

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Sciences alimentaires
Option: Industrie laitière



Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Potentiel prébiotique de *Moringa oleifera*

Présenté par :

AISSOU Khaoukha&BOUDJELAL Zina

Soutenu le : **22 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M^{me}:OUKILN.

M^r:ZAIDI F.

M^r: BOUKHALFA F.

M^{elle}:OUAHRANI S.

MCA

Professeur

MCA

Doctorante

Présidente

Encadreur

Examineur

Invité

Année universitaire : 2016 / 2017



Remerciements

*Tout d'abord, nous tenons à remercier le «**BON DIEU**» le tout puissant de nous avoir accordé patience, courage et volonté afin de réaliser mener à terme ce modeste travail.*

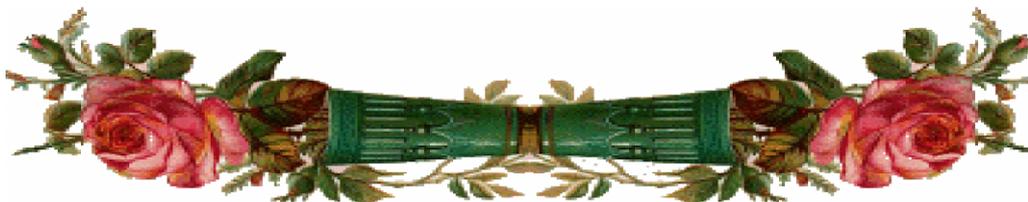
Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer notre profonde

*Gratitude à Monsieur **Zaidi** notre promoteur pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses remarques, ses conseils et ses Orientations.*

Les membres de jury d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail.

*Tout le personnel du laboratoire alimentation et nutrition pour leur aides, leurs conseils et leur gentillesse surtout **M^{elle} Ouahrani Sara et Benhamouche Tassadit et Oudach Messaed** qui nous ont vraiment aidé durant la période du stage et nous ont entouré de leurs générosité et sa sympathie.*

Toute personne qui a contribué à la réalisation de ce modeste, vraiment un grand merci pour eux.





Dédicace

Au nom d'ALLAH le tout miséricordieux, le très miséricordieux "Gloire à toi nous n'avons de savoir que ce que tu nous as appris, certes c'est toi l'omniscient, le sage " saint Coran. Sourate 2 - Verset 32.

Je dédie ce modeste travail :

Aux deux êtres qui me sont les plus chers au monde mon père et ma mère à qui je dois le mérite d'être arrivée là, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude et mon affection.

A mes très chers frères :

Toufik, Kamal, Mounir, Fateh

A mes très chères sœurs :

Hamama, Lamia, Sabah et son époux Saïd, Djahida et son époux Djamel et Ghania et son époux Yazid

A mes nièces :

Warda, Hanane et Kahina, wassim, youcef, yasmine et feriel, Hossam

A tous mes amies : Chafia, warda, katia, hafsa et dihoche, sousou, Lamine, Nassim, Sako, Thaldja

A mon binôme, ma copine et à tout sa famille.

A tous les étudiants des trois promotions IL et CG et BTA(2017).

KHAOUKHA



Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

✎ C'est grâce à Dieu le tout puissant qui ma guidé et aidé durant tout mon cursus universitaire.

A mes très chers parents à qui je dois tous les bonheurs du monde, pour leurs sacrifices et leur amour, patience mais surtout pour leur soutien e encouragement, notamment tout au long de mon étude.

Que DIEU leur procure bonheur, santé et longue vie.

A mon frère Halim et son épouse Khadija

A ma sœur Ratiba et son époux Djamel

A ma sœur Nawel et son époux Yazid

A ma sœur Nadjoua et son époux abdel

A mes frères Sofiane et sa fiancé nessma, Amer et sa fiancé habiba et Azouz .

A mes nièces : Moncef, Malek, Inssaf, Housseem, Haitham, Ibtihal, Djehan, Sara, Radouane.

✎ A toute la famille "Boudjelal" sans exception ✎

A tous mes amis (es), et à tous ceux qui me sont chers.

A ma camarade et toute sa famille



Liste des Abréviations

Abs : Absorbance

AGCC : Acide gras à chaîne courte

BHT : butylhydroxytoluène

DPPH : 1,1 diphényl-2-picryl hydrazyle

Eq .AG : Equivalent acide gallique.

Eq. AT : Equivalent acide tannique.

Eq Q : Equivalent quercétine.

Eq CAT : Equivalent à la catéchine

FOA : Food and agriculture organization of the united nation

FOS : Fructo-oligosaccharides

GI-OS : Gluco-oligosaccharides

GOS : Galacto-oligosaccharides

ED : Eau distillée.

Mn : Minute

MS : Matière sèche.

MRS : Man Rogoza Sharpe

N : Normalité.

OMS: Organisation mondiale de la santé

PTS : Phénols totaux solubles.

pH : Potentiel d'hydrogène

TC : Tanins condensés.

TEA: tétraéthylamonium.

TH: Tanins hydrolysables.

S : Synérèse

UFC : Unité formant colonie

YT : Yaourt témoin

YM : Yaourt mucilage

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Numéro du tableau	Titre du tableau	Numéro de page
I	Conditions environnementales de <i>Moringa oleifera</i> .	6
II	Composition moyenne des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> .	7
III	Espèces connues de probiotiques.	11
IV	Principaux critères de sélection des probiotiques.	11
V	Principaux prébiotiques commercialisés.	15
VI	Exemples d'études sur l'efficacité des symbiotiques	16
VII	Mise en évidence des saponines, alcaloïdes, Terpénoïdes et tanins catéchique	29

Liste des tableaux insérés dans les annexes

Numéro du tableau	Titre du tableau
VIII	valeurs nutritionnelles des différentes parties de <i>Moringa oleifera</i> .
IX	Comparaison de quelques teneurs en nutriments entre les feuilles de <i>Moringa oleifera</i> et des aliments de référence. Données pour 100 grammes de matière brute.
X	Préparation des solutions

Liste des figures

Numéro de la figure	Titre de la figure	Numéro de la page
1	Distribution de <i>Moringa oleifera</i> dans le monde.	3
2	Différentes parties de la reproduction végétative et de <i>M. oleifera</i> arbre (i) l'arbre de plein champ (ii) ensemble de feuillage, (iii) Fleurs et (iv) fruits.	5
3	Les graines de <i>moringa oleifera</i> .	5
4	Plusieurs produits chimiques alimentaires et des composés trouvés dans le <i>Moringa oleifera</i> .	6
5	Principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques.	12
6	Structure chimique de GOS.	14
7	Structure de FOS.	15
8	Feuilles séchées de <i>Moringa oleifera</i> .	17
9	Protocole d'extraction des Mucilages bruts.	17
10	Protocole de dosage des phénols totaux solubles.	18
11	Réaction du Chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes.	19
12	Protocole de dosage des flavonoïdes.	19
13	Protocole de dosage des tanins hydrolysables.	20
14	Réaction de la vanilline avec la catéchine.	20
15	Protocole de dosage des tanins condensés.	21
16	Forme réduite du radical DPPH.	21
17	Activité antioxydante de chélation du fer ferreux.	22
18	Mode opératoire de mesure de l'acidité titrable.	25
19	Protocole de dosage des composés phénoliques du yaourt.	27
20	Composition chimique globale de <i>Moringa oleifera</i> .	28
21	Teneur en composés phénoliques du mucilage brut.	28
22	Activité anti-radicalaire du DPPH de mucilage brut.	29
23	Pouvoir chélateur du mucilage brut de la poudre de feuilles de <i>Moringa oleifera</i> .	30
24	Evolution de pH des yaourts.	30

25	Evolution de l'acidité.	31
26	Evolution de la synérèse.	32
27	Evolution des colonies.	32
28	densité et teneur en sucre et protéine du yaourt.	33
29	Teneur en phénols totaux solubles.	34
30	Activité antiradicalaire du DPPH des yaourts.	35
31	Chélation du fer ferreux des yaourts.	35

Liste des figures insérées dans les annexes

Numéro de la figure	Titre de la figure
32	Courbe d'étalonnage de dosages des phénols totaux solubles.
33	Courbe d'étalonnage de dosage des flavonoïdes.
34	Courbe d'étalonnage des tannins hydrolysable.
35	Courbe d'étalonnage de dosage des tanins condensé.

Sommaire

Liste des Abréviations	
Liste des Figure	
Liste des Tableaux	
Introduction.....	1

Partie théorique

Chapitre I : Généralités sur *Moringa oleifera*

I. Généralités sur <i>Moringa oleifera</i>	3
I.1. Historique et distribution du <i>Moringa oleifera</i>	3
I.2. Dénomination et taxonomie.....	4
I.3. Aspect botanique.....	4
I.4. Ecologie.....	6
I.5. Valeurs nutritives et usages de feuille du <i>Moringa Oleifera</i>	6
I.6. Composition chimique des feuilles	7
I.7. Domaine d'utilisation des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	8
I.7.1. Utilisation alimentaire.....	8
I.7.2. Utilisation médicinale.....	8
I.7.3. Vertus thérapeutiques	8
I.7.4. Autres utilisation.....	9
I.8. Composés phénoliques et activités antioxydantes des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	9
I.8.1. Composés phénoliques.....	9
I.8.2. Propriété antioxydante des composés phénoliques.....	9

Chapitre II : Prébiotiques et probiotiques

II.1 Les Probiotiques.....	10
II.1.1. Définition.....	10
II.1.2. Critères de sélection.....	10
II.1.3. Application des probiotiques.....	12
II.1.4. Effets santé associés aux probiotiques	12
II.2. Les Prébiotiques.....	13

II.2.1. Définition.....	13
II.2.2. Types de prébiotiques.....	13
II.2.3. Effet bénéfique des prébiotiques.....	15
II.3. Symbiotiques.....	16
II.4. Mucilage	16

Partie pratique

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I. Matériel et Méthodes.....	17
I.1. Matériel végétal.....	17
I.1.1. Origine et provenance des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	17
I.1.2. Préparation des échantillons.....	17
I.2. Extractions des mucilages.....	17
I.3. Dosages des composés phénoliques des mucilages bruts.....	18
I.3.1. Dosages des polyphénols totaux solubles.....	18
I.3.2. Dosage des flavonoïdes par la méthode au trichlorure d'aluminium.....	18
I.3.3. Dosage des tanins hydrolysables.....	19
I.3.4. Dosage des tanins condensés.....	20
I.4. Activités antioxydantes.....	21
I.4.1. Activité antiradicalaire du mucilage brut.....	21
I.4.2. Chélation du fer ferreux.....	22
I.5. Mise en évidence de la présence de métabolites secondaires des mucilages.....	23
I.5.1. Saponines.....	23
I.5.2. Alcaloïdes.....	23
I.5.3. Terpénoïdes.....	23
I.5.4. Tanins.....	23
I.6. Composition chimique globale.....	23
I.7. Activités prébiotiques.....	24
I.7.1. Préparation du yaourt.....	24
I.7.2. Mesure du pH	24
I.7.3. Mesure de la synérèse	25
I.7.4. Mesure de l'acidité titrable.....	25
I.7.5. Détermination de l'acidité.....	26

I.7.6.L'indice réfractométrique.....	26
I.7.7.Evolution de la flore probiotique.....	26
I.7.8.Extraction des composés phénoliques du yaourt	27
I.7.9. Analyse statistiques des résultats.....	27

Chapitre II : Résultats et Discussion

II. Résultats et Discussion	28
II.1.Composition chimique	28
II.2. Teneur en composés phénoliques du mucilage brut.....	28
II.3.Mise en évidence de la présence de métabolites secondaires des mucilages.....	29
II.4. Activités antioxydantes de mucilage brut	29
II.4.1. Activité antiradicalaire du DPPH.....	29
II.4.2. Chélation du fer ferreux.....	30
II.5. Effet prébiotique du mucilage de la poudre de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	30
II.5.1 Evolution du pH.....	30
II.5.2 Evolution de l'acidité	31
II.5.3.Evolution de la synérèse.....	32
II.5.4.Evolution de la flore probiotique.....	32
II.5.5.Densité et teneur en sucre et protéine du yaourt.....	33
II.6.Teneur en composés phénolique de yaourt.....	34
II.7.Activités antioxydantes de yaourt.....	35
II.7.1.Activité antiradicalaire du DPPH de yaourt.....	35
II.7.2.Chélation du fer ferreux de yaourt.....	35
II.8. Discussion générale.....	36
Conclusion et perspectives.....	38

Références Bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

L'utilisation des plantes en phytothérapie, a été connue depuis l'antiquité. Ibn khaldoun (1958), dans son introduction dit que « l'Homme est le fils de son environnement », par conséquent l'Homme serait influencé par les composantes de son environnement, cette influence s'appuie sur ses comportements, ses traditions, sa culture ainsi que les ressources végétales **Iserin et al.,(2001)**.

Dans les dernières décennies il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde (**Muthu al.,2006**)

Moringa oleifera (Moringaceae) aussi appelé « l'arbre de la vie » est largement utilisé dans la médecine traditionnelle. C'est un arbuste, originaire du sud d'Asie, Afrique, Pacifique et des îles de caraïbes (**Alhakmani et al., 2013**). Plusieurs études réalisées dans différents pays ont prouvé les différentes vertus de cette plante, tant nutritionnelles que thérapeutiques grâce à la richesse de ses différents organes et en particulier les feuilles en éléments nutritionnels (**Fahey ,2005**).

Si l'incorporation de poudre de *Moringa oleifera* dans l'alimentation humaine et non humaine s'est avérée bénéfique, des facteurs ont également été cités dans les feuilles : tannins, composés phénoliques, composés phytiques. Toutefois, l'effet des saponines reste à élucider puisqu'à plus faible proportion l'effet contraire a été observé **Francis et al.,(2001)**. En revanche, aucun glucoside cyanogénique n'a été détecté dans les feuilles (**Makkar et Becker ,1997**). Les vertus thérapeutiques, la forte valeur nutritionnelle et la facilité avec laquelle le *Moringa oleifera* peut être produit sont autant de facteurs qui en font un atout potentiel pour la lutte contre la malnutrition au Burkina Faso. En effet, les feuilles de *M oleifera* contiennent une forte concentration de vitamines, de protéines, de certains minéraux et possèdent les 10 acides aminés et les acides gras essentiels (**Broin, 2005**). Selon **Saint Sauveur et Broin (2010)**.

