



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : biochimie moléculaire et santé

Intitulé :

Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de *Ceratonia siliqua L.*

Présenté et soutenu par : LETKESSES Halima essaadia

LADRAA Ismahan

Le : 02/07/2017

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. HABIBATNI Zineb, MCB à université constantine1.

Rapporteur : Dr. HALMI Sihem, MCB à université constantine1.

Co-rapporteur : Mme SAMRA Ilhem, MAA à université constantine1.

Examinatrice : Dr. MOSBAH Asma, MCB à université constantine1.

Année universitaire
2016 - 2017

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

A decorative flourish consisting of two symmetrical, flowing purple and red scroll-like elements that meet at a central point. Below the meeting point is a red teardrop shape with a yellow and orange gradient, containing a small golden symbol.



Dédicace

JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL A :

Avant tout chose, je dédie le DIEU, le tout puissant

Pour m'avoir donné la force et la patience

A tous les personnes qui m'encouragent toujours aux moments difficiles :

Mon père : HOUCINE

La lumière de ma vie et, merci pour toute que vous avez fait pour moi.

Ma mère : ATROUS FARIDA

Pour m'avoir donnée la vie et la joie de vivre.

Mes frères : MOHAMED, SID ALI

Mes sœur : NOUR EL HOUDA, HADJER

Mon encadreur : HALMI SIHEM

Pour leur conseille, leur présence, Et leur patience.

Mes TOUT amis

HALIMA



Dédicace

JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL A :

*Avant tout chose, je dédie le **DIEU**, le tout puissant*

Pour m'avoir donné la force et la patience

A tous les personnes qui m'encouragent toujours aux moments difficiles :

Mon père : EL HACHMI

La lumière de ma vie et, merci pour toute que vous avez fait pour moi.

Ma mère : AICHA

Pour m'avoir donnée la vie et la joie de vivre.

Mes frères : BILLEL, SOFIANE

Mon encadreur : HALMI SIHEM

Pour leur conseil, leur présence, Et leur patience.

Mes **TOUT** amis et collègues de **BMS**

ISMAHAN



REMERCIEMENT

*Nous remercions tout d'abord **Allah** le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous remercions nos **chers parents** qui nous ont aidés à être ce que nous sommes et Qui nous ont entourés avec tant d'amour et d'affection. On remercie leur dévouement, leur consacre de temps et leur présence constante au cours de toutes ces années d' « études ». On ne saurait jamais les remercier assez pour leur bien. « Merci, ce travail est la vôtre ». On vous aime...*

*Sans oublier, on tient à remercier sincèrement **Mme HALMI Sihem, Mme SEMRA Ilhem** notre encadreurs, qu'elles trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour nous avoir guidées dans notre travail. Ses conseils et ses gentillesse au bon déroulement de ce travail.*

*Je remercie **Dr. HABIBATNI Zineb**, Maître de conférences classe B, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*On veut également remercier mademoiselle **MOSBAH ASMA**, on exprime notre reconnaissance de nous avoir l'honneur d'être l'examinatrice.*

Un grand merci particulier à nos collègues et nos amies pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble, on les remercie pour leur confiance, leur disponibilité et leur fidélité.

Finalement, on est profondément reconnaissantes à toute personne qui nous a aidés de près ou de loï, directement ou indirectement durant ce passage.

Halima, Ismahan



Résumé

Ceratonia siliqua est une plante qui appartient à la famille des fabacées. Elle est fréquemment utilisée dans nos traditions culinaires et médicales pour lutter contre le cholestérol, les diarrhées aiguës infantiles et les troubles digestifs.

Notre travail s'est appuyé sur l'étude de l'extrait méthanolique des graines et des gousses de *ceratonia siliqua*. Le criblage phytochimique a révélé la présence de quelques groupes chimiques (Flavonoïdes, Alcaloïdes, poly terpènes...etc) susceptibles d'exprimer les activités recherchées.

Le dosage des polyphénols des deux extraits méthanolique des graines et gousses indique que les deux derniers ne sont pas très riches en polyphénols.

Le dosage des flavonoïdes des deux extraits montre qu'ils renferment un taux faible en flavonoïdes.

Les activités anti-radicalaires ont été évaluées à travers deux méthodes : le test du piégeage du radical libre DPPH et le test de la réduction du fer (FRAP).

Selon les résultats observés, les deux extraits des graines et des gousses sont dotés d'un potentiel anti-radicalaire et antioxydant mesuré par rapport à l'antioxydant standard employé.

Les résultats de l'activité antimicrobienne réalisée in vitro sur les 3 souches bactériennes indiquent que les deux extraits méthanolique de cette plante détiennent d'une activité anti bactérien faible.

Mots clés : fabacée; *Ceratonia siliqua*; métabolites secondaires ; polyphénols ; activité antioxydante ; activité antimicrobienne ; pouvoir réducteur.

Abstract

Ceratonia siliqua is a plant belonging to the family fabacée. It is frequently used in our culinary and medical traditions to fight against cholesterol, acute infantile diarrhea and digestive disorders.

Our work was based on the study of the methanolic extract of the seeds and pods of *Ceratonia siliqua*. Phytochemical screening revealed the presence of some chemical groups (Flavonoids, Alkaloids, poly terpenes, etc.) capable of expressing the desired activities.

The dosage of the polyphenols of the two methanolic extracts of the seeds and pods indicates that the latter two are not very rich in polyphenols.

The dosage of the flavonoids of the two extracts shows that they contain a low level of flavonoids.

The anti-free radical activities were evaluated using two methods: the DPPH free radical scavenging test and the iron reduction test (FRAP).

According to the results observed, the two extracts of the seeds and the pods are endowed with an anti-radical and antioxidant potential measured compared to the standard antioxidant used.

The results of the antimicrobial activity carried out in vitro on the 3 bacterial strains indicate that the two methanol extracts of this plant have a low anti-bacterial activity.

Keywords: fabacée; *Ceratonia siliqua*; Secondary metabolites; Polyphenols; Antioxidant activity; Antimicrobial activity; Reducing power.

ملخص

الخروب هو نبات ينتمي إلى عائلة الفصيلة البقولية. في كثير من الأحيان يتم استخدامه في التقاليد الطبية والطهي في مكافحة الكولسترول و الإسهال الحاد ومشاكل في الجهاز الهضمي.

ويستند عملنا على دراسة استخراج الميثانول من بذور وقرون *Ceratonia siliqua* وكشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود بعض المجموعات الكيميائية (الفلافونويد، قلويدات، تربين بولي ... الخ) قادرة على التعبير عن الأنشطة المطلوبة.

تم تقييم الأنشطة الحرة الراديكالية من خلال طريقتين: اختبار محاصرة DPPH الجذور الحرة واختبار الحد من الحديد (FRAP)

من خلال النتائج الملحوظة يتبين أن مقتطفات البذور والقرون لهما إمكانية مكافحة الراديكالية و الأكسدة تم قياسها بالنسبة إلى مضادات الأكسدة المستخدمة القياسية.

أظهرت نتائج النشاط المضادة للميكروبات التي أجريت في المختبر على السلالات البكتيرية 3 إلى أن كلا من مقتطفات ميثانول البذور و القرون من هذا النبات له نشاط مضاد للبكتيريا.

كلمات البحث: الفصيلة القرنية؛ خروب؛ المركبات الثانوية؛ البوليفينول؛ النشاط المضاد للأكسدة؛ نشاط مضادات الميكروبات؛ الحد من قوة.

Liste des tableaux

Tableau N° 1 :	La production de caroube dans le monde.....	6
Tableau N° 2:	La production de caroube en Algérie.....	7
Tableau N° 3:	Principaux acides hydroxybenzoïques.....	9
Tableau N° 4:	Principaux acides hydroxycinnamiques.....	10
Tableau N° 5 :	Les principales sources des radicaux libres.....	27
Tableau N° 6:	Résultats de criblage phytochimique des graines de <i>ceratonia siliqua</i>	47
Tableau N° 7 :	Résultats du criblage phytochimique des gousses de <i>certonia siliqua</i>	48
Tableau N° 8:	Teneur en phénols totaux dans l'extrait méthanolique des gousses.....	50
Tableau N° 9 :	Teneur en phénols totaux dans l'extrait méthanolique des graines.....	50
Tableau N° 10 :	Teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des gousses.....	52
Tableau N° 11 :	Teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des graines.....	52
Tableau N° 12 :	Valeurs de IC50 des extraits testés.....	54
Tableau N° 13 :	Diamètres des zones d'inhibitions des différents souches par méthode des disques.....	61

Liste des figures

Figure N° 1 : L'arbre du caroubier	2
Figure N° 2 : Inflorescence mâle (a), fleurs femelles et gousses (b) et fleurs hermaphrodites (c)	3
Figure N° 3 : Les feuilles de caroubier	3
Figure N° 4 : Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde	5
Figure N° 5 : Structure d'une molécule hydroxybenzoïque	9
Figure N° 6 : Structure d'une molécule hydroxycinnamique	10
Figure N°7 : Structure d'une molécule de coumarine	10
Figure N° 8 : Structure de base d'un flavonoïde	11
Figure N°9 : Principaux classe des flavonoïdes.....	12
Figure N° 10 : La biosynthèse des flavonoïdes.....	13
Figure N° 11: La structure des tanins hydrolysables	14
Figure N° 12 : Structure de base des TCs	15
Figure N° 13 : Principale formes des tanins condensés	15
Figure N° 14: Biosynthèse des composés phénoliques	16
Figure N° 15 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et EOA.....	20
Figure N° 16: La conséquence de stress oxydative au niveau cellulaire	21
Figure N° 17 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	22
Figure N° 18 : La production des radicaux libres à partir de H ₂ O ₂	24
Figure N° 19 : Sources endogènes des espèces réactives de l'oxygène	27
Figure N° 20 : Les sources exogènes des radicaux libres.....	28
Figure N°21 : Les phases de peroxydation lipidique induites par le radical OH.....	29
Figure N° 22 : Effet des radicaux libres sur les protéines	30
Figure N° 23: Les différents espèces oxygénées actives et les antioxydants régulateurs de leurs production.....	31

Figure N°24 : Les différents antioxydants endogènes	32
Figure N°25 : Structure de la vitamine E	33
Figure N° 26 : Les graines et les gousses de <i>ceratonia siliqua</i> après broyage	35
Figure N° 27 : Les graines et les gousses filtrés par pompe sous vide	38
Figure N° 28 : Schéma d'extraction par les solvants organique.....	37
Figure N° 29 : Dosage de polyphénols des graines et des gousses de caroubier	39
Figure N°30 : Dosage des flavonoïdes des graines et gousses.....	40
Figure N°31 : Dosage de pouvoir réducteur des graines et des gousses.....	41
Figure N°32 : Dosage de DPPH des graines et gousses	42
Figure N°33 : Les principales étapes pour l'obtention d'extrait sec des graines de <i>ceratonia siliqua</i>	44
Figure N°34 : Les principales étapes pour l'obtention d'extrait sec des gousses de caroubier.....	45
Figure N°35 : Courbe d'étalonnage d'acides gallique.....	50
Figure N°36 : Droite de la Quercitrine	51
Figure N° 37 : % d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.....	53
Figure N° 38 : % d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l'extrait des graines.....	53
Figure N° 39 : % d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de l'extrait des gousses.....	54
Figure N°40 : Pouvoir réducteur des graines et acide ascorbique.....	55
Figure N°41 : Pouvoir réducteur des gousses et acide ascorbique.....	56
Figure N°42 : Les résultats de l'activité anti bactérienne des extraits testés.....	61

Liste d'Abbreviations

% : Pourcentage

Abs : Absorbance

ADN : Acide ribonucléique

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α , α -diphényl- β -picrylhydrazyle)

EAG/g.MS : Equivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche

EEP : Extrait d'éther de pétrole

EG : Extrait des gousses

EGr : Extrait des graines

EMet : Extrait méthanolique

EQ/g.MS : Equivalent de Quercetine par gramme de matière sèche

EOA : Espèces réactives de l'oxygène

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène

Fe²⁺ : Fer ferreux

Fe³⁺ : Fer ferrique

FeCl₃ : Trichlorure de fer

g : Gramme

H₂O : Eau

H₃PMO₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique

Ha : Hectare

HCl : Acide chlorhydrique

H₂O₂ : Le peroxyde d'hydrogène

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

K₃Fe (CN)₆ : Ferricyanure de potassium

KOH : Hydroxyde de potassium

LDL : Low density lipoprotein ou lipoprotéine de basse densité

MeOH : Méthanol

mg : Milligramme

Mg²⁺ : Magnésium

M.H : Muller hinton

ml : Millilitre

mm : Millimètre

MVA : Voie de l'acide mévalonique

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NaOH : Hydroxyde de sodium

nm : nanomètre

NO• : Monoxyde d'azote

NO₂ : Nitrique dioxyde

O₂• : Anion superoxyde

OH• : Radical hydroxyl

ONOO- : Le peroxydinitrite

PR : Pouvoir réducteur

Qx : Quintal

R : Radical

RO• : Radical oxyl

ROO• : Radical peroxy

ROS : Reactive oxygen species

SOD : Superoxyde dismutase

THs : Tannins hydrolysables

TCs : Tannins condensés

v/v : Rapport volume par volume

µg : Microgramme

µl : Microlitre

µm : Micromètre

La table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des Abréviations

Introduction générale

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Etude botanique de la plante

1 - Généralités sur la famille fabacée.....	1
2 - l'espèce de <i>ceratonia siliqua</i>.....	1
3 – Taxonomie et systématique.....	1
4- Description.....	2
4- 1 - l'arbre du caroubier	2
4- 2 - les fleurs.....	2
4- 3 - les feuilles.....	3
4- 4 - les fruits.....	4
4- 5- les graines.....	4
5- origine du caroubier.....	4
6- Distribution géographique du caroubier.....	4
7- Utilisation du caroubier.....	5
7- 1 - Utilisation commerciales.....	5
7- 2 -Utilisation pharmacologique.....	6
8- Production de caroubier.....	6
8- 1 - production dans le monde.....	6
8 -2- productions en Algérie.....	7

Chapitre II : Les métabolites secondaires

1 - Généralités sur les métabolites secondaires.....	8
2 - Les polyphénols.....	8
2- 1 - Présentation des polyphénols.....	8
2- 2 - Classifications des polyphénols.....	8
2-2-1- Les phénols simples (C6) :	9
2-2-1-1- Acides hydroxy benzoïques.....	9
2-2-1-2- Acides hydroxy cinnamiques.....	9
2-2-1-3 - Coumarines.....	10
2-2-2- les composés phénoliques complexes :.....	11
2-2-2- 1 - Les flavonoïdes.....	11
A- Généralités.....	11
B- Structure chimique.....	11
C- Classifications des flavonoïdes.....	11
D- La biosynthèse des flavonoïdes.....	12
2- 2- 2- 2 - Les tanins.....	13
A- Généralités.....	13
B- Classifications des tanins.....	14
2- 3- la biosynthèse des polyphénols.....	15
2-3-1- La voie de l'acide shikimique.....	16
2-3-2- La voie de l'acétate malonate.....	16
3- les terpènes.....	17
3- 1 - Généralités.....	17
3- 2 - La biosynthèse des terpenoïdes.....	17
4 - les alcaloïdes.....	17
4-1 - Généralités.....	17
4-2 - Classification	18

5- les polyphénols du caroubier.....	18
--------------------------------------	----

Chapitre 3 : le stress oxydatif

1 - le stress oxydatif.....	20
2 - les radicaux libres.....	21
2-1 - les radicaux libres primaires (ROS).....	22
2-1-1 - Radical superoxyde : O_2^-	22
2-1-2 - Radicaux libres hydroxyles : OH.....	23
2-1-3- Le peroxyde d'hydrogène : H_2O_2	23
2-1-4 - L'oxygène singulet : O_2	24
2-1-5 - Monoxydes d'azote.....	24
2-1-6 - Peroxynitrie ($ONOO^-$).....	25
2-2 - Les espèces libres secondaires.....	25
2-2-1- Radicaux alkyles R et peroxy ROO.....	25
2-3 - Origines des espèces réactives de l'oxygène.....	25
2-4 - Le devenir des radicaux libres.....	28
2-4-1 - Sur l'ADN.....	28
2-4-2- Sur les lipides.....	28
2-4-3- Sur les protéines.....	29
2-4-4- Sur les glucides.....	30
3 - Les antioxydants	30
3-1- Généralités.....	30
3-2- Définition.....	31
3-3 - Classifications des antioxydants.....	31
3-3-1- Les antioxydants endogènes	31
A- Super oxyde dismutase (SOD).....	31
B- La catalase.....	32
C- La glutathion peroxydase.....	32

3-3-2- Les antioxydants exogènes.....	32
3-3-2-1- médicaments.....	33
A-la probucol (lurselle).....	33
B- B-N-acétylcysteine.....	33
3-3-2-2- les antioxydants naturels.....	33
• les vitamines.....	33
A- la vitamine E.....	33
B- la vitamine C.....	33
• les polyphénols.....	33
• les caroténoïdes.....	34
3-4- mécanisme d'action des antioxydants.....	34

Partie II : La partie expérimentale

Chapitre 1: Matériels et méthodes

I- Matériels.....	35
1. Matériel végétal.....	35
2. Matériel microbienne.....	35
II- Méthodes.....	35
1. Préparation des extraits.....	35
1.1. Protocole d'extraction.....	35
2. Screening phytochimique de l'extrait végétal.....	37
2.1. Test des quinones libres.....	38
2.2. Test des tanins.....	38
2.3. Test des saponines.....	38

2.4. Test des flavonoïdes.....	38
2.5. Test des stérols ou triterpènes.....	38
2.6. Test des sucres réducteurs.....	39
3. Caractérisation quantitative des extraits.....	39
3.1. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de Folin-Ciocalteu).....	39
3.2. Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode de trichlorure d'Aluminium.....	40
4. Les activités biologiques in vitro.....	40
4.1. Le pouvoir réducteur(PR)	40
4.2. Evaluation de l'activité antioxydant par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH)	41
4-3 l'activité antimicrobienne.....	42

Chapitre 2: Résultats et Discussion

1. Screening phytochimique.....	45
2. Dosage spectrophotométrie.....	49
2.1. Teneurs en polyphénols totaux.....	49
2.2. Teneurs en flavonoïdes.....	51
3. Activité antioxydant	52
3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	52
3.2. Test de la réduction du fer FRAP.....	55
4. Etude de l'activité anti microbienne.....	57

Conclusion générale

Références Bibliographiques

Annexes

A decorative border with a black and white checkerboard pattern surrounds the entire page.

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction

Durant ces dernières années une recrudescence d'intérêt est à remarquer concernant les effets biologiques des antioxydants naturels inclus dans la lutte contre le stress oxydatif généré par les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Celles-ci sont impliquées dans le vieillissement et dans le déclenchement et la progression de plusieurs maladies telles que le cancer, l'athérosclérose, les accidents cardiovasculaire (AVC), l'ostéoporose, les maladies inflammatoires et les maladies neurodégénératives ...etc. dans ce contexte, de nombreuses recherches scientifiques faites sur les composés bioactifs notamment sur les polyphénols (PP) qui agissent contre les ERO, on aboutit à leur utilisation dans les industries alimentaires, cosmétique et pharmacologique (Kebbab,2014).

Les plantes aromatiques ont l'aptitude de synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotique et abiotique qu'ils peuvent subir. Ces métabolites secondaires possèdent diverses propriétés biologiques (Haddouchiet al., 2009).

Le choix de notre plante s'est basé sur leur utilisation fréquente dans nos traditions locales culinaires et médicinales, afin de revaloriser et redécouvrir notre patrimoine national. De ce fait on s'est focalisé sur les polyphénols.

Le caroubier fait l'objet de nombreuses recherches scientifiques depuis plusieurs décennies, il recèle de multiples propriétés médicinales.

Ceratonia siliqua est un remède naturel qui s'avère efficace pour lutter contre le cholestérol, les diarrhées aiguës infantiles, la tuberculose pulmonaire, les infections des bronches, les troubles digestifs et même certains types de cancer dont il ralentirait la progression (Berrougui , 2007).

L'objectif de notre travail est la valorisation des plantes aromatiques et médicinales de notre région.

La valorisation de la plante *Ceratonia siliqua* englobe plusieurs aspects, le criblage phytochimique et l'évaluation de leur activités biologiques (antimicrobienne et antioxydante).

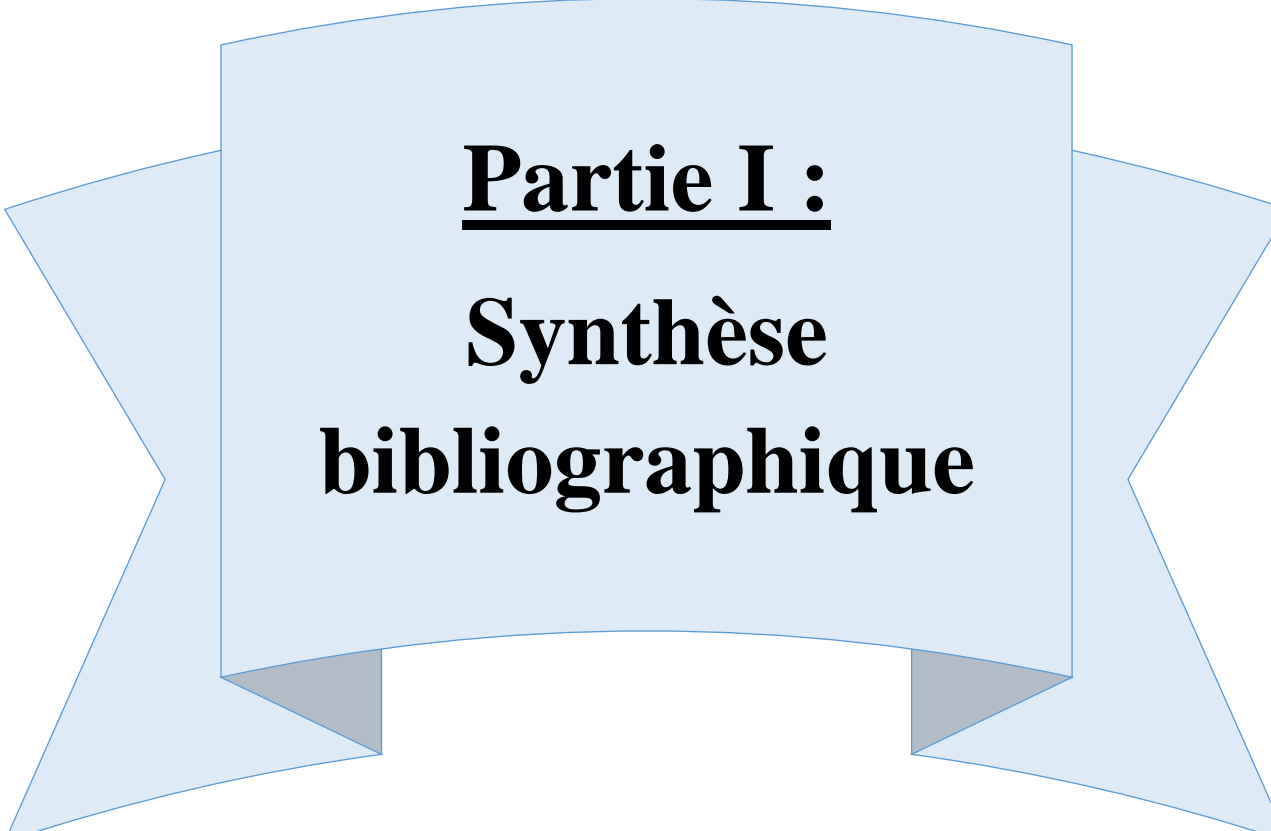
Notre manuscrit s'articule autour de trois parties :

La première partie consiste en une synthèse bibliographique qui a pour objet de donner des informations sur la plante étudiée, les métabolites secondaires ainsi que sur le stress oxydant.

