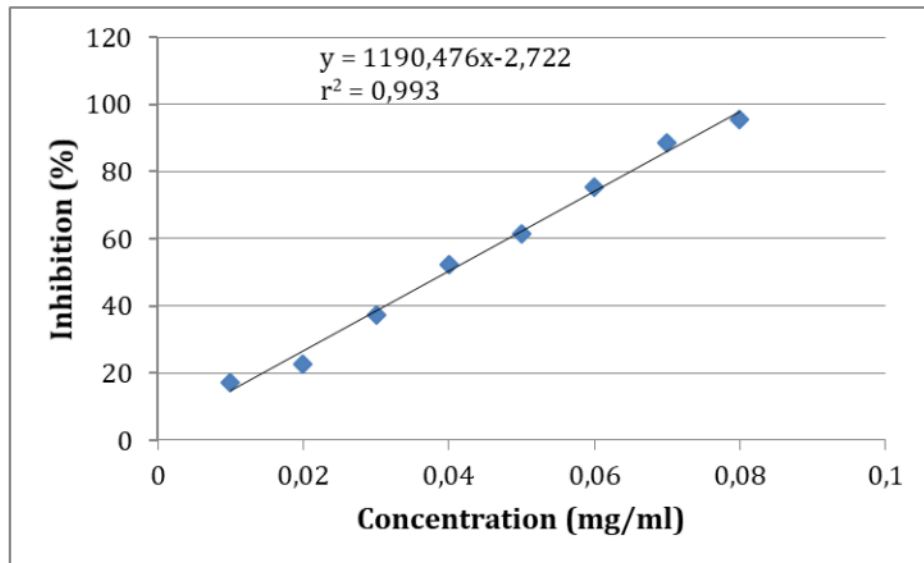


Figure 23 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique(Originale)

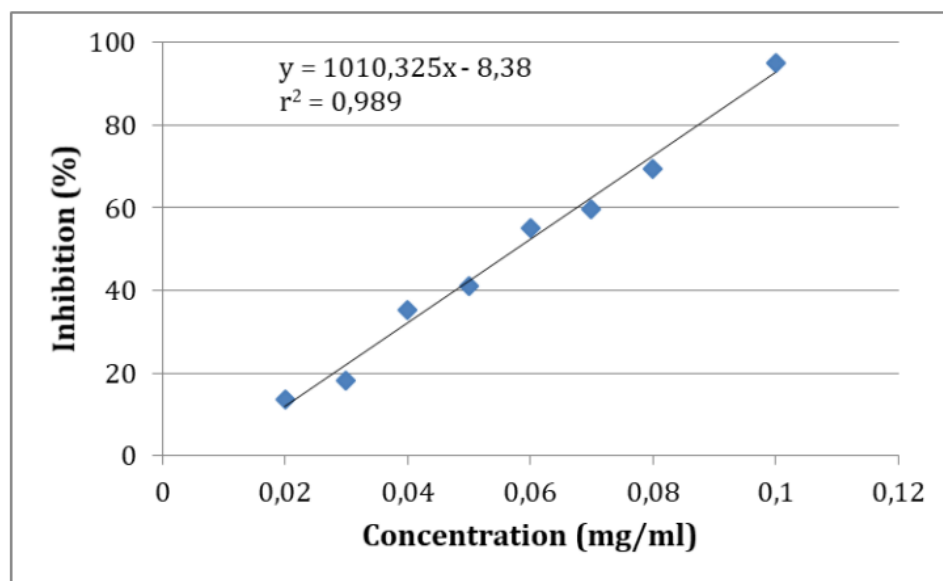


Figure 24 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique du brocoli(Originale)

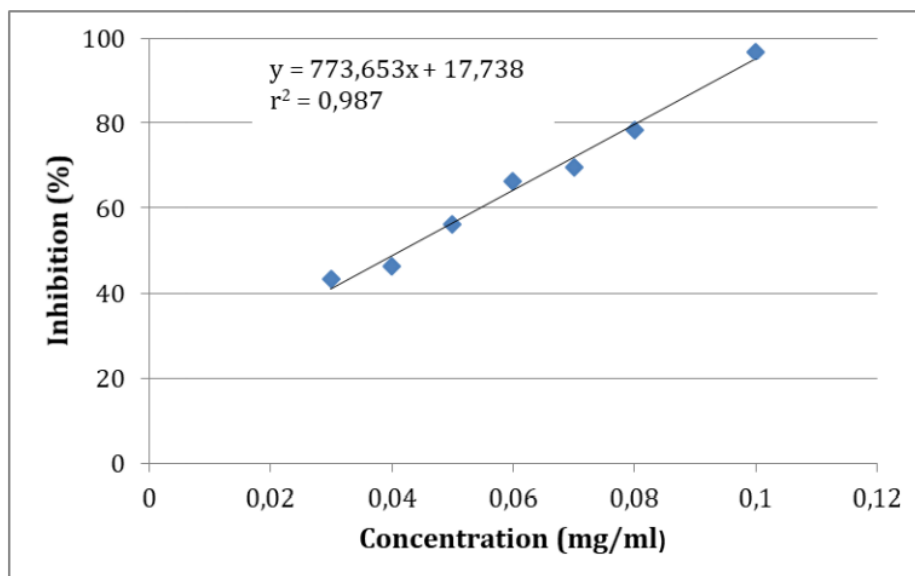


Figure 25 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique du moringa(Originale)

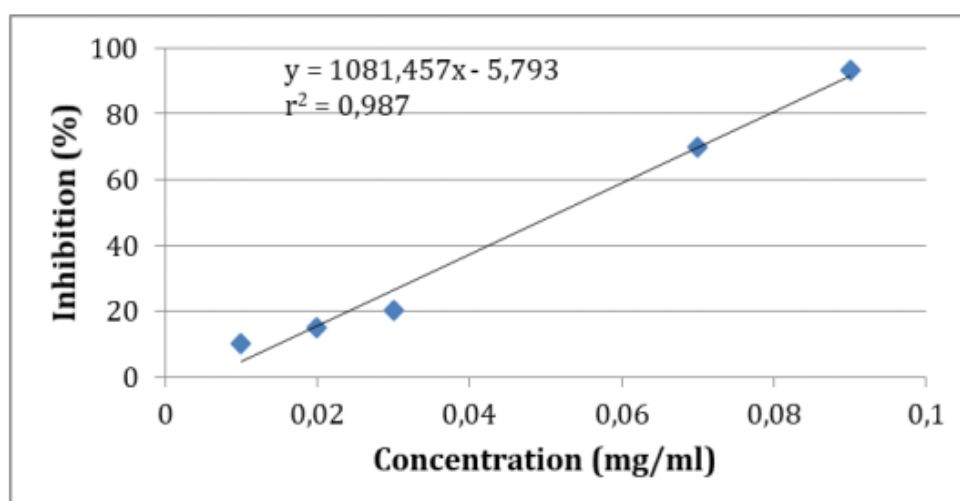


Figure 26 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique de l'armoïse (Originale)

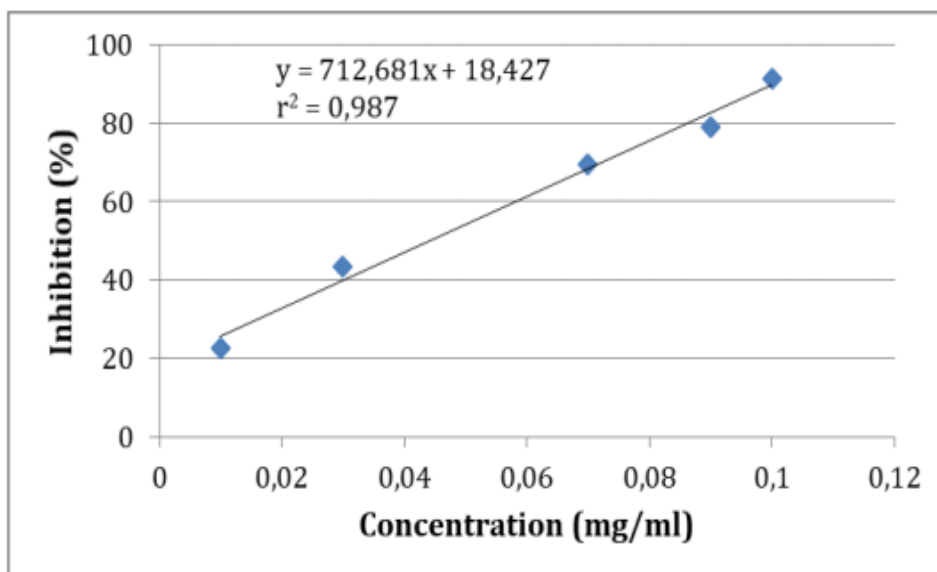


Figure 27 : Pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique de l'ortie (Originale)

Tableau VII : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50) (Activité antioxydante) (Original)

Espèce	Acide ascorbique	Armoise	Brocoli	Moringa	Ortie
IC50 (mg/ml)	0,040	0,052	0,058	0,042	0,044

Les résultats d'activité antioxydante des différentes plantes étudiées montrent que, le brocoli et l'armoise présentent des valeurs proches et élevées par rapport aux autres plantes et au standard utilisé (Acide ascorbique) qui enregistre une valeur de 0.040 mg/ml.

