

N° d'Ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DÉPARTEMENT Des SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT.

# Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master

**Domaine** : Science de la nature et de la vie (S.N.V).

**Filière** : Biotechnologie et Santé.

**Spécialité** : Biotechnologie et valorisation des plantes.

Intitulé du thème :

**L'activité antibactérienne des extraits des graines  
de *Moringa oleifera* vis-à-vis des souches  
pathogènes.**

Présenté par : -KDROUSSI Idriss Seyf El Islam

-MORSLI Mohamed Amine

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : Mme TOUMI F. (Professeur-UDL -SBA.)

Examineur : Mme BENNABI F. (MCA-UDL-SBA .)

Promoteur : Melle GUENAOUI K. (MCB-UDL-SBA .)

**Année universitaire 2020 - 2021**

**Session : « Juin 2021 »**

## ***Remerciement***

*Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.*

*Je tiens à remercier spécialement et énormément Melle GUENAOUI Kheira pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter ma réflexion.*

*J'exprime mes plus vifs remerciements à Mme Toumi.F et Mme Bennabi.F pour leur présence au sein de notre jury qui constitue pour moi un grand honneur. Merci de bien vouloir porter intérêt à ce travail.*

*Pareillement, mes sincères remerciements s'adressent à monsieur Benaissa Keddar.Y ingénieur du laboratoire Microbiologie et monsieur Mekhfi.N ingénieur de laboratoire de Biochimie végétale et photochimie et Mme Mekkou.S ingénieure de laboratoire de Technologie alimentaire pour nous avoir permis de réaliser ce travail au sein du laboratoire merci de votre accueil chaleureux.*

*Merci, également à tous les enseignants qui nous ont suivis durant toutes les années d'études pour leur contribution à enrichir nos connaissances.*

*À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.*

## ***DÉDICACE***

*Au cœur ouvert et avec une immense joie, je dédie ce travail et  
spécialement :*

*À mes chers parents.*

*Grâce à vous j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais  
vous remercier pour votre amour, votre générosité et votre compréhension...  
votre soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne  
saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous.  
Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployés pour  
mon éducation digne et ma formation. Je vous aime et j'implore le tout-puissant  
pour qu'il vous accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.*

*Au sourire qui n'a jamais couché, à mon frère Redouane Abdessetar.*

*Aux fleurs qui n'ont jamais fanées, à mes sœurs yousra Farah et Djoumana  
Firdaouss.*

*À toute ma famille qui croit toujours en mes capacités.*

**IDRISS SEYF EL ISLAM**

## ***Dédicace***

*A ma mère et mon père, pour leurs conseils, leurs encouragements et leurs soutiens inconditionnels dans les moments importants de ma vie qui m'ont permis d'atteindre mes objectifs.*

*A mes frères : Khierddine Rayane Mehdi*

*A mes sœurs : Kheira , Amel , Houda , Mouna.*

*A ma femme que J'aime : Zineb a sa famille et à ces amies.*

*A mon fils : Younes*

*A toute la famille : MORSLI*

*Je ne peux pas oublier de remercier chaleureusement mes très chères amies*

*Saif , Said*

*Je leurs souhaite, à tous bonne continuation et beaucoup de réussite.*

*A mon très cher binôme Islem avec laquelle j'ai partagé ce travail.*

*A tous ceux qui me connaissent.*

*A tous les étudiants de promotions biotechnologie et sante 2020/2021*

*A vous tous.*

***Mohamed Amine***

## Résumé

*Moringa oleifera* est un arbre appartenant à la famille des moringacées, originaire d'Inde.

C'est une plante d'intérêt nutritionnel et médicinal, qui se trouve dans les régions tropicales.

Ce travail a été consacré d'une part à une caractérisation chimique des extraits des graines de *M. oleifera* : extractions, dosages des composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés). D'autre part, l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits.

Les résultats montrent que l'extrait aqueux à un rendement d'extraction de 47.25% est plus important que l'extrait obtenu par l'Éthanol 28.09% et le Méthanol 16.95%.

Les résultats de cette étude montrent que les différents extraits de graines de *M. oleifera* renferment des teneurs importantes de tanins 50.75 mg EAG/g MS pour l'extrait éthanolique, 26.5 mg EAG/g MS pour l'extrait aqueux et 25.5 mg EAG/g MS pour l'extrait méthanolique comparativement aux polyphénols 1.657 mg EAG/g MS , 4.16 mg EAG/g MS et -0.964 mg EAG/g MS , et aux flavonoïdes 1.041 mg EQ/g Ech , 1.214 mg EQ/g Ech et -0.67 mg EQ/g Ech dans l'ordre.

L'activité antimicrobienne des extraits des graines de *M. oleifera* a été évaluée contre les bactéries sélectionnées (*Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus* , *Bacillus cereus*). L'apparition de zones d'inhibitions indique que les trois souches bactériennes : *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* sont sensibles aux extraits Éthanolique et aqueux . Par contre *Bacillus cereus* ne présente aucune sensibilité contre les trois différents extraits.

**Mots clés :** *Moringa oleifera*, composés phénoliques, graines, activité antibactérienne.

## Summary

*Moringa oleifera* is a tree belonging to the *moringaceae* family, native to India. It is a plant of nutritional and medicinal interest, which is found in tropical regions. This work was devoted on the one hand to a chemical characterization of the extracts of the seeds of *M. oleifera*: extractions, determinations of phenolic compounds (total phenols, flavonoids, condensed tannins). On the other hand, the evaluation of the antibacterial activity of the extracts.

The results show that the aqueous extract with an extraction yield of 47.25% is more important than the extract obtained by Ethanol 28.09% and Methanol 16.95%.

The results of this study show that the different *M. oleifera* seed extracts contain significant tannin contents 50.75 mg EAG/g MS for ethanolic extract, 26.5 mg EAG/g MS for aqueous extract and 25.5 mg EAG/g MS for methanolic extract compared to polyphenols 1.657 mg EAG/g MS , 4.16 mg EAG/g MS and -0.964 mg EAG/g MS , and flavonoids 1.041 mg EQ/g Ech , 1.214 mg EQ/g Ech and -0.67 mg EQ/g Ech in order.

The antimicrobial activity of *M. oleifera* seed extracts was evaluated against the selected bacteria (*Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus* , *Bacillus cereus*). The appearance of inhibition zones indicates that the three bacterial strains: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* are sensitive to ethanolic and aqueous extracts. On the other hand, *Bacillus cereus* has no sensitivity against the three different extracts.

Keywords: *Moringa oleifera*, phenolic compounds, seeds, antibacterial activity.

## الملخص

مورينغا اوليفيرا هي شجرة تنتمي إلى عائلة *moringaceae* ، موطنها الأصلي الهند. وهو نبات ذو أهمية غذائية وطبية، ويوجد في المناطق الاستوائية. تم تكريس هذا العمل من ناحية إلى توصيف كيميائي لمقتطفات بذور مورينغا اوليفيرا استخراج، وتحديد المركبات الفينولية (الفينولات الكلية، الفلافونويدات، التانين المكثف). (ومن ناحية أخرى فإن تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمقتطفات). وتظهر النتائج أن المستخلص المائي الذي تبلغ حصيلته استخراجه 47.25% أكثر أهمية من المستخلص الذي حصل عليه الإيثانول 28.09% والميثانول 16.95%.

وتظهر نتائج هذه الدراسة أن مختلف مستخلصات البذور من مادة مورينغا اوليفيرا تحتوي على محتويات كبيرة من التانين تبلغ 50.75 ملغ للمستخلص الإيثانول، و26.5 ملغ للمستخرج المائي، و25.5 ملغ للمستخرج الميثانولي، مقارنة بمادة بولي فينول 1.657 ، و4.16 ملغ و-0.964 ملغ، والفلافونويدات 1.041 ملغم، و1414.114 ملغ و-0.67 ملغم.

تم تقييم النشاط المضاد للمكروبات من مستخلصات بذور مورينغا اوليفيرا ضد البكتيريا المختارة *ischerichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Staphylococcus aureus* ، *Bacillus cereus* ان ظهور مناطق الكبح يشير الى أن السلالات البكتيرية الثلاث: الإسكيريشيا كولي ، و *Pseudomonas aeruginosa* ، و *Staphylococcus aureus* حساسة للميثانوليك والمستخلصات المائية. من ناحية أخرى، حبوب باكي لوس ليس لديها حساسية ضد المستخلصات الثلاثة المختلفة.

الكلمات الرئيسية: مورينغا اوليفيرا، مركبات فنولية، بذور، نشاط مضاد للبكتيريا.

## *Sommaire*

**Remerciement**

**Résumé**

**Abstract**

**Résumé en arabe**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

Introduction.....01

### *Synthèse bibliographique*

## **Chapitre I : Lutte contre les pathogènes par des plantes médicinales**

I.1. Plante médicinale.....	02
I.1.1. Généralités.....	02
I.1.2. Culture et cueillette des plantes médicinales.....	03
I.1.3. Conservation des plantes médicinales .....	05
I.1.4. Séchage des plantes médicinales.....	05
I.1.5. Principes actifs des plantes médicinales .....	06
I.2. Phytothérapie.....	06

## **CHAPITRE II : Généralités sur *Moringa oleifera***

II.1. Généralités sur <i>Moringa oleifera</i> .....	08
II.1.1. Origine et répartition géographique .....	08
II. 1.2. - Description botanique de la plante.....	08
II. 1.2.1. - Systématique et nomenclature de <i>Moringa oleifera</i> .....	08
II.1.2.2. - Description botanique des différentes parties de <i>Moringa</i> .....	09
II.1.3. Culture.....	11
II.1.4. Usages.....	11
II.1.5. Qualité nutritionnelle.....	12

II.1.6. Propriétés médicinales .....	13
--------------------------------------	----

## **Chapitre III : Métabolites secondaires et différents modes d'extraction**

III.1. Métabolites secondaires.....	14
III.1.1. Composés phénoliques.....	14
III.1.1.1. Classification des composés phénoliques.....	14
III.1.1.2. Propriétés des composés phénoliques.....	17
III.1.1.2.1. Propriétés physico-chimiques.....	17
III.1.1.2.2. Propriétés biologiques.....	17
III.1.1.2.2.1. Activité antioxydant.....	17
III.1.1.2.2.2. Activité antibactérienne.....	18
III.1.1.2.2.3. Autres propriétés des composés phénoliques.....	18
III.1.2. Les alcaloïdes.....	19
III.1.3. Les terpènes.....	20
III.2. Présentation des différentes méthodes d'extraction .....	20
III.2.1. Méthodes d'Extraction Traditionnelles .....	20
III.2.1.1. Infusion .....	21
III.2.1.2. Décoction.....	21
III.2.1.3. Macération.....	21
III.2.1.4. Distillation.....	21
III.2.2. Méthodes d'extraction modernes et nécessité de la «Chimie Verte».....	22

## **Chapitre IV : Les antibiotiques et l'antibiorésistance**

IV.1. Les antibiotiques et leur histoire.....	24
IV.2. Définitions.....	25
IV.3. La classification des antibiotiques.....	25
IV.4. Mode d'action des antibiotiques .....	26
IV.5. Mode de résistance.....	27
IV.5.1. Définition .....	27
IV.5.2. Résistance aux antibiotiques.....	27

IV.5.3.types de résistance aux antibiotiques.....	27
IV.5.3.1.La résistance naturelle .....	28
IV.5.3.2. Résistance acquise .....	28

## ***Partie expérimentale***

### **Matériel et méthodes**

I.objectif	
II. Matériels et Méthodes.....	29
II.1. Matériel végétal.....	29
II.1.1.Origine des graines .....	29
II.2. Matériel biologique.....	29
II.2.Préparation du matériel végétale.....	29
II.2.1. Broyage et Tamisage.....	29
II.2.2. Conservation et stockage.....	30
II.3. Extraction et dosage des composés phénoliques.....	30
II.3.1. Extraction à partir des graines de <i>M. oleifera</i> par macération.....	30
II.4. Détermination du rendement d'extraction.....	31
II.5. Dosages colorimétriques.....	31
II.5.1. Dosage des phénols totaux solubles.....	31
II.5.2. Dosage des flavonoïdes.....	32
II.5.3.Dosage des tanins.....	33
II.6. Repiquage des souches bactériennes .....	33
II.7. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.....	34
II.8.Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de <i>M. oleifera</i> .....	35
II.8.1.Préparation des extraits.....	35
II.8.2.Détermination de l'effet antibactérien des graines de <i>M.Oleifira</i> .....	35

### **Résultats et discussions**

III. Résultats.....	36
III.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques.....	36
III.2. Dosages colorimétriques des composés phénoliques.....	36

III.2.1. Teneur en polyphénols solubles totaux .....	36
III.2.2. Teneur en flavonoïdes .....	37
III.2.3. Teneur en tanins condensés .....	37
III.3. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.....	38
III.4. Pouvoir antibactérien des extraits de <i>M. oleifera</i> .....	39
IV.5. Discussion générale.....	44
Conclusion.....	48
Références bibliographique.....	49

## *Liste des abréviations*

**%** : Pourcentage

**µg** : microgramme

**A** : Absorbance

**a** : facteur de l'équation d'étalonnage

**ATB** : Antibiotique

**B** : Bacillus cereus

**b** : constante de l'équation d'étalonnage

**C** : Chloramphénicol

**CFT** : Contenu flavonoïdes (mg EC/g)

**CMN** : Clindamycine

**CPT** : Contenu des polyphénols totaux (mg EAG/g)

**CTC** : Contenu des tamins condensés (mg EAG/g)

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**E** : Ethanol .

