

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

M^r BAROUDI Sidi Mohammed Ghouti

M^{lle} Otmani Feryel

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

Synthèse de quelques travaux scientifiques sur l'activité antioxydante et inhibitrice de l'alpha amylase de *Moringa oleifera*

Soutenu le 27 juin 2022, devant le jury composé de :

Président	Benariba Nabila	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	Belkacem Nacéra	MCA	Université de Tlemcen
Examineur	Medjdoub Houria	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021 / 2022

تُعرف القيمة العلاجية للنباتات الطبية منذ العصور القديمة ، *Moringa oleifera* هي شجيرة من عائلة Moringaceae من أصل هندي تستخدم في الطب التقليدي بفضل خصائصها الغذائية والطبية والصناعية والصيدلانية. الهدف من هذا العمل هو تحليل ومعالجة المقالات العلمية المنتجة عن توافر نشاطين بيولوجيين في هذا النبات: النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المثبط لأميليز ألفا. تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها من خلال العديد من الأعمال أن المورينجا لها قوة مضادة للأكسدة بفضل وجود مركبات كيميائية نباتية: المركبات الفينولية ، الفلافونويد ، القلويدات ، المركبات المختزلة ، أحماض الأسكوربيك ، والقدرة على تثبيط الجليكوزيداز مثل ألفا أميليز .

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مثبط لآلفا أميليز ، مواد كيميائية نباتية ، مورينجا اوليفيرا

Résumé

La vertu thérapeutique des plantes médicinales est connue depuis l'antiquité, la *Moringa oleifera* est un arbuste de la famille des Moringaceae d'origine d'Inde utilisée dans la médecine traditionnelle grâce à sa propriété nutritionnelle, médicale, industrielle et pharmaceutique.

L'objectif de ce travail est d'analyser et traiter des articles scientifiques réalisés sur la l'existence des deux activités biologiques de cette plante : l'activité antioxydante et l'activité inhibitrice de l'alpha amylase. Les résultats obtenus par différents travaux affirment que la moringa a un pouvoir antioxydant grâce à l'existence des composés phytochimiques : composés phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes, composés réducteurs, acides ascorbique, et une capacité d'inhibé l'alpha amylase et l'alpha glycosidase.

Mots clés : *Moringa oleifera* , activité antioxydante, inhibition de l'alpha amylase, composition phytochimique

Abstract

The therapeutic virtue of medicinal plants is known since ancient times, *Moringa oleifera* is a shrub of the family Moringaceae of Indian origin used in traditional medicine thanks to its nutritional, medical, industrial and pharmaceutical properties. The objective of this work is to analyze and treat scientific articles carried out on the existence of two biological activities in this plant: antioxidant activity and inhibitory activity of alpha amylase. The results obtained by different works affirm that moringa has an antioxidant power thanks to the existence of phytochemical compounds: phenolic compounds, flavonoids, alkaloids, reducing compounds, ascorbic acids, and a capacity to inhibit glycosidase such as alpha amylase.

Keywords : *Moringa oleifera* , antioxidant activity , alpha amylase inhibitory activity , phytochemical compounds

Remerciement

Nous tenant à présenter nos remerciements les plus sincères à :

Dieu qui a fait pour nous la connaissance une lumière pour nos esprits.

A notre encadreur **Mme Belkacem Nacéra** maître de conférences au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen pour l'intention et le temps qu'elle ait bien voulu le consacrer au bon déroulement de ce travail.

Nos sincères remerciements à **Melle Benariba Nabila** maître de conférences au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury.

On exprime également nos remerciements à **Mme Medjdoub Houria** maître de conférences au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen de me fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail et aussi pour nous avoir soutenu pendant nos jours d'études.

Dédicace

*Grâce à dieu et ses bénédictions infinies, j'ai pu réaliser ce travail
que je dédie :*

*À la lumière de mes yeux ma mère **Tsouria** , à l'ombre de mes pas
mon père **Mohamed** et à mon compagnon de route ma sœur*

Ismahane

*Je ne peux pas oublier de remercier chaleureusement mes frères
Mourad , Nadia et Mahfoud mes très chères amies **Rawida
Ghizlane Fatima Affef Sofiane Chihab et youcef** qui mon
toujours aidé pendant ces cinq ans, Je leurs souhaite à tous bonne
continuation et beaucoup de réussite.*

*Enfinement je dédie ce travail à mon binôme **Sidi Mohamed
Ghouti** que je lui souhaite d'être dans les plus hauts rangs de la vie*

MERCI A VOUS

Otmani Feryel

Je dédie ce modeste travail

A ma mère qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études.

Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance

*A l'âme de mon très cher père que la mort n'a pas laissé le temps
pour assister à la soutenance de son fils*

*A ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de
la vivacité*

*A mes amis intimes **Cherif Mohamed Chakib et Sari Youcef** et à tous
mes collègues je vous souhaite plus de succès*

*Sans oublier mon binôme **Otmani Feryel** que je la remercie infiniment
pour notre travail ensemble*

Baroudi Sidi Mohammed Ghouti

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction **1**

Synthèse bibliographique

Chapitre I

1 / Définition **3**

2 / Historique **3**

3 / Description **4**

4 / Classification **6**

5 / Nom vernaculaire **7**

6 / Utilisation traditionnelle **7**

7 / Culture et écologie **8**

8 / Composition chimique **9**

9 / Activités biologiques **11**

Chapitre II

1 / Traitement des articles scientifiques **13**

2 / Conclusion **27**

Conclusion général **29**

Références bibliographiques **31**

Annexes **39**

Liste de figures

Figure n°1 : Répartition géographique de <i>Moringa oleifera</i>	3
Figure n° 2 : l'arbre miracle (<i>Moringa oleifera</i>).....	4
Figure n°3 : Feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	5
Figure n°4 : Fleure de <i>Moringa oleifera</i>	5
Figure n°5 : Fruits de <i>Moringa oleifera</i>	6
Figure n°6 : Graines de <i>Moringa oleifera</i>	6
Figure n°7 : Poudre de <i>Moringa oleifera</i>	8
Figure n°8 : Structure chimique de quercétine.....	10
Figure n°9 : Structure chimique de kaempférol.....	10

Liste des Tableaux

Tableau n°1 : Les activités biologiques des différentes parties de <i>Moringa oleifera</i>	11
Tableau n°2 : Analyse phytochimique des extraits de <i>Moringa oleifera</i>	15
Tableau n°3 : Méthodes utilisées pour analyser les constituants phytochimiques des feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	21

Introduction

La nutrition est l'un des facteurs les plus importants dans la promotion et le maintien de la santé tout au cours de la vie. Un régime à base de plantes peut être en mesure de prévenir et de traiter des maladies chroniques telles que le diabète, l'obésité, les maladies cardiaques, l'hypertension artérielle, l'inflammation chronique et même le cancer. (Matic Ivana *et al.*, 2018).

Différentes espèces de plantes ont été universellement utilisées dans la préparation de médicaments traditionnels et pour la guérison de plusieurs affections où la consommation d'aliments non seulement fournissent des nutriments à l'organisme, mais aident également à la prévention des maladies (Dike *et al.*, 2012).

La *Moringa oleifera* est l'un des plantes médicinales utilisées pour traiter des nombreuses pathologies (Mathieu *et al.*, 2007), tout les parties de la plante contenant de nombreux phytonutriments alimentaires.

elle est riche en métabolites primaires se sont les protéines, matières grasses, glucides et du Calcium, Magnésium, Potassium, Fer, Zinc et Phosphore (Yaméogo *et al.*, 2011), et en métabolites secondaires notamment des flavonoïdes, des composés phénoliques, des alcaloïdes (Cabrera-Carrión *et al.*, 2017)

Tout cela appelle l'importance de son utilisation comme agent anticancéreux, antioxydant, anti-inflammatoire, immuno-modulateur, antidiabétique, fongicide, antibactérien et hépato-protecteur (Olson et Fahey 2011 ; Farooq *et al.*, 2012 ; Padayachee et Baijnath, 2012).

Le but de cette étude et de présenter cette plante médicinale comme est décrit dans le premier chapitre et d'étudier ses valeurs nutritionnels tel que la réduction du stress oxydatif et l'inhibition enzymatique de l'alpha amylase dont nous avons parlé au chapitre deux.

L'intérêt de cette réduction est de éliminé le déséquilibre entre la production d'espèce radicalaire de l'oxygène et les capacités cellulaires antioxydantes. Le second l'intérêt c'est à propos l'inhibition de l'alpha amylase qui bloque le processus de la dégradation des oligo-sacharides et permet de contrôler le niveau de glucose dans le sang chez les diabétiques.

Chapitre I :
La plante Moringa oleifera

1. Définition

Moringa oleifera (synonyme : *moringa pterygosperma* Gaertner) appartient à une famille ontogénique d'arbustes et d'arbres, est l'un des arbres tropicaux les plus utiles à croissance rapide et de 6 à 7 m en un an dans des zones recevant moins de 400 mm de précipitations annuelles moyennes (Foidl N *et al.* , 2001). Elle est connue sous le nom d'arbre à pilons en raison de l'apparence de ses gousses immatures, d'arbre à raifort en raison du goût des préparations de racines moulues et d'arbre à huile en raison des huiles dérivées des graines. Dans certaines régions, les gousses de graines immatures sont consommées, tandis que les feuilles ont largement utilisées comme aliment de base en raison de leur haute teneur en nutriments (Stohs G *et al.* , 2015) , (Fig n°01).