Nos résultats rejoignent ceux d'Argolo et *al.*, (2012). Le Moringa présente une activité antioxydant, avec une valeur de 0.06mg/ml (Argolo et *al.*, 2012).

- **Activité anti-inflammatoire**

Les quatre plantes constituent une source potentielle de molécules bioactives qui empêche la dénaturation des protéines tissulaires. L'aspirine est utilisée comme standard (Figure 28). Les résultats de l'activité anti-inflammatoire de ces plantes sont représentés dans les figures 29, 30, 31, et 32 et le tableau VIII.

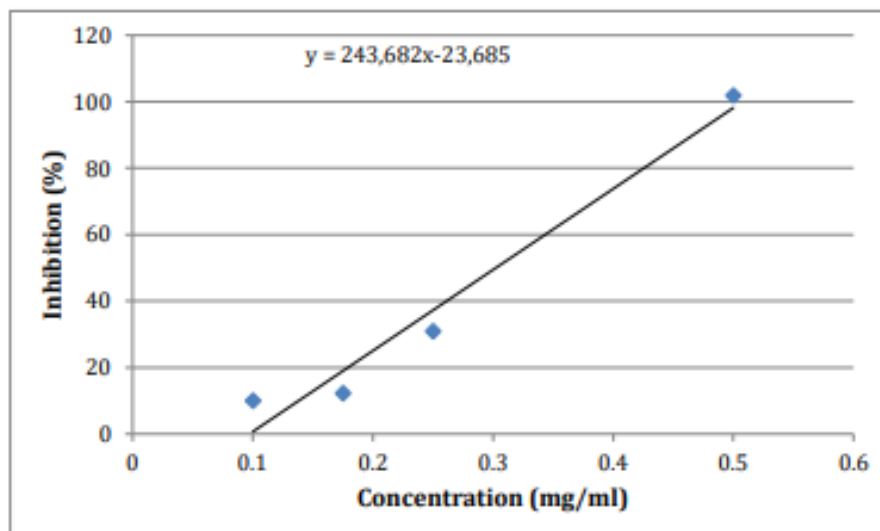


Figure 28 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration de l'aspirine (Originale)

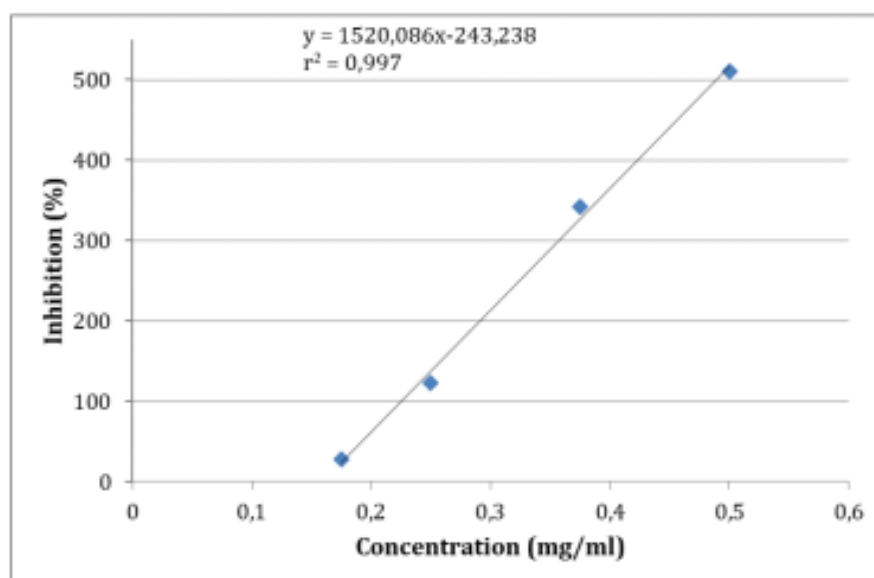


Figure 29 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration de l'armoise (Originale)

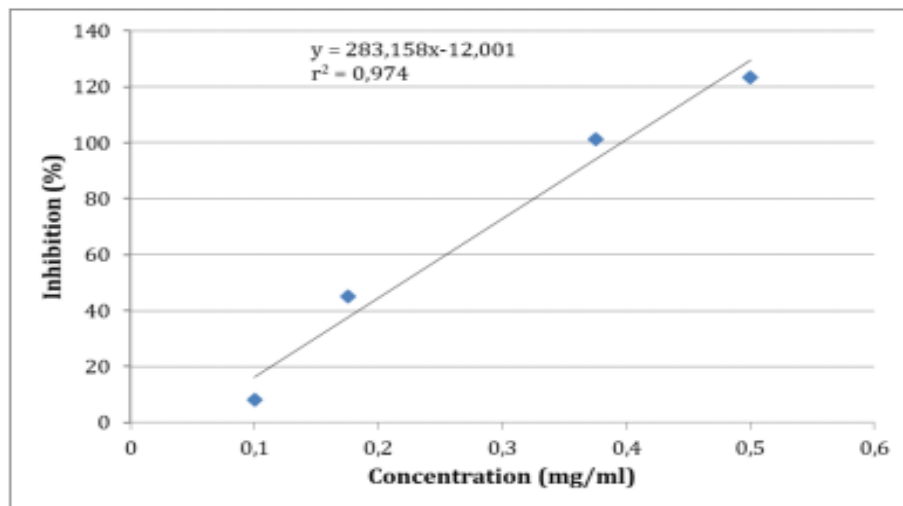


Figure 30 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration du brocoli(Originale)

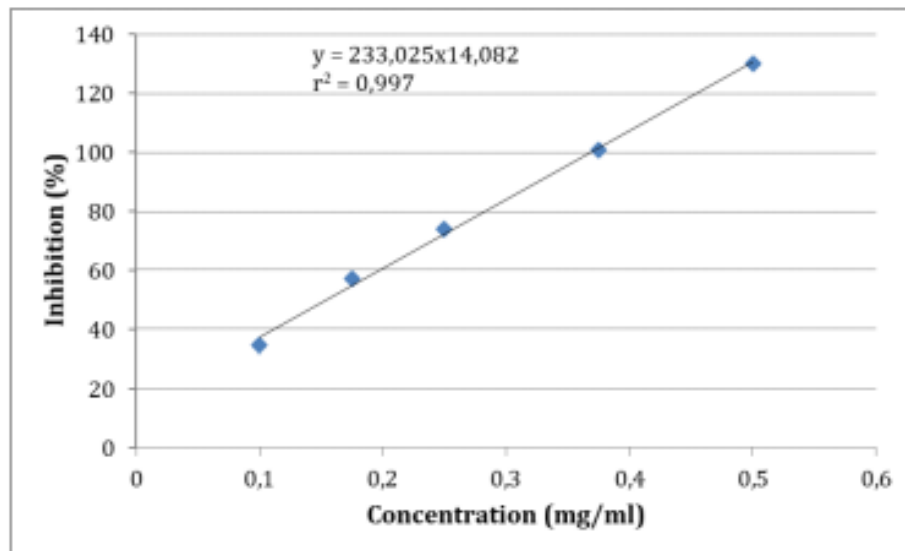


Figure 31 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration du moringa (Originale)