**E.C** : Escherichia coli

**Ech** : Echantillon

**ED** : Eau distillée

**GN** : gélose nutritif

**M** : Méthanol

***M oleifera*** : *Moringa oleifera*

**MH** : Muller Hinton

**P.1** : Pseudomonas aeruginosa

**PEN** : Pénicilline

**S** : Staphylococcus aureus

**SXT** : Sulfaméthoxazole + Triméthoprime

**µL** : microlitre

## *Liste des figures*

<b>Figure 01</b> : Description botanique de <i>Moringa oleifera</i> Lam.....	10
<b>Figure 02</b> : Structure de bases des flavonoïdes.....	15
<b>Figure 03</b> : Structures de deux alcaloïdes.....	20
<b>Figure 04</b> : Mode d'action des antibiotiques.....	27
<b>Figure 05</b> : Matériel végétale utilisé : des graines entières sans ailes (A) et des amandes (B).....	29
<b>Figure 06</b> : Les graines de <i>M.oleifera</i> (A-sous forme de poudre après broyage. B-après le tamisage).....	30
<b>Figure 07</b> : Protocole d'extraction des composés phénoliques.....	31
<b>Figures 08</b> : Dosages colorimétriques.....	33
<b>Figures 09</b> : Ecoulement des boites.....	33
<b>Figure 10</b> : Ensemencement des boites.....	34
<b>Figure 11</b> : Dosage des composé phénolique des extraits (ED ;E ;M) des graines de <i>M.oleifera</i> .....	38
<b>Figure 12</b> : L'antibiogramme des souches pathogènes : <i>Escherichia coli</i> ( <b>E.c</b> ), <i>Staphylococcus aureus</i> ( <b>Staph</b> ), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ( <b>PI</b> ), <i>Bacillus cereus</i> ( <b>B</b> ).....	39
<b>Figure 13</b> : Effet antibactérien des extraits aqueux des graines de <i>Moringa oleifera</i> sur <i>P. Staphylococcus aureus</i> .....	41
<b>Figure 14</b> : Effet antibactérien des extraits aqueux des graines de <i>Moringa oleifera</i> sur <i>Escherichia coli</i> .....	41
<b>Figure 15</b> : Effet antibactérien des extraits ethanoliqes des graines de <i>Moringa oleifera</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42
<b>Figure 16</b> : Effet antibactérien des extraits ethanoliqes des graines de <i>Moringa oleifera</i> sur <i>Escherichia coli</i> .....	42
<b>Figure 17</b> : Effet antibactérien des extraits ethanoliqes des graines de <i>Moringa oleifera</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	43
<b>Figure 18</b> : Effet antibactérien des extraits ethanoliqes des graines de <i>Moringa oleifera</i> sur <i>Bacillus</i> .....	43

## *Liste de tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Systématique et nomenclature de <i>Moringa oleifera</i> .....	08
<b>Tableau 02</b> : Principales exigences écologiques de <i>Moringa oleifera</i> .....	11
<b>Tableau 03</b> : Utilisations de <i>Moringa oleifera</i> .....	12
<b>Tableau 04</b> : Distribution alimentaire des principales classes de flavonoïdes.....	16
<b>Tableau 05</b> : Les activités biologiques des composés phénoliques.....	19
<b>Tableau 06</b> : Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.....	35
<b>Tableau 07</b> : Rendements des extraits méthanoliques et aqueux et ethanologique obtenus à partir des graines de <i>Moringa Oleifera</i> .....	36
<b>Tableau 08</b> : Résultats de l'antibiogramme.....	38
<b>Tableau 09</b> :L'Activité antibactérienne de l'extraits ethanologique des graines de <i>M. oleifera</i> .	40
<b>Tableau 10</b> :L'Activité antibactérienne de l'extraits aqueux des graines de <i>M.oleifera</i> .....	40
<b>Tableau 11</b> :L'Activité antibactérienne de l'extraits méthanolique des graines de <i>M.oleifera</i> .....	40

# Introduction

## Introduction générale

Dès son apparition sur terre, l'Homme s'oriente rapidement vers le monde végétal, omni présent autour de lui, offrant déjà une source de nourriture, pour tenter de calmer ses maux **(B-Morin, 2008)**.

Les végétaux supérieurs ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques complexes, de nombreux composés qu'ils utilisent pour diverses fonctions adaptatives notamment en réponse aux stress biotique et abiotique qu'ils peuvent subir **(Cox et Balick, 1994)**. Il est par ailleurs aujourd'hui reconnu que les plantes constituent une source importante de molécules bioactives. En effet, les plantes renferment une large variété de molécules chimiques (peptides, terpènes, polyphénols, alcaloïdes...) de propriétés physico-chimiques très différentes et qui présentent une large variété d'activités biologiques : anti-tumorale, antivirale, antimicrobienne et anti-oxydante **(Michel, 2011)**.

*Moringa oleifera* Lam arbre tropical originaire d'Asie, est aujourd'hui largement répandu sur le continent africain **(Kokou et al., 2001)**. Les nombreuses propriétés valorisables de cette plante en font un sujet d'étude très intéressant **(Foidl et al., 2001)**.

Cet arbre présent dans la région du sud algérien est très peu connu et très peu étudié. Par ses nombreuses potentialités décrites dans la bibliographie, cette espèce mériterait une attention particulière en vue de son exploitation dans différents domaines (agro alimentaire, thérapeutique et environnemental) avec des avantages socio économiques non négligeables.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude . L'objectif du travail porte sur l'extraction des composés phénoliques de graines de *Moringa* et l'évaluation du pouvoir antibactérien de différents extraits.

A cet effet notre travail est organisé comme suit :

**-Première partie** : étude bibliographique incluant plusieurs chapitres portés sur : généralités sur *Moringa oleifera*. ; Les métabolismes secondaires de *M.oleifera*, les différentes méthodes d'extractions et enfin la résistance aux antibiotiques.

**-Deuxième partie** : Etude expérimentale. comporte les protocoles expérimentaux et les différentes techniques : l'extraction des métabolites, les dosages colorimétriques de ces derniers, l'évaluation de pouvoir antibactérien des différents extraits vis-à-vis des souches bactériennes. Par la suite, présentation des résultats obtenus et discussion.

Et enfin, une conclusion générale et perspectives.

# **Partie**

# **bibliographique**

**Chapitre I : Lutte  
contre les pathogènes  
par des plantes  
médicinales**

## I.1. Plante médicinale :

### I.1.1. Généralités

On appelle plantes médicinales ou pharmaceutiques, toute plantes qui a été séchée ou traitée selon des méthodes, et employée dans la préparation des médicaments (**Thurzova, 1978**). Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité, elles sont des usines chimiques naturelles, produisant des substances actives biochimiques : alcaloïdes, huiles essentielles, flavonoïdes, tanins,... et les mettent à la disposition de l'homme qui peut en faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux (**Schauenberg et Paris, 1997**). Malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (**Tabuti, et Dhillion, 2003**).

Les plantes médicinales ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. D'après (**Elqaj et al, 2007 in Bitam R, 2012**), environ 35000 espèces de plantes sont employées dans le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains.

Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne. En effet, dans plusieurs pays en voie de développement, une grande partie de la population fait confiance à des médecins traditionnels et à leurs collections de plantes médicinales pour les soigner (**Benayad ,2008**) Par définition, celles qui possèdent une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutique, et cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain. Elles sont utilisées en pharmacie humain et vétérinaire, en cosmétologie, ainsi que dans la confection de boissons, soit à l'état naturel, soit en préparation galénique, soit encore sous forme de principes actifs, comme matière pour l'obtention de médicaments, (**Naghibi, 2005; Babulka, 2007 in Mebarki, 2010**)

Les plantes médicinales sont très importantes comme plantes économiques, elles contiennent des principes actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies, après leur isolement, et on peut aussi les employer dans les industries pharmaceutiques, alimentaires, des cosmétiques et des parfums.

La production des médicaments nécessite de grandes quantités de plantes médicinales (matière première) ; donc la culture de ces dernières doit être à grand échelle. Aujourd'hui les préparations pharmaceutiques dans le monde utilisent environ 300 espèces de plantes

médicinales et aromatiques. En plus les plantes sont utilisées généralement en tisanes, extraits et teintures (**Frantisek, 1992**). Parmi les derniers médicaments obtenus à partir des plantes, on trouve le Taxol, isolé de l'if (*Taxus baccata*, taxaceae) qui a sa place dans le traitement des cancers gynécologiques. L'artémisinine, substance isolée d'une armoise chinoise (*Artemisia annua*, Asteraceae) est utilisée dans le traitement des formes résistantes de la Malaria. On peut encore citer la galanthamine, obtenue de la perce-neige (*Galanthus nivalis*, Amaryllidaceae) utilisée depuis peu dans le traitement de la maladie d'Azheimer.

### **I.1.2. Culture et cueillette des plantes médicinales**

Les avantages de la culture des plantes médicinales sont en effet évidents:

- Disponibilité des plantes sans besoin d'aller dans la forêt détruire les espèces.
- Apports substantiels de revenus pour les paysans qui les cultivent.
- Disponibilité prévisible des plantes médicinales au moment voulu et en quantité voulue.
- Disponibilité et protection des plantes actuellement rares ou en voie de disparition dans la nature.
- Contrôle plus facile de la qualité, de la sécurité et de la propreté des plantes.

La teneur en principes actifs d'une plante médicinale varie avec l'organe considéré, mais aussi avec l'âge de la plante, l'époque de l'année et l'heure de la journée. Il y a donc une grande variabilité dont il faut tenir compte pour récolter au moment le plus opportun (**Belouad, 2001**). La cueillette donc, doit toujours tenir compte des variations climatiques et saisonnières. Ainsi, elle ne doit jamais se faire en temps de pluie afin d'éviter les risques de moisissure. Pour déterminer les propriétés d'une plante, il est donc nécessaire de prendre en considération, non seulement la partie utilisée mais aussi sa morphologie, sa couleur, sa nature, sa saveur et ne pas s'arrêter sur un seul critère (**Soltner, 1996; Marschner, 1995 in Endrias, 2006**).

De nombreux organes peuvent être récoltés: les racines, les rhizomes, les tiges, l'écorce, le bois, les bourgeons, les feuilles, les sommités fleuries, les fleurs, les fruits, les graines, mais aussi les gommés et le latex. Les organes souterrains sont secoués et brossés pour enlever la terre, parfois lavés.

Les racines et les tiges de dimension importante sont coupées en rondelles ou fendues longitudinalement pour faciliter leur dessiccation ultérieure (**Volak et Stodola, 1983**).

La récolte des plantes médicinales dans leur sites naturels est facile, seulement il faut qu'il y a une expérience de celui qui la pratique (**Volak et Stodola, 1983**).

➤ *Voici quelques règles pour la récolte des plantes :*

- Feuilles : La cueillette se fait avant la floraison de la plante, pour les feuilles saines, jeune et bien développées.
- Herbes : la cueillette se fait dès que la plante commence à fleurir, pour les tiges saines, pas très grosses, avec les fleurs. On coupe les herbes à 15-30 cm de la fleur chez les plantes à tiges haute.
- Fleurs : la cueillette se fait au début de la floraison, on ne doit pas presser la fleur pendant la cueillette car est une partie très délicate.
- Fruits : on cueille les fruits au début de la maturation.
- Ecorces : la cueillette se fait au printemps, on fait deux incisions transversales éloignées de 10-20 cm que l'on réunit par une incision en long puis on détache l'écorce avec une pointe obtuse inoxydable.
- Bois : la cueillette se fait au début ou à la fin de la végétation, pour les branches plus grosses ou le bois des troncs.
- Partie souterraines : Rhizomes et racines La cueillette se fait à la fin de la végétation, à l'automne (Repos d'hiver), ou au printemps (Avant qu'elle s'éveille). Faisant attention à la récolte des plantes toxiques qui contiennent des substances à effet rapide nuisible et dangereuses pour la santé et peuvent être mortelle. il faut veiller à ne pas toucher aucune denrée alimentaire au cours de la cueillette, et de préférence que la cueillette et même la préparation des plantes toxiques doivent s'effectuer à part et par des cueilleurs expérimentés (Kresanek, 1981).

➤ *Les dix règles de la cueillette des plantes médicinales :*

1. Il faut avoir une bonne connaissance des plantes médicinales pour les récolter afin de ne pas se tromper sur les plantes dangereuses et toxique.
2. Il faut prendre des précautions dans la cueillette des plantes toxiques, ex : porter des gants, se laver soigneusement les mains après les avoir touchées, il faut les placer à part pour les sécher.
3. Il faut se spécialiser sur une seule espèce si vous souhaitez vendre des plantes et il faut être sûr qu'elle se vendra.
4. Pour éviter la disparition totale de l'espèce des plantes médicinales, la cueillette ne doit jamais toucher tous les spécimens d'une certaine espèce dans un endroit donné.
5. Lors du ramassage des plantes médicinales il est recommandé de porter des gants et d'utiliser des instruments adaptés, ex : Couteau, sécateur, faucilles

6. Faire attention pendant la manipulation et le transport des plantes afin de ne pas les abimer et risquer une fermentation.
7. Eviter de récolter les plantes malades ou infecter d'insectes nuisibles.
8. Ne ramasser pas les plantes médicinales dans les prairies et les vergers ou on a utilisé désherbants et pesticides.
9. Les plantes ne doivent pas être récoltées humides, car elles s'abiment rapidement par échauffement (Le meilleur moment pour cueillir est entre 10h du matin-5h du soir, temps sec et ensoleillé).
10. Les plantes récoltées doivent être séchées le plus tôt possible après leur cueillette (**Frantisek, 1992**).

### **I.1.3. Conservation des plantes médicinales**

Pour conserver les plantes, les débarrasser des parties mortes puis les faire sécher dans un lieu aéré(les racines séchées à l'air et conservées à l'abri de l'humidité), fleurs, feuilles et semences doivent être desséchées étendues sur des claies ou suspendues en petits paquets isolés. Le but de la conservation est la protection des plantes contre le soleil, l'humidité, les odeurs pénétrantes, les gazes, la poussière, les moisissures, les insectes et les autres facteurs de dégradation (**Thurzova, 1978**) On utilise des pots en verre ou des boites pour la conservation des feuilles ou des fleurs (**Thurzova, 1978**). On utilise des sacs en carton, en toile d'emballage pour la conservation des grandes quantités.

Il faut éviter les conteneurs en plastiques (**Frantisek, 1992**). Il est nécessaire d'utiliser les étiquettes, pour savoir où se trouve une drogue donnée, dans quel récipient elle est stockée (**Frantisek, 1992**).

### **I.1.4. Séchage des plantes médicinales**

Pour que les drogues ne perdent pas leurs qualités médicinales, il faut les sécher. Le séchage doit être réalisé rapidement juste après la récolte.

On protège le lieu de séchage, de la pluie, l'humidité, la poussière. Le séchage a lieu à l'ombre, ou dans un endroit protégé contre les rayons solaires, et il doit être appliqué avec la séparation de chaque plante ou une partie de plante. Le séchage dépend de l'air, la teneur en eau de la plante, sa structure des tissus, et de la température. La température idéale est de 30 à 40°C ; elle doit être plus élevée pour les parties grasses des plantes. Lorsque les tiges, racines

et feuilles se brisent facilement sous la pression du doigt, et que les fruits sont durs, on peut dire que le séchage est terminé (**Thurzova, 1978**).

### **I.1.5. Principes actifs des plantes médicinales**

Le principe actif c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (Peltj, 1980). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (**Benghanou, 2012**). Aujourd'hui, plusieurs de ces phytomolécules ont déjà été décrites mais un grand nombre reste encore mal connu et non caractérisé. Ces composés constituent les principes actifs des plantes médicinales exploités dans la médecine traditionnelle. Ce sont des produits, à structure chimique souvent complexe. Selon les espèces, ces métabolites sont très dispersés et très différents. Ce n'est seulement qu'à partir de la deuxième moitié du 20e siècle, qu'il y a eu explosion des recherches en ce domaine grâce à l'évolution du matériel d'analyse chimique. Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires (**Bouhadjera, 2005**) classés selon leur appartenance chimique en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie (**Iserin, 2001**).

## **I.2. Phytothérapie**

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement". La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (**Wichtl et Anton, 2003**), qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe. De nos jours, la Phytothérapie est basée sur les avancées scientifiques et les recherches des extraits actifs des plantes. Une fois identifiés ces

derniers sont standardisés. Cette pratique conduit aux phytomédicaments et selon la réglementation en vigueur dans un pays, la circulation de ces derniers est soumise à l'autorisation de mise sur le marché. On parle alors de Pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique (**Monnier, 2002**). La phytothérapie moderne trouve donc sa justification dans la pharmacognosie, aspect multidisciplinaire de la connaissance du végétal et de ses propriétés.