Dans la deuxième partie, nous avons focalisé sur le matériel et les méthodes utilisées dans notre travail. notamment, les méthodes utilisées pour le criblage phytochimique, l'extraction, le dosage colorimétrique (des polyphénols et des flavonoïdes), les activités anti-oxydantes (Pouvoir réducteur et DPPH) ainsi que l'activité antimicrobienne des deux extraits méthanolique de notre plante (gousses et graines).

Nous discuterons, dans la dernière partie, les résultats obtenus lors de cette étude.

Pour terminer, une conclusion générale sur l'ensemble de cette étude ainsi que les perspectives ont été dégagées.



Partie I :
Synthèse
bibliographique

Chapitre I :
Etude botanique de
la plante

Chapitre I : étude botanique de la plante

1. Généralité sur la famille fabacées

Les Fabacées ou Papilionacées constituent avec les Césalpiniacées et les Mimosacées le groupe des légumineuses. Ce sont des Angiospermes dicotylédones. Ils représentent les plus grandes familles de plantes à fleurs, avec plus de 730 genres et 19 400 espèces, réparties aussi bien en milieu tempéré que tropical. Les feuilles sont alternes, généralement composées, pennées ou digitées, rarement unifoliées ou des feuilles simples. Les fleurs sont zygomorphes, le plus souvent hermaphrodites (Wojciechowski in moral, 2011). Les racines sont généralement pauvres en azote .

L'origine monophylétique de cette famille est confirmée grâce à l'arbre phylogénétique à partir de gène chloroplastique codant pour la sous-unité du ribulose-1,5-bisphosphat (Wojciechowski in moral ,2011).

Les Fabacées peuvent être réparties en 4 sous-familles selon (Phylogeny Group III (2009):

La sous-famille de Bauhinioïdes

La sous-famille des mimosoides

La sous-famille des Caesalpinoideae

La sous-famille des Papilionoideae

2- l'espèce de *ceratonia siliqua*

Le nom scientifique du caroubier, *Ceratonia siliqua* L. dérive du grec Keras (corne) et du latin siliqua désignant une siliqua ou gousse et faisant allusion à la dureté et à la forme du fruit qui ressemble à la corne de bouc (Battle et *al.*, 1997).

3-Taxonomie et systématique

En 1995 Rejeb précise que le caroubier possède plusieurs noms variables selon le Pays. Il se nomme, Kharroub en arabe, algarrobo en espagnol, carroubo en italien, caroubier en français, etc...

Le caroubier résiste à la sécheresse et est sensible au froid (Biner et *al.*, 2007).

Des études cytologiques ont montrés que, génétiquement, le genre *Ceratonia* possède un nombre total de chromosomes de 24 (Goldblatt, 1981; Bures et *al.*, 2004).

Systématique : (Quezel et santa ,1962) :

Règne : Plantae.

Sous-règne : Tracheobionta.

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Sous-classe : Rosidae .

Famille : Fabaceae.

Ordre : Fabales.

Genre : *Ceratonia*.

Espèce : *Ceratonia siliqua* .

4-Description

4-1 L'arbre du caroubier

Le caroubier est un arbuste dioïque parfois hermaphrodite et rarement monoïque (Linskens et Scholten, 1980; Battle et al., 1988). Il se caractérise par des feuilles persistantes et de croissance lente (Biner et al., 2007; Bouzouita et al., 2007). Les racines de cette plante sont fortes et envahissantes et peuvent atteindre une taille allant de 8 à 15 m (Correia et al., 2005) (Figure 1).

Le caroubier est considéré comme le seul arbre méditerranéen qui fleurit en été : d'août à octobre (Aafi, 1996) ou en automne : de septembre à novembre (Fournier, 1977).



Figure N°1 : L'arbre du caroubier (The nature conservancy, 2001).

4- 2 Les fleurs :

Les fleurs sont bisexuelles, très petites et sont constituées d'un calice pourpre sans corolle. Elles sont réunies en grappes axillaires cylindriques. Elles font leur apparition durant la période d'août à octobre. La morphologie florale est complexe et varie largement d'une référence à une autre (Albanell, 1990) (Figure 2).



Figure N° 2: Inflorescence mâle (a), fleurs femelles et gousses (b) et fleurs hermaphrodites (c) (Batlle et Tous, 1997).

4-3 Les feuilles :

Les feuilles sont persistantes, de longueur variant entre 10 et 20 cm et sont composées de trois à cinq paires de folioles.

Les folioles sont de forme ovale, de couleur vert sombre (Ait Chitt et *al.*, 2007). Elles sont caractérisées par un pétiole sillonné de couleur vert luisant sur la face dorsale et vert pale sur la face ventrale (Figure 3).



Figure N° 3 : Les feuilles de caroubier (Benhamou et *al.*, 2000).

4- 4 Les fruits

Les fruits appelés gousses, de grande taille, 10 à 30 cm de longueur et 2 à 3.5 cm de largeur. Les gousses sont séparées à l'intérieur par un tissu pulpeux sucré dont la maturation nécessite une durée de 9 à 10 mois (Batlle et Tous, 1997).

4-5 Les graines :

Les graines de caroube sont brunes, de forme ovoïde, aplatie, biconvexes et très dure. Elles sont séparées les unes des autres par des cloisons pulpeuses (Batlle et Tous, 1997). Leur nombre varie généralement entre 10 et 15 (Dakia, 2003).

5- Origine du caroubier :

La *ceratonia siliqua* est une substance thermophile cultivée en climat méditerranéen. Elle est originaire des pays arabes (Petit et *al.*, 1995).

Des études archéobotaniques ont montrés que le caroubier était présent à l'Est de la méditerranée (syrie et turquie) (Estrada et *al.*, 2006).

La nouvelle espèce de caroubier *Ceratonia oreothauma* Hillc, a été découverte au niveau des montagnes de l'Arabie (Oman) et de la Somalie (Hillcoat et *al.*, 1980).

6 - Distribution géographique du caroubier :

Selon Hillcoat et *al.*, 1980 le caroubier se trouve à l'état sauvage dans les régions méditerranéennes de l'Est, (Chypre, Egypte, Palestine, Jordanie, Liban, Libye, Arabie saoudite, Syrie, Tunisie, Turquie). Cependant il est cultivé en Algérie, Argentine, Australie, Chili, Croatie, France, Grèce, Inde, Indonésie, Italie, Malte, Maroc, Mexique, Pakistan, Portugal, Espagne, États-Unis d'Amérique et Venezuela (Figure 4).

En Algérie, le caroubier est cultivé dans l'Atlas Saharien (Quezel et Santa, 1962) où la température varie entre 5°C et 20°C et la pluviométrie de 80mm/an à 600mm/an (Rebour, 1968).

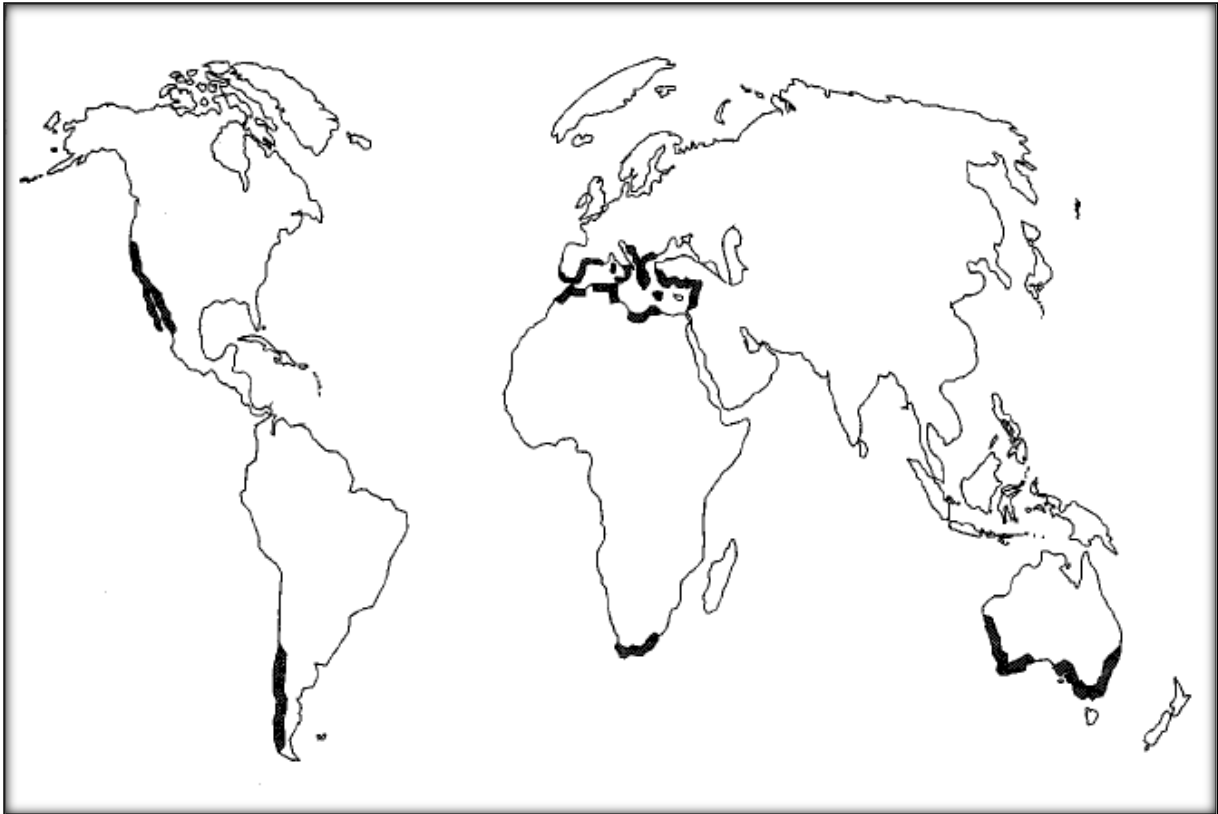


Figure N° 4 : Distribution du caroubier dans le monde (Batlle et Tous, 1997).

7- Utilisation du caroubier

7- 1 Utilisation commerciale

Les fleurs de l'arbre du caroubier sont utilisées par les apiculteurs pour la production du miel de caroube, alors que les feuilles sont utilisées pour l'alimentation des animaux. L'écorce et les racines sont utilisées en tannerie grâce à leur teneur en tanins. Le bois du caroubier, dur, de couleur rouge, est estimé dans la charbonnerie et la menuiserie (Hariri et *al.*, 2009).

Les gousses contiennent des graines entourées par des pulpes. Réduites en poudre elles donnent une farine. Cette farine est une source importante de sucre utilisée bien avant la canne à sucre et la betterave sucrière et employée depuis longtemps comme nourriture de bétail (Ait Chitt et *al.*, 2007).

La farine de caroube est utilisée de nos jours dans l'industrie agro-alimentaire (Sbay et Abourouh, 2006) comme additif (code E410) pour les glaces, les pâtisseries, les aliments diététiques (la caroube est dépourvu de gluten). Egalement comme succédané de cacao (Berrougui, 2007). Elle est aussi utilisée dans le lait en poudre pour bébé remplaçant la

traditionnelle farine de blé. Cette farine est censée être moins allergène que la farine de céréales.

7-2 Utilisation pharmacologique

De nombreuses études cliniques ont souligné l'efficacité de la poudre de caroube dans le traitement des diarrhées aiguës infantiles (rairi et *al.*, 2000).

Le caroube adsorberait aussi les entérostomies produites par certaines souches bactériennes, comme *Escherichia coli* et *staphylocoques* (Ben Hsouna et *al.*, 1986).

Selon l'étude récente de Sanchez et *al.*, 2010, le caroube est une source de production de bioéthanol.

Selon (Rejeb, 1995), la pulpe est recommandée contre la tuberculose pulmonaire et les infections des bronches.

Cette plante possède en thérapeutique un effet hypocholestérolémiant, antiprolifératif, anti diarrhéique et troubles digestifs. (Berrougui, 2007).

8- Production de caroubier

8- 1 Production dans le monde :

La production mondiale de la caroube est estimée à 205.589 t et se concentre principalement en Espagne, premier pays producteur, suivi par l'Italie et le Portugal.

L'Algérie occupe le huitième rang avec une production de 4000 t, soit 1,95% de la production mondiale (Batlle et Tous, 1997) (Tableau 1).

Tableau N°1 : la production mondiale de caroube (FAOSTAT, 2010).

Pays	Production en tonne (2004)	Production en tonnes (2008)
Espagne	67000	72000
Maroc	40000	31224
Italie	24000	25000
Portugal	20000	23000
Grèce	19000	15000

Chapitre I : étude botanique de la plante

Turquie	14000	12100
chypre	7000	3915
Algérie	4600	3600
Liban	3200	2800
Tunisie	1000	1000
monde	182680	191167

8 -2 Production en Algérie :

La production nationale de caroube est estimée à 33841 Qx et se concentre principalement dans la wilaya de Bejaia avec une production de 18.417 Qx, ce qui représente 54,42 % de la production nationale suivie par la wilaya de Blida (23,79%) et Tipaza (16,55%) (Tableau 2).

Tableau N° 2 : Production de caroube en Algérie (FAOSTAT, 2010).

wilaya	Surface cultivée (ha)	Production (qx)	Rendement (qx /ha)
Bejaia	645	18417	28,6
Tipaza	105	5600	53,3
Blida	100	8050	80,5
Boumerdes	32	1080	40,0
Bouira	22	144	6,9
Mila	10	80	8,0
Tlemcen	5	100	20,0
B Arreridj	4	20	5,0
Ain defla	2	300	150
Mascara	1	30	30,0
Tizi-Ouzou	1	20	20,0
Total	927	33841	36 ,5

Chapitre I : étude botanique de la plante

Chapitre II :
Métabolites
Secondaires

Chapitre II : Les métabolites secondaires

1- Généralités sur les métabolites secondaires

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. On appelle métabolites secondaires les composés biosynthétisés naturellement. Nombreux d'entre eux possèdent des propriétés thérapeutiques utilisés en médecine traditionnelle et moderne (Nguyen et *al.*, 2013).

Les métabolites secondaires sont classés en trois groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (Krief, 2003 ; Haven et *al.*, 2000).

2 -Les polyphénols

2-1- Présentations des polyphénols

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) sont des produits du métabolisme secondaire des plantes (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006). Ils possèdent plusieurs groupements phénoliques, c'est à dire au moins un noyau phénolique à six carbones, lié au moins à un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Bruneton , 1999).

Les polyphénols peuvent être divisés en dix classes. Chaque classe varie de l'autre par sa structure chimique. Telle que phénol simple ; tannins.

Le terme « phénol » englobe 10000 composés naturels connus (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

La biosynthèse des polyphénols est assurée par deux voies principales : La voie du Shikimate, responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr après transamination et désamination aboutit aux acides cinnamiques (Knaggs, 2003). Egalement la voie du polyacétate (condensation de molécules d'acétylCoenzyme) qui aboutit à des composés tels que les naphtoquinones (Bruneton,1999; Naczki, etShahidi,2004).

Les polyphénols s'intègrent dans l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002) dans les légumes, les fruits, les céréales les boissons, le cacao etc. Ces molécules possèdent aussi un effet antioxydant, effet Protecteur contre l'apparition de certains cancers (Macheix et *al.*, 2006).

2- 2- Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux grands groupes: les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Boros, 2010).

2- 2- 1- Les phénols simples (C6):

2- 2- 1- 1 - Acides hydroxy benzoïques :

-Dérivent de l'acide benzoïque

-Structure générale de base de type (C6-C1) (Figure 5, Tableau 3).

(Sarni-Manchadoet Cheynier, 2006).

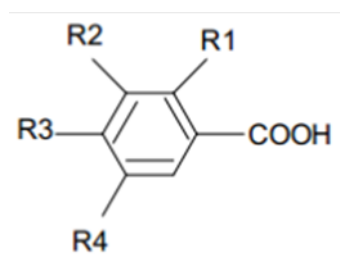


Figure N°5 : structure des acides hydroxy benzoïques.

Tableau N°3: Principaux acides hydroxybenzoïques.

R1	R2	R3	R4	Acide phénol
H	H	H	H	A .benzoïque
H	H	OH	H	A .p .hydroxy benzoïque
H	OH	OH	H	A.protocatechique
H	OCH3	OH	H	A.vanilique
H	OH	OH	OH	A.gallique
H	OCH3	OH	OCH3	A.syringique
OH	OH	H	H	A.salicylique
OH	OH	H	OH	A.gentisique

2- 2- 1- 2 Acides hydroxy cinnamiques :

-Dérivent de l'acide cinnamique.

- Structure générale de base de type (C6-C3) (Figure 6, Tableau 4).

(Sarni-Manchado et Cheynie , 2006).

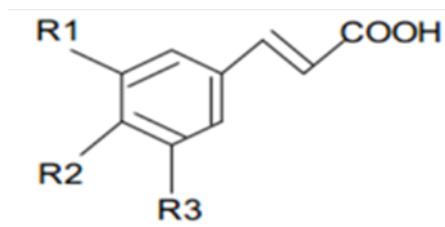


Figure N°6 : structure des acides hydroxy cinnamiques.

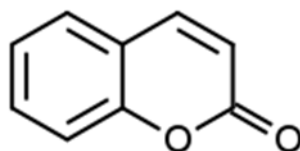
Tableau N°4 : Principaux acides hydroxycinnamiques.

R1	R2	R3	C6C3
H	H	H	Acide cinnamique
H	OH	H	Acide p. coumarique
OH	OH	H	Acide cafeique
OCH3	OH	H	Acide férulique
OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique
OH	OH	OH	Ac .tri(OH)cinnamique

2- 2- 1 -3 Coumarines :

Les coumarines dérivent des acides hydroxy cinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale (Guignard, 1998 ; Deina *et al.*, 2003 ; Booth *et al.*, 2004) (Figure 7). Ils sont présents dans la cellule végétale sous forme de glycoside (Hofmann, 2003 ; Macheix *et al.*, 2005). Cette forme permet d'éviter la toxicité des coumarines.

Les coumarines possèdent des activités : anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, anti tumorale, diurétique, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Stefanova *et al.*, 2007).



Coumarine

Figure N° 7 : Structure d'une molécule de coumarine (cowan, 1999).

Les composés phénoliques complexes

2- 2- 2 -1- Les flavonoïdes

A- Généralités

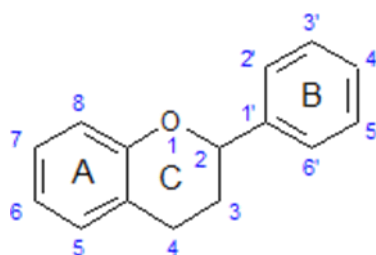
Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavus (jaune) (Bouakaz, 2006). Ce sont des composants de couleur jaune. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ces composants sont présents sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides (Erlund, 2004).

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes puis migrent vers les vacuoles (Piquemal, 2008). Ils sont répartis dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens (Verhoeyen et *al.*, 2002).

Les flavonoïdes possèdent de nombreuses activités biologiques : antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses puisque ils ont la capacité de piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH•) et superoxydes.

B- Structure chimique

Tous les flavonoïdes possèdent le même squelette de base à quinze atomes de carbones. Ils sont constitués de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (Figure 8).



FigureN°8 : structure de base d'un flavonoïde (Dacosta, 2003) .

C- Classification des flavonoïdes

La classification est basée sur la présence de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (Yao et *al.*, 2004 ; Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006). Les flavonoïdes sont divisés en différentes classes : anthocyanidines, flavonoles, isoflavonoles, flavones,

isoflavones, flavanes, isoflavanes, flavanols, isoflavanols, flavanones, isoflavanones et auronés (Figure 9)(Havsteen, 2002 ; Edenharder et Grünhage, 2003).