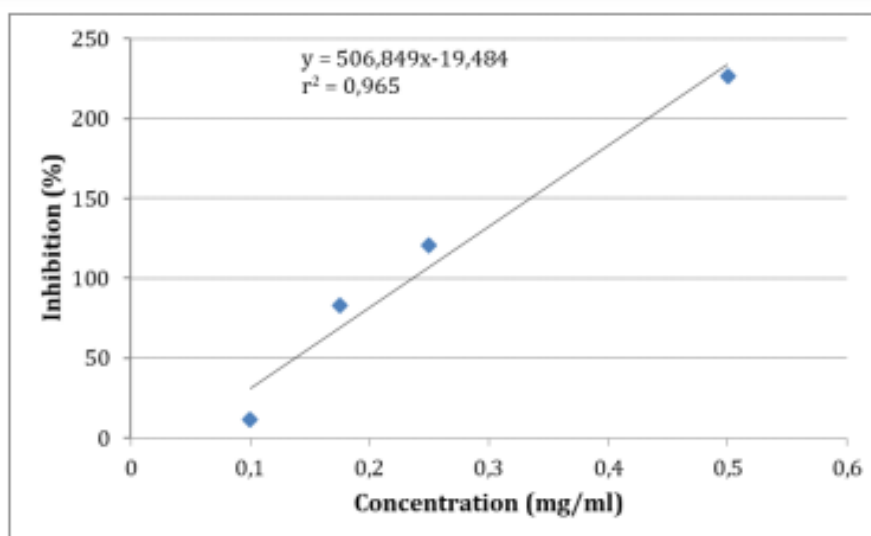


Figure 32 : Pourcentage d’inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de la concentration de l’ortie(Originale)

Tableau VIII : Valeurs des concentrations inhibitrices à 50% (IC50) (anti-inflammatoire) (Original)

Espèce	Aspirine	Armoise	Brocoli	Moringa	Ortie
IC50 (mg/ml)	0,302	0,193	0,219	0,154	0,137

Les analyses de l’activité anti-inflammatoire effectuées pour les plantes (Armoise, Brocoli Moringa, et Ortie) montrent que toutes ces plantes possèdent une activité anti-inflammatoire, le brocoli présent le taux élevé 0,219 mg/ml par rapport aux autres plantes et qui est proche du taux de standard utilisé 0,302mg/ml (Aspirine).

L’étude de Nidaye et *al.*, (2016) consiste à la mise en évidence de l’activité anti-inflammatoire de sous-fraction methalonique des feuilles de *Moringa oleifera*. Les résultats de cette étude montrent et confirment que les feuilles de *Moringa oleifera* possèdent majoritairement des substances chimique polaire à activité anti-inflammatoire. Nos résultats sont en accord avec ceux de Nidaye et *al.*, (2016).

• **Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne avec les extraits de quatre plantes (Armoise, Brocoli, Moringa, et Ortie) a été réalisée, en mesurant la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Tableau IX).

Tableau IX : Sensibilité et CMI (mg/ml) des souches bactériennes testées aux extraits méthanoïques des cinq espèces étudiées (Original)

Espèce végétale	Armoise	Brocoli	Moringa	Ortie
Espèce bactérienne				
<i>Acinetobacter baumannii</i> NDM-1	2,1	2,2	2,2	R
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	2,5	2,2	R	R
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	4	5	3,33	4
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	2,9	2,9	2,9	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	6,25	2,5	R
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	4	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	S.N.D	5	R	2,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	5	R	4	2,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	S.N.D	2,9	6,25	4

R → résistant. S.N.D → souche sensible mais la CMI n'a pu être déterminée.

NB : NDM → New Delhi métallo-bêta-lactamase (carbapénémase).

Les résultats d'activité antibactérienne de nos plantes sont divers commençant par le *Moringa oleifera*, nous avons constaté, qu'il a une forte activité antibactérienne avec toutes les bactéries présentes dans le tableau mis à part l'*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, et *Serratia marcescens*, qui sont résistante au *moringa oleifera* contrairement à l'ortie dont la plus part des bactéries sont résistantes à part *Escherichia coli* ATCC 25922, *Serratia marcescens*, et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Nous pouvons déduire que, l'ortie n'a presque aucun pouvoir antibactérien, tandis que, le *moringa*, l'*armoise* et le *brocoli* ont un pouvoir antibactérien élevé, donc, on peut fabriquer un antibiotique avec une des plantes citées précédemment.

III.1.4. Analyse physico chimique

Pour confirmer la valeur nutritionnelle de *Moringa oleifera*, nous avons réalisé des analyses physico-chimiques. Le tableau ci-dessous résume les résultats de notre étude.

Tableau X : Résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de *Moringa oleifera*. (Original)

Paramètre	Unité	Résultat	Référence
Glucide	g/100g	49.73	-
Fibre alimentaire	g/100g	6.34	Méthode de Weend
Protéine	g/100g	15.95	Méthode de Kjeldah
Matière grasse	g/100g	11.66	Extraction Soxhlet
Sel (Nacl)	g/100g	0.59	Méthode de Mohr
Valeur énergétique	Kcal/100g Kj/100g	367.66 1547.98	- -
PH a 10 % (20 ° C)	-	5.32	PH-mètre
Extrait sec	g/100g	90.73	Etuvage
Humidité	g/100g	9.27	
Cendre	g/100g	13.39	Calcination
Métaux lourds			
Teneur en Fer	g/100g	0.026	
Teneur en Plomb	g/100g	Non détectable	
Teneur en Chrome	g/100g	Non détectable	
Teneur en Cadmium	g/100g	Non détectable	
Teneur en Mercure	g/100g	Non détectable	
Sodium	g/100g	2	Spectrophotomètre a flamme
Potassium	g/100g	1.96	Spectrophotomètre a flamme
Calcium	g/100g	0.55	Spectrophotométrie
Magnésium	g/100g	0.37	Spectrophotométrie

Nos résultats obtenus montrent que, les valeurs nutritionnelles et énergétique du moringa *oleifera* d'origine Algérien sont élevés par rapport a ceux de l'étude de Diagne et *al.*, (2005), dont le Moringa Nigérien est très connu mondialement par ses propriétés qualitatives ; concernant le calcium et le magnésium, ainsi que, le fer, ils sont dans les normes ; avec une zéro détection de métaux lourds qui veut dire que cette plante ne provoque aucune toxicité (Diagne et *al.*, 2005).

Suite à l'étude de danger de la norme ISO 22000, on peut déduire que le mauvais séchage ou stockage de la plante met en conséquent le taux d'humidité plus élevé par rapport à la norme.

III.1.5 Formulation et Fabrication

- **La formulation**

Vu les résultats de différents paramètres d'analyses des activités biologiques, nous avons réalisé une formulation d'un complément alimentaire à base de *Moringa oleifera* et la plante qui nous a le plus ébahi, c'est l'*Artémisia annua*, dont les résultats sont remarquables, nous pouvons retirer de ce dernier que l'*Artimisia annua* est :

- Riche en flavonoïdes valables de « 3,725 mg/ml » ;
- Très grande activité anti-oxydante valable de « 0,052 mg/ml » ;
- Un pouvoir anti-inflammatoire valable de « 0,193 mg/ml ».

De plus pour que notre formulation soit plus stable et plus sûre, nos résultats ont été rapportés avec un autre paramètre, qui a confirmé la présence et l'identification de la molécule bioactive de l'*Atemisia annua* « l'artémisinine » par HPLC (Annexe IV).

- **La fabrication**

Après la formulation, dont on a élaboré notre produit en fonction des allégations souhaitées et sélection de la matière première la plus adaptée.

- **Fabrication**

Fabrication à grande échelle de notre complément alimentaire au format désiré à l'aide des gélules manuelles qui peut produire 400 gélules à la fois (Annexe V.2).

- **Conditionnement**

Accompagnement d'une boîte en plastique comme packaging pour nos conditionnements (Annexe V.4).

- **Etiquetage**

Nous avons profilé notre étiquette grâce à un logiciel et l'imprimé dans un papier autocollant de bonne qualité (Annexe V. 3).