De nombreux travaux ont montré l'influence bénéfique de certaines souches de bactéries lactiques sur la flore intestinale entraînant ainsi une amélioration de la santé de l'hôte. En réalité, il faut distinguer les effets attribuables à l'introduction dans le tube digestif de micro-organismes vivants, propriétés probiotiques de l'utilisation orale de substrats non vivants, propriétés prébiotiques (**Dupont 2002**). Depuis une dizaine d'années, un intérêt considérable s'est développé autour de l'utilisation de cultures lactiques (*Lactobacillus*) ou probiotiques (*Bifidobacterium*).. Dans la majorité des cas, les produits laitiers tels que les laits

Introduction

fermentés, fromages, laits en poudre et crèmes glacées ont été choisis comme véhicules privilégiés des cultures probiotiques (**Doleyres et al., 2002**).

Notre étude qui a pour thème : potentiel prébiotique de *Moringa Oleifera*, La présente étude a pour objectif global de déterminer la possibilité d'utilisation des mucilages bruts de poudre de *Moringa Oleifera* comme source de prébiotique.

Le présent mémoire s'articule autour de trois chapitres :

- Le premier chapitre correspond à une synthèse bibliographique qui traitera des généralités sur *M. oleifera*.
- Le deuxième chapitre abordera et soulignera des données générales sur les prébiotiques et les probiotiques.
- Le troisième chapitre parlera sur l'étude expérimentale menée sur deux aspects :
 - Extraction et dosages des composés phénoliques des feuilles de *Moringa Oleifera* et activité antioxydante des extraits obtenus au moyen de deux tests :
 - ✚ Activité antiradicalaire.
 - ✚ Chélation du fer ferreux
 - Evaluation du potentiel prébiotique des mucilages et activité antioxydante du yaourt au cours du stockage à froid avec un suivi durant 28 jours, de plusieurs paramètres : PH, synérèse, acidité, densité, dénombrement des colonies

Chapitre I : Généralités sur *Moringa oleifera*

I.1. Historique et distribution du *Moringa oleifera*

Moringa oleifera Lam. est une espèce originaire des régions d'Agra et d'Oudh, au Nord-est de l'Inde, au sud de la chaîne de montagne de l'Himalaya (Figure 01), elle est cultivée aujourd'hui dans toutes les régions tropicales et sub-tropicales du monde (Rajangam et al., 2002). Son introduction en Afrique de l'Est a eu lieu au début du 20^e siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes durant cette période (Foidl et al., 2001). Il est devenu l'un des plus utiles : nutrition humaine, la médecine traditionnelle, à des fins nutraceutiques, les utilisations industrielles et pour la purification de l'eau (Fahey, 2005).

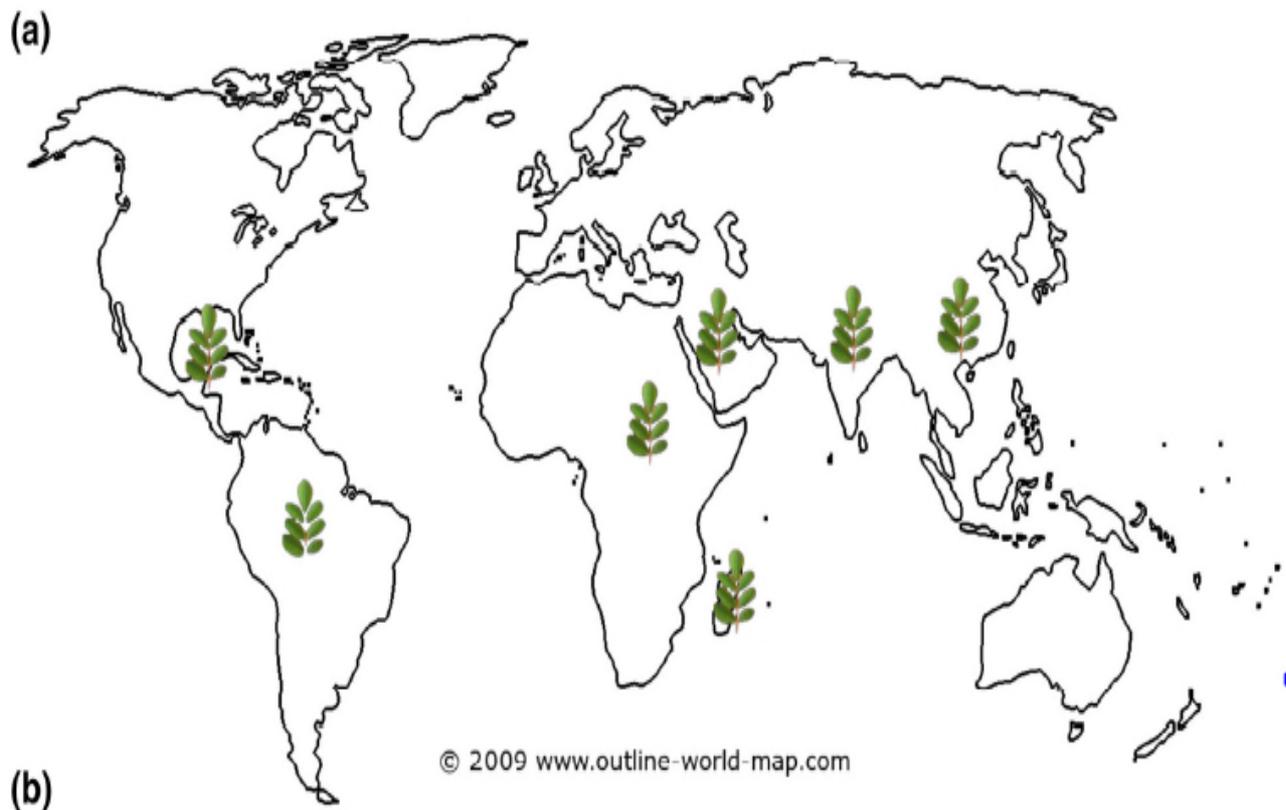


Figure 01 : Distribution de *Moringa oleifera* dans le monde (Saini et al., 2016)

I.2. Dénomination et taxonomie

Classification systématique de *Moringaoleifera* (Laleye et al., 2015)

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Sous classe	<i>Dillenidae</i>
Ordre	Capparidales
Famille	<i>Moringaceae</i>
Genre	<i>Moringa</i>
Espèce	<i>Moringaoleiferalamarck</i>

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: *Moringaoleifera*, *M stenopetala*, *M. conxanensis*, *M Drouhardii*, *M Longituba* et *M Peregrina*. « *Moringa* » vient de *muringaen* malayalam une langue indienne. La plupart des langues utilisent un dérivé phonétique de ce mot pour désigner la plante *Moringaoleifera* arbre connu sous diverses appellations. En Afrique francophone, le nom le plus général est nébéday, nom vraisemblablement dérivé de l'anglais "Never die" (immortel), en référence à sa capacité de résistance à la sécheresse, à son aptitude à se propager rapidement à partir de semis ou de boutures et à se régénérer même après des coupes très sévères (Fuglie, 2001).

I.3. Aspect botanique

Selon Rajangam et al. (2002) *Moringaoleifera* est une plante qui a l'aspect d'un arbuste dont la hauteur peut atteindre 4 à 5 m (Figure 02 i). Le diamètre du tronc varie entre 20 et 40 cm (Foidl et al., 2001). Le tronc est généralement droit, mais il est parfois très peu développé. En général, il se ramifie lorsque la hauteur atteint 1,5 à 2m. Les branches poussent de manière désorganisée et la canopée est en forme de parasol. Les feuilles sont alternes, tripennées à la base et bipennées au sommet (Annexe I). Elles mesurent 20 à 70 cm de long avec un long

pétiole et 8 à 10 paires de pennes composées chacune de deux paires de folioles opposées, plus une terminale; les folioles sont ovales et longues de 1 à 2 cm (Morton, 1991).

Les fleurs de 2,5 cm de large se développent en panicules axillaires et tombantes de 10 à 25 cm. Elles sont odorantes, de couleur blanche ou crèmeuse, avec des points jaunes à la base (Figure 02 iii).

Les fruits sont en forme de gousses à trois valves allongées, déhiscents et mesurant 20 à 60 cm de long (Figure 02 iv). Les gousses sont situées au sommet des branches et renferment chacune environ 12 à 35 graines (Foidl et al., 2001).

Les graines sont arrondies, ailées, avec une coque marron semi-perméable (Figure 03). Le poids moyen d'une graine est de 0,3g dont 25% sont représentés par la coque. La production annuelle par arbre est de 15 000 à 25 000 graines (Makkar et Becker, 1997).



Figure 02 : Différentes parties de la reproduction végétative et de *M. oleifera* arbre ; i) l'arbre de plein champ, ii) ensemble de feuillage, iii) Fleurs et iv) fruits (Saini, Sivanesan et al. 2016).



Figure 03 : Les graines de *moringa oleifera* (Price, 2007).

I.4. Ecologie

Moringaoleifera est une plante qui s'adapte à des milieux différents. Cependant, certaines conditions du milieu favorisent son épanouissement (**tableau I**).

Tableau I: Conditions environnementales de *Moringaoleifera* (**Saint Sauveur & Broin, 2010**).

Paramètres	Valeur /Fourchette
Climat	Tropical ou sutropical
Altitude	0-2000 m
Température	25-35°C
Pluviométrie	250mm-2000mm Irrigation nécessaire pour la production des feuilles si pluviométrie < 500mm
Type de sol	Limoneux, sableux ou sablo-limoneux
pH de sol	Légèrement acide à légèrement alcalin

I.5. Valeurs nutritives et usages des feuilles du *MoringaOleifera*

Moringaoleifera est riche en composés contenant un sucre simple (**Annexe I**). Les fleurs renferment neuf acides aminés, le saccharose, le D-glucose, des traces d'alcaloïdes, de cire et de quercétine (**Laleye et al., 2015**). La teneur en calcium de *Moringaoleifera* est plus que cela dans le lait et a également plus de potassium que la banane, plus de fer que les épinards et la qualité protéique de feuilles de *Moringa* rivalise avec celle du lait et des œufs (**Jongrungruangchok et al., 2010**).



Figure 04: Plusieurs produits chimiques alimentaires et des composés trouvés dans le *Moringaoleifera* (**Fahey, 2005**).

I.6. Composition chimique des feuilles :

Les feuilles de *Moringaoleifera* sont une excellente source de protéines (**Tableau II**) dont les teneurs moyennes varient entre 19-35 % MS (**Ogunsina et al., 2010**).

Tableau II: Composition moyenne des feuilles de *Moringaoleifera* (**Broin, 2005**).

Données pour 100 grammes de matière sèche

Composition		Acides aminés (mg)	
Globale			
Calories (kcal)	300	Arginine	1600
Protéines (g)	25	Histidine	530
Glucides (g)	40	Isoleucine	1140
Lipides (g)	8	Leucine	2050
Minéraux (g)	12	Lysine	1200
Fibres (g)	15	Méthionine	370
Teneur en eau	75%	Phénylalanine	1400
		Thréonine	1080
Minéraux (mg)		Tryptophane	580
Calcium	2100	Valine	1400
Cuivre	1	Acide aspartique	1670
Fer	27	Acide glutamique	2470
Potassium	1300	Sérine	840
Magnésium	405	Glycine	960
Phosphore	310	Alanine	1260
Manganèse	8	Proline	1230
Soufre	740	Tyrosine	910
Sélénium	2,6	Cystéine	360
Zinc	2,6	Acide gras	
Molybdène	0,5	C 16 : 0	530
Sodium	100	C 18 : 0	70
Vitamines		C 18 : 1	60
Vitamine A (UI)	14300	C 18 : 2	170
Vitamine C (mg)	850	C 18 : 3	1140

La grande teneur en fer, protéines, cuivre et diverses vitamines et acides aminés essentiels

font donc des feuilles de *Moringa* un complément nutritionnel idéal. Ainsi, la consommation de 100 grammes de feuilles de *Moringaoleifera* fraîches peut fournir:

- Entre 30 et 100% des apports journaliers recommandés en calcium (30% à 50% pour les adolescents, 40% à 60% pour les adultes, les enfants, les femmes enceintes ou allaitantes, 80 à 100% pour les enfants en dessous de 3 ans) ;
- Entre 25 et 80% des apports journaliers recommandés en fer (25% pour les femmes enceintes, 40 à 60% pour les adolescents et les femmes, 50 à 100% pour les hommes et les enfants) ;
- 100% des apports journaliers recommandent l'utilisation des feuilles (**de Saint Sauveur et Broin, 2010**).

I.7. Domaine d'utilisation des feuilles de *Moringaoleifera*

I.7.1. Utilisation alimentaire

Les feuilles peuvent se consommer fraîches ou en poudre (**Broin, 2005**) et même associées aux épices comme le piment. Elles peuvent également être préparées en soupe ou en salade selon **Foidl et al.(2001)** . Les jeunes feuilles qui sont comestibles, sont couramment consommées cuites, comme des épinards ou préparées en soupe ou en salade(**Nweze et Nwafor, 2014**).

I.7.2. Utilisation médicinale

En plus de ses propriétés nutritionnelles *Moringaoleifera* possède un intérêt médical car il peut être utilisé dans le traitement de nombreuses maladies(**Goyal et al., 2007**). Toutes les parties (feuilles, fleurs, fruits, écorces et racines) de *Moringaoleifera* ont de vertus médicinales confirmées par des travaux et des études expérimentales dans les différents pays africains, asiatiques et panaméricains(**Kooltheat et al., 2014**).

I.7.3. Vertus thérapeutiques

Selon **Saint Sauveur et Broin .(2006)**, les feuilles de *Moringa* sont maintenant utilisées dans certains programmes de lutte contre la malnutrition en particulier au Sénégal, en Inde, au Bénin et au Zimbabwe, De ce fait, les populations incluent les feuilles de *Moringaoleifera* dans la formulation de la poudre infantile à base de ces feuilles comme complément alimentaire des nourrissons(**Madi et al., 2012**). Au Sénégal, **Mansaly.(2001)** a confirmé une amélioration nette de la santé des enfants atteints d'infections respiratoires aiguës (IRA), de rougeole, de paludisme ou de diarrhée et mis sous régime de *Moringaoleifera*.

L'extrait des feuilles de *Moringaoleifera* possède une activité antioxydant due à la présence des différentes variétés d'antioxydants comme l'AcideAscorbique, les flavonoïdes, les composés phénoliques et caroténoïdes (**Laleye et al., 2015**).