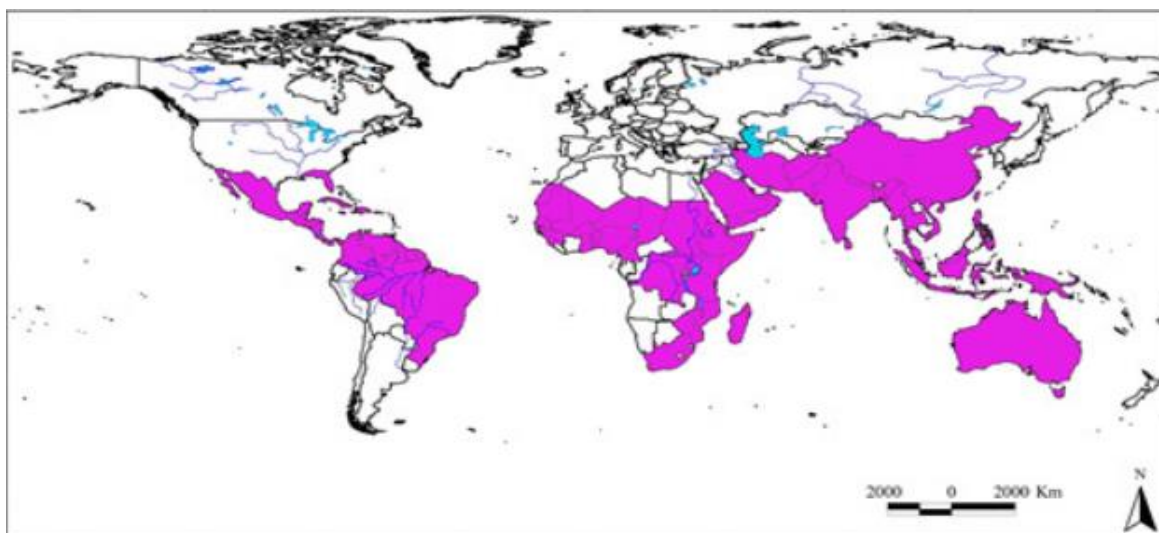


Figure n°1 : Répartition géographique de *Moringa oleifera*
(Gandji K *et al.* , 2018)

2. Historique

La moringa a été introduite en Afrique de l'Est depuis l'Inde au début du 20ème siècle. Le Marango (nom local du *Moringa oleifera*) a été présenté dans les années 1920 comme plante ornementale et pour être utilisé comme clôture vivante. La moringa est maintenant cultivé dans tout le Moyen-Orient et dans presque toute la ceinture tropicale (Foidl N *et al.* , 2001).

3. Description de la plante (*Moringa oleifera*)

La *Moringa oleifera* est un arbre parfois appelé "arbre de vie" ou "arbre miracle" est un petit arbre gracieux à feuilles caduques et au feuillage clairsemé, ressemblant souvent de loin à une espèce de légumineuse surtout lorsqu'il est en fleur, mais elle est reconnaître immédiatement lorsqu'elle est en fruit. L'arbre atteint 8 m de hauteur et 60 cm de diamètre, le tronc est tordu, souvent fourchu à partir de la base, écorce lisse, gris foncé ; rémanence mince, jaunâtre, rameaux et pousses sont peu mais densément poilus. Couronne large, ouverte, typiquement en forme de parapluie et généralement constituée d'une seule tige ; souvent enracinée profondément ; le bois est tendre (Taher *et al.* , 2017) ;(Fig. n° 2).



Figure n°2 : l'arbre miracle (*Moringa oleifera*) (www.onszaden.nl)

3.1. Tige

La tige est normalement droite, mais elle est parfois mal formée, l'arbre pousse avec une tige courte et droite qui atteint une hauteur de 1,5-2 m avant de commencer à se ramifier, mais peut atteindre 3,0 m (Foild *et al.* , 2001).

3.2. Feuilles

Les grandes feuilles disposées en alternance sont portées par des pétioles de 4 à 15 cm de long. Ces feuilles sont tri-pennées et généralement de 25 à 60 cm de long, mais elles peuvent occasionnellement mesurer de 6,5 cm à 90 cm de long. Les feuilles ont 5-11 branches principales qui sont pulvinées (**Taher et al ., 2017**) ; (**Fig n°3**) .



Figure n°3 : Feuilles de *Moringa oleifera* (www.onszaden.nl)

3.3. Fleurs

Les fleurs parfumées de *Moringa oleifera* sont de couleur blanc crème, avec des étamines jaunes. La moyenne des fleurs environ un pouce de diamètre et elles fleurissent pour la première fois lorsque l'arbre fait ses huit mois, et après cela, la *Moringa oleifera* fleurit chaque année au mois d'avril à septembre (**Taher et al ., 2017**) ; (**Fig. n° 4**).



Figure n°4 : Fleure de *Moringa oleifera* (<https://www.flickr.com>)

3.4. Fruits et graines

En apparence, le fruit de l'arbre moringa ressemble à de longs haricots fins ou à des gousses de pois. Au cours de la croissance végétative, ils sont de couleur blanche, virant au brun lorsqu'ils atteignent la maturité. Les graines à l'intérieur, qui sont très prisées par populations locales comme le fruit, au nombre de 5 à 20 par fruit. Le fruit lui-même se caractérise par un goût qui peut être décrit comme semblable à l'asperge. Les fruits du moringa ressemblent un peu à des pilons, c'est pourquoi il est parfois appelé "l'arbre à baguettes" (Taher *et al.* , 2017) ; (Fig n°5) , (Fig n°6).



Figure n°5 : Fruits de *Moringa oleifera*
(<https://commons.wikimedia.org>)



Figure n°6 : Graines de *Moringa oleifera*
(<https://cdn.futura-sciences.com>)

4. Classification

La moringa est l'une des 14 espèces de la famille des Moringaceae ; *Moringa oleifera* suit la classification suivante :

- Règne : Plantae
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Brassicales
- Famille : Moringaceae

- Genre : Moringa
- Espèce : *Moringa Oleifera* (Egbuna Chukwuebuka, 2015).

5. Nom vernaculaire

Il existe environ quatorze espèces de l'arbre connues, tel que *M.stenopetala*, *M.peregrina*, *M.ovalifolia*, *M.oleifera* etc. La *Moringa oleifera* est l'espèce la plus connue, elle est originaire des régions sub-himalayennes du nord de l'Inde largement distribué dans les régions tropicales et sub-tropicales .

- En anglais : Raifort, radis, meilleur ami de la mère.
- En Français : Ben aile, benzolive.
- En Sénégal : Neverdie, nebeday.
- En Igbo : Okwe oyibo, okochi egbu, okughara (Gwilo I *et al.* , 2011).
- En inde : sahjan (Raja *et al.* , 2016).
- Espagnol : Angela, Ben, Moringa
- Portugais : Moringa, Moringueiro (Mishra G *et al.* , 2011).

6. Utilisation traditionnelle

Traditionnellement, la plante est utilisée comme antispasmodique, stimulant, expectorant. La racine fraîche est âcre et vésicante (au goût du raifort), par voie interne, elle est utilisée comme stimulant, diurétique et antilithique. L'écorce est emménagogue et même abortif, antifongique, antibactérien. Les fleurs sont cholagogues, stimulantes, et diurétiques. La plante est aussi un tonique cardio-circulatoire et un antiseptique (Mishra G *et al.* , 2011).

- Les gousses sont antipyrétiques, anthelminthiques ; les gousses frites sont utilisées dans le traitement du diabète.
- Le jus de racine est employé comme tonique cardiaque, antiépileptique ; utilisé pour la débilité nerveuse, l'asthme, l'hypertrophie du foie et de la rate, les maladies profondes.
- les feuilles cuites sont données dans la grippe et les affections catarrhales.
- L'écorce de la racine est utilisée comme antiviral, anti-inflammatoire, analgésique et l'écorce de la tige et les fleurs sont hypoglycémiques.

- L'infusion des graines est anti-inflammatoire, antispasmodique et diurétique, elle est aussi utilisée dans les maladies vénériennes.
- l'utilisation de l'écorce de racine séchée dans le goitre, la glycosurie et les troubles lipidiques (également les graines séchées), et de la feuille, de la graine, de l'écorce de la racine et de l'écorce de la tige dans l'abcès interne, les hémorroïdes et les hémorroïdes (Mishra G *et al.* , 2011).

Dosage : Feuille 10-20ml de jus ; écorce de racine 2-5 g de poudre ; écorce de tige 2-5g de poudre ; graine 5-10 g de poudre. Feuille, fleur, fruit, graine, écorce, racine 1-3 g de poudre ; 50-100 ml de décoction. (Mishra G *et al.* , 2011) ; (Fig. n°7) .



Figure n°7 : Poudre de *Moringa oleifera* (<https://airss-sapho.org>)

7. Culture et écologie de moringa

Moringa oleifera se caractérise par une croissance très rapide une salinité élevée et une résistante aux stress hydrique et thermique :

- **Type de sol :** se pousse dans des sols Limoneux, sableux ou sablo-limoneux ou alluvions argileux
- **PH du sol :** est légèrement acide à faiblement alcalin (PH : 5 à 9) (De Saint Sauveur et Broin, 2010)

- **L'Altitude** : La plante de moringa se pousse préférentiellement dans une altitude inférieure à 600 m, mais elle peut pousser jusqu'à 1200 m dans des régions tropicales où es déjà observé à 2000 m. Au Nicaragua (**Price, 1985 ; Echo, 2007**).
- **Température** : la température absolue du moringa est de 25 à 35°C, mais elle peut atteindre jusqu'à 48°C. Les variations des températures saisonnières est forte : de 38 à 40°C en été jusqu'à -1°C en hiver (**Price, 1985 ; Echo, 2007**).
- **Pluviométrie** : La moringa peut s'adapter à des précipitations de 250 à 1500 mm. Se pousse plus mieux dans les régions ayant une pluviométrie entre 800 à 1200 mm et il peut résister à la sécheresse jusqu'à 6 mois (**Price, 1985 ; Echo, 2007**).

8. Composition chimique du *Moringa oleifera*

Au cours de ces dernières années, les chercheurs ont passé leur temps à étudier et à identifier les composants des différentes parties du Moringa. Toutes les parties de la plante ont leurs propres caractéristiques et sont susceptibles d'être utilisées :

8.1. Composition des Feuilles

Les études ont montré que la plupart des feuilles de moringa contiennent des composés phénoliques qui ont une activité antioxydante (**Harimalala et al ., 2016**), aussi elle contiennent des flavonoïdes et sont riches en composés contenant un sucre simple : c'est le rhamnose et le glucosinolates et les isothiocyanates (**Bennett et al ., 2003**).

Elles sont très riches en provitamine A et en vitamines du groupe B et C, aussi en minéraux, en particulier en fer, en acides aminés méthionine et cystéine et sont considéré comme sources de soufre (**Foild N et al ., 2001**). Ces feuilles comestibles ont une merveilleuse valeur nutritionnelle et se consomment cuites. L'apport alimentaire moyen est de 100 grammes de poudre de feuilles de M.oleifera (**De Saint Sauveur, 2010**)

8.2. Composition de la graine et de l'huile de moringa

Les graines de moringa contiennent une protéine qui est utilisée dans le traitement des eaux à la place du sulfate d'aluminium. L'huile extraite de ces graines est considérée comme un aliment riche comme l'huile d'olive, elle contient environ, 82% d'acides gras polyinsaturés, 13% d'acides gras saturés et jusqu'à 70% d'oméga-9 alors que les huiles végétales conventionnelles en

contiennent juste 40%. L'huile de moringa est restée indubitable pendant plus de 5 ans grâce à sa haute teneur en antioxydants et phytonutriments où elle aide à réduire l'activité des radicaux libres sur la peau (Benali *et al.*, 2016).