**Chapitre II :**  
**Généralités sur**  
***Moringa oleifera***

## II.1. Généralités sur *Moringa oleifera*

### II.1.1. Origine et répartition géographique :

*Moringa oleifera* Lam est un arbre originaire de l'Inde, dans les vallées au sud de la chaîne de montagne de l'Himalaya, mais elle est cultivée aujourd'hui dans toutes les régions tropicales et sub-tropicales du monde (Rajangam et al., 2001) telles que : le Pakistan, le Bangladesh, l'Afghanistan et le Sri Lanka (Ferreira et al., 2014 ; Parrotta, 1993) et également la Malaisie, les Philippines, Singapour, la Thaïlande, le Mexique, le Pérou, les îles des Caraïbes, le Paraguay et le Brésil (Morton, 1991 ; Ramachandran, 1980). Son introduction en Afrique de l'Est a eu lieu au début du 20<sup>e</sup> siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes (Foidl et al., 2001). Durant cette période, elle est utilisée comme plante médicinale et alimentaire (Ndong et al., 2007).

## II. 1.2. - Description botanique de la plante

### II. 1.2.1. - Systématique et nomenclature de *Moringa oleifera*

Tableau 01 : Systématique et nomenclature de *Moringa oleifera*(Malo, 2014).





Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Classe	Equisetopsida
Sous-classe	Magnolîdae
Ordre	Brassicales
Famille	Moringaceae
Genre	Moringa
Espèce	<b>Moringa oleifera Lam., 1785</b>

*Moringa* appartient à une famille monogénérique dont on connaît 14 espèces. Neuf d'entre elles sont africaines, deux malgaches, deux indiennes et une 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 différent noms selon les régions, dans les pays francophones il est appelé «Mouroungue», «Moringa ailé», «ben ailé», «benzolive» et « poisquéanique », dans les pays anglophones on le nomme «Radish Tree », « Never die Tree », «Drumstich Tree », «Horseradish tree » (Foidl et al. 2001). Aux philippines on l'appelle «le meilleur ami des mères» et «Malunggay» (Beth 2005)

## II.1.2.2. - Description botanique des différentes parties de Moringa

La description botanique des différentes parties de Moringa est illustrée par la **figure1**

<p><b>Moringa oleifera (Fig. a)</b>, d'après <b>Roloff et al., (2009)</b>, le Moringa est un petit arbre à croissance rapide, il peut atteindre 10 ou 12 m de hauteur, il a une couronne ouverte et tombante, des branches fragiles et un feuillage plumeux de feuilles tripennées caduques ou persistantes, son écorce épaisse, liégeuse et blanchâtre.</p>	
<p><b>Tronc (Fig. b)</b> - généralement droit, mais parfois très peu développé. En général il atteint 1,5 à 2m de haut avant de se ramifier (<b>Foidl et al., 2001</b>). L'écorce est lisse, à grosse lenticelle, de couleur gris foncé violacé (<b>Besse, 1996</b>). Le bois Moringa est mou, très tendre et souvent attaqué par les termites (<b>Séverin, 2002; Besse, 1996</b>).</p>	
<p><b>Feuilles (Fig. c)</b>, caduques, tripennées de 30 à 70 cm de long. Les folioles sont ovées ou obovées (<b>Besse, 1996</b>). Elles comptent 2 à 6 paires de pinnules comprenant chacune 2 à 5 paires de pinnules secondaires, divisées elles-mêmes en 1 à 2 paires de foliolules plus une foliole terminale plus grande que les autres (<b>Mémento de l'Agronome, 2002</b>).</p>	
<p><b>Fleur (Fig. d)</b>, après 8 à 12 mois, l'arbre commence à fleurir sur une base continue tout au long de l'année (<b>Price,1985;ECHO, 2007</b>). L'inflorescence est en panicule aux fleurs irrégulières. Ces dernières bisexuées de couleur blanche tirant sur le crème,</p>	

<p>délicatement parfumées (Besse, 1996 ; Roloff et al., 2009).</p>	<p><b>Fig. d</b> – Les boutons et fleurs de <i>Moringa</i></p>
<p><b>Fruits (Fig. e)</b>, généralement appelées gousses, les fruits sont en langage botanique des siliques de section triangulaire munies de 3 ouvertures de 20 cm de long et de 2 cm de diamètre (Besse, 1996). Les fruits sont pendants, linéaires, cosses à trois côtés avec neuf crêtes longitudinales, habituellement 20 jusqu'à 50 cm de long, mais parfois jusqu'à 1 m ou plus, et 2,0 à 2,5 cm de large. Les gousses, contenant généralement jusqu'à 26 graines, (Roloff et al., 2009).</p>	 <p><b>Fig. e</b> – La gousse de <i>Moringa</i>.</p>
<p><b>Graines (Fig. f)</b>, chacune est munie latéralement de trois ailes, sont rondes, noires, empilées sur trois rangées centrales. Elles ont un diamètre de 10 à 12 mm (Besse, 1996). Un arbre peut produire 15000 à 25000 graines/an. Une graine pèse en moyenne 0.3g et la coque représente 25% du poids de la graine (Makkal et Becker, 1997)</p>	 <p><b>Fig. f</b> – Les graines de <i>Moringa</i>.</p>
<p><b>Racines (Fig. g)</b>, tubéreuses à odeur piquante caractéristique, dotée de racines latérales plutôt clairsemées (Roloff et al., 2009). Les arbres cultivés à partir de graines développent une profonde racine pivotante robuste avec un système à large diffusion composée d'épaisses racines latérales tubéreuses. La racine pivotante ne se développe pas sur les arbres reproduits à partir de boutures (Parrotta, 2009).</p>	 <p><b>Fig. g</b> – Les racines tubéreuses de <i>Moringa</i>.</p>

**Figure 1-** Description botanique de *Moringa oleifera* Lam (Belkebir, 2018)

### II.1.3. Culture

*Moringa* est un arbre peu exigeant en eau et en matières minérales. Ainsi, son introduction dans un environnement riche en biodiversité est bénéfique à la fois pour l'exploitant et pour l'écosystème environnant (Foidl et al., 2001). *Moringa oleifera* s'adapte à des milieux différents ; il se plaît en milieu aride ou semi-aride mais il peut se trouver aussi dans les zones très arides comme le Sahara. Il peut se planter par semis, en repiquage, en plein champ, ou par boutures (Millogo-Koné et al., 2008). (Le tableau 02) résume les principales exigences écologiques de *Moringa oleifera*.

**Tableau 02:** Principales exigences écologiques de *Moringa oleifera* (Saint Sauveur et Broin, 2010).

Paramètre	Valeur/fourchette
Climat	Tropical ou subtropical
Altitude	0-2000 mètres
Température	25-35°C
Pluviométrie	250 mm-2000 mm. Irrigation nécessaire pour la production de feuilles si pluviométrie < 800 mm
Type de sol	Limoneux, sableux ou sablo-limoneux
pH du sol	Légèrement acide à légèrement alcalin (pH : 5 à 9)

### II.1.4. Usages :

*Moringa oleifera* possède plusieurs utilisations, (le tableau 03) illustre ces dernières selon les compartiments de la plante.

**Tableau 03** : Utilisations de *Moringa oleifera*.

Utilisation	Référence
Consommation humaine : Les feuilles sont consommées cuites, comme des épinards. Les fleurs sont utilisées comme ingrédient d'une salade. Les jeunes gousses vertes en haricots et les racines des jeunes plantes sont séchées et réduites en poudre pour relever l'assaisonnement.	<b>Foidl et al. (2001).</b>
Fourrage pour l'alimentation animale : Elle constitue une bonne source de fourrage pour les bovins.	<b>Ramachandran et al. (1980).</b>
Purification de l'eau : Les graines contiennent un polyélectrolyte qui permet la sédimentation des particules en suspension dans l'eau.	<b>Bhuptawat et al. (2007) ; Beltrán-Heredia et al. (2009) ; Poumays et al. (2012).</b>
Utilisation Industrielle : Les graines contiennent 40% d'huile, celles-ci sont utilisées comme lubrifiant dans la machinerie fine et dans l'industrie des parfums, comme elle a un potentiel pour être utilisé en tant que biocarburant. Fabrication de colorants à partir du bois et de la pâte à papier.	<b>Ramachandran et al. (1980) ; Tsaknis, et al. (1999) ; Rashid et al. (2008) ; Mofijur et al. (2013).</b>

### II.1.5. Qualité nutritionnelle :

L'arbre de *Moringa* a été utilisé pour lutter contre la malnutrition, en particulier chez les nourrissons et les mères allaitantes (**Fuglie, 2001**). Les feuilles séchées de *Moringa* contiennent : Par gramme, 4 fois plus de protéines que la viande de bœuf, 3 fois plus de potassium que la banane, 2 fois plus de protéine que le lait, 4 fois plus de calcium que le lait, 4 fois plus de vitamines A que les carottes, 7 fois plus de vitamines C que les oranges (**Ramachandran 1980 ; Jideani et Diedericks, 2014**). Elles possèdent également les 10 acides aminés essentiels à l'être humain (**Ndonget al., 2007**) et sont reconnues au plan

mondial comme un excellent complément alimentaire (**Anwar et al., 2007**). Les graines de *Moringa* contiennent 40% d'huile et le profil de l'acide gras de l'huile démontre qu'elles contiennent 73% d'acide oléique. L'huile de *Moringa* se rapproche donc d'une huile de qualité supérieure, telle que l'huile d'olive (**Ayerza, 2011 ; Adejumo, 2013**).

Pendant, ces feuilles contiennent des facteurs anti-nutritionnel tels que : les sucres ; raffinose et stachyose qui produisent des flatulences chez les monogastriques (**Foidl et al., 2001**) mais aussi les nitrates, l'oxalate, les saponines et les phytates (**Reddy et al., 1982**).

#### **II.1.6. Propriétés médicinales :**

Toutes les parties (feuilles, fleurs, fruits, écorces et racines) de *Moringa oleifera* ont des vertus médicinales confirmées par des années de recherches et d'expérimentation (**Anwar et al., 2007**). Le régime à base de *Moringa* augmente la réponse immunitaire (**Yang et al., 2006**). La richesse de ces feuilles en flavonoïdes, leur confère une forte activité antimicrobienne (**Millogo-Koné, 2012**) et une activité anti-inflammatoire (**Coppin, 2012**). En effet, les graines contiennent un glucosinolate qui combat l'inflammation (**Ferreira et al., 2008 ; Waterman et al., 2014**).

*M.oleifera* contient des composés antioxydants luttant contre le stress oxydant (**Luqman et al., 2012**) tels que les polyphénols (La quercétine, l'acide gallique, la catéchine...) et des vitamines : A, C et E (**Anwar et al., 2007 ; Ndonget al., 2007 ; Nandave et al., 2009 ; Atawodi, 2011 ; Moyo et al., 2012**).

**Chapitre III :**  
**Métabolites**  
**secondaires et**  
**différents modes**  
**d'extraction**

### III.1 Métabolites secondaires

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

Ces composés sont souvent considérés comme n'étant pas essentiels à la vie de la plante (**Levasseur-Garcia et al., 2013**), mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction; dont ils participent à la protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores, attraction des pollinisateurs (**Guillon, 2010**). Ils sont aussi des molécules très utiles pour l'homme, comme colorants, arômes, antibiotiques, herbicides, drogues... etc. (**Merzougui et Tadj, 2015**). Les métabolites secondaires bioactifs sont répartis en trois grandes familles chez les végétaux (**Krief, 2003**) :

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

#### III.1.1. Composés phénoliques

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

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

##### III.1.1.1 Classification des composés phénoliques

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

➤ Les flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait du terme Latin flavus ; (flavus=jaune) (Malešev et Kuntić, 2007). Près de 4000 flavonoïdes ont été décrits (Medić-Šarić et al., 2004). Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base (Figure 02). Ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes (Erdman et al., 2007).

La structure des flavonoïdes est généralement représentée selon le système C6-C3- C6 (Emerenciano et al., 2007) en formant une structure de type diphényle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Narayana, 2001; Malešev et Kuntić, 2007).

Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havsteen, 2002)

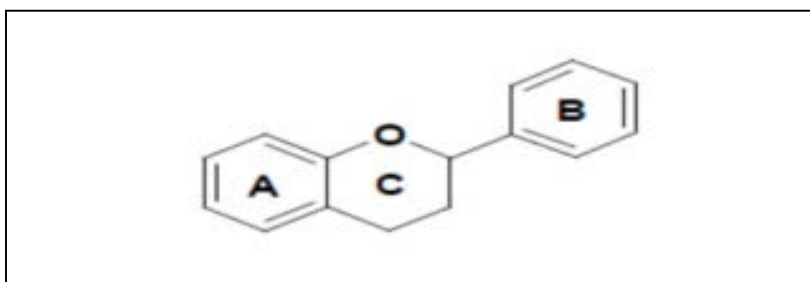


Figure 02 : Structure de base des flavonoïdes (Havsteen, 2002).

Les flavonoïdes sont généralement des antibactériennes (WICHTL et ANTON, 2009). Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire (jus de citron) et de l'industrie pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippent réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (ISERINet al., 2001).

**Tableau 04 :** Distribution alimentaire des principales classes de flavonoïdes  
(ADOUANE,2016)

Flavonoïdes	Aliments	Caractéristiques
Flavonols	Oignon, poireau, brocolis, pomme, chou frisé, olive, tomate	Le groupes le plus abondants des composés phénoliques.
Flavones	Persil, céleri, thym, romarin, peau des fruits	Les flavones se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte leur absorption aux UV, mobilité hromatographique et les réactions de coloration
Flavonones	Graines de soja et produits qui en dérivent. Fruit de genre citrus	Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée
Flavan3-ols	Vin rouge, thé noire, thé vert, cacao, chocolat	Flavan3ols ainsi que flavan3,4diols sont tout les deux impliqués dans la biosynthèse de proanthocyanidines (tanins condensés)pardes condensations enzymatiques et chimiques
Anthocyanidines	Raisins, vin rouge, certaines variétés de céréales, casiss	Représentent le groupe le plus important des substances colorées, ces pigments hydrosolubles contribuent à la coloration des angiospermes.

**III.1.1.2. Propriétés des composés phénoliques**

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

**III.1.1.2.1. Propriétés physico-chimiques**

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

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

**III.1.1.2.2. Propriétés biologiques**

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

**III.1.1.2.2.1. Activité antioxydante**

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

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

La structure des composés phénoliques est l'élément déterminant de leur activité (Balasundram et al., 2006). Pour les flavonoïdes, la relation structure activité antioxydante est généralement plus compliquée que les acides phénoliques à cause de la complexité de la molécule de flavonoïdes (Bors et al., 1997).

**III.1.1.2.2.2. Activité antibactérienne**

Les propriétés antimicrobiennes des plantes médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (**Yano et al., 2006**).

Les constituants des extraits de plantes sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons. Les polyphénols sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis d'une large gamme de microorganismes (**Cowan, 1999 ; Basli et al., 2012**).