I.7.4. Autres utilisation

Selon **Foidl et al.(2001)**. La poudre des graines de *M oleifera* constitue un flocculant naturel qui peut clarifier les eaux troubles, dissipant de ce fait 99% des matières colloïdales. Il a démontré également que ce mélange de graines constitue un coagulant de premier ordre pour le traitement de l'eau des rivières possédant un haut niveau de matériel solide en suspension. En outre, un extrait de feuilles de *M oleifera* préparé avec de l'éthanol à 80% contient des facteurs de croissance comme les hormones du type cytokinine. Ces hormones de croissance augmentent la robustesse des plantes et leur résistance aux maladies.

I.8. Composés phénoliques et activités antioxydantes des feuilles de *Moringaoleifera*

I.8.1. Composés phénoliques

L'appellation «polyphénols» ou «composés phénoliques» regroupe plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun: la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle et al., 2004**).

Les feuilles de *Moringaoleifera* contiennent des alcaloïdes, flavonoïdes et des composés phénoliques avec des taux compris entre 0.67 % et 3.4 % des phénols totaux, 0.5 % et 1.4 % en tannins. Les tannins condensés sont absents ou sous forme de traces et les teneurs en saponines varient entre 5 et 6.4 % (**Makkar et Becker, 1996 ; Richter, 2003; (Siddhuraju et Becker, 2003; Tchiégang et Aissatou, 2004)**).

I.8.2. Propriété antioxydante des composés phénoliques

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**).

Les antioxydants peuvent être classés selon leur origine en antioxydants endogènes ou exogènes. Les antioxydants endogènes sont des enzymes dont les plus connues sont produites dans le corps humain (**Mates, 2000**).

Chapitre II : Probiotiques et prébiotiques

II.1. Les Probiotiques

II.1.1. Définition

Le terme probiotique a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques. La notion de probiotiques a été développée principalement grâce aux travaux de Metchnikoff en 1893 ayant suggéré que l'ingestion de bactéries lactiques vivantes accroît la longévité en réduisant dans le tube digestif la population de bactéries putréfiantes ou produisant des toxines. Une des premières définitions des probiotiques comme « facteurs promoteurs de croissance produits par des microorganismes » a été proposée par Lilly et Stillwell en 1965. Depuis ce temps, la définition du terme probiotique a été modifiée à plusieurs reprises (**Lamoureux, 2001; Saulnier et al., 2013**)

En 1989, Roy Fuller a mis l'accent sur la demande de viabilité des probiotiques et introduisit l'idée qu'ils avaient un effet bénéfique sur l'hôte (**Guarner et Khan, 2008**). La **FAO et l'OMS (2002)**, ont établi récemment des lignes directrices pour l'utilisation du terme « probiotiques » dans les aliments et formulent la définition suivante : « *les probiotiques sont des microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère* ».

II.1.2. Critères de sélection :

Les probiotiques sont des bactéries bénéfiques qui peuvent se trouver dans divers aliments. (**Holzappel et al., 2001**) distinguent (**tableau III**) quatre grands groupes : les lactobacilles, les bifidobactéries, les bactéries lactiques, les levures et les moisissures.

Les micro-organismes doivent posséder diverses propriétés de survie pour répondre à la définition des probiotiques (**Gagnon, 2007**). Ils doivent présenter une activité positive et persister durant leur passage dans le tractus digestif. Ces propriétés sont propres à chaque souche et ne peuvent pas être extrapolables d'une souche à l'autre même au sein d'une même espèce (**Dunne et al., 2001**). Plusieurs critères majeurs de sélection ont été établis par différents auteurs dans le but de sélectionner les souches potentiellement probiotiques. Ces critères, résumés dans le (**tableau IV**), sont répartis en trois catégories à savoir les critères de sécurité, fonctionnels et technologiques.

Tableau III : Espèces connues de probiotiques (**Holzappel et al., 2001**)

Type de probiotiques	Espèces connus	Caractéristiques
<i>Les lactobacilles</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus salivarius</i>	Capable d'induire une protection vis-à-vis des pathologies inflammatoires intestinales.
<i>Les bifidobactéries</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i>	Appartiennent à la flore intestinale normale et possèdent une bonne résistance aux sucs gastriques.
<i>Bactéries lactiques</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroide</i>	Peuvent être comme agents de la fermentation alimentaire ou agents bénéfiques de la santé
<i>Levures et moisissures</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Produisent des éléments essentiels à la croissance.

Tableau IV : Principaux critères de sélection des probiotiques. (**Klaenhammer et Kullen, 1999; Saarela et al., 2000; Ouwehand et al., 2002; Gueimonde et Salminen, 2006**)

Critères de sécurité	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Identification taxonomique précise. ➤ Souche caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques. ➤ Historique de non pathogénicité et non invasion de l'épithélium intestinal.
Critères fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tolérance de l'acidité de la bile et aux enzymes digestives. ➤ Adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus intestinal.
Critères technologiques	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Immuno-modulation ➤ Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. ➤ Stabilité au cours des procédés de fabrication et du produit fini.

II.1.3. Application des probiotiques :

Les différents produits commercialisés en tant que probiotiques humains ou animaux sont constitués soit d'un seul microorganisme (produits dits monosouches) ou d'une association de plusieurs espèces (produits dits plurisouches). De nos jours, les produits probiotiques sont commercialisés sous trois formes :

- Un concentré de culture ajouté à des aliments et boissons à base de produits laitiers, de fruits et de céréales.
- Un ingrédient ajouté à un aliment à base de lait ou de soja et auquel on permet d'atteindre une concentration élevée par fermentation.
- Des cellules séchées, concentrées, en poudre, en capsule ou en comprimés.

Les probiotiques sont généralement associés aux produits laitiers de culture. La gamme de produits probiotiques comprend maintenant des fromages, des crèmes glacées et des yogourts glacés de même que des aliments et des boissons non laitiers (**Amado et al., 2008**).

II.1.4. Les effets santé associés aux probiotiques :

Plusieurs effets bénéfiques sur la santé ont été associés à la consommation des probiotiques. La Figure illustre la diversité des effets santé (**Figure 05**).

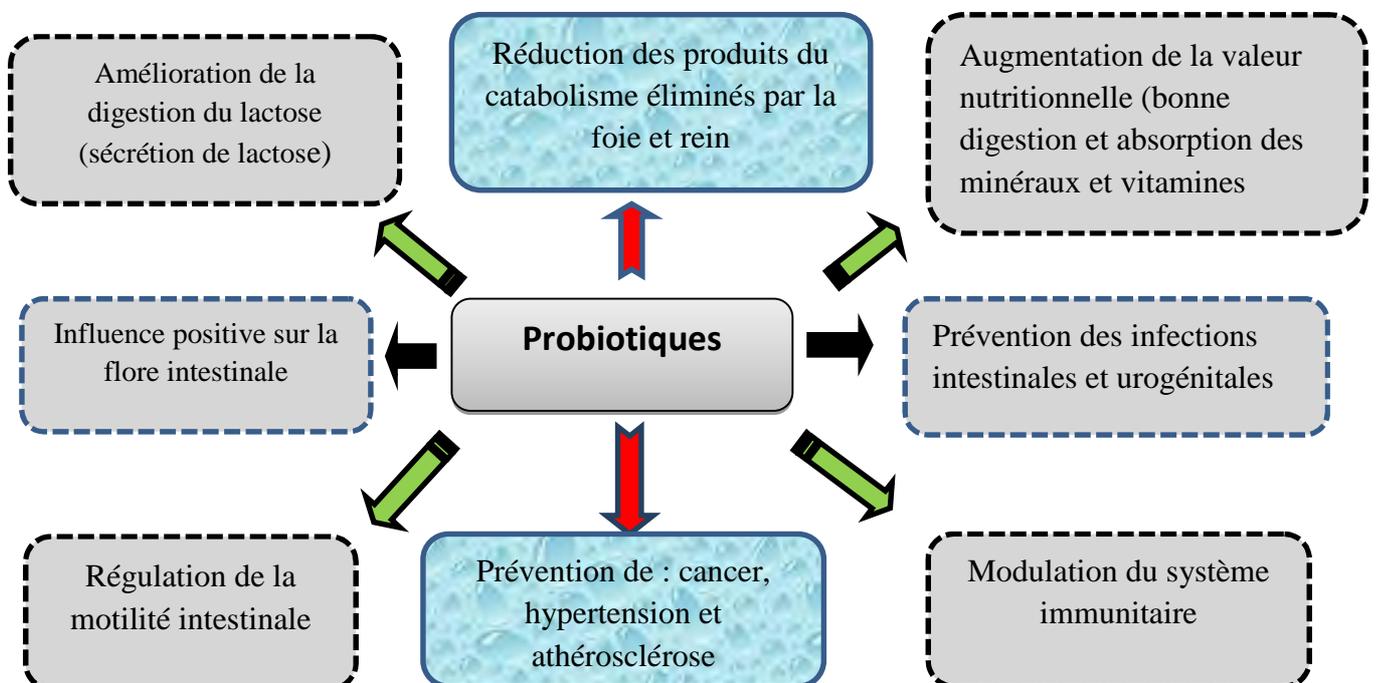


Figure 05: Principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques (**Mercenier et al., 2003**).

II.2. Les Prébiotiques

II.2.1. Définition

Gibson et Roberfroid, , ont défini les prébiotiques comme « des ingrédients alimentaires non digestibles qui influencent de façon bénéfique l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité d'un nombre limité de populations bactériennes dans le côlon améliorant ainsi la santé de l'hôte » (**Cherbut ,2003**).

La définition a été actualisée en 2004 et définie comme « les ingrédients sélectivement faits fermenter qui permettent des changements spécifiques, tant dans la composition et /ou l'activité dans le microbiote gastro-intestinal et qui confère des avantages sur le bien-être de l'hôte et la santé » (**Wongputtisin et Khanongnuch ,2015**).

Les composés prébiotiques peuvent aussi avoir immunomodulateur propriété, avec ou sans l'ajout de bactéries probiotiques. En outre, les effets des prébiotiques comme agents stabilisants dans des produits probiotiques pendant le stockage, la lyophilisation, et séchage par pulvérisation ont été rapportés par plusieurs auteurs (**Desmond et al., 2005**).

Selon **Roberfroid . (2007)**, les critères de classement des prébiotiques sont les suivants :

- ❖ La résistance à l'acidité gastrique.
- ❖ L'hydrolyse par le mammifère enzyme gastro-intestinal.

Pour classifier un ingrédient alimentaire comme prébiotique, 4 critères doivent être validés (**Wang et Zhang ,2009**).

- Il doit être résistant aux différents processus de digestion pour atteindre le colon.
- Il doit pouvoir être fermenté par la microflore intestinale.
- Il doit être bénéfique pour la santé de l'hôte.
- Il doit stimuler de façon sélective les probiotiques.

II.2.2 Types de prébiotiques

Le concept de prébiotique distingue l'inuline et fructo-oligosaccharides qui stimulent sélectivement la croissance des bifidobactéries, qui sont considérées être favorables pour la santé humaine. Bien que la plupart des recherches aient été faites sur l'inuline et fructooligosaccharides, d'autres oligosaccharides-non-digestibles, en incluant xylo-oligosaccharides, galacto-oligosaccharides et isomalto-oligosaccharides ont été aussi évalués pour leur effet prébiotique (**Blau,2002**). **Al-Sheraji et al.(2013)** Citent que les galacto-

oligosaccharides(GOS), fructo-oligosaccharides (FOS) et l'inuline comme étant les prébiotiques les plus communément connus.

-Galactooligosaccharides (GOS)

GOS (**figure 06**) sont des oligomères de la forme $\text{Glc } \alpha\text{-(1}\rightarrow\text{4)-}[\beta\text{-(1}\rightarrow\text{6) Gal}]_n$, avec n de 2 à 5. Ils sont naturellement présents dans le lait mais également obtenus par synthèse enzymatique à partir du lactose. Ils sont non digestibles. Sur des rats porteurs d'une microflore humaine, ROWLAND a montré que les transgalactooligosaccharides augmentaient le nombre de bifidobactéries et de lactobacilles mais en outre diminuaient le nombre d'entérobactéries (**Genestie ,2006**).

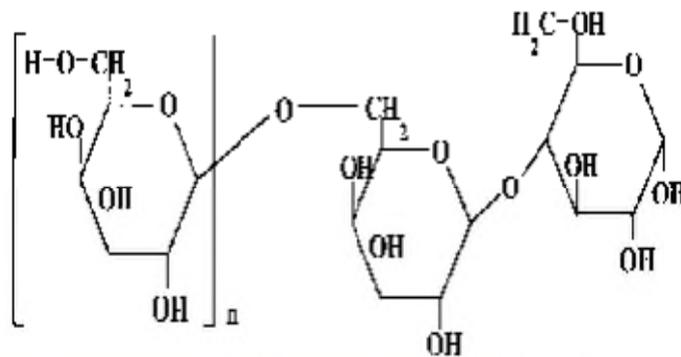


Figure 06: Structure chimique de GOS (**Giannozzi et al. 2009**).

- **Inuline**

L'inuline est un fructane poly-dispersé de type $\beta(2-1)$ composé d'un mélange d'oligo et de polysaccharides qui sont pratiquement tous constitués de chaînes linéaires d'unités de fructoses possédant la structure GF_n avec : G=unité glucosyle , F=unité fructosyle et n =nombre d'unité fructosyles liées entre elles (**Léauté-Labrèze et al., 2008**). Il s'agit d'un glucide non hydrolysé et non absorbé dans l'intestin grêle, mais dégradé par la flore colique (**Jaenisch et Bird. ,2003**).

- **Fructo-oligosaccharides(FOS)**

FOS (**figure 07**) sont composés par les chaînes de moitiés fructose reliées par $\beta - (2 - 1)$ -glycosidique obligations avec ou sans unité de glucose (**Corradini et al., 2012**). FOS se produisent naturellement dans beaucoup d'aliments communs tels que fruits, légumes, lait et miel (**Nobre et al., 2012**).

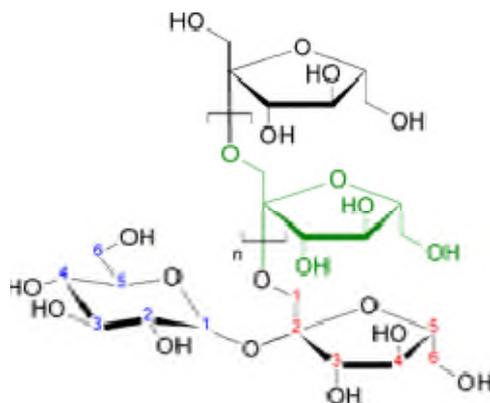


Figure 07 : Structure de FOS (Giannozzi et al. 2009).

