

Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Effet de traitement sur le potentiel
prebiotiques et l'activité antimicrobienne
de la poudre de feuilles de *Moringa
oleifera.***

Présenté par :

AISSANI Amel & KHEMIS Ilhem

Soutenu le : **29 Juin 2019**

Devant le jury composé de :

M. Zaidi Farid.

Mme. Meziani S.

Mme. Bouadam B.

Professeur

MCB

MAA

Président

Encadreur

Examinatrice

Année universitaire : 2018 / 2019

Dédicaces



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

Je dédie ce travail:

A ma très chère mère

Quoi que je fasse ou je dise, je ne saurais point te remercier comme il se doit ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés à toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher père

Tu étais et tu est toujours a mes coté pour me soutenir et m'encourager que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A mes très chers frères: **Fouad, Nabil, Faiz**, que dieu vous gardes pour moi.

A madame Meziani saida

Qui m'a beaucoup appris sur les défis à révéler dans le monde professionnel, elle a partagé ses connaissances et expérience dans ce milieu, tout en m'accordant sa confiance.

A mon binôme Ilhem

Pour ca confiance et sa sympathie, elle ma supporté tout le long de ce travaille.

A mes très chères copines: **Chanaz et Lydia, Nawel** qui n'ont cesse de m'encourager d'aller à l'avant affïn de réussir.

A mon ami : **Doudine** .

A Houria Messoudi

Qui m'a aider au long de ces 9ans de travail, pour son soutien et son encouragement d'aller plus loin.

A ceux qui me sont chères et qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.

Amel



Dédicaces



Je dédie ce modeste travail

A ma chère mère : Ouardia

A mon cher père : Omar

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prière à mon égard de me soutenir.

Et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs

A mes frères: Akli, Didou, Anis.

*A mes chères sœurs : Sabrina, Sana, Zakia, Lynda et son époux Nacer et sa fille
Bouchera.*

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A ma chère binôme : AISSANI Amel.

Pour son entente et sa sympathie

Pour leur indéfectible soutien et leurs patiences infinies.

A mon amie : Fouzi SEFIA

Qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.

A mes chères amis : Chafik, Lydia, Hanane.

A mes chères copines de chambres : Cylia et Djida

A toute ma famille.

A tous mes autres amis.

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment

Ilham



Remerciements



Notre profond remerciement au bon dieu qui a éclairé notre chemin et qui nous a donné la foi et le courage pour réaliser ce travail.

Nos remerciements s'adressent plus particulièrement à M^{dm} Meziani S. qui a bien accepté de diriger ce mémoire. Ses remarques, ses précieux conseils et ses corrections nous ont été d'une grande utilité. Et, nous lui savons franchement gré pour ses permanents contacts. Nous lui disons « Merci ».

Un très grand merci pour le professeur Zaidi F. qui nous a fait l'honneur d'assurer le président du jury et nous lui sommes très reconnaissantes pour la compétence avec laquelle il nous a dirigé, de avoir accueillis dans son laboratoire, pour ça grande disponibilité, ses précieux conseils et surtout pour la confiance qu'il nous a accordé.

Nous adressons également nos grands remerciements à M^{dn} Bouadam B, qui a bien voulu faire partie du jury et d'apporter ces vives contribution à l'enrichissement de ce travail.

Un grand merci pour l'aide précieux de M^r Battache et M^r Bensaid.

Nous remercions les membres du laboratoire microbiologie plus particulièrement M^{dn} Benachour pour leur accueil.

Nous exprimons notre profonde gratitude à toute personne qui, de près ou de loin, a contribué à la réalisation de ce travail.



Liste des abréviations

- Abs :** Absorbance.
- BN :** Bouillon nutritive.
- BMH:** Bouillon Muller-Hinton.
- BMRS :** Bouillon Man Rogosa Sharpe.
- CMI :** Concentration minimale inhibitrice.
- DNS :** acide 3,5-dinitro-salysilique.
- EAT :** Equivalent acide tannique.
- EAG :** Equivalent acide gallique.
- ECTA :** Equivalent catéchine.
- Ech :** Echantillon.
- ED:** Eau distillée.
- EG :** Equivalent Glucose.
- EQ :** Equivalent Quercétine.
- FAO:** Food and Agriculture Organization.
- MO:** *Moringa oleifera*.
- MH:** Muller Hinton.
- MRS:** Man-Rogosa-Sharpe.
- MS :** Matière sèche.
- M :** masse.
- T :** Témoin.
- TH :** Taux d'humidité.
- TAA:** Taux d'acidité titrable.
- UFC :** Unité Formant Colonies.
- Ø :** diamètre.
- % :** Pourcentage.
- 80°C/15 min:** Traitement de la poudre de feuilles de *Moringa* à 80°C pendant 15 minutes.
- 80°C/30 min:** Traitement de la poudre de feuilles de *Moringa* à 80°C pendant 30 minutes.
- 100°C/15 min:** Traitement de la poudre de feuilles de *Moringa* à 100°C pendant 15 minutes.
- 100°C/30 min:** Traitement de la poudre de feuilles de *Moringa* à 100°C pendant 30 minutes.

Liste des figures

Pages

| | |
|---|----|
| Fig. 01 : Distribution de <i>Moringa oleifera</i> dans le monde. | 3 |
| Fig. 02 : Différentes parties de <i>Moringa oleifera</i> :a) arbre ;b) l'ensemble des feuilles ; c) fleurs ;d) gousse ;e) graine ; f) racine ; e) Tronc. | 4 |
| Fig. 03 : Composés nutritifs, médicinaux et chimique trouvés dans <i>Moringa oleifera</i> | 5 |
| Fig. 04 :Les principaux domaine d'utilisation des différents parties de l'arbre Moringa..... | 6 |
| Fig. 05 : Protocole d'extraction des sucres totaux | 16 |
| Fig. 06 : Protocole de dosage des sucres totaux | 17 |
| Fig. 07 : Protocole d'extraction des prébiotiques | 17 |
| Fig.08 : Protocole de dosage des phénols totaux solubles | 18 |
| Fig. 09 : Protocole de dosage des flavonoïdes | 19 |
| Fig. 10 : Protocole de dosage des tanins hydrolysables | 20 |
| Fig. 11 : Protocole de dosage des tanins condensés | 20 |
| Fig. 12 : Protocole de la digestion acide | 21 |
| Fig. 13 : Protocole de la digestion enzymatique | 22 |
| Fig. 14 : Taux d'humidité des de <i>M. oleifera</i> poudres de feuilles..... | 26 |
| Fig. 15 : Valeurs du pH des poudres et des mucilages. | 27 |
| Fig. 16 : L'acidité titrable des poudres et des mucilages..... | 28 |
| Fig. 17 : Taux de sucres des poudres de feuilles de <i>Moringa oleifera</i> | 28 |
| Fig. 18 : Teneurs en sucres totaux des mucilages..... | 29 |
| Fig.19 : Teneurs en phénols solubles totaux des mucilages..... | 30 |
| Fig. 20 : Teneurs en Flavonoïdes des mucilages..... | 31 |
| Fig. .21 Teneurs en Tanins condensés en en tanins hydrolysables des mucilages..... | 31 |
| Fig. 22 : Teneurs des mucilages en sucres non digestibles..... | 34 |
| Fig. 23 : Effet antibactérien des mucilages bruts des feuilles de <i>M. oleifera</i> sur <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> | 36 |
| Fig. 24 : Effet antibactérien des mucilages bruts des feuilles de <i>M. oleifera</i> sur <i>Lb</i> et <i>Lp.</i> | 36 |

Liste des tableaux

Pages

| | |
|---|----|
| Tableau I : La systématique de <i>Moringa oleifera</i> | 3 |
| Tableau II : Les micro-organismes utilisés dans les produits probiotiques dans le monde..... | 9 |
| Tableau III : Les souches bactériennes testées..... | 23 |
| Tableau IV : Mise en évidence des alcaloïdes, des saponines et des Terpenoides..... | 23 |
| Tableau V : Activité antimicrobienne des extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i> sur <i>E. Coli</i> et <i>S. aureus</i> | 35 |
| Tableau VI : Activité antimicrobienne des extraits de feuilles de <i>M. oleifera</i> sur <i>L. bulgaricus (Lb)</i> et <i>L. plantarum Lactobacillus bulgaricus</i> | 35 |
| Tableau VII: Concentrations minimales inhibitrices des extraits de feuilles de <i>Moringa oleifera</i> sur <i>Ecoli</i> et <i>S.aureus</i> | 37 |

Listes des annexes

Annexe 1 : Préparation des solutions.

Annexe 2 : Courbes d'étalonnages.

Introduction

Introduction générale

Les espèces végétales sont très riches du point de vue de leur nombre et de leur diversité. Outre leur rôle dans l'équilibre de l'écosystème, les végétaux offrent à l'homme des ressources naturelles indispensables pour sa survie et son développement (**Daouda et al., 2013**).

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'Homme. Personne n'a cherché à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques (**Schauenberg et Ferdinand, 2006**).

Après quelques siècles de domination de la synthèse chimique, la pharmacologie, mais aussi la nutrition et l'agroalimentaire redécouvrent les vertus des plantes dites médicinales, ce qui est le cas de toutes les plantes. Elles sont de plus en plus considérées comme source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Mais leurs usages traditionnels n'ont jamais disparus, bien au contraire. En 2008, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80 % de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour leurs soins primaires (**Pierangeli et al., 2009**).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité, et plus particulièrement pour les majorités des communautés démunies des pays en développement, qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires, et leurs subsistances (**Salhi et al., 2010**). Dans la lutte perpétuelle contre les infections microbiennes, les antibiotiques, toutes catégories confondues, ont été considérés comme l'arme absolue. Mais le phénomène de transfert de l'antibiorésistance à travers les différents genres et espèces et les effets secondaires des médicaments de synthèse, sous-estimés (parfois volontairement) ont remis d'actualité la phytothérapie (**Service, 1995, Mukherjee et al., 2002; Cavaleiro et al., 2006 et Mazari et al., 2010**).

Introduction

M. oleifera est un arbre que l'on appelle parfois arbre de vie ou arbre miracle. Il s'agit d'un légume important sur le plan économique et qui à été de diverses façons utilisées dans la médecine traditionnelle africaine pour le traitement des divers maladies (Jaiswal et al., 2009 ; Wadhawa et al., 2013).

Les feuilles de Moringa ont été établies comme une source très riche en diverses nutriments essentiels (Sain et al., 2014), elles possèdent de nombreuses activités pharmaceutiques, dont les analgésiques, activités anti inflammatoires, antibactériennes, antioxydantes, anticancéreuses, et larvicides (Jaiswal et al., 2009 ; Wadhawa et al., 2013). La poudre de feuilles de *Moringa oleifera* a également été utilisée pour traiter la malnutrition des enfants, des femmes enceintes et des mères allaitantes (Gull et al., 2016), cette poudre représente une bonne source d'éléments nutritifs y compris les vitamines, les acides aminés essentielles et les substances phytochimique de l'aliments (Mensuh et al., 2012).

L'objectif principal de notre étude vise essentiellement à déterminer les paramètres physico-chimiques et les composés phénoliques de la poudre des feuilles *Moringa* (témoin et traités), ainsi que de déterminer les propriétés et l'activité antimicrobienne des mucilages bruts (Prébiotiques).

Le présent mémoire s'articule autour de deux parties :

- Une partie bibliographique qui résume quelques généralités sur *Moringa oleifera*, sur les prébiotiques, les probiotiques et l'activité antimicrobienne des mucilages.
- La deuxième partie a été consacrée à l'étude pratique. Elle décrit le matériel, les méthodes utilisées, les résultats obtenues et les discussions.

Chapitre I

Généralité sur *Moringa Oleifera*

Chapitre I. Généralités sur *Moringa oleifera*

1. Historique et origine

Moringa oleifera est une espèce originaire des régions subhimalayennes, du Nord de l'Inde (Leone et al., 2016). Elle pousse dans tous les pays tropicaux et subtropicaux (Fig. 1) avec des caractéristiques environnementales particulières (Leone et al., 2015). L'espèce a été introduite et naturalisée dans d'autres parties du monde y compris l'Est et l'Ouest d'Afrique (Fig. 1) (Gandji et al., 2018), il est une des importantes plantes alimentaires traditionnelles à usages multiples qui est produit et utiliser dans de nombreux domaines comme la médecine, la nourriture et plantes fourragères (William et al., 2012).

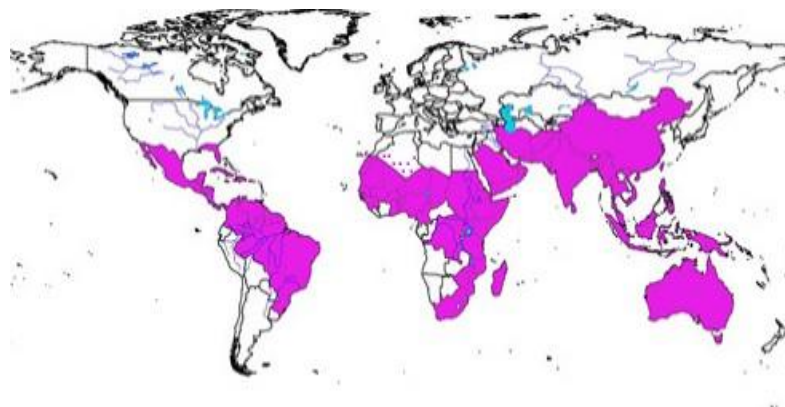


Fig. 1 : Distribution de *M. oleifera* dans le monde (Gandji et al., 2018).

2. Systématique et nomenclature

La systématique de *M. oleifera* est représentée dans le tableau I suivant.

Tableau I : La systématique de *M. oleifera* (Rajangam et al., 2001 ; Laleye et al., 2015).

| | |
|--------------------|------------------------|
| Règne | Plantae |
| Embranchement | Spermaphytes |
| Sous embranchement | Angiosperme |
| Classe | Magnoliopsida |
| Sous classe | Dillenidae |
| Ordre | Capparales |
| Famille | Moringaceae |
| Genre | <i>Moringa</i> |
| Espèce | <i>Moringaoleifera</i> |

3. Description botanique de *Moringa*

M. oleifera est un arbre résineux à croissance rapide (Leone et al., 2016), avec une hauteur qui peut aller de 5 à 10 mètres (Mofijure et al., 2014). Elle résiste bien à la sécheresse grâce à ses racines tubéreuses lui permettant d'accumuler l'eau (Madi et al., 2012) (Fig. 2a).

- ◊ Les feuilles (Fig. 2b) de forme caduques, alternes et bi ou tripennées, elles ont un long pétiole avec 8 à 10 paires de pennes composées chacune de deux paires de folioles ovales et opposés (Delpha, 2011 ; Laleye et al., 2015).
- ◊ Les fleurs (Fig. 2c) sont blanches ou crème avec des points jaunes à la base, composées de cinq pétales minces, spatules, inégaux, symétriques à l'exception du pétale inférieur, entourant cinq étamines et de cinq sépales larges (2,5 cm). Les fleurs sont généralement abondantes et dégagent une odeur agréable. (Foidl et al., 2001 ; Delpha, 2011).
- ◊ Le fruit (Fig. 2d) de couleur beige à grisâtre, mesure de 20 à 60 cm de long à maturité et forme des gousses à trois lobes. Une fois sec, le fruit s'ouvre en trois parties. (Delpha, 2011 ; Laleye et al., 2015).
- ◊ Les graines (Fig. 2e), 12 et 35 graines par gousse sont sphériques, noires et entourées d'un péricarpe qui forme trois ailes (Delpha, 2011 ; Laleye et al., 2015).
- ◊ La racine (Fig. 2f) blanche gonflée, tubéreuse qui a une odeur piquante caractéristique et dotée de racine latérale plutôt clairsemées (Haiti, 2016).



Fig. 2 : Différentes parties de *M.oleifera* : (a) l'arbre, (b) ensemble de feuilles, (c) fleurs, (d) gousses, (e) graines, (f) racines et (j) tronc (Prince, 2007 ; Ashraq et al., 2012 ; Sivanesan et al., 2016).

- ◊ Le tronc (Fig. 2j) gris à brunâtre, grossièrement lenticelles, à tranche verte en surface et jaunâtre en dessous et couvert d'une écorce lisse. Il peut généralement atteindre 1.5 à 2 mètres de haut et 20 à 40 cm de diamètre (Atakapama et al., 2014).

4. Valeurs nutritionnelles et usages de *Moringa*

M. oleifera est riche en composés contenant un sucre simple : le rhamnose et un groupe particulier de composé appelés glucosinolates et les isothiocyanate, l'écorce de tige contient des composés comme la vaniline, β -sitosterol, les fleurs contiennent neuf acide aminés, le saccharose et le D-glucose (Lalaye et al., 2015). Les feuilles contiennent une très grande concentration en vitamines (A, B, C, E) et en minéraux (fer, calcium, zinc, sélénium). Elles possèdent les 10 acides aminés et les acides gras essentiels, phénomène assez rare pour une plante. De plus elle contiennent environ 47% de protéine (Broin, 2005 ; Wang et al., 2019). D'autres composés sont présents comme les caroténoïdes : β -carotène ou provitamine A (Fahey, 2005). Les racines renferment des antibiotiques (Ralezo Maevaland, 2006).

Les caractéristiques nutritionnelles ainsi qu'une production et une adaptabilité élevée on fait de *Moringa* une zone à fort potentiel de croissance (Wang et al., 2019). Des Etudes ont montrés que 100 g de feuilles séchés de *Moringa* contiennent sept fois plus de vitamine C que dans les oranges, quatre fois plus de vitamine A que dans les carottes, quatre fois plus de calcium que dans le lait, trois fois plus de potassium que dans la banane et deux fois plus de protéines que dans le yaourt (Fig. 3) (Opara et Azubulike, 2018).