- **Contrôle qualité**

Traçabilité des matières dans les résultats précédents et contrôle minutieux du processus de fabrication.

III.1.6. Analyse microbiologique

L'analyse microbiologique pour la matière première et de produit fini est une étape indispensable dans notre projet afin d'assurer la qualité de notre complément alimentaire. Les résultats sont représentés dans le tableau XI (Annexe VI) :

Tableau XI : Résultat d'analyses microbiologique de la matière première (Original)

Détermination	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Essai 5	Norme	Spécification
Coliformes thermotolérants	00	//	//	//	//	NF V08-017	< 100
Levures et Moisissures / g	2500	//	//	//	//	ISO 7954	<10000
Clostridium S.R à 46°C	00	//	//	//	//	NA 15176	<100
Salmonella / 25g	Abs	//	//	//	//	ISO 6579	Abs dans 25g
Staphylococcus aureus	00	//	//	//	//	ISO 6888-1	/

Selon la bonne pratique de la norme ISO 22000 durant tout le processus de fabrication de la matière première au produit fini ce qui induit aux bons résultats et l'absence de différentes espèces bactériennes mis à part les levures et moisissures qui sont la conséquence d'une humidité élevée. Tous ces tests d'analyse sont exigés par la norme ISO 22000.

Suite au bon séchage effectué pour notre matière première, on a pu obtenir les résultats suivants qui montre que le taux de levures et moisissures sont diminuer avec une valeur de 1700 g (Tableau XII).

Ce qui confirme l'origine et le seul problème durant tout notre travail.

Tableau XII : Résultat d'analyses microbiologique de produit fini (Original)

Détermination	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Essai 5	Norme	Spécification
Coliformes thermotolérants	00	//	//	//	//	NF V08-017	< 100
Levures et Moisissures / g	800	//	//	//	//	ISO 7954	<10000
Clostridium S.R à 46°C	00	//	//	//	//	NA 15176	<100
Salmonella / 25g	Abs	//	//	//	//	ISO 6579	Abs dans 25g
Staphylococcus aureus	00	//	//	//	//	ISO 6888-1	/

III .1.7. L'analyse des dangers

Pour notre cas, on remarque dans les analyses physico-chimiques que le taux de l'humidité est élevé, donc la criticité de dangers biologique est :

Criticité = Gravité est de 2 x Fréquence d'apparition est de 4 car c'est très fréquent = **8**

Donc, on détermine un PRPo ou on aura besoin d'un bon séchage avec un déshydrateur pour ne pas retomber dans un tel risque (Annexe VII.1).

| **Conclusion** |

| Conclusion |

La consommation des compléments alimentaire a explosé ses dernières années de ce fait de peu nombres de sociétés en Algérie sont lancées dans leur commercialisation leurs action principale a touché le coté marketing.

De notre part en tant que biotechnologue on a participé sur le plan scientifique grâce à l'étude bibliographique qu'on a utilisée comme base de ressources (**le Moringa oleifera , la signalisation approfondie de ses molécules bioactives**) et principalement grâce à la norme ISO 22000 avec l'intégration de HACCP la fabrication d'un complément qui est conforme ; cette norme nous a obligé d'effectuer de différentes analyses pour confirmer, assuré aux consommateurs un complément alimentaire de bonne qualité.

L'étape la plus importante, c'est celle qui nous a permis de manipuler et interprété les différentes analyses intéressantes, telles que, les analyses physico-chimiques et valeurs nutritionnelles qui nous a affirmé que le *Moringa oleifera* est un remède pour les anémiques. Ainsi, l'identification des principes actifs nous a permis de confirmer l'étude bibliographique, la présence la molécule bioactive par HPLC « Quercetine » en dépit du « Kaempferol » qui est malheureusement n'est pas été détecté par manque d'étalon, tandis que, la présence des flavonoïde totaux par la méthode de dosage.

L'évaluation supplémentaire Des activités biologiques (**antioxydante, anti-inflammatoire, et antibactérienne**) ont été effectuées pour valoriser notre complément alimentaire et pour choisir une plante à partir de trois formulations, la plante qui a été élu, c'est l'*Artemisia annua* en raison de son pouvoir phénolique et de ses activités biologiques et flavonoïdes de plus son étude est plus stable par l'identification de son principe actif.

On peut conclure en tenant en compte les résultats de ces analyses que notre complément alimentaire a des effets antianémique, antioxydante et anti-inflammatoire, sain et sûr et de bonne qualité.

| Perspectives |

- Reconnaître l'importance des différents végétaux médicinaux pour lutter contre la malnutrition et développer le tissu socio-économique du secteur agronomique de l'Algérie
- Mettre à disposition le *Moringa Oleifera* par un approvisionnement local pourrait permettre l'émergence de solutions pour lutter contre la malnutrition susceptible de toucher un nombre conséquent de foyers
- Évaluer la viabilité de la filière et ses conditions, et de proposer des recommandations d'actions comme désigner des producteurs pilotes, programmer des volumes de production, fixer des prix de référence ou encore créer des supports de sensibilisation
- Établir des laboratoires spécifiques et fournir, faciliter aux étudiants la recherche phytothérapeutiques

Références bibliographiques

- Abd-Rabou, A. A. (2017). La racine de *Moringa oleifera* induit l'apoptose du cancer plus efficacement que les nanocomposites et son homologue libre. *Journal de la prévention du cancer en Asie-Pacifique: APJCP*, 2141.
- Agati G, A. E. (2012). Les flavonoïdes comme antioxydants dans les plantes: emplacement et signification fonctionnelle. *Plant Sci* 196, 67–76.
- Ahmad, N. C. (2002). Régulation de la cyclooxygénase-2 par l'oxyde nitrique dans les macrophages hépatiques activés pendant l'endotoxémie aiguë. *J. Leukoc. Biol.*, 1005–1011.
- Al-Malki, A. ..., & El, R. (2015). L'effet antidiabétique de faibles doses de *Moringa oleifera* Lam. graines sur le diabète induit par la streptozotocine et la néphropathie diabétique chez les rats mâles. *Biomed.*
- Anwar, F., S., A., & M. et Gilani, A. H. (2007). *moringa oleifera*: une plante alimentaire aux multiples usages médicaux. Recherche en phytothérapie. *Une revue internationale consacrée à l'évaluation pharmacologique et toxicologique des dérivés*, 17-25.
- Arnaud, B. A. (2008). , Communiqué de presse : De la plante au complément alimentaire, les bienfaits naturels des plantes en toute sécurité. Angers. 14.
- Azab, A. N. (2016). Activité anti-inflammatoire des produits naturel. *Molécules* , 1321.
- Azevedo, C. C.-B. (2015). L'effet chimiopréventif du composé alimentaire kaempférol sur la lignée cellulaire du cancer du sein humain MCF-7 dépend de l'inhibition de l'absorption cellulaire du glucose. *Nutrition et cancer* .
- Bakre, A. G. (2013). Etudes sur le profil neuropharmacologique de l'extrait éthanolique de feuilles de *Moringa oleifera* chez la souris. *Journal of Ethnopharmacology*, 783-789.
- Begum, A. e. (2002). Effet protecteur de la quercétine contre l'altération induite par l'extrait de goudron de cigarette de la déformabilité des érythrocytes. *Le Journal de la biochimie nutritionnelle* , 265.
- BELKEBIR, S. (2018). Évaluation de l'effet insecticide, sur les pucerons, de l'extrait aqueux de feuille et fleur de *Moringa oleifera* Lam. UNIVERSITE de TLEMCEM. (17).
- BENGUERBA, A. (2008). Etude Phytochimique det de la phase Butanolique de l'espece inula crithmoides L. *Memoire en chimie organique*.