Tableau V : Principaux prébiotiques commercialisés (Bodinier et Gourbeyre, 2012).

Prébiotiques	Noms	Structures
<i>Inuline</i>	<i>Raftilose</i> ®	<i>FruFru</i> <i>n</i> + <i>Glc-Fru</i> <i>n</i>
<i>Fructooligosaccharides</i>	<i>Actilight</i> ®	<i>GlcFru</i> <i>n</i> <i>Beghin</i>
<i>Galactooligosaccharides</i>	<i>Oligomate</i> ®	<i>GlcGal</i> <i>n</i>
<i>Lactulose</i>	<i>MLS50</i> ®	<i>Gal-Fru</i>
<i>Oligosaccharides de soja</i>	<i>Soya-Oligo</i>	<i>Gal</i> <i>n</i> – <i>Glc-Fru</i>
<i>Isomaltooligosaccharides</i>	<i>IMO 900</i>	<i>Glc</i> <i>n</i> <i>Showa</i>
<i>Glucooligosaccharides</i>	<i>Bioecolia</i> ®	<i>Glc</i> <i>n</i>
<i>Mannooligosaccharides</i>	<i>Bio-MOS</i> ®	<i>Man</i> <i>n</i>
<i>Xylooligosaccharides</i>	<i>Xylooligo</i>	<i>Xyl</i> <i>n</i>

II.2.3. Effet bénéfique des prébiotiques

Les prébiotiques peuvent exercer un effet sur la barrière intestinale et le système immunitaire associé à l'intestin via les AGCC produits par le microbiote. Des effets directs des prébiotiques ont néanmoins été décrits : Le GOS peut limiter la fixation de certain bactéries aux cellules épithéliales en se liant aux récepteurs d'adhésion de ces microorganismes (Bodinier et Gourbeyre ,2012). De ce fait il améliore la santé en influençant favorablement la flore intestinale par la stimulation de certaines bactéries à l'activité probiotique. L'apport d'inuline et de FOS, chez l'adulte en raison de 10g/jour, stimule la prolifération des bactéries lactiques, surtout des bifidobactéries, dans l'intestin. Ces bactéries fermentent les fibres prébiotiques et les réduisent à des acides gras à chaînes courtes formant ainsi l'acétate, le butyrate, le lactate et le propionate. Ces prébiotiques ont toutefois des effets secondaires sur l'intestin : par fermentation bactérienne des oligo-saccharides prébiotiques provoquent la formation de gaz (H₂, méthane et d'autre) qui peuvent, lors d'un

dosage trop élevé, provoquer des ballonnements, des douleurs abdominales et des diarrhées (Agostoni et al.,2004).

II.3. Symbiotiques

Un symbiotique résulte de la combinaison d'un probiotique et un prébiotique (Weese, 2002), avec l'attente que le prébiotique améliore la survie et la croissance du probiotique (Adebola et al.,2014). Il est de plus en plus utilisé pour exprimer la relation synergique entre les microorganismes bénéfiques et viables avec leurs substrats sélectifs (Schrezenmeir et de Vrese ,2001). Peu d'études ont été menées sur l'efficacité des symbiotiques (Tableau VI) sur la santé.

Tableau VI : Exemples d'études sur l'efficacité des symbiotiques

Symbiotiques	Observations	Références
<i>Inuline + Bifidobacterium Sp.</i>	Augmentation supplémentaire du nombre de bifidobactéries	(Bouhnik et al. 1997)
<i>L. acidophilus + 2.5% de Fructooligosaccharides</i>	Diminution des taux sériques de Cholestérol Diminution des lipoprotéines de basse densité (LDL)	(Tuohy et al. 2003)
<i>L. acidophilus et B. longum Fructooligosaccharides</i>	Amélioration significative du rapport (LDL/HDL) cholestérol.	(Tuohy et al. 2003)

II.4.Mucilage

Les mucilages sont des substances polymères complexes de nature d'hydrate de carbone, avec une structure de branche, qui contient des dimensions variables de Larabinose, D-galactose, L-rhamnose et D-xylose, aussi bien qu'acide galacturonique dans différentes dimensions (Sepúlveda et al., 2007). Les masses visqueuses de forme de mucilages dans l'eau sont typiquement hétérogènes dans la composition (Divekar et al. 2010). Les mucilages sont souvent trouvés dans de différentes parties de la plante (Deogade et al., 2012). Peuvent être employés dans les préparations d'aliments, produits pharmaceutique et cosmétiques pour plusieurs applications telles que des modificateurs de texture, épaississantes, gélifiants, et agent de liaison (Deore et Khadabadi , 2008 ; Lai et Liang, 2012).

I. Matériel et Méthodes

I.1. Matériel végétal

But de travail

Evolution de potentiel prébiotique.

I.1.1. Origine et provenance des échantillons

Les feuilles de *Moringa oleifera* proviennent du Sud de l'Algérie (Oued Souf) et été récoltées en octobre 2015. (Figure 08)



Figure 08: feuilles séchées de *Moringa oleifera*

I.1.2. Préparation des échantillons

Après nettoyage et triage, les feuilles sont séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière, puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue a été ensuite tamisée afin d'avoir une poudre de taille des particules inférieure à 0,5 mm puis conservée dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière pour éviter toute détérioration de l'échantillon.

I.2. Extractions des mucilages

Les mucilages ont été extraits en utilisant la méthode (Figure 09) décrite par HadiNezhad et Hosseinian .(2013)

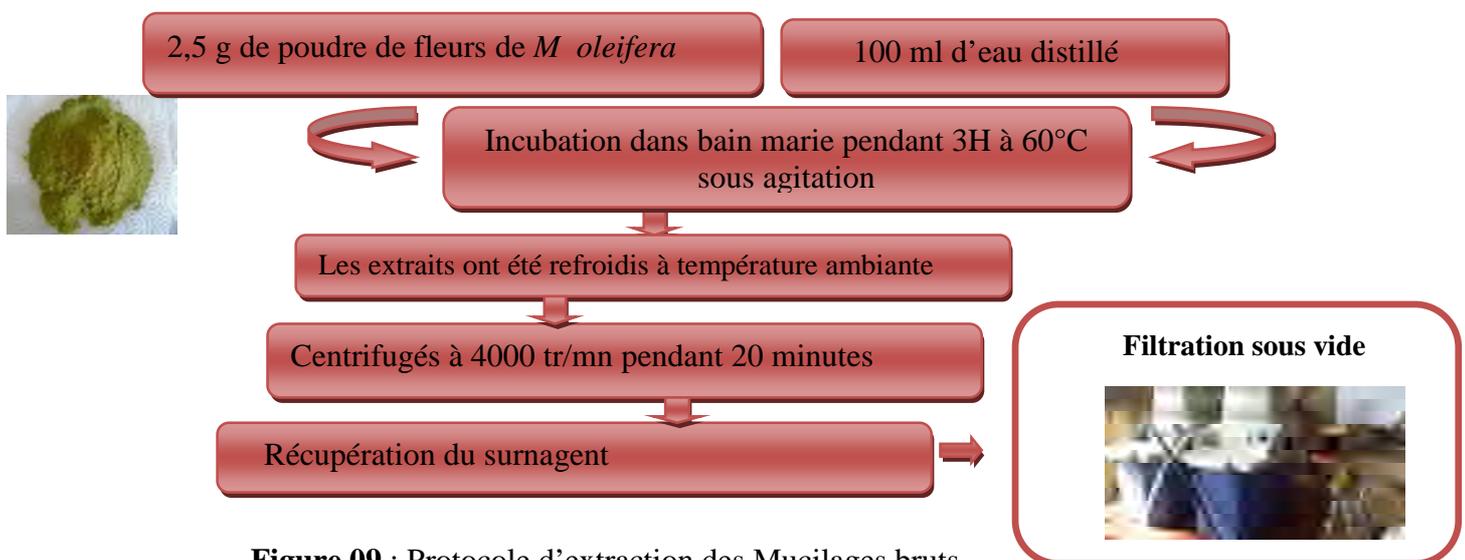


Figure 09 : Protocole d'extraction des Mucilages bruts

I.3. Dosages des composés phénoliques du mucilage brut

I.3.1. Dosage des polyphénols totaux solubles par la méthode au folin-ciocalteu

✚ Principe :

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

✚ Mode opératoire

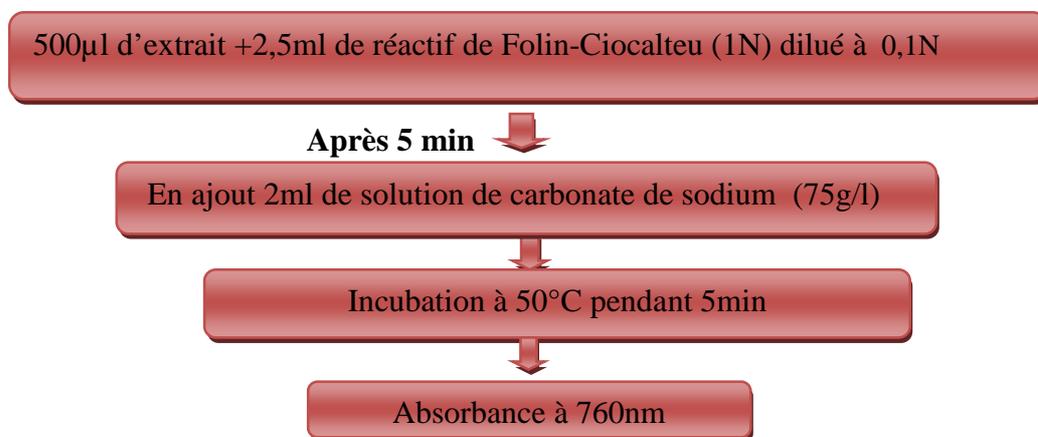


Figure 10 : Protocole de dosage des phénols totaux solubles (**Škerget et al ., 2005**).

Les concentrations en phénols totaux solubles sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique (**Annexe III**). Les résultats sont exprimés en (mg Eq AG/g d'Ech).

I.3.2 Dosage des flavonoïdes par la méthode au trichlorure d'aluminium

• Principe

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation de complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al⁺³ par la réaction chlorure d'aluminium (AlCl₃) avec les flavonoïdes possédant un groupement hydroxyle (OH) libre (**Figure 11**). La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

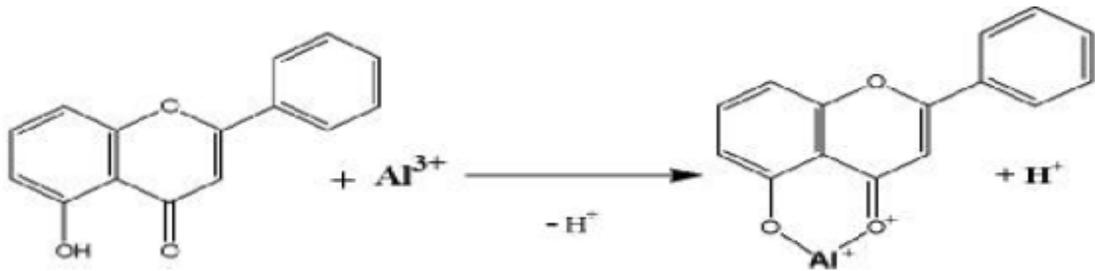


Figure 11 : Réaction du Chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes (**Ribéreau-Gayon, 1968**)

- **Mode opératoire**

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de (**Djeridane et al.,2006**).

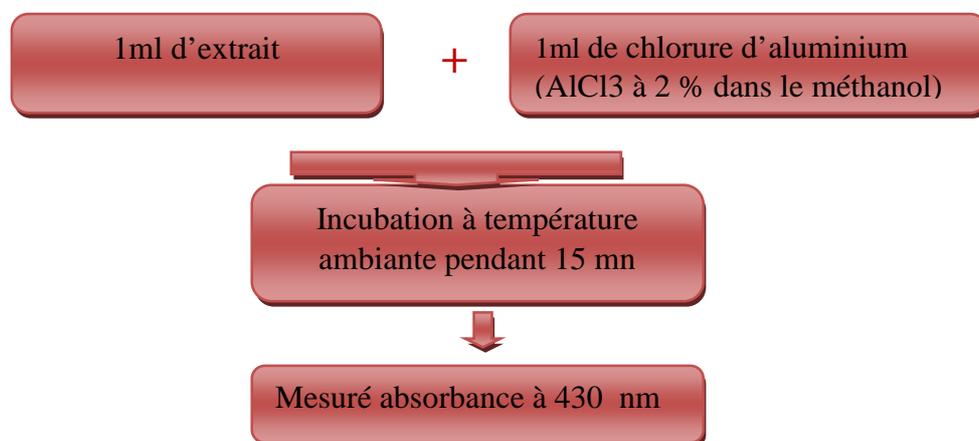


Figure 12: Protocole de dosage des flavonoïdes

Les concentrations en flavonoïdes ont été estimées en référant à une courbe d'étalonnage préparée avec la quercétine (**Annexe III**). Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de quercétine (mg Eq Q/g d'Ech).

I.3.3. Dosage des tanins hydrolysables

- **Principe**

La méthode de **Mole et Waterman.(1987)** est basée sur une réaction avec le chlorure ferrique. Le mélange de l'extrait tannique avec le réactif chlorure ferrique provoque la coloration rouge violette du complexe, d'où la formation des ions (Fe^{3+}) (**Bate-Smith, 1973**).

Mode opératoire

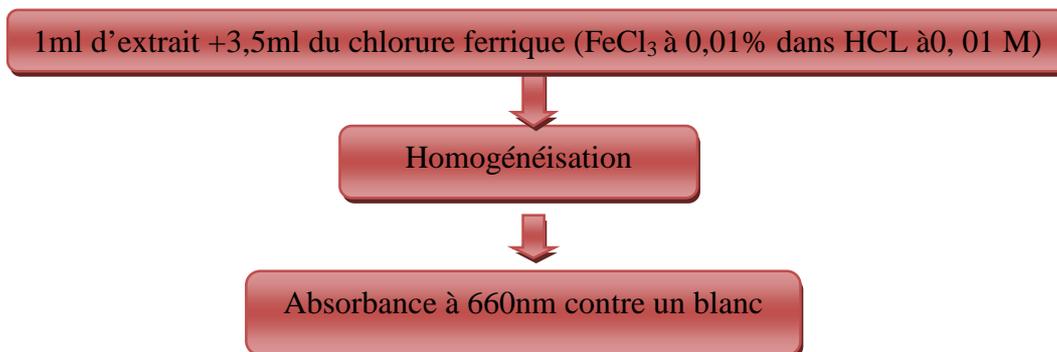


Figure 13 : Protocole de dosage des tanins hydrolysables (Mole et Waterman, 1987).