Chez les végétaux, une contamination par des microorganismes pathogènes entraîne une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, ce qui correspond à la mise en place de mécanisme de défense de la plante (**Macheix et al., 2006 ; Meziani et al., 2015**).

**III.1.1.2.2.3. Autres propriétés des composés phénoliques**

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

Tableau 05 : Les activités biologiques des composés phénoliques (Bahorun, 1997).

## Polyphénols

Polyphénols	Activités
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydants
Coumarines	Protectrices vasculaires Anti-oedémateuses
Flavonoïdes	Anti tumorales Anti carcinogènes Anti inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Anti oxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaire et veineuse
Pronthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Anti oxydantes Anti tumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiques	Anti-oxydantes

## III.1.2. Les alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du 19<sup>ème</sup> siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases. Ce terme est dérivé de l'arabe « Al Kaly » qui signifie la soude et de grec « Eidos » qui signifie l'aspect (Mangambu *et al.*, 2014).

Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels hétérocycliques avec l'azote comme hétéroatome. Ils dérivent des acides aminés, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (Zenk *et Juenger*, 2007) et sont produits dans les tissus en croissance (Krief, 2003).

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

Ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12000 différentes structures. Les alcaloïdes ont plusieurs applications pharmaceutiques chez

l'Homme : antalgiques (morphine, codeïne), spasmolytiques (tubocurarine et papaverine) et antitussifs (codéine) (Stöckigt et al., 2002).

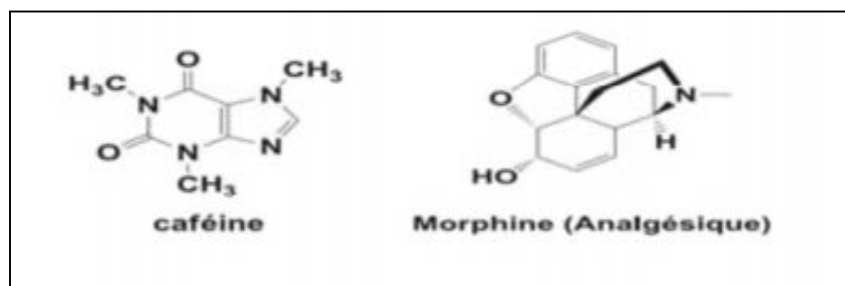


Figure 03: Structures de deux alcaloïdes (Mamadou, 2011)

### III.1.3. Les terpènes

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

## III.2. Présentation des différentes méthodes d'extraction

### III.2.1. Méthodes d'Extraction Traditionnelles

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (Handa, 2008). La tisane, que ce soit infusion, décoction ou macération, est un procédé d'extraction de constituants actifs des plantes médicinales. Le mot tisane vient du grec ptisané qui désignait orge mondé, puis tisane d'orge. L'utilisation de la plante en tisane est retrouvée parmi les méthodes les plus anciennes à côté des fumigations, des inhalations de vapeur, de l'application d'une solution sur le corps. L'eau chaude permet ainsi de récupérer certains constituants actifs hydrosolubles (Goetz, 2004). D'autres techniques traditionnelles étaient aussi utilisées pour la récupération des principes liposolubles et aromatiques comme les huiles infusées (Benzeggouta, 2005). La présence d'un composé ou d'un autre dépend de sa

solubilité dans le solvant utilisé, la température et la durée d'extraction et la fragmentation de la plante (Goetz, 2004).

#### **III.2.1.1. Infusion :**

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes médicinales. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes : feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles ou thermolabiles comme les huiles essentielles (Baba-Aïssa, 2000 ; Kraft et Hobbs, 2004).

#### **III.2.1.2. Décoction :**

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales (Baba-Aïssa, 2000 ; Kraft et Hobbs, 2004).

#### **III.2.1.3. Macération :**

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voir plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Egalement utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude (Kraft et Hobbs, 2004). Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (Baba-Aïssa, 2000).

#### **III.2.1.4. Distillation :**

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles. Développée par Jabir Ibn Hayyan (Geber 721-815) qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisée par Al Kindi (Alchindius 805-873) et Ibn Sina (Avicenne 980-1037) pour la préparation des parfums. Les eaux distillées ou hydrolats, sont obtenues par distillation de la plante (feuilles, tiges...), alors que

les eaux florales sont obtenues de la même manière mais à partir des fleurs (**Shakeel, 1999 ; Goetz et Busser, 2007**).

### **III.2.2. Méthodes d'extraction modernes et nécessité de la «Chimie Verte»**

Les débuts de l'usage des solvants organiques pour l'extraction des plantes médicinales sont mal connus, mais on pense que c'est l'apothicaire français Nicolas Lémery (1645-1715) qui a utilisé l'alcool comme solvant et a également prolongé la durée de l'extraction. Robert Boyle (1627-1691) n'a pas extrait un alcaloïde de l'opium mais il était dans la bonne voie en le traitant par le carbonate de potassium et l'alcool. En 1747 le saccharose a été isolé à partir de plusieurs plantes par l'allemand Andreas Sigismund Marggraf (1709-1780). Alors que le suédois Carl Wilhelm Scheele (1742-1786) avait beaucoup de succès dans le domaine de la phytochimie en isolant les acides citrique, gallique, malique, oxalique, tartrique et prussique (cyanure d'hydrogène) (**Evans, 2002**). Au 19<sup>e</sup> siècle le progrès de la phytochimie était plus rapide, plusieurs principes actifs ont été isolés des plantes médicinales tels que les alcaloïdes du pavot en 1803 (narcotine), l'inuline (polysaccharide) de l'aunée officinale (*Inula helenium*) en 1804 et une variété de d'autres principes actifs. En 1838, l'acide salicylique, un précurseur chimique de l'aspirine, était extrait du saule blanc (*Salix alba*). Il sera synthétisé en laboratoire pour la première fois en 1860. A partir de cette date la médecine prend un nouvel essor loin de la phytothérapie traditionnelle : l'isolement et la synthèse des principes actifs des plantes médicinales (**Chevallier, 2001**). Les méthodes d'extraction conventionnelles des plantes médicinales utilisaient les solvants organiques, soit par macération (extraction discontinue) ou en utilisant certains appareils comme le Soxhlet qui est une extraction continue inventé pour la première fois en 1879 par l'allemand Franz von Soxhlet (1848-1926), mais certains inconvénients se présentent avec cet appareil à cause de la taille limitée de la cartouche qui porte la plante, et la chaleur qui peut dégrader les composés chimiques . Les solvants organiques sont des composés chimiques volatils et relativement inertes chimiquement et dans la plupart des applications ils jouent un rôle transitoire en facilitant le processus d'extraction, pour être ensuite évacués (**Bégin et Gérin, 2002**). Certains solvants organiques ont été remplacés ou suspendus de l'utilisation pour leurs dangers sur les organismes vivants ou sur l'environnement. Pour cela, la réduction des substances toxiques est devenue une nécessité pour la protection de l'homme et son environnement et pour un développement mondial durable (**Gérin, 2002**), utilisant des conditions alternatives comme la suppression des solvants (telle que les micro-ondes), l'utilisation de solvants facilement séparables et sûrs comme les fluides supercritiques, l'utilisation de solvants non volatils comme les liquides ioniques ou,

encore, l'utilisation de solvants n'ayant pas d'impact sur l'environnement comme l'eau (Scherrmann *et al.*, 2008). L'idée de « chimie verte » ou « chimie durable » est alors fondée vers les années 90. Ce concept est introduit en 1998 par les chimistes américains Paul Anastas et John Warner pour être appliquée d'abord à l'industrie chimique, afin de mettre en œuvre des principes pour réduire et éliminer l'usage ou la génération de substances néfastes pour l'environnement, par de nouveaux procédés chimiques et des voies de synthèses propres, c'est-à-dire respectueuses de l'environnement, parmi ses douze principes, le cinquième est celui d'utiliser des solvants plus sûrs (Gérin, 2002).

# **Chapitre IV : Les antibiotiques et l'antibiorésistance**

### IV.1. Les antibiotiques et leur histoire

Pour certains, on ne peut parler d'antibiotique sans évoquer **Sir Alexander FLEMING**, mais pour d'autres on se doit de rappeler l'étymologie du mot, car elle nous vient d'un mycologue nancéen, **Jean-Paul VUILLEMIN**, qui en 1889, introduit le terme "antibiose" (du grec anti : "contre" et bios : "la vie") ; une idée selon laquelle l'interaction biologique entre deux ou plusieurs organismes porte préjudice au moins à l'un d'entre eux (**A. K. Jean-Paul Vuillemin, 2011**).

L'histoire est célèbre : Alexander FLEMING, biologiste écossais brillant mais quelque peu distrait, laisse, faute de place dans le bain antiseptique, une boîte de culture sur sa table de travail durant ses vacances en 1928. A son retour, il découvre que ses cultures de staphylocoques ont été contaminées pendant son absence par le champignon *Penicillium notatum*, qu'étudie son voisin de paillasse. Il constate alors qu'autour des moisissures, la bactérie ne s'est pas développée et fait l'hypothèse que ces dernières sécrètent une substance qui bloque le développement de la bactérie, qu'il nomme pénicilline.

D'authentiques antibiotiques existent depuis des siècles dans la médecine populaire : il y a plus de 2500 ans que les Chinois soignent certaines infections superficielles avec une pâte moisie confectionnée avec de l'extrait de soja, où la moisissure constitue l'agent anti-infectieux (**Encyclopædia universalis, 1968**).

50 ans avant FLEMING, PASTEUR et JOUBERT constataient que l'injection de bactéries du charbon (*Bacillus anthracis*) chez les animaux empêchait le développement de maladies bactériennes.

A la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, Ernest DUCHESNE, médecin français, avait déjà remarqué que certaines moisissures pouvaient stopper la prolifération bactérienne mais cette découverte resta inappliquée jusqu'aux travaux de Fleming.

En 1910, un médecin allemand, Paul EHRLICH, met au point une molécule anti-infectieuse, un dérivé de l'arsenic, utilisé dans le traitement de la syphilis jusqu'à l'arrivée de la pénicilline. En 1930, Gerhard DOMAGK, médecin et chimiste allemand, directeur de recherche dans une industrie pour le textile, rechercha une activité antibactérienne dans les colorants fabriqués et trouva que l'un d'entre eux guérissait des souris infectées par un streptocoque. Il s'agit du sulfamoydichrysoïtine (Rubiazol), première molécule de la famille des sulfamides (**Michel-Briand Y, 2009**).

Durant la même année, le biologiste français, René DUBOS, découvre une molécule produite par les bactéries du sol capable d'inhiber le pneumocoque. Mais l'arrivée massive des

sulfamides à cette même période retarde ses travaux et ce n'est qu'en 1939 qu'il parvient à isoler la gramicidine, premier antibiotique naturel.

Le problème majeur de la pénicilline restait son extraction et sa purification et c'est en 1930 qu'il fut abordé avec Ernst Boris CHAIN et Howard Walter FLOREY. Ils mirent au point une forme stable et utilisable en thérapeutique employée pour la première fois sur l'Homme en 1941. Mais à ce moment-là, la seconde guerre mondiale fait rage, les besoins en pénicilline sont importants pour les soldats et les civils et la forme purifiée manque cruellement. Pour produire les quantités nécessaires, il a été décidé de demander de l'aide aux États-Unis qui ont mis au point des méthodes de culture au rendement plus important. Avec les encouragements de leur gouvernement, les sociétés pharmaceutiques américaines ont vaincu les difficultés de production de pénicilline à l'échelle industrielle (**Andremont A, Tibon-Cornillot M.2007**).

L'équipe constituée de Fleming, Florey et Chain a reçu le prix Nobel de Médecine pour leur découverte en 1945.

## **IV.2. Définitions**

Un antibiotique est défini comme toute substance chimique produite par des microorganismes ayant le pouvoir d'inhiber et même de détruire les bactéries et autres microorganismes. L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre. Plus un antibiotique détruit des types de bactéries différentes, plus son spectre est large Les antibiotiques sont caractérisés par :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité).
- Toxicité sélective (mode d'action).
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique).
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme (**Mehdi , 2008**).

## **IV.3.La classification des antibiotiques :**

La classification est multiple, elle peut se faire selon :

- La nature chimique car il existe souvent une structure de base sur laquelle il y a une hémisynthèse définissant ainsi une famille d'antibiotique (Ex :  $\beta$ -lactamines).
- Le site d'action spécifique à chacun :
  - Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne ( $\beta$ -lactamines, glycopeptides, fosfomycine).
  - Inhibition de la synthèse protéique (aminosides, cyclines, phénicolés, acide fusidique, macrolides, oxazolidinones, mupirocine, synergistines).
  - Action sur la synthèse des acides nucléiques (quinolones, nitroimidazolés, rifamycines, sulfamides triméthoprime).

- Action sur les membranes (polymyxines, daptomycine), **(Bathily.D, 2001-2002)**
- Le spectre antibactérien : il représente l'ensemble des bactéries sur lesquelles l'antibiotique est actif et permet de prévoir son potentiel ainsi que ses limites.
- Les modalités d'action :
  - Un effet bactériostatique provoque une inhibition réversible de la croissance de l'organisme cible.
  - Un effet bactéricide entraîne la mort de celui-ci **(Bathily.D, 2001-2002)**
- Effet inoculum : c'est l'influence de la quantité de bactéries en contact avec l'antibiotique **(Bathily.D, 2001-2002)**.

#### **IV.4.Mode d'action des antibiotiques :**

Les antibiotiques peuvent avoir 2 modes d'action:

Action bactériostatique: Ils empêchent le développement des bactéries ou germes microbiens.

Action bactéricide: Ils détruisent les bactéries ou les germes microbiens en agissant sur la paroi, l'ADN, la membrane cytoplasmique et la synthèse de protéines.

L'antibiotique à action bactéricide, comme par exemple les  $\beta$ -lactamines, peuvent agir de deux manières:

- Ciblée, ce qui signifie qu'il ne détruit qu'un seul type de bactéries
- A large spectre, c'est à dire qu'il détruit plusieurs types de bactéries **(Mehdi. S .,2008)**.

Les antibiotiques agissent, en général, à un niveau précis des structures bactériennes Ils peuvent agir sur 5 parties différentes de la structure de la bactérie **(figure 04)**.