8.3. Composition de la fleur

La fleur est très riche en protéines et minéraux. Surtout dans le produit séché elle contient neuf acides aminés, du D-glucose, du saccharose, de la cire de quercétine et du kaempférol et des traces d'alcaloïdes. La cendre est riche en potassium et en calcium (Ruckmani *et al.*, 1998), (Fig n°8) ; (Fig n°9).

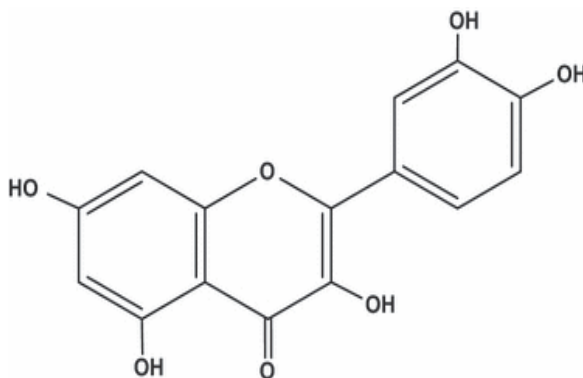


Figure n°8 : Structure chimique de quercétine (Gupta *et al.*, 2012)

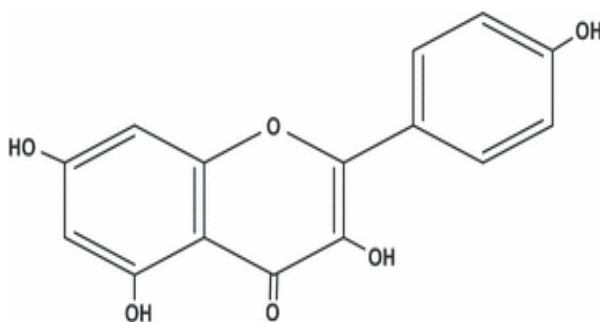


Figure n°9 : Structure chimique de kaempférol (Gupta *et al.*, 2012)

8.4. Composition des racines

Les racines contiennent l'antibiotiques Athomines et Ptéryospermines, tandis que les écorces contiennent des stimulant cardiaque ce sont les alcaloïdes Moringine et Moringinine (Ralezo Maevaland, 2006).

L'écorce de la tige contient deux alcaloïdes (la moringine et la moringinine). Des composés comme la Vanilline, β -sitosterol, le β -sitostenone, l'acide octacosanoïque, 4-hydroxymellin ont été isolés de la tige (Laleye, O. A. F *et al.*, 2015).

9. Les activités biologiques de *Moringa oleifera*

Les activités biologiques présentes dans la *Moringa oleifera* sont regroupées dans le Tableau suivant.

Tableau n°1 : Activités biologiques des différentes parties de *Moringa oleifera*

Activités biologiques	Partie de la plante	Références
Antioxydante	Les feuilles	(Benarima A , 2021) (Dubey et al., 2013)
Inhibitrice de l'α-amylase	Les graines	(Gu X et al ., 2020)
Anti-inflammatoire	Les racines	(Ndiaye et al ., 2002)
Anti-diabétique	Les feuilles Les gousses	(Tshabalala et al ., 2020) (Gupta et al., 2012)
Anti-microbienne, Anti-parasitaire et Anti-fongique	Les graines	(Suarez et al ., 2005)
Anti-hypertenseur	Les feuilles	(Ghasi et al ., 2000)
Anti-cancéreuse	Les feuilles	(Charoensin , 2014)
Anti-spasmodique	fleurs, feuilles, racines, graines et tiges ou l'écorce	(Cáceres et al ., 1992)
Anti-helminthique	Les graines	(Giri et al ., 2010)
Stimulant cardiaque et circulatoire	Toutes les parties de l'arbre	(Dubey et al ., 2013)
Combattre la cécité et les infections oculaires	Les feuilles	(Dubey et al ., 2013)

Chapitre II :
Analyse de quelques articles
scientifiques sur l'activité antioxydante
et inhibitrice de l'alpha amylase de
Moringa oleifera

Les articles analysés dans se travail sont :

Article 1 :

Profil phytochimique et capacité antioxydante des feuilles de *Moringa oleifera* (Lam) extraites à l'aide de différents systèmes de solvants (**Okumu *et al.* , 2016**).

Article 2 :

Maximisation des composés phénoliques totaux, des teneurs en flavonoïdes totaux et de l'activité antioxydante de feuille de *Moringa oleifera* par la méthode d'extraction appropriée (**Boonyadist vongsak *et al.*, 2013**).

Article 3 :

Altération des constituants phénoliques, des propriétés antioxydantes, des propriétés inhibitrices de l' α -amylase, et de l' α -glucosidase par le séchage des feuilles de *Moringa oleifera* (**Ademiluyi *et al.*, 2018**).

Article 4 :

Hydrolysats de protéines de graines de *Moringa oleifera* : cinétique d'inhibition de l' α amylase et potentiels antioxydants (**Olusola *et al.* , 2018**).

Article 1

Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2016; 5(4): 302-308



E-ISSN: 2278-4136
P-ISSN: 2349-8234
JPP 2016; 5(4): 302-308
Received: 29-05-2016
Accepted: 30-06-2016

Okumu Mitchel Otieno
Department of Public Health
Pharmacology and Toxicology,

Phytochemical profile and antioxidant capacity of leaves of *Moringa oleifera* (Lam) extracted using different solvent systems

Okumu MO, Mbaria JM, Kanja LW, Gakuya DW, Kiama SG and Ochola FO

• Objectif

L'étude est une analyse comparative des substances phytochimiques présentes dans l'extrait aqueux et l'extrait hydro-méthanol des feuilles de *Moringa oleifera*, ainsi que leur capacité antioxydante.

• Expérimentation

— Extraction du matériel végétal :

Dans cette expérience la partie aérienne fraîche de *Moringa oleifera* a été collectée, les feuilles ont été isolées puis séchées pendant 10 jours à l'air libre ensuite broyées en poudre fine à l'aide d'un moulin électrique d'après la méthode de (Anwar *et al.* , 2013).

— Préparation des extraits aqueux et hydro-méthanolique :

200 grammes de poudre de feuilles séchées plus 800 ml de (d'eau distillée/ou de co-solvant méthanol-eau dans le rapport 80:20 v/v) poursuivies par une douce agitation du flacon Grâce à une barre magnétique et d'un agitateur magnétique fonctionnant à 200 tours par minute pendant 48 heures, les composés phytochimiques présents dans la poudre ont été extraits.

Par la suite, le mélange a été centrifugé à 3000 tours par minute pendant 5 minutes. Pour l'extrait aqueux le surnageant a été recueilli dans des bouteilles résistant à la lumière et lyophilisée pour l'extrait aqueux méthanol le surnageant a été transféré dans un évaporateur rotatif à 45 °C pour l'élimination d'excès de solvant et concentrer l'extrait.

— Analyse qualitative

Les tests utilisés pour analyser les phytoconstituants présents dans les extraits de *Moringa oleifera* sont regroupés dans le tableau n°2 :

Tableau n°2 : Analyse phytochimique des extraits de *Moringa oleifera*

Phytoconstituants	Tests
Alcaloïdes	Dragendorff
Anthraquinones	Borntragers
Glycosides cardiaques	Keller-Killiani
Coumarines	Fluorescence
Flavonoïdes	Réactif alcalin
Substances phénoliques	Chlorure ferrique
Phytostérols	Liebermann-Burchard
Saponines	Mousse
Tanins	Chlorure ferrique
Les triterpènes	Salkowski
L'acide ascorbique	Dichlorophenol Indophenol-DCPIP

— Analyse quantitative

- ✓ **Détermination du contenu phénolique total des extraits bruts des feuilles de *M. oleifera* par la méthode de Harnafi *et al.*, (2008) ; Singleton *et al.*, (1999).**

Les dilutions des extraits (0,25, 0,5, 1,0, 1,5 et 2,0 ml) ont été préparées à partir d'une solution mère (100µg/ml) et le dosage est effectué à l'aide de réactif de Folin-Ciocalteu et le carbonate de sodium (Na₂CO₃ à 7,5% p/v). L'acide gallique monohydraté est utilisé comme un standard.

L'absorbance des solutions a été mesurée à 765 nm contre un blanc. La concentration de composés phénoliques a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et calculée en milligrammes d'équivalents acide gallique.

- ✓ **Détermination du contenu total en flavonoïdes des extraits bruts des feuilles de la plante par la méthode d'Atanassova *et al.*, (2011).**

Les dilutions des extraits (0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 et 1,0 ml) ont été préparées à partir d'une solution mère (100µg/ml) et le dosage est effectué à l'aide de nitrite de Sodium (NaNO₂) à 5% p/v, de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10% p/v et d'hydroxyde de sodium 1M (NaOH).

- La catéchine est utilisée comme un standard.
- L'absorbance des solutions a été mesurée à 510 nm contre un blanc.
- La concentration des flavonoïdes a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage standard, calculée en milligrammes d'équivalents de catéchine par gramme de matière végétale sèche.

✓ **Détermination du contenu en acide ascorbique des extraits bruts du moringa par la méthode d'Atanassova *et al.*, (2011) :**

Les dilutions des extraits (0,05, 0,1, 0,25, 0,5, 1,0 et 1,5 ml) ont été préparées à partir d'une solution mère (100µg/ml) et le dosage est effectué à l'aide d'acide trichloracétique (TCA) à 13,3% (100µl) plus 100µm d'eau distillée et 75 µl de Dinitrophényl hydrazine (DNPH; 2g Dinitrophenyl hydrazine, 230mg Thiourea et 270mg CuSO₄ · 5H₂O). 0,5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) à 65% est additionné après incubation de 3h à 37°C.

L'acide ascorbique a été utilisé comme standard et l'absorbance a été mesurée à 520 nm contre un blanc.

• **Résultats**

Les résultats obtenus d'après l'analyse quantitative par les méthodes de (**Harborne *et al.*, 1998 ; Kokate *et al.*, 2005 ; Evans *et al.*, 2009**), montrent que les feuilles de *Moringa oleifera* sont riches en flavonoïdes, alcaloïdes, composés phénoliques, acide ascorbique, glycosides cardiaques, saponines et tanins.

Le rendement d'extraction des composants antioxydants est supérieur lorsque on utilise le solvant hydro-méthanol qui a produit 17,51 g d'extrait par 100 g de feuilles de *Moringa oleifera* sèches alors que l'utilisation de l'eau distillée seule a produit 14,23 g d'extrait par 100g.