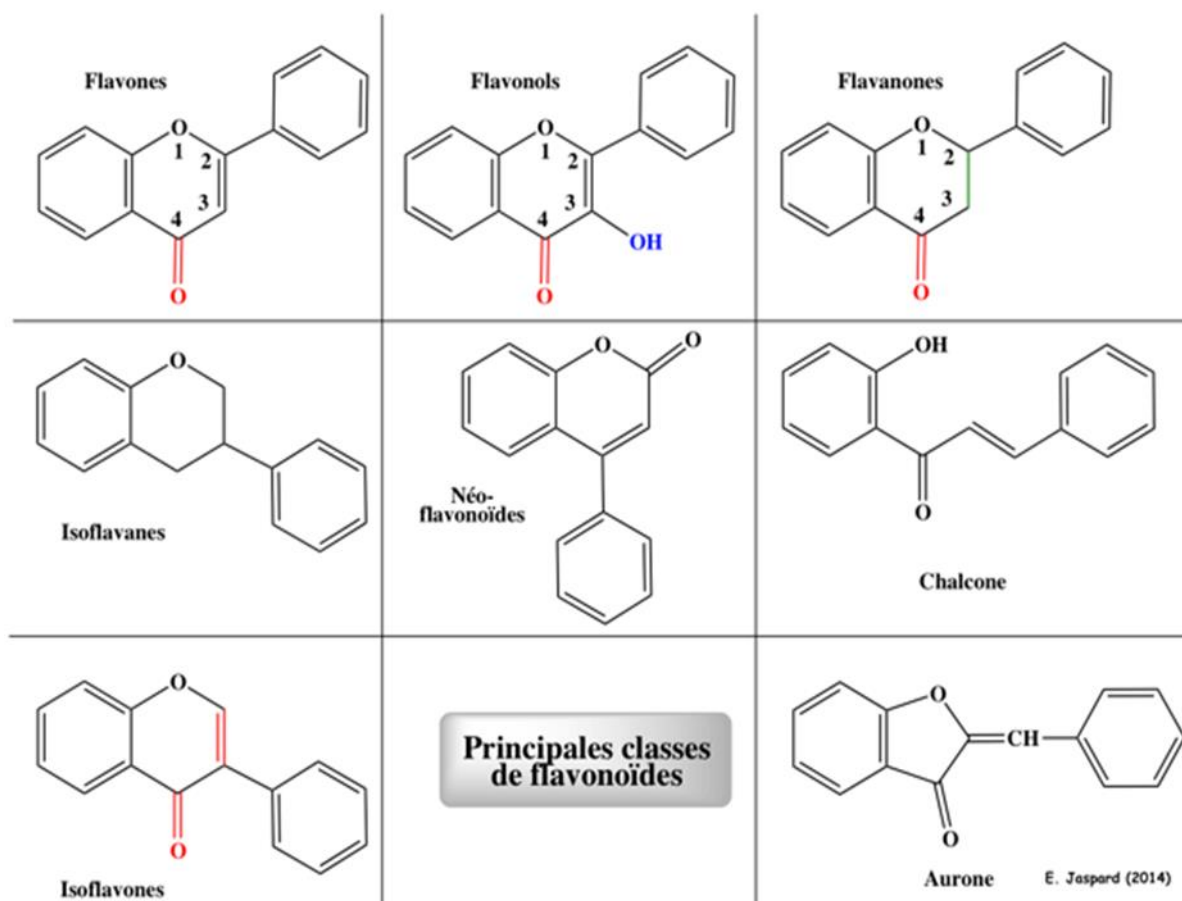


Figure N°9 :Principales classes de flavonoïdes (E . jaspard, 2014).

2- 2- 2-1-4 La biosynthèse des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base. L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalcone synthase, d'une unité phényle propanoïde avec trois unités malonyl-CoA (Figure 10). Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse des divers flavonoïdes (Bruneton, 1999).

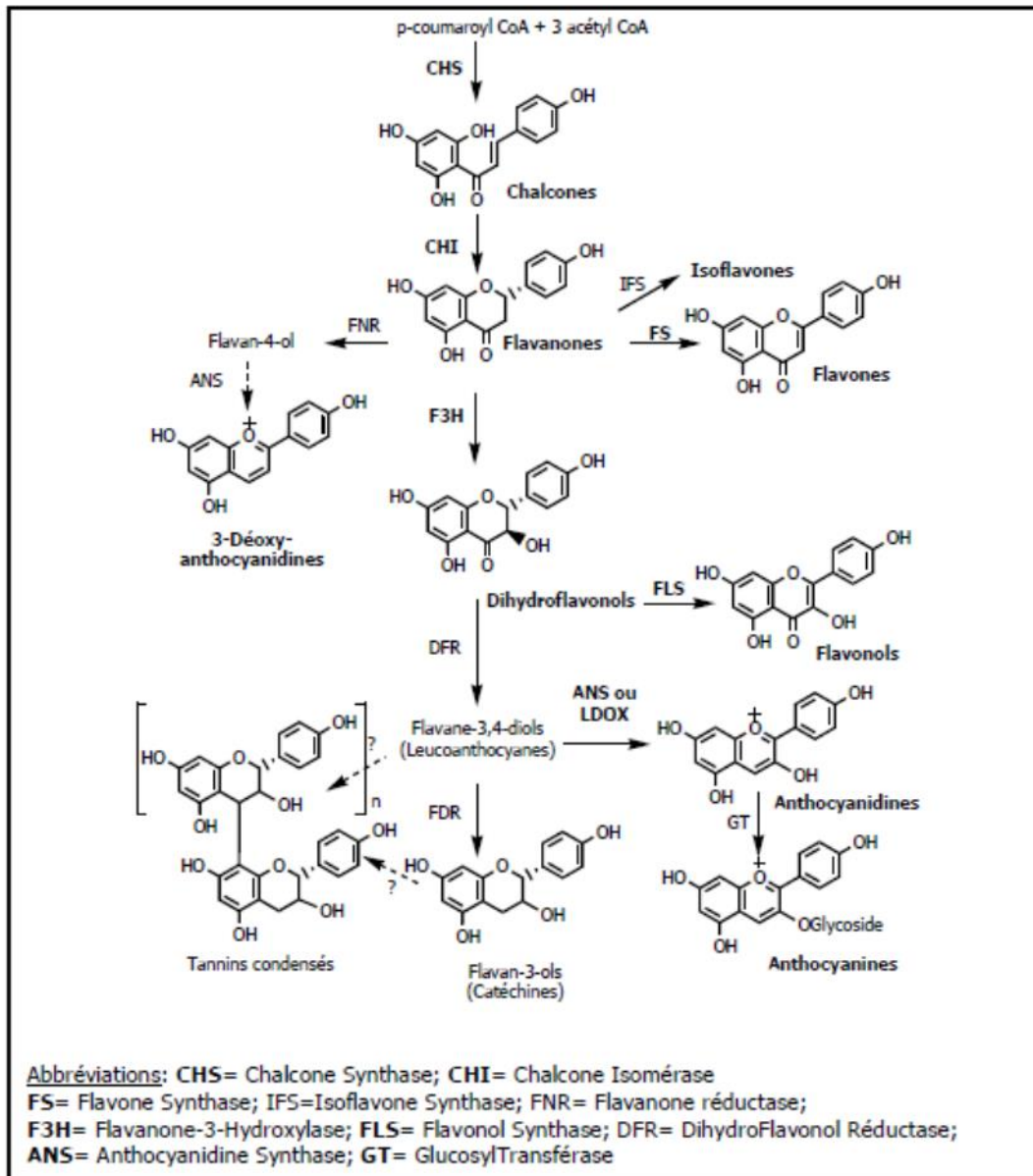


Figure N°10: Biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

2-2-2-2 Les tanins

A- généralités

Ce sont des substances d'origine végétale, non azotées, de structure poly phénolique. Ils sont soluble dans l'eau, l'alcool, l'acétone et sont peu soluble dans l'éther. De saveur astringente, responsables de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible (Brunet, 2008).

Dans les plantes, les tanins existent à l'état complexe, les tannoïdes; certains sont combinés à des sucres.

Dans tous les cas, les tanins ont des rôles de protection, des végétaux, contre les prédateurs. Ils partagent la caractéristique fonctionnelle de tanner les protéines, c'est-à-dire de former des complexes avec celles-ci.

Les tanins induisent une amélioration des performances animales, croissance du rendement en viande et en lait (Barry *et al.*, 1986).

B- Classifications des tanins

Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes distincts. **Les tanins hydrolysables**, sont des phénols liés à un résidu sucré par un lien ester et **les tanins condensés** qui sont des polymères dérivés de résidus flavonols (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Bruneton, 1999; Hagerman, 2002).

- **Les tanins hydrolysables (THs)**

Ce sont des oligo- ou poly-esters d'un sucre, en général le glucose, associés à des molécules d'acide-phénol (Figure 11) (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Jean-Blain, 1998; Bruneton, 1999; Mueller-Harvey, 2001). Ils sont classés selon la nature de l'acide-phénol en :

- **Tanins galliques** possèdent un acide gallique
- **Tanins éllagiques** ont un acide hexahydroxyphénique (Hagerman, 2002).

Ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acide et alcalin ou sous l'action d'enzymes, tannases, pour donner des glucides et des acides phénoliques (Leinmüller *et al.*, 1991).

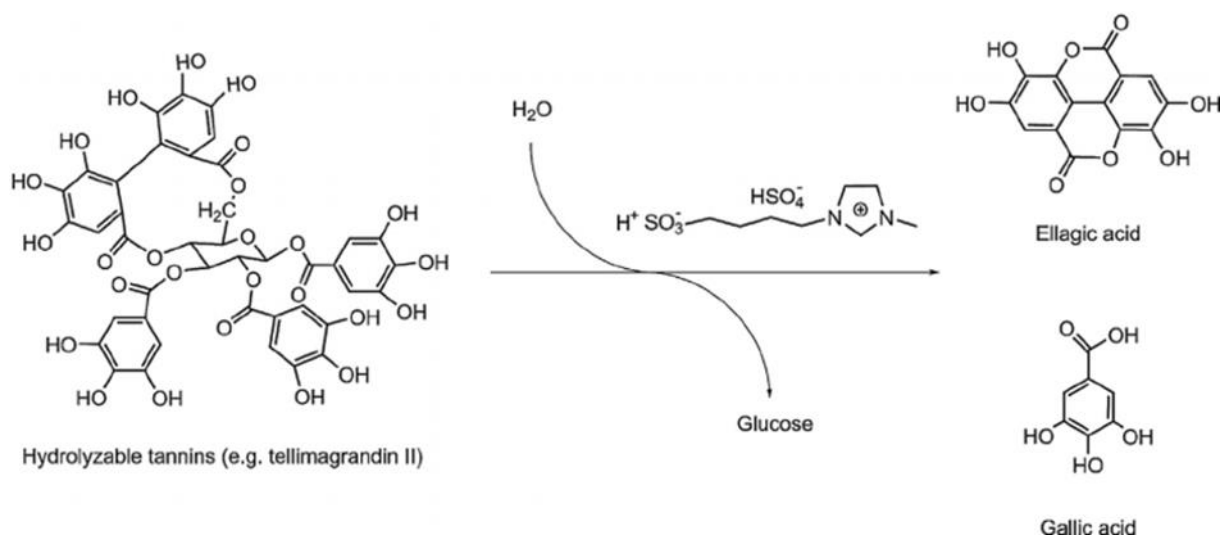


Figure N°11: Structure des tanins hydrolysables (Hagerman, 2002).

- Les tanins condensés (TCs)

Sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Bruneton, 1999). Ce sont des oligomères ou des polymères d'unités de flavonoïdes. L'unité de base (ou monomère) des TCs est un flavan-3-ol (catéchine) liés par des liaisons de type C-C (Type B) ou C-O-C (type A) (Figure 12,13) (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Jean-Blain, 1998; Bruneton, 1999; Feucht et Treutter, 1999; Schofield et *al.*, 2001).

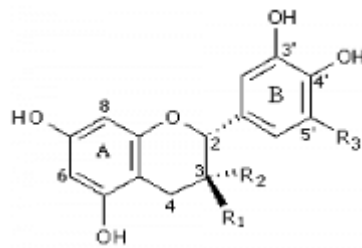


Figure N° 12 : Structure de base des tanins condensés (Brunet, 2008).

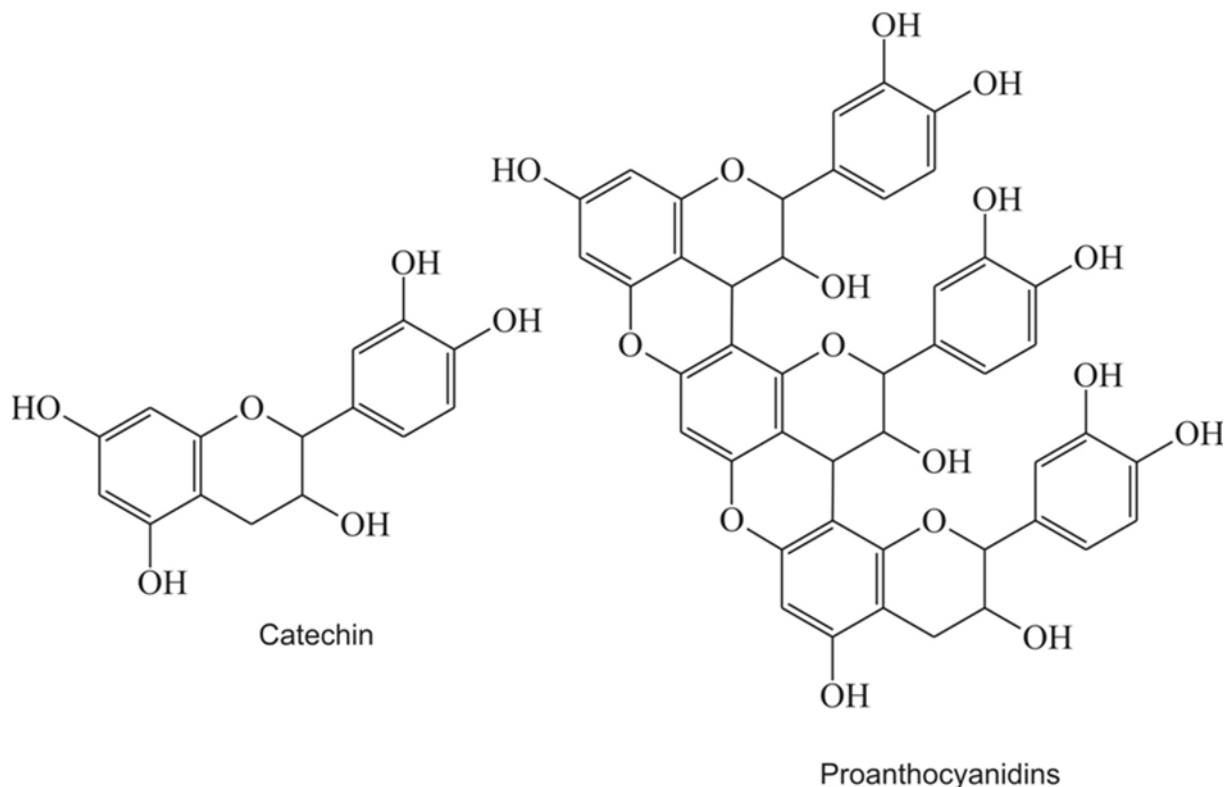


Figure N° 13 : Principales formes des tanins condensés (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Jean-Blain, 1998; Bruneton, 1999; Feucht et Treutter, 1999; Schofield et *al.*, 2001).

2-3- La biosynthèse des polyphénols

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales qui sont :

2 -3-1- La voie de l'acide shikimique :

C'est la voie de biosynthèse des composés aromatiques, phénolique C6-C1 (Kening et al., 1995) (figure 14) à partir de l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate qui proviennent de la dégradation du glucose par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse respectivement.

2-3-2 _ La voie de l'acétate malonate

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl- CoA donnant le malonyl-CoA. Ce dernier subit une cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (FleegeretFlipse 1964 ; Richter 1993).

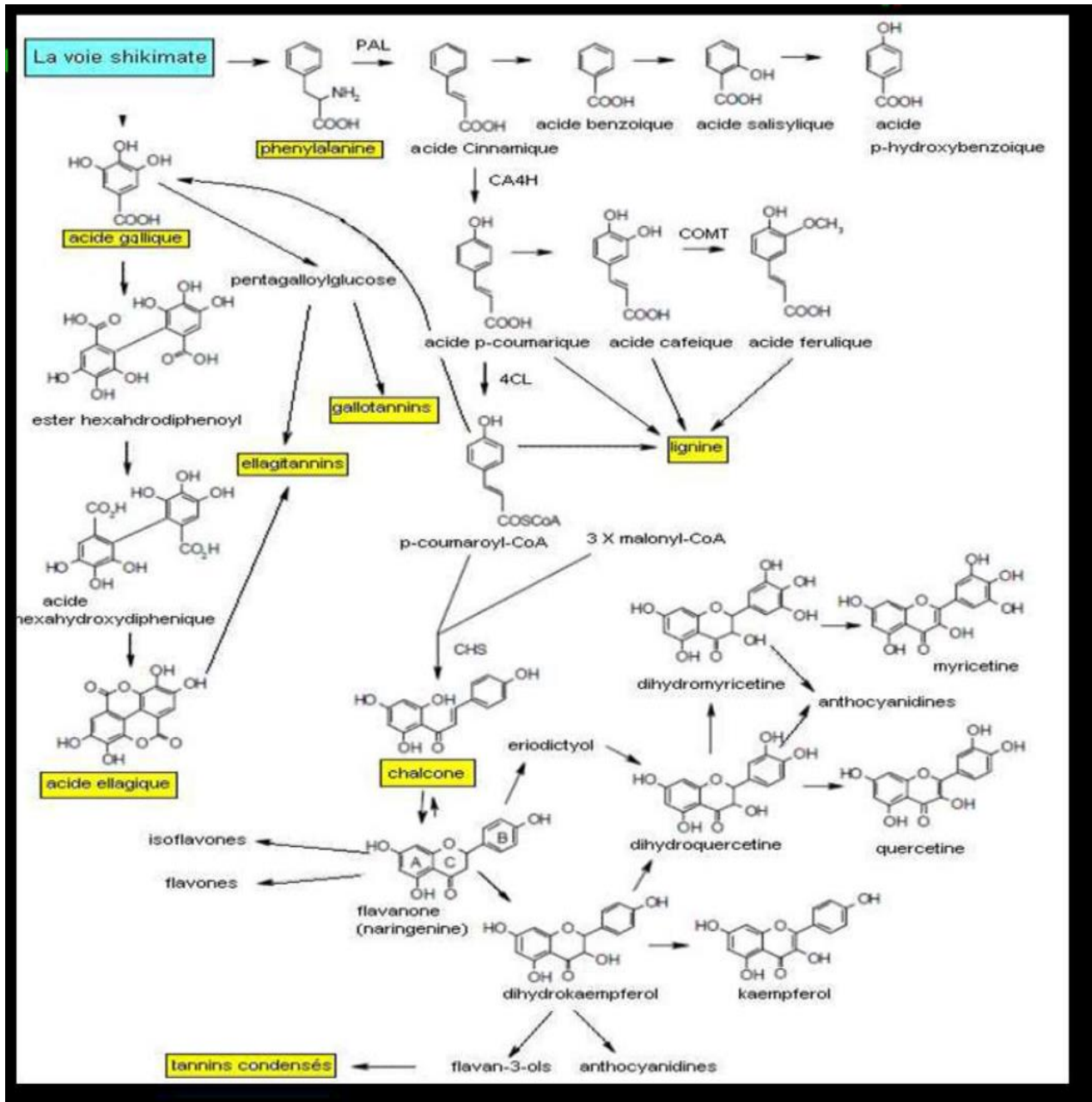


Figure N° 14 : Biosynthèse des composés phénoliques (mohammedi, 2013).

3- Les terpènes

3- 1 - Généralités

Les terpènes sont des molécules formées par l'assemblage de nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées et dérivant du 2-méthyl butadiène. Elles sont appelées unités isopréniques $(C_5H_8)_n$ (Qureshi. N et Porter. J. W, 1981). La très grande majorité des terpènes sont spécifiques du règne végétal mais on peut les rencontrer aussi chez les animaux (les champignons, les algues marines, les insectes et les éponges) (Benaisa 2011).

Les terpènes sont classés selon le nombre d'unités isoprène en :

- **Hémi terpènes (C5)**, peu de composés naturels ayant une formule de C5 ramifiée ont été rencontrés.
- **monoterpènes (C10)**, issus de couplage de deux unités isopréniques.
- **diterpènes (C20)**, issus du couplage de quatre unités isopréniques.
- **sesquiterpènes (C25)**, issus du couplage de cinq isoprènes.
- **triterpènes (C30)**, ils sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifié, ou sous forme hétérosidique.

Les stéroïdes peuvent être considérés comme des triterpènes tétracycliques ayant perdu au moins trois méthyles.

Tous les terpènes peuvent être acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques ou polycycliques (Belbache, 2003; Malecky, 2005).

3- 2 la biosynthèse des terpènes

La condensation de trois molécules d'acétyl-CoA forme le β -hydroxy β -méthylglutaryl-CoA. La réduction de ce dernier donne MVA qui est par la suite activé par un enzyme spécifique. Le MVA est converti en isopentenyl pyrophosphate (IPP) ou isoprène actif. C'est le IPP qui constitue l'unité isoprénique d'enchaînement. Il s'isomérisse en diméthyl allyl pyrophosphate (DMAPP). La condensation d'une molécule DMAPP avec une molécule IPP donne un terpène.

4 - les alcaloïdes

4-1 Généralités

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin. Il présente une structure moléculaire hétérocyclique complexe (Badiaga, 2011). Il donne une réaction de précipitation avec certains réactifs. C'est un composé synthétisé au niveau des racines et sera transporté, par la suite, au niveau de son site de stockage (Rakotonanahary, 2012).

Les alcaloïdes ont des masses moléculaires variant entre 100 et 900 Da.

Les alcaloïdes non oxygénés sont liquides à température ordinaire (nicotine, spartéine, confine).

Les alcaloïdes oxygénés sont solides, cristallisables et rarement colorés.

4-2 Classification

Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes : Alcaloïdes issus de la lysine ; Alcaloïdes dérivés de l'acide

nicotinique ; Alcaloïdes tropaniques ; Alcaloïdes issus de la phénylalanine : capsaïcine du piment, colchicine du colchique, alcaloïdes issus du tryptophane (Mauro , 2006).

Ces acides aminés sont décarboxylés en amines couplés à d'autres squelettes carbonés (Cyril, 2001). Il existe trois genres d'alcaloïdes :

- **Les alcaloïdes vrais**

Ils représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans leur système hétérocyclique. Ils sont présents soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (Badiaga, 2011).

- **Les pseudo-alcaloïdes**

Les pseudo-alcaloïdes ne sont pas des dérivés d'acides aminés (Badiaga ; 2011). Ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate (Rakotonanahary, 2012).

- **Les proto-alcaloïdes**

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acides aminés. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau (Badiaga, 2011).