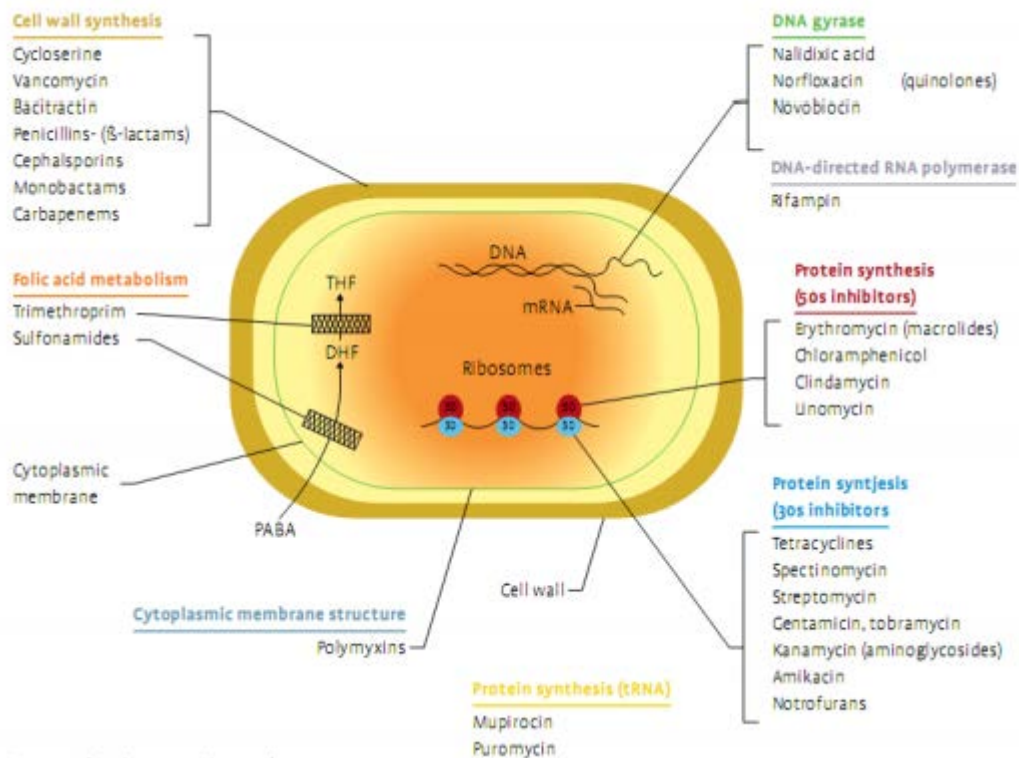


Figure 04: Mode d'action des antibiotiques (Madigan et al., 2000).

## IV.5. Mode de résistance :

### IV.5.1. Définition :

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné, quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce (Leclerc et al., 1995).

### IV.5.2. Résistance aux antibiotiques :

La résistance aux antibiotiques s'est principalement développée durant les 50 dernières années par l'utilisation répandue et fréquente des antibiotiques favorisant une pression de sélection (Matyara et al., 2008).

Plusieurs mécanismes de résistance ont été mis en évidence chez les bacilles Gram négatif qui sont, par ailleurs, responsables de la majorité des infections hospitalières (60 %) et sont de plus en plus multirésistants (Bolla et al., 2011).

### IV.5.3. types de résistance aux antibiotiques :

On distingue deux types de résistance aux antibiotiques, naturelle et acquise. Résistance naturelle :

**IV.5.3.1. La résistance naturelle :**

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les souches de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) (**Lozniewski et al., 2010**).

**IV.5.3.2. Résistance acquise :**

-La résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Elle résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce, et elle a été observée dès le début de l'antibiothérapie (**Lozniewski et al., 2010**).

Plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique. (**Lozniewski et al., 2010**).

# **Partie expérimentale**

## I.Objectif

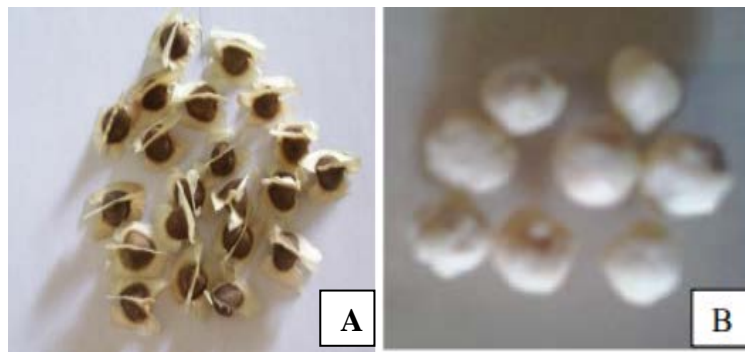
- extraction des composés phénoliques et dosages colorimétriques de ces derniers.
- évaluation de l'activité antibactérienne des extraits ( Méthanoliques Ethanoliques Aqueux ) des graines de *M.oleifera* vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes.

## II.Matériels et Méthodes

### II.1. Matériel végétal

#### II.1.1.Origine des graines

Notre étude a été réalisée sur les graines de *Moringa oleifera* : Les graines de *Moringa oleifera* utilisés ont été récoltées au mois d'Avril 2021 dans la région de Ghardaia (sud d'Algérie).



**Figure 05** : Matériel végétale utilisé : des graines entières sans ailes (A) et des amandes (B)

### II.2. Matériel biologique

Les souches bactériennes de référence utilisées dans cette étude sont des bactéries :

- Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922 / *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 / *Bacillus cereus* ATCC 11778

### II.2.Préparation du matériel végétale

#### II.2.1. Broyage et Tamisage

Les graines sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue est ensuite tamisée à l'aide d'un tamis (taille des particules inférieure à 0,5 mm).



**Figure 06 :** Les graines de *M.oleifera* (A-sous forme de poudre après broyage. B-après le tamisage).

### II.2.2. Conservation et stockage

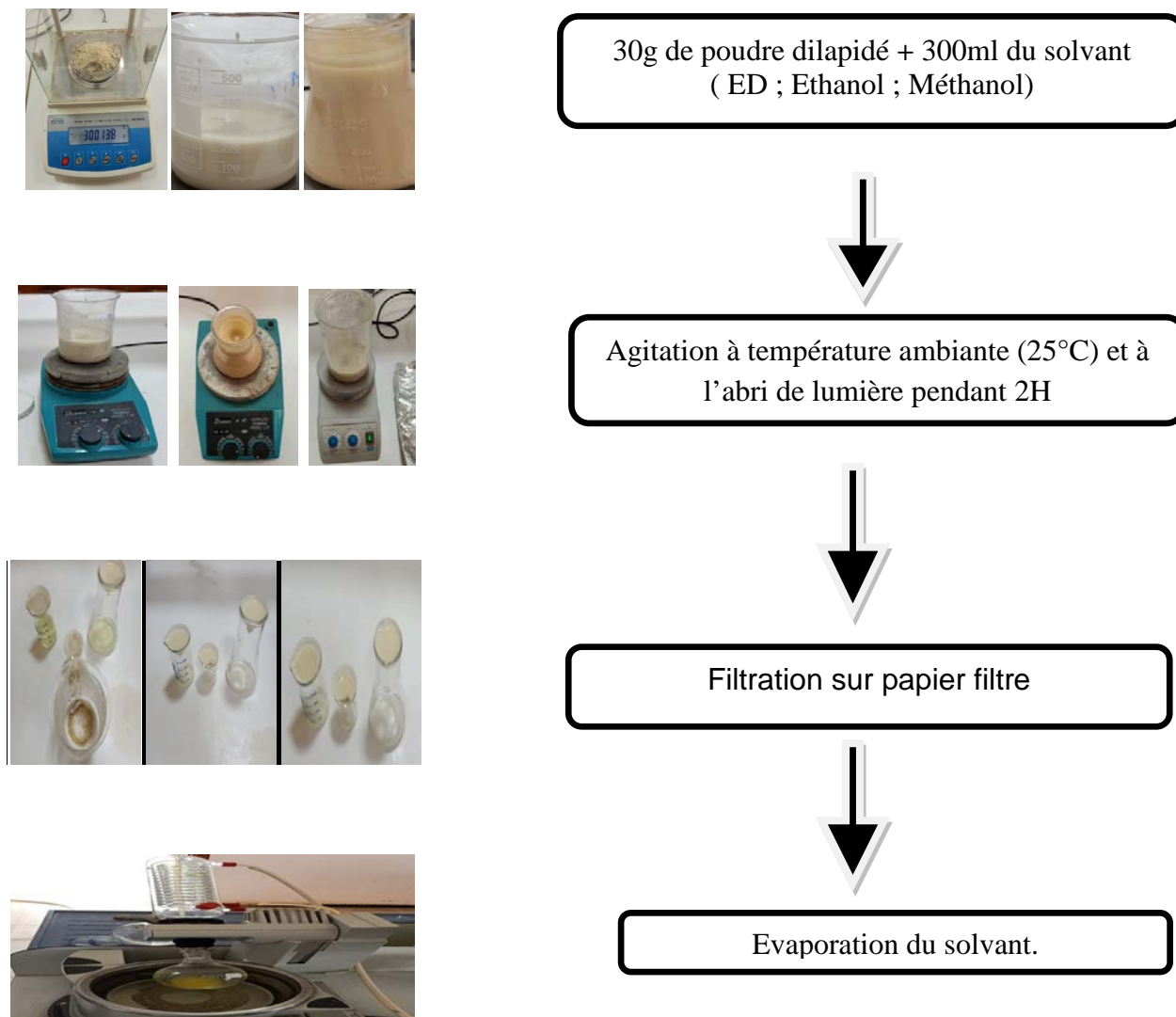
La poudre obtenue est conservée dans des bocaux en verre fermé est stockée à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation.

## II.3. Extraction et dosage des composés phénoliques

### II.3.1. Extraction à partir des graines de *M. oleifera* par macération

Cette méthode consiste de la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation. Cette procédure, malgré les temps longs d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvants, est relativement peu coûteuse. En plus, elle se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules poly phénoliques (Spigno et De faveri, 2007; Budic-letoc *et al.*, 2005).

Les extractions sont effectuées par macération selon la méthode décrite par (Oomah *et al.*, 2010), en y apportant quelques modifications. trois solvants d'extraction sont utilisés : (ED, éthanol , méthanol ).



**Figure 07** : Protocole d'extraction des composés phénoliques (Oomah *et al.*, 2010) .

## II.4. Détermination du rendement d'extraction

Le taux d'extraction des extraits de graines est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = [(P1-P0)] / E \times 100$$

P0 : Poids du bécher vide.

P1 : Poids du bécher et l'extrait après évaporation du solvant.

E : Poids de la poudre.

## II.5. Dosages colorimétriques

### II.5.1. Dosage des phénols totaux solubles

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique

(H3PW12O40) et d'acide phosphomolybdique (H3PMo12O40) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W8O23) et molybdène (MO8O23). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Le dosage des poly phénols totaux a été réalisé avec le réactif colorimétrique Folin- Ciocalteu selon la méthode cité par (**Benabdllah ,2016**) le protocole appliqué comporte les étapes suivant:

- Préparation des solutions mères : on prend 0.2g d'extraits des graines dissous dans 1ml de chaque solvant correspondant.
- Un volume de 0.5ml de chaque extrait des graines de *Moringa* (N Aqueux; N Ethanole ; N Methanole) et commercialisée (C Aqueux ; C Ethanole; C Methanole) est introduit dans des tubes à essais, après on ajoute 2ml de folin-ciocalteu 10 fois dilué dans l'eau distillée.
- Les tubes sont agités à l'aide d'un vortex et incubés pendant 3 minutes, ensuite 2.5ml de solution de Carbonate de sodium Na2CO3 (7 ,5%) sont additionnés au mélange.
- Le mélange final a été bien mélangé, puis incubé pendant 1h 30 minutes dans l'obscurité à température ambiant.
- L'absorbance est ensuite lue à 760 nm par un spectrophotomètre.
- Le témoin est préparé de la même façon en lever l'extrait.

### II.5.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH), libre en position cinq, susceptible de donner en présence du chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre, par chélation de l'ion aluminium (Al<sup>3+</sup>), dont sa concentration est proportionnelle à la quantité de composés présents dans les extraits (**Djeridane et al., 2006**).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de (**Benabdllah ,2016**).

- Le dosage est réalisé par l'addition de 0.5 ml d'une solution de chlorure d'aluminium (AlCl3) 2% à 0.5 ml de chaque extraits des graines de *Moringa* (N Aqueux; N Methanole ; N Ethanole ) et commercialisée (C Aqueux ; C Methanole ; C Ethanole).
- Le mélange est laissé pendant 40 minutes à l'obscurité et à température ambiante après avoir été vigoureusement agité. L'absorbance est mesurée à 430 nm contre un blanc.
- Le témoin a été préparé en remplaçant l'extrait par 0.5 de solvant d'extraction (Aqueux,Ethanole,Methanole).

### II.5.3. Dosage des tanins

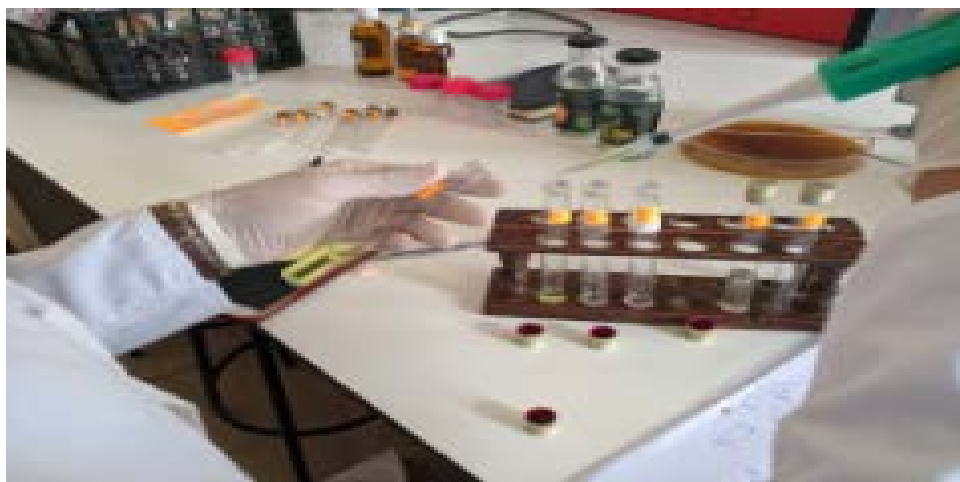
Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide.

Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe la lumière à 500 nm (Mahmoudi et al., 2013).

Le dosage des tanins condensés dans les extraits de *Moringa* est effectué selon la méthode de (Benabdllah ,2016).

-A 50  $\mu$ L de l'échantillon, on ajoute 1500  $\mu$ L d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol), et 750  $\mu$ L de HCl concentré.

-Le mélange est incubé durant 15 à 20 minutes et l'absorbance est lue à 500 nm.



**Figures 08 :** Dosages colorimétriques

### II.6. Repiquage des souches bactériennes

Les souches bactériennes à tester ont été repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive, puis incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir des colonies isolées.



**Figures 09:** Ecoulement des boîtes.

## II.7. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Nous avons mis à profit la méthode de diffusion en milieu gélosé préconisée par **Vandepitte et al., (1994)**.

### 1. Préparation de l'inoculum

Des colonies bien séparées des souches bactériennes étudiées ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et homogénéisées dans une quantité d'eau physiologique pour avoir une suspension bactérienne ajustée 0.5 à l'échelle Mac Ferland.

### 1. Ensemencement

les boîtes Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton ont été ensemencées par écouvillonnage avec les différentes suspensions bactériennes préparées.



**Figure 10:** Ensemencement des boîtes.

### 3. Dépôts de disque

Les disques d'antibiotiques 4 antibiotiques (**Tableau 06**) ont été déposés stérilement sur la surface de la gélose des boîtes inoculées les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C.