- BOUALI, W. (2010). Contribution à la mise en place d'un plan HACCP dans une unité de fabrication des aliments pour animaux.
- Briand, P. (2006). Saisine N° 2005-SA-0211 relatif à une demande concernant un projet d'arrêté relatif à la constitution des dossiers relatifs aux substances et aux plantes pouvant être employées dans la fabrication des compléments alimentaires.
- CARO, L., CAYROL, C., DALEM, E., & Et al . (2010). LES COMPLEMENTSALIMENTAIRES.
- Caswell, J. A. (1996). HACCP as an international trade standard. *American Journal of Agricultural Economics*, 78(3), 775-779.
- Chekalina, N. B. (2018). La quercétine réduit l'activité transcriptionnelle du NF-kB dans la maladie coronarienne stable. 593-597.
- Council, N. R. (2008). Moringa, Lost Crops of Africa: vol 11:Vegetables Lost Crops of Africa. . *National Academies Press ISBN* .
- De Zwaan, M. E. (2011). Anxiété et dépression chez les patients en chirurgie bariatrique: une étude prospective de suivi utilisant des entretiens cliniques structurés. *Journal des troubles affectifs*, 61-68.
- Decision1999/468/CE, D. C. (1999). Fixant les modalités de l'exercice des compétences d'exécution conférées à la Commission. J O L 184. 23-26.
- DECRET, 2.-3. (2006). Relatif aux compléments alimentaires.
- Devi, K. P., Malar, D. S., Nabavi, S. F., Sureda, A., Xiao, J., Nabavi, S. M., & Daglia, M. (2015). Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine. *Pharmacological research*, 99, 1-10.
- Dhakad AK, I. M. (2019). Biological, nutritional, and therapeutic significance of Moringa oleifera Lam. . (2870-2903.).
- Dhakar R C, M. S. (2011). The herbal gold to combat malnutrition. *ChronYoung Sci*, 119- 125.
- Diantini, A. S. (2012). . Kaempferol-3-O-rhamnoside isolé des feuilles de Schima wallichii Korth. inhibe la prolifération des cellules cancéreuses du sein MCF-7 par l'activation de la voie de la cascade des caspases ., *Lettres d'oncologie*.
- Directive 2002/46/CE . (2002). Parlement européen et du Conseil du 10 juin 2002 relative au rapprochement des législations des Etats membres concernant les compléments alimentaires. *Journal Officiel L N°183*, 51-57.

- Elgamily, H., Moussa, A., Elboraey, A., El-Sayed, H., Al-Moghazy, M., & Abdalla, A. (2018). . Évaluation microbiologique des extraits de *Moringa oleifera* et son incorporation dans de nouveaux remèdes dentaires contre certains pathogènes oraux. *Open Access Maced.*, 585-590.
- Faizi, S. S. (1998). Hypotensive constituents from the pods of *Moringa oleifera*. . *Planta medica*, 225.
- Foidl, N., Makkar, H. P., & Becker, K. (2001). The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In: What development potential for *Moringa* products ?
- Freitas M, L. J., & al, e. (2015). Proinflammatory pathways: the modulation by flavonoids. *Med Res Rev* 35 (5), 877–936.
- Ganguly, R. e. (2008). Altération des monoamines cérébrales et modèle d'onde EEG dans le modèle de rat de la maladie d'Alzheimer et protection par *Moringa oleifera*. *Journal indien de la recherche médicale* .
- García-Mediavilla, V., Crespo, I., Collado, P. S., Esteller, A., Sánchez-Campos, S., Tuñón, M. J., & González-Gallego, J. (2007). The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells. *European journal of pharmacology*, 557(2-3), 221-229.
- Giacoppo, S. G. (2015). Un aperçu des effets neuroprotecteurs des isothiocyanates pour le traitement des maladies neurodégénératives. *Fitoterapia*, 12-21.
- Gibellini, L. P. (2011). Quercétine et chimioprévention du cancer. . *Médecine complémentaire et alternative factuelle* , .
- Grover, J. K. (2002). Plantes médicinales d'Inde à potentiel anti-diabétique. . *Journal d'ethnopharmacologie*, 81-100.
- Hannan, M., Kang, J., Mohibullah, M., Hong, Y., & Lee, H. C. (2014). *Moringa oleifera* avec des potentiels prometteurs de survie neuronale et de croissance des neurites. . *Journal d'ethnopharmacologie* , 142-150.
- Heneman, K. e.-C. (2008).). Fiche d'information sur la nutrition et la santé: Flavonols.
- Henoune et al, N. Z. (2015). Composition chimique et teneur en composés phénoliques des graines de *Moringa oleifera*.
- Indra, M. R. (2013). La quercétine supprime l'inflammation en réduisant la phosphorylation de ERK1 / 2 et l'activation de NF kappa B dans les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUVEC) induites par la leptine. *BMC Res.* .

- Item, F. e. (2012). Graisse viscérale et inflammation métabolique: la théorie du portail revisitée. 30-39.
- Jafarain, A. ..., Asghari, G. ..., & Ghassami, E. (2014). Évaluation de la cytotoxicité de *Moringa oleifera* Lam. calcs et extraits de feuilles sur cellules Hela. . *Adv. Biomed. Res.* , 194.
- Kar, A. C. (2003). Évaluation comparative de l'activité hypoglycémique de certaines plantes médicinales indiennes chez des rats allergiques à l'alloxane. . *Journal d'ethnopharmacologie* , 105-108.
- Khalafalla, M. A.-E.-S. (2010). . Le principe actif de *Moringa oleifera* Lam laisse efficace contre deux leucémies et un hépatocarcinome. *Journal africain de biotechnologie*, 8467-6471.
- Khalil, M. S. (2010). Propriétés antioxydantes du miel et son rôle dans la prévention des troubles de la santé. *The Open Nutraceuticals Journal*.
- Khan, M. A. (2005). Extraits et molécules de plantes médicinales contre les virus de l'herpès simplex. *Recherche antivirale* , 107-119.
- Kou, X., & Fan, J. e. (2017). . Cibles moléculaires potentielles de l'ampélopsine dans la prévention et le traitement des cancers. Agents anticancéreux en chimie médicinale (anciennement Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents).
- Laleye et al, O. e. (2015). Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). *International Journal of Biological and Chemical*, 2682-2700.
- Laleye, F. O. (2015). Diversity, knowledge, and use of plants in traditional treatment of diabetes in the Republic of Benin. . *Ethnobotany Research and Applications*, 231-257.
- Leyva-López, N. G.-G.-P. (2016). Flavonoïdes comme modulateurs de cytokines: une thérapie possible pour les maladies liées à l'inflammation. *Revue internationale des sciences moléculaires. JB* , 921.
- Li, S. Y. (2017). Une faible dose de kaempférol supprime la migration et l'invasion des cellules cancéreuses du sein triple négatives en régulant à la baisse les activités de RhoA et Rac1. . *Oncotargets et therapie* .
- Li, Y. Y., e. (2016). Quercétine, inflammation et immunité. *Nutriment*. 167.
- Liang, Y. S. (2006). La protéine C-réactive active la voie du facteur nucléaire- κ B et induit l'expression de la molécule d'adhésion des cellules vasculaires-1 par CD32 dans les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine et les cellules endothéliales . *J. Mol. Cellule. Cardiol.* , 412-420.
- Liu, J.-x. D.-c., & al., e. (2015). Effet protecteur du kaempférol sur le LPS plus la réponse inflammatoire induite par l'ATP dans les fibroblastes cardiaques. *Inflammation* . 94–101.