La teneur en tanins hydrolysables est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique (**annexe III**). Les résultats sont exprimés en mg Eq AT/g d'ech.

I.3.4. Dosage des tanins condensés

La méthode à la vanilline décrite par **Deshpande et al.(1986)**; est utilisée pour Le dosage des tanins condensés (**Figure 15**).

- **Principe :**

Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés (**Figure 14**) dans un milieu acide pour produire un complexe rouge mesuré à 500 nm (**Hagerman, 2002**).

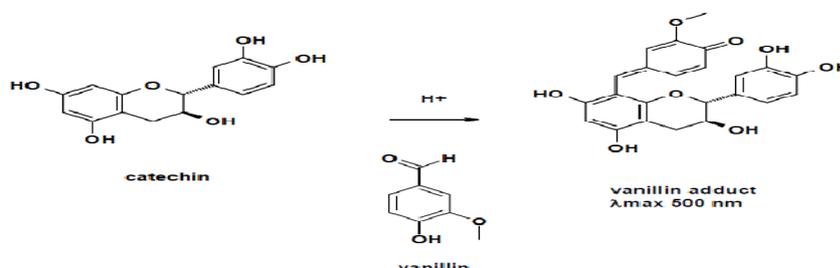


Figure 14: Réaction de la vanilline avec la catéchine (**Hagerman, 2002**).

- **Mode opératoire :**

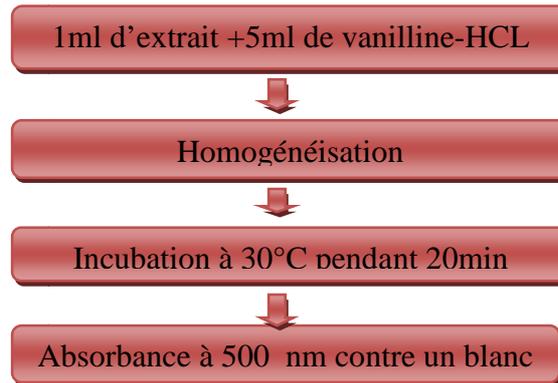


Figure 15: Protocole de dosage des tanins condensés (Deshpande et al., 1986).

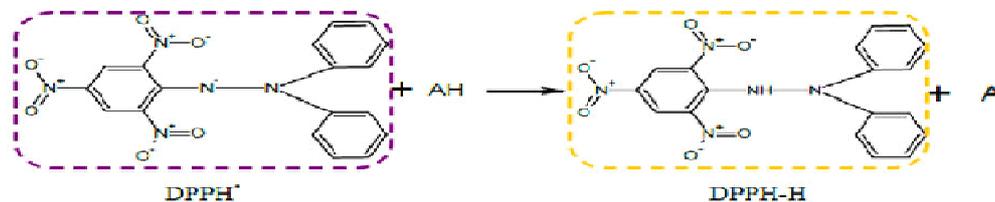
La teneur en tanins condensés est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la catéchine (annexe III). Les résultats sont exprimés en (mg Eq CAT/g d'Ech).

I.4. Activités antioxydantes

I.4.1. Activité antiradicalaire du mucilage brut

- **Principe**

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical libre et la simplicité de l'analyse. La méthode de DPPH présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette) en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical (Figure 16). La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde (Haddouchi et al., 2016).



Ou AH est un composé antioxydant capable de céder un H⁺ au radical DPPH.

Figure 16: Forme réduite du radical DPPH (Haddouchi et al., 2016).

- **Mode opératoire**

Un volume de 50 µl d'extrait brut est ajouté à 1,950 ml de la solution méthanolique du DPPH (65µM/l) fraîchement préparée. L'absorbance à 515 nm est mesurée après 30min d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière. Un témoin positif avec BHT est réalisé dans les mêmes conditions. La capacité antioxydante de nos échantillons a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• suivant l'équation : **(Brand-Williams et al ., 1995)** .

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(\frac{\text{Abs controle} - \text{Abs echantillon}}{\text{Abs controle}} \right) \times 100$$

Abs contrôle : correspond à l'absorbance du contrôle

Abs échantillon : correspond à l'absorbance de l'échantillon

Ainsi, plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort.

I.4.2. Chélation du fer ferreux

- **Principe**

La ferrozine réagit avec les ions divalents pour former un complexe violet ou rouge très soluble dans l'eau. L'absorbance du complexe ferrozine-Fe₂₊ est maximale à 562 nm (**Norshazila et al ., 2010**). En présence d'agents chélateurs, la formation de ce complexe est perturbée aboutissant à une diminution de la couleur qui est suivie au spectrophotomètre.

- **Mode opératoire**

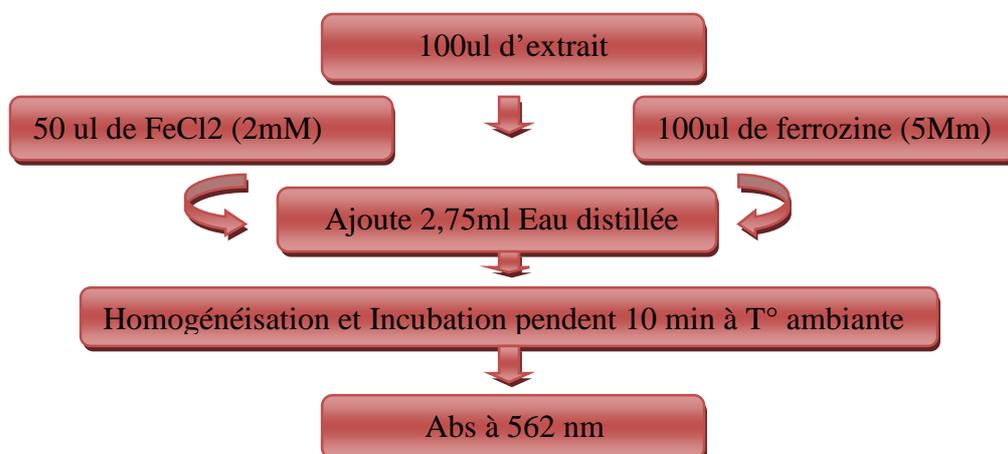


Figure 17: Activité antioxydante de chélation du fer ferreux (**Bourgou et al., 2008**).

Le standard EDTA est utilisé comme chélateur de référence à une concentration de

0.005965 g/ml. Le pourcentage de chélation du fer est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{Chélation} = \frac{\text{Abs C} - \text{Abs Ech}}{\text{Abs C}} \times 100$$

Abs C : Absorbance du contrôle

Abs Ech : Absorbance Échantillon

I.5. Mise en évidence de la présence de métabolites secondaires des mucilages

I.5.1. Saponines

La détection des saponines est réalisée au moyen du test de **Yadav et Agarwala ,(2011)** 1ml d'extrait, ajoutés 3ml d'eau distillée. Après agitation pendant 2 min la formation d'une mousse persistante indique la présence des saponines.

I.5.2. Alcaloïdes

La présence d'alcaloïdes est effectuée par la méthode **Amana, (2007)**. 2 ml d'extrait sont ajoutées quelques gouttes du réactif de Bouchardat. La formation d'un précipité brun-noir, brun-terne ou jaune-brun indique la présence de ces métabolites dans le milieu.

I.5.3. Terpénoïdes

La mise en évidence des terpénoïdes est réalisée par La méthode **Aziman et al., (2012)**. 2,5 ml d'extrait est ajouté à 1ml de chloroforme. Après homogénéisation, 1.5 ml d'H₂SO₄ concentré sont ajoutés au mélange. La formation d'une couleur brun-rouge à l'interface indique la présence des terpénoïdes dans les extraits.

I.5.4. Tanins :

2 à 3 gouttes de chlorure ferrique (FeCl₃ à 2%) sont ajoutées à 1ml d'extrait. L'apparition d'une coloration bleue foncée a signalé la présence des tanins galliques, tandis que celle d'une coloration vert foncée a indiqué la présence des tanins catéchiques. Une coloration bleue verdâtre indique la présence simultanée des types de tanins (**Soulama et al ., 2014**).

I.6. Composition chimique globale

- ✚ La matière sèche est déterminée par (AOAC, 2008) dessiccation à étuve à 105°C jusqu'à poids constant.
- ✚ La matière minérale est obtenue (AOAC, 1990) par incinération au four 550°C pendant 4h.

- ✚ La méthode de soxhlet, consiste à libérer la matière grasse à l'aide d'un solvant organique non miscible à l'eau, suivi de l'évaporation du solvant et de la pesée de l'extrait obtenu après dessiccation à 105°C pendant 24 heures (AOAC, 1975).
- ✚ La quantité des protéines contenues dans un échantillon, est déterminée par dosage de l'azote total selon la méthode de **Kjeldahl** qui a été développée en 1883 par un chimiste danois « **Johan KJELDAHL** ». Cette dernière s'effectue en trois phases : Digestion (minéralisation) ; distillation ; titration.

I.7. Activités prébiotiques

I.7.1. Préparation du yaourt

Nous avons utilisé la méthode décrite par **Espirito Santo et al.(2010)** avec quelques modifications. Du lait Candia UHT demi écrémé a été pasteurisé à 90 °C pendant 15 min sur un bec benzène puis refroidi dans un bain-marie à 42 °C. Les ferments lactiques(*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbricus sup bulgaricus*) et les probiotiques(*Bifidobacterium*) sont ajoutés tout en agitant au même temps.

20 ml de mucilage brut ont été additionnés à 40 ml de lait. Les lots du yaourt ont été préparés en triples dans des flacons stériles et incubés à 42 °C pendant 24 h, puis stockés à 4 °C durant 28 jours.

Les lots de yaourts sont codés comme suit :

- **Y+ Pro + M** = yaourt + probiotiques + Mucilages
- **Y + Pro** = yaourt + probiotiques (Témoin)

Au cours de la période de conservation, nous avons procédé à l'analyse suivante :

1, 14, 28 jours : pH, acidité, synérese, dénombrement.

14j : Densité, Brix, Composés phénoliques, activités antioxydants.

I.7.2.Mesure du pH

✚ Principe

Le PH est déterminé par la technique électro métrique ou potentiométrique en utilisant un appareil mesure la différence de potentiel le entre deux électrodes (**Rada-Mendoza et al., 2004**).Mesure de PH le 1er, le 14ème et le 28ème jour.

I.7.3.Mesure de la synérese

Principe

La synérèse est un phénomène physique fréquent au cours du stockage du yaourt qui affecte l'acceptabilité de celui-ci par le consommateur. Il est défini comme étant la séparation de petit lait (lactosérum) du gel ou du caillé (Tseng et Zhao, 2013). Quand le phénomène de la synérèse est important cela implique que la capacité de rétention de l'eau du gel est faible. Elle est mesurée selon la méthode de (Purwandari et al., 2007).

Mode opératoire

5 g du yaourt sont introduites dans un tube à centrifuger. Ce tube est ensuite centrifugé à 5000 tr/min pendant 20 min. mesurer le volume de la synérèse formée à la surface du produit. Synérèse est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

I.7.4. Mesure de

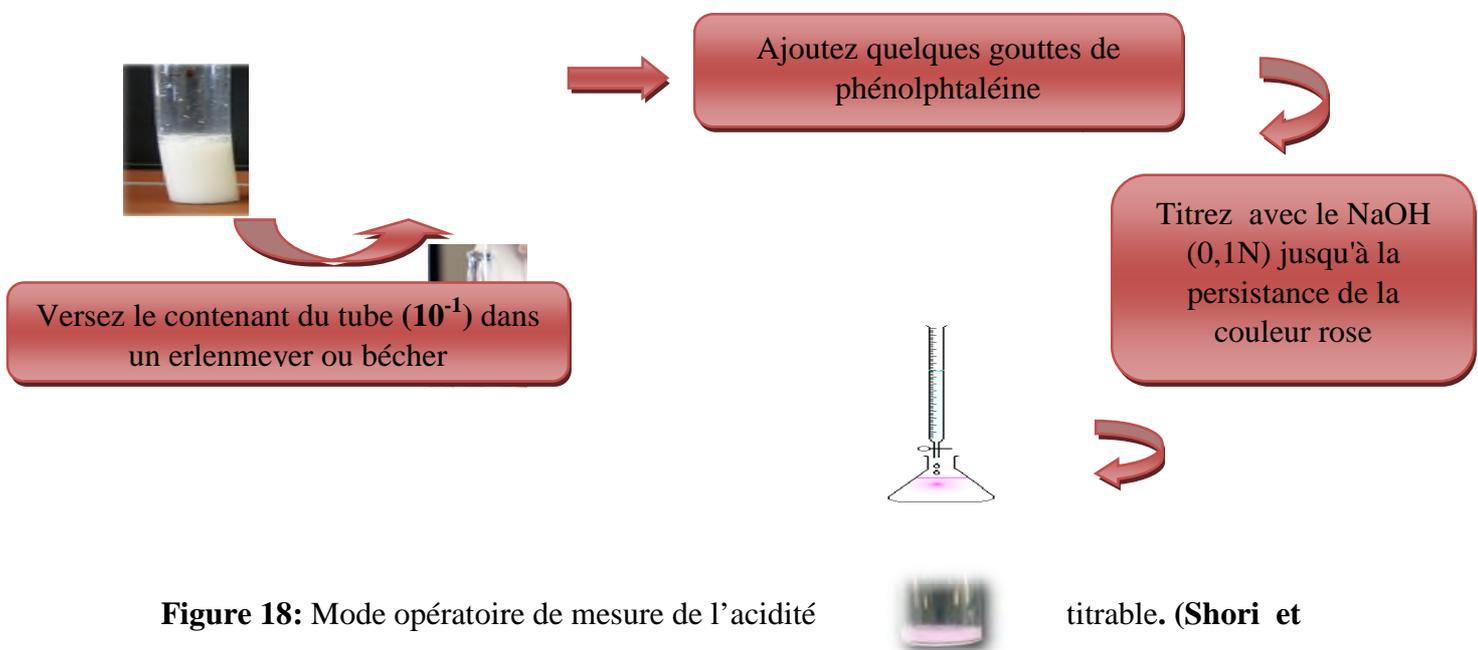
$$S \% = \frac{\text{poids du lactosérum collecté}}{\text{poids du yaourt}} \times 100$$

l'acidité titrable

Principe

L'acidité titrable représente la somme des acides minéraux et organiques présents dans le produit. Elle est exprimée en fonction de l'acide dominant et titrée avec une solution d'hydroxyde de sodium (0.1N) en présence de la phénolphaléine comme indicateur coloré.