C'est pour cette raison qu'il a fait du *Moringa* la plante légumière la plus nutritive et qu'elle a été utilisé pour fortifier les gâteaux, les nouilles, le pain, les biscuits, les brioches, la bouillie et les aliments locaux, traditionnels ou indigènes comme le garri et la farine d'igname (Opara et Azubuike, 2018).

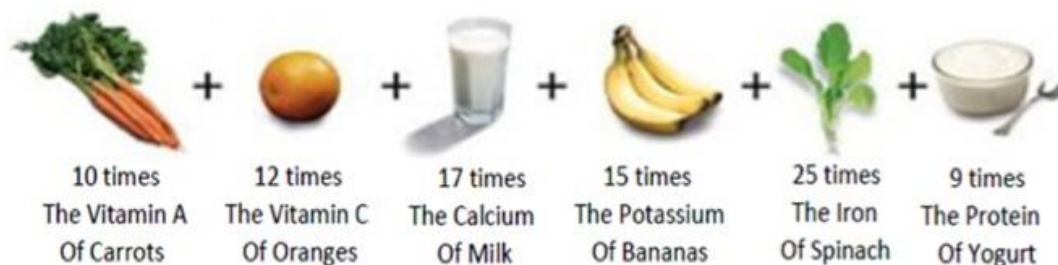


Fig. 3: Composés nutritifs, médicinaux et chimiques trouvés dans le *M. oleifera* (Fuglie, 2001).

5. Domaines d'utilisation de *M. oleifera*

Il existe plusieurs plantes dans la nature qui aident pour reconstituer l'équilibre du corps humain et le maintenir en bonne santé. Mais, un seul arbre de *M. oleifera* peut fournir des feuilles pour la nutrition, de l'huile pour cuisiner et pour une peau saine et de la poudre de graines pour la purification des eaux (Dhakar et al., 2011).

M. oleifera est un arbre à usage multiple, médicinal en particulier, reconnu depuis longtemps dans les systèmes ayurvédiques (Ralezo-Maevalandy, 2006). L'arbre présente plusieurs qualités qui lui confèrent des utilisations pharmaceutiques, nutritionnelles et industrielles.

Toutes les parties de l'arbre peuvent être employées par une multitude de moyens. La figure ci-dessous représente les principaux domaines d'utilisations des différentes parties de l'arbre de Moringa (Foidel et al., 2001).

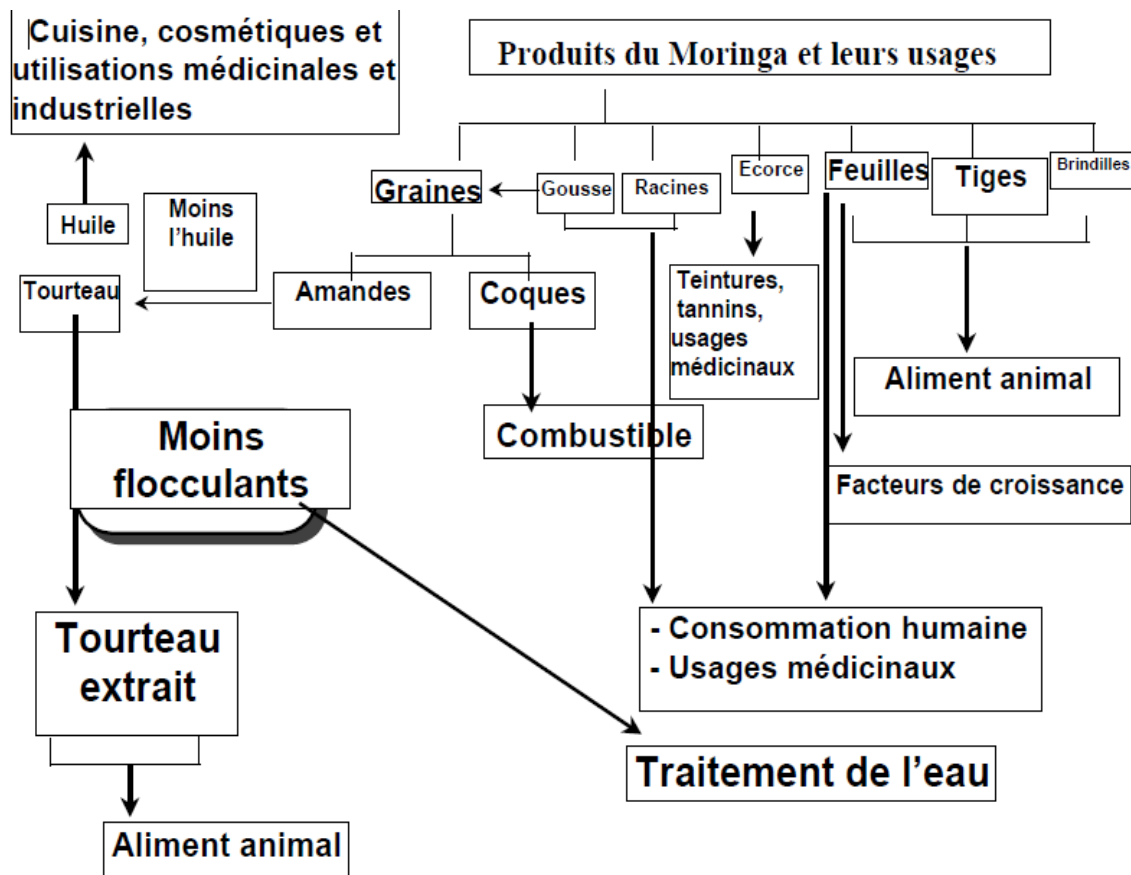


Fig. 4 : Les principaux domaines d'utilisations des différentes parties de l'arbre de Moringa (Foidl et al., 2001).

6. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont synthétisés à partir des précurseurs originaux du métabolisme primaire (Acétyl CoA, acides aminés, acides gras...) (Kabera *et al.*, 2014). Ils sont souvent considérés comme n'étant pas essentiels à la vie de la plante (Levasseur-Garcia *et al.*, 2013), mais plutôt responsables de différentes fonctions (Verscheure *et al.*, 2002) et peuvent être utiles pour l'homme (Merzougui et Tadj, 2015). Ils sont présents dans toutes les plantes supérieures (Hartmann, 2007).

Les feuilles de *M. oleifera* sont riches en composés bioactifs comme : les acides phénoliques, les flavonoïdes, qui ont le potentiel pour promouvoir la santé (Wang *et al.*, 2019), les tannins, les saponines et les phytates (Makkar et Becker, 1996). Les graines contiennent divers types de composés chimiques; tels que les tannins, les phytates, les composés phénoliques, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines et les terpenoïdes (Ijarotimi *et al.*, 2013).

6.1. Composés phénoliques

Les feuilles séchées de *M. oleifera* sont une grande source de polyphénols. Leurs quantités sont supérieures à celles que l'on trouve dans les fruits et légumes. Les principaux composés phénoliques des feuilles sont: les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins (Leone *et al.*, 2015). Les graines contiennent divers types de composés phénoliques (Ijarotimi *et al.*, 2013).

a. Acides phénoliques

Dans les feuilles séchées de Moringa, l'acide gallique est l'acide le plus abondant, avec une concentration de 1.034 mg/g de poids sec. Une analyse des feuilles de *M. oleifera* a indiqué la présence d'acides phénoliques tels que : l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide ellagique et l'acide férulique (Verma *et al.*, 2009). La concentration en acide chlorogénique et en acide caféique varient de 0.018 à 0.489 mg/g de poids sec et 0.409 mg/g de poids sec respectivement (Vergara-Jimenez *et al.*, 2017). Les fleurs de Moringa contiennent 19,31 mg/g d'équivalent de acide gallique de l'ensemble des composés phénoliques dans l'extrait sec (Alhakmani *et al.*, 2013).

b. Flavonoïdes

Les feuilles et les graines de *M. oleifera* sont une source importante de flavonoïdes (Yang et al., 2008 ; Ijarotimi et al., 2013 ; Nuryanti et puspitasri, 2017). Les feuilles contiennent certains pigments flavonoïdiques tels que le kaempferol, le rhamnetin, l'isoquercitrine et le kaempferitrin (Siddhuraju et Becker, 2003). Les fleurs contiennent la quercétine et de kaempferat (Lalaye et al., 2015).

c. Tanins

Les feuilles de *M. oleifera* sont des sources appréciable de tanins (Leone et al., 2015). Les graines contiennent aussi les tannins (Ijarotimi et al., 2013).

6.2. Alcaloïdes

Plusieurs alcaloïdes tels que ont été isolés dans les feuilles de *M. oleifera* (Leone et al., 2015). Les graines contiennent aussi les alcaloïdes (Ijarotimi et al., 2013). Les écorces des racines et des tiges contiennent des alcaloïdes (RalezobMaevaland, 2006 ; Lalaye et al., 2015).

6.3. Terpènes

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une unité simple à cinq atomes de carbone nommé isoprène. Les graines de *M. oleifera* contiennent les terpenoïdes (Ijarotimi et al., 2013).

6.4. Saponines

Les feuilles de *M. oleifera* sont une bonne source de saponines. Les teneurs en saponines (glucosides) trouvées par Makkar et Becker (1996) et Richter et al. (2003) varient entre 5 et 6,4 %. Les gousses séchées et les graines renferment aussi les saponines (Ijarotimi et al., 2013 ; Sharma et al., 2013).

Chapitre II

**Probiotiques, Prébiotiques et activité
antimicrobienne**

Chapitre II : Probiotique, prébiotiques et activité antimicrobienne

1. Les probiotiques

1.1. Définition

D'après la définition de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et la FAO (Food and Agricultural Organisation) établie en 2001, les probiotiques désignent des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets bénéfiques sur la santé (Sardin, 2017). Ils peuvent être utilisés sous forme de souches pures, mais aussi sous forme de mélanges de souches, notamment dans des aliments (produits laitiers fermentés), compléments alimentaires ou médicaments. Ils peuvent être administrés sous différentes formes, par exemple des yaourts et liquides ou sous forme de sachets et capsules (Favare, 2014).

Leur principes actifs s'agit notamment d'enzymes (par exemple : le lactase, pour les bactéries lactiques), des composés dits immun-modulateurs tels que des lipopolysaccharides, des peptides, des composants de la paroi cellulaire, des nucléotides ou encore des protéines antibactériennes (Favare, 2014).

1.2. Principaux microorganismes utilisés en tant que probiotiques

Selon Salminen et al. (2016), les probiotiques sont principalement des bactéries lactiques, mais les bifidobactéries et les levures ont été utilisées avec succès ainsi que d'autres types de microbes, dont *Escherichia coli* et certaines espèces de *Bacillus*. Les espèces utilisées comme probiotiques sont données dans le tableau suivant.

Tableau II : Les micro-organismes utilisés dans les produits probiotiques dans le monde (Salminen et al., 2016).

| Lactobacilles | Bifidobactéries | Autres | Autres |
|------------------------|--------------------------|------------------------------|----------------------------|
| <i>Lb. acidophilus</i> | <i>Bif. Bifidum</i> | <i>Enterococcus faecium</i> | <i>Bacillus cereus</i> |
| <i>Lb. casei</i> | <i>Bif. Breve</i> | <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Bacillus coagulans</i> |
| <i>Lb. Plantarum</i> | <i>Bif. adolescentis</i> | <i>Lactococcus lactis</i> | <i>Ostridium butyricum</i> |
| <i>Lb. salivarius</i> | | <i>Streptococcus</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| <i>Lb. paracasei</i> | | <i>Thermophilus</i> | <i>Bacillus coagulans</i> |
| <i>Lb. fermentum</i> | | | |

1.3. Action des probiotiques

Un probiotique devrait présenter l'ensemble des effets suivantes (Ng et al., 2008) :

- Diminuer le pH luminal;
- Sécréter des peptides antimicrobiens;
- Inhiber l'invasion bactérienne;
- Bloquer l'adhésion bactérienne aux cellules épithéliales;
- Améliorer la fonction barrière;
- Augmenter la production de mucus;
- Améliorer l'intégrité des barrières.

1.4. Effet des probiotiques sur la santé

Selon Carré-Mlouka (2019), les bactéries probiotiques sont largement utilisées en tant que complément alimentaire, pour leurs nombreux effets bénéfiques pour la santé humaine tels que:

- Protection contre des bactéries pathogènes, grâce à l'effet « barrière »;
- Diminution de l'incidence et de la durée des diarrhées;
- Amélioration des symptômes liés à l'intolérance au lactose;
- Activité anti-cancérogène;
- Prévention de l'obésité, des maladies cardio-vasculaires et du diabète.

2. Les Prébiotiques

2.1. Définition

Le terme prébiotique a été introduit par Gibson et Roberfroid en 1995 (Gibson, 1995). Il désigne un ingrédient alimentaire non digestible par l'hôte de l'organisme mais stimulant sélectivement la croissance et /ou l'activité de certaines espèces bactériennes déjà présentes dans le colon, et de ce fait capable d'améliorer la santé de l'hôte (Bodinier et Gourbeyre, 2012). Les prébiotiques peuvent être des sucres non digestibles, des peptides ou des protéines et des lipides qui, en raison de leur structure ne sont pas absorbés dans l'intestin grêle. Ils contribuent à la prolifération et au maintien des probiotiques de l'appareil digestible (Roberfroid, 2001).

Les composés prébiotiques peuvent avoir aussi des propriétés immun-modulateur, avec ou sans l'ajout de bactéries probiotiques, En outre, Les effets des prébiotiques comme agents stabilisant dans des produit probiotiques pendant le stockage, la lyophilisation, et le séchage, par pulvérisation ont été rapportés par plusieurs auteurs (**Desmoud et al.,2005**).

2.2. Source de prébiotiques

A la différence des probiotiques, la plupart des prébiotiques sont utilisés comme ingrédient alimentaires : dans des biscuits, céréales, le chocolat, la pâte à tartiner et autres produits alimentaires. Selon **Guarner et al. (2011)**, les prébiotiques les plus connus sont : l'oligofructose, l'inuline, les galacto-oligosaccharides, le lactulose et les oligosaccharides du lait maternel.

2.3. Critères de classification des prébiotiques

Selon **Salvin (2013)**, les critères de classification des prébiotiques sont les suivants:

- La résistance à l'acidité gastrique;
- La résistance à l'hydrolyse par les enzymes des mammifères et l'absorption dans le tractus gastro-intestinal supérieur.
- La fermentation par la microflore intestinale et la stimulation sélective de la croissance et/ou l'activité de l'intestin, bactéries associées à la santé et au bien-être.

Wang (2009) détermine les cinq critères qui doivent être validés afin de classer un ingrédient alimentaire comme prébiotique :

- ◇ Résistance aux différents processus de digestion pour atteindre le colon;
- ◇ Doivent être bénéfique pour la santé;
- ◇ Pouvant être fermentés par la microflore intestinale;
- ◇ Stimuler de façon sélective les probiotiques;
- ◇ Rester stable durant les différents traitements alimentaires.

2.4. Effet des prébiotiques sur la santé

Les prébiotiques jouent un rôle important dans l'augmentation de l'absorption des minéraux et de la modification de la capacité fermentaire de l'appareil gastro-intestinal en agissant sur la composition de la flore intestinale (**Bruzzese *et al.*, 2006**). Ils peuvent exercer un effet sur la barrière intestinale et le système immunitaire associé à l'intestin via les acides gras à courte chaîne (AGCC) produits par les microbiotes (**Bodinier et Gourbeyre, 2012**).

D'après **Salvin Joane (2013)**, les données des effets sur la santé de l'apport prébiotique sont beaucoup plus limitées que pour les fibres alimentaires. Cependant, il a été suggéré que l'ingestion de prébiotique :

- ◇ Réduit la prévalence et la durée des diarrhées infectieuses et associées aux antibiotiques ;
- ◇ Réduit l'inflammation et les symptômes associés aux maladies inflammatoires de l'intestin;
- ◇ Exerce des effets protecteurs pour prévenir le cancer de colon;
- ◇ Améliore la biodisponibilité et l'assimilation des minéraux, y compris le calcium, le magnésium, et peut être le fer;
- ◇ Réduit certains facteurs de risque de maladies cardiovasculaires, et promouvoirla perte de poids et prévenir l'obésité.

3. Activités antimicrobiennes des métabolites secondaires

Les propriétés des plantes médicinales sont connues depuis l'antiquité, toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (**Djahra *et al.*, 2012**).

La majorité des substances élaborées par les plantes ayant des activités inhibitrices des micro-organismes dont la plus part sont des phénols ou leur dérivés dont au moins 12000 ont été isolées. Ces substances servent de mécanisme de défense des plantes contre la prédation par des micro-organismes, des insectes et des herbivores (**Cowan, 1995**).

L'activité antimicrobienne des extraits bruts a été démontré par de nombreuses méthodes, qui peuvent être classées selon **Rammal et al., (1993)** et **Jorgensen et Turnidge, (2015)** en deux méthodes :

- Méthodes de dilutions qui génèrent des résultats de concentration minimale inhibitrice (CMI);
- Méthodes de diffusions sur disques imprégnés qui génèrent des résultats de diamètre de zone d'inhibition.

3.1. Méthode de diffusion à partir de disques imprégnés

La méthode de diffusion est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle convient pour la majorité des bactéries pathogènes incluant les bactéries à croissance lente ; elle permet une variété dans le choix des antibiotiques et ne requiert aucun matériel particulier. Comme la plupart des techniques de diffusion en gélose, se fondent sur les principes définis dans le rapport de l'International Collaborative Study of Antimicrobial Susceptibility Testing, mais aussi sur l'expérience des experts du monde entier.

Des disques fermement déposés à la surface de la gélose inoculée et sèche. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide (**Bonnet, 2018**).

3.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont définies comme étant la plus faible concentration d'un antimicrobien qui inhibe la croissance visible d'un micro-organisme après une incubation nocturne. Les CMI sont utilisés par les laboratoires de diagnostic principalement pour confirmer la résistance, mais le plus souvent comme outil de recherche pour déterminer l'activité *in-vitro* de nouveaux antimicrobiens (**Andrews, 2001**).