5- Les polyphénols du caroubier

Les polyphénols sont présents dans toutes les plantes mais leur nature et leur teneur varient largement d'une espèce à l'autre, et donc d'un aliment à l'autre (Grolier et *al.* 2001).

La caroube est une bonne source de poly-phénols (16-20%) (Bamforth, 1999; Dewick, 1995 ; El Hajaji, 2010).

Les feuilles de caroubier contiennent des quantités élevées en composés poly-phénoliques qui sont des constituants importants de fibre (Owen et *al.*, 2003). La fibre de caroube est une des fibres alimentaires ayant la plus forte teneur en poly-phénols (Papagiannopoulos, 2004).

Les polyphénols se trouvent aussi dans les gousses de caroube sous forme de granules bruns clair, de taille entre 100µm et 500 µm. Ces granules se trouvent dans la fraction fibreuse de la pulpe de caroube et peuvent être extraites par des solvants polaires, à haute température (Würsch et *al.*, 1984). La section d'une gousse de caroube examinée au microscope électronique montre la présence de larges cellules parenchymateuses remplies de granules de tannin condensés contenant un noyau flavane (Würsch et *al.*, 1984). Le degré de

Chapitre II : Les métabolites secondaires

polymérisation des flavanols, estimé par Kumazawa et *al.*, 2002 est de 31,1% et les flavanols constituent 23% des polyphénols.

La consommation de fibres de caroube a démontré un pouvoir antioxydant élevé (Kumazawa et *al.*, 2002) et un abaissement du taux de cholestérol et des triglycérides sérique (Zunft , 2003).

Chapitre III :
Stress Oxydant

Chapitre III : le stress oxydatif

1- Le stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défense anti oxydants et la production des radicaux libres (Figure 15).

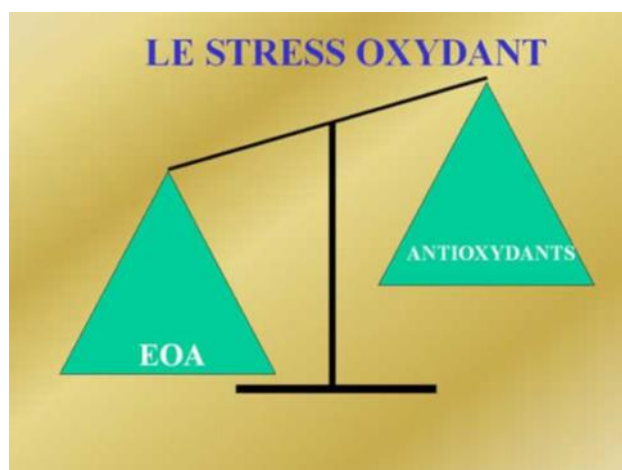


Figure N° 15: déséquilibre de la balance entre antioxydants et espèces oxygénées actives (Bentafar et Chaib, 2016).

Ce déséquilibre pourrait avoir diverses origines, telle que : la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants, une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, médicament, rayons gamma, rayon UV, herbicides, métaux toxique) (Arab Naziha ,2016). Ces derniers sont des espèces fortement toxiques et leur excès est très nocif pour les macromolécules de nos cellules, ils entraînent beaucoup d'anomalies (Figure 16).

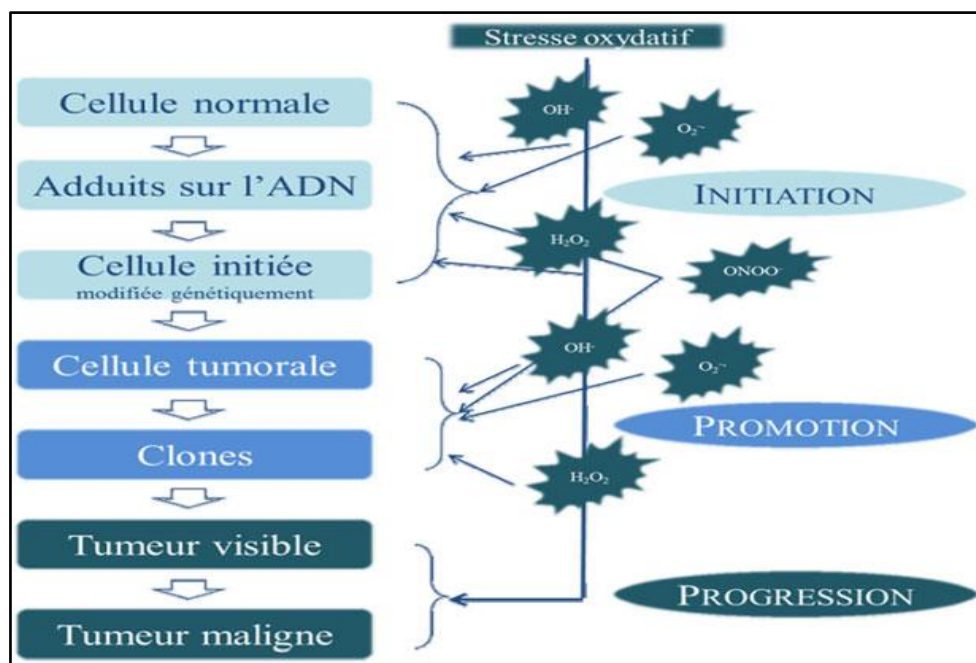


Figure N° 16 : la conséquence de stress oxydatif au niveau cellulaire

Pour se protéger contre cet effet toxique des radicaux libres, l'organisme a développé des systèmes de défense qui permettent de réguler la production des ROS (espèces oxygénées actives). Ces systèmes sont composés d'antioxydants, d'oligoéléments et de protéines.

2 - Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Ce sont des espèces chimiques très instables qui jouent un rôle dans l'action de certains traitements anti cancéreux. Leur structure comprend un électron célibataire qu'ils recherchent à assembler en attaquant et en endommageant les molécules voisines (Robert, 2005).

Les radicaux libres se divisent en deux types (Figure17) :

Primaires qui dérivent directement de l'oxygène et appelé (ROS) comme : le radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$, radical hydroxyl OH^{\cdot} , monoxyde d'azote NO^{\cdot} .

Secondaires comme : radical peroxy ROO^{\cdot} , radical alkoxy RO^{\cdot} (Favier, 2003).

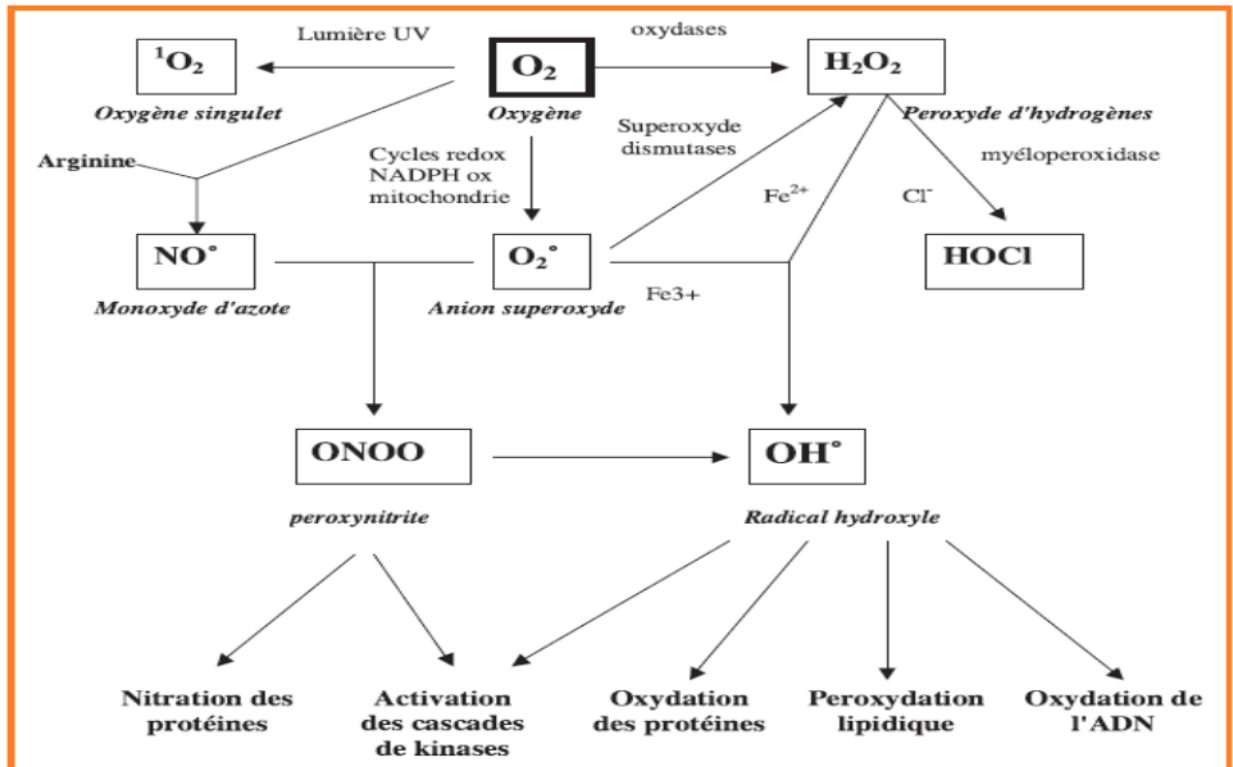


Figure N° 17: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

2-1- les radicaux libres primaires (ROS)

L'oxygène possède deux électrons radicalaires non appariés sur sa couche externe. Cette molécule est essentielle au bon fonctionnement de l'organisme.

2-1-1- Radical superoxyde (O_2^-) :

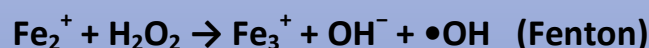
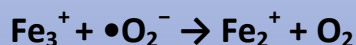
C'est le type le moins réactif des ROS et le radical le plus généralement produit dans l'organisme, il est chargé négativement (Dacosta, 2003; Vansant, 2004) et produit par la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire. Cette réaction catalysée par le NADPH oxydase membranaire (Iaraba, Serrat et Ouassa, 2016). Dans des conditions physiologiques et physiopathologiques, l' O_2^- peut aussi être formé dans certains organites (Wolin, 2009) et régulé par des enzymes comme les superoxyde dismutase qui catalysent sa dismutation.



2 -1-2- Radicaux libres hydroxyles : OH•

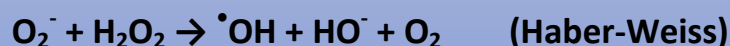
C'est le radical le plus résistant et le plus réactif, il est fabriqué par des enzymes spécifiques situés au niveau du peroxydosome nommé oxydases.

Parmi Les principales voies menant à la formation, on peut mentionner celle qui contient les métaux de transition.



Réaction de fenton

Le H₂O₂ peut également réagir avec le radical superoxyde pour former le HO par un mécanisme réactionnel appelé réaction de haber et weiss (sorge, 2004).

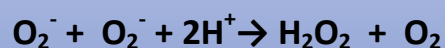


Réaction de haber-weiss (pelletier et *al.*, 2004).

Le HO⁻ est capable de réagir avec la plupart des molécules biologiques comme l'ADN, les protéines, les sucres et les lipides membranaires.

2-1 -3- Le peroxyde d'hydrogène: H₂O₂

Le peroxyde d'hydrogène n'est pas un radical libre, il provient de la dismutation d'O₂ par le superoxyde dismutase:



Le H_2O_2 est capable d'engendrer des radicaux libres carrément réactifs en présence de métaux lourds (Fer et Cuivre) et donner le HO (Réaction fenton) (Figure 18).

Le peroxyde d'hydrogène a la capacité de traverser les membranes des cellules et des organites cellulaires.

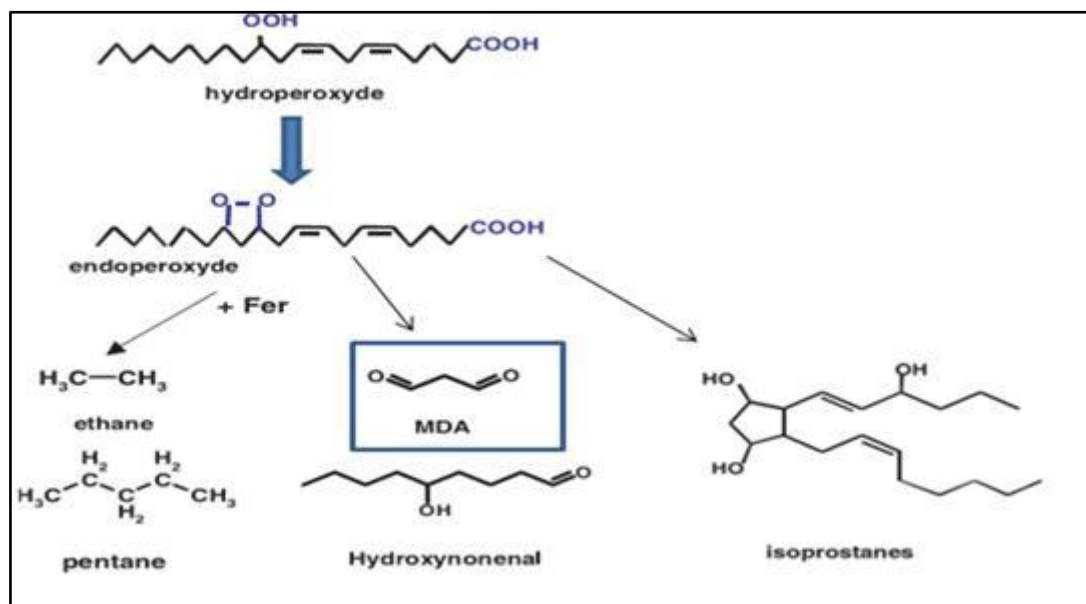


Figure N°18 : la production des radicaux libres à partir de H_2O_2 (Bonnefont-Rousselot et *al.*, 2003).

2-1-4- L'oxygène singulet (O_2)

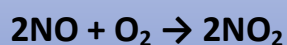
Il a la même structure électronique d'oxygène mais il est arrangé et les électrons de la couche externe sont appariés (Delattre et Bonnefont, 2005). Il possède un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène.

2-1-5 Monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote (ou oxyde nitrique) est un radical libre synthétisé dans les cellules endothéliales à partir de l'arginine et l' O_2 en présence de l'enzyme nitrique oxyde synthétase selon la réaction suivante :

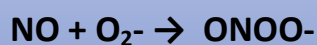


Le monoxyde d'azote est un radical qui peut naturellement réagir avec la plupart des espèces oxygénées et se transformer en dioxyde d'azote (NO₂):



2-1-6 - Peroxynitrie (ONOO⁻)

Il est formé par la combinaison de monoxyde d'azote avec l'anion superoxyde selon la réaction de Kochlin Ramontox :



2-2 -Les espèces libres secondaires

Ce sont des espèces libres non oxygénées produites par les réactions de certaines molécules avec les ROS. Par exemple, les acides gras peroxydés sont les résultats de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques.

Les fractions protéiques, les acides aminés et les acides nucléiques peuvent aussi réagir avec les ROS générant des molécules réactives et nocives.

2-2-1-Radicaux alkyles R et peroxy ROO :

Les radicaux peroxy sont des radicaux originaires de l'ajoute de l'oxygène sur les radicaux assemblés sur le carbone R (Iaraba, Serrat et Ouassa, 2016).



2-3- Origines des espèces réactives de l'oxygène

Les radicaux libres peuvent être d'origine endogène par le détour de différents mécanismes physiologiques dans l'organisme, mais aussi d'origine exogène provoqués par d'autres sources chimique et physique (Figure 19, Tableau 5).

Tableau N° 5 : les principales sources des radicaux libres.

Les sources	localisation
<p>Endogènes (Adoui, Fartas et Mechri ; 2016)</p>	<p style="text-align: center;">A- Chaîne respiratoire</p> <p>la mitochondrie est un organe intracellulaire qui est responsable de la production d'énergie, elle est considérée comme une source principale des radicaux libres.</p> <p style="text-align: center;">B – la réaction immunitaire :</p> <p>Les cellules phagocytaires activées assurent l'activation du complexe NADPH oxydase. cette enzyme utilise l'oxygène pour produire de grandes quantités de super oxyde au niveau de la membrane cellulaire.</p> <p style="text-align: center;">C – peroxyosome :</p> <p>Le peroxyosome joue un rôle essentiel dans la production cellulaire de H₂O₂ par ce que cet organe contient plusieurs enzymes produisent du H₂O₂.</p> <p style="text-align: center;">D- les microsomes :</p> <p>L'auto oxydation du cytochrome p450 et l'oxydation du NADPH par le NADPH déshydrogénase sont les deux principales sources de production d'O₂.</p> <p style="text-align: center;">E – le cytosol :</p> <p>Il ya deux enzymes situés au niveau du cytosol impliqués dans la création des radicaux libres :</p> <p style="text-align: center;">1- La xanthine oxydase :</p> <p style="text-align: center;">Est une enzyme soluble réduisant l'hypoxantine en xantine.</p> <p style="text-align: center;">2- La NO synthase :</p> <p>Beaucoup de cellules capables de produire du monoxyde d'azote à partir d'O₂ et l'arginine (Figure 19).</p>

Exogènes (Adoui, Fartas et Mechri ; 2016)	<p>1- Les rayonnements UV :</p> <p>L'irradiation peut décomposer l'acide nucléique.</p> <p>2- Certains médicaments :</p> <p>Un certain nombre de médicaments, particulièrement l'adriamycine, la bléomycine, et des toxiques forment une source renouvelable des radicaux libres par des phénomènes de recyclage.</p> <p>3 – Fumé du tabac</p> <p>Dans les poumons la fumée de cigarette peut libérer H₂O₂ qui peut se distribuer dans les noyaux des cellules et réagir avec le fer pour produire le OH.</p>
--	--

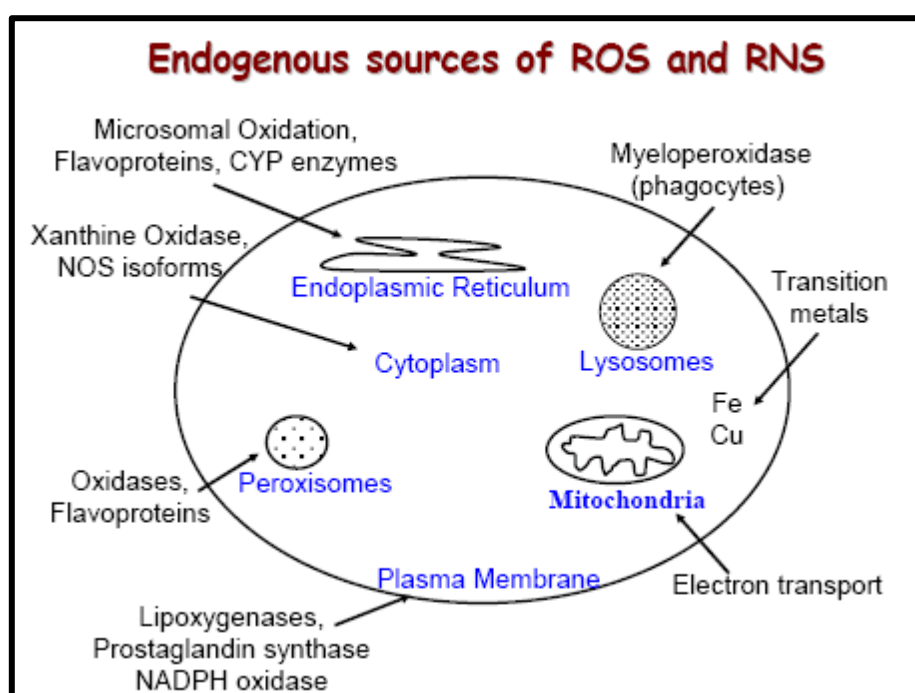


Figure N°19 : Sources endogènes des espèces réactives (Adoui et *al.*, 2016).

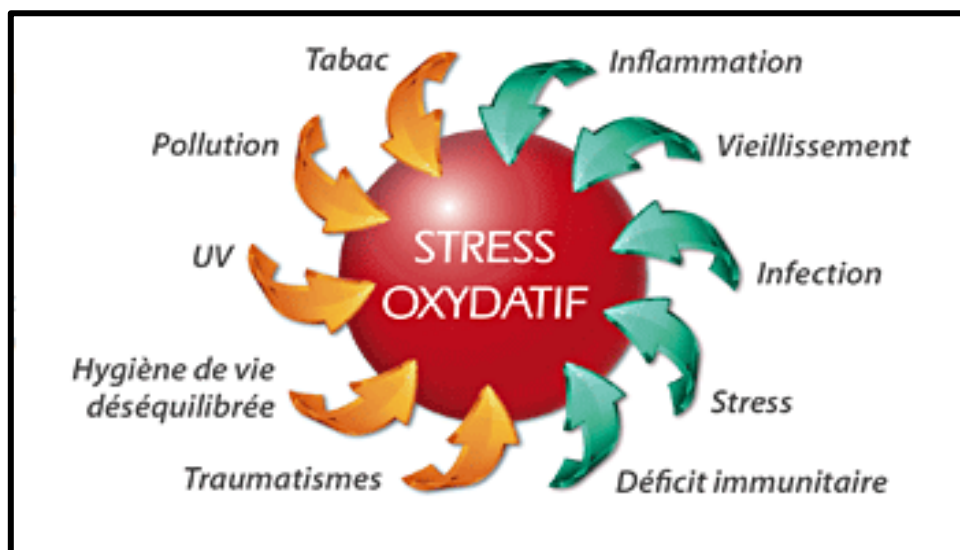


Figure N°20: les sources exogènes des radicaux libres (sekli, 2012).

2-4- Le devenir des radicaux libres

Les radicaux libres sont responsables d'endommager toutes les molécules biologiques comme les lipides, les protéines, les acides nucléiques, ou les hydrates de carbone (Favier, 2003).

2-4-1- Sur l'ADN

Les radicaux libres peuvent agir en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins (Shimizu H., 2004).

2-4-2- Sur les lipides

Les radicaux libres peuvent attaquer les lipides et notamment les acides gras mono- et polyinsaturés (AGPI), les phospholipides membranaires comme l'acide linoléique ou arachidonique (Pincemail, 1999). Ce phénomène appelé peroxydation lipidique qui résulte de l'arrachement d'un hydrogène sur les carbones situés entre les deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, qui sera oxydé en radical peroxyde.