Mode opératoire



L'acidité triturable (TTA%) est calculée chaque semaine jusqu'au 28^{ème} jour, elle est exprimée en pourcentage, et calculée selon la formule suivante :

$$TTA(\%) = V_{\text{NaOH}} \times 0,1 \times 100 \times 0,009 \times 10$$

Où :

V_{NaOH} : Volume de NaOH en ml utilisé pour la titration.

0,1 : représente la concentration du NaOH (0,1N)

10 : est le facteur de dilution (10^{-1}).

100 : le pourcentage

0.0090 : Coefficient correspondant à l'acide lactique

I.7.5.Détermination de la densité

La densité du lait est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné de lait à 20°C et la masse du même volume d'eau distillé (**Pointurier et al ., 2003**).

I.7.6.L'indice réfractométrique:

Le degré brix ou l'indice réfractométrique est déterminé à l'aide d'un réfractomètre de paillasse. Il représente la matière sèche soluble présente dans échantillon et est corrélé à la teneur en sucres.

Cette technique consiste à déposer une goutte d'échantillon sur la surface du prisme du réfractomètre puis baisser le deuxième sur la première. La limite de séparation entre la zone claire et la zone obscure soluble contenue dans l'échantillon. Le résultat obtenu est exprimé en degré Brix (**Roussos et al, 2011**).

I.7.7.Evolution de la flore probioitique

Le dénombrement des colonies (détermination en triple) a été effectué au 1er, 14ème et le 28ème jour pour chaque lot à différentes dilutions (quatre à cinq dilutions de 1/10). 100 µl de chaque trois dernières dilutions ont été étalés par la méthode des stries sur des boites de pétri (Espirito Santo et al., 2010). Pour le dénombrement des probiotiques nous utilisons la gélose MRS au chlorhydrate de cystéine (Cy-HCL) à 0,5 g/l qui est un agent réducteur inhibant la croissance des ferments du yaourt mais offre une meilleure croissance pour les bifidobactéries. L'incubation se fait dans une étuve à 42 °C pendant 72 h. Le nombre de colonies UFC/ml est calculé puis converti en log UFC/ml (**Sun-Waterhouse et al., 2013**).

$$\text{UFC/ml} = \frac{\text{nombre de colonies}}{\text{volume étalé (ml)} \times \text{facteur de dilution}}$$

I.7.8. Extraction des composés phénoliques du yaourt

✚ Principe

Quand une matrice est au contact d'un solvant, les composants solubles dans le matériel migrent vers le solvant. Ainsi, l'extraction est un transfert du principe actif de la matrice vers le solvant selon un gradient de concentration (Boizot et Charpentier, 2006).

✚ Mode opératoire: Selon (Pereira, 2013)

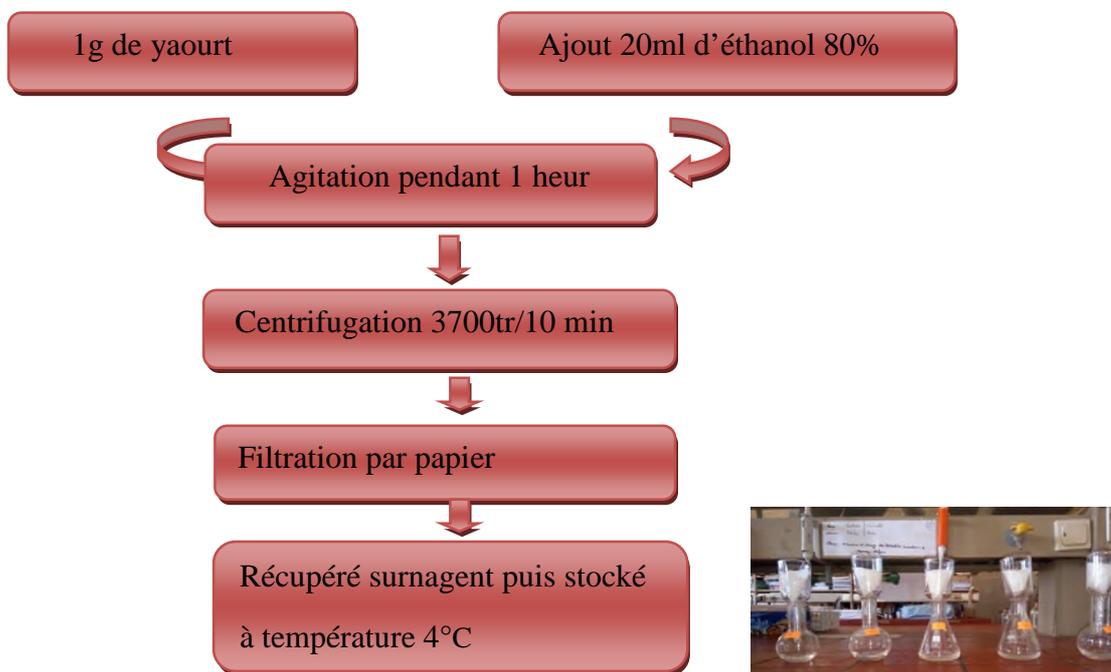


Figure 19 : Protocole de dosage des composés phénoliques du yaourt.

Les teneurs en composés phénoliques et activités antioxydants des yaourts élaborées sont déterminés selon les mêmes méthodes décrits précédemment.

I.7.9. Analyse statistiques des résultats

Toutes les déterminations sont menées en triples. Les résultats sont exprimés par la moyenne \pm écart type. Les résultats sont traités par l'analyse de (un ou deux facteurs) de la variance (ANOVA) suivie d'une comparaison multiple des moyennes grâce au logiciel statistica version 5.5.

Conclusion et perspectives

Le présent travail porte sur l'évaluation de potentiel prébiotique de *Moringa oleifera*, nous avons tenté de doser les différentes classes de polyphénols, mettre en évidence la présence de certains métabolites secondaires et la détermination de l'activité antioxydante (activité antiradicalaire et pouvoir chélateur), d'autre part d'étudier l'effet prébiotique du mucilage brut de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sur la viabilité des probiotiques.

A l'issue de notre travail, nous avons enregistré de nombreux avantages liés à l'utilisation de poudre de feuilles de *Moringa oleifera*.

Les feuilles apparaissent d'excellentes sources de protéines, sucre et cendre susceptibles d'être utilisées en alimentation avec un intérêt certain pour leur richesse en métabolites secondaires.

Notre poudre renferme un taux élevée en cendres 9,82% et moyen en matière grasse 8,52%, la teneur en protéine (23,31%) est relativement élevée.

Nos données analytiques ont montré que la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* originaire du sud d'Algérie (Oued souf) représente des sources appréciables en composés phénoliques et en antioxydants. Les différents dosages réalisés sur le mucilage brut de la poudre de feuille de *Moringa oleifera* ont révélés la présence de plusieurs classes de composés phénoliques : phénols totaux solubles (116.74 mg Eq AG/g Ech), flavonoïdes (2.74 mg Eq Q/g Ech), les tannins hydrolysables (117.31 mg Eq AT/g Ech) et tannins condensés (1.59 mg Eq AT/g Ech).

Les mucilages de feuilles de *Moringa oleifera* ont manifesté dans les yaourts préparés un potentiel prébiotique avéré comme en témoigne la survie des bactéries probiotiques et l'évolution des paramètres fermentaires.

L'incorporation de mucilage a induit une élévation du potentiel antioxydant des yaourts liée à l'enrichissement des yaourts en composés phénoliques.

Il serait souhaitable de compléter et d'approfondir ce travail par :

- ✚ Identification et quantification des différents constituants phénoliques.
- ✚ Une caractérisation des activités biologiques du mucilage de poudre de feuilles et d'autres parties de *Moringa oleifera*.
- ✚ De réaliser une évaluation sensorielle pour les échantillons de yaourt.
- ✚ L'enrichissement des aliments pour lutter contre la malnutrition.

Annexes

Annexe II

Tableaux X : Préparation des solutions

Solutions	Réactifs
Solution NaOH (0,1 N)	2 g NaOH dans 500 ml d'eau distillée
Ethanol 80%	80% de l'éthanol pure ajuste jusque à 100 ml d'eau distillé
NaCl	2,95g NaCl dans 100ml d'eau distillé
Solution de folin ciocalteu (0.1N)	10 ml du folin- ciocalteu ajusté à 100 ml d'eau distillée.
HCl (0,01M)	0.0826ml d'HCl 37% est ajusté à 1litre avec l'eau distillée.
FeCl3 (0,01M dans HCl 0,01 M)	Dissoudre 1,62gde FeCl3 dans 1litre HCl à 0,01M.
Chlorure d'Aluminium (ALCl3 2%,P/V)	2g ALCl3.6H2O dans 100ml de méthanol
Réactif Bouchardat	2g de l'iode bisubliné (I2) +2 g de KI ajusté a 100 ml de l'eau distillée.
Chlorure ferrique (FeCl3) à 2%	2g de FeCl3 ajusté à 100 ml d'eau distillée.
Réactif de phénolphtaléine	0.5 g de phénolphtaléine dans 50 ml de l'eau distillée et 50 ml l'éthanol absolu.
Eau physiologie	9g NaCl dissoudre dans 1000 ml d'eau distillée.
Préparation du MRS	Dissoudre 35.15 g de poudre de MRS dans 500 ml d'eau distillée.
Cystéine	0,5g de cystéine ajustée 10 ml d'eau distillée.
Solution de carbonate de sodium(NO2CO3) 75g /l.	7.5 g de carbonate de sodium ajusté à 100 ml d'eau distillée.
FeCl2 (2H2O) 2mM	0.025g de FeCl2 (2H2O) dans 100ml d'eau distillée.
Ferrozine 5mM	0.123gde ferrozine dans 50ml d'eau distillée
EDTA	0.005965 mg dans un 1ml d'eau distillée
BHT	25 µg dans 100 ml d'eau Distillé
Solution DPPH (65µM/L)	0,0024 µg dans 100ml méthanol pure
Chlorure ferrique (Fe Cl3) à 0.1%(P/V)	0.1g de FeCl3 dans 100ml d'eau distillée
Vanilline HCL	Ça préparation est faite juste avant utilisation en mélangeant à volume équivalent la solution de vanilline à 5,8% et la solution d'HCl 24%.
Catalyseur	2g de sélénium, 20g de sulfate de cuivre, 80g de sulfate de potassium
Acide borique 4%	20 g H3Bo3 dans 500 ml
NaoH 40%	400g /l dans 1 litre d'eau distillé

Annexe III

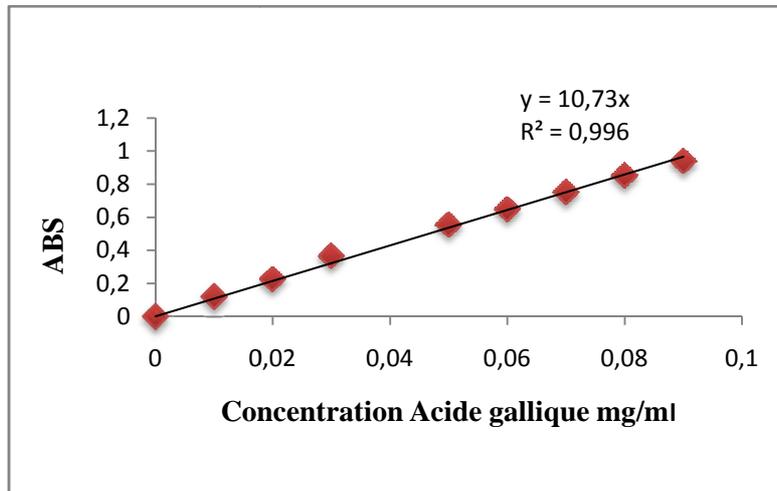


Figure 32 : Courbe d'étalonnage de dosages des phénols totaux solubles.

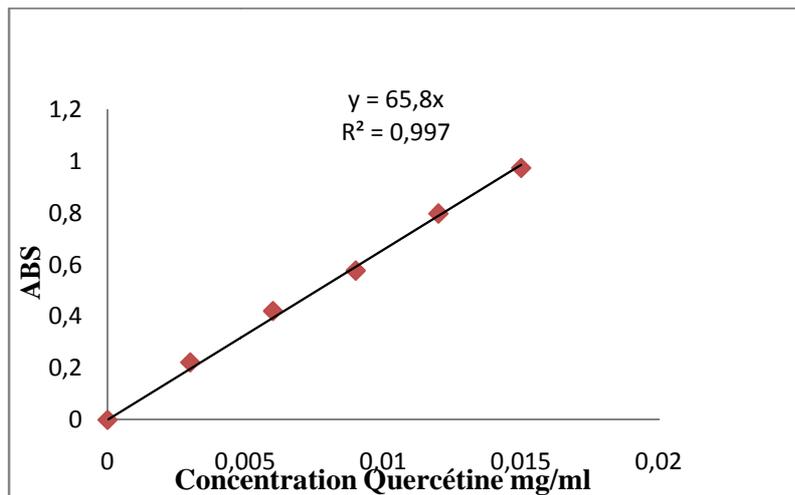
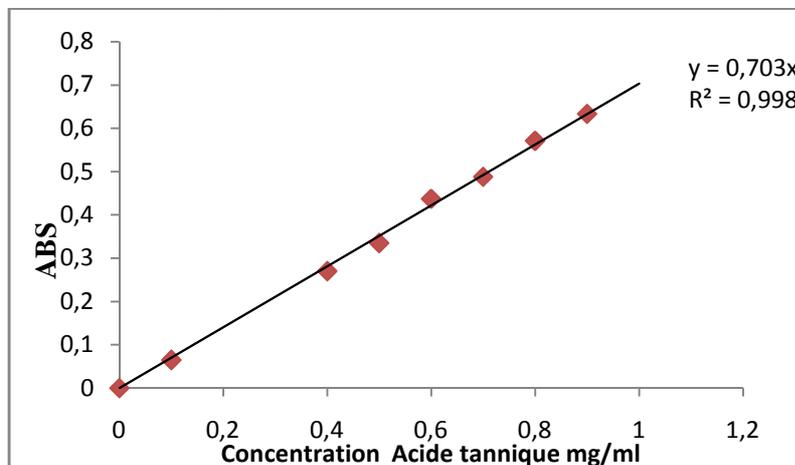