Le contenu phénolique total des extraits aqueux hydro-méthanol était respectivement de 35,42 ± 5,80 et 52,04 ± 3,12 milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg.GAE.g⁻¹) et le contenu total en flavonoïdes était de 79,13 ± 13,04 et 366,09 ± 86,96 milligrammes d'équivalents de catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg.CE.g⁻¹) respectivement, tandis que la teneur en acide ascorbique était de 2,02 ± 0,66 et 3,04 ± 2,06 milligrammes d'équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière végétale sèche (mg.AAE.g⁻¹).

Article 2

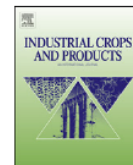
Industrial Crops and Products 44 (2013) 566–571



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Industrial Crops and Products

journal homepage: www.elsevier.com/locate/indcrop



Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method

Boonyadist Vongsak^a, Pongtip Sithisarn^a, Supachoke Mangmool^b,
Suchitra Thongpraditchote^c, Yuvadee Wongkrajang^c, Wandee Gritsanapan^{a,*}

^a Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

^b Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

^c Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

• Objectif

Ce article a pour but d'étudier différentes méthodes d'extraction pour un rendement maximal des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux, l'activité de piégeage des radicaux libres et la capacité de réduction du fer de chaque extrait affectant l'activité antioxydante à l'aide d'extraits frais et séchés des feuilles de *Moringa oleifera*, eau distillée et 50% et 70% d'éthanol.

• Expérimentation

Plusieurs méthodes d'extraction ont été réalisées en utilisant de l'éthanol à 50 et 70 % comme solvants, sauf pour le pressage et la décoction pour lesquels de l'eau distillée a été utilisée. Chaque extraction a été répétée plusieurs fois jusqu'à épuisement.

Les feuilles fraîches de *Moringa oleifera* ont été extraites par broyage avec de l'eau distillée et le mélange a été pressé et filtré à travers un papier filtre.

Les feuilles séchées (en poudre) ont été bouillies avec de l'eau distillée à 100°C pendant 30 min, puis filtrées.

Les feuilles fraîches et séchées ont été hachées en petits morceaux et macérées avec de l'éthanol à 70% pendant 72 heures à température ambiante avec des secousses occasionnelles

Les feuilles séchées (en poudre) ont été mélangées séparément avec 50 et 70% d'éthanol et le mélange a été laissé reposer pendant 1 heure. Ensuite, le mélange a été transféré dans un percolateur.

Les feuilles séchées (en poudre) ont été placées séparément dans un godet et ont été extraites avec de l'éthanol 50 et 70% dans un appareil soxhlet. L'extraction a été réalisée à raison de cinq cycles/h. le filtrat a été séché sous pression réduite à 50 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide. L'extrait brut a été pesé et conservé dans un récipient étanche à l'abri de la lumière.

La teneur en composés phénoliques totaux a été déterminée en utilisant le Folin-Ciocalteu. Le mélange a été laissé au repos à température ambiante pendant 30 min avec agitation intermittente et l'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les flavonoïdes totaux ont été analysés par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium. Le mélange a été laissé au repos à température ambiante pendant 10 min avec agitation intermittente. L'absorbance du mélange a été mesurée à 415 nm par rapport contre un blanc.

L'activité de piégeage des radicaux libres des extraits et des solutions standards ont été étudiée par le test DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl). Après ont été incubé à 37°C pendant 20 min, l'absorbance de chaque solution a été déterminée à 517 nm.

L'extrait a été mélangé avec 500 µL de tampon phosphate de sodium 0,2 M et 500 µL de solution de ferricyanure de potassium à 1 %, puis incubé pendant 20 min à 50°C. Le surnageant a été prélevé et mélangé avec 500 µL d'eau déminéralisée et 100 µL de solution de chlorure ferrique à 0,1 %. L'absorbance des mélanges a été mesurée à 700 nm pour la détermination du pouvoir de réduction ferrique (FRP).

• **Résultats**

La décoction de feuilles fraîches (DF) a donné les rendements les plus élevés d'extraits bruts (60,95% en poids sec, 14,66 % en poids frais), tandis que le pressage (SZ) a donné le rendement le plus faible en flavonoïdes totaux. Cet extrait a également présenté une forte activité de piégeage du DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) ($EC_{50} = 62,94$ g/ml) et la valeur de FRP la plus élevée (51,50 mmol FeSO₄ équivalent/100 g d'extrait). Les résultats de l'essai de la

réduction ferrique des extraits de décoction n'ont pas été corrélés avec l'activité de piégeage du DPPH.

Il n'y a pas de différence significative dans les teneurs totales en composés phénoliques entre les extraits de feuilles séchées et fraîches de moringa préparés par la méthode de décoction. Parmi les différentes méthodes d'extraction, la macération des feuilles séchées avec 70 % d'éthanol (MD70) a fourni le rendement le plus élevé avec la teneur maximale en composés phénoliques totaux et comparé avec d'autres méthodes d'extraction, le MD70 contenait les teneurs les plus élevées en acide crypto-chlorogénique et en isoquercétine, ce qui correspondait à leurs activités antioxydantes élevées.

Pour déterminer les concentrations optimales de l'extrait MD70 et des normes d'acide crypto-chlorogénique et d'isoquercétine, le colorant MTT (molécule tétrazolium) a été utilisé pour déterminer la viabilité cellulaire. la dose efficace médiane de l'extrait MD70 s'est avérée être de 378,36 g/ml tandis que l'acide crypto-chlorogénique et l'isoquercétine présentaient une EC_{50} à 201,01 et 30 μ g/ml.

Le prétraitement avec l'extrait MD70 a considérablement réduit la production de ROS (les espèces réactives de l'oxygène) induite par H_2O_2 dans les cellules HEK-293 (les cellules rénales embryonnaires humaines 293).

L'acide crypto-chlorogénique et l'isoquercétine, est le principal composé actif trouvé dans l'extrait, qui ont fourni une forte inhibition de la production de ROS induite par H_2O_2 . Certaines méthodes d'extraction modernes telles que l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction à ultra haute pression et l'extraction au dioxyde de carbone supercritique ont été utilisées pour la préparation d'extraits de plantes.

Ces méthodes présentent divers avantages tels qu'une meilleure pénétration du solvant dans les particules végétales, une faible température d'extraction et un temps d'extraction réduit, mais la macération est plus simple, plus pratique et moins coûteuse en termes d'instrumentation.

Finalement, la macération avec de l'éthanol à 70% est la méthode d'extraction la plus appropriée pour les feuilles séchées de moringa. Elle a favorisé un rendement élevé d'extrait brut, de phénols totaux, de flavonoïdes totaux, des composés actifs majeurs, et l'activité antioxydante la plus puissante.

Article 3

Received: 1 March 2018 | Revised: 12 July 2018 | Accepted: 14 July 2018

DOI: 10.1002/fsn3.770

ORIGINAL RESEARCH

WILEY Food Science & Nutrition Open Access

Drying alters the phenolic constituents, antioxidant properties, α -amylase, and α -glucosidase inhibitory properties of *Moringa oleifera* leaf

Adedayo O. Ademiluyi¹  | Olubukola H. Aladeselu¹ | Ganiyu Oboh¹ | Aline A. Boligon²

• Objectif

Etude faite pour montrer l'effet de certaines méthodes de séchage des feuilles la *Moringa oleifera* sur la teneur des phytoconstituants, sur la capacité antioxydante et aussi sur l'inhibition des enzymes (α -amylase, α -glucosidase).

• Expérimentation

Après la préparation des échantillons des feuilles de moringa qui ont été lavées et séchées par différentes méthodes : au soleil, lyophilisation, à l'air et à température ambiante, au four 40°C.

L'extrait aqueux est préparé à partir de 1 gramme d'échantillon en poudre de moringa avec 100 ml d'eau distillée, à été agité pendant 24 heures puis filtré et centrifugé pendant 10 minutes. Le surnageant obtenu a été séché à l'aide d'un évaporateur rotatif, et conservé à -4°C pour les analyses.

Les méthodes utilisées pour analyser les constituants présents dans les feuilles de *Moringa oleifera* sont regroupé dans suivant:

Tableau n°3 : Méthodes utilisées pour analyser les constituants phytochimiques des feuilles de *Moringa oleifera*

Constituants	Réactifs	Références
Polyphénols totaux	Folin-Ciocalteu à 10% (v/v). Calculé en équivalent acide gallique.	(Singleton <i>et al.</i> , 1999)
Flavonoïdes totaux	Méthanol, AlCl ₃ 10%, Acétate de potassium 1M. Calculé en équivalent quercétine.	(Meda <i>et al.</i> , 2005)
Alcaloïdes	Acide acétique à 10 % dans de l'éthanol.	(Harbone ., 1973)
glycosides cardiaques	Chloroforme, Pyridine, Nitroprussiate de sodium à 29 %, NaOH 20%.	(Sofowora, 1993)
Cardénolides	Chloroforme , Na ₂ CO ₃ à 2%, Anhydride acétique.	(Dantas-barros <i>et al.</i> , 1993)
Oxalate	1,5 N H ₂ SO ₄ , KMnO ₄ 0,1 M.	(Day <i>et al.</i> , 1986)
Phytate	HCl à 2%, Thiocyanate d'ammonium à 0,3%.	(Day <i>et al.</i> , 1986)
Vitamine C	DNPH, Thiourée, CuSO ₄ .5H ₂ O, H ₂ SO ₄ . Calculé en équivalent d'acide ascorbique.	(Benderitter <i>et al.</i> , 1998)
Saponines	Alcool isobutylique, Carbonate de magnésium (MgCO ₃) à 40%, Chlorure de fer (III) à 5% (FeCl ₃). Calculé en équivalent saponine.	(Brunner,1994)
Tanins	Acétone aqueuse à 70 %, Folin-ciocalteu, Na ₂ CO ₃ à 20%. calculée en équivalent d'acide tannique.	(Makkar <i>et al.</i> , 1996)

Les essais antioxydants des extraits de feuilles de moringa sont déterminés dans ce travail d'après (**Gyamfi et al ., 1999**) par :

- la capacité de piégeage des radicaux libres (DPPH)
- méthode ABTS ((acide 2,2-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique))
- méthode de réduction du fer (FRAP)
- la capacité de piégeage du radical hydroxyle (OH)
- La capacité de chélation du Fe²⁺

Pour la détermination de l'activité inhibitrice de l' α -amylase, les chercheurs ont utilisé une concentration appropriée des extraits avec 50 μ l de tampon phosphate de sodium 20 mM (pH 6,9 6 mM NaCl) contenant 0,5 mg/ml d' α -amylase pancréatique. Le mélange a été incubé à 25°C pendant 10 min. Ensuite l'ajout de 50 μ l de solution d'amidon à 1% préparée dans le même tampon à ce mélange réactionnel , après incubation de la solution , 200 μ l d'acide dinitrosalicylique ont été ajouté suivi d'une ré-incubé dans un bain-marie bouillant pendant 5 min , laisser refroidir à température ambiante et dilué avec 2 ml d'eau distillée où par la suite l'absorbance a été mesuré à 540 nm. L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été exprimée en pourcentage (%) d'inhibition d'après (**Worthington et Worthington, 1993**).