Les techniques de diffusion de la gélose sont largement utilisées pour analyser des extraits de plantes pour l'activité antimicrobienne, mais il y a des problèmes associés à cette technique. Une technique de micro-dilution a été mise au point, développée à l'aide de microplaques 96 puits et de sels de tétrazolium pour indiquer une croissance bactérienne. (**Ellof, 1998**).

Chapitre III

Matériels et Méthodes

Chapitre III : Matériel et Méthodes

1. Matériel Végétal

1.1. Préparation des feuilles

Les feuilles de *M. oleifera* proviennent du sud de l'Algérie (Oued-Souf), récoltées en 2019.

Après séchage, les feuilles de *M. oleifera* ont été triées. Un broyage des feuilles est pratiqué à l'aide d'un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. La poudre obtenue est tamisée dans une tamiseuse électrique (Retsch AS200), La poudre finale obtenue est inférieure à 0,25 mm de diamètre. Enfin la poudre est conservée dans un bocal en verre hermétiquement fermé et conservé à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

2. Traitement de la poudre de feuilles de *M.oleifera*

La poudre de feuilles, obtenues après broyage, a subi un traitement (pasteurisation) dans une étuve à deux températures (80 et 100° C) et à deux temps différents (15 et 30 min) selon la méthode de **Renard et al. (2014)**.

3. Taux d'humidité et teneur en matière sèche

Le taux d'humidité est estimé selon la méthode de l'**AOAC (1975)**. Une prise d'essai d'échantillon de poudre étudié de 2 g est séchée à l'étuve à 105° C ± 2° C jusqu'à l'obtention d'un poids constant après 24h ; le taux d'humidité est déterminé par la formule suivante :

Une fois le taux d'humidité est évalué la teneur en matière sèche est déterminé par l'application de la formule suivante :

$$\text{(\% TH)} = [(P-P1) / P1] \times 100$$

$$\text{(\% MS)} = 100 - \text{TH}$$

Avec :

P : Masse en gramme de la prise d'essai.

P1 : Masse en gramme de la prise d'essai après séchage.

4. Analyses physico-chimiques des poudres de feuilles

4.1. Mesure du pH

La détermination du pH est réalisée selon la méthode de l'AOAC (1998) selon les étapes suivantes :

- Préparation d'une suspension de 10% (p/v) dans de l'eau distillée;
- Agitation magnétique pendant 30 minutes;
- Centrifugation à 5000 G pendant 5 minutes;
- Récupération du surnageant;
- Les valeurs de pH ont été mesurées avec un pH mètre (Hana instrument). La détermination du pH est réalisée par immersion de l'électrode du pH mètre dans la suspension.

4.2. Détermination de l'acidité titrable

La méthode consiste en un titrage de l'acidité des solutions aqueuses des échantillons de poudres avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) en présence d'un indicateur colorant : la phénolphtaléine selon la méthode de **Katina et al. (2007)**.

La suspension préparée pour la détermination du pH est titrée par le NaOH (0,1N) en présence de phénolphtaléine jusqu'à obtention d'un changement de couleur (virage au rose clair). Le taux d'acidité titrable est exprimé en ml de NaOH/100g de poudre selon la formule suivante :

$$TAA = \frac{250 \times V1 \times 100}{V0 \times M \times 100} \times 0,007$$

Avec :

V0 : Volume en ml de la prise d'essai.

V1 : Volume en ml de la solution d'hydroxyde de solution.

M : Masse en grammes de produit prélevé.

4.3. Extraction et dosage des sucres totaux

4.3.1. Extraction des sucres

L'extraction des sucres totaux est réalisée selon la méthode d'**Osborne et Voogt (1986)** illustrée par la figure 5 suivante :

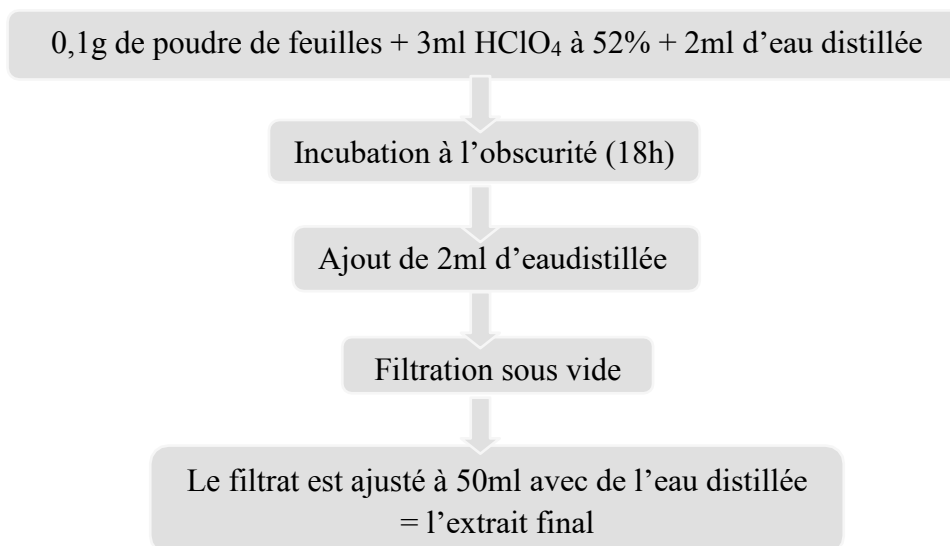


Fig. 5 : Protocole d'extraction des sucres totaux (**Osborne et voogt, 1986**).

4.3.2. Dosage des sucres totaux

Les sucres totaux sont mesurés à l'aide de la réaction de l'acide anthronsulfurique. L'anthrone dissout dans un milieu sulfurique concentré donne une couleur jaune clair. Les sucres réagissent avec l'anthrone et donne des produits colorés (**L'aurentin et Christine, 2003**). La réaction donne une gamme de couleur assez lumineuse allant du vert au bleu-vert, qui varie en fonction de la concentration en sucres dans les solutions préparées (**Morris, 1984 ; Bachelier et Gavinelli, 1966**).

La détermination des sucres totaux est réalisée selon la méthode d'**Osborne et Voogt (1986)** illustrée par la figure 6 suivante. La concentration en sucres totaux est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec le glucose dans les mêmes conditions (**Annexe II**). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de glucose (Glu) par gramme d'échantillon (mg E Glu/g Ech.).

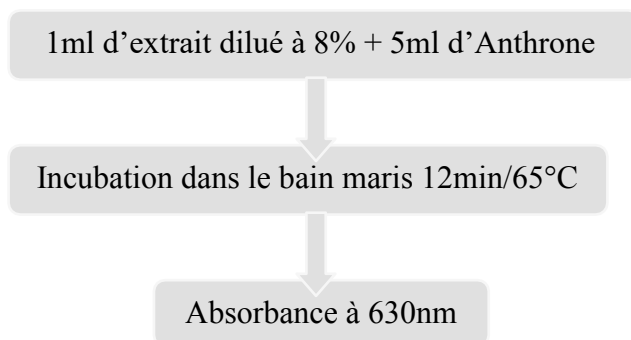


Fig. 6 : Protocole de dosage des sucres totaux (Osborne et vooget, 1986).

5. Extraction des prébiotiques du mucilage

L'extraction des prébiotiques est réalisée selon la méthode décrite par HadiNezhad et al. (2013). La figure suivante résume les étapes d'extraction.

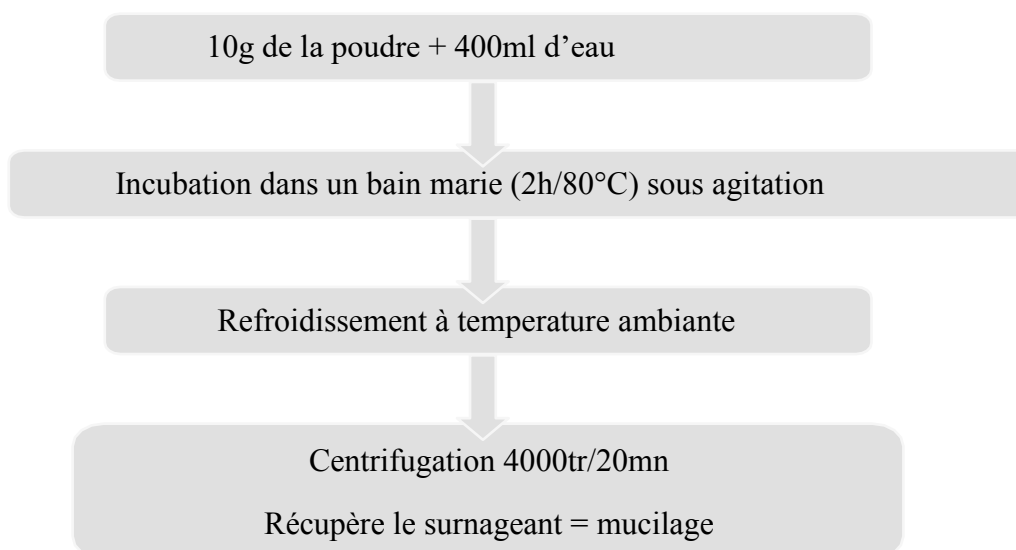


Fig. 7 : Protocole d'extraction des prébiotiques (HadiNzah et al., 2013).

5.1. Analyses physico-chimiques des mucilages

5.1.1. Mesure du pH

La mesure du pH est réalisée selon la méthode de l'AOAC (1998) citée précédemment

5.1.2. Mesure de l'acidité titrable

La mesure de l'acidité titrable est réalisée selon la méthode décrite par Katina et al. (2007) citée précédemment.

5.2. Dosage des sucres totaux

Le dosage des sucres totaux est déterminé selon la méthode à l'antrone décrite par d'Osborne et Voogt (1986) citée précédemment.

5.3. Dosage des composés phénoliques

a. Dosage des polyphénols solubles totaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu, mélange de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), est réduit en présence de polyphénols en un mélange d'oxydes bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). L'intensité de la coloration bleue produite est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel (Ribéreau-Gayon, 1968 ; Muxci et Yao, 2017).

Le dosage des polyphénols solubles totaux est effectué selon la méthode au Folin-Ciocalteu (Fig. 8) décrite par Skerget et al., (2005). Les concentrations en polyphénols solubles totaux sont déterminées par références à une courbe d'étalonnage établie avec l'acide Gallique dans les mêmes conditions (Annexe II). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide Gallique (AG) par gramme d'échantillon (mg Eq AG/g d'Ech.).

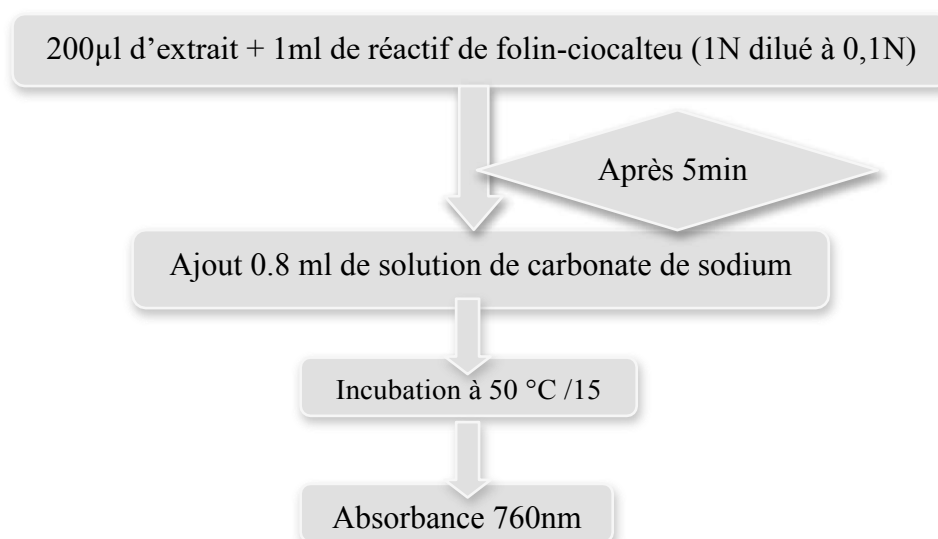


Fig. 8 : Protocole de dosage des polyphénols totaux solubles (Skerget et al., 2005).

b. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode de dosage direct par le chlorure d'aluminium. En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5 susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3} (Ali-Rachedi *et al.*, 2005 ; Pekal et Pырzynska, 2014). La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribéreau-Gayon, 1968).

Le contenu en flavonoïdes des différents extraits (Fig. 9) est estimé selon la méthode rapportée par Djeridane *et al.* (2006). Les concentrations en flavonoïdes ont été estimées en se référant à une courbe d'étalonnage préparée avec la quercétine dans les mêmes conditions (Annexe II). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de Quercétine (Q) par gramme d'échantillon (mg Eq Q/g d'Ech.).

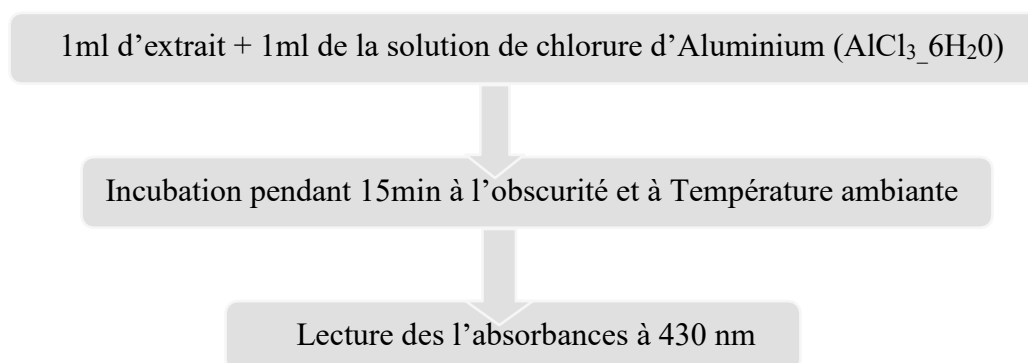


Fig. 9 : Protocole de dosage des flavonoïdes (Djeridane *et al.*, 2006).

c. Dosage des tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables réagissent avec le chlorure ferrique et donne une coloration bleue mesurée par spectrophotométrie à 660 nm. Le dosage des tanins hydrolysables (Fig. 10) est réalisé selon la méthode au chlorure ferrique rapportée par Mole et Waterman (1987).

La teneur en tanins hydrolysables est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions avec l'acide Tannique (Annexe II). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide tannique (AT) par gramme d'échantillon (mg Eq AT/g Ech.).

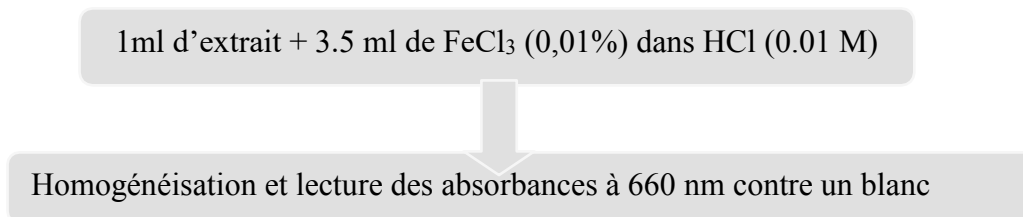


Fig. 10 : Protocole de dosage des tanins hydrolysables (Mole et Waterman, 1987).

d. Dosage des tannins condensés

La méthode à la vanilline décrite par **Deshpande et al. (1986)** est utilisée pour le dosage des tanins condensés (Fig. 11). La vanilline réagit avec les unités des tanins condensés dans un milieu acide pour produire un complexe rouge d'anthocyanidols mesurables par spectrophotométrie à 500 nm (**Haddouchi et al., 2016**).

La teneur en tanin condensé est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions avec catéchine (**Annexe II**). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de catéchine (C) par gramme d'échantillon (mg Eq C/g Ech.).

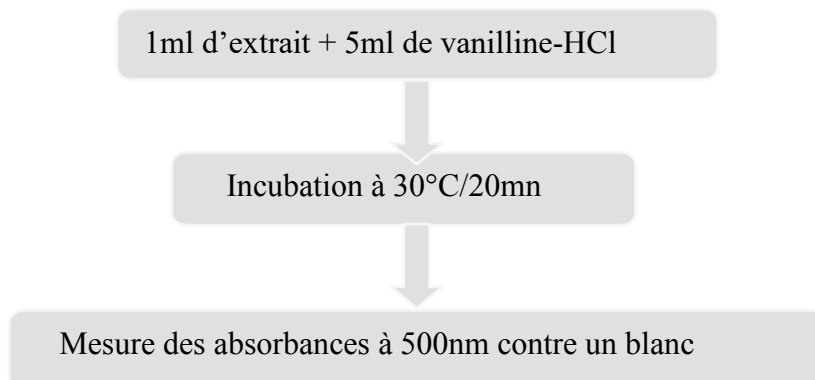


Fig. 11 : Protocole de dosage des tanins condensés (**Desphane et al., 1986**).

5.4. Mise en évidence des autres métabolites secondaire

a. Alcaloïdes

La mise en évidence de la présence d'alcaloïdes dans les extraits est déterminée selon la méthode **d'Kpenssi (2007)**. Quelques gouttes du réactif de Bouchardât sont ajoutés à 2 ml d'extrait. La formation d'un précipité brun-noir ou jaune-brun indique la présence d'alcaloïdes dans les extraits.

b. Saponines

La mise en évidence de la présence de saponines est réalisée selon la méthode de **Yadav et Agarwala, (2011)**. 1 ml d'extrait ont été mélangés à 5 ml d'eau distillée, le mélange est secoué vigoureusement. La formation d'une mousse persistante révèle la présence de saponines.

c. Terpénoïdes

La mise en évidence de la présence de terpénoïdes est réalisée selon la méthode d'**Aziman et al. (2012)**. 2,5 ml d'extrait ont été mélangés à 1 ml de chloroforme. Après homogénéisation, 1,5 ml d' H_2SO_4 concentré ont été soigneusement ajoutés au mélange réactionnel. La formation d'une couleur brun-rougeâtre à l'interface indique la présence de terpénoïdes dans les extraits.