Après 24 h d'incubation, l'on procède à la lecture des résultats ; celle-ci consiste à mesurer le diamètre de chaque zone d'inhibition. Les mesures des diamètres des zones d'inhibition sont effectuées à l'aide d'une règle millimétrée sur la surface inférieure de la boîte, sans ouvrir le couvercle.

**Tableau 06** : Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.

Antibiotique	Abréviation	Charge de disque
Chloramphénicol	C	30ug
Clindamycine	CMN	2ug
Pénicilline	PEN	10µg
Sulfaméthoxazole + Triméthoprim	SXT	23,75 µg + 1.25µg

## II.8.Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de *M. oleifera*

### II.8.1.Préparation des extraits

- préparation des solutions mères : 0.2 g d'extrait avec 1 ml de DMSO ; puis des dilutions binaires allant de 200 mg /ml à 6,25 mg/ml ont été préparées à partir de chaque extrait (extraits de graines).

### II.8.2.Détermination de l'effet antibactérien des graines de *M.Oleifira*

L'activité antibactérienne des différents extraits des graines de *Moringa Oleifera* (Ethanolique,Methanolique,Aqueux) préparés a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose (gélose MH) (**Chan et al ., 2007**).

-A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur gélose nutritif (GN), une suspension bactérienne a été préparée et ajustée 0.5 à l'échelle Mac Ferland avec de l'eau physiologique.

- Cette suspension a étéensemencée sur chaque boîte de Pétri contenant de gélose MH.

-Les puits ont été réalisés a l'aide d'une emporte pièce. Ces derniers ont été remplis avec 50µl d'extrait et les différentes concentrations préparées des graines de *Moringa Oleifera*

- Les puits témoins négatif sont remplis avec 50 µl du diméthylsulfoxyde (DMSO).

-Les boites sont incubées pendant 24 h à 37°C.

- Lecture et interprétation des résultats : L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance bactérienne autour des puits contenant la substance inhibitrice testée (**Boumaza, 2011**).le diamètre des zones est mesuré au moyen d'une règle graduée (**Karabay Yavasoglu et al., 2007**).

### III. Résultats

#### III.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques

Le rendement de l'extraction qui est le rapport entre le poids d'extrait après évaporation et le poids de plante est donné dans le (Tableau 07).

**Tableau 07:** Rendements des extraits méthanoliques et aqueux et ethanologique obtenus à partir des graines de *Moringa Oleifera*.

Les graines de <i>M. Oleifera</i>	Rendement d'extraction (%)		
	Ethanoliques	Méthanoliques	Aqueux
Extraits des graines.	28.09(%)	16.95(%)	47.25(%)

Selon les résultats obtenus, nous remarquons que le rendement le plus élevé est noté avec les extraits aqueux par rapport à l'extraits ethanologique et méthanolique.

#### III.2. Dosages colorimétriques des composés phénoliques

##### III.2.1. Teneur en polyphénols solubles totaux

Le dosage des phénols totaux solubles (PTS) a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus des différents extraits des graines *M. Oleifera* sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mgEAG/gMS) (figure11).

$$\text{CPT} = \frac{\frac{\text{A}-\text{b}}{\text{a}}}{\text{C}}$$

**CPT** : Contenu des polyphénols totaux (mg EAG/g)  
**A** : Absorbance  
**a** : facteur de l'équation d'étalonnage  
**b** : constante de l'équation d'étalonnage  
**C** : concentration de l'extrait (mg/ml)

$$\text{CPT} = \frac{\text{A}-0.1405}{0.0127}$$

Pour (  $y = a.x + b = 0.0127.x + 0.1405$  )

### III.2.2. Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et l'étalon été la quercétine .

Les résultats obtenus des extraits des graines sont exprimée en mg équivalent quercétine par mg EQ/g Ech.

$$\text{CFT} = \frac{\frac{\mathbf{A}-\mathbf{b}}{\mathbf{a}}}{\mathbf{C}}$$

**CFT** : Contenu flavonoïdes (mg EC/g)  
**A** : Absorbance  
**a** : facteur de l'équation d'étalonnage  
**b** : constante de l'équation d'étalonnage  
**C** : concentration de l'extrait (mg/ml)

$$\text{CFT} = \frac{\frac{\mathbf{A}-0.0729}{0.0075}}{10} \quad \text{Pour ( } \mathbf{y} = \mathbf{a}.\mathbf{x} + \mathbf{b} = 0.0075.\mathbf{x} + 0.0729 \text{ )}$$

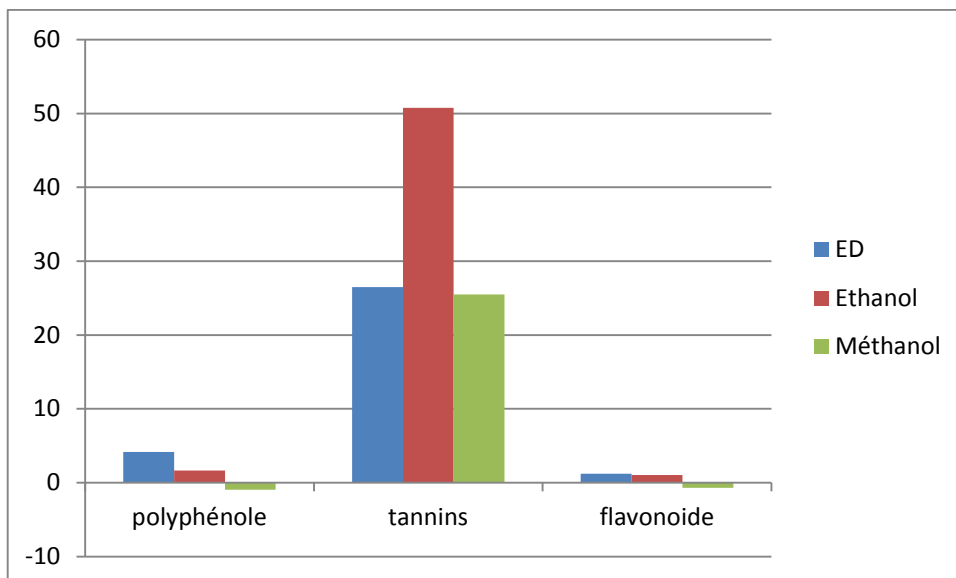
### III.2.3. Teneur en tanins condensés

Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode de la vanilline en milieu acide. La teneur en tanins est exprimée en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de matière végétale sèche (mgEAG/gMS).

$$\text{CTC} = \frac{\frac{\mathbf{A}-\mathbf{b}}{\mathbf{a}}}{\mathbf{C}}$$

**CTC** : Contenu des tannins condensés (mg EAG/g)  
**A** : Absorbance  
**a** : facteur de l'équation d'étalonnage  
**b** : constante de l'équation d'étalonnage  
**C** : concentration de l'extrait (mg/ml)

$$\text{CTC} = \frac{\frac{\mathbf{A}-0.0080}{0.0004}}{10} \quad \text{Pour ( } \mathbf{y} = \mathbf{a}.\mathbf{x} + \mathbf{b} = 0.0004.\mathbf{x} + 0.0080 \text{ )}$$



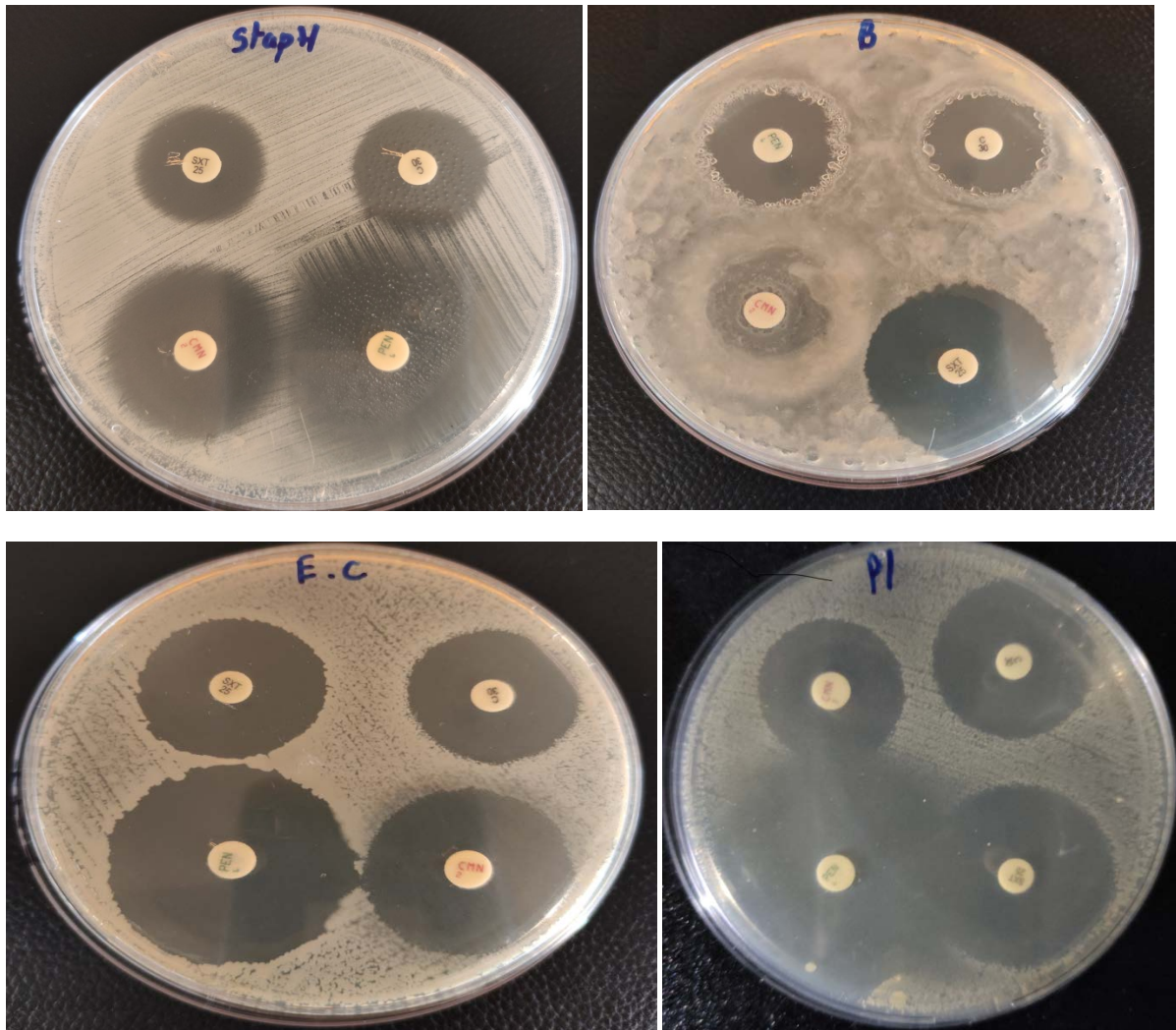
**Figure 11:** Dosage des composé phénolique des extraits (ED ;E ;M) des graines de M.oleifera

### III.3. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Le test d’antibiogramme réalisé sur les quatre souches bactériennes, avec 04 antibiotiques a donné les résultats montrés dans le **Tableau 08** et la **Figure 12**.

**Tableau 08:** Résultats de l’antibiogramme

	CMN	SXT 25	C 30	PEN
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>29mm</b>	<b>21mm</b>	<b>22mm</b>	<b>43mm</b>
<i>Escherichia coli</i>	<b>30mm</b>	<b>27mm</b>	<b>25mm</b>	<b>35mm</b>
<i>Bacillus cereus</i>	<b>19mm</b>	<b>30mm</b>	<b>20mm</b>	<b>23mm</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<b>25mm</b>	<b>33mm</b>	<b>28mm</b>	<b>44mm</b>



**Figure 12 :** L'antibiogramme des souches pathogènes : *Escherichia coli* (*E.c*). *Staphylococcus aureus* (*Staph*). *Pseudomonas aeruginosa* (*PI*). *Bacillus cereus* (*B*).

#### III.4. Pouvoir antibactérien des extraits de *M. oleifera*

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et aqueux et éthanolique des graines de *Moringa Oleifera*. a été déterminée en terme de diamètre de zone d'inhibition (**Tableau 09 ; 10.11**) produite autour des puits contenant l'extraits après 24h d'incubation a température optimale pour le développement des bactéries. Les résultats sont présentés dans les figures (**13.14.15.16.17.18**).

**Tableau 09** : L'Activité antibactérienne de l'extraits ethanologique des graines de

<b>E</b> <b>Souche</b>	<b>100%</b>	<b>50%</b>	<b>25%</b>	<b>12.5%</b>	<b>6.25%</b>	<b>3.125%</b>
Staphylococcus aureus	<b>18</b>	<b>14</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	<b>08</b>	<b>07</b>
Escherichia coli	<b>16</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>08</b>	–	–
Pseudomonas aeruginosa	<b>18</b>	<b>16</b>	<b>14</b>	<b>08</b>	–	–
Bacillus	–	–	–	–	–	–

(-) : absence de zone d'inhibition.

**Tableau 10**:L'Activité antibactérienne de l'extraits aqueux des graines de *M. oleifera*

<b>Aq</b> <b>Souche</b>	<b>100%</b>	<b>50%</b>	<b>25%</b>	<b>12.5%</b>	<b>6.25%</b>	<b>3.125%</b>
Staphylococcus aureus	<b>40</b>	–	<b>20</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	–
Escherichia coli	<b>19</b>	<b>16</b>	<b>09</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	–
Pseudomonas aeruginosa	<b>10</b>	<b>07</b>	–	–	–	–
Bacillus	–	–	–	–	–	–

(-) : absence de zone d'inhibition.