Pour la détermination de l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase, une concentration appropriée des extraits avec 100 μ l de solution d' α -glucosidase sont mélangés dans un tampon phosphate 100 mM (pH 6,9) puis incubés à 25°C pendant 10 min. Ensuite, 50 μ l de solution de p-nitrophényl- α -d-glucopyranoside 5 mM ont été ajoutés, et le mélange a été incubé à 25°C pendant 5 min, avant de lire l'absorbance à 405 nm. L'activité inhibitrice de l' α -glucosidase a été exprimée en pourcentage (%) d'inhibition (**Apostolidis et al ., 2007**).

• Résultats

Le rendement des extraits était 44,2 % pour le lyophilisé, 45 % pour le séché au four, 43,6 % pour le séché à l'air et 43,7 % pour le séchés au soleil.

L'analyse phytochimique des feuilles de moringa a montré la présence de composés chimiques et sa valeur médicinale tels que les phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, la

vitamine C, les tanins, les saponines, les phytates, l'oxalate, les cardénolides et les glycosides cardiaques.

Dans les feuilles lyophilisées les constituants phytochimiques analysés donnent les valeurs en mg/g suivantes : polyphénols= $68,75 \pm 0,00$; flavonoïdes= $62,50 \pm 0,89$; vitamine C = $52,94 \pm 0,31$; phytate = $70,26 \pm 2,40$).

Concernent l'activité antioxydante, les feuilles lyophilisées ont la plus grande capacité de piégeage du DPPH (251 mg/ml), également la plus grande capacité de piégeage de l'ABTS ($1,25 \pm 0,05 \text{ mmol TEAC/g}$) et le pouvoir réducteur du fer le plus élevé ($12,66 \pm 0,46 \text{ mg AAE/g}$) , la plus grande capacité de piégeage des radicaux hydrocyles OH ($61,25 \text{ mg/ml}$) et la plus grande capacité de chélation du Fe^{2+} ($73,14 \text{ mg/ml}$).

Alors que les feuilles séchées au four ont le plus faible pouvoir réducteur du fer ($7,47 \pm 0,46 \text{ mg AAE/g}$), la plus faible capacité de piégeage des radicaux OH ($116,18 \text{ mg/ml}$) et la plus faible capacité de chélation du Fe^{2+} ($197,89 \text{ mg/ml}$).

Et comme meilleur ordre (décroissant) des méthodes de séchages qui gardent les phytoconstituants est :

Lyophilisation > séchage à l'air > séchage au soleil > séchage au four,

Concernant l'inhibition des enzymes, les résultats montrent que tous les extraits de feuilles de moringa séchées par différentes méthodes présentent des propriétés inhibitrices de l' α -amylase et l' α -glucosidase.

- ✓ dans les feuilles lyophilisées : ($\text{IC}_{50} (\alpha\text{-Amylase})= 64,29 \pm 0,52 \text{ mg/g}$; $\text{IC}_{50} (\alpha\text{-Glucosidase})= 38,12 \pm 0,7 \text{ mg/g}$)
- ✓ dans les feuilles séchées à l'air : ($\text{IC}_{50} (\alpha\text{-Amylase})= 73,47 \pm 0,81 \text{ mg/g}$, $\text{IC}_{50} (\alpha\text{-Glucosidase})=42,52 \pm 0,14 \text{ mg/g}$)
- ✓ dans les feuilles séchées au soleil : ($\text{IC}_{50} (\alpha\text{-Amylase})= 69,90 \pm 0,14$, $\text{IC}_{50} (\alpha\text{-Glucosidase})=46,16 \pm 0,09$).

Tandis que les différentes méthodes de séchage jouent un rôle important dans le changement des propriétés tels que les phytoconstituants, les capacités antioxydantes et l'inhibition des enzymes α -amylase et α -glucosidase d'une manière significative.

Article 4



Full Length Research Article

***Moringa oleifera* Seed Protein Hydrolysates: Kinetics of α -amylase Inhibition and Antioxidant Potentials**

Olusola A. O.*, Ekun O. E., David T. I., Olorunfemi O. E. and Oyewale M. B.

Department of Biochemistry, Faculty of Science, Adekunle Ajasin University, Akungba-Akoko, Nigeria.

Accepted 25 November, 2018

• Objectif

L'objectif de l'article est basé sur l'évaluation des propriétés inhibitrices de l'alpha amylase et de l'activité antioxydante contre les radicaux superoxydes et les ions de fer en hydrolysant des isolats en poudre de protéines de graines de *Moringa oleifera* à l'aide de deux enzymes protéolytiques (pepsine et trypsine).

• Expérimentation

Les graines ont été séchées, pulvérisées et stockées dans un récipient hermétique à 40°C, elles ont été dégraissées à l'aide de n-hexane.

La farine a été extraite quatre fois avec du n-hexane en utilisant un rapport (poudre/solvant) et broyée à nouveau pour obtenir une poudre fine, appelée "farine de graines dégraissée", a été mise en suspension dans 0,5 M du NaOH, PH 12, et agitée pendant une heure pour faciliter la solubilisation dans l'alcalin, et bouillie à 18°C ensuite centrifugée à 3000 tour pendant 10 minutes.

Le PH du surnageant a été ajusté à PH 4,0 pour faciliter la précipitation des protéines induite par l'acide en utilisant une solution HCl 3M. L'hydrolyse l'isolat des protéines a été réalisée en utilisant chacune de la pepsine (PH 2.2, 37°C) et de la trypsine (PH 8.0, 37°C). Le degré d'hydrolyse (DH) a été déterminé en calculant le pourcentage de protéines solubles dans le TCA (acide trichloracétique) à 10 % par rapport à la teneur totale en protéines.

250 μ L d'hydrolysats ont été mis dans des tubes à essai et 250 μ L de tampon phosphate de sodium (pH 6.9, avec 6mM NaCl) contenant une solution d' α -amylase (0,5 mg/ml) a été ajoutée. Le contenu de chaque tube a été pré-incubé à 25°C pendant 10 min. La réaction a été terminée par l'ajout de 250 μ L de réactif coloré à 1% de DNS (acide dinitrosalicylique) et incubé dans de l'eau bouillante pendant 5 min et refroidie à température ambiante. Le contenu de chaque tube à essai a été dilué avec 5 ml d'eau distillée et l'absorbance est mesurée à 540 nm.

L'étude de la cinétique de l'inhibition de l' α -amylase, 250 μ L de l'hydrolysats a été pré-incubé avec 250 μ L de solution d' α -amylase pendant 10 minutes à 25 °C dans un ensemble de tubes. Dans un autre série de tubes, 0.5ml de tampon phosphate (PH 6.9) a également été pré-incubé avec 250 μ L de solution d' α -amylase. Une solution d'amidon (250 μ L) de concentrations croissantes (0.2-1.0 mg.ml⁻¹) a été ajoutée aux deux mélanges réactionnels pour initier la réaction.

Le mélange ensuite été incubé pendant 10 minutes à 25 °C, et bouilli pendant 5 min après l'addition de 0.5ml de 1% d'acide dinitrosalicylique (DNS) pour arrêter la réaction. La quantité de sucres réducteurs libérés a été déterminée par spectrophotométrie à partir d'un échantillon d'ADN.

L'identification des radicaux superoxydes (SRSA) a été suivie par échantillons dissous dans une solution tampon et transféré dans un tube à essai. La variation de la vitesse de réaction a été immédiatement mesurée à température ambiante sur une période de 4 min en utilisant un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 420 nm.

Une aliquote de 1 ml de différentes concentrations d'hydrolysats a été mélangée à 1 ml d'une solution de cyanure ferrique de potassium. 1 ml du mélange d'incubation a été ajouté avec 1 ml d'eau distillée et 0,2 ml de chlorure ferrique dans des tubes à essai.

Après un temps de réaction de 10 minutes, l'absorbance de la solution résultante a été lue à 700 nm. Pour déterminer le pouvoir réducteur ferrique antioxydant (FRAP) des hydrolysats.

- **Résultats**

Les deux hydrolysats ont montré un pourcentage d'activité inhibitrice supérieure à 50% à des concentrations de 0,60 mg/ml à 1,0mg/ml. Les hydrolysats triptyques ont montré une activité inhibitrice significativement plus élevée à 0.2mg/ml, 0.8mg/ml et 1.0mg/ml, tandis que les

hydrolysats peptiques ont montré une activité inhibitrice significativement plus élevée à une concentration de 0,6mg/ml.

Les concentrations inhibitrices de 50% (IC₅₀) de l' α -amylase des hydrolysats peptique (0,547±0,074mg/ml) n'étaient pas significativement différente de celle des hydrolysats triptyques (0,591±0,025mg/ml).

Les graines de moringa sont particulièrement riches en résidus d'acides aminés hydrophobes, et la pepsine est une endo-protéase qui clive les liaisons peptidiques au niveau des résidus C-terminaux des acides aminés hydrophobes.

Cela peut expliquer davantage la raison pour laquelle les hydrolysats peptiques ont un rendement en peptides légèrement supérieur par rapport aux hydrolysats triptyques qui ont un rendement significativement supérieur à celui de 41,38% obtenu à partir d'hydrolysats de protéines de pépins de pastèque.

Les résidus (tyrosine, arginine et tryptophane) sont nécessaires à l'inhibition de l' α -amylase, cela pourrait, en partie, expliquer la raison pour laquelle les hydrolysats peptiques ont également une activité inhibitrice élevée de l'amylase, puisque la pepsine est connue pour cliver au niveau de C-terminal des résidus d'acides aminés hydrophobes.

Les protéines de graines de moringa à une digestion protéolytique par la pepsine et la trypsine a produit des hydrolysats qui ont présenté de puissantes activités inhibitrices de l'alpha-amylase et des effets antioxydants (IC₅₀ (peptique) = 0,55 mg / ml , IC₅₀ (tryptique) = 0,6 mg / ml).