Le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué (Esterbauer et al., 1992).

La Lipo-péroxydation aboutissant à la formation de LDL oxydés qui sont captés par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome (maladies cardiovasculaires). L'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003) (Figure 21).

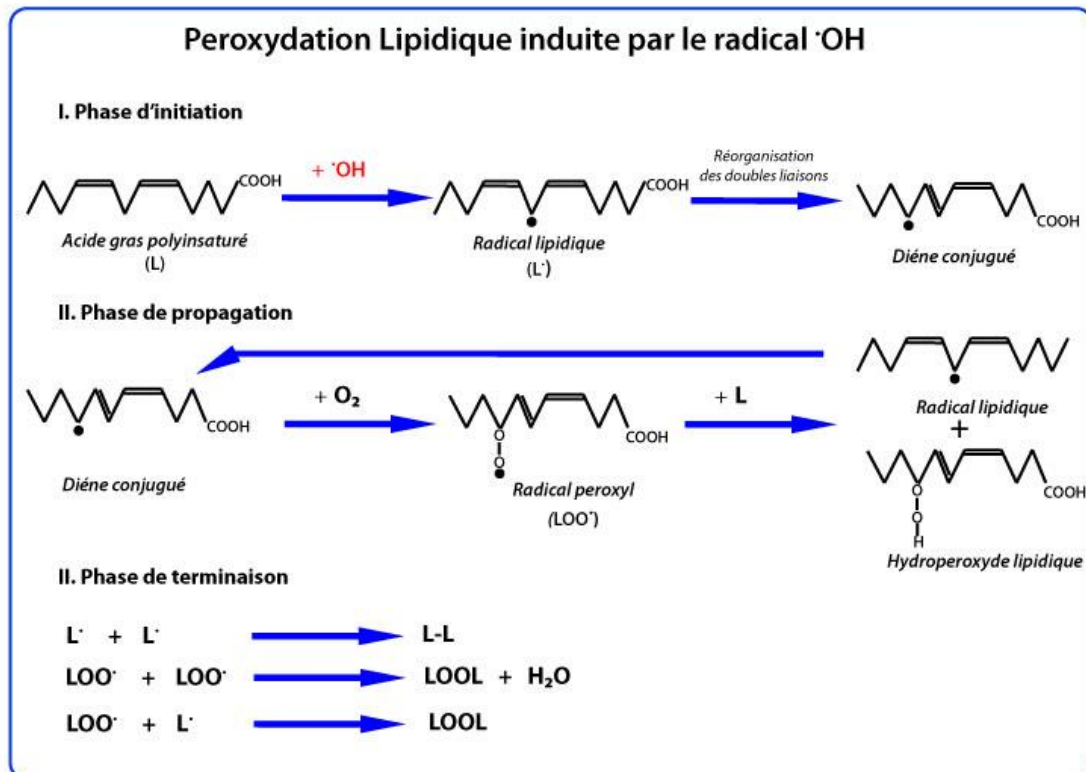


Figure N°21: les phases de peroxydation lipidique induites par le radical OH (favier , 2003).

2-4-3- Sur les protéines

Les radicaux libres peuvent aussi agir sur les macromolécules en provoquant des inactivations enzymatiques, des fragmentations de ces molécules (collagène, protéoglycannes, acide hyaluronique) ainsi que la formation de dimères (Figure 22) ou d'agrégats protéïniques dans les membranes cytoplasmiques (Shimizu H., 2004).

Le radical HO réagit avec différents acides aminés des chaines de protéines, particulièrement les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine, ou celui ayant un noyau imidazole, l'histidine. Après la liaison, le radical HO \cdot provoque un changement de conformation de la molécule de protéine (Pasquier, 1995).

Effet sur les protéines

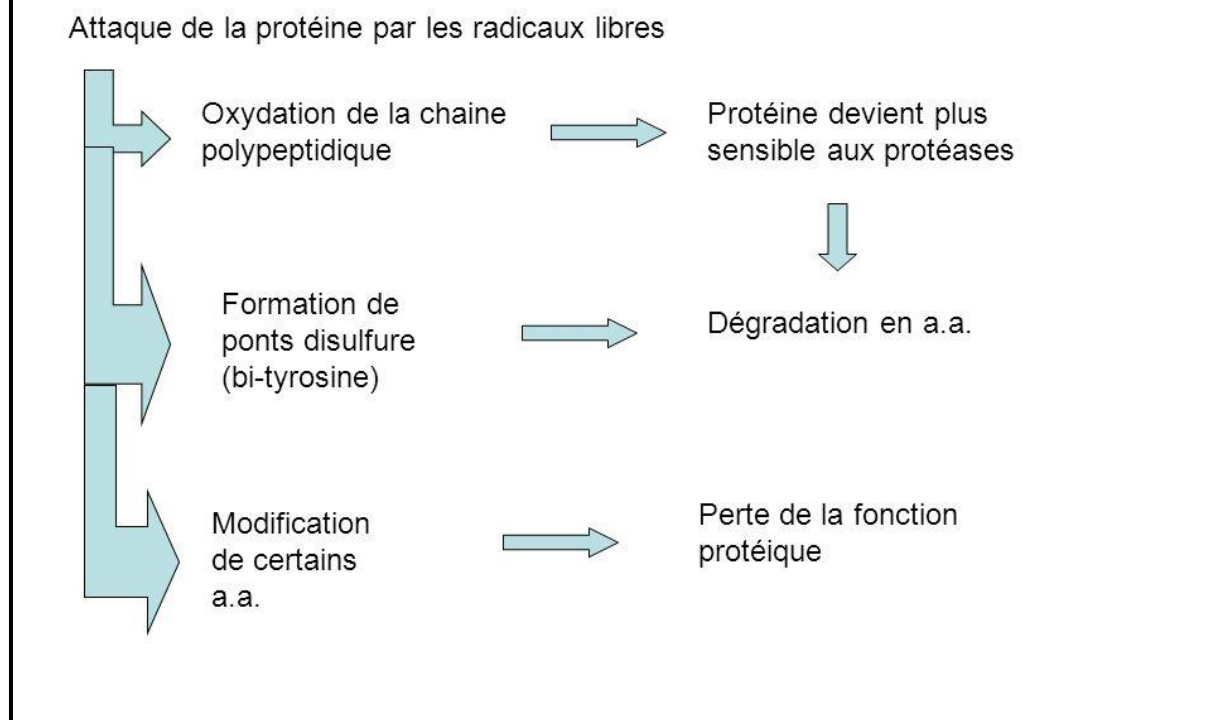


Figure N° 22 : effet des radicaux libres sur les protéines (slide player.fr).

2-4-4 -sur les glucides :

Les radicaux libres peuvent aussi agir sur le glucose et générer des intermédiaires réactifs. Les dommages oxydatifs peuvent alors se propager via l'attaque des radicaux formés sur d'autres molécules.

3 - Les antioxydants :

3-1- Généralités

Pour protéger le corps contre les radicaux libres, l'organisme dispose un complexe de défense antioxydants. On distingue deux sources d'antioxydants: l'une exogène est apportée par l'alimentation (vitamines, caroténoïdes ...) et l'autre endogène se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase...) (Figure 23).

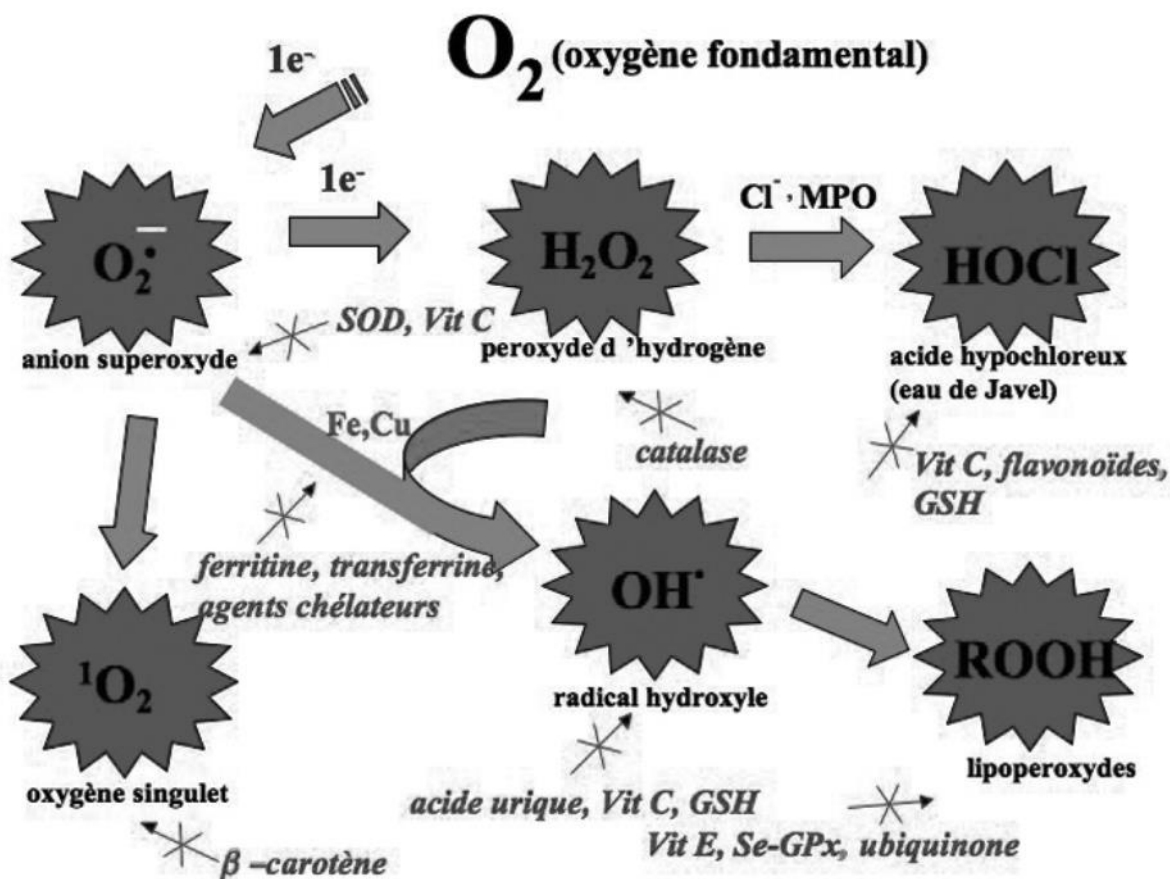


Figure N° 23 : les différentes espèces oxygénées actives et les antioxydants régulateurs de leur production (milbury et richer, 2008).

3-2- Définitions

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation pour former un composé stable (ShimizuH, 2004).

3-3- Classification des antioxydants

3-3-1 -Les antioxydants endogènes

La défense de la cellule est assurée par des enzymes antioxydants qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (harrar abd el nacer , 2012).

3-3- 1- 1- Super oxyde dismutase (SOD) :

Est une enzyme qui permet l'élimination de l'anion superoxyde par une réaction de dissimulation, elle produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène.

La SOD existe sous trois iso formes : une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions de cuivre et zinc, une forme mitochondriale associée au manganèse et une forme extracellulaire (Arab Naziha ,2013).

3-3-1-2- La catalase

La catalase permet de transformer deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composés stables. Cette enzyme est localisée dans le foie et les globules rouges.

3-3-1-3- La glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase est une enzyme utilisée non seulement pour détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydro peroxydes. C'est un produit de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras (ganther, 1999).

La glutathion peroxydase se trouve dans le cytoplasme et dans les mitochondries.

En présence de deux molécules de glutathion sous forme réduites, la glutathion peroxydase catalyse la transformation de peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau (Figure 24).

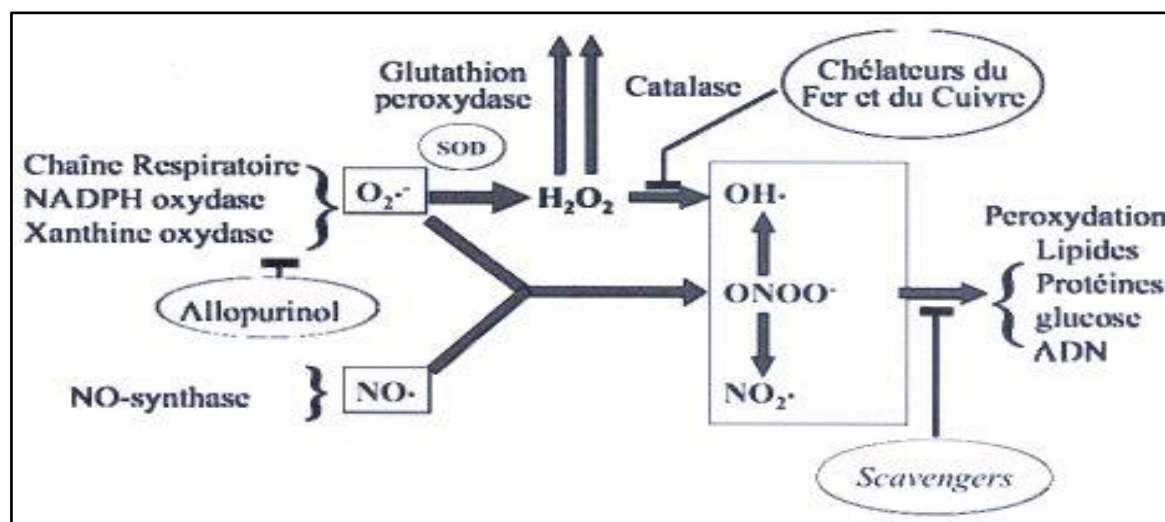


Figure N° 24 : les différents antioxydants endogènes (favier, 2003).

3-3-2 -Les antioxydants exogènes

Ils incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ... etc (kohen et nuska, 2002).

3-3-2-1- Les médicaments

A- la probucol (lurselle)

Probucol est un médicament agissant comme antioxydant en éliminant l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) (Bossokpi, 2002).

B- B-N-acétylcysteine

N-acétylcystéine est une molécule qui introduit les cellules et agit de manière très efficace dans la régénération du glutathion (bossokpi, 2002).

3-3-2-2- Les antioxydants naturels

Les antioxydants naturels sont présents environ dans toutes les plantes, tous les microorganismes, les champignons et même dans les tissus des animaux (pelli et lyly, 2003).

- Les vitamines

A- La vitamine E

La vitamine E ou α -tocophérol, est un antioxydant liposoluble, elle capte les radicaux peroxydes lipidique RO_2 . La partie active de la molécule étant la fonction phénol réductrice. Celle-ci perd facilement un atome d'hydrogène et se transforme en radical α -tocophéryle, ce radical capte les radicaux superoxydes, les radicaux hydroxyles et l'oxygène singulet (Figure 25).

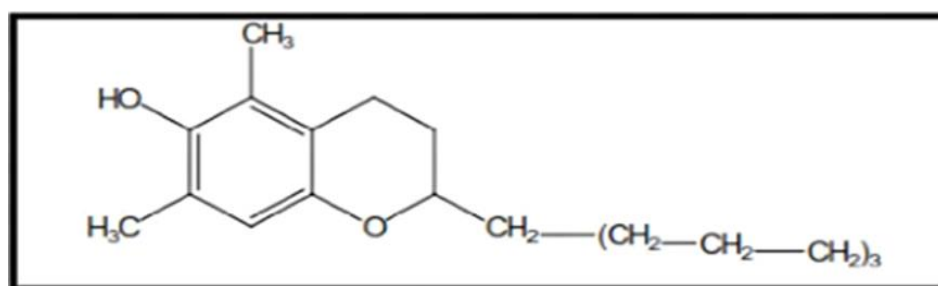


Figure N°25 : Structure de la vitamine E (Diarra, 2006).

B- La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble. l'ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisque il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles mais aussi avec les radicaux syperoxydes O_2 (diallo, 2005).

- **Les polyphénols**

Les composés phénoliques sont capables d'agir et contrôler les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène.

Les groupes hydroxyles des polyphénols sont des donateurs d'atomes d'hydrogène ; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote (boubekri, 2014).

- **Les caroténoïdes**

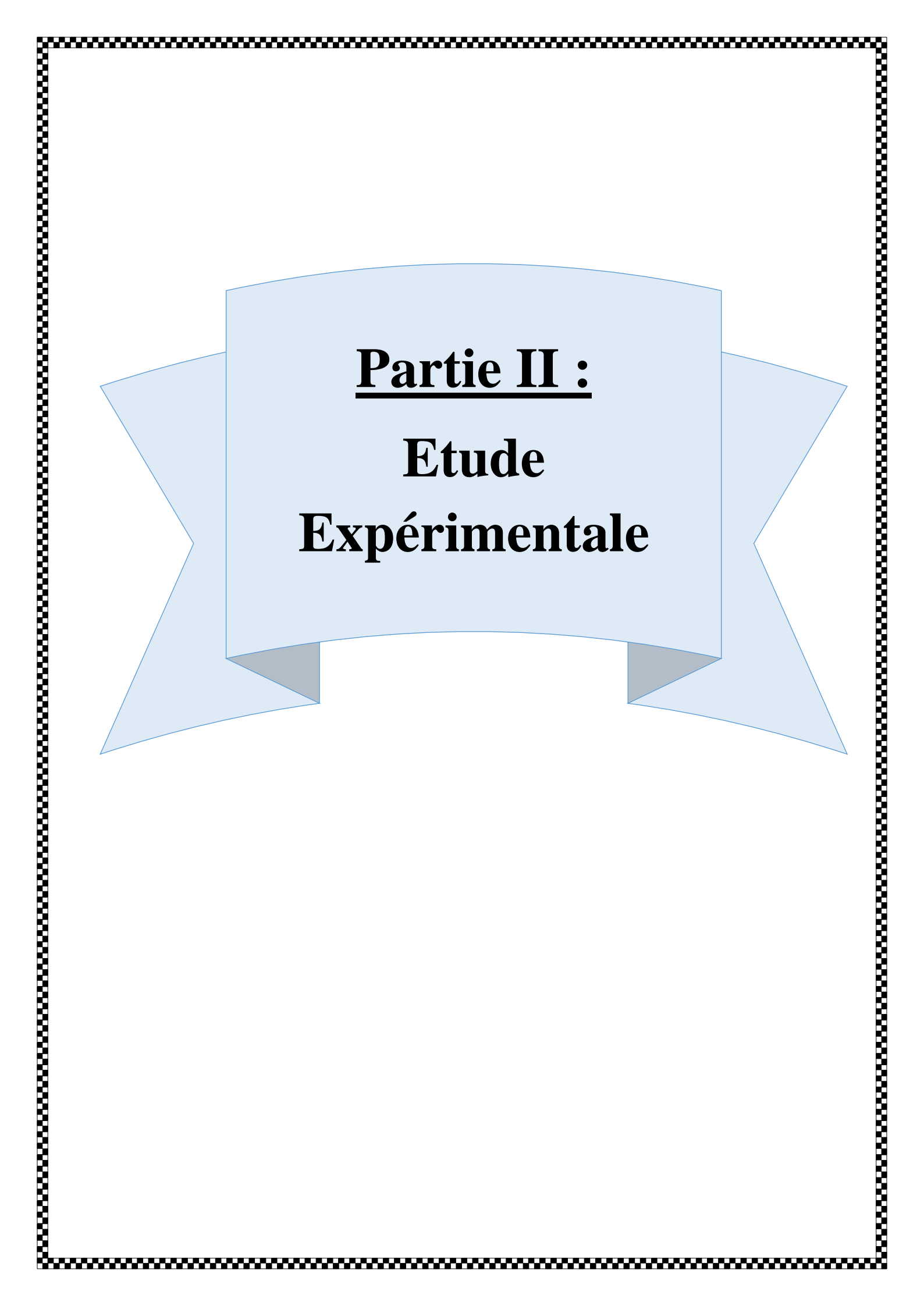
Les caroténoïdes peuvent agir comme des antioxydants par différents mécanismes. Les plus importants sont :

- ✓ Le blocage des chaînes de réaction radicalaire.
- ✓ Ils proviennent de l'initiation des réactions radicalaires en neutralisant l'oxygène singulet. Tous les caroténoïdes non pas la même action pour désactivé l'oxygène singulet (bouhadjra, 2011).

3-4- Mécanismes d'action des antioxydants

Le mécanisme d'activité antioxydante inclue :

- Le piégeage direct des EOR, l'inhibition des enzymes impliqués dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsable de la production des EOR.
- Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action : élimination des radicaux libres chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'O₂ dans des systèmes fermés (kebbab ryma ,2014).



Partie II :
Etude
Expérimentale

Chapitre 1 :

Matériels et Méthodes

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

1- Matériels

1-1- Matériel végétale

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond à des graines et leur gousse de l'espèce *ceratonia siliqua* récoltées en février 2017 dans la région de Jijel.

1-2 -matériel microbien

Les trois souches microbiennes qui ont été utilisées dans cette expérimentation, proviennent du laboratoire de microbiologie de l'université des frères Mentouri de Constantine.

Les souches sont : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*.

2- Méthodes

1- Préparation des extraits

Après récupération de la plante, les graines et les gousses sont lavées puis séchées à l'air libre. Ensuite elles sont broyées (Figure 26) à l'aide d'un broyeur électrique selon la méthode de Bougandoura et Bendimerad en 2012.

La méthode d'extraction que nous avons utilisée est la macération successive par deux solvants de polarité croissante. L'éther de pétrole pour éliminer la chlorophylle ainsi que les substances lipophiles et le deuxième solvant est le méthanol qui extrait les composés polaires.



Figure N° 26: les graines et les gousses de *ceratonia siliqua* après broyage.

➤ Protocole d'extraction

250 g de poudre (graines et gousses) ont été extraits avec 750ml d'éther de pétrole et placés sous agitation mécanique pendant 24 heures à température ambiante. Après filtration, le

résidu de l'extraction précédente a été repris par 750ml de *méthanol/eau* et laissé sous agitation pendant 24 heures dans les mêmes conditions (Figure 27).

Chaque étape d'extraction est refaite trois fois avec renouvellement du solvant.

A la fin de l'extraction, les extraits organiques (EEp, EMet) ont été concentrés sous vide au rotavapor (BÜCHI) aux températures 37 C° et 40C° respectivement. Après concentration, ces extraits sont séchés à l'air libre (Figure 28).