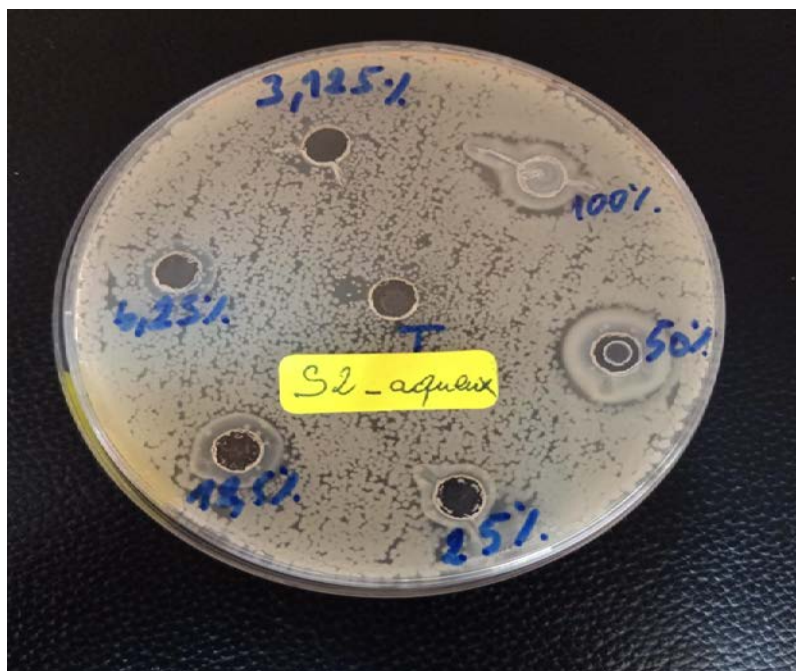
**Tableau 11** :L'Activité antibactérienne de l'extraits méthanolique des graines de *M. oleifera*

<b>M</b> <b>Souche</b>	<b>100%</b>	<b>50%</b>	<b>25%</b>	<b>12.5%</b>	<b>6.25%</b>	<b>3.125%</b>
Staphylococcus aureus	–	–	–	–	–	–
Escherichia coli	–	–	–	–	–	–
Pseudomonas aeruginosa	–	–	–	–	–	–
Bacillus	–	–	–	–	–	–

(-) : absence de zone d'inhibition



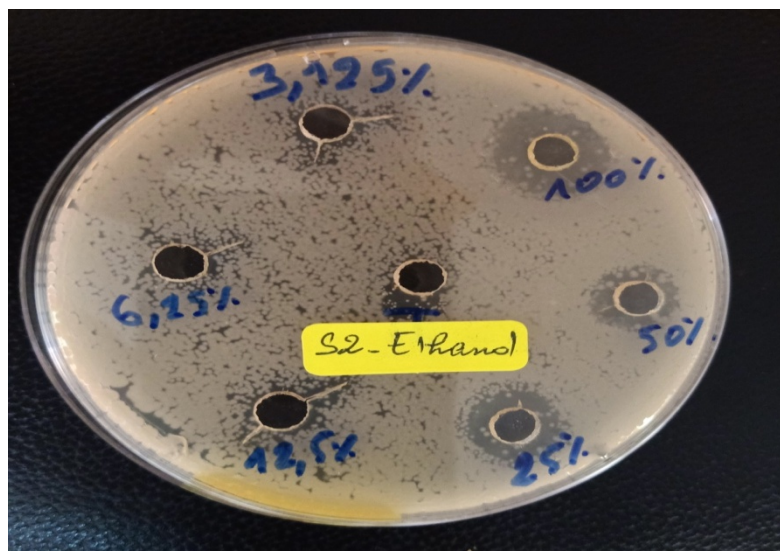
**Figure 13 :** Effet antibactérien des extraits aqueux des graines de *Moringa oleifera* sur *P. Staphylococcus aureus*.



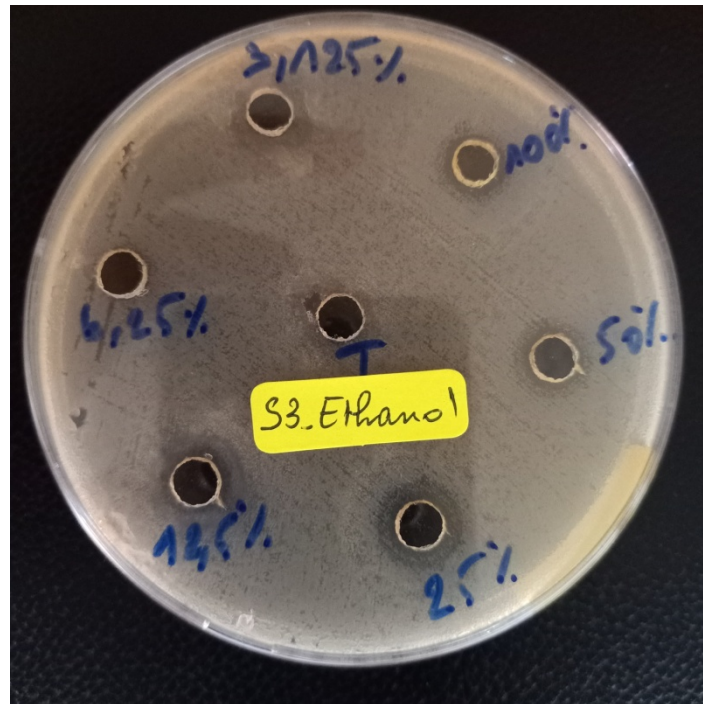
**Figure 14 :** Effet antibactérien des extraits aqueux des graines de *Moringa oleifera* sur *Escherichia coli*.



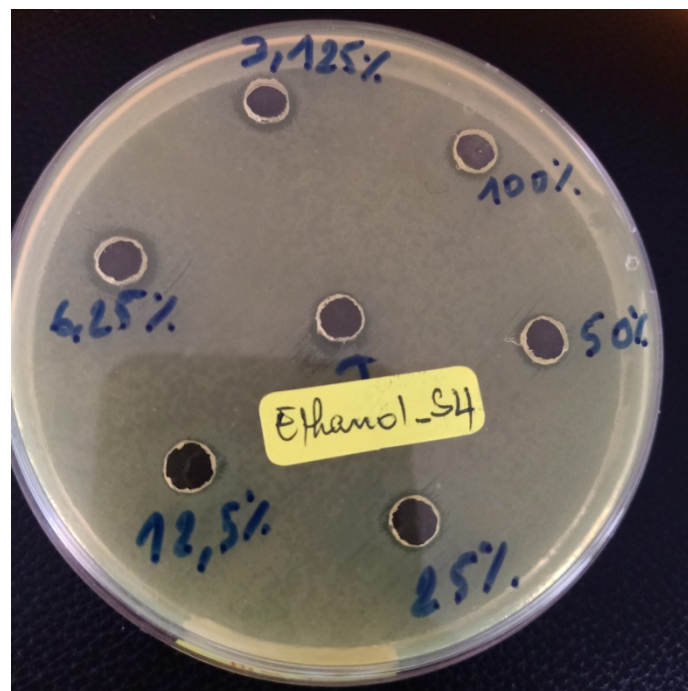
**Figure15 :** Effet antibactérien des extraits éthanoliques des graines de *Moringa oleifera* sur *Staphylococcus aureus*.



**Figure 16 :** Effet antibactérien des extraits éthanoliques des graines de *Moringa oleifera* sur *Escherichia coli*



**Figure 17 :** Effet antibactérien des extraits ethanoliqes des graines de *Moringa oleifera* sur *Pseudomonas aeruginosa*.



**Figure 18 :** Effet antibactérien des extraits ethanoliqes des graines de *Moringa oleifera* sur *Bacillus*.

## IV. Discussion

L'objectif principal de la présente étude consiste à extraire les composés phénoliques des graines de *Moringa oleifera*, et d'évaluer l'activité antimicrobienne de ces extraits vis-à-vis quatre souches bactériennes : *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*

. Selon les résultats obtenus on a remarqué que le rendement d'extraction varie suivant le solvant utilisé (**bedhouche et al.,2018**). Les résultats montrent que l'extrait Aqueux à un rendement d'extraction de 47.25% , plus important que ce obtenu par l'éthanol et le méthanol avec un pourcentage de 28.09% et 16.95% respectivement . Cette remarque a été enregistrée aussi par (**Anis et al., 2011**)

Les résultats de cette étude montrent que les différents extraits de graines de *M. oleifera* renferment des teneurs importantes de tanins 50.75 mg EAG/g MS pour l'extrait éthanolique, 26.5 mg EAG/g MS pour l'extrait aqueux et 25.5 mg EAG/g MS pour l'extrait méthanolique comparativement aux polyphénols 1.657 mg EAG/g MS , 4.16 mg EAG/g MS et -0.964 mg EAG/g MS , et aux flavonoides 1.041 mg EQ/g Ech , 1.214 mg EQ/g Ech et -0.67 mg EQ/g Ech dans l'ordre. Cette variation est en relation avec le solvant d'extractions. Nos résultats s'accordent avec ceux de **Kumbhare et al. (2012)**.

Dans notre étude , l'antibiogramme a révélé que nos souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* présentent une forte sensibilité pour les quatre antibiotiques utilisés (Chloramphénicol ,Clindamycine ,Pénicilline ,Sulfaméthoxazole + Triméthoprime) . Nous avons considéré que le diamètre de 15 mm est limite entre résistance et sensibilité : tout celles qui possèdent un diamètre inférieure à 15 mm sont des souches résistantes et celles qui ont le diamètre supérieur à 15 mm sont des souches sensibles. cette sensibilité a été démontrée dans plusieurs études (**belletti et al., 2009 ; Danielsen and wind 2003,coppola et al.,2005 ;katla et al., 2001**).

Le test antibactérien réalisé avec les extraits montre que la susceptibilité des souches microbiennes varie d'une souche à une autre en fonction du type. De même, les résultats diffèrent selon les concentrations en extraits utilisé ;

-L'extrait éthanolique a un effet inhibiteur contre la souche *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de l'ordre de 18 mm avec la concentration de 200mg/ml. L'apparition d'un halo de 16 mm et de 18 mm de diamètre a été enregistré contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* respectivement a une concentration de 200mg/ml.

- L'extrait aqueux a un effet inhibiteur important contre la souche *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de l'ordre de 40 mm avec la concentration de 200mg/ml. L'apparition d'un halo de 19 mm et de 10 mm de diamètre a été enregistré contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* respectivement a une concentration de 200mg/ml.

- l'extrait Methanolique n'a exercé aucun effet antibactérien contre les quatre souches bactériennes

-*Bacillus cereus* apparait resistente contre les differents extraits

ces résultats s'accordent avec ceux de (Bedhouche et al., 2018).

L'activité antibactérienne des composés phénoliques est bien connue. Celle-ci, rapportée par plusieurs auteurs (Cowan 1999 ; Okuda et al., 2005 ; Taguri et al., 2006).

Certains auteurs ont noté que l'activité antibactérienne des composés phénoliques est Probablement due à leur habilité à se combiner aux protéines solubles extracellulaires et ainsi aux parois cellulaires bactériennes (Tsuchiya et al., 1996).L'absence d'inhibition est probablement due aux faibles teneurs en flavonoïdes et en tanins et flavonoïde de nos extraits.

-Les Gram positif : *Staphylococcus aureus* , *Bacillus cereus* sont les plus sensibles que les Gram négatif : *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* avec des zones d'inhibition déferents de diamètre.

En effet, Santhoshet al., (2015) indiquent que le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre selon le degré de diffusion de l'agent antibactérien et du taux de croissance des microorganismes

Selon (Hindi et Chabuck 2013 ; Satdaret al., 2017), la différence de sensibilité entre les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif est due à la différence de structure de la paroi bactérienne de ces deux groupes bactériens ; les bactéries Gram (+) sont généralement plus sensible aux extraits que les bactéries Gram (-).

Ceci pourrait être expliqué par la différence importante de la couche externe des Gram (+) qui influence sur la perméabilité de la paroi bactérienne .Cette derrière chez Gram (-) est généralement moins efficace que celle chez les Gram (+) ; ceci est due probablement à la présence d'un taux élevé de phospholipides dans la paroi des Gram (-) et de molécules polysaccharidiques dans membrane externe ; imperméable aux molécules antibiotiques et composés lipophiles (dont les polyphénols font partie) et un espace périplasmique riche en enzymes qu'on ne retrouve pas chez les Gram (+) selon (Djennaneet al., 2012 ; Konate et al., 2012 ; Ignat et al., 2013 ).

D'après **Konate *et al.*, (2012)**, l'activité antibactérienne des polyphénols (flavonoïdes) est due à leurs habilité à se complexer avec les protéines solubles extracellulaires et avec la paroi bactérienne.

# Conclusion

### Conclusion et perspectives :

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs.

L'objectif de ce travail consiste à la valorisation et la détermination de l'activité antimicrobienne des extraits actifs des graines de *M.oleifera* vis-à-vis de quatre bactéries pathogènes : *Escherichia coli* ATCC 25922 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 11778 .

Les résultats des dosages calorimétriques des extrait (Ethanolique , Methanolique , aqueux) indiquent que les graines *Moringa Oleifera* sont riches en tannins. La teneur en polyphénols est faibles et celle en flavonoïdes est très faible.

L'étude biologique montre que le pouvoir antibactérien diffère d'un extrait à l'autre. L'évaluation de l'activité antibactérienne révèle que les quatre souches bactériennes *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sont plus sensible a l'ensemble des extraits des graines de *M.oleifera* . par contre *Bacillus cereus* ATCC 11778 est plus résistantes a l'ensemble de ces extraits , en revanche, aucun effet antibactérien n'a été exercé par l'extrait methanolique contre toutes les souches testées.

Il serait souhaitable d'approfondir ce travail par:

- ✓ une quantification et identification des composés de nos substrats expérimentaux.
- ✓ Faire un screening phytochimique complet afin de révéler la présence ou l'absence D'autre métabolites secondaires (saponosides, cires...etc.).
- ✓ Elargir le spectre d'étude en étudiant des plantes d'autres régions à des fins comparatives.
- ✓ Elargir l'étude de l'activité antimicrobienne sur d'autres souches bactériennes} pathogènes et d'autres microorganismes notamment les champignons et les parasites.

# **Références bibliographiques**

**-A-**

- A K. Jean-Paul Vuillemin**, inventeur nancéien de l'antibiotique. L'Est Républicain. 2011 Jun 16;
- Andre, A et Moigeon, J., 2000.** Intoxication par les plantes, pharmaciens à Goux – les – Usiers (358p).
- Andremont A, Tibon-Cornillot M.** Le triomphe des bactéries : la fin des antibiotiques. Paris: Milo; 2007. 255 p. (L'inconnu).
- Anis BH, Mohamed T, Gérald C, Yves B, Samir J. 2011.** Antioxydant constituents from Lawsonia inermis leaves: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity. Food Chemistry, 125(1), 193–200.

**-B-**

- Baba-Aïssa F. (2000)**, Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie.
- Bahorum T. (1997).** Substances Naturelles actives : La flore Mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food Agric. Res.* 83-94.
- Balasundram N., Sundram K. and Samman S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99(1): 191-203.
- Basli A., Chibane M., Madani K. and Oukil N. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytother.* 10 (1) : 2-9.
- Bathily.D (2001-2002)** Sensibilité aux antibiotiques des bactéries Gram négatif isolées des infections urinaires.
- Bégin D., Gérin M. (2002)** Les Grandes Familles de Solvants Organiques, Utilisation et Aspects Physico-Chimiques. In: Gérin M. (Ed) Solvants industriels: Santé, Sécurité, Substitution. Masson, Paris. p13-38.
- Belletti, N., Gatti, M., Bottari, B., Neviani, E., Tabanelli, G. and Gardini, F., (2009).** Antibiotic resistance of lactobacilli isolated from two Italian hard cheeses. *Journal of Food protection.* 72,2162-2169.
- (Belkebir ,2018)** Évaluation de l'effet insecticide, sur les pucerons, de l'extrait aqueux de feuille et fleur de *Moringa oleifera* Lam. mémoire de master, univ tlemcen (p20) .

**Benayad, N., 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines moyen efficace de lutte contre les ravageurs des alimentaire stockées. Mém master II :Univ. Rabat . Maroc (113p).

**Benghanou, M.,2012.** La phytothérapie entre la confiance et mefiance : Memoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA Alger (56p).