6. Résistance des prébiotiques à la digestion acide et enzymatique

La digestion acide et enzymatique des prébiotiques est réalisée selon la méthode décrite par **Wichienhot et al. (2011)**. Le test consiste à déterminer la teneur en polysaccharides non digestibles de nos mucilages. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque échantillon. Les extraits ont été préparés (reconstitués) dans de l'eau distillée à des concentrations de 10mg/ml.

◊ **Digestion acide** : la figure 12 suivante illustre les étapes de la digestion acide des mucilages.

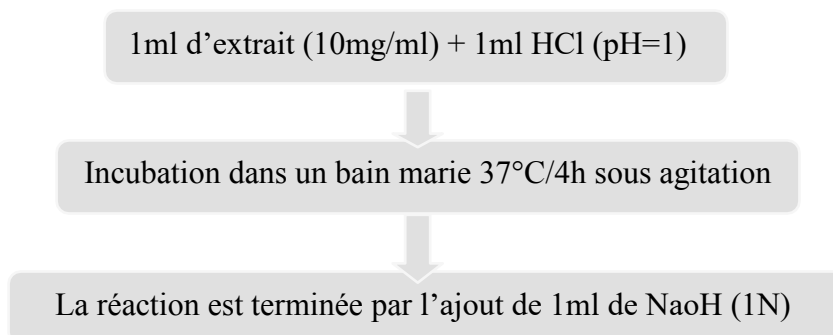


Fig. 12 : Protocole de la digestion acide (**Wichienhot et al., 2011**).

- ◇ **Digestion enzymatique** : la figure 13 résume les étapes de la digestion enzymatique des mucilages.

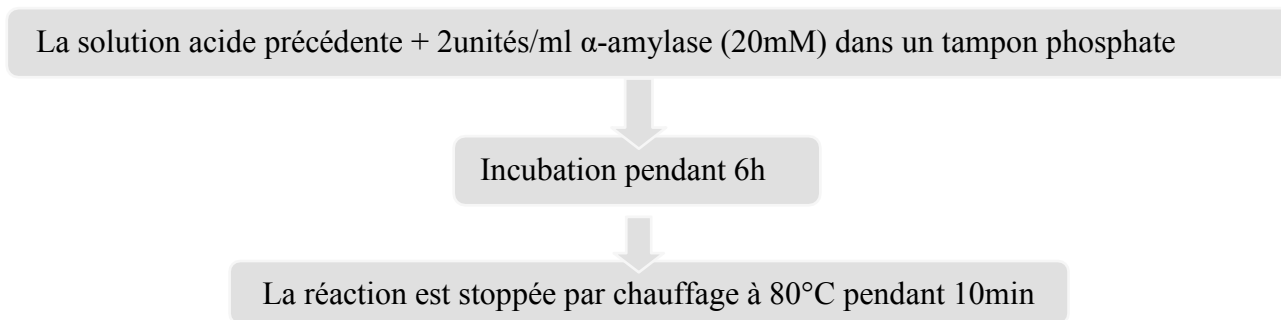


Fig. 13 : Protocole de la digestion enzymatique (**Wichienchot et al., 2011**).

6.1. Dosage des sucres totaux après la digestion acide-enzyme

Le dosage des sucres totaux après digestion acide et enzymatique est réalisé selon la méthode à l'anthrone décrite par d'**Osborne et Voogt (1986)** citée précédemment.

6.2. Dosage des sucres réducteurs avant la digestion acide-enzyme

La teneur en sucre réducteur est déterminée selon la technique décrite par **Miller (1959)** rapportée par **Joschum et al. (2011)**. L'acide 3,5-dinitro-salicylique (DNS) réagit avec le carbonyle libre dans des conditions alcalines, pour former du 3-amino-5-nitrosalicylate, un composé ayant une absorption maximale à 540 nm ; l'absorbance est directement proportionnelle à la quantité des sucres réducteurs (**Baskan et al., 2016**). Le dosage des sucres réducteurs est effectué comme suit :

Dans un tube à essai contenant 1mL de DNS on ajoute 1mL de l'extrait de feuilles préparé (10 mg/ml). L'ensemble est homogénéisé et porté au bain marie bouillant à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement à Température ambiante, 2 mL d'eau distillée sont ajoutées. La lecture de la densité optique au spectrophotomètre s'effectue à 540 nm contre un tube témoin ne contenant pas d'extrait. Le tube témoin contient à la place de 1 mL de l'extrait de feuilles, 1mL d'eau distillée.

La teneur en sucres réducteurs est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec le glucose (**annexe II**) dans les mêmes conditions. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent du glucose (Glu) par gramme d'échantillon (mg E Glu/g d'Ech.).

6.3. Détermination de la teneur en polysaccharides indigestes

La teneur en polysaccharides indigestes (mg/g d'extrait) dans les extraits a été calculée à partir de la formule suivante :

$$\text{Les polysaccharides non digestibles (mg/g)} = \text{Sucres totaux après la digestion acide-enzyme (mg/g)} - \text{Sucres réducteurs avant la digestion (mg/g)}.$$

7. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

7.1. Souches bactériennes

Les quatre souches bactériennes utilisées (Tableau III) dans la présente étude sont fournies par Mme Benachour K. du laboratoire de Microbiologie Appliquée de L'université de Bejaia.

Tableau III : Les souches bactériennes testées.

| Souches | Référence | Gram |
|---------------------------------|-----------|------|
| <i>Escherichia coli</i> | ATCC25922 | G- |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC25923 | G+ |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> | / | G+ |
| <i>Lactobacillus bulgaricus</i> | / | G+ |

7.2. Préparation des extraits

Les extraits bruts sont dissouts dans de l'eau distillée stérile à une concentration finale de 400 mg/ml. Une série de dilutions de ($\frac{1}{2}$) des solutions mères sont préparées (concentrations allant de 400 mg/ml à 50 mg/ml) à partir des extraits bruts de feuilles de Moringa (Témoin, 80°C/15min, 80°C/30min, 100°C/15min, 100°C /30min).

7.3. Préparation de l'inoculum

Les différentes souches bactériennes ont été repiqués par la méthode des stries puis incubées à l'étuve à 37° C pour les bactéries pathogènes (*E. coli* et *S. aureus*) et à 30° C pour les bactéries lactiques (*L. plantarum* et *L. bulgaricus*) pendant 24h afin d'obtenir des cultures jeunes et des colonies isolées.

Après incubation, les suspensions bactériennes sont ajustées jusqu'à obtention d'une densité de 10⁸ UFC/ml pour *E. coli* et *S. aureus* et 10⁷ UFC/ml pour *L. plantarum* et *L. bulgaricus* (Toty et al., 2013).

Pour préparer l'inoculum, 3 à 5 colonies, de moins de 24h, similaires bien isolées sont prélevées à l'aide d'une anse en platine puis déchargées dans 10 ml de l'eau physiologique stérile (Fertout-Mour et al., 2016). Les suspensions bactériennes sont ensuite homogénéisées à l'aide d'un vortex, puis incubées pendant 3 à 5h à 37° C pour les bactéries pathogènes et à 30° C pour les bactéries lactiques, afin d'avoir des pré-cultures.

7.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne *in-vitro*

L'activité antimicrobienne des extraits est déterminée selon la technique de diffusion sur milieu gélosé décrite par Chan et al. (2007). L'application de disques imprégnés de principes actifs à différentes concentrations sur des milieux de culturesensemencés par des suspensions bactériennes fait apparaître, quand une activité antimicrobienne est présente, des zones circulaires claires (absences de colonies) appelées zones d'inhibitions autour des disques (Liao et al., 2010).

Les bactéries ont été ensemencés par inondation à l'aide d'un écouvillon stérile sur des boîtes de pétrie contenant la gélose de Mueller-Hinton (MH) pour les bactéries pathogènes et la gélose Man Rogosa Sharpe (MRS) pour les bactéries lactiques. Des disques stériles de 6 mm de diamètre, ont été déposés sur la gélose et ensemencés chacun par 20 µl d'extrait à différentes concentrations. Les disques témoins sont imprégnés de 20 µl d'eau distillé stérile. Les boîtes de pétri sont incubées à l'étuve à 30° C pour Lp et Lb et 37° C pour *E. coli* et *S. aureus* entre 18 à 24h. Après incubation, les diamètres des zones d'inhibitions autour des disques sont mesurés au moyen d'une règle graduée (Karabay-Yavasoglu et al., 2007).

7.5. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Cette étude permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes à la substance antimicrobienne par la mesure de la CMI qui est la plus faible concentration de la substance pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24h. (Toty *et al.*, 2013).

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont selon la méthode décrite par Santoyo *et al.* (2009). Les CMI des extraits vis-à-vis des souches bactériennes cibles sont déterminées selon la technique de dilutions sur milieu liquide en utilisant les microplaques 96 puits. Les microplaques sont préparées en distribuant dans chacun des puits 165 µl de bouillon de culture (MH ou MRS), 5 µl de l'inoculum et 30 µl d'extrait à différentes concentrations allant de 60 mg/ml jusqu'à 7,5 mg/ml. Le volume final de chaque puits est de 200 µl. Les microplaques ont été incubées à 30° C pour les bactéries lactiques (Lb et Lp) et 37° C pour *E. coli* et *S. aureus* pendant 24h. Deux témoins sont réalisés : un témoin négatif (sans inoculum): bouillon de culture + 30 µl d'extrait et un témoin positif (sans extrait): bouillon de culture + 30 µl d'eau distillée stérile + 5 µl de l'inoculum.

La croissance bactérienne est indiquée par la présence d'une pelote blanche au fond du puits. La détermination de la CMI de chaque extrait a été faite par observation des troubles induits par la croissance des bactéries (Santoyo *et al.*, 2009).

8. Analyses statistiques

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais et les résultats sont exprimés par la moyenne \pm écart type ; Les résultats ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) suivie d'une comparaison multiple des moyennes (Test de Tukey HSD) en utilisant le logiciel ExcelStat, la comparaison des données est prise à la probabilité ($P < 0,05$).

Chapitre IV

Résultats et Discussions

Chapitre IV : Résultats et discussions

1. Détermination des taux d'humidité des poudres

Les résultats illustrés dans la figure 14 indiquent les taux d'humidités des poudres de feuilles de *Moringa oleifera* témoin et traitées.

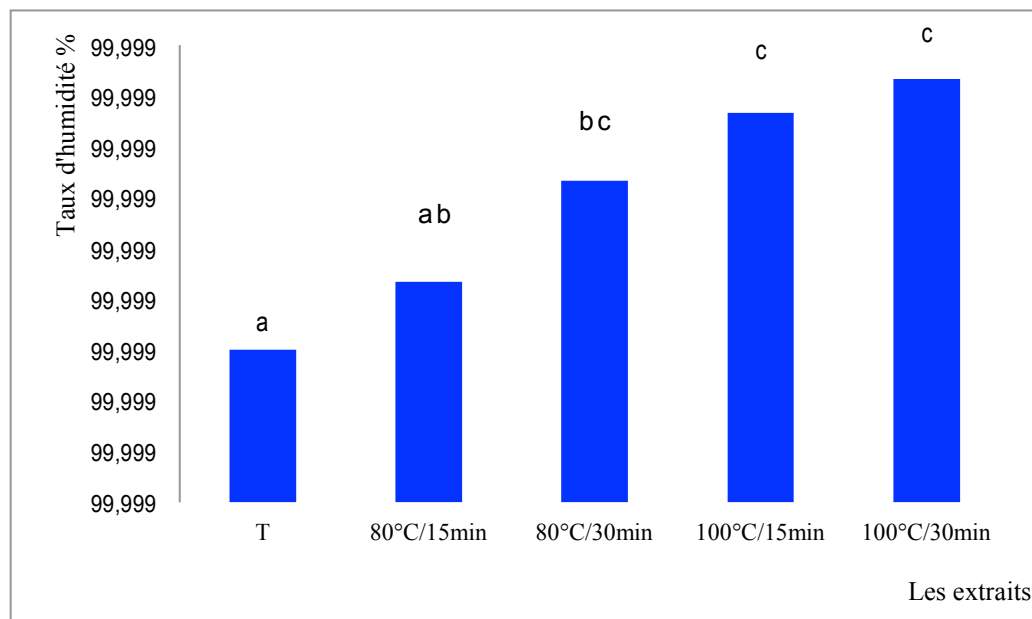


Fig.14. Taux d'humidité des poudres de feuilles de *M. oleifera*.

Les résultats indiquent que le taux d'humidité de la poudre de feuilles de *M. oleifera* augmente en fonction des différents paramètres (Température et temps), allant du témoin jusqu'à l'extrait 100°C/30min.

Les traitements statistiques montrent une différence significative ($P < 0,05$) entre la poudre témoin et les poudres traitées à 100°C/15 min et à 100°C/30min et une différence non significative ($P < 0,05$) entre la poudre témoin et la poudre traitées à 80°C/15min, entre la poudre traitée à 80°C/10min et à 80°C/30min et entre la poudre traitée à 80°C/30min et les poudres traitées à 100°C/15min et à 100°C/30min.

2. Analyses physico-chimiques des poudres et des mucilages

2.1. Mesure du pH

Les valeurs des pH des poudres et des mucilages sont représentées dans la figure 15.

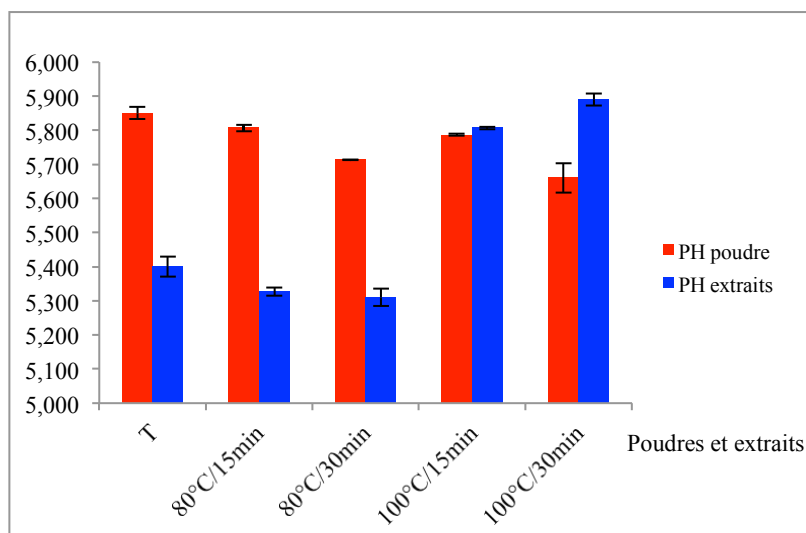


Fig. 15. Valeurs du pH des poudres et des mucilages.

Les résultats de mesure des pH révèlent des différences (Fig. 15), entre les poudres de *M. oleifera* témoin ou traitées. Les poudres analysées ont des valeurs moyennes en pH comprises entre 5,66 et 5,85.

L'analyse des pH des mucilages révèle des différences, entre le mucilage de la poudre témoin ($5,4 \pm 0,029$) et les mucilages des poudres traitées à $100^\circ\text{C}/15\text{min}$ ($5,80 \pm 0,003$) et à $100^\circ\text{C}/30\text{min}$ ($5,89 \pm 0,017$) ainsi qu'entre le pH du mucilage de la poudre témoin ($5,4 \pm 0,029$) et celui des mucilages des poudres traités à $80^\circ\text{C}/15\text{min}$ ($5,327 \pm 0,012$) et à $80^\circ\text{C}/30\text{min}$ ($5,310 \pm 0,024$).

2.2. Détermination de l'acidité titrable

La figure 16 représente les taux d'acidité titrable des poudres (témoin et traités) et des mucilages extraits à partir des poudres (témoin et traités).

Pour les mucilages, les résultats (Fig. 16) ne montrent pas des différences significatives ($p < 0,05$) entre les extraits de la poudre témoin et des poudres traités.

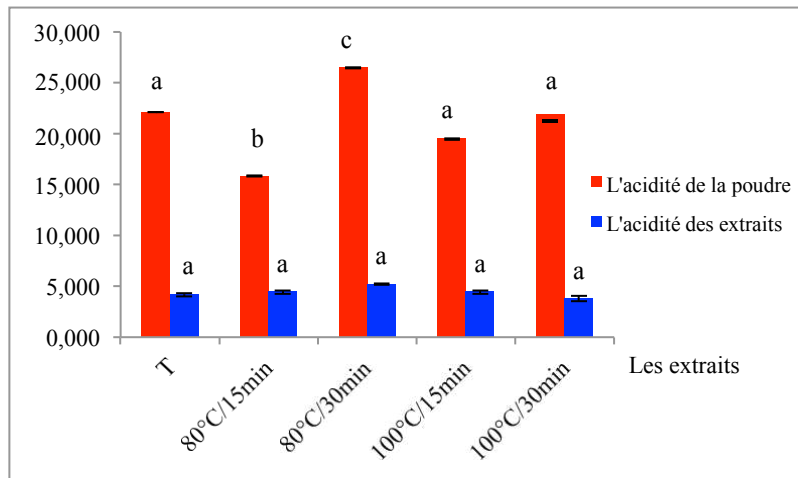


Fig. 16. L'acidité titrable des poudres et des mucilages.