Les hydrolysats peptiques ont montré de meilleures propriétés inhibitrices de l'amylase et des activités ferriques réductrices, tandis que les hydrolysats triptyques ont montré des activités de piégeage des superoxydes plus efficaces (EC₅₀ (H.peptique) = 1.1 mg / ml , EC₅₀ (H.tryptique) = 0.1 mg / ml).

Tous les échantillons ont montré une augmentation du pouvoir réducteur ferrique (FRP) en fonction de la concentration et tous les hydrolysats avaient des activités antioxydantes réduites à différentes concentrations. Cependant, les hydrolysats peptiques présentaient des activités antioxydantes significativement plus élevées que les hydrolysats triptyques à toutes les concentrations ([Fe II] mM (tryptique) = 5, 4, 7, 28 ; [Fe II] mM (peptique) = 9, 28, 38, 50).

Ces résultats indiquent que les deux hydrolysats peuvent avoir d'immenses potentiels en tant que sources de nouveaux peptides antidiabétiques et des additifs alimentaires qui pourraient servir d'alternatives rentables aux thérapies actuelles.

Conclusion :

Pour conclure cette partie qui focalise sur l'activité antioxydante et l'inhibitrice d'alpha amylase de la plante *Moringa oleifera*, on peut constater que la plante est douée d'un fort potentiel d'inhibition des enzymes glucosidases (α -amylase) et des fortes capacités antioxydantes grâce au phytoconstituants existants dans cette plante tel que les composés phénoliques, les flavonoïdes et l'acide ascorbique.

Sachant que la nature du solvant et la méthode de séchage utilisée sont les facteurs majeurs qui influencent sur le rendement des compositions phytochimiques et la détermination des molécules bioactives comme été montré dans les études de *Mentha spicata. L* (**Benderritter et al ., 1998**) et *Brassica oleracea L* (**Anwar et al ., 2013**)

Tendis qu'il n'y a pas de différence significative dans les teneurs totales en composés phénoliques entre les extraits des feuilles séchées et fraîches lorsque préparés par décoction. (**Okumu et al ., 2016 ; Boonyadist Vongsak et al ., 2013 ; Adedayo et al ., 2018 ; Olusola et al., 2018**).

Conclusion générale

L'objectif de ce travail est de déterminer la valeur médicinale de cette plante miraculeuse et d'analyser les études réalisées sur l'activité antioxydante et inhibitrice de l'alpha amylase du *Moringa oleifera*.

Les recherches affirment l'activité antioxydante dans la moringa par plusieurs tests tel que : piégeage du radical hydroxyle OH et de chélation du Fe^{2+} , piégeage du radical libre DPPH, méthode ABTS et le pouvoir réducteur du fer (FRAP) , et par différentes méthodes de séchage qui ont un rôle de modification de taux des molécules bioactives où ont précisé que les feuilles séchées par lyophilisation donnent le meilleur rendement des phytoconstituants.

D'autre part la décoction et la macération sont les deux méthodes d'extraction qui donnent les rendements les plus élevés en extraits bruts. Ainsi, que le système de co-solvant d'un mélange d'eau et solvants organiques est la future technique d'extraction des constituants des plantes médicinales.

Comme ils affirment aussi l'existence d'une puissante activité inhibitrice d'alpha-amylase dans la moringa grâce à sa richesse en acides aminés hydrophobes, la pepsine et la trypsine, tandis que les résidus tyrosine, arginine et tryptophane sont nécessaires à l'inhibition de l' α -amylase.

Références bibliographiques

❖ A

- **Apostolidis, Y. I., Kwon, K., & Shetty, P. (2007).** Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Food Science and Technology*, 8, 46–54.
- **Ademiluyi, A. O., Aladeselu, O. H., Oboh, G., & Boligon, A. A. (2018).** Drying alters the phenolic constituents, antioxidant properties, α -amylase, and α -glucosidase inhibitory properties of Moringa (*Moringa oleifera*) leaf. *Food science & nutrition*, 6(8), 2123-2133.
- **Atanassova M, Georgieva S, Ivancheva K. (2011).** Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*. 46(1):81-88.
- **Anwar F, Kalsoom U, Sultana B, Mushtaq M, Mehmood T, Arshad HA. (2013).** Effect of drying method on the Total Phenolics and Antioxidant Activity of Cauliflower (*Brassica oleraceae* L) extracts. *International Food Research Journal*. 20(2):653-659.

❖ B

- **Bennett RN, Mellon FA, Foidl N. (2003).** Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L. (Horseradish tree) and *Moringa stenopetala* L. *J. Agric. Food Chem.*, 51:3546-3553. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jf0211480>.
- **Benali A. ; Madjene F. ; Chergui A. (2016).** Récupération des métaux lourds par *Moringa oleifera* et Photocatalyse Cuivre et Nickel, Editions universitaires européennes. P 68 De SAINT-SAUVEUR A. de. 2010. Produire et transformer les feuilles de moringa. *Moringanews/Moringa Association of Ghana*. 36p
- **Benarima, A. (2021).** *Optimisation des conditions ultrasoniques d'extraction des composés phénoliques de Moringa Oleifera et leur activité antioxydante* (Doctoral dissertation, University of Eloued جامعة الوادي).
- **Benderitter, M., Maupoil, V., VeBriot, C., & Rochette, L. (1998).** Studies by electron paramagnetic resonance of the importance of iron in hydroxyl scavenging properties of ascorbic acid in plasma effects of iron chelators. *Fundamental Clinical Pharmacology*, 12(5), 510–516. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.1998.tb00979.x>

- **Brunner, J. H. (1994).** Direct spectrophotometric determination of saponin. *Analytical Chemistry*, 34, 1314–1326.

❖ C

- **Cáceres, A., Saravia, A., Rizzo, S., Zabala, L., De Leon, E., & Nave, F. (1992).** Pharmacologie properties of *Moringa oleifera*. 2: Screening for antispasmodic, antiinflammatory and diuretic activity. *Journal of ethnopharmacology*, 36(3), 233-237
- **Cabrera-Carrión, J. L., Jaramillo-Jaramillo, C., Dután-Torres, F., Cun-Carrión, J., García, P. A., & Rojas de Astudillo, L. (2017).** Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. en función de su edad y altura. *Bioagro*, 29(1), 53-60.
- **Charoensin, S. (2014).** Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(7), 318-325.

❖ D

- **De Saint Sauveur A.et Broin M. (2010).** Produire et transformer les feuilles de *Moringa*, imprimerie Horizon à Gémenos, 69p. Disponible sur <http://www.moringanews.org>
- **Dike, I. P., Obembe, O. O., & Adebisi, F. E. (2012).** Ethnobotanical survey for potential anti-malarial plants in south-western Nigeria. *Journal of ethnopharmacology*, 144(3), 618-626.
- **Dubey, D. K., Dora, J., Kumar, A., & Gulsan, R. K. (2013).** A multipurpose tree-*Moringa oleifera*. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, 2(1), 415-423.
- **Dantas-barros, A. M., Foulquier, M., Cosson, L., & Jacquín-dubreuil, A. (1993).** Cardenolide formation in cell suspension cultures of *Thevetia peruviana* (Pers). *Natural Produce Research*, 3(1), 37–43.
- **Day, R. A., & Underwood, A. L. (1986).** *Quantitative analysis*, 5th ed. New Delhi, India: Prentice Hall. 701 pp.

❖ E

- **Egbuna Chukwuebuka. (2015).** *Moringa oleifera* “The Mother’s Best Friend”. International Journal of Nutrition and Food Sciences. Vol. 4, No. 6, pp. 624-630.
- **Evans W.C. (2009).** Trease and Evans Pharmacognosy. 16th Edition, Saunders Ltd, Edinburgh. 585-589.

❖ F

- **Foidl, N., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2001).** The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. *What development potential for Moringa products*, 20.
- **Farooq, F., M. Rai, A. Tiwari, A. Arif y S. Farooq. (2012).** Medicinal properties of *Moringa oleifera*: An overview of promising healer. *Journal of Medicinal Plants Research* 6(27): 4368-4374.

❖ G

- **Gandji, K., Chadare, F. J., Idohou, R., Salako, V. K., Assogbadjo, A. E., & Kakai, R. G. (2018).** Status and utilisation of *Moringa oleifera* Lam: A review. *African Crop Science Journal*, 26(1), 137-156.
- **Gwilo, I. O., Ezeonu, F. C., Udedi, S. C., & Ozumba, N. A. (2011).** Comparative studies on the amino acid content of different parts of *Moringa oleifera* plant found in Awka, South-East, Nigeria. *Biochemistry. An Indian Journal*, 5(2), 124-127.
- **Gu, X., Yang, Y., & Wang, Z. (2020).** Nutritional, phytochemical, antioxidant, α -glucosidase and α -amylase inhibitory properties of *Moringa oleifera* seeds. *South African Journal of Botany*, 133, 151-160.
- **Gupta, R., Mathur, M., Bajaj, V. K., Katariya, P., Yadav, S., Kamal, R., & Gupta, R. S. (2012).** Evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of *Moringa oleifera* in experimental diabetes. *Journal of diabetes*, 4(2), 164-171.
- **Ghasi, S., Nwobodo, E., & Ofili, J. O. (2000).** Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed Wistar rats. *Journal of ethnopharmacology*, 69(1), 21-25.
- **Giri, I. C., QURESHI, M. S., KHAN, S. A., PATEL, J., Choudhary, R., & SINGH, A. (2010).** Evaluation of the antelmintic activity of *Moringa oleifera* seeds. *International Journal*, 1(1).

- **Gyamfi, M. A., Yonamine, M., & Aniya, Y. (1999).** Free-radical Scavenging action of medicinal herbs from Ghana *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. *Genetics and Pharmacology*, 32(6), 661–667. [https://doi.org/10.1016/S0306-3623\(98\)00238-9](https://doi.org/10.1016/S0306-3623(98)00238-9)

❖ H

- **Harimalala Andriambelo N., Rasoarinanahary M., Hiol A., Remize F., Porphyre V., Razanamparany L. (2016).** - Composition phénolique et activité antioxydant à deux stades de développement des feuilles de *Moringa oleifera* ; Rencontre de l'Agroalimentaire en Océan Indien- 5ème édition. Université de la Réunion, Ecole Supérieur d'Ingénieurs Réunion Océan Indien Université d'Antananarivo.
- **Harnafi H, Caid HS, Bounani HS, Aziz M, Armani S. (2008).** Hypolipemic activity of polyphenol rich extracts from *Ocimum basilicum* in Triton WR-induced hyperlipidemic mice, *Food Chem.* 108:205-211.
- **Harborne JB. (1998).** Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis, 'Chapman and Hall, London.
- **Harbone, Z. B. (1973).** *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. Lond.: Chapman and Hall.