**Benkrief R. (1990).** Inventaire ethnobotanique des plantes médicinales de l'Est algérien: étude chimique de " Hammada articulata"(Moquin) Iljin ssp. scoparia Pomel. Etude chimique de 3 plantes néo-calédonniennes à monoterpénoïdes. *Thèse doc. Pharmacognosie. Univ. Paris Descartes, Paris 5.* France.

**Besse F., 1996** - L'Arbre du mois – Moringa oleifera Lam.; Le flamboyant – Bulletin de liaison des membres du réseau Arbres tropicaux No 40 ; 5p

**Beth D., 2005** - Moringa Water Treatment. An ECHO Technical Note. Internet: [www.echotech.org/mambo/images/DocMan/MorWaterTreat.pdf](http://www.echotech.org/mambo/images/DocMan/MorWaterTreat.pdf) (consulté le 4 Mars 2018).

**Bitam, R.,2012.** Inventaire des ressources médicinales et aromatiques dans la région de DjermaBatna par la méthode systématique. Mém master Ilen biologie : université El hadj lakhdar . Batna. Algérie (50p)

**Bors W., Michel C. and Stettmaier K. (1997).** Antioxidant effects of flavonoids. *Biofactors.* 6(4): 399-402.

**Bouhadjera K.,(2005).** contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes Oudneya africana r.br. et Aristida pungens l. thèse Diplome de Doctorat d'état université abou bekr belkaid Algérie 149p.

**Boumaza D., 2011** - Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : Inula viscosa, Rosmarinus officinalis de la région d'Oran. Mémoire de magister, Université. Mohamed Boudiaf, Oran. 39 p.

**Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales, Tec & Doc Lavoisier 1269 pages.

**Budic-Letoc, I., Lovric, T., Pezo, I. & Klujuzuric, J.G. (2005).** Study of dynamics of polyphenol extraction during traditional and advanced maceration processes of the babic grape variety. *Food Technology and Biotechnology,* 43(1), 47- 53.

**Chan, Y.Y., Ong, Y.M., and Chua, K.L. (2007).** Synergistic interaction between phenothiazines and antimicrobial agents against *Burkholderia pseudomallei*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, 623–630.

**Chevallier A. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse. Pp: 61, 293

**Coppola, R.,succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Salzano, G., Sorrentino, E., (2005).**

Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese, *Lait*,85, 193-204

**Cowan M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12 (4) 564-582.

**-D-**

**Danlensen, M., Wind, A., (2003)** susceptibility of *Lactobacillus* ssp. to antimicrobial agents. *Int. J. Food Microbiol.* 82, 1-11.

**DELPHA Isis. (2011).** *Moringa* (*Moringa oleifera* lam.) (Current uses and pharmacological interest). Université Paul Sabatier (Toulouse). Faculté des sciences pharmaceutiques. 232 p.

**Dewick, P. M. (2011).** *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, Wiley 550 pages.

**-E-**

**Encyclopædia universalis.** Paris: Encyclopædia universalis France; 1968. 20 p.

**Endrias, A., 2006 .**bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l’*Hibiscus sabdarifja* L. et à l’*artemisiaannua*. Mém doc. L’institut national polytechnique de Toulouse. France (171p).

**Erdman J.W., Balentine D., Arab L., Beecher G., Dwyer J.T., Folts J., Harnhy J.,**

**Hollman P., Keen C.L., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson**

**G. et Burrow J. (2007).** Flavonoïds and Heart Health: proceeding of the ILSI North America Flavonoïds Work shop, May 31 June 1, 2005, Washington DC1-4. *Am. Soc. Nutr.* 718-737

**Evans W.C. (2002)** *Trease and Evans Pharmacognosy.* Saunders, Edinburgh, UK. p137, 138.

**-F-**

**Ferreira P., et al. (2014).** Menthapiperita essential oil induces apoptosis in yeast associated with both cytosolic and mitochondrial ROS-mediated damage. *FEMS Yeast Res*,1006-1014.

**Foidl, N., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2001).**The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. *The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa*, 45-76.

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

**Frantisek, S., 1992.** Plantes medicinales : Ed Grund Paris (5p)

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

### **-G-**

**Gérin M. (2002).** Solvants et Prévention : Nouvelles Perspectives. In: Gérin M. (Ed) *Solvants industriels: Santé, Sécurité, Substitution*. Masson, Paris. p1-12.

**Goetz P. (2004).** Plaidoyer pour la tisane médicinale, *Phytothérapie*, 1, 8-15.♣

**Goetz P., Busser C. (2007).** *La Phytocosmétologie Thérapeutique*. Springer-Verlag♣ France, Paris. p53-54.

**Grisvard et Jeu-Blain., 1973.** *Plantes vénéneuses* : Edition La maison rustique (139p).

**Guillon, Y. (2010).** Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula*: aspects évolutifs et physiologiques, Université Jean Monnet-Saint-Etienne.

### **-H-**

**Handa S.S. (2008).** An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. International Centre For Science and High Technology, Trieste, Italy. p 21-54.

**Hartmann, T. (2007).** "From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism." *Phytochemistry* 68(22): 2831-2846.

### **-I-**

**ichel-Briand Y, Chabert Y.** Une histoire de la résistance aux antibiotiques à propos de six bactéries. Paris: L'Harmattan; 2009. 27-31 p.

**-J-**

**Jideani VA. et Diedericks C. (2014).** Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties of *Vigna subterranea* and *Moringa oleifera*. -Antidiabetic Agents and Human Health. 978-953.

**-K-**

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

**Karabay-Yavasoglu N.U., Sukatar A., Ozdemir G. and Horzum Z. (2007).** Antimicrobial Activity of volatile components and various extracts of the red alga *Janiarubens*. *Phytother. Res.* 21, 153-156.

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

**Kraft K., Hobbs C. (2004).** Pocket Guide to Herbal Medicine. Thieme, Stuttgart, New York. p16.

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

**Kathryn W., Tosney Ph.D., Pearson, D. (2012).** *Moringa oleifera*. The Gifford Arboretum Newsletter. 128-133.

**Katla, A.K., Kruse, H., Johson, G., Herikstad, H., (2001).** Antimicrobial susceptibility of starter culture bacteria used in Norwegian dairy products. *Int. J.Food Microbiol.* 67, 147-152

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

**-L-**

**Levasseur-Garcia C., Kleiber D., Surel O., (2013).** Utilisation de la spectroscopie infrarouge comme élément d'aide à la décision pour la gestion du risque fongique et mycotoxique. *Cah. Agric.* 22 : 216-27.

**-M-**

**Macheix J.J, Fleuriet A. and Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique.

*Presses polytechniques et universitaires Romandes.* CH-1015 Lausanne. 192p.

**Makkar H.P.S. et BECKER K., 1997** - Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 128, 311-322, disponible sur <http://www.moringanews.org>. Consulté le 12/10/2013.

**Makkar, H. et Becker, K. (1997).** Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. *J Agric. Food Chem.*, 3152–3157.

**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). Mémoire de fin de cycle Institut du Développement Rural Université Polytechnique de Bobo –Dioulasso .

**Mangambu M., Mushagalusa K., and Kadima N. (2014).** Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, RD Congo). *J. Appl. Bios.* 75(1), 6211-6220.

**Mates, J. (2000).** Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicol.* 153(1), 83-104.

**Mebarki, N., 2010.** Extraction de l'huile essentielle thymus fontanesii et application à la formation d'une forme médicale antimicrobienne. Mém mag : Université Mentouri de Constantine. Algérie (119p).

**Mehdi. S. (2008).** La fréquence des bactéries multi résistantes à l'hôpital Hassan ii de] Settat .THESE.[en ligne] .Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED VFACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p.

**Merzougui I. and Tadj H. (2015).** Etude de l'effet antibactérien et antioxydant d'*Ammoides verticillata* de la région de Tlemcen. *Mém. Ingén. Agro. univ. Abou-Bakr Belkaïd – Tlemcen.* 82p.

**Meziani S., Oomah B.D., Zaidi F., Simon-Levert A., Bertrand C., Zaidi-Yahiaoui R. (2015).** Antibacterial activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extracts against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium atrosepticum*. *Microb. Pathog.* 78. 95-102.

**Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou

capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques, Université Louis pasteur (Strasbourg).

**Millogo K., Guissou IP., Nacoulma O., Traore AS. (2008).** Comparative Study of leaf and stem bark extracts of *Parkia Biglobosa* against enterobacteria. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* : 238–243.

**Mofijur M., Masjuki H., Kalam M.A., Atabani A.E. Shahabuddin M., Palash S.M. et Hazrat M.A (2013).** Effect of biodiesel from various feedstocks on combustion characteristics, engine durability and materials compatibility: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 441–455.

Monnier C. Les plantes médicinales - vertus et traditions, Ed. Privat, 2002.

**Montoro P., Braca A., Pizza C. and De Tommasi N. (2005).** Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chem.* 92(2) : 349-355.

**Morton JF. (1991).**The horseradish tree, *Moringa pterygos perma* (Moringaceae) boon to arid lands? *Economic Botany* 45(3) 318-333.

**Muniz M.N. (2006).** Synthèse d’alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)- camptothécine. *Thèse Doc. Chem. Univ. Joseph Fourier. Grenoble 1. France.* 186p.

**-N-**

**Nacz M. and Shahidi F. (1989).** The effect of methanol–ammonia– water treatment on the content of phenolic acids of canola. *Food Chem.* 31: 159-164.

Naghibi, N; Niaz, A et Syed Wadood, A., 2005. Antispasmodic activity of *teucriumstocksianumboiss*. Department of pharmacy: university of Malakand, Pakistan (174p).

**Ndong M., Wade S., Dossou N., Guiro AT., Gning RD. (2007).** Valeur nutritionnelle du *moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. *African journal of food, agriculture, nutrition and development.* VOL. 7, NUM. 3.

**-O-**

**Okuda, T. (2005).** Systematics and health effects of chemically distinct tannins in

medicinal plants. *Phytochem.* 66(17) : 2012-2031.

**Oomah B.D., Caspar F., Malcolmson L.J. and Bellido A.S. (2010).** Phenolics and antioxidant activity of lentil and pea hulls. *Food Res. Int.* 44: 436-441.

**-P-**

**Parrotta, JA. (1993).** Moringa oleifera Lam. Reseda, horseradish tree. Moringaceae. Horseradish tree family. USDA Forest Service, International Institute of tropical Forestry. (SO-ITF-SM; 61).

**Parrotta J. A. P. Dr, 2009** - Moringa oleifera LAM., 1785; Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie; Roloff A., Weisgerber H., Lang U., Stimm B.; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim; 8p

**Peltj, M., 1980.** Les drogues, leur histoire et leurs effets : Édition Doin, Paris (221p).

**Price, D. M. (1985)** - The Moringa Tree. THE MORINGA TREE By Dr. Martin L. Price Published 1985; Revised 2000, 2002, 2007 by ECHO Staff.

**-R-**

**Rajangam J., Azahakia M. R. S., Thangaraj T., Vijayakumar A., Muthukrishnan N. (2001).** Production et utilisation du Moringa en Inde: la situation actuelle, 9p. Disponible sur <http://www.moringanews.org>. Consulté le 23/04/2015

**Ramachandran C, Peter KV, Gopalakrishnan PK. (1980).** Drumstick (Moringa oleifera): a multipurpose Indian vegetable. *Economic Botany.* 34(3) 276-283

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

**Ravindra C., Joshi B. ; Vasantharaj D., Rashmi K. 2016** - A review of the insect and mite pests of Moringa oleifera Lam. *Agriculture for Development*, 29 (2016)

**Rodrigues, E., 2007.** Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil (Caboclo-river dweller, Indian and Quilombola). *Journal of ethnopharmacology* (111, 295-302).

**Roloff A., Weisgerber H., Lang U., Stimm B., 2009** - Moringa oleifera Lam., 1785 : Enzyklopädie der Holzgewächse – 40. Erg.Lfg. 6/05 . WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim ISBN: 978-3-527-32141-4

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

**-S-**

**Salle, J.,1991.** Le totum en phytothérapie : Ed Frison roche (239p)

**Sarni-Manchado,P et Veronique, P.,2006.** Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires : édition TEC et DOC, Paris (France)( 398p).

**Scherrmann M.-C., Malacria M., Goddard J.-P., Ollivier C. (2008)** Chimie dans l'Eau (K1210). Editions Techniques de l'Ingénieur, Paris, France.

**Séverin F., 2002** - Plant ak pye Bwa tè d'Ayiti; Éditions Quitel de Desk Top Advisory; 143p

**Spigno, G. & De Faveri, D.M. (2007).** Antioxidants from grape stalks and marc: influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *Journal of Food Engineering*, 78, 793-801.

**Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. and Stöckigt D. (2002).** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *J. Chromatogr A*. 967: 85-113.

**Schauenberg, P et Paris, F., 1997.** Guide des plantes médicinales : Ed. Delachaux et Niestlé, Paris (396 P)

**Shakeel A.J. (1999)** L'Industrie du Parfum dans la Civilisation Islamique, Afaq Magazine, 25/26, 153-167. (Article en Arabe).

**-T-**

**Tabuti J.R.S ; Lye K.A et Dhillion S.S., 2003.** Traditional herbal drugs of bulamogi, Uganda: plants use and administration, *J ethnopharmacol*: (19-44p).

**Taguri T., Tanaka T. and Kouno I. (2006).** Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biol. Pharmacol Bull.* 29 Suppl. 11: 2226-2235.

**Thurzova, L., 1978.** Les plantes \_\_ santé qui poussent autour de nous. Ed : Elsevier Séquoia Bruxelles (4,268p).

**Tsaknis J., Lalas S., Gergis V., DourtoglouV., et Spilitois V. (1999).** Characterization of *Moringa oleifera* variety Mbololo seed oil of Kenya. *J. Agric. Food Chem.* 4495-4499.

**-V-**

**Vandepitte J., Engbaek K., Piot P.** Bactériologie clinique : techniques de base pour le laboratoire. Genève : Organisation Mondiale de la Santé, 1994 :117.

**Verykokidou-Vitsaropoulou E. and Vajias C. (1986).** "Methylated flavones from *Teucrium polium*. *Planta Med.* 52 (05) : 401-402.

Volak , J et Stodola , J .,1983. *Plantes médicinales* : Ed Artia Praque (2,312p).

**-W-**

**Waterman C., Cheng DM, Rojas-Silva P. (2014).** Stable, water extractable isothiocyanates from *Moringa oleifera* leaves attenuate inflammation in vitro. *Phytochemistry* : 1000.1016.

**Wichtl M., Anton R.** *Plantes thérapeutiques* – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC, 2003.

**-X-**

**Xiuzhen H., Shen T. and Hongxiang L. (2007).** Dietary polyphénols and their biological significance. *Inter. J. Mol. Sci.* 8: 950-988.

**-Y-**

**Yano, Y., Satomi M. And Oikawa H. (2006).** Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *Inter. J Food Microbiol.* 111: 6-11.

**-Z-**

**Zenk M.H. and Juenger M. (2007).** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compound. *Phytochem. Rev.* 68 : 2757-2772.