Les extraits réalisés sont ensuite stockés à température -4°C, à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation (Madi, 2010).



Figure N° 27 : Les graines et les gousses filtrées par pompe sous vide

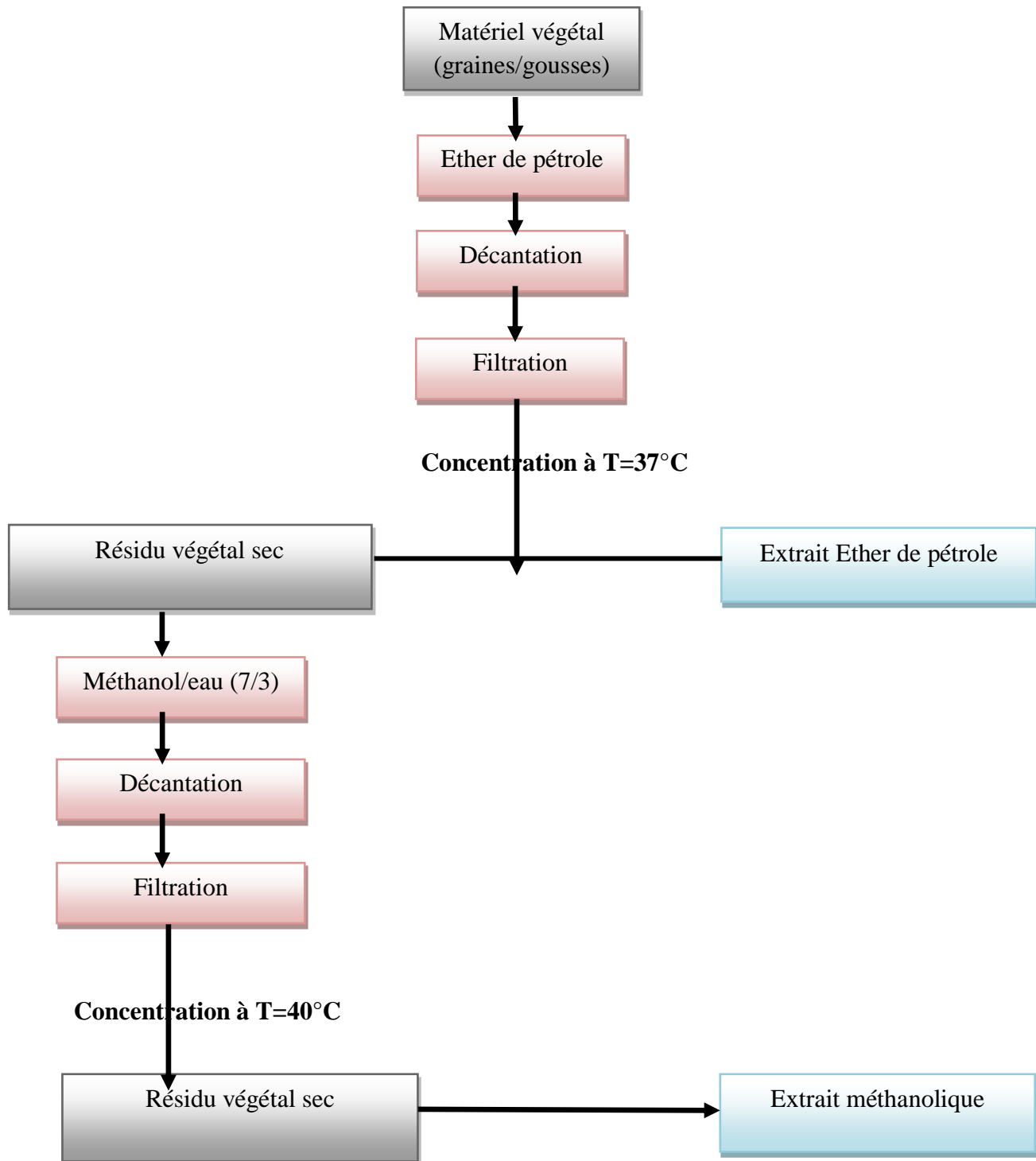


Figure N°28 : Schéma d'extraction par les solvants organiques

2 - Criblage « screening » phytochimique

Ce terme screening, correspond à une technique de « criblage » c'est-à-dire la recherche systématique des produits naturels

L'analyse phytochimique est réalisée sur la base des tests de coloration caractéristiques en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques. A cet effet, plusieurs types de réactifs ont été utilisés (Harborne, 1973).

2-1 - Test des quinones libres

Un gramme de matériel végétal sec finement broyé est placé dans un tube avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 h, l'extrait est filtré et concentré au rotavapor. La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/10, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (Dahou et *al.*, 2003).

2-2- Test des tanins

Pour détecter la présence des tanins, on ajoute à chaque extrait quelques gouttes de FeCl₃ (Chlorure ferrique) à 1%. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés) (Diallo et *al.*, 2004).

2-3- Test des saponines

Test de la mousse : l'extrait est repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduit dans un tube à essai. Le tube est agité vigoureusement, la formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable et persistante pendant 15min, indique la présence des saponines (Vigor et *al.*, 2011).

2-4 - Test des flavonoïdes

Un mélange de quelques copeaux de Mg⁺² et de gouttes d'HCl concentré, placé dans un tube, est ajouté à 2ml d'extrait. L'apparition d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre indique une réaction positive (Ciulel, 1982).

2-6- Test des stérols ou triterpènes

La mise en évidence des triterpènes est réalisée selon la technique de Koffi et *al.*, 2009. L'extrait de l'éther de pétrole est dilué dans 2ml d'anhydride acétique. L'ajout de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré permet l'apparition d'une coloration violette qui indique la présence de triterpènes, ou une coloration verte qui indique la présence de stérols.

2-6 - Test des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont également mis en évidence par le réactif de Mayer (10 g de KI et 2,70 g de HgCl₂ dissous dans 20 ml d'eau). L'ajout de quelques gouttes de ce réactif à 2 ml de la solution d'extrait entraîne la formation d'un précipité blanc ou blanc-jaune en présence d'alcaloïde.

2-7- Composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 1ml de l'extrait avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (Trease et Evans, 1978 ; Yamini K et *al.*, 2011).

3- Caractérisation quantitative des extraits

3-1- Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de Folin-Ciocalteu)

Le dosage des polyphénols totaux, par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, a été décrit en 1965 par Singleton et Rossi. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau, 1968).

La teneur des polyphénols a été déterminée par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué en 2007 par Li et ses collaborateurs.

200 μ l de l'extrait (EG/ EGr) dilué est mélangé avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans de l'eau distillée. Après 4 minutes, 800 μ l de carbonate de sodium à concentration 7,5% sont ajoutés, puis le volume est ajusté à 3 ml avec l'eau distillée (Figure 29). Après une incubation du mélange réactionnel pendant 2 heures à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 765 nm. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (0 - 1 μ g /ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par grammes du poids d'extrait (mg EMG/ g Ex).

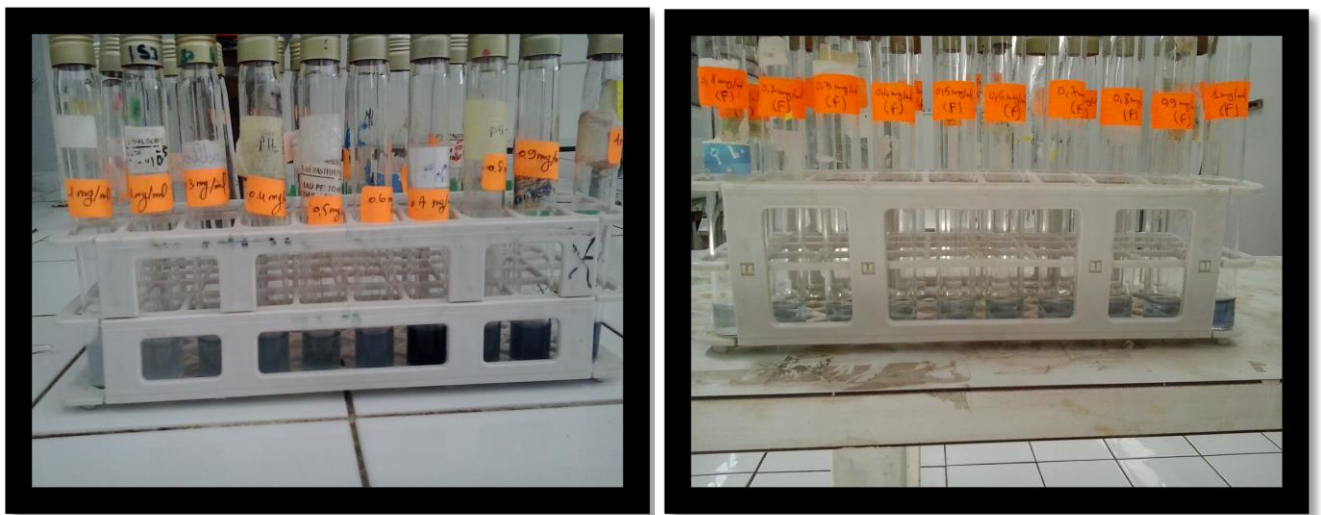


Figure N° 29 : dosage des polyphénols des graines et gousses de caroubier.

3-2 Dosage des Flavonoïdes

La détermination de la teneur en flavonoïdes de l'extraits de *Ceratonia siliqua* est effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (Djeridane et al., 2006 ; Bahorum, 1997). 1ml d'extrait (EG / EGr) a été ajouté à 1ml d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol). Après 10min d'incubation à 37°C et à l'obscurité, l'absorbance est lue à 430nm.

La concentration des flavonoïdes dans l'extrait a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage $y = ax + b$ établie avec la Quercétine à différentes concentrations (0-1µg/ml, chacune a été préparée dans le méthanol) pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que l'extrait (Figure 30).

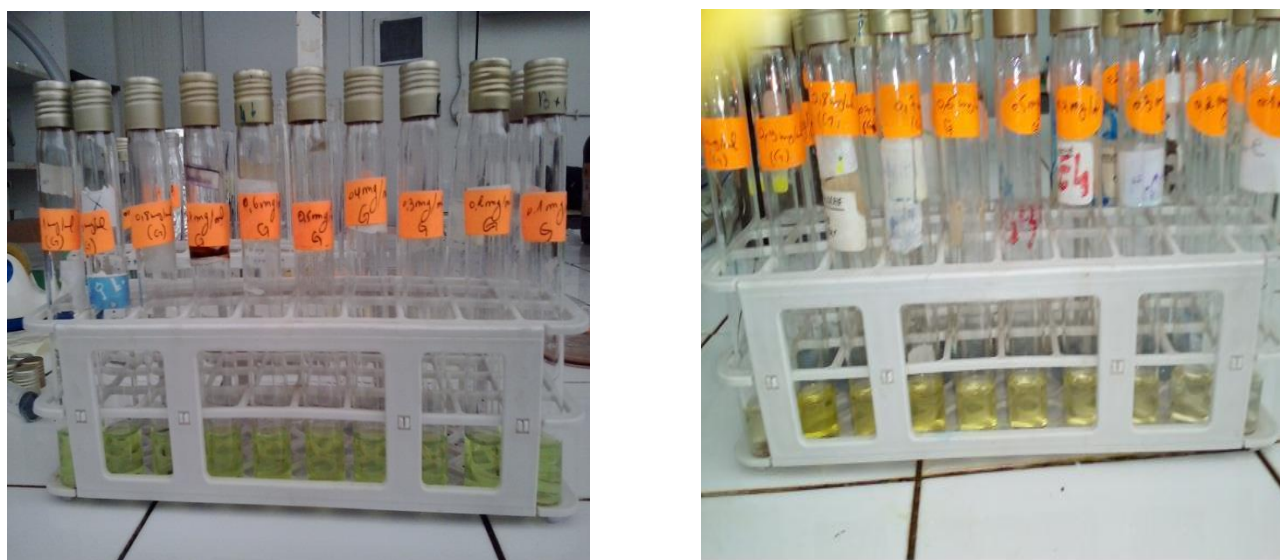


Figure N°30: dosage des flavonoïdes des graines et gousses.

La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g Ex).

4- Les activités biologiques in vitro

4-1- Le pouvoir réducteur(PR)

La méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe^{2+} , la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) à la couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.

Le protocole expérimental utilisé est celui de Yildirim et al., 2001 où 1 ml de l'extrait à différentes concentrations, est mélangé avec 2 ml d'une solution tampon phosphate à 0.2 M (pH= 6.6) et 2 ml d'une solution de ferricyanure de

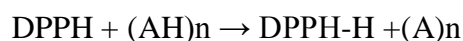
potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Le tout est incubé à $50^\circ C$ pendant 20 min, puis refroidi à température ambiante. 2 ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. 2 ml du surnageant sont ajoutés à 2,5 ml d'eau distillée et 2ml d'une solution de chlorure de fer ($FeCl_3, 6H_2O$) à 0.1% (figure 31). La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.



Figure N°31 : dosage du pouvoir réducteur des graines et gousses.

4-2 - Evaluation de l'activité antioxydant par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH)

Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH) est un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez-Moreno, 2002). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où $(AH)_n$ représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Un volume de $100\mu l$ de chaque extrait (avec dilution convenable) est incubé (30min) avec 2ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,1mM). Les absorbances à 517 nm ont été enregistrées (Figure 32). Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'Acide Ascorbique pris comme un antioxydant standard. L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti radicalaire} = [(Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ échantillon}) / Abs \text{ contrôle}] \times 100.$$



Figure N° 32 : dosage de DPPH des graines et gousses du caroubier

5- L'activité anti bactérienne

5-1 Méthode de diffusion (Antibiogramme)

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de *Ceratonia siliqua*, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant les disques stériles en cellulose, appelée antibiogramme (Berghe et Vlietinck., 1991).

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

Ce travail est effectué au laboratoire de microbiologie université des frères Mentouri Constantine.

Les souches bactériennes choisies sont: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*.

5-2 Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton (M.H) préparé comme suit :

Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

5-3- Stérilisation du matériel

L'eau distillée, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

5-4- Préparation des dilutions d'extraits de *Ceratonia siliqua*

Les extraits de *ceratonia siliqua* ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 5mg/ml.

5-5 – Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes misent en culture dans le bouillant nutritif et incubées à 37°C pendant 48h. Leur opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

5-6- Ensemencement et dépôt des disques

1ml de chaque suspension de culture bactérienne est étalé à la surface du milieu gélosé M.H à l'aide d'un râteau. Les disques imprégnés des extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant les témoins positifs (Ac Ascorbique et la Quercétine) ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés et les disques imprégnés de DMSO (témoin négatif).

Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

L'expérience est répétée trois fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne.

5-6 Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques à l'aide d'un pied à coulisse.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (Ponce et *al.* 2003).

Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm

Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.

Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm

Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm

Chapitre 2 :

Résultats

et

Discussions

Chapitre 2 : Résultats et discussions

- Les étapes d'obtention des deux extraits secs de *Ceratonia siliqua* (graines et gousses) :

Les graines :

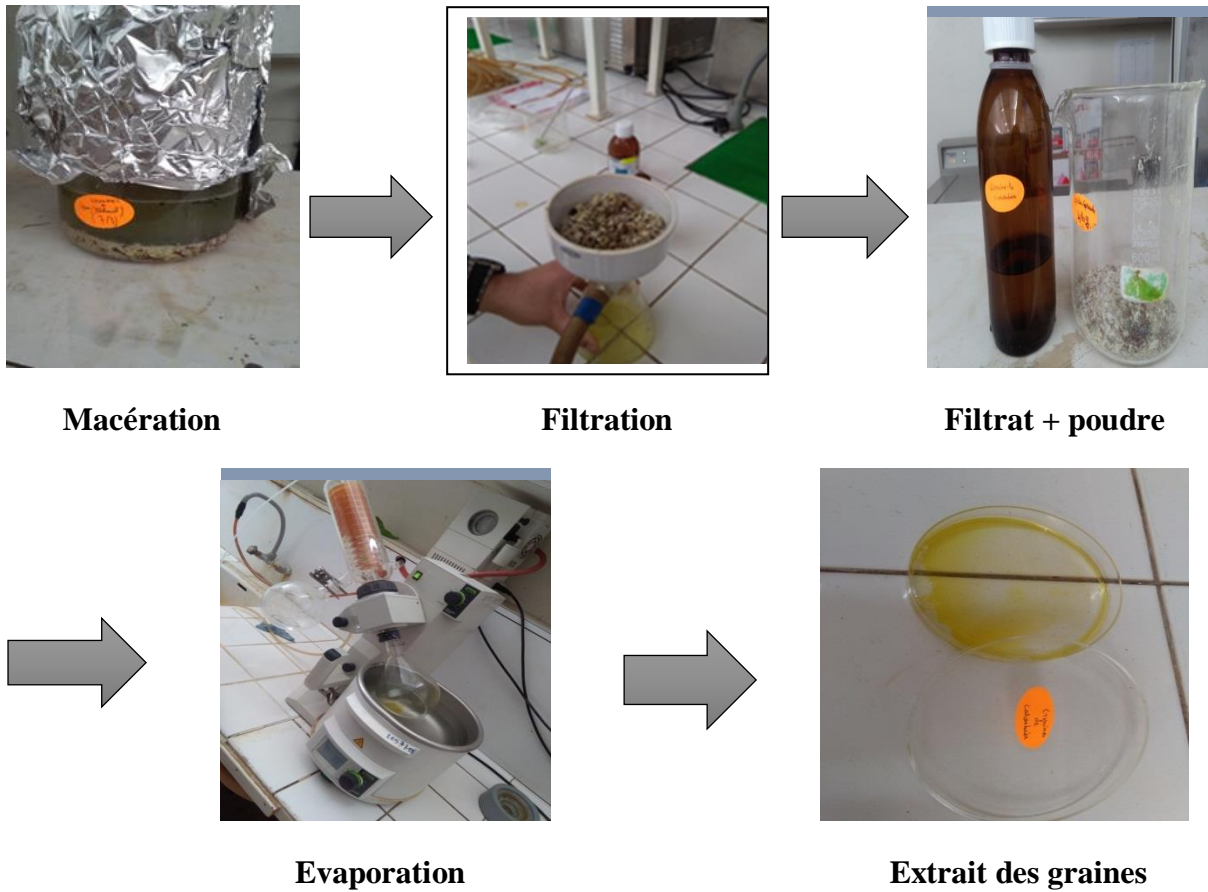
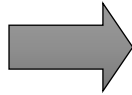


Figure N°33: Les principales étapes pour l'obtention d'extrait sec des graines de *Ceratonia siliqua*.

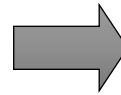
Les gousses :



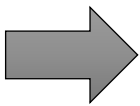
Macération



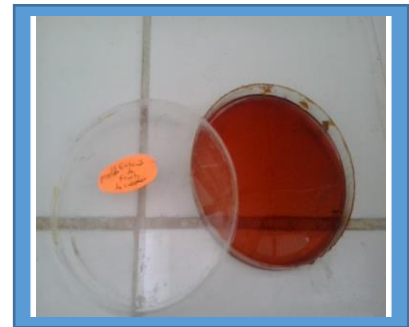
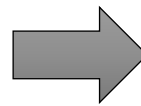
Filtration



Filtrat +poudre



Evaporation



Extrait des gousses

Figure N°34 : Les principales étapes pour l'obtention d'extrait sec des Gousses de *Ceratonia siliqua*

• Criblage phytochimique :

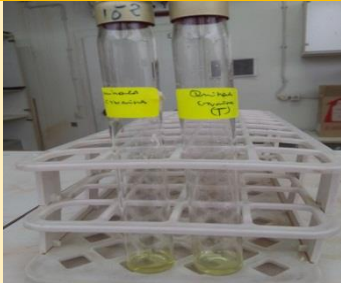



L'analyse phytochimique réalisée a permis de remarquer la présence des grands groupes chimiques : flavonoïdes, terpenoïdes, saponosides, tannins et alcaloïdes dans les deux extraits de *Ceratonia siliqua*.


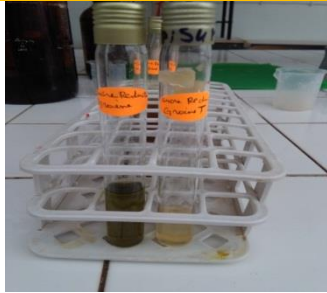

Selon leur intensité de couleur, les réactions qui se produisent sont classées de : négative (-) jusqu'à franchement positive (+++). Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques.

Les tableaux ci-dessous représentent les différents tests de caractérisation de quelques métabolites secondaires dans les graines et gousses de caroubier :

1- Graines :

Tableau N°6 : Résultats du criblage phytochimique des graines de *Ceratonia Siliqua*


Le composé chimique	Présence/Absence dans l'extrait	Résultat par rapport au témoin
Quinones libres	--	
Tanins catechiques	+++	
Saponines	+	
Stérols, triterpènes	++	

Flavonoïdes	+++	
Sucre réducteur	--	
alcaloïdes	+++	

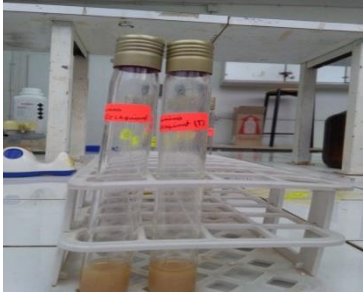
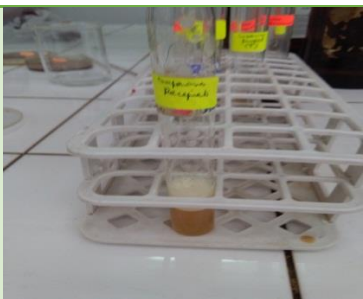
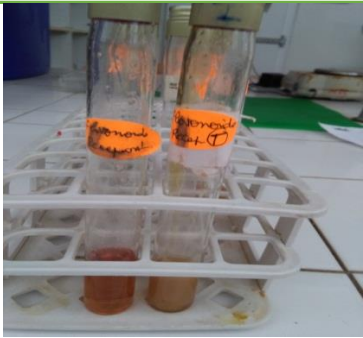


(+) : présence, (++) : présence considérable, (+++) : abondance, (-) : absence.


2- Gousses :

TableauN°7 : Résultats du criblage phytochimique des gousses de *Ceratonia Siliqua*.