Figure 33: Courbe d'étalonnage de dosage des flavonoïdes



Annexes

Figure 34 : Courbe d'étalonnage des tannins hydrolysable

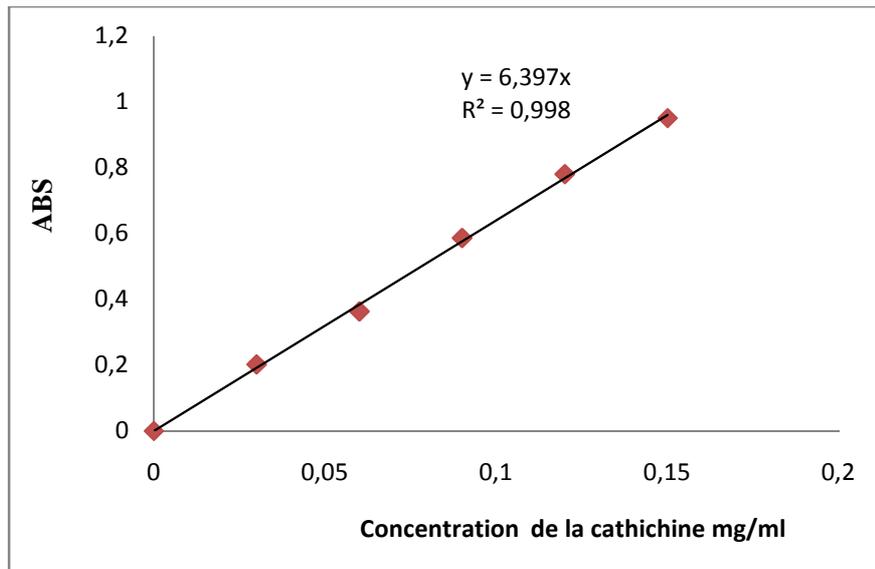


Figure 35: Courbe d'étalonnage de dosage des tanins condensé

Annexe IV

Résultats des analyses statistiques de l'activité antiradicalaire par le logiciel STATISTICA :

Univariate Tests of Significance for DPPH (adstudy.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	Degr. of	SS	Freedom	MS	F	p
Intercept		91020,17	1	91020,17	136530,2	,000000
ECHANTI		8,17	1	8,17	12,3	,024896
Error		2,67	4	,67		

LSD test; variable DPPH (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = ,66667, df = 4,0000

		DPPH		
	ECHANTI	Mean	1	2
2	M	122,0000	****	0,00

Annexes

1 BHT 124,3333 0,00

Résultats des analyses statistiques de pouvoir réducteur par le logiciel STATISTICA

Univariate Tests of Significance for CHELATIO (adstudy.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	Degr. of				
	SS	Freedom	MS	F	p
Intercept	99073,50	1	99073,50	99073,50	,000000
ECHANTI	13,50	1	13,50	13,50	,021312
Error	4,00	4	1,00		

LSD test; variable CHELATIO (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = 1,0000, df = 4,0000

CHELATIO					
	ECHANTI	Mean	1	2	
2	M	127,0000	****	0,00	
1	EDTA	130,0000		0,00	

PH

Univariate Tests of Significance for PH_14J (adstudy.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	Degr. of				
	SS	Freedom	MS	F	p
Intercept	63037,50	1	63037,50	63037,50	,000000
ECHANTI	13,50	1	13,50	13,50	,021312
Error	4,00	4	1,00		

Annexes

LSD test; variable PH_1J (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = 1,0000, df = 4,0000

PH_1J				
	ECHANTI	Mean	1	2
2	YT	101,0000	****	0,00
1	YM	104,0000		0,00

LSD test; variable PH_14J (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = 1,0000, df = 4,0000

PH_14J				
	ECHANTI	Mean	1	2
2	YT	101,0000	****	0,00
1	YM	104,0000		0,00

Univariate Tests of Significance for PH_28J (adstudy.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	109080,2	1	109080,2	163620,3	,000000
ECHANTI	8,2	1	8,2	12,3	,024896
Error	2,7	4	,7		

LSD test; variable PH_28J (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = ,66667, df = 4,0000

PH_28J

Annexes

	ECHANTI	Mean	1	2
2	YT	100,6667	****	0,00
1	YM	103,0000		0,00

Univariate Tests of Significance for ACIDE_1J (adstudy.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	Degr. of				
	SS	Freedom	MS	F	p
Intercept	21480,17	1	21480,17	1464,557	,000003
ECHANTI	840,17	1	840,17	57,284	,001634
Error	58,67	4	14,67		

LSD test; variable ACIDE_1J (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = 14,667, df = 4,0000

ACIDE_1J

	ECHANTI	Mean	1	2
2	YT	48,00000	****	0,00
1	YM	71,66667		0,00

LSD test; variable ACID_14J (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = 21,333, df = 4,0000

ACID_14J

Annexes

	ECHANTI	Mean	1
2	YT	86,66667	****
1	YM	95,66667	****

Synérese

Univariate Tests of Significance for SYNER_1J (adstudy.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	Degr. of				
	SS	Freedom	MS	F	p
Intercept	29821,50	1	29821,50	29,99145	,005411
ECHANTI	204,17	1	204,17	,20533	,673945
Error	3977,33	4	994,33		

LSD test; variable SYNER_1J (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = 994,33, df = 4,0000

SYNER_1J

	ECHANTI	Mean	1
2	YT	64,66667	****
1	YM	76,33333	****

Univariate Tests of Significance for SYNER_14 (adstudy.sta)

Sigma-restricted parameterization

Annexes

Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	56066,67	1	56066,67	76,00542	,000953
ECHANTI	912,67	1	912,67	1,23723	,328346
Error	2950,67	4	737,67		

LSD test; variable SYNER_14 (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = 737,67, df = 4,0000

SYNER_14			
	ECHANTI	Mean	
2	YT	84,3333	****
1	YM	109,0000	****

Univariate Tests of Significance for SYNER28J (adstudy.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	53204,17	1	53204,17	18,90583	,012175
ECHANTI	888,17	1	888,17	,31561	,604247
Error	11256,67	4	2814,17		

LSD test; variable SYNER28J (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = 2814,2, df = 4,0000

SYNER28J

Annexes

	ECHANTI	Mean	1
1	YM	82,0000	****
2	YT	106,3333	****

Dénombrément

Univariate Tests of Significance for DENOM_1J (adstudy.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	Degr. of				
	SS	Freedom	MS	F	p
Intercept	73261,50	1	73261,50	73261,50	,000000
ECHANTI	13,50	1	13,50	13,50	,021312
Error	4,00	4	1,00		

LSD test; variable DENOM_1J (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = 1,0000, df = 4,0000

DENOM_1J					
	ECHANTI	Mean	1	2	
2	YT	109,0000	****	0,00	
1	YM	112,0000		0,00	

Univariate Tests of Significance for DENOM_14 (adstudy.sta)

Sigma-restricted parameterization

Annexes

Effective hypothesis decomposition

	Degr. of		MS	F	p
	SS	Freedom			
Intercept	77293,50	1	77293,50	77293,50	,000000
ECHANTI	13,50	1	13,50	13,50	,021312
Error	4,00	4	1,00		

LSD test; variable DENOM_14 (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = 1,0000, df = 4,0000

DENOM_14				
	ECHANTI	Mean	1	2
2	YT	112,0000	****	0,00
1	YM	115,0000		0,00

Univariate Tests of Significance for DENOM_28 (adstudy.sta)

Sigma-restricted parameterization

Effective hypothesis decomposition

	Degr. of		MS	F	p
	SS	Freedom			
Intercept	122408,2	1	122408,2	52460,64	,000000
ECHANTI	1,5	1	1,5	,64	,467605
Error	9,3	4	2,3		

LSD test; variable DENOM28 (adstudy.sta)

Homogenous Groups, alpha = ,05000

Error: Between MS = ,66667, df = 4,0000

Annexes

DENOM28

	ECHANTI	Mean	1	2
2	YT	100,3333	****	0,00
1	YM	103,0000		0,00

Références Bibliographiques

Adebola, O. O., Corcoran, O., & Morgan, W. A. (2014). Synbiotics: the impact of potential prebiotics inulin, lactulose and lactobionic acid on the survival and growth of lactobacilli probiotics. *Journal of Functional Foods*, 10, 75-84.

Agostoni, C., Axelsson, I., Braegger, C., Goulet, O., Koletzko, B., Michaelsen, K. F., Rigo, J., Shamir, R., Szajewska, H., & Turck, D. (2004). Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 38(4), 365-374.

Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., & Hassan, F. A. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1542-1553.

Alhakmani, F., Kumar, S., & Khan, S. A. (2013). Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(8), 623-627.

Amado, R. G., Wolf, M., Peeters, M., Van Cutsem, E., Siena, S., Freeman, D. J., Juan, T., Sikorski, R., Suggs, S., & Radinsky, R. (2008). Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *Journal of clinical oncology*, 26(10), 1626-1634.

Amana, E. K. (2007). Les anacardiaceae du Togo: études botaniques, écologiques et propriétés antifongiques.

Aryana, K. J., & McGrew, P. (2007). Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *LWT-Food science and Technology*, 40(10), 1808-1814.

Aziman, N., Abdullah, N., Noor, Z. M., Zulkifli, K. S., & Kamarudin, W. S. S. W. (2012). Phytochemical constituents and in vitro bioactivity of ethanolic aromatic herb extracts. *Sains Malaysiana*, 41(11), 1437-1444.

Bate-Smith, E. (1973). Haemanalysis of tannins: the concept of relative astringency. *Phytochemistry*, 12(4), 907-912.

Berger, C., Song, Z., Li, X., Wu, X., Brown, N., Naud, C., Mayou, D., Li, T., Hass, J., & Marchenkov, A. N. (2006). Electronic confinement and coherence in patterned epitaxial graphene. *Science*, 312(5777), 1191-1196.

Blaut, M. (2002). Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. *European Journal of Nutrition*, 41(1), i11-i16.

Bodinier, M., & Gourbeyre, P. (2012). Les prébiotiques: une stratégie pour lutter contre les allergies? *La Lettre d'oto-rhino-laryngologie et de chirurgie cervico-faciale*(331), 27-33.

Boizot, N., & Charpentier, J.-P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, 79-82.

Bonkougou, E. G. (2001). Biodiversity in drylands: Challenges and opportunities for conservation and sustainable use. Challenge Paper. The Global Drylands Initiative, UNDP Drylands Development Centre, Nairobi, Kenya.

Boudjou, S., Zaidi, F., Hosseinian, F., & Oomah, B. D. (2014). Effects of faba bean (*Vicia faba* L.) flour on viability of probiotic bacteria during kefir storage. *Journal of Food Research*, 3(6), 13.

Bouhnik, Y., Flourié, B., D'Agay-Abensour, L., Pochart, P., Gramet, G., Durand, M., & Rambaud, J.-C. (1997). Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *The Journal of nutrition*, 127(3), 444-448.

Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., & Marzouk, B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies*, 331(1), 48-55.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Broin, M. (2005). Composition nutritionnelle des feuilles de *Moringa oleifera*. In: *Moringanews*.

Charoensin, S. (2014). Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(7), 318-325.

Cherbut, C. (2003). Prébiotiques et fonctions gastro-intestinales: revue des effets et des perspectives. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 38(6), 346-354.

De Saint Sauveur, A., & Broin, M. (2006). L'utilisation des feuilles de *Moringa oleifera* contre les carences alimentaires: un potentiel encore peu valorisé. Atelier international «*Moringa* et autres végétaux à fort potentiel nutritionnel: Stratégies, normes et marchés pour un meilleur impact sur la nutrition en Afrique». Accra, Ghana.

De Saint Sauveur, A., & Broin, M. (2010). *Moringanews*, Moringa Association of Ghana. Produire et transformer les feuilles de *Moringa*. Editions CTA, CDE.

Deogade, U. M., Deshmukh, V. N., & Sakarkar, D. M. (2012). Natural gums and mucilage's in NDDS: applications and recent approaches. *Int J PharmTech Res*, 4(2), 799-814.

Deore, S., & Khadabadi, S. (2008). Standardisation and pharmaceutical evaluation of *Chlorophytum borivilianum* mucilage. *Rasayan J Chem*, 1(4), 887-892.

Deshpande, S. S., Cheryan, M., Salunkhe, D., & Luh, B. S. (1986). Tannin analysis of food products. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 24(4), 401-449.

Desmond, C., Corcoran, B., Coakley, M., & Fitzgerald, G. (2005). Development of dairy-based functional foods containing probiotics and prebiotics. *Australian journal of dairy technology*, 60(2), 121.

Divekar, V., Kalaskar, M., Chougule, P., Redasani, V., & Baheti, D. (2010). Isolation and characterization of mucilage from *Lepidium sativum* linn seeds. *International Journal of Pharmaceutical Research & Development*, 2(1), 1-5.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.

Do Espirito Santo, A. P., Silva, R. C., Soares, F. A., Anjos, D., Gioielli, L. A., & Oliveira, M. N. (2010). Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. *International Dairy Journal*, 20(6), 415-422.

Doleyres, Y., Paquin, C., LeRoy, M., & Lacroix, C. (2002). *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 cell production during free-and immobilized-cell cultures in MRS-whey permeate medium. *Applied microbiology and biotechnology*, 60(1-2), 168-173.

Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S., Feeney, M., Flynn, S., Fitzgerald, G., & Daly, C. (2001). In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *The American journal of clinical nutrition*, 73(2), 386s-392s.

Dupont, C. (2002). Probiotiques et prébiotiques. *Médecine thérapeutique/Pédiatrie*, 5(1), 49-53.

Fahey, J. W. (2005). *Moringa oleifera*: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. *Trees for life Journal*, 1(5), 1-15.

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

Francis, G., Makkar, H. P., & Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199(3), 197-227.

Fuglie, L. (2001). Combating malnutrition with Moringa. The miracle tree: the multiple attributes of Moringa. CTA Publication, Wageningen, the Netherlands, 117-136.

Gagnon, M. (2007). Rôle des probiotiques lors d'infections entériques d'origine bactérienne et virale: analyses in vitro et études in vivo chez des modèles murins. Université Laval.

Gamatié, M. (2005). Description des filières feuilles de Moringa au Niger. CTA, 5p, disponible sur <http://www.moringanews.org>. Consulté le, 26(09), 2013.

Garba, K., Adeoti, K., Glodjinon, N., Babamoussa, F., & Toukourou, F. (2015). Effet variétal sur les paramètres physico-chimiques de l'huile d'Agonlin (Benin) issue du processus artisanal de transformation de l'arachide. *Nature & Technology*(13), 35.

Genestie, B. (2006). Optimisation de la production d'arabinoxyloligosaccharides d'intérêt biologique à partir de sons de céréales: approches méthodologiques. Limoges.