❖ K

- **Kokate CK. (2005).** Practical Pharmacognosy. Vallabh Prakashan, Delhi, ED. III:107-121.

❖ L

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

❖ M

- **Makkar, H. P. S., & Goodchild, A. V. (1996).** *Quantification of tannins: A laboratory manual*. Aleppo, Syria: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA).
- **Mathieu, G., & Meissa, D. (2007).** Traditional leafy vegetables in Senegal: diversity and medicinal uses. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 4(4), 469-475.
- **Mishra, G., Singh, P., Verma, R., Kumar, S., Srivastav, S., Jha, K. K., & Khosa, R. L. (2011).** Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of *Moringa oleifera* plant: An overview. *Der Pharmacia Lettre*, 3(2), 141-164.
- **Matic, I., Guidi, A., Kenzo, M., Mattei, M., & Galgani, A. (2018).** Investigation of medicinal plants traditionally used as dietary supplements: A review on *Moringa oleifera*. *Journal of public health in Africa*, 9(3).
- **Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005).** Determination of the total phenol, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571–577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>

❖ N

- **Ndiaye, M., Dieye, A. M., Mariko, F., Tall, A., & Faye, B. (2002).** Contribution to the study of the anti-inflammatory activity of *Moringa oleifera* (Moringaceae). *Dakar medical*, 47(2), 210-212.

❖ O

- **Okumu, M. O., Mbaria, J. M., Kanja, L. W., Gakuya, D. W., Kiama, S. G., & Ochola, F. O. (2016).** Phytochemical profile and antioxidant capacity of leaves of *Moringa oleifera* (Lam) extracted using different solvent systems. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(4), 302.
- **Olusola A.O., Ekun, O. E., David, T. I., Olorunfemi, O. E., & Oyewale, M. B. (2018).** *Moringa oleifera* seed protein hydrolysates: kinetics of α -amylase inhibition and

antioxidant potentials. *Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 7(9), 190-201.

- **Olson, M. y J. Fahey. (2011).** *Moringa oleifera*: Un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82(4): 1071-1082.

❖ **P**

- **Padayachee, B. y H. Baijnath. (2012).** An overview of the medicinal importance of Moringaceae. *Review Journal of Medicinal Plants Research* 6(48): 5831-5839.
- **Price, M. L. et Équipe ECHO. (1985).** Le Moringa - ECHO Note Technique; « Produire et transformer les feuilles de moringa », *Moringanews / Moringa Association of Ghana*.
- **Popoola, J. O., & Obembe, O. O. (2013).** Local knowledge, use pattern and geographical distribution of *Moringa oleifera* Lam.(Moringaceae) in Nigeria. *Journal of ethnopharmacology*, 150(2), 682-691.

❖ **R**

- **Raja, R. R., Sreenivasulu, M., Vaishnavi, S., Navyasri, D. M., Samatha, G., & Geethalakshmi, S. (2016).** *Moringa oleifera*-An overview. *RA J Appl Res*, 2(9), 620-4.
- **Ruckmani K, Kavimani S, Anandan R, Jaykar B. (1998).** Effect of *Moringa oleifera* Lamonparacetamol-induced hepatotoxicity. *Indian J. Pharm. Sci.*, 60: 33–35.
- **Ralezo Maevalandy A. Dr. (2006).** - *Moringa oleifera*, *Antanario Madagacar*.

❖ **S**

- **Stohs, S. J., & Hartman, M. J. (2015).** Review of the safety and efficacy of *Moringa oleifera*. *Phytotherapy Research*, 29(6), 796-804.
- **Suarez, M., Haenni, M., Canarelli, S., Fisch, F., Chodanowski, P., Servis, C., ... & Mermod, N. (2005).** Structure-function characterization and optimization of a plant-derived antibacterial peptide. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(9), 3847-3857.
- **Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu

reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S00766879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S00766879(99)99017-1)

- **Singleton VL, Orthofer R, Lamueia-Raventos RM. (1999).** Analysis of antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. *Methods Enzymol.* 299:152-17
- **Sofowora, A. (1993).** *Medicinal plants and traditional medicine in Africa*, 2nd ed. Ibadan, Nigeria: Spectrum Books Limited

❖ T

- **Taher, M. A., Nyeem, M. A. B., Ahammed, M. M., Hossain, M. M., & Islam, M. N. (2017).** *Moringa oleifera* (Shajna): the wonderful indigenous medicinal plant. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 3(1), 20-30.
- **Tshabalala, T., Ndhlala, A. R., Ncube, B., Abdelgadir, H. A., & Van Staden, J. (2020).** Potential substitution of the root with the leaf in the use of *Moringa oleifera* for antimicrobial, antidiabetic and antioxidant properties. *South African Journal of Botany*, 129, 106-112.

❖ V

- **Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., & Gritsanapan, W. (2013).** Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial crops and products*, 44, 566-571.

❖ W

- **Worthington, K., & Worthington, V. (Eds.). (1993).** Alpha amylase. In *Worthington enzyme manual* (pp. 36–41). Freehold, NJ: Worthington Biochemical Corp.

❖ Y

- **Yaméogo, C. W., Bengaly, M. D., Savadogo, A., Nikiema, P. A., & Traore, S. A. (2011).** Determination of chemical composition and nutritional values of *Moringa oleifera* leaves. *Pakistan journal of nutrition*, 10(3), 264-268

- https://www.onszaden.nl/moringa_oleifera
- <https://www.flickr.com/photos/smacnhawaii/2057047/>
- https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Starr_080609-7915_Moringa_oleifera.jpg
- https://cdn.futurasciences.com/buildsv6/images/largeoriginal/7/0/1/7015e38f1f_5009779_grainemoringa-forest-kim-starr-cc.jpg
- <https://airss-sapho.org/moringa/>

Annexes



E-ISSN: 2278-4136
 P-ISSN: 2349-8234
 JPP 2016; 5(4): 302-308
 Received: 29-05-2016
 Accepted: 30-06-2016

Okumu Mitchell Otieno
 Department of Public Health
 Pharmacology and Toxicology,
 Faculty of Veterinary Medicine,
 University of Nairobi,
 Nairobi, Kenya.

Mbaria James Mwangi
 Department of Public Health
 Pharmacology and Toxicology,
 Faculty of Veterinary Medicine,
 University of Nairobi,
 Nairobi, Kenya.

Kanja Lucille Wakonyo
 Department of Public Health
 Pharmacology and Toxicology,
 Faculty of Veterinary Medicine,
 University of Nairobi,
 Nairobi, Kenya.

Gakuya Daniel Waweru
 Department of Clinical Studies,
 Faculty of Veterinary Medicine,
 University of Nairobi,
 Nairobi, Kenya.

Kiama Stephen Gitahi
 Department of Veterinary
 Anatomy and Physiology,
 Faculty of Veterinary Medicine,
 University of Nairobi,
 Nairobi, Kenya.

Ochola Francis Okumu
 Department of Pharmacology
 and Toxicology, Faculty of
 Medicine,
 Moi University,
 Eldoret, Kenya.

Correspondence:
Okumu Mitchell Otieno
 Department of Public Health
 Pharmacology and Toxicology,
 Faculty of Veterinary Medicine,
 University of Nairobi,
 Nairobi, Kenya
 mytcham8@gmail.com

Phytochemical profile and antioxidant capacity of leaves of *Moringa oleifera* (Lam) extracted using different solvent systems

Okumu MO, Mbaria JM, Kanja LW, Gakuya DW, Kiama SG and Ochola FO

Abstract

Traditional medicinal folklore, oral tales and histories are rife with information of the potential utility of various plant parts. However, before these claims can be validated, it is important to assess the chemical components of the plant parts. The phytochemical composition and antioxidant capacity of various parts of *Moringa oleifera* (MO) have not been exhaustively defined at this time. The current study evaluated the phytochemical composition and antioxidant capacity of leaves of MO cultivated in Kibwezi, Makueni County in Kenya. MO leaves were extracted using two solvent systems; water (AQ) and aqueous-methanol (AQ-ME). Preliminary qualitative phytochemical screening of AQ and AQ-ME MO leaf extracts revealed the presence of alkaloids, cardiac glycosides, flavonoids, phenolics, saponins, tannins and ascorbic acid. Antioxidant capacity of MO leaf extracts was expressed in terms of total phenolic, flavonoid and ascorbic acid contents. The AQ-ME MO leaf extract had significantly higher ($p < 0.05$) antioxidant capacity than the AQ MO extract. The total phenolic content of the AQ and AQ-ME extracts was 35.42 ± 5.80 and 52.04 ± 3.12 milligrams of gallic acid equivalents per gram of the dry plant material (mg.GAE.g⁻¹) respectively and the total flavonoid content was 79.13 ± 13.04 and 366.09 ± 86.96 milligrams of catechin equivalents per gram of the dry plant material (mg.CE.g⁻¹) respectively while the ascorbic acid content was 2.02 ± 0.66 and 3.04 ± 2.06 milligrams of ascorbic acid equivalents per gram of dry plant material (mg.AAE.g⁻¹) respectively. The results suggest that the aqueous-methanol solvent system has better potential of extracting antioxidant components from leaves of *Moringa oleifera* than water used alone.

Keywords: Phytochemical composition, antioxidant capacity, *Moringa oleifera*, Kibwezi, aqueous-methanol, aqueous

Introduction

Health is an important aspect in the economic growth of any country because a healthy population lives longer and is more productive. In Kenya, a sedentary lifestyle adopted by a thriving middle class has resulted in increased incidences of heart diseases, cancers, arthritis, neurodegenerative and liver diseases. A relationship has been identified between these diseases and reactive oxygen species (ROS) which damage biological cells, tissues and membranes [1]. Antioxidant substances are now used in a bid to prevent this damage [2]. However, resource constraints and safety considerations have limited the use of synthetic antioxidants [3] resulting in a fuelled interest in the search for plant-derived natural antioxidants [4]. *Moringa oleifera* is the most popular plant in several species of the Moringaceae family [5]. It has a rapid rate of growth and is resistant to drought. The plant traces its origin to the Himalayan areas of the Indian sub-continent but has recently been found to thrive in the tropics and subtropics. Thus, it has several synonyms including horse radish, drumstick tree, moringa, sajna, benzolive tree among others [6]. Moringa has been associated with a variety of nutritional, medicinal and miscellaneous uses [7]. Antioxidant properties have been reported [8] but scanty scientific evidence is available to support this claim. Moreover, most antioxidant capacity studies of plants focus on single solvent systems. The present work is a comparative analysis of the phytochemicals present in two leaf extracts of Kibwezi cultivated *Moringa oleifera* as well as their antioxidant capacity in terms of phenolic, flavonoid and ascorbic acid contents.