Le composé chimique	Présence/Absence dans l'extrait	Résultat par rapport au témoin
Quinones libres	---	

Chapitre 2 : Résultats et discussions

Tanins galliques	+++	
Saponines	+++	
Flavonoïdes	+++	
Sucres réducteurs	+++	
alcaloïdes	+++	

Stérol et poly terpènes	+ +	
--------------------------------	-----	--

(+) : présence (++) : présence considérable (+++) : abondance (-) : absence

Les deux tableaux montrent que les graines et gousses de *Ceratonia Siliqua* renferment des flavonoïdes, stérols, polytèrpenes, saponines et alcaloïdes.

Notre plante est dépourvue de quinones libres.

Les essais phytochimiques effectués sur les deux extraits du *ceratonia siliqua* ont révélé : La présence des flavonoïdes en grande quantité dans les deux extraits de *ceratonia siliqua*, notre résultats concorde avec les résultats des travaux effectués par (Kumazawa et al., 2002) sur la richesse de caroubier en flavonoïdes.

L'existence des saponines, stérols, polyterpènes et alcaloïdes est confirmé par l'observation d'une mousse persistant pour les saponines, la formation d'un anneau violet pour les stérols et une précipitation jaune pour les alcaloïdes respectivement. Ceci concorde avec les résultats obtenus dans notre travail.

L'apparition de la couleur bleu verdâtre (test de FeCl_3) reflète la présence des tanins catéchiques dans l'extrait des graines et la couleur bleu noire très foncée indique la présence des tannins gallique dans l'extrait des gousses.

L'extrait des gousses est très riche en sucres réducteurs, cette richesse est détectée par l'apparition d'un complexe rouge brique au niveau de l'extrait testé, par contre les graines ne contiennent pas ce type de métabolite.

2- Caractérisation quantitative des extraits de la plante

2-1- Teneur des extraits en polyphénols

La teneur en phénols totaux est estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu.

Afin de caractériser l'extrait préparé à partir des graines et gousses de *ceratonia siliqua*, la quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisée par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations (Figure 35).

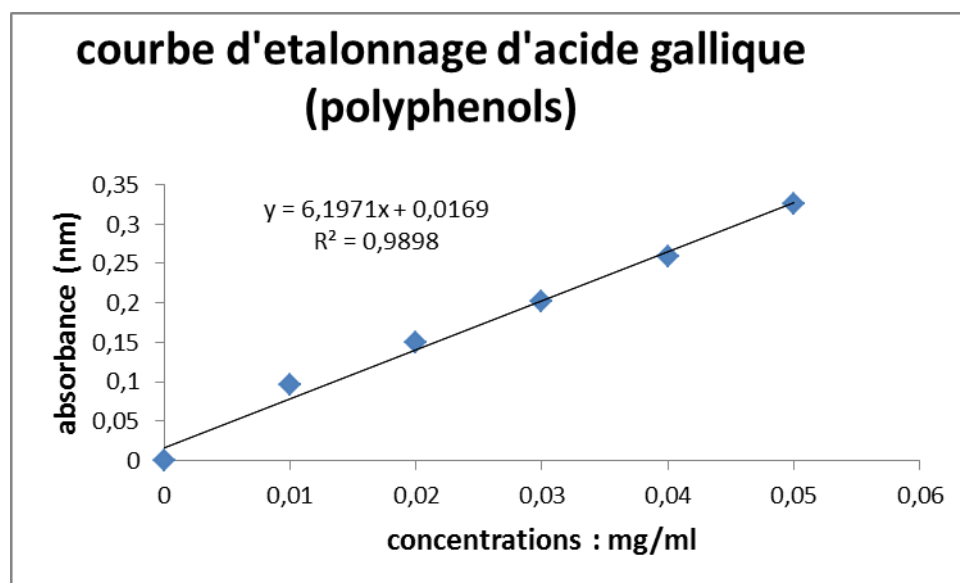


Figure N°35: droite d'étalonnage d'acide gallique

La quantité des polyphénols correspondante à l'extrait étudié a été rapportée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg AG/g Extrait).

Les deux tableaux ci-dessous représentent la teneur en polyphénols totaux dans les extraits des gousses et graines de caroubier :

Tableau N°8 : teneur en phénols totaux dans l'extrait méthanolique des gousses

Echantillon dosé	Teneur en polyphénols totaux (mg d'acide gallique/g d'extrait)
L'extrait méthanolique des gousses	33,73

Le résultat obtenu indique que la quantité des composés phénoliques est de 33,73 mg AG/g Ex. La teneur en polyphénols est relativement très grande dans notre extrait.

Le résultat que nous avons obtenus concorde avec les résultats trouvés par (Gaouar ; 2011),(Avallone et *al.*, 1997), (Owen et *al.*, 2003) et (Papagiannopoulos et *al.*, 2004).

Tableau N°9 : teneur en phénols totaux dans l'extrait des graines

Echantillon dosé	Teneur en polyphénols totaux (mg d'acide gallique/g d'extrait)
L'extrait méthanolique des graines	25,5

Le résultat obtenu indique que la quantité des composés phénoliques dans l'extrait des graines est de 25,5 mg AG/g Ex. La teneur en polyphénols dans l'extrait des graines est inférieure par rapport à la quantité trouvée dans les gousses.

Les travaux conduits par (Papagiannopoulos et al ; 2004), (Ayaz et al ; 2007) et (AbiAzar ; 2007) sur les graines du caroubier confirment nos résultats en indiquant que l'extrait méthanolique des gousses est le plus riche en polyphénols totaux.

Les résultats trouvés dans notre travail sont différents par rapport aux résultats trouvés par (Benkhadda et Bensalah ; 2016). Cette différence trouve probablement son explication dans la différence de méthode d'extraction utilisée.

2-2-Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est déterminé par la méthode de (Djeridane et *al.*, 2006 et Gaouar, 2011). Dans notre dosage nous avons réalisé une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation d'un standard qui est la Quercétine.

La Quercétine est considérée comme un contrôle positif, il nous a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de la plante étudiée qui est exprimée en mg équivalent de la Quercétine (EQ) par gramme d'extrait (Figure 36).

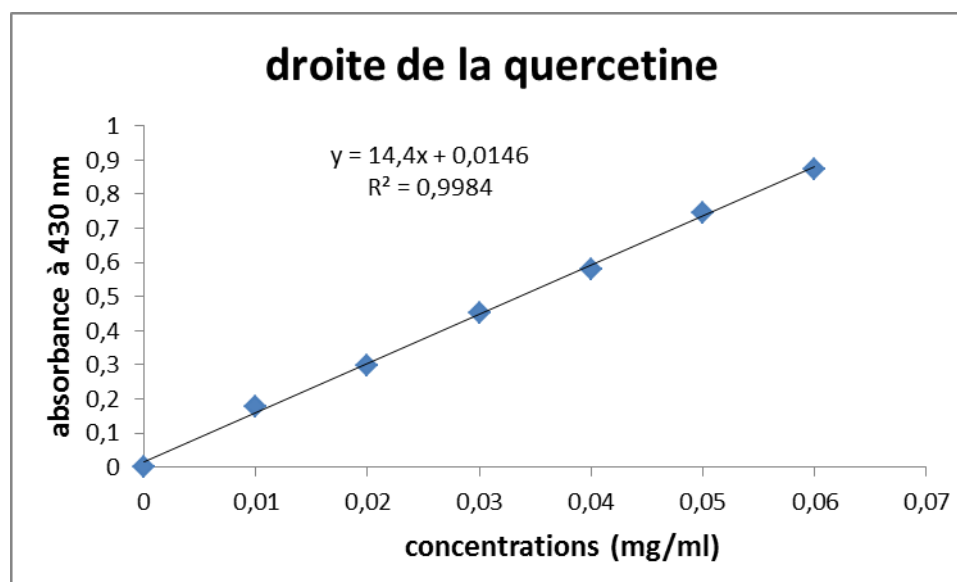


Figure N°36 : droite de la Quercétine

Le résultat de la teneur en flavonoïdes des deux extraits étudiés est présenté dans les deux tableaux suivants :

Tableau N°10 : teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des gousses.

Echantillon dosé	Teneur en flavonoïdes (mg de Quercetine/g d'extrait)
Extrait méthanolique des gousses	2,30

La teneur en flavonoïdes de l'extrait des gousses est égale à 2,30 mg EQ/g Ex. Notre extrait renferme une teneur faible en flavonoïdes.

Les résultats obtenus par Guaouar en 2011 sont inférieurs à nos résultats.

Tableau N°11: teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des graines

Echantillon dosé	Teneur en flavonoïdes (mg de Quercetine/ g d'extrait)
Extrait méthanolique des graines	10,53

La teneur en flavonoïdes dans l'extrait des graines est égale à 10,53 mg EQ/g d'extrait. La teneur en flavonoïdes dans l'extrait des graines est supérieure par rapport à la quantité trouvée dans les gousses.

A partir de ces résultats on peut dire que les graines de caroubier sont plus riches en flavonoïdes que les gousses.

Notre résultats est supérieur aux résultats trouvés par Ayaz et *al* en 2007 qui ont trouvés que le caroube contenait un taux des flavonoïdes de l'ordre de 0,41mg /g d'extrait et aussi par rapport aux résultats trouvés par (Owen et *al* ; 2003) et (Ortega et *al* ; 2011) qui ont démontrés que le taux des flavonoïdes dans la caroube est de 1,02mg/g d'extrait. Cette différence observée peut s'expliquer par la provenance géographique, le degré de maturité et la durée de stockage et aussi la méthode d'extraction utilisée.

2-3-Activité antioxydants(DPPH) :

L'activité antioxydants des deux extraits méthanolique de *Ceratonia siliqua* est mesurée en présence d'un antioxydant standard qui est l'acide ascorbique (vit C), et vis -à vis du radical DPPH, l'activité est estimée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 517 nm.

L'activité anti radicalaire est détectée par la réduction de radical DPPH.

La réduction de ce dernier aboutit à un changement de la couleur (DPPH•) violette vers le jaune (DPPH-H).

La capacité de la réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance déduite par des substances anti radicalaires.

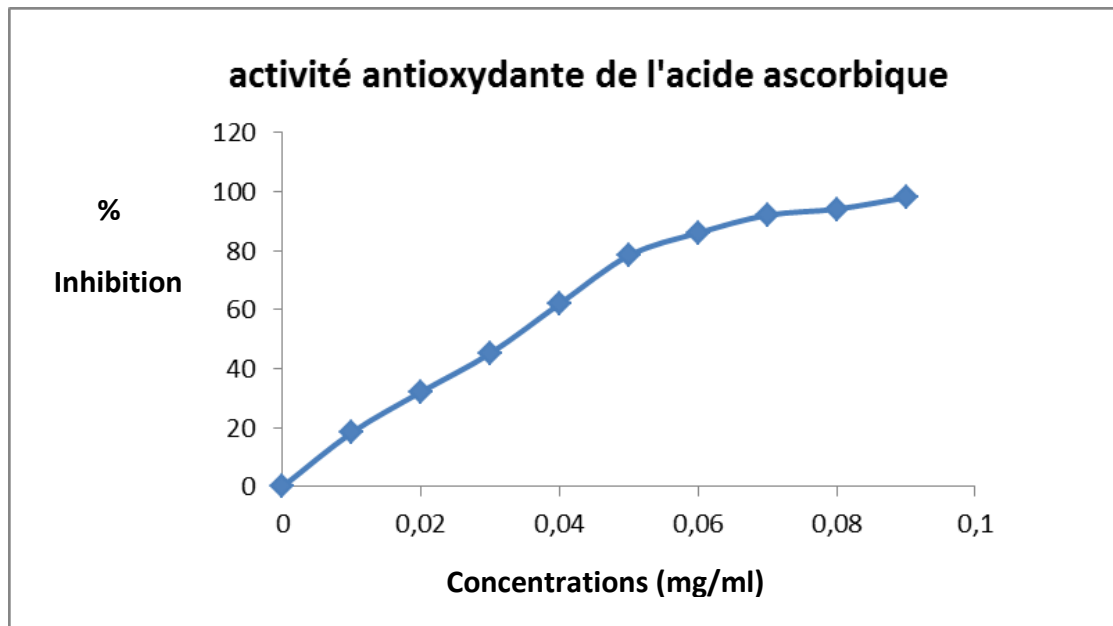


Figure N° 37 : % d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations de l'acide ascorbique

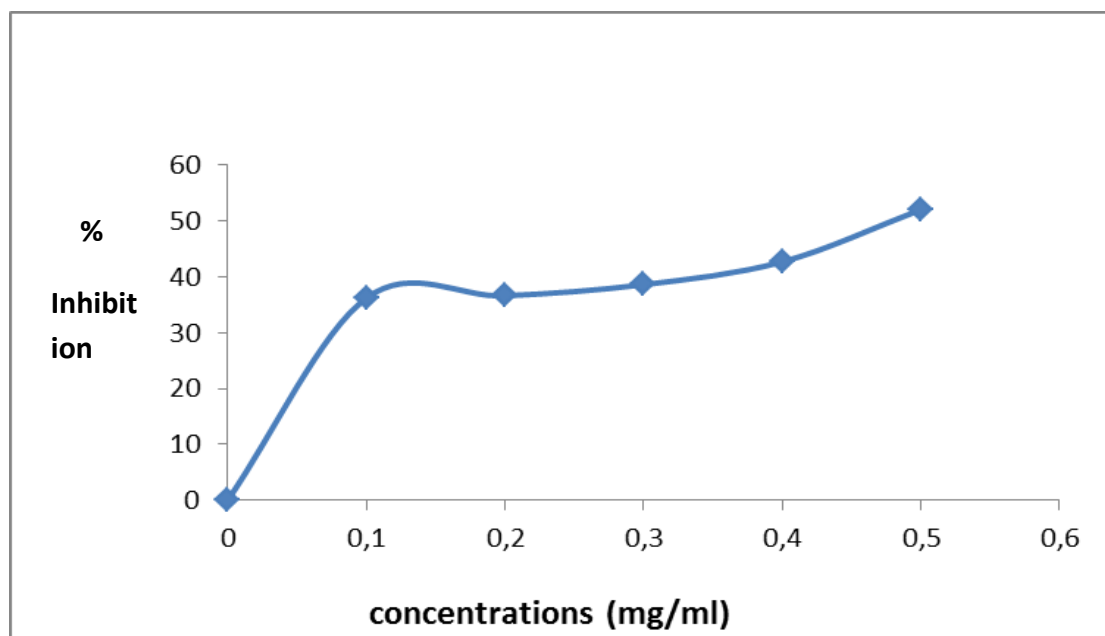


Figure N°38 : % d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations de l'extrait des graines

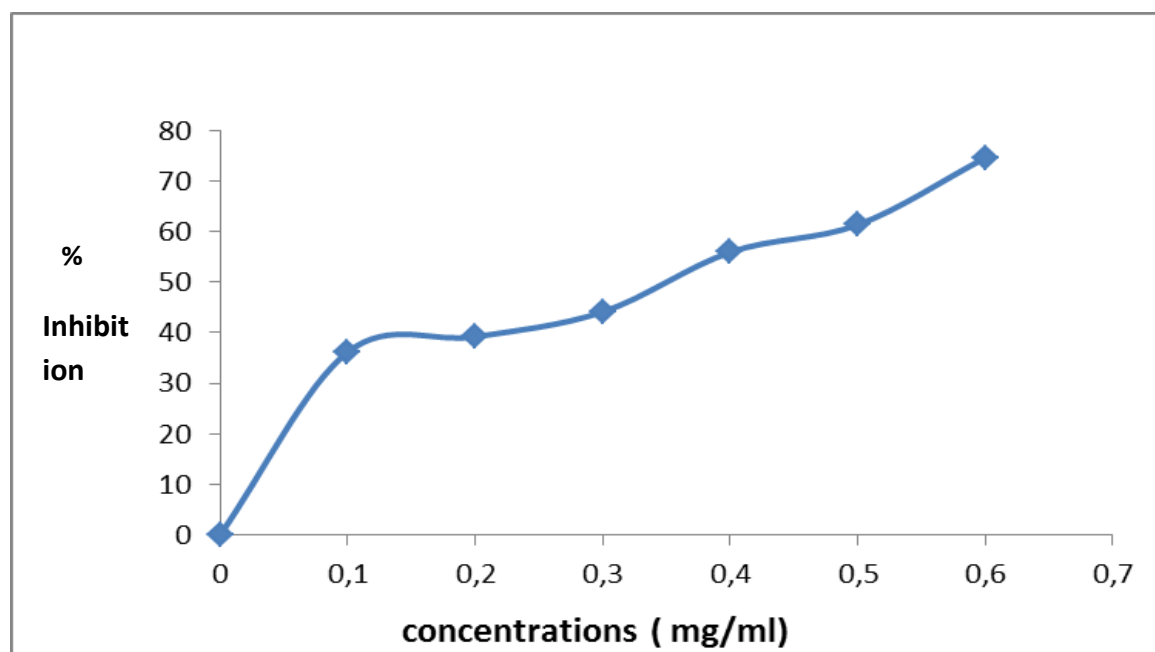


Figure N°39: % d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations de l'extrait des gousses.

D'après ces résultats, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration. Le taux d'inhibition du DPPH enregistré en présence des deux extraits de la plante est inférieur à celui de l'acide ascorbique.

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit le paramètre IC_{50} .

- **Evaluation de l' IC_{50}**

IC_{50} est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydants nécessaires pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Pokorny et al ; 2001). La concentration de l'échantillon essentiel pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits préparés.

Les valeurs d' IC_{50} trouvées pour les extraits étudiées sont représentées dans le tableau suivant:

Tableau N°12 : valeurs des IC_{50} des extraits testés.

Echantillons	IC_{50} (mg/ml)
Acide ascorbique	0,038
Gousses de <i>ceratonia siliqua</i>	0,446
Graines de <i>ceratonia siliqua</i>	0,480

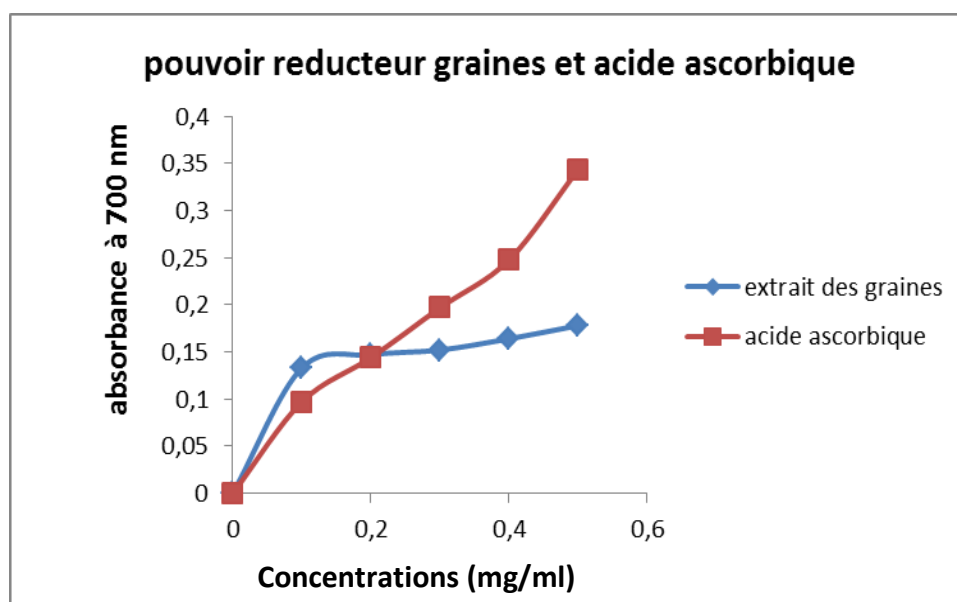
Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus de l'activité anti radicalaire de l'extrait des gousses et graines de *Ceratonia siliqua*, montrent que les deux extraits testés possèdent une activité anti radicalaire avec un IC_{50} de l'ordre de 0,446mg/ml pour les gousses et 0,480 mg/ml pour les graines. En comparaison avec l'antioxydant standard (l'Acide ascorbique) qui démontre un $IC_{50}\% = 0,038$ mg/ml, nous constatons que les deux extraits de caroubier sont moins actifs par rapport au standard et que l'extrait des gousses possède une activité antioxydante supérieure en comparaison avec l'extrait des graines qui a une activité antioxydante un peu basse. Cette différence est due à la richesse des gousses en composés phénoliques que les graines parce que les résultats démontrent que la teneur en polyphénols dans l'extrait méthanolique des gousses est égale à 33,73mg AG /g Ex par contre, chez les graines, elle est égale à 25,5mgAG/g Ex.

Les résultats obtenus concernant le IC_{50} des graines concorde avec les résultats trouvés par (Ouici ; 2012) qui a trouvé un IC_{50} de l'ordre de 0,48mg/ml. Mais elle est supérieure aux résultats trouvés par (Benkhaldi ; 2013). Ce dernier a trouvé des valeurs, soit pour l' IC_{50} des gousses ou bien des graines, inférieurs à nos résultats (IC_{50} gousses=9,77mg/ml et IC_{50} graines =0,56mg/ml).

Notre résultats est inférieur par rapport aux résultats de (Ben Hsouna et al ; 1986) avec une valeur d' IC_{50} =0,033mg/ml, ainsi qu'aux résultats de (Kumazawa et al ; 2002) qui a trouvé une valeur d' IC_{50} =0,25mg/ml.

Des études montrent que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (Mariod et al ; 2009) et (Locatelli et al ; 2010).

2-4-Pouvoir réducteur de fer



FigureN°40 : pouvoir réducteur des gousses et acide ascorbique.