Les taux d'acidité titrable des poudres présentent des différences significatives ($p < 0,05$) entre la poudre témoin ($22,167 \pm 0,03$ %) et les poudres traitées à $80^\circ\text{C}/15\text{min}$ ($15,867 \pm 0,067$ %) et à $80^\circ\text{C}/30\text{min}$ ($26,483 \pm 0,062\%$), et, entre les poudres traitées à $80^\circ\text{C}/15\text{min}$ et à $80^\circ\text{C}/30\text{min}$ et les poudres traitées à $100^\circ\text{C}/15\text{min}$ ($19,483 \pm 0,088$ %) et à $100^\circ\text{C}/30\text{min}$ ($21,933 \pm 0,024$ %). Par contre, aucune différence significative ($p < 0,05$) n'a été observée entre la poudre témoin et les poudres traitées à $100^\circ\text{C}/15\text{min}$ et à $100^\circ\text{C}/30\text{min}$.

2.3. Dosage des sucres totaux

2.3.1. Sucres totaux des poudres

Les valeurs de la teneur en sucres totaux des poudres de feuilles de *M. oleifera* (témoin et traités) sont représentées dans la figure 17.

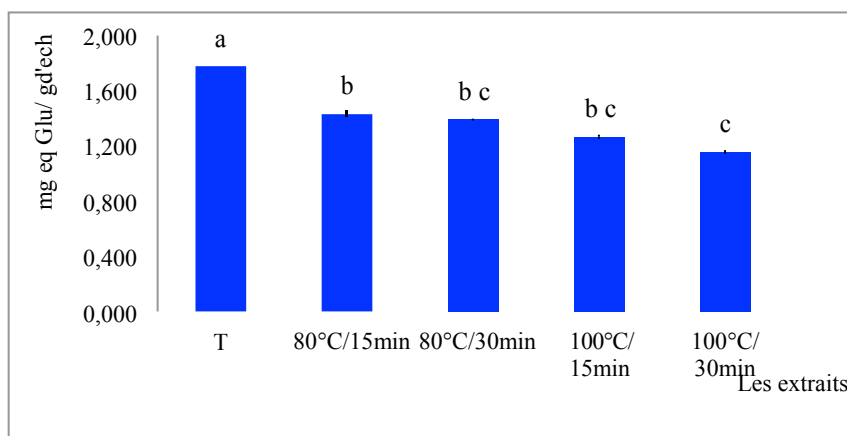


Fig. 17: Taux de sucres des poudres de feuilles de *Moringa oleifera*.

Le Taux de sucres totaux des poudres varie entre $1,154 \pm 0,013$ et $1,776 \pm 0,029$ mg Eq Glu/g Ech. L'analyse statistique des résultats révèle une différence significative ($P < 0,05$) entre la teneur en sucre de la poudre témoin et les poudres traitées à traité à $80^\circ\text{C}/15$ min et à $100^\circ\text{C}/30$ min, et une différence non significative ($P > 0,05$) entre la teneur en sucre des poudres traitées.

2.3.2. Sucres totaux des mucilages

La figure 18 représente les valeurs moyennes des teneurs en sucres totaux des mucilages des extraits de la poudre de feuilles de *M. oleifera* (témoin et traitées).

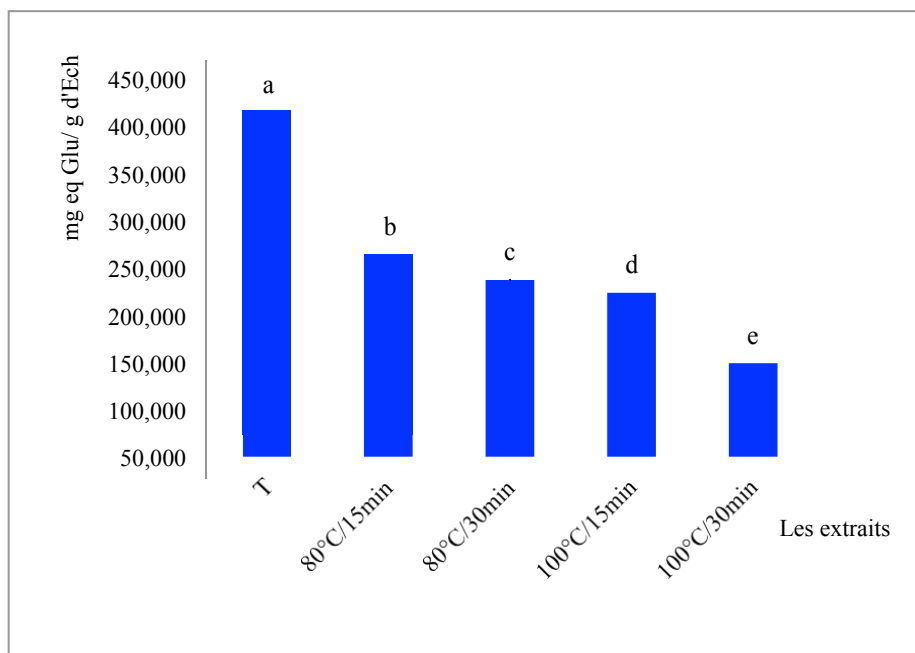


Fig. 18. Teneurs en sucres totaux des mucilages.

La teneur en sucres totaux des mucilages diminue avec l'augmentation de la température et la durée du traitement. L'analyse statistique des résultats montre une différence fortement significative ($P < 0,05$) entre les différents extraits la plus grande teneur en sucre totaux est notée pour le mucilage de la poudre témoin ($415,939 \pm 0,007$ mg Eq Glu/ g Ech.) et la plus faible teneur est relevée pour le mucilage de la poudre traité à $100^\circ\text{C}/30$ min ($148,951 \pm 0,009$ mg Eq Glu/ g Ech.).

3. Teneurs en composés phénoliques

3.1. Teneur en phénols solubles totaux

Les résultats des dosages des phénols solubles totaux des différents mucilages des poudres de feuilles de *M. oleifera* (témoin et traités) sont illustrés dans la figure 19.

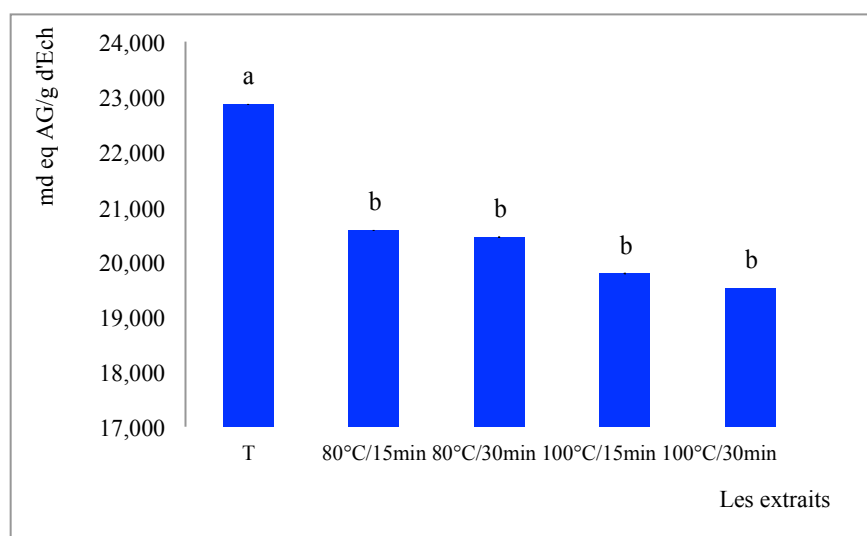


Fig. 19. Teneurs en phénols solubles totaux des mucilages.

La teneur en phénols solubles totaux des mucilages diminue avec l'augmentation de la température et la durée du traitement. Les teneurs en polyphénols totaux solubles dans les extraits varient entre 19,526 et 22,86 mg Eq AG/ g Ech. L'extrait de la poudre témoin de feuille de *M. oleifera* présente la teneur en phénols solubles totaux la plus élevée.

L'analyse statistique des résultats a révélé un effet significatif ($P < 0,05$) entre la teneur en phénols du mucilage extrait de la poudre témoin et l'ensemble des mucilages extraits des poudres traités.

3.2. Teneur en Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des mucilages est représentée dans la figure 20. Les résultats montrent que les mucilages sont pauvres en flavonoïdes, les teneurs varient entre $0,472 \pm 0,024$ et $0,523 \pm 0,022$ mg Eq Q/g Ech respectivement pour le mucilage de la poudre 100°C/30min et le mucilage de la poudre témoin.

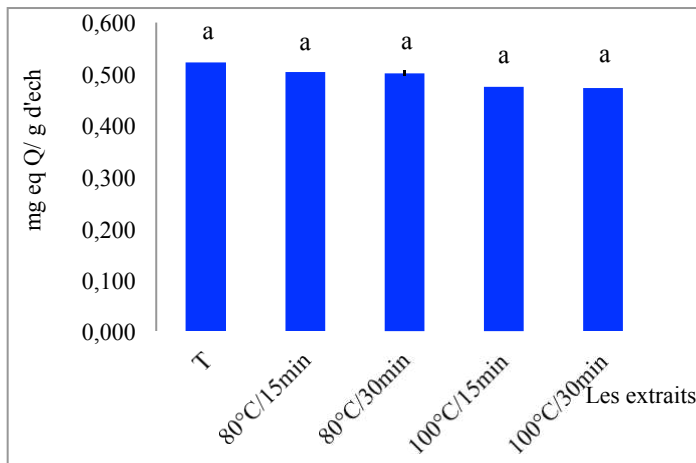


Fig. 20. Teneurs en Flavonoïdes des mucilages.

L'analyse statistique des résultats des teneurs en flavonoïdes des mucilages montre une différence non significative entre les différents extraits (témoin ou traités).

3.3. Teneur en tanins

Les résultats des dosages des tanins (tanins condensés et tanins hydrolysables) des mucilages bruts des poudres (témoin et traités) de feuilles de *M. oleifera* sont représentés dans la figure 21.

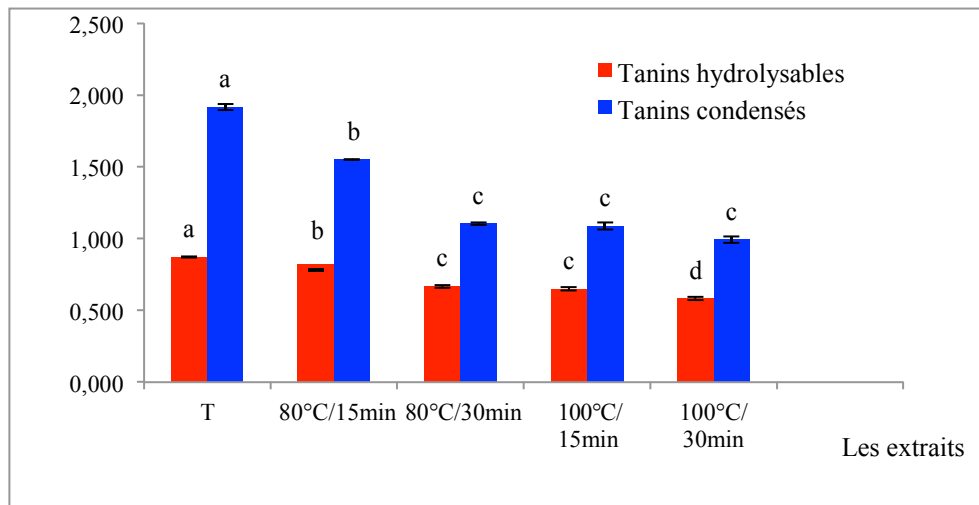


Fig. 21. Teneurs en Tanins condensés en en tanins hydrolysables des mucilages.

Chapitre IV : Résultats et Discussions

Les teneurs en tanins (condensés et hydrolysables) diminuent en fonction du traitement (température et durée) d'un extraits à un autre. Le mucilage des feuilles témoin a donné la teneur en tanin la plus élevée ($1,915 \pm 0,021$ mg Eq Cat/g Ech et $0,871 \pm 0,003$ mg Eq AT/g Ech) respectivement pour les tanins condensés et les tanins hydrolysables.

Le mucilage de la poudre de feuilles traitée à $100^{\circ}\text{C}/30\text{min}$ a donner les plus faibles teneurs en tanins qui sont respectivement de l'ordre de $0,582 \pm 0,01$ mg Eq AT/ g Ech et $0,991 \pm 0,023$ mg Eq Cat/g Ech pour les pour les tanins hydrolysables et les tanins condensés. L'analyse statistique montre une différence significative ($p < 0.05$) entre les extraits.

Les résultats (Fig. 21) ne montrent pas de différences significatives entre la teneur en tanins hydrolysables des extraits de poudres traitées à $80^{\circ}\text{C}/30\text{min}$ et à $100^{\circ}\text{C}/15\text{min}$ qui sont respectivement de l'ordre de $0,66 \pm 0,009$ et de $0,65 \pm 0,011$ mg Eq AT/g Ech, et, entre la teneur en tanins condensés des extraits de poudres traitées à $80^{\circ}\text{C}/30\text{min}$, à $100^{\circ}\text{C}/15\text{min}$ et à $100^{\circ}\text{C}/30\text{min}$ qui sont respectivement de l'ordre de $1,103 \pm 0,0077$, $1,086 \pm 0,024$ et $0,991 \pm 0,023$ mg Eq Cat/g Ech.

4. Mise en évidence de quelques métabolites secondaires

Les tests appliqués aux différents extraits de poudre de feuilles de Moringa témoin ou traitées ont permis de mettre en évidence la présence d'autres métabolites secondaires tels que les saponines, les alcaloïdes et les terpénoïdes.

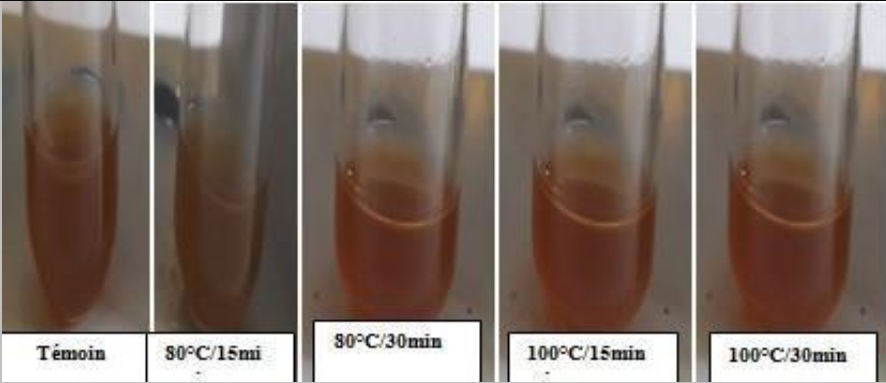
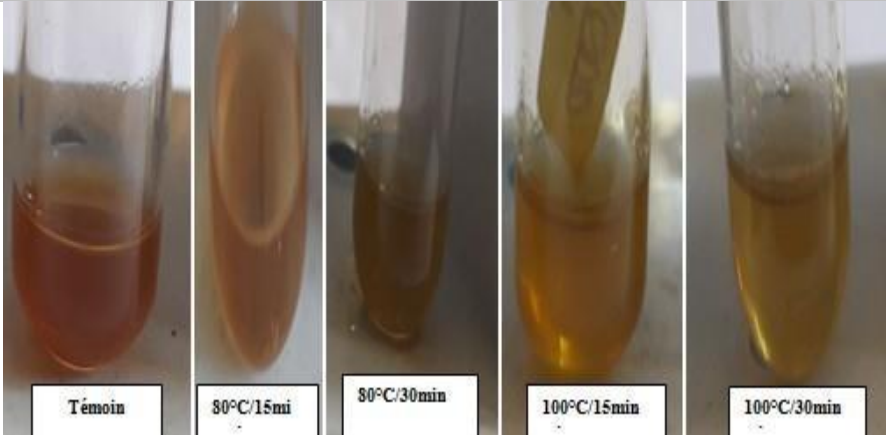
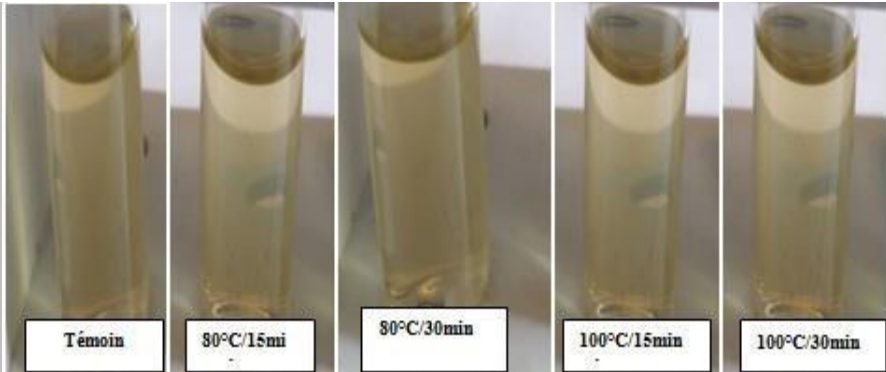
Le tableau IV résume les résultats du screening des extraits des poudres de feuilles de *M. oleifera* (Témoin, $80^{\circ}\text{C}/15\text{min}$, $80^{\circ}\text{C}/30\text{min}$, $100^{\circ}\text{C}/15\text{min}$, $100^{\circ}\text{C}/30\text{min}$).

- ◊ La présence d'alcaloïdes dans les différents extraits est déterminée par la formation d'un précipité brun-noir (Tableau IV). Les résultats montrent la formation d'un anneau brun-noir au niveau de tous les extraits des poudres (témoin et traitées).
- ◊ La présence de terpènes est déterminée par l'apparition d'une couleur brun-rouge à l'interface de l'extrait (Tableau IV). Les résultats montrent l'apparition d'un anneau brun-rouge à l'interface des extraits des poudres témoins et des extraits des poudres traitées, traduisant ainsi la présence de terpènes solubilisés par notre solvant d'extraction (l'eau distillée).

Chapitre IV : Résultats et Discussions

- ◇ La présence de Saponines est déterminée par la formation d'une mousse persistante. D'après les résultats représentés (Tableau IV), il n'y a pas eu formation d'une mousse persistante au niveau de différents extraits (témoin et traités).