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Industrial Crops and Products

journal homepage: www.elsevier.com/locate/indcrop

Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method

Boonyadist Vongsak^a, Pongtip Sithisarn^a, Supachoke Mangmool^b,
Suchitra Thongpraditchote^c, Yuvadee Wongkrajang^c, Wandee Gritsanapan^{a,*}

^a Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

^b Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

^c Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 July 2012

Received in revised form

12 September 2012

Accepted 25 September 2012

Keywords:

Antioxidant

Extraction method

Moringa oleifera

Total flavonoid content

Total phenolic content

ABSTRACT

Moringa oleifera L. (Moringaceae) has been used as traditional medicines in many tropical and sub-tropical countries. Having phenolics and flavonoids as major constituents, the leaf extract has been reported to exhibit antioxidant activity both *in vitro* and *in vivo*. To obtain the maximum yields of these compounds, which consequently influence the antioxidant activity, varying extraction methods were examined. Squeezing, decoction, maceration, percolation and Soxhlet extraction were used to extract fresh and dried leaves of *M. oleifera*. Distilled water was used in squeezing and decoction, while 50 and 70% ethanol were used in the other methods. The contents of total phenolics and total flavonoids, free radical scavenging activity and ferric reducing power (FRP) of each extract were quantitatively determined. Quantitative analysis of active compounds was accomplished through high performance liquid chromatography (HPLC). Extract from the most effective extraction method was then selected for reactive oxygen species assay (ROS) in HEK-293 cells. Maceration with 70% ethanol of dried leaves promoted the extract with maximum amounts of total phenolics (13.23 g chlorogenic acid equivalents/100 g extract) and total flavonoids (6.20 g isorquercetin equivalents/100 g extract). This extract also exhibited high DPPH-scavenging activity (EC_{50} 62.94 μ g/mL) and the highest FRP value (51.50 mmol FeSO₄ equivalents/100 g extract). At the concentration of 100 μ g/mL, the extract could significantly reduce relative amount of intracellular ROS. The contents of major active components, crypto-chlorogenic acid and isorquercetin, in the dried plant powder were 0.05 and 0.05% (w/w), respectively. Considering various factors involved in the extraction process, maceration with 70% ethanol was advantageous to other methods with regards to simplicity, convenience, economy, and providence of the extract containing maximum contents of total phenolics and total flavonoids with the highest antioxidant activity. Maceration and 70% ethanol were recommended as the extraction method and solvent for high quality antioxidant raw material extract of *M. oleifera* leaves for pharmaceutical and nutraceutical development.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Extraction of plant materials depends on various factors such as solvents, methods, and extraction time to separate different quality and quantity of bioactive components in the crude extracts (Hayat et al., 2009). In addition, the nature of the sample matrix and the compounds to be extracted also substantially affect the efficiency of extraction (Mustafa and Turner, 2011). Theoretically, the

optimal extraction method should be simple, rapid, economical and applicable to a large scale industry (Pothitirat et al., 2010).

Various parts of *Moringa oleifera* Lam. (moringa) of the Family Moringaceae have been used as herbal medicines in tropical and subtropical countries such as India, Pakistan, the Philippines, Thailand and Africa. The leaves, flowers and immature pods of this plant are used as high nutritive supplement with various pharmacological properties (Amwar et al., 2007; Chumark et al., 2008; Anjula et al., 2011). Moreover, moringa have long been recognized in the Ayurvedic and Unani systems of medicine for prevention and treatment of several diseases, e.g., gastric ulcers, skin diseases, hay fever, fatigue and bronchitis (Amwar et al., 2007). The leaf extracts of *M. oleifera* have been reported to exhibit antioxidant activity both *in vitro* and *in vivo* due to abundant phenolic acids and flavonoids (Chumark et al., 2008; Verma et al., 2009). Some

* Corresponding author at: Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, 447 Sri-Ayudhaya Road, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand. Tel.: +66 2 644 8677x1500/5530; fax: +66 2 644 8701.

E-mail addresses: wandee@phs.mahidol.ac.th, wandee@mahidol.ac.th (W. Gritsanapan).

0926-6609/\$ – see front matter © 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.09.021>

Drying alters the phenolic constituents, antioxidant properties, α -amylase, and α -glucosidase inhibitory properties of *Moringa oleifera* leaf

Adedayo O. Ademiluyi¹ | Olubukola H. Aladeselu¹ | Ganiyu Oboh¹ | Aline A. Boligon²

¹Functional Foods and Nutraceuticals Unit, Department of Biochemistry, Federal University of Technology, Akure, Nigeria

²Postgraduate Programme in Pharmaceutical Sciences, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil

Correspondence
Adedayo O. Ademiluyi, Functional Foods and Nutraceuticals Unit, Department of Biochemistry, Federal University of Technology, Akure, P.M.B. 704, Akure 540001, Nigeria.
Email: ademiluyi@yahoo.co.uk; aademiluyi@futa.edu.ng

Abstract

Moringa oleifera leaf is a popular green leafy vegetable which has found its usefulness in the preparation of traditional stews and soups. Like most green leafy vegetable which are not around year-round, the leaf is usually dried and pulverized for storage and easier handling, and despite the popularity of this processing technique, there is dearth of information on how drying affects the health-promoting properties of the leaves. Hence, this study sought to investigate the effect of some drying methods (freeze-drying, sun, air and oven drying) on the phytoconstituents, antioxidant properties, and biological activities of moringa leaf. This study revealed that drying methods significantly altered the phytoconstituents (phenolics, flavonoids, vitamin C, tannin, saponin, phytate, oxalate, alkaloid, cardenolides, and cardiac glycosides), antioxidant capacities (reducing power, Fe³⁺ chelating, ABTS^{•+}, DPPH, and •OH scavenging abilities), and enzyme inhibitory (α -amylase and α -glucosidase) effects of the leaf, with freeze-drying being the most promising method for preserving the nutraceutical properties of moringa leaf. However, for practical application, the order of preference of the drying methods which ensures adequate retention of phytoconstituents and possibly biological activities of the leaf as observed in this study is freeze-drying > air drying > sun drying > oven drying, in the order of decreasing magnitude.

KEYWORDS

α -amylase, α -glucosidase, antioxidant properties, drying, *Moringa oleifera* leaf, phenolics

1 | INTRODUCTION

Moringa oleifera is a pan-tropical plant having small- or medium-sized perennial softwood tree with timber of low quality. It is the best known and most widely cultivated species of a monogenic genus plant family of Moringaceae. This plant is native to sub-Himalayan regions of northern India and has been planted around

the world and naturalized in many locales (Martin, 2013). In Nigeria, it is known by many native names such as "zogeli" in Hausa, "okwe oyibo" in Igbo, "ewe ile," "igi iyaanu," or "ewe igbale" in Yoruba and "dogalla" in Taro (Fahey, 2005; Saalu et al., 2011). It is considered one of the world's most useful trees because almost every part of the tree has some nutritional, medicinal, and other beneficial properties (Luqman, Srivastava, Kumar, Maurya, & Chanda, 2012). The

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2018 The Authors. Food Science & Nutrition published by Wiley Periodicals, Inc.



Full Length Research Article

***Moringa oleifera* Seed Protein Hydrolysates: Kinetics of α -amylase Inhibition and Antioxidant Potentials**

Olusola A. O.*, Ekun O. E., David T. I., Olorunfemi O. E. and Oyewale M. B.

Department of Biochemistry, Faculty of Science, Adekunle Ajasin University, Akungba-Akoko, Nigeria.

Accepted 25 November, 2018

Proteins from n-hexane - treated *Moringa oleifera* seed flour were isolated using alkaline solubilization followed by acid-induced precipitation. Two proteolytic enzymes, pepsin and trypsin were used to hydrolyze the protein isolates. The resulting hydrolysates were then evaluated for α -amylase inhibitory properties and kinetics as well as antioxidant activities against superoxide radicals and ferric ions. With the use of starch as substrate, the hydrolysates demonstrated a concentration-dependent inhibition of α -amylase with peptic hydrolysates exhibiting $77.591 \pm 0.173\%$ and tryptic hydrolysates demonstrating $84.183 \pm 1.670\%$ inhibition ($IC_{50} = 0.547$ mg/ml to 0.591 mg/ml). Kinetic data showed an uncompetitive subtype of mixed inhibition for peptic hydrolysates and an uncompetitive mode for tryptic hydrolysates, with k_i of 0.166 mg/ml and 0.179 mg/ml for peptic and tryptic hydrolysates respectively. Antioxidant assays using superoxide radicals and ferric ions indicated that tryptic hydrolysates had higher scavenging activity while peptic hydrolysates possessed higher ferric reducing power. These results suggest that *Moringa oleifera* seed proteins may contain biologically active peptide sequences which could be harnessed for the formulation of new additives to food and for development of novel anti-diabetic agents.

Keywords: *Moringa oleifera*, hydrolysates, pepsin, trypsin, α -amylase inhibition, antioxidant potentials.

INTRODUCTION

Peptides from plant and animal sources have continuously gained attention due to their multifunctional abilities ranging from uses as food additives to their utilization in the treatment of disease conditions (Arise *et al.*, 2016^a). Studies have demonstrated the abilities of these peptides to inhibit key enzymes and scavenge free radicals involved in the pathophysiology of conditions such as diabetes mellitus, hypertension and oxidative stress (Girgih *et al.*, 2015, Arise *et al.*, 2016^a, Arise *et al.*, 2016^b). One plant that has been extensively studied for its numerous bioactivities is *Moringa oleifera*.

Moringa oleifera is a perennial plant belonging to the *Moringaceae* family. It is native to the Western and sub-Himalayan regions in India, from which it has been introduced to other parts of the world such as the Middle East and Africa (Madubuike *et al.*, 2015). Parts of the plant (roots, leaves, stem and seeds) are edible and are used for nutritional purposes and as traditional medicine (Leone *et al.*, 2016). Various parts of *Moringa oleifera* have been reported for their numerous biological activities. Its leaves possess purgative, antimicrobial and hypoglycemic effects (Siddhuraju and Becker, 2003, Dwi *et al.*, 2012). Its stem bark has been demonstrated to have anti-cancer, anti-ulcerative, and anti-inflammatory properties (Siddhuraju and Becker, 2003). *Moringa oleifera* seeds have considerably high protein content

*Corresponding Author E-mail: austholusola@gmail.com, augustine.olusola@aaua.edu.ng