- Lotito, S. B., & Frei, B. ...r. (2006). Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma capacity antioxidant chez l'homme: cause conséquence ou épiphénomène. *Free Radical Biology & Medicine*, 41, 1727–1746.
- Malo, T. (2014). Effet de la fertilisation sur la croissance et la production de *Moringa oleifera* local et *Moringa oleifera* PKM-1 dans la Région des Cascades (Burkina Faso).
- Malongane, F. M. (2017). Le potentiel synergique de divers thés, herbes et médicaments thérapeutiques dans l'amélioration de la santé. *Journal de la science de l'alimentation et de l'agriculture*, , 4679-4689.
- Maunder, R. H. (2003). . The immediate psychological and occupational impact of the 2003 SARS outbreak in a teaching hospital. 1245-1251.
- Mbikay, M. (2012). Potentiel thérapeutique des feuilles de *Moringa oleifera* dans l'hyperglycémie chronique et la dyslipidémie. *une revue. Frontiers in pharmacology* .
- Mehta, K., Balaraman, R. ..., Amin, A. ..., Bafna, P. ..., & Gulati. (2003). Effet des fruits de *Moringaoleifera* sur le profil lipidique des lapins normaux et hypercholestérolémiques. *J. Ethnopharmacol*, 191–195.
- Mehta, K., Balaraman, R. ..., Amin, A. ..., Bafna, P. ..., & Gulati, O. (2003). Effet des fruits de *Moringaoleifera* sur le profil lipidique des lapins normaux et hypercholestérolémiques. *J. Ethnopharmacol*, 191–195.
- Monera, T. e. (2010). Supplémentation en *Moringa oleifera* par les patients sous traitement antirétroviral. *Journal de la Société internationale du sida*.
- Muschietti, L. V., Ulloa, J. L., & Redko, F. D. (2018). The Role of Flavonoids as Modulators of Inflammation and on Cell Signaling Pathways. In *Natural Products as Source of Molecules with Therapeutic Potential* (pp. 159-208). Springer, Cham.
- Moyol B, M. P. (2011). Nutritional characterization of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.). *S leaves African Journal of Biotechnology*, 12925-12933.
- Mylle, A. (2012). Le marché des compléments alimentaires (le complément alimentaire médicalisé) . .
- Nair, D. L.-W. (2006). La zone épiléptogène: principes généraux. *Troubles épileptiques* . 1-9.
- Natouri, L. S. (2013). Contribution à la mise en oeuvre des exigences de la norme ISO22000: 2005 concernant la production de lait UHT demi écrémé par Tchén-Lait/Candia Bejaïa.
- Ndong, M. U. (2007). Effets de l'administration orale de *Moringa oleifera* Lam sur la tolérance au glucose chez les rats Goto-Kakizaki et Wistar. *Journal de biochimie clinique et nutrition*, 229-233.

- Ndong, M., Wade, S., Dossou, N., & Diagne, R. (2005). Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. *Developing African leafy vegetables for improved nutrition*.
- Nikkon, F. ..., Saud, Z. ..., Rahman, M. ..., & Haque, M. (2003). Activité antimicrobienne in vitro du composé isolé de l'extrait chloroformique de *Moringa oleifera* Lam. Pakistan. *J. Biol. Sci.*
- Ndiaye, M., Sall, A. O., Sy, G. Y., Bassène, E., & Dièye, A. M. (2016). Mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire des sous-fractions méthanoliques des feuilles de *Moringa oleifera* Lam.(Moringaceae) chez le rat. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(2), 760-768.
- Nworu, C., Okoye, E., Ezeifeke, G., & Esimone, C. (2013). Extraits de *Moringa oleifera* Lam. montrant une activité inhibitrice contre les étapes précoces de l'infectivité des particules lentivirales du VIH-1 dans un criblage à base de vecteur viral. . *Journal africain de biotechnologie*.
- Odontuya, G. H. (2005). Relation structure – activité pour l'effet anti-inflammatoire de la lutéoline et de ses glycosides dérivés. *Phytother*.
- Oh, S. K. (2006). Effets biphasiques du kaempférol sur l'oestrogénicité dans les cellules cancéreuses du sein humaines. . *Archives de la recherche pharmaceutique* , 354-362.
- Omabe, M. N. (2014). . La toxicité du trou anionique chez les rats diabétiques de type 2 induite par l'alloxane traités avec des composés bioactifs antidiabétiques non cytotoxiques d'extrait éthanolique de *Moringa oleifera*. *Journal de toxicologie*.
- Omodanisi, E. ..., Aboua, Y. ..., & Oguntibeju, O. (2017). . Evaluation des activités anti-hyperglycémiques, anti-inflammatoires et antioxydantes de l'extrait méthanolique de *Moringa oleifera* chez des rats wistar mâles néphrotoxiques induits par le diabète. *Molecules*, 439.
- Osman, H. M. (2012). The effect of *Moringa oleifera* leaves on blood parameters and body weights of albino rats and rabbits. . (1-4).
- Peixoto, J. ..., Silva, G. ..., Costa, R. ..., de Sousa, F. ..., Vieira, G. ..., Filho, A. ..., & Dos, F. (2011). Effet antibactérien in vitro des extraits aqueux et éthanoliques de feuilles de *Moringa*. *Pac asiatique. J. Trop. Med*, 201–204.
- Precepta-Xerfi. (2007). Compléments alimentaires : du marketing de l'innovation-produit aux stratégies d'avantages concurrentiels »,.
- Rajangam, J. A. (2001). Status of production and utilisation of moringa in southern India. In: Proceedings of the 2001 Workshop Developmental Potential for Moringa Products,. (33–42).
- Rane R, G. D. (2012). formulations en tant que médicaments à base de plantes et nutraceutiques. *Journal de recherche de la science pharmaceutique*. 10-15.

- Rapport de l'académie nationale de pharmacie . (2018). *Les compléments alimentaires contenant*. paris.
- Ray, K. H. (2003). Effet inhibiteur central de l'extrait de racine de *Moringa oleifera*: rôle possible des neurotransmetteurs. *Journal indien de biologie expérimentale* , 1279-1284.
- Rectificatif du règlement, C. (2007). Parlement Européen et du Conseil du 20 décembre 2006 concernant les allégations nutritionnelles et de santé portant sur les denrées alimentaires.
- Ren, K. L. (2017). es nanoparticules de quercétine présentent une activité antitumorale via l'inhibition de la prolifération et l'induction de l'apoptose dans les cellules cancéreuses du foie. *Revue internationale d'oncologie*, 1299-1311.
- ROLOFF, A. W. (2009). *Moringa oleifera* LAM. (10).
- Sabah Chermat, Nacira Belhadj, Ismahane charifi. (2018). *Place des Compléments Alimentaires à base de Plantes en Algérie: Évaluation de l'impact Sanitaire et Biosécurité de la région de Sétif et Bordj Bou Arreridj*. Uviversitaire européenne.
- Saisine N°, 2.-S.-0. (2008). relatif à Demande d'évaluation d'un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaire. *direction generale*.
- Samanta, P. K. (2017). Taux de croisement intersystème de conversion ascendante dans les émetteurs organiques pour la fluorescence retardée activée thermiquement: impact de la nature des états excités singulet vs tripler. *Journal de l'American Chemical Societ*.
- Sayed, A. (2012). L'acide ferulsinique module la SOD, le GSH et les enzymes antioxydantes dans le rein diabétique. M. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des preuves* .
- Siddhuraju, P. &. (2003). . Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. . *Journal of agricultural and food chemistry*, 2144-2155.
- Singh, P. R. (2012). Le mil pour la sécurité alimentaire et nutritionnelle. *Afr. J. Food Sci.* 6 (4), 77-84.
- Smail, K. (2016). . Etude théorique et expérimentale des activités biologiques de quelques composés de la famille des flavonoïde. s (*Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf des sciences et de la technologi*).
- Sophia Jorite (2015). La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel
- Spencer, J. (2010). L'impact des flavonoïdes de fruits sur la mémoire et la cognition. *Br J Nutr*, 40-47.