Tableau IV : Mise en évidence des alcaloïdes, des saponines et des terpénoïdes.

| Test | Observations | Résultats |
|-------------|--|-----------|
| Alcaloïdes |  | + |
| Terpénoïdes |  | + |
| Saponines |  | - |

5. Résistance des prébiotiques à la digestion acide et enzymatique

L'histogramme illustré dans la figure 22 nous renseigne sur la teneur des mucilages bruts (Témoin, 80°C/15min, 80°C/30min, 100°C/15min, 100°C/30min) des feuilles de poudres de *Moringa oleifera* en sucres indigestibles.

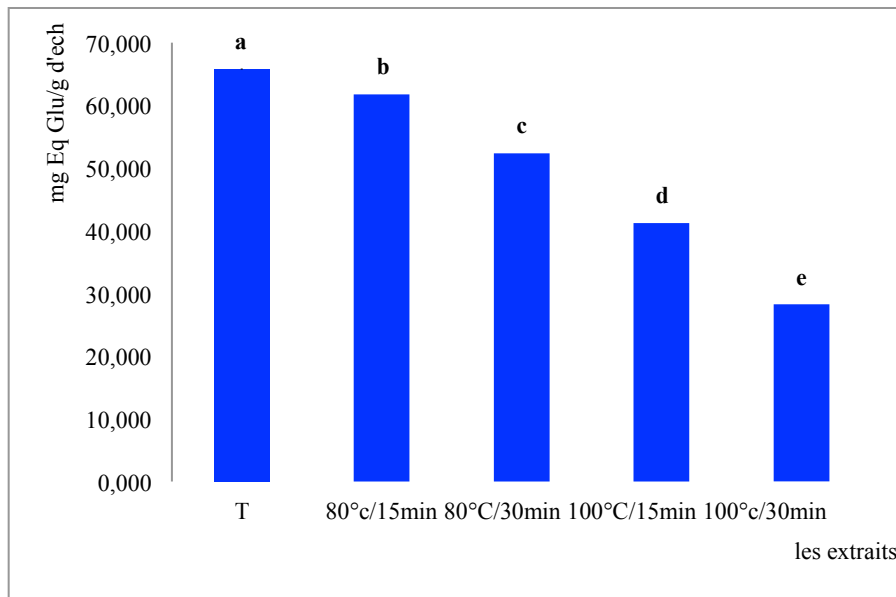


Fig.22. Teneurs des mucilages en sucres non digestibles.

Les résultats (Fig. 22) montrent que le mucilage de la poudre témoin présente la teneur la plus élevée en polysaccharides indigestibles (65,789 mg Eq Glu/g Ech) en comparaison aux mucilages des poudres traitées. La plus faible teneur en polysaccharides indigestibles est enregistré pour le mucilage de la poudre traité à 100°C/30min.

L'analyse statistique des résultats montre une différence significative ($P < 0,05$) entre l'ensemble des mucilages extraits des poudres de feuilles.

6. Détermination de l'activité antimicrobienne

6.1. Pouvoir antimicrobien des extraits de *Moringa oleifera*

L'objectif principal de cet essai est de montrer la présence ou l'absence d'une activité antibactérienne en présence des mucilages bruts, extraits des feuilles de *M. oleifera* témoin ou traités. Les diamètres des zones obtenus sont indiqués dans les tableaux V et VI suivant. Les figures (23 et 24) montrent l'aspect des zones d'inhibition obtenues.

Chapitre IV : Résultats et Discussions

Tableau V : Activité antimicrobienne des extraits de feuilles de *M. oleifera* sur *E. Coli* et *S. aureus*.

| <i>E Coli</i> | | | | | |
|-------------------------|--------|------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------|
| [Extrait] | Témoin | 80°C/15min | 80°C/30min | 100°C/15min | 100°C/30min |
| C1=400mg/ml | - | - | - | - | - |
| C2=200mg/ml | - | - | - | - | 16,8± 0,28 ^b |
| C3=100mg/ml | - | - | - | 09,33± 0,57 ^b | 16,5± 0,5 ^c |
| C4=50mg/ml | - | - | - | 08,5± 0,5 ^b | 14,6± 0,57 ^c |
| <i>S. aureus</i> | | | | | |
| [Extrait] | Témoin | 80°C/15min | 80°C/30min | 100°C/15min | 100°C/30min |
| C1=400mg/ml | - | - | - | - | - |
| C2=200mg/ml | - | - | 03± 0,76 ^b | - | - |
| C3=100mg/ml | - | - | - | - | 16,5± 0,5 ^b |
| C4=50mg/ml | - | - | - | 18,3± 2,08 ^b | 20,6± 1,52 ^c |

(-) : absence de la zone d'inhibition.

Tableau VI: Activité antimicrobienne des extraits de feuilles de *M. oleifera* sur *L. bularicus* (*Lb*) et *L. plantarum* (*Lp*).

| <i>Lactobacillus bulgaricus</i> | | | | | |
|--|--------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| [Extrait] | Témoin | 80°C/15min | 80°C/30min | 100°C/15min | 100°C/30min |
| C1=400mg/ml | - | 06,3± 1,15 ^b | 04,2± 3,71 ^a | 07,1± 1,04 ^b | 06± 0,05 ^b |
| C2=200mg/ml | - | - | - | - | 16,8± 0,28 ^b |
| C3=100mg/ml | - | - | - | 09,3± 0,57 ^b | 16,5± 0,5 ^c |
| C4=50mg/ml | - | - | - | 08,5± 0,5 ^b | 14,6± 0,57 ^c |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> | | | | | |
| [Extrait] | Témoin | 80°C/15min | 80°C/30min | 100°C/15min | 100°C/30min |
| C1=400mg/ml | - | - | - | - | - |
| C2=200mg/ml | - | 05,7± 0,3 ^b | 08,95± 0,92 ^c | - | 08,9± 0,88 ^c |
| C3=100mg/ml | - | - | - | - | 07,9± 0,1 ^c |
| C4=50mg/ml | - | - | - | 09± 00 ^a | 12± 00 ^a |

(-) : absence de la zone d'inhibition.



Fig. 23 : Effet antibactérien des mucilages bruts des feuilles de *M. oleifera* sur *E. coli* et *S. aureus*.



Fig. 24 : Effet antibactérien des mucilages bruts des feuilles de *M. oleifera* sur *Lb* et *Lp*.

D'après les résultats illustrés dans les figures (23 et 24), les extraits de la poudre de feuilles de *M. oleifera* traitées manifestent des effets inhibiteurs vis-à-vis des quatre bactéries testées (*E. coli*, *S. aureus*, *Lp* et *Lb*) avec des zones d'inhibitions allant de 3,00 à 16,8 mm. L'effet inhibiteur varie d'un extrait à un autre en fonction de la concentration d'extrait, des températures et de la durée des traitements. Par contre, l'extrait de la poudre de feuilles témoin ne présente aucun effet inhibiteur sur la croissance des quatre bactéries.

L'extrait de la poudre de feuilles traitées à 100°C/15min inhibe la croissance d'*E. Coli* à partir de la concentration de 100 mg/ml suivi de l'extrait de la poudre de feuilles traitées à 100°C/30min) qui inhibe la croissance de la bactérie à partir de la dose de 200mg/ml. Les extraits 80°C/15min et 80°C/30min ne présentent aucun effet inhibiteur sur la croissance de la bactérie.

Chapitre IV : Résultats et Discussions

Les extraits de la poudre de feuilles de *M. oleifera* traitées (80°C/30min, 100°C/15min et 100°C/30min) inhibent la croissance de *S. aureus* à partir de la concentration de 200mg/ml. L'extrait 80°C/15min ne présente aucun effet inhibiteur sur la croissance de la bactérie.

L'effet inhibiteur des extraits sur *Lb* est noté par les quatre extraits traités (80°C/15min, 80°C/30min, 100°C/15min, 100°C/30min) à partir de la concentration de 400mg/ml. Concernant *Lp*, l'extrait de la poudre de feuilles traitées à 100°C/15min inhibe la croissance de la bactérie à partir de la concentration de 50 mg/ml suivi par deux extraits (80°C/30min, 100°C/30min) qui inhibent la croissance de la bactérie à partir de la concentration de 200 mg/ml.

6.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de feuilles de *Moringa oleifera* sont représentées dans le tableau VII suivant.

Tableau VII : Concentrations minimales inhibitrices des extraits de feuilles de *Moringa oleifera* sur *E.Coli* et *S.aureus*.

| Bactéries | CMI (mg/ml) | | | | |
|------------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|
| | ED | 80°C/15min | 80°C/30min | 100°C/15min | 100°C/30min |
| <i>E. coli</i> | - | - | - | 15 | 7,5 |
| <i>S. aureus</i> | - | - | 15 | 60 | 7,5 |
| <i>Lb</i> | - | 60 | 15 | 3,75 | 3,75 |
| <i>Lp</i> | - | - | 7 ?5 | 3,75 | 3,75 |

Les résultats obtenus (Tableau VII) montrent une diminution progressive de l'intensité du trouble induit par la croissance des bactéries au fur et à mesure que la température et la durée du traitement de la poudre augmentent. La CMI la plus faible (3,75 mg/ml) est obtenue avec les deux extraits des poudres traitées à 100° C pendant 15 et 30 min. La plus grande CMI (60 mg/ml) est enregistrée avec l'extrait (80°C/15min) et l'extrait (100°C/15min).

Chapitre IV : Résultats et Discussions

E. coli est sensible aux extraits des poudres traitées à 100°C/30min et à (100°C/15min) avec des CMI de 15 mg/ml et de 7,5 mg/ml respectivement.

Concernant *S aureus*, la plus faible CMI (7,5mg/ml) à été enregistré avec l'extrait (100°C/30min) de feuilles de *Moringa*, les extraits 80°C/30min et 100°C/15min présentent des CMI allant de 15 à 60 mg/ml respectivement.

L'analyse des résultats obtenus montre que les *lactobacillus* (*Lb* et *Lp*) sont les plus sensibles aux extraits des poudres de feuilles de *M. oleifera* traitées.

- Pour *Lp* : la plus grande valeur de CMI (60 mg/ml) à été notée par l'extrait 80°C/15min, l'extrait 80°C/30min a enregistré une CMI de 15 mg/ml. Tandis que la plus faible CMI (3,75 mg/ml) est notée par les deux extraits traités à 100° C pendant 15 et 30 min (100°C/15min et 100°C/30min).
- Pour *Lb* : la plus grande valeur de CMI (7,5 mg/ml) est notée par l'extrait 80°C/30min. Tandis que la plus faible CMI (3,75 mg/ml) est notée par les deux extraits traités à 100° C pendant 15 et 30 min (100°C/15min et 100°C/30min).

7. Discussion générale

L'objectif principal de la présente étude consiste à mieux élucider l'impact des traitements thermiques sur les composés phytochimiques, de déterminer les propriétés prébiotiques et l'activité antimicrobienne des mucilages bruts extraits de la poudre de feuilles de *M. oleifera*.

Les valeurs de pH des poudres varient entre 5,31 et 5,89 et celles des mucilages entre 5,4 et 5,89. La mesure du pH est l'un des paramètres les plus importants dans le contrôle de la qualité de tous les aliments. Les valeurs enregistrées sont légèrement acides, elles sont en accord avec celles obtenus par **Bourgeois (2003)** qui révèle que les valeurs de pH comprise entre 4 et 7 (légèrement acides) prolonge la durée de conservation et sont favorables à la conservation de certaines vitamines du groupe B (telle que B1, B5, B9 et B12). Par contre, ils diffèrent de ceux de **Houndji et al. (2013)** qui rapportent que les pH des poudres et des mucilages ayant une tendance à conférer une basicité qui s'estompe progressivement au cours du temps et qui évolue vers la neutralité.

L'acidité titrable montre nettement une diminution au cours du traitement des poudres par rapport au témoin. Pour les mucilages, aucune différence n'a été notée. Selon **Giddey (1982)** ; **Gatel (1982)** et **Brisson et al. (1994)**, les valeurs de pH et l'acidité titrable sont des paramètres déterminant de l'aptitude à la conservation des aliments. Les bactéries doivent franchir ces obstacles afin de pouvoir proliférer.

Les résultats obtenus montrent que les mucilages de nos échantillons présentent des teneurs en sucre plus élevées que les poudres et que les teneurs en sucre totaux (poudres et mucilages) diminuent significativement avec le traitement. La mucilage de la poudre de feuilles témoin présente une teneur en sucre totaux très élevée ($415,939 \pm 0,007$ mg Eq Glu/ g Ech.).

Chapitre IV : Résultats et Discussions

L'analyse de la teneur en composés phénoliques des extraits (mucilages) de la poudre de feuilles *M. oleifera* révèle que les feuilles sont riches en phénols solubles totaux (22,86 mg Eq AG/ g Ech), renferment des flavonoïdes (0,523±0,022 mg Eq Q/g Ech) et pauvres en tanins (1,915±0,021 mg Eq Cat/g Ech, 0,871±0,003 mg Eq AT/g Ech) respectivement pour les tanins condensés et les tanins hydrolysables. Les feuilles de Moringa sont connues pour leur richesse en diverses classes de composés phénoliques. Les résultats de la teneur en phénols solubles totaux s'accordent avec ceux de **Kasolo et al. (2010)** et sont inférieurs à ceux de **Charoensin (2014)**. Les teneurs en flavonoïdes sont comparables à celle de **Makkar et Bakkar (1996)**. Selon **Makkar et Bakkar (1996)** et **Richter et al. (2003)**, les tanins condensés sont absents ou sous forme de trace dans les feuilles de Moringa, ce qui explique les faibles valeurs obtenues.

Les résultats de la teneur en phénols solubles totaux montrent que les traitements (80 à 100° C pendant 15 et 30 min) diminuent significativement les teneurs en ces composés. Cela s'explique par l'altération des structures des phénols lorsque ces derniers sont exposés à des hautes températures, ces résultats sont en accord avec ceux de **Larrauri (1997)**. **Moyo (2011)**, signalent aussi que la température réduit les tannins extractibles de 15 à 30%. Les travaux d'**O'Connell et Fox (1999)**, révèlent également que lors des traitements à haute température (50-60°C) au cours des transformations industrielles, la structure phénolique peut être dégradée.

L'analyse phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence d'autres métabolites secondaires tels que les terpènes et les alcaloïdes dans les mucilages bruts des feuilles de *M. oleifera* et absence de saponines. Les résultats s'accordent avec ceux obtenus par **Verma et al., (2009)**, **Kadhim et Al-Shammaa (2014)**, **Leon et al. (2015)**, **Vergara-Jimenez et al. (2017)** et **Ademiluyi et al. (2018)**. Selon **Kasolo (2010)**, la poudre de feuilles de *M. oleifera* renferme des terpènes qui sont décrits comme étant un principe actif contre les bactéries tels que, *S. aureus* et des alcaloïdes qui sont connus par leurs propriétés antimicrobiennes. Les résultats ne révèlent pas la présence de saponines, ce qui diffère des résultats obtenus par la bibliographie déjà cités.

Chapitre IV : Résultats et Discussions

La teneur des mucilages en sucre réducteurs diminue significativement en fonction du traitement. Les glucides constituent le groupe le plus important des substances organiques entrant dans la composition chimique des végétaux. Cette teneur varie en fonction de divers facteurs tels que la température. Cette constatation suggère que pour maintenir le gout sucré de la poudre, le chauffage à des températures plus élevées est interdit (**Sharma, 2015**), car elle risque une altération des germes (**Larrauri, 1997**).

Les résultats de l'activité antimicrobienne ont permis de mettre en évidence une activité inhibitrice de la croissance des bactéries en présence des mucilages traités de *M. oleifera*. Cette inhibition est due à la sensibilité des bactéries testées aux extraits. Les résultats des CMI montrent que la sensibilité varie d'une souche à l'autre. Les deux souches de *Lactobacillus* (*Lp* et *Lb*) sont les plus sensibles aux extraits traités notamment à ceux traités à 100° C pendant 15 et 30 min (CMI = 3,75 mg/ml) par rapport aux bactéries pathogènes *E. coli* et *S. aureus*. Toutes les bactéries testées sont résistantes à l'extrait du mucilage témoin.

L'activité antibactérienne des composés phénoliques est connue depuis longtemps et rapporté par plusieurs auteurs tel que **Cowan (1999)**, **Okuda et al. (2005)** et **Taguri et al. (2006)**. Cette activité s'explique par l'habilité de ses composés à se combiner aux protéines solubles et aux parois cellulaires bactériennes. L'absence d'activité notée pour l'extrait témoin s'explique probablement par sa faible teneur en flavonoïdes et aux quantités de tanins qui sont négligeables.

L'effet antibactérien noté par les extraits des poudres traitées à 100°C pourrait s'expliquer par la formation de substances réactives capables de réagir avec les protéines et/ou les polysaccharides des bactéries. **O'Connell et Fox (1999)** rapporte que lors de traitements à haute température (50-60°C), la structure phénolique des polyphénols peut être dégradée. De plus, les traitements thermiques peuvent conduire à la formation d'*o*-quinones et d'*o*-semi-quinones, molécules très réactives qui peuvent réagir avec des groupements nucléophiles des protéines et/ou des polysaccharides.

Conclusion général

Conclusion générale

Moringa oleifera utilisé dans de nombreux pays à travers le monde, est un arbre à usages multiples. Toute porte à croire que *Moringa oleifera*, connue sous le nom d'arbre miracle, arbre du paradis, depuis des temps immémoriaux mérite bien son nom.

L'objectif principal de notre travail est la détermination de l'effet du traitement à des températures et des durées variables (80°C/15min ; 80°C/30min ; 100°C/15min ; 100°C/30min) sur la teneur en métabolites secondaires, les propriétés prébiotiques et l'activité antimicrobienne des mucilages bruts.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits diffèrent d'un extrait à un autre. L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la détermination des CMI montre que les deux *Lactobacillus* (*Lp* et *Lb*) sont plus sensibles aux extraits traités notamment à ceux traités à 100° C pendant 15 et 30 min (CMI = 3,75 mg/ml) par rapport aux bactéries pathogènes *E. coli* et *S. aureus*. Toutes les bactéries testées sont résistantes à l'extrait du mucilage témoin.