Giannozzi, P., Baroni, S., Bonini, N., Calandra, M., Car, R., Cavazzoni, C., Ceresoli, D., Chiarotti, G. L., Cococcioni, M., & Dabo, I. (2009). QUANTUM ESPRESSO: a modular and open-source software project for quantum simulations of materials. *Journal of physics: Condensed matter*, 21(39), 395502.

Goyal, B. R., Agrawal, B. B., Goyal, R. K., & Mehta, A. A. (2007). Phytopharmacology of *Moringa oleifera* Lam.—an overview.

Guarner, F., & Khan, A. G. (2008). Recommandation pratique: Probiotiques et Prébiotiques. Organisation mondiale de gastroentérologie.

Gueimonde, M., & Salminen, S. (2006). New methods for selecting and evaluating probiotics. *Digestive and Liver Disease*, 38, S242-S247.

Haddouchi, F., Chaouche, T., & Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.

HadiNezhad, M., Duc, C., Han, N. F., & Hosseinian, F. (2013). Flaxseed soluble dietary fibre enhances lactic acid bacterial survival and growth in kefir and possesses high antioxidant capacity. *Journal of Food Research*, 2(5), 152.

Hagerman, A. E. (2002). Hydrolyzable tannin structural chemistry. *Tannin handbook*, 1-5.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.

Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., & Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American journal of clinical nutrition*, 73(2), 365s-373s.

Iserin, P., Masson, M., & Restillini, J. (2001). Larousse des plantes médicinales, identification. préparation et.

Jaenisch, R., & Bird, A. (2003). Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature genetics*, 33, 245-254.

Joint, F. (2002). WHO Working Group: Guidelines for the evaluation of probiotics in food: report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, ON, Canada.

Jongrungruangchok, S., Bunrathep, S., & Songsak, T. (2010). Nutrients and minerals content of eleven different samples of *Moringa oleifera* cultivated in Thailand. *J Health Res*, 24(3), 123-127.

Kaplan, H., & Hutkins, R. W. (2000). Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), 2682-2684.

Karou, D., Dicko, M. H., Simporé, J., & Traore, A. S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, 4(8), 823-828.

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

Kjeldahl, J. (1883). A new method for the determination of nitrogen in organic matter. *Z. Anal. Chem*, 22(1), 366-382.

Klaenhammer, T. R., & Kullen, M. J. (1999). Selection and design of probiotics. *International journal of food microbiology*, 50(1), 45-57.

Kooltheat, N., Sranujit, R. P., Chumark, P., Potup, P., Laytragoon-Lewin, N., & Usuwanthim, K. (2014). An ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* Lam. inhibits human macrophage cytokine production induced by cigarette smoke. *Nutrients*, 6(2), 697-710.

Lai, L.-S., & Liang, H.-Y. (2012). Chemical compositions and some physical properties of the water and alkali-extracted mucilage from the young fronds of *Asplenium australasicum* (J. Sm.) Hook. *Food hydrocolloids*, 26(2), 344-349.

Laleye, O. A. F., Ahissou, H., Olounlade, A. P., Azando, E. V. B., & Laleye, A. (2015). Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(5), 2682-2700.

Lamoureux, L. (2001). Exploitation de l'activité β -galactosidase de cultures de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides: Université Laval.

Léauté-Labrèze, C., de la Roque, E. D., Hubiche, T., Boralevi, F., Thambo, J.-B., & Taïeb, A. (2008). Propranolol for severe hemangiomas of infancy. *New England Journal of Medicine*, 358(24), 2649-2651.

Liu, Y., Zhao, J., Li, Z., Mu, C., Ma, W., Hu, H., Jiang, K., Lin, H., Ade, H., & Yan, H. (2014). Aggregation and morphology control enables multiple cases of high-efficiency polymer solar cells. *Nature communications*, 5.

Madi, O. P., Bourou, S., & Woin, N. (2012). Utilisations et importances socio-économiques du *Moringa oleifera* Lam. en zone de savanes d'Afrique Centrale. Cas de la ville de Maroua au Nord-Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 60, 4421-4432.

Makkar, H., & Becker, K. (1996). Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Animal feed science and technology*, 63(1-4), 211-228.

Makkar, H., & Becker, K. (1997). Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *The Journal of Agricultural Science*, 128(03), 311-322.

Mansaly, S. (2001). Récupération nutritionnelle et impact de consommation de la poudre de *Moringa oleifera* dans la consultation primaire et curative. Clinique Santiaba à Ziguinchor, Sénégal, 2p, disponible sur <http://www.moringanews.org>. Consulté le, 12(10), 2013.

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

Mercenier, A., Pavan, S., & Pot, B. (2003). Probiotics as biotherapeutic agents: present knowledge and future prospects. *Current pharmaceutical design*, 9(2), 175-191.

Metchnikoff, E. (1893). Lectures on the comparative pathology of inflammation: delivered at the Pasteur Institute in 1891: Рипол Классик.

Mole, S., & Waterman, P. G. (1987). Tannins as Antifeedants to Mammalian Herbivores—Still an Open Question? In): ACS Publications.

Morton, J. F. (1991). The horseradish tree, *Moringa pterygosperma* (Moringaceae) a boon to arid lands? *Economic botany*, 45(3), 318-333.

Moyo, B., Masika, P. J., Hugo, A., & Muchenje, V. (2011). Nutritional characterization of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology*, 10(60), 12925-12933.

Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N., & Ignacimuthu, S. (2006). Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and ethnomedicine*, 2(1), 43.

Najgebauer-Lejko, D., Sady, M., Grega, T., & Walczycka, M. (2011). The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt. *International Dairy Journal*, 21(8), 568-574.

Nobre, C., Teixeira, J., & Rodrigues, L. (2012). Fructo-oligosaccharides purification from a fermentative broth using an activated charcoal column. *New biotechnology*, 29(3), 395-401.

Norshazila, S., Syed Zahir, I., Mustapha Suleiman, K., Aisyah, M., & Kamarul Rahim, K. (2010). Antioxidant levels and activities of selected seeds of Malaysian tropical fruits. *Malaysian journal of nutrition*, 16(1).

Nweze, N. O., & Nwafor, F. (2014). Phytochemical, proximate and mineral composition of leaf extracts of *Moringa oleifera* Lam. from Nsukka, South-Eastern Nigeria. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9(1), 99-103.

Ogunsina, B. S., Radha, C., & Govardhan Singh, R. S. (2010). Physicochemical and functional properties of full-fat and defatted *Moringa oleifera* kernel flour. *International journal of food science & technology*, 45(11), 2433-2439.

Ouwehand, A. C., Salminen, S., & Isolauri, E. (2002). Probiotics: an overview of beneficial effects. In *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications*, (pp. 279-289): Springer.

Pereira, H. (2013). Variability of the chemical composition of cork. *BioResources*, 8(2), 2246-2256.

Pointurier, F., Baglan, N., Alanic, G., & Chiappini, R. (2003). Determination of organically bound tritium background level in biological samples from a wide area in the south-west of France. *Journal of environmental radioactivity*, 68(2), 171-189.

Purwandari, U., Shah, N., & Vasiljevic, T. (2007). Effects of exopolysaccharide-producing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological and rheological properties of set-type yoghurt. *International Dairy Journal*, 17(11), 1344-1352.

Rada-Mendoza, M., Sanz, M. a. L., Olano, A. n., & Villamiel, M. (2004). Formation of hydroxymethylfurfural and furosine during the storage of jams and fruit-based infant foods. *Food chemistry*, 85(4), 605-609.

Rajangam, J., Azahakia Manavalan, R., Thangaraj, T., Vijayakumar, A., & Muthukrishan, N. (2002). Production et utilisation du Moringa en Inde du sud: la situation actuelle.

Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris. Francia.

Richter, L. M. (2003). Baby rape in South Africa. *Child Abuse Review*, 12(6), 392-400.

Roberfroid, M. (2007). Probiotics: the concept revisited. *The Journal of nutrition*, 137(3), 830S-837S.

Roussos, P. A., Sefferou, V., Denaxa, N.-K., Tsantili, E., & Stathis, V. (2011). Apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruit quality attributes and phytochemicals under different crop load. *Scientia Horticulturae*, 129(3), 472-478.

Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of biotechnology*, 84(3), 197-215.

Saha, K., Agasti, S. S., Kim, C., Li, X., & Rotello, V. M. (2012). Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. *Chemical reviews*, 112(5), 2739.

Saint Sauveur, A. d., & Broin, M. (2010). Produire et transformer les feuilles de moringa.

Sánchez-Machado, D. I., Núñez-Gastélum, J. A., Reyes-Moreno, C., Ramírez-Wong, B., & López-Cervantes, J. (2010). Nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*. *Food analytical methods*, 3(3), 175-180.

Saulnier, D. M., Ringel, Y., Heyman, M. B., Foster, J. A., Bercik, P., Shulman, R. J., Versalovic, J., Verdu, E. F., Dinan, T. G., & Hecht, G. (2013). The intestinal microbiome, probiotics and prebiotics in neurogastroenterology. *Gut microbes*, 4(1), 17-27.

Schrezenmeir, J., & de Vrese, M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. *The American journal of clinical nutrition*, 73(2), 361s-364s.

Sepúlveda, E., Sáenz, C., Aliaga, E., & Aceituno, C. (2007). Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of Arid Environments*, 68(4), 534-545.

Shah, V. P., Midha, K. K., Findlay, J. W., Hill, H. M., Hulse, J. D., McGilveray, I. J., McKay, G., Miller, K. J., Patnaik, R. N., & Powell, M. L. (2000). Bioanalytical method validation—a revisit with a decade of progress. *Pharmaceutical research*, 17(12), 1551-1557.

Shori, A., & Baba, A. S. (2013). Antioxidant activity and inhibition of key enzymes linked to type-2 diabetes and hypertension by *Azadirachta indica*-yogurt. *Journal of Saudi Chemical Society*, 17(3), 295-301.

Siddhuraju, P., & Becker, K. (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(8), 2144-2155.

Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 89(2), 191-198.

Soulama, S., Sanon, H. O., Meda, R., & Boussim, J. I. (2014). Teneurs en tanins de 15 ligneux fourragers du Burkina Faso. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10(4), 180-190.

Srisuvor, N., Chinprahast, N., Prakitchaiwattana, C., & Subhimaros, S. (2013). Effects of inulin and polydextrose on physicochemical and sensory properties of low-fat set yoghurt with probiotic-cultured banana purée. *LWT-Food science and Technology*, 51(1), 30-36.

Sun-Waterhouse, D., Zhou, J., & Wadhwa, S. S. (2013). Drinking yoghurts with berry polyphenols added before and after fermentation. *Food Control*, 32(2), 450-460.

Tchiégang, C., & Aissatou, K. (2004). Données ethn nutritionnelles et caractéristiques physico-chimiques des légumes-feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun). *Tropicultura*, 22(1), 11-18.

Tseng, A., & Zhao, Y. (2013). Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. *Food chemistry*, 138(1), 356-365.

Tuohy, K.M., Probert, H. M., Smejkal, C. W., & Gibson, G. R. (2003). Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug discovery today*, 8(15), 692-700.

Wang,J., & Zhang, L. (2009). Structure and chain conformation of five water-soluble derivatives of a β -D-glucan isolated from *Ganoderma lucidum*. *Carbohydrate Research*, 344(1), 105-112.

Weese,J. S. (2002). Microbiologic evaluation of commercial probiotics. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220(6), 794-797.

Wongputtisin,P.,&Khanongnuch, C. (2015). Prebiotic properties of crude oligosaccharide prepared from enzymatic hydrolysis of basil seed gum. *Food Science and Biotechnology*, 24(5), 1767-1773.

Yadav,R., & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of phytology*, 3(12).

Résumé

Moringa oleifera ou « arbre de la vie » est un arbre appartenant à la famille des moringacées, originaire d'Inde. Est une plante d'intérêt nutritionnel et médicinal, qui se trouve dans les régions tropicales. Le présent travail a pour but de déterminer la composition chimique globale de la poudre de moringa taux d'humidité (8.93%), cendres (9.82%) ,matière grasse (8.52%),protéines brute (24.64%), et la teneur en composés phénoliques du mucilage brute de Moringa (phénols totaux solubles 116.74 mg Eq AG / g, flavonoïdes 2.47 mg Eq Q/g , tannins hydrolysables 117.31 mg Eq AT / g et tannins condensé 1.59 mg Eq CAT / g) extrait par eau distillé. Les feuilles de *Moringa oleifera* provient du sud Algérien, ainsi la mise en évidence de quelque métabolites secondaires (saponines, alcaloïdes, terpénoïdes et tannins) et détermination de l'activité antioxydante (activité antiradicalaire (89.10%), pouvoir chélateur (27.84 %), évaluer l'effet prébiotique du mucilage brut de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sur la viabilité des probiotiques. Nous avons réalisé un suivi de 28 jours de stockage à froid de la viabilité des probiotiques dans le yaourt additionné avec le mucilage brut pendant les 28 jours du stockage est significativement plus élevée ($p < 0.05$) par rapport à celle du témoin. Des différences significatives ($p < 0,05$) du pH et de l'acidité, y'a pas de différence significative ($p > 0,05$) du synérese.

Mots clés : *Moringa oleifera*, Composés phénoliques, Activités antioxydante, effets prébiotiques.

Abstract

Moringa oleifera or "tree of life" is a tree belonging to the Moringaceae family, is a nutritional and medicinal plant, which is located in tropical regions. This work aims to determine the overall chemical composition of moringa leaves powder (crude moisture (8.93%), ash (9.82%) , fat (8.52%), crude protein (24.64%), the phenolic content of mucilage extracts of moringa (soluble total phenols 116.74 mg Eq AG / g , flavonoids 2.47 mg Eq Q/g , hydrolysable tannins 117.31 mg Eq AT / g and condensed tannins 1.59 mg Eq CAT / g) extracted with distilled water. leaves of *Moringa* come from southern Algeria, identification of some of some secondary metabolites (saponins, alkaloids, terpenoids and tannins) and to determine the antioxidant activity (radical scavenging activity (89.10%), power chelator (27.84 %), evaluate the prebiotic effect of crude mucilage powder of *Moringa oleifera* leaves on the viability of probiotics in the yoghurt supplemented with crude mucilage during the 28 days of storage was significantly higher ($p < 0.05$) compared to the control. Significant differences ($p < 0.05$) pH and acidity, there is no significant difference ($P > 0.05$) of synérese.

Keywords: *Moringa oleifera*, phenolic compounds, antioxidant activities, prebiotic effects.