- Stephens Jr, R. L. (1992). Activité antiulcéreuse de l'antagoniste calcique propyl-méthylènedioxyindène -. *Localisation du site d'action. Pharmacologie générale* , 193-196.
- Suchal, K. M. (2016). Le kaempférol atténue les lésions ischémiques myocardiques via l'inhibition de la voie de signalisation MAPK dans un modèle expérimental de lésion d'ischémie-reperfusion myocardique. *Oxidative Med. Cellule. . Longévité* .
- SYNADIET. (2010). Dossier de presse - Compléments alimentaires : Les quatre vérités. 15.
- Takahama, U., & Hirota, S. (2018). Les interactions des flavonoïdes avec l'α-amylase et l'amidon ralentissent sa digestion. *Food & Function*, 9, 677–687.
- Tang, X.-L. L.-X.-Q., & al., e. (2014). Effet d'intervention de la quercétine sur la sécrétion inflammatoire des fibroblastes cardiaques.
- Terfaya, N. (2004). La démarche qualité dans l'entreprise et l'analyse des risques. . *Houma*.
- Tuñón MJ, G.-M. M.-C. (2009). Potentiel des flavonoïdes comme agents anti-inflammatoires: modulation de l'expression des gènes pro-inflammatoires et voies de transduction du signal. *Curr Drug Metab* 10 (3), 256–271.
- Tuorkey, M. J. (2016). Effets de l'extrait aqueux de feuilles de *Moringa oleifera* chez les souris diabétiques induites par l'alloxane. *Médecine interventionnelle et sciences appliquées*, , 109-117.
- VALETTE, J. (2015). Les compléments alimentaires (définition, aspects. 11-12.
- Vafadar, A., Shabaninejad, Z., Movahedpour, A., Fallahi, F., Taghavi pour, M., Ghasemi, Y., ... & Mirzaei, H. (2020). Quercetin and cancer: new insights into its therapeutic effects on ovarian cancer cells. *Cell & bioscience*, 10(1), 1-17.
- Wagner, H. e.-M. (2009). Recherche de synergie: approche d'une nouvelle génération de produits phytopharmaceutiques. . *Phytomédecine*, 97-110.
- Waiyaput, W. P.-A., & al. (2012). Effets inhibiteurs d'extraits bruts de certaines plantes thaïlandaises comestibles contre la réplication du virus de l'hépatite B et des cellules cancéreuses du foie humain. . *BMC médecine complémentaire et alternative* , 12 (1), 1-7.
- Wang, S. D. (2003). Les polyphénols de tomate et de soja réduisent la prolifération des cellules cancéreuses de la prostate stimulées par le facteur de croissance I de type insuline et la résistance à l'apoptose in vitro via l'inhibition des voies de signalisation intracell. *J. Nut*, 2367-2376.
- Williams RJ, S. J.-E. (2004). Flavonoïdes: antioxydants ou molécules de signalisation? . *Free Radic Biol Med* 36 (7): , 838–849.

- World Health Organization, W. (2002). The world health report 2002: reducing risks, promoting healthy life. *World Health Organization*.
- Yacine, F. ((2019).). Analyse de processus d'adoption de la norme ISO 22000 au sein de l'entreprise: Cas l'unité LALLA KHEDIDJA . *Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri*.
- Yang, Y. W. (2019). La quercétine induit préférentiellement l'apoptose dans les cellules cancéreuses colorectales mutantes KRAS via les voies de signalisation JNK. . *Cell biology international* , 117.
- Zeng, M. S., & al. (2016). Disposition des flavonoïdes via le recyclage: Excrétion biliaire directe des glucuronides de flavonoïdes dérivés de manière entérique ou extrahépatique. *Molecular Nutrition*

Annexes :

I. Préparation de la poudre de plante :



I.1.Sécheuse



I.2.Récipient en inox



I.3.Grand tamis



I.4.Petit tamis



I.5.Grand broyeur



I.6.Petit broyeur



I.7.Cristalliseur



I.8.Alcool



I.10.Feuilles de Moringa Oleifera à broyer



I.11.Obtention de la poudre de Moringa Oleifera



I.12. Tamisage de la poudre de Moringa oleifera



I.13. Jeter la poudre non tamisé (non homogène) dans un sac spécialisé



I.15. Mettre la poudre dans un sac sous-vide



I.16. Pesage de 500g de poudre de Moringa oleifera



I.17. Conditionnement de la poudre en plaçant la poudre bien homogène dans le sac sous-vide dans la machine à sous-vide



I.18. Feuilles et poudre de Moringa Oleifera étiquetée bien protégée

II. Extraction des principes actifs :



II.1. Ethanol à 100%



II.2. Etuves graduées



II.3. Pesé 150g de la poudre de plantes



II.4. Transfert de la poudre dans l'erlenmeyer



II.5. Versement de l'éthanol à 80% dans la poudre



II.6. Erlenmeyer étiqueter et laisser agir



II.7. Bouteille pour filtrer l'extrait



II.8. Filtrage de l'extrait éthanolique

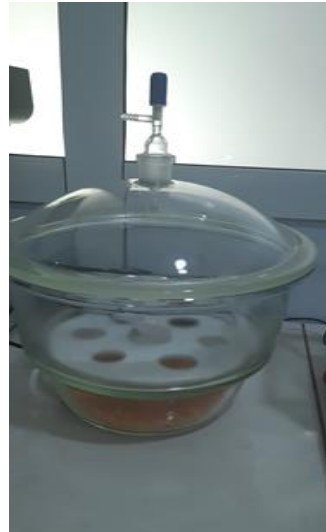


II.9. Bouteille étiqueter et mise au réfrigérateur

III. Annexe des analyses physico-chimiques :



III.1. pH -mètre



III.2. Dessiccateur



III.3. Balance Analytique



III.4. Four a Moufle



III.5. Etuve



III.6. Appareil de Kjeldahl



III.7. Extraction soxhlet



III.8. Titrage du sel



III.9. Spectrophotomètre



III.10. Photomètre à flamme

IV. Identification du principe actif de l'Artémisia Annua :

Identification et quantification de l'artémisinine par la chromatographie liquide à haute performance :

- Colonne : C18
- Phase mobile : Acétonitrile : eau (70 : 30)
- Standard : 5 mg / ml (Artemisinine / Methanol)
- Débit : 0,6 ml / min
- Température : 45°C
- λ : 210 nm
- Volume injecté : 10 μ l

1. Dilution de la solution d'Artemisinine de la courbe d'étalonnage :

N° de la dilution		Temps de rétention	Air sous la courbe	Moyenne
01	5 mg / ml	7,794	3523962	3515377,67
01		7,777	3520259	
01		7,770	3501912	
02	10 mg / ml	7,735	6548390	6530714
02		7,727	6526915	
02		7,712	6516837	
03	25 mg / ml	7,669	16161313	16218455,3
03		7,678	16232052	
03		7,683	16262001	

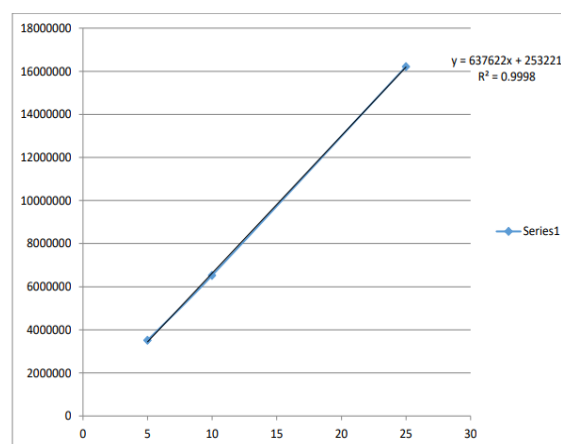


Figure. Courbe d'étalonnage de l'artémisinine.

2. Quantification d'artémisinine dans les différents extraits :

N° de la dilution	Air sous la courbe	Moyenne	Concentration calculée (mg/ml)
Extrait A	9995739	11057512	16,94467
	11524883		
	11651915		
Extrait B	11888601	10829049,3	16,5863605
	10284137		
	10314410		
E. reflux	2706742	2709159,67	3,8517157
	2724139		
	2696598		

V. Annexe fabrication :



V.1. On monte le premier bout des gélules dans la géluleuse on remplit notre poudre dans cette dernière puis on fixe bien le deuxième



V.2. On a obtenu 400 gélules dans un essai

composition
100% Moringa

conseil d'utilisation

- 6 à 9 gélules par jour a répartir en trois prise après un repas en cure de 1 mois renouvelables si nécessaire

المكونات
المورينجا 100%

الجرعة
من 6 إلى 9 كبسولات يوميا تقسم إلى ثلاث جرعات بعد الوجبة كعلاج لمدة شهر واحد قابل للتجديد إذا لزم الأمر

CENTRE IBN HOUNINE
BUE IBN KHALDOUNE N°173-
SECTION 49 - BOUFARIK -
Blida
Fabriquer en Algérie



6 136037000035



UNE PUISSANCE NATURELLE

Mori-force

COMPLÉMENT ALIMENTAIRE

مكمل غذائي

60 capsules
60 كبسولة

sans conservateurs sans additifs sans colorants
الطبيعية المضافات الأصباغ

c'est un complément alimentaire a base de moringa
100% naturel, source de protéines, d'acides aminés et de vitamines.
Précaution d'emploi et mise en garde :