Les extraits des feuilles de *Moringa oleifera* présentent une activité antimicrobienne importante contre les bactéries Gram négative et Gram positif ; la détermination de la sensibilité des souches aux différents extraits dépend des concentrations des extraits. Le traitement a contribué à l'amélioration de l'activité antimicrobienne des extraits par rapport au témoin.

En perspectives, les résultats de la présente étude méritent d'être affinés, il serait intéressant d'élargir le cadre de l'optimisation des conditions d'extraction des mucilages et de déterminer les principes actifs responsables des activités biologiques.

Références Bibliographiques

• A

- **Ademiluyi O.A., Oboh G., Ogunsuyi O.B. & Oloruntoba F.M. (2015).** A comparative study on antihypertensive and antioxidant properties of phenolic extracts from fruit and leaf some guava (*Psidium guajava* L.) varieties. *Comparative clinical pathology* : 10p.
- **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.
- **Ali-Rachedi F., Mergheni S., Touaibia N. & Mesbah S. (2005).** Analyse quantitative des composés Phénoliques d'une endémique algérienne *Scobiosa atropurpurea sub .maritina* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 87. 9p.
- **Andrews J.M. (2001).** Determination of minimum inhibitory concentration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 48: 5-16.
- **Anwar F., Latif S., Ashraf M. & Gilani A.H. (2007).** *Moringa Oleifera*. A food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research* .2: 17-25.
- **AOAC, (1998).** Official methods of analysis. Washington, DC. USA: Association of Official Analytical Chemists. 16th Ed, 4th revision.
- **AOAC. (1975).** Official Methods of Analysis. 12 Ed. Association of official analytical chemists. AOAC Washinton, D.C.
- **Ashfaq M., Basra S., Ashfaq U. (2012).** *Moringa*: A miracle Plant for Agro-forestry. *Journal of agriculture & Social Science*. 8(3): 115-122.
- **Atakpama W., Kponor E., Kanda M., Dourma M., Nare M., Batawila K., Akpagana K. (2014).** *Moringa oleifera* Lamrak (*Moringaceae*): une ressource phylogénétique à usage multiple. *Revue comes*. 2(1): 93p
- **Augustin J.M., Kuzina V., Andersen S.B. & BakS. (2011).** Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins . *Phytochemistry*. 72: 435-457.
- **Aziman N., Abdullah N., Noor Z.M., Zulkifli K.S., et Kamarudin W.S.S.W. (2012).** Phytochemical constituents and in vitro bioactivity of ethanolic aromatic herb extracts. *Sains Malaysiana*. 41(11): 1437-1444.

• B

- **Bachelier G., & Gavinelli R. (1966).** Dosage global des glucides du sol par les méthodes colorimétriques à l'anthrone et à l'orcinol. *Cahier, Orstom.* 4(3) : 97-103.
- **Baskan K.S., Tüttem E., Aköz E., Ozen S. & Apak R. (2016).** Spectrophotometric total reducing sugars assay based on cupric reduction. *Talanta.* 147: 162-168.
- **Bennett R.N., Mellon F.A., Foidl N., Pratt J.H, Dupont M.S., Perkins L. & Kroon P.A. (2003).** Profiling Glucosinates and Phenolics in Vegetation and Reproductive Tissues of The Multi-Purpose Trees *Moringa Oleifera* L.(Horseradich Tree) and *Moringa Stenopetala* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 51(12): 3546-3553.
- **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.
- **Bonnet R., Bru J.P., Caron F., Cattoen C., Cattoir V. (2018).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. 134p.
- **Bourgeois C., (2003).** Analyses des vitamines dans les aliments, utilisation technologique des vitamines comme anti-oxygène in *Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Ed Tec & Doc, Lavoisier, Paris.*
- **Brisson F.L., Tenhaken R., & Lamb C. (1994).** Function of oxydative cross-linking of cell wall structural proteins in plant disease resistance. *The plant Cell.* 6: 1703-1712.
- **Broin, M. (2005).** Composition nutritionnelle des feuilles de *Moringa oleifera*. In: *Moringanews.*
- **Bruneton J. (1999).** Autres Stéroïdes, autres Triterpènes. *Pharmacognosie .Photochimie, Plantes médicinales. (4e éd), Bruneton J (Ed). Lavoisier. Paris: 898-920.*
- **Bruzzese E., Volpicelli M., Squaglia M., Tartaglione A., Guarino A. (2006).** Impact of prebiotics on human health. *Digestive and Liver Disease.* 38: S283-S287.

• C

- **Carré-Mlouka A. (2019).** Les Effets Des Probiotiques. 4p
- **Charoensin S. 2014.** Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. *J. Med. Plant Res.*, **8**(7): 318- 325.
- **Chen Y.T., Lin K.W. (2007).** Effectes of heating temperature on the total phenolic compound, antioxidative ability and the stability of dioscorin of various yam cultivars. *Food Chemistry*. 101: 955-963.
- **Cowan M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical microbiology reviews* .12(4): 564-582
- **Cowan M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12. 4: 564-582.

• D

- **DELPHA Isis. (2011).** **Moringa** (*Moringa oleifera* lam.) (Current uses and pharmacological interest). Université Paul Sabatier (Toulouse). Faculté des sciences pharmaceutiques. 232p.
- **Deshpande S. S., Cheryan M., et Salunkhe D.K. (1986).** Tannin analysis of food products. *CRC Critical Reviews in Food Science and 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): 121p.
- **Dhaker R., Maurya S., Pooniya B.K., Noida G., Bairwa N., Gupta M., Sanwarmal. (2011).** *Moringa*: The herbal gold to combat malnutrition. *Review Article*.2:119-125.
- **Djahra A.B., Bordjiba O & Benkherara S. (2012).** Activité antibactérienne des flavonoides d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare* L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Review of Science and Technology*. 24: 29-37.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. & Vidal N. (2006).** Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*. 79(4): 654-660.

• E

Références Bibliographiques

- **Ellof N.G. (1998).** A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria. *Planta Medica*. 64: 711-713.

• F

- **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.
- **Favre Géraldine. (2014).** Prébiotiques et probiotiques. ont-ils un réel intérêt pour la santé ? Rôle du pharmacien dans leur conseil à l'officine. Univ OSEPH FOURIER. 95p.
- **Foidl, N., Makkar, H. P. S. & Becker, K. (2001).** The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. *The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa*: 45-76.
- **Fuglie L. J. 2001.** Combating malnutrition with Moringa. Development potential for Moringa products. Dares Salaam, Tanzanie.

• G

- **Gandji K., Chadare F.J., Idohou R., Salako V.K., Assogbadjo A.E. and Glélé Kakai R.L. (2018).** Status and Utilization of *Moringa Oleifera* Lam: A Review *African Group Science Journal* .26(1): 137-156
- **Gatel. (1982).** L'aliment à humidité intermédiaire, concept fondamental et fiction scientifique. *Apria* : 39-50.
- **Gibson G.R., Roberfroid M.B. (1995).** Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*. 125: 1401-1412.
- **Giddey C. (1982).** Les produits à humidité intermédiaire. Cas particulier du problème de la conservation des produits à humidité intermédiaire. *Apria* : 21-2

• H

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

Références Bibliographiques

- **HadiNezhad M., Duc C., Han N & Hosseine F. (2013).** Flaxseed Soluble Dietary Fibre Enhances Lactic Acid Bacterial and Growth in Kefir and Possesses High Antioxidant Capacity. *Journal of Food Research*. 2: 152-163.
- **Haïti A. (2016).** Analyse des potentialités de l'exploitation du Moringa en Haiti. Banque de la république Haiti.
- **Hartman T. (2007).** From Waste Products to Ecochemicals: Fifty Research of Plant Secondary metabolism. *Phytochemistry*. 68: 2831-2846.
- **Houndji B.V., Ouetchehou R., Londji S.B., Eamouzou S.S., Yehouenou B & Ahohuendo C.B.(2013).** Caractérisations microbiologiques et physic-chimiques de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* (Lam), un légume feuille traditionnel au Bénin. *International journal of biological and chimical Sciences*. 7(1) : 75-85.

• I

- **Ijarotimi O.S., Adeoti A.O., Ariyo O. (2013).** Comparative study on nutrient composition, phytochemical, and functional characteristics of raw, germinated, and fermented *Moringa oleifera* seed flour. *Food Science & Nutrition*. 1(6): 452-463.

• J

- **Jochym K., Kapusniak J., Barezynska R & Slizewska K. (2011).** New starch preparations resistant to enzymatic digestion. *Journal of science of Food and Agriculture*. 92: 886-891

• K

- **Kabera J.N., Semana E., Mussa A.R. et He X. (2014).** Plant secondary metabolite: biosynthesis, classification, function and pharmacy and pharmacology 2: 377-392.
- **Kabera J.N., Semana E., Mussa A.R. et He X. (2014).** Plant secondary metabolite: biosynthesis, classification, function and pharmacy and pharmacology 2: 377-392.
- **Kadhim E.J., & AL-Shammaa D.A. (2014).** Phytochemical Characterization using GC-MS Analysis of Methanolic Extract of *Moringa oleifera* (Family *Moringaceae*) Plant Cultivated in Iraq. 6(5): 9-26.
- **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 Medical Plants Research*. 4(9): 753-757.

Références Bibliographiques

- **Katina K., Liukkonen H., Kaukovirta-Norja A., Adlercreutz H., Heinonen S.M., Lampi A.M., Pihlava J.M., Poutanen K. (2007).** Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. *Journal of Cereal Science*. 46: 348-355.
- **Kpemissi A.E. (2007).** Les anacardiaceae du togo: Etudes botaniques, Ecologiques et propriétés antifongiques. *Thèse Doc. Univ. Reims Champagne-Ardenne et Univ. Lomé Togo*. 142p.
- **Kumar S and Pandey A.K. (2013).** Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific Word Journal*.16P

• L

- **Laleye 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.
- **Larrauri J.A., Rupérez P., & Saura-Calixto F. (1997).** Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *J Agri. Food Chem.*45: 1390-1393.
- **Laurentin A., Edwards C.A. (2003).** A microtiter modification of theanthrone–sulfuric acid colorimetric assay for glucose based carbohydrates. *Analytical biochemistry*. 315: 143-145.
- **Leone A., Spada A., Battezzati A., Schiraldi A., Aristil J. & Bertoli S. (2016).** Moringa Oleifera Seeds and Oil: Characteristic and uses for Human Health. *International Journal of Molecular Sciences*. 17: 1-14.
- **Leone A., Spada A., Battezzati A., Schiraldi A., Aristil J. & Bertoli S.(2015).** Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa Oleifera* Leaves: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*.16: 12791-12835.
- **Levasseur-Garcia C., Kleiber D., and Surel O. (2013).**"Utilisation de la spectroscopie infrarouge comme élément d'aide à la décision pour la gestion du risque fongique et mycotoxique." *Cahiers Agricultures*. 22(3): 216-227.

• M

- **Madi J.A., Bourou S., Noé W. (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.P.S., Becker, K.(1997).** Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *Journal of Agricultural Science*.128: 311-322.
- **Makkar, H.P.S., Becker K. (1996).** Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* Leaves. *Animal Feed Science Technology*.63: 211-228.
- **Martin-Tanguy J., Vermorel M., Lenoble M. & Martin C. (1976).** Les tanins des grains de Sorgho. Importance dans l’utilisation digestive de l’azote chez les rats en croissance.16(6): 879-890.
- **Merzougui, I., and Tadj, H. (2015).** Etude de l’effet antibactérien et antioxydant d’Ammoides verticillata De la région de Tlemcen.
- **Mofijur M, Masjuki H.H., Kalam M.A., Atbani A.E., Arbab M.I., Chang S.F., Gouk Sw. (2014).** Proprieties and use of *Moringa Oleifera* biodiesel and diesel fuel blends in a multi-cylinder diesel engine. *energy conversion and management*. 82: 169-176.
- **Mole S. & Waterman P.G.(1987).** Tonic acid proteolic enzymes: Enzyme inhibition substrat derivation. *Photochemistry*. 26: 99-102.
- **Musci M. & Yao S. (2017).** Optimisation and Validation of Folin-Coicalteu Method for Determination of total polyphénols content of Pu-erh Tea. *International Journal of food science and nutrition*. 68: 913-918.

• N

- **Ng S.C., Hart A.L., Kamm M.A., Stagg A.J.,and. Knight S.C. (2009).** Mechanisms of Action of Probiotics: Recent Advances. *Basic Science Review*. 15: 300-310.
- **Nuryanti S. and Puspitasari D. (2017).** Screening of metabolites secondary compounds in extract of moringa fruit and determination of inhibitory effect on growth of the fungus *Candida albicans*. *International Conference on Research, Implementation, and Education of Mathematics and Science*. 3p.

• O

- **O'Connell J.E., & Fox P.F. (1999).** Proposed mechanism for the effect of polyphenols on the heat stability of milk. *International Dairy Journal* 9 (8) : 523-536.
- **Okuda T. (2005).** Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*. 66: 2012-2031.
- **Opera J A., Azubrik O C.(2018).** Utilization of (*Moringa Oleifera*) Leaf and Rough Lemon Peels (Citrus Limon) Flour Blends in Nutrient Fortification of Home Made Snacks(Cakes and Buns) .*International Journal of Agriculture and Biological Science-ISSNN: 2522-6584*.
- **Osborne D.R. & Voogt P. (1986).** Análisis de los nutrientes de los alimentos Zaragoza. Ed. Acribia. 258p.

• P

- **Pandey K .B and Risvi S.I.(2009).** Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2(5): 270-278.
- **Pekal A. & Pyrzynska K. (2014).** Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid content essay. *Food Anal .Method*. 8p
- **Prince Martin L. (2007).** The *Moringa* tree. Technical Note: 19p.

• R

- **Rajangam J., Azahakia M. R. S., Thangaraj T., Vijayakumar A.,Muthukrishan N (2001).** Production et utilisation du *Moringa* en Inde: la situation actuelle, 9p.
- **Ralezo Maevalandy A. (2006).** *Moringa oleifera*, Antanario Madagacar. 16p.
- **Ribéreau-Gayon P. (1968).** Les composés phenoliques des végétaux. Dunod, Paris. Francia.
- **Richter N., Siddhuraju P., Becker K. (2013).** Evaluation of nutritional quality of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*. 217: 599-611.
- **Roberfroid B.M. (2001).** Prebiotics: preferential substrates for specific germs?. *American Society for Clinical Nutrition*.73: 406-409.

• S

- **Sadrin Stéphane. (2017).** Evaluation du bénéfice chez l'homme des probiotiques dans la prise en charge du syndrome de l'intestin irritable : méthodologie de l'essai contrôlé randomisé et allégations nutritionnelles et de santé. Université de Toulon.
- **Saini R.K., Sivanesan I., Keun Y S .(2016).** Phytochemicals of *Moringa Oleifera*. a review of their nutrition , therapeutic and industrial significance . *3Biotech*. 6: 1-14.
- **Salminen S., Kneifel W., Ouwehand A.C. (2016).** Probiotics: Application of Probiotics in Dairy Products: Established and Potential Benefits. *Elsevier*. 8p.
- **Santoyo S., Rodríguez-Meizoso I., Cifuentes A., Jaime L., García-Blairsy Reina G., Señorans F.J. & Ibáñez E. (2009).** Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. *LWT - Food Science and Technology*. 42: 1213-1218.
- **Sharma V And Paliwal R. (2013).** Isolation and Characterization Of Saponins From *Moringa Oleifera (Moringaceae)* Pods. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5: 179-183.
- **Siddhuraju P and 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. *Agricul and Food Chemistry*. 51: 2144–2155.
- **Skergat M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A.R. Simonic M. & Knez Z. (2005).** Phenols, Proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*. 89. 2: 191-198.
- **Slavin Joanne. (2013).** Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients*. 5: 1417-1435.

• T

- **Taguri T., Tanaka T. & Kouno I. (2006).** Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 29: 2226-2235.
- **Tian X., Tang H., Lin, H., Cheng G., Wang, S., Zhang X. (2013).** Saponins: The potential chemotherapeutic agents in pursuing new anti-glioblastoma drugs. *Mini Rev Med Chem*. 13: 1709-1724.

Références Bibliographiques

- **Toty A.A., Guessenn N., Bahi C., KRA A.M, Otokore D.A. & Dosso M. (2013).** Évaluation *in-vitro* de l'activité bactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de troncde *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.82. 12-21.

• V

- **Veraga-Jimenez M., Almatrafi M., & Fernandez M. (2017).** Bioactive Components in Moringa Oleifera Leaves Protect Agaist Chronic Disease. *Antioxidants*. 6(41): 91p.
- **Verma A.R., Vijayakumar M., Chandra S. Mathela C.S., Rao C.V. (2009).** In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 2196-2201.
- **Verscheure M., Lognay G., Marlier M. (2002).** Revue bibliographique. les méthodes chimiques d'identification et de classification des champignons. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. 6(3): 131-142.

• W

- **Wang Y. (2009).** Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International*. 42: 8-12.
- **Wang Y., Liwen He., Xing Y., Zhou W., Pain R., Yang F., Chen X., Zhang Q. (2019).** Bcterial Diversity and Fermentation Quality of *Moringa Oleifera* Leaves Silages Prepared with Lactic Bacteria Inoculants and Stored at different temperatures *.Bioresource Technology*.19. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.139>
- **Wichienhot S., Thammarutwasik P., Jongjareonrak A., Chanswan W., Hmadhlu P., hangpattarakere T., Itharat A., & Ooraikul B. (2011).** Extraction and analysis of prebiotic from selected plants from southern Thailand. *Songklanakarin Journal of Science and technology*. 33(5): 517-523.
- **William J.A., Ochire-Boadu A et Baatuuwie NB. (2012).** réponse initiale de croissance de *Moringa oleifera* semis à différents amendements du sol. *African Journal of Agricultural Research*. 7(45): 6082-6086.

• Y

- **Yadav R., Agarwala M. (2011).** Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*. 3(12):10-14.
- **Yang R.Y., Yang R.Y., Lin S., Kuo G. (2008).** Content and distribution of flavonoids among plant species. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*.17: 275–279.

Annexes

« Annexe1 : Préparation des Solution »

| | |
|-------------------------------------|---|
| NaoH 0,1N | 2g de NaoH dans 500 ml d'eau distillée. |
| NaoH 1N | 40g de poudre de soude, Ajustée à 1000 ml d'ED |
| Phénolphtaléine | 50ml H ₂ O+ 50ml d'éthanol+ 0,5 g de Phénolphtaléine |
| Folin coicalteu 0,1N | 20ml du Folin –coicalteu ajusté à 200ml d'eau distillée |
| Na₂Co₃ | 7,5g de NaCO ₃ dans 30ml d'eau distillée |
| AlCl₃ | 2g d'AlCl ₃ dans 100 ml Méthanol |
| FeCl₃ 0,01 M | Dissoudre 0,4050g de FeCl ₃ dans 250ml Hcl 0,01M |
| Hcl 0,01M | 0,02065d'Hcl 37% est ajustée a 250ml avec l'eau distillée |
| Vanilline à 5,8% | 5,8 g de la Vanilline dans 100ml de méthanol |
| Hcl à 24% | 64,86 ml Hcl +100ml d'eau distillée |
| Vanilline_Hcl | Ca préparation est faite juste avant l'utilisation en mélangeant à volume équivalent la solution de Vanilline à 5,8% et la solution d'Hcl 24 %. |
| HclO₄ | 52d'HClO ₄ est ajustée a 100ml avec ED |
| Anthrone à 0,1% | Dissoudre 0,16 d'Anthrone dans 80 ml d'acide sulfurique à 95% (acide préparé par addition d'1ml d'ED dans 79ml d'acide sulfurique). |
| DNS | Dissoudre 1g de l'acide DNS dans 20 ml d'ED, Ajouter 1,5mg NaOH ,dissoudre 30g de sodium de potassium tartrate tertahydrate, Ajusté le volume j'jusqu'a 100ml avec ED. |
| Hcl à Ph1 | 1 ml Hcl + 9ml d'eau distillée |
| Solution de α-Amylase | Dissoudre 0,0056g d'α-amylase dans 40ml d'ED. |
| Tampon phosphate à pH= 7 | 1.36 g de KH ₂ PO ₂ dans 100ml d'ED 0.87g de K ₂ HPO ₂ dans 100ml d'ED la solution acide est ajuster avec la solution est ajustée avec la solution basique j'jusqu'a l'obtention d'un pH7 |
| Eau physiologie | 9g NaCl dissoudre dans 1000ml d'ED. |
| Réactif de Bouchardât | 1g de I ₂ (Bisublimé) +1g de KI ₂ dans 50ml d'ED |
| MRS | 26,125 g de la poudre se MRS + 35 ,15 g d'agar |
| Solution NaCl | 2,95 g de NaCl dans 100ml d'eau distillée |

« Annexe2 : Courbes d'étalonnages »

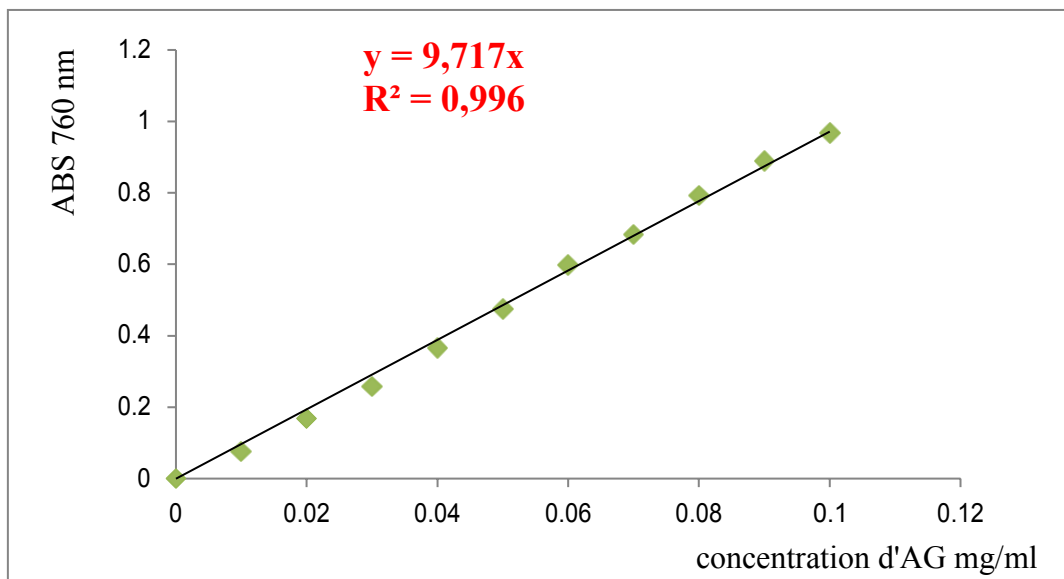


Fig.1. Gamme d'étalonnage d'Acide Gallique

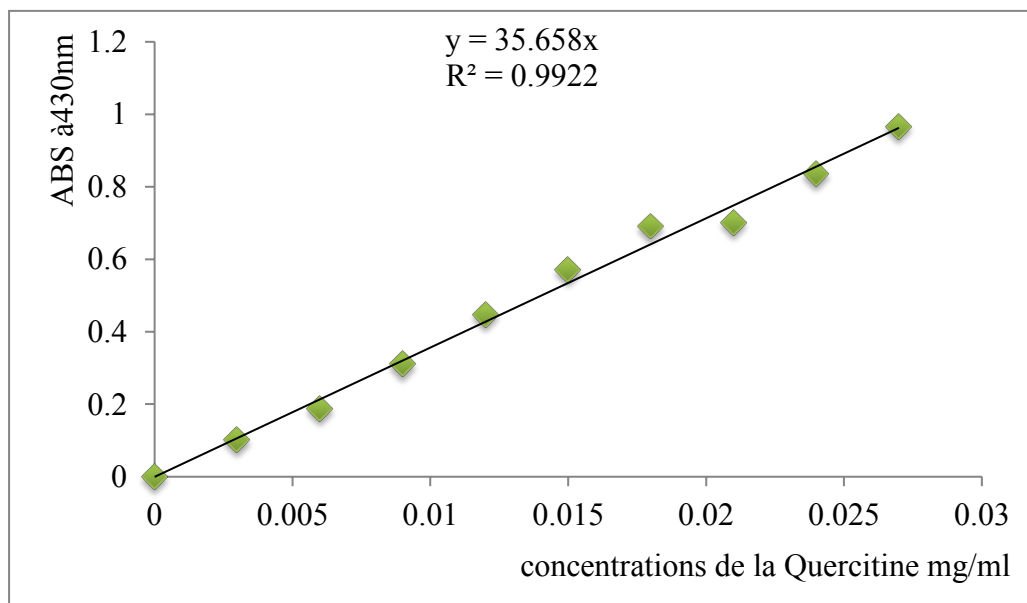


Fig.2. Gamme d'étalonnage de la Quercétine

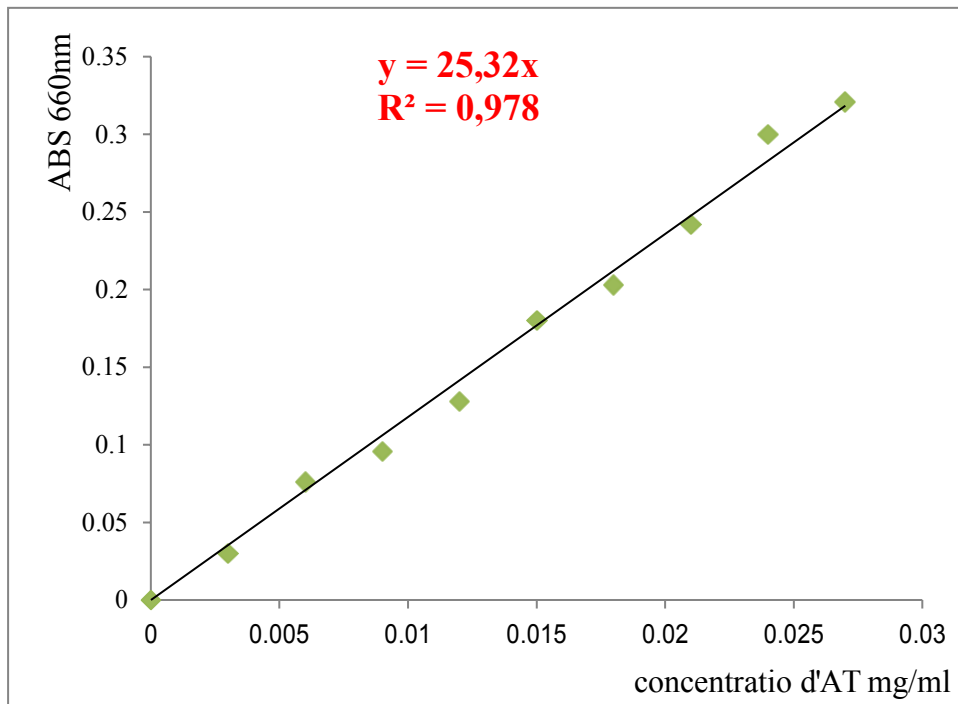


Fig. 3. Gamme d'étalonnage d'Acide Tannique

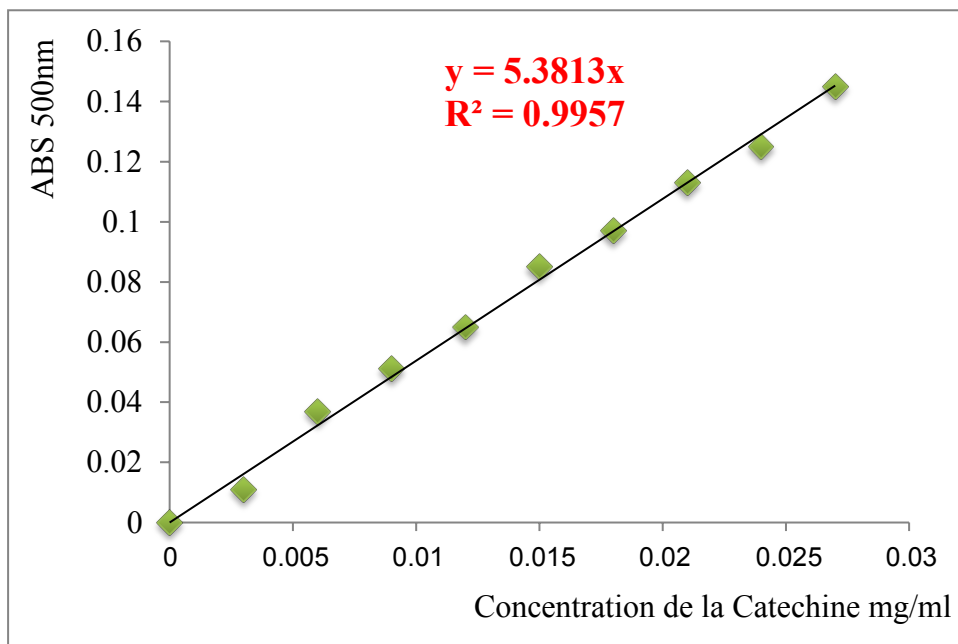


Fig.4. Gamme d'étalonnage de la Catéchine

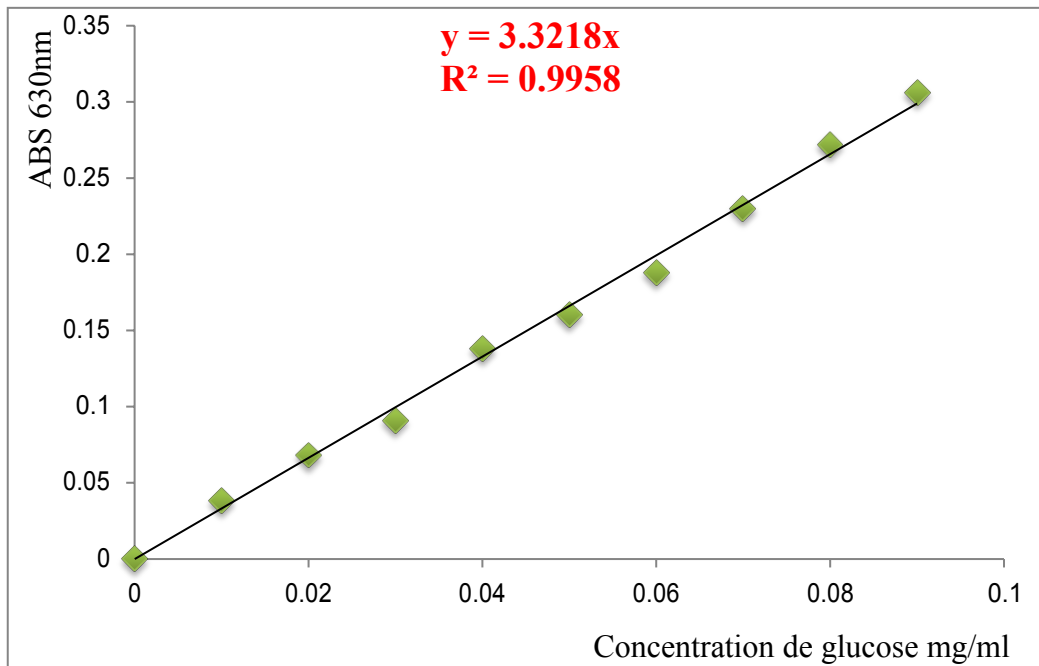


Fig.5. Gamme d'étalonnage de Glucose (Sucres Totaux)

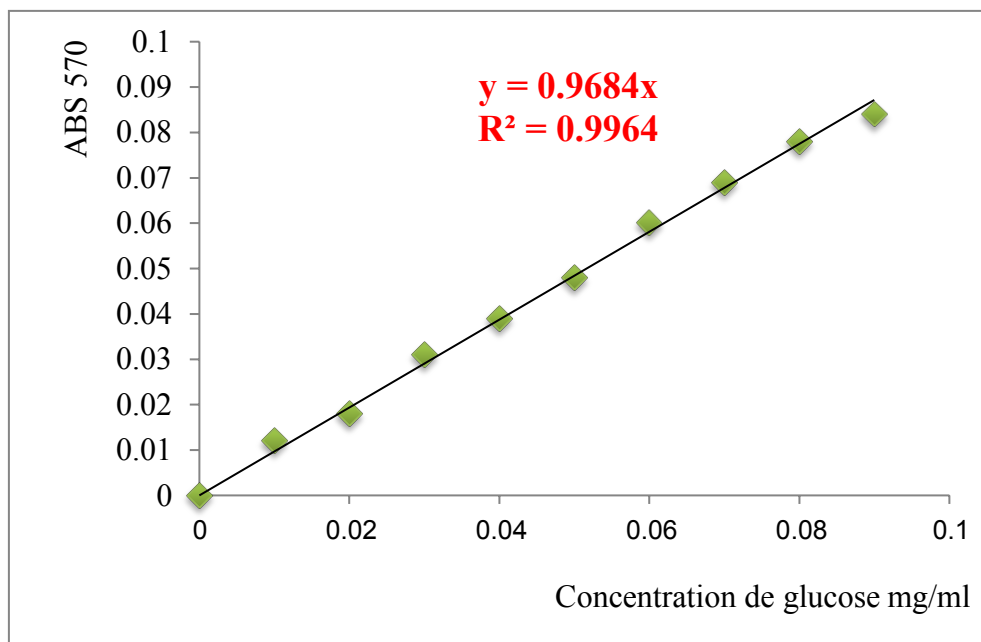


Fig.6. Gamme d'étalonnage de glucose (Sucres Réducteurs)

Résumé

Résumé

Moringa oleifera, est un trésor végétale, grâce au ces multiples usages (pharmaceutique, médicinale, industrielle, alimentation ...). Une étude à été réaliser pour évaluer l'effet de traitement sur potentiel prébiotique de la poudre des feuilles de *Moringa oleifera* et leur activité antimicrobienne. L'expérience à été menée que la poudre de feuille après traitement à révélé une diminution en composés phénoliques (flavonoïdes, tannins), saponines et alcaloïdes, tous des composés chimiques avec des effets antimicrobiens. Des extraits brut ont été testés contre deux souches lactiques (*LB bulgaricus* et *LB plantarum*), mais aussi contre deux souches pathogènes (*E. coli* et *S. aureus*). Les résultats ont montré que l'extrait brut des feuilles de *Moringa oleifera* après traitement, sont efficaces contre toutes les souches bactériennes testées. La plus part des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI), allant de 60 à 3,75 mg/ml.

Mots clés : *Moringa oleifera* – Composés phénoliques – antibactériens – prébiotique et probiotiques - feuilles.

Summary

Moringa oleifera, plant is a treasure, thanks to these multiple uses (pharmaceutical, medicinal, industrial, food ...). A study was conducted to evaluate the prebiotic potential treatment effect of the powdered leaves of *Moringa oleifera* and their antimicrobial activity. Experience was conducted as leaf powder after treatment revealed a decrease in phenolic compounds (flavonoids, tannins), saponins and alkaloids, all chemical compounds with antimicrobial effects. Crude extracts have been tested against two strains of lactic acid (*LB* and *LB plantarum bulgaricus*), but also against two pathogenic strains (*E. coli* and *S. aureus*). The results showed that Crude extracts of leaves of *Moringa oleifera* after treatment, are effective against all bacterial strains tested. Most of the Minimum Concentrations Inhibitory (MIC) ranging from 60A 3.75 mg/ ml.

Keywords: *Moringa oleifera* - Phenolic - antibacterial - prebiotic and probiotic - sheets.