- contre indiqué en cas d'allergie à l'un des composants .
- ne pas dépasser la dose journalière recommandée
- Déconseillé a la femme enceinte e la femme qui allaite .
- conserver à l'abri de la lumière de la chaleur et de l'humidité .
- **Ce complément ne remplace pas un médicament.**
- tenir hors de portée des enfants

إنه مكمل غذائي يعتمد على 1100 من المورينجا الطبيعية . وهو مصدر للبروتين والعناصر النزرة والفيتامينات

إحتياطات استعمال وتحذير
لا ينصح استهلاكه في حالة وجود حساسية تجاه أي من المكونات
لا تتجاوز الجرعة اليومية الموصى بها
لا ينصح به للنساء الحوامل والمرضعات
يحفظ بعيدا عن الضوء والحرارة والرطوبة
هذا المنتج ليس دواء
يحفظ بعيدا عن تناول الأطفال


 ingrédients
naturels


 produit
organique


 sans
gluten


 non testé sur
les animaux


 sans
alcool

V.3. Infographie de l'étiquette

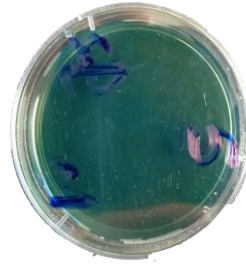


V.4. On met nos gélules dans des boîtes en plastic bien désinfecté

VI. Analyses Microbiologique :



VI.1. Levures et moisissures



VI.2. Salmonella



VI.3. Staphylococcus

VII. Analyses des dangers

<u>Fréquence</u>						
<u>Très fréquent</u>	4	4	8	12	16	
<u>fréquent</u>	3	3	6	9	12	
probable	2	2	4	6	8	
Rare	1	1	2	3	4	
		1	2	3	4	<u>Gravité</u>
		Presque imperceptible	Légers symptômes ou TIAC bénigne	TIAC grave avec séquelle ou pas	Hospitalisation et risque de mortalité	

Notation :

G : Gravité

F : Fréquence

D : Détectabilité

R : Résultat

S : Significatif et NS : Non Significatif

VII.1. Evaluation des Evaluation des dangers selon le coefficient de la criticité

Etapas	Nature des dangers	Criticité				Les causes de dangers	Les mesures de maitrise
		G	F	C	R		
Réception de la MP	Biologique : Contamination par des microorganismes ou par des parasites.	1	1	1	NS	- Mal respect des conditions d'hygiène concernant le transport et le stockage.	-Demande de fiches technique aux fournisseurs comme les bulletins d'analyses microbiologiques et toxicologique. -Contrôle physique de l'intégrité de l'emballage -Inspection visuels en cours de quarantaine
	Chimique : Métaux lourds (fer, mercure, plomb), résidus des pesticides.	1	1	1	NS		
	Physique : Contamination par des corps étrangers (bijoux, poussières...)	1	1	1	NS		
	Allergique : -Présent dans les intrants -Prévenants d'une contamination -Allergène	1	1	1	NS		
Mise en quarantaine	Biologique : Rien à signaler Chimique : Rien à signaler Physique : Température très faible ou très élevée.	1	1	1	NS	-Non maitrise de température de stockage	-utilisation d'un système de ventilation approprié -Entretien de surface

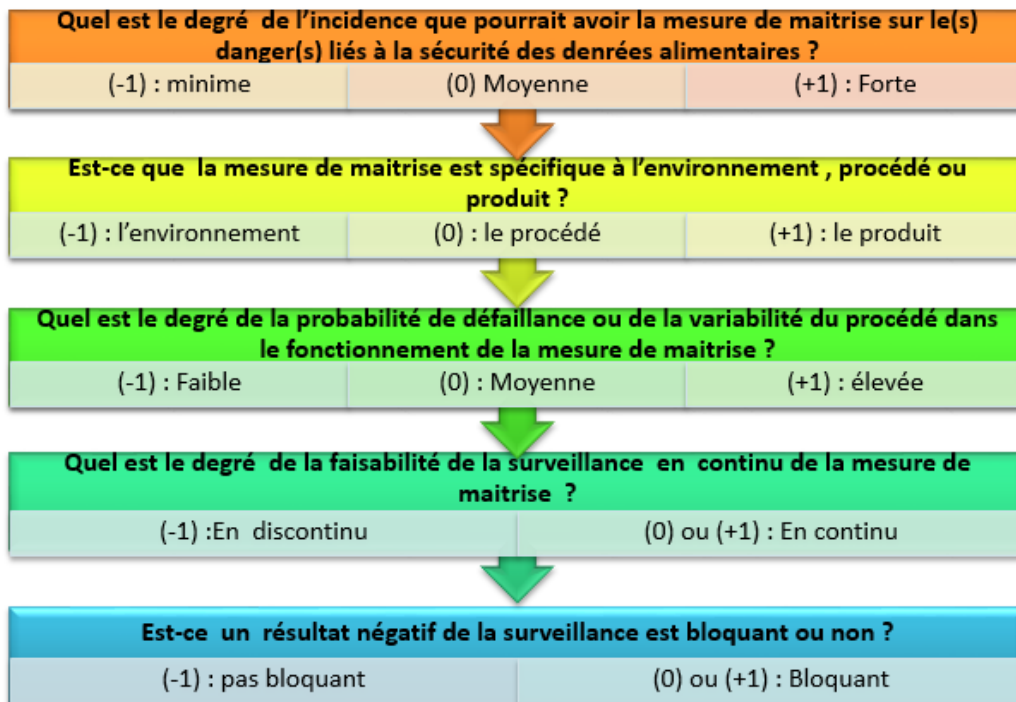
Stockage en magasin MP	Biologique : Contamination par des microorganismes ou des parasites -L'attaque de matière première par les rats.	1	1	1	NS	-Mal respect de programme de nettoyage et désinfection	-fiches d'intervention anti-nuisible -dossier dératation respects de la température du stockage
	Chimique : rien à signaler Physique : -Déchirures de l'emballage par les chocs mécaniques pendant le transfert. -Humidité	1	1	1	NS	-Non maîtrise de température de stockage	-respects du programme des flux matières -utilisation d'un système de ventilation Approprié

Mélange	Biologique : -Altération d'origine microbienne -Contamination due au mauvais nettoyage des mains ou d'équipement. -Contamination croisée	3	2	6	S	-Non-respect des conditions d'hygiène -Non-respect de programme de nettoyage et désinfection -Non-respect du programme de flux	- Respect des bonne BPH et BPF. - Contrôle de l'état de propreté des mains des manipulateurs -Respect du diagramme de flux. -Utilisation de désinfectants agréés et respects du mode d'emploi
	Chimique : Rien à signaler Physique : Présence des corps étrangers (morceau de cheveux, bijoux, poussières ...)	2	1	2	NS	-Non-respect des bonnes pratiques de fabrication	

Conditionnement primaire	Biologique : Contamination due au mauvais nettoyage des mains ou d'équipement.	4	3	12	S	-Non-respect Des bonnes pratiques d'hygiène. - Respect du programme de nettoyage des équipements et matériaux qui sont directement en contact avec le produit. -Erreur de Pesée.	- Former le personnel sur les bonnes pratiques d'hygiène. - Procéder à la mise en place d'un système de nettoyage et de désinfection concernant les équipements - Non-respect de programme d'étalonnage -Respect de la dose recommandée
	Physique : Poussières, corps étrangers, effet personnel	2	1	2	NS		
	Chimique : Rien à signaler	4	3	12	S		
Conditionnement secondaire	Autres Incertitude de mesure	4	3	12	S		
	Biologique : Rien à signaler						
	Chimique : Rien à signaler						
Mise sous blister	Physique : Rien à signaler						
	Biologique : Rien à signaler						
	Chimique : Rien à signaler						

Stockage des PF	Biologique : Rien à signaler	-	-	-	NS	-Non-respect de température de stockage	-Contrôle de température de stockage
	Chimique : Rien à signaler						
	Physique : Température de stockage	1	1	1	NS		

VII.2. L'évaluation des types de dangers



VII.3. L'arbre de décision de la détermination présenté par la norme



VIII.4. Fiche publicitaire