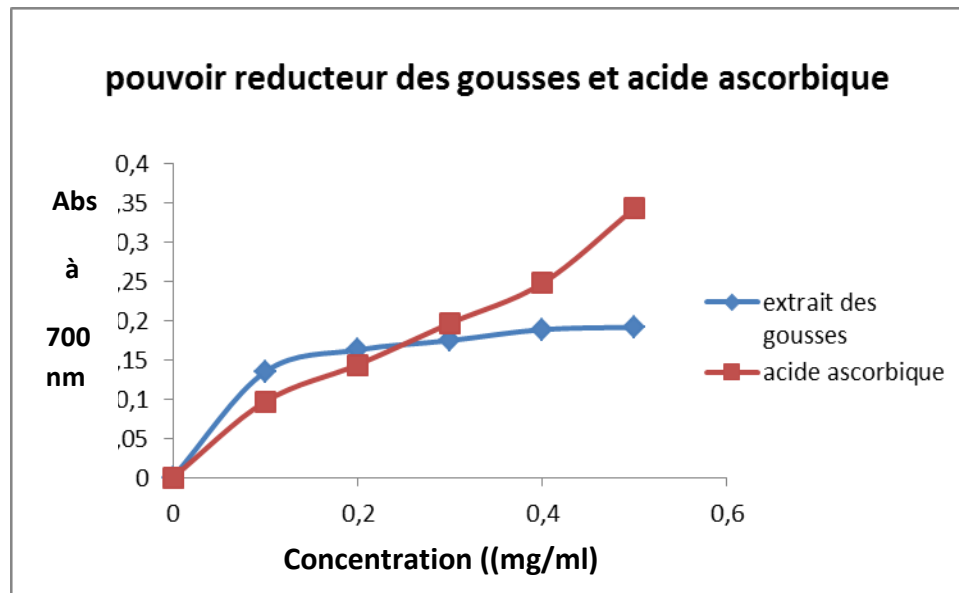


Figure N° 41 : pouvoir réducteur des gousses et acide ascorbique.

L'activité réductrice des extraits méthanolique de *Ceratonia siliqua* a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est une analyse d'activité antioxydante rapide, reproductible, et facile à exécuter (Benzie et Strain ; 1996). La méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . La puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydants (Karagozier et al ; 2008). Par conséquent, Fe^{2+} est évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et al ; 2002).

Les résultats obtenus dans les deux courbes montrent que la capacité de la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} est proportionnelle à l'augmentation de la concentration d'échantillons. Les deux extraits de la plante donnent une activité réductrice un peu faible par rapport à son standard (acide ascorbique).

Pour l'acide ascorbique la réduction de fer est très grande en comparaison avec la capacité réductrice des deux extraits méthanoliques du caroube.

Nos résultats concordent avec les ceux de (Ozturk et al ; 2007, Su et al ; 2008 et Liuk et al ; 2009) qui ont montrés que toutes augmentation de concentration d'échantillon conduit à l'augmentation de la capacité de réduction de fer.

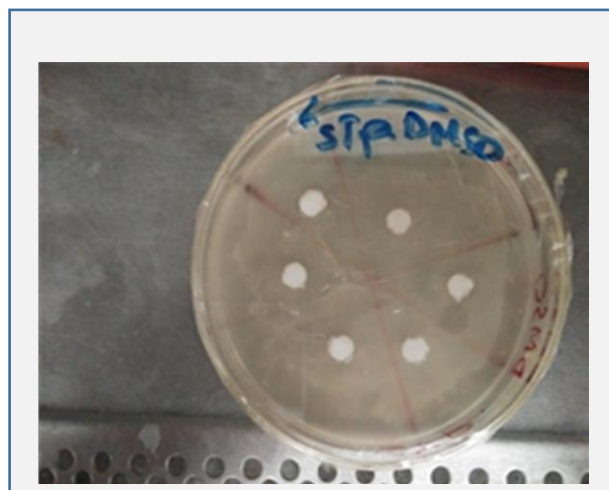
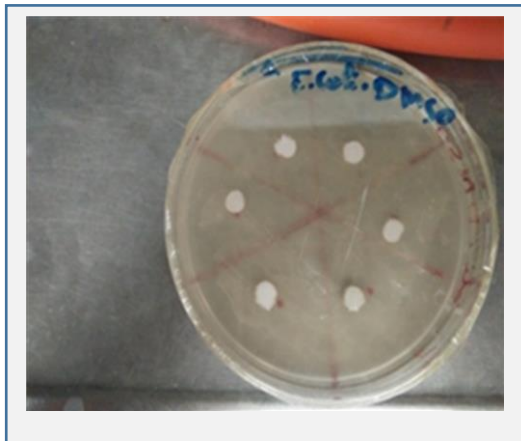
D'après (Benkhaldi ; 2013) tous les extraits de *Ceratonia siliqua* ont la capacité de réduire le fer.

2-5-Activité anti microbienne

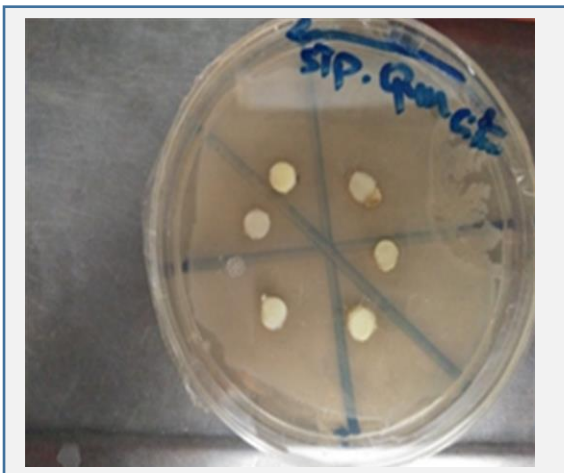
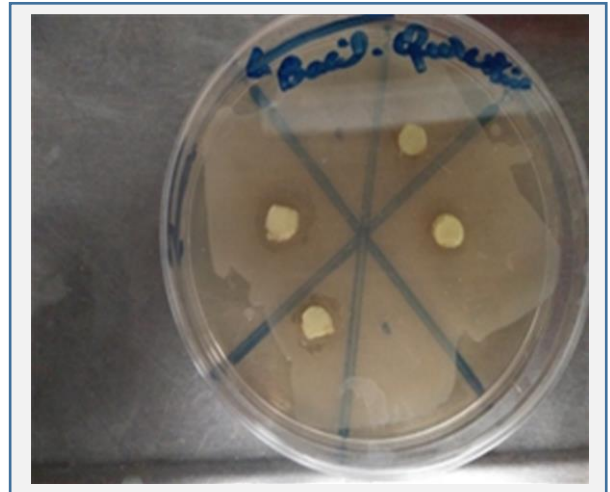
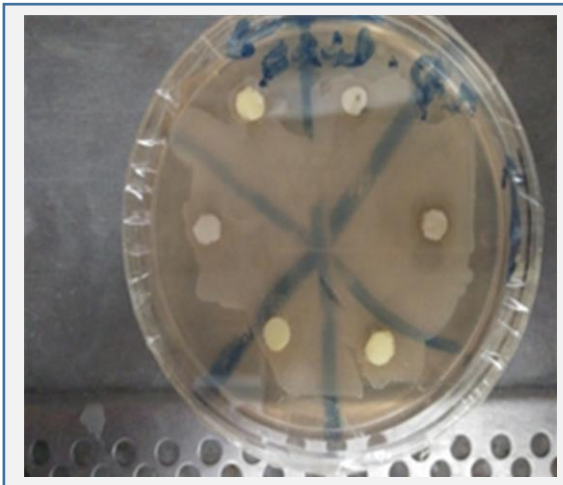
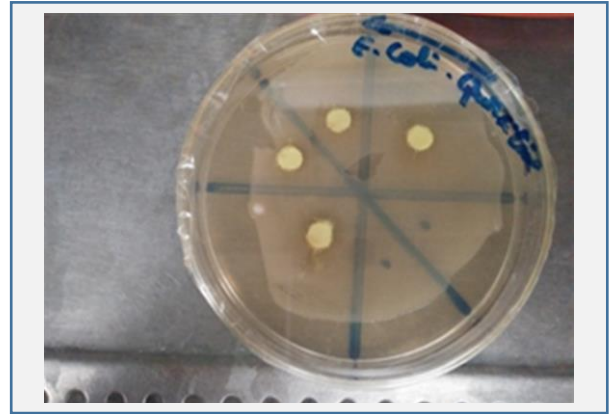
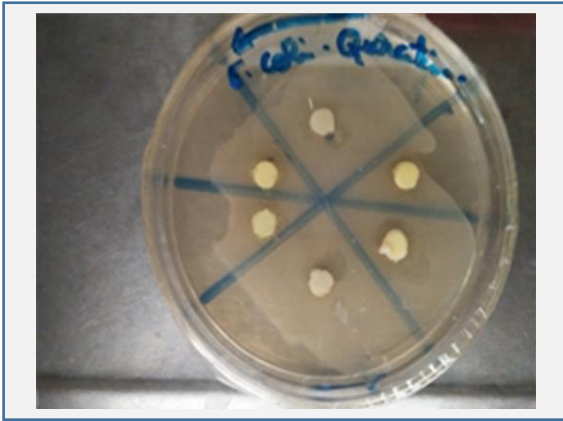
- **Méthode de diffusion (antibiogramme)**

Les observations effectuées sur les effets des extraits de *Ceratonia siliqua* sur la croissance des souches bactériennes testées : *S. aureus*, *E. coli* et *B. subtilis* sont représentées dans le tableau N° 13 et la figure 42.

DMSO



Quercétine

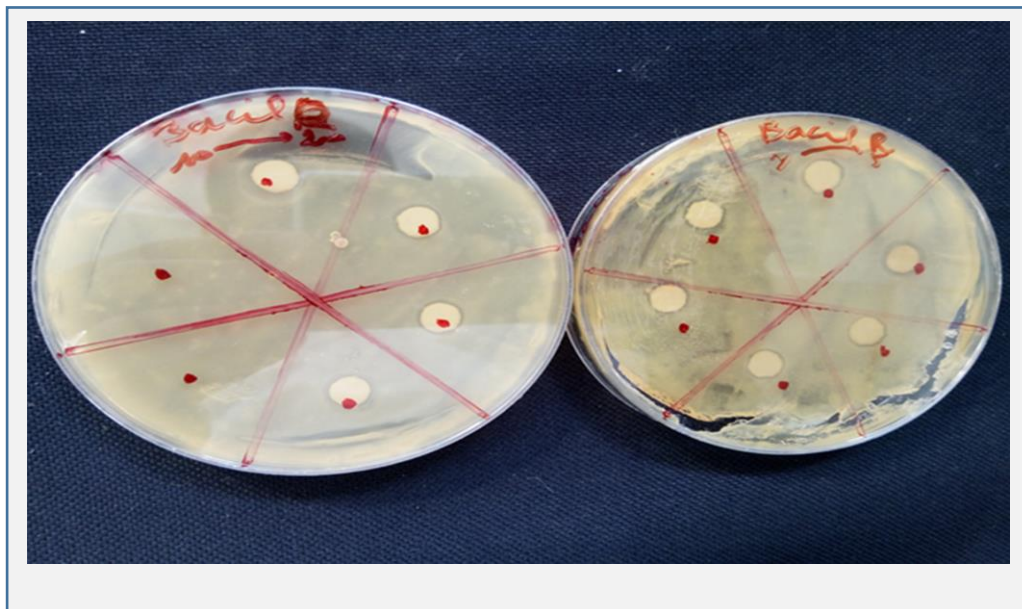
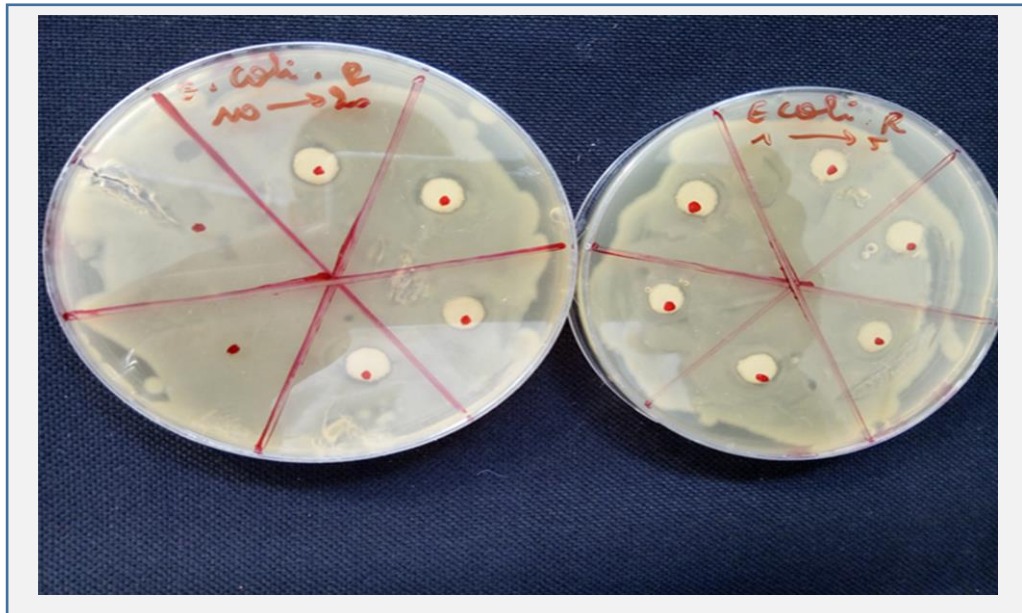


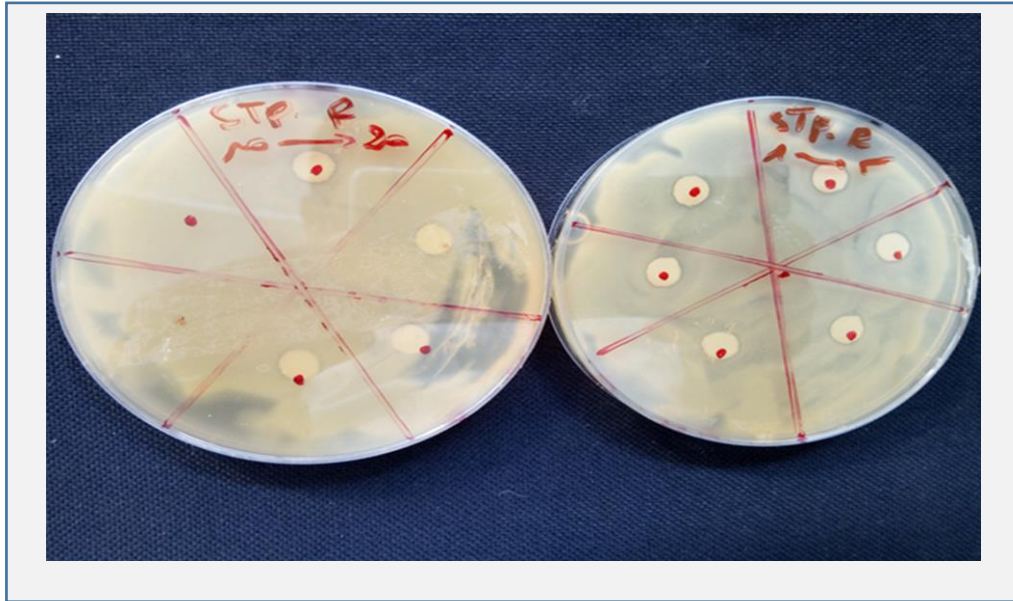
Les concentrations sont disposées de droite à gauche en suivant la flèche.

- Pour les boîtes situés à droite les [C] sont de (1 jusqu'à 5 mg/ml).
- Pour les boîtes à gauche les [C] sont de (10 jusqu'à 20mg /ml).

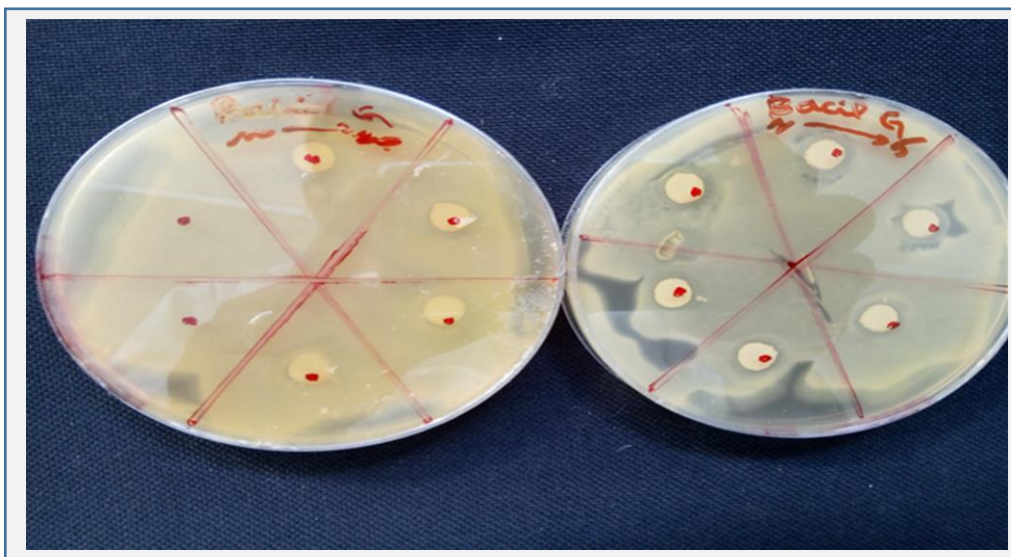
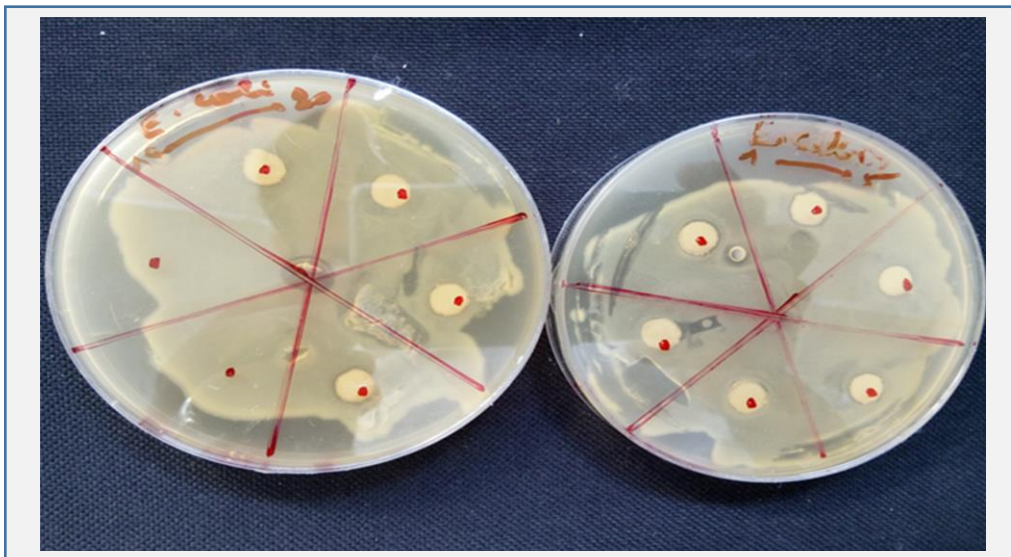
➡ Chaque concentration se répété 2 fois donc pour chaque [C] on a 2 disques.

Extrait des gousses





Extrait des graines



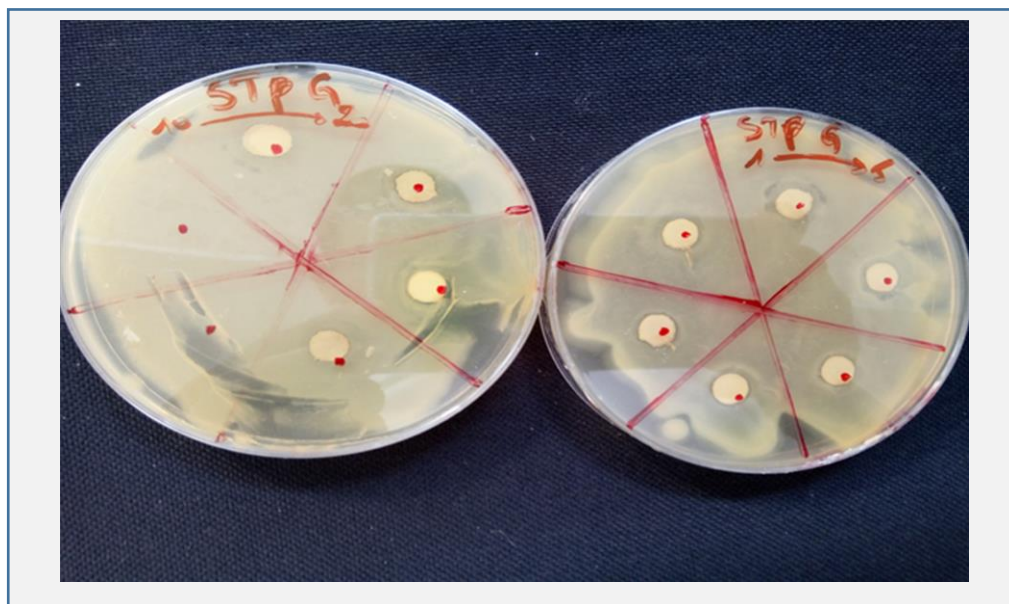


Figure N°42 : résultats de l'activité anti bactérienne des différents extraits.

Tableau N°13 : les diamètres des zones d'inhibition des différentes souches en (mm) par méthode des disques.

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)				
		Souches bactériennes		
Extraits	[C] (mg/ml)	E. coli	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i>
DMSO		00	00	00
Quercétine	1	3	2	2
	2,5	3	2	3
	5	4	3	4
	10	4	4	5
	20	5	4	6
	1	9	10	10

Chapitre 2 : Résultats et discussions

Ac. gallique	2,5	11	10	10
	5	11	11	11
	10	11	11	11
	20	12	11	12
	1	10	12	7
Ac. ascorbique	2,5	11	12,2	7
	5	12	12,2	7
	10	10	13	8
	20	12	13	8
gousses	1	2	1	1
	2,5	3	1	2
	5	4	3	3
	10	5	3	3
	20	5	4	4
graines	1	1	2	2
	2,5	2	3	3
	5	3	3	4
	10	3	3	5
	20	4	4	5

Pour l'évaluation du potentiel antimicrobien de ces extraits, on a préféré les tester contre plusieurs cibles bactériennes, car chacune d'elle possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier.

La sensibilité des bactéries aux extraits est déterminée selon le diamètre du halo d'inhibition par la méthode de diffusion sur gélose M.H.

Les résultats montrent que les deux extraits du caroubier se sont avérés inactifs contre la souche de *B.subtilis*.

L'extrait des graines donne un effet d'inhibition faible vis-à-vis de la souche *d'E. Coli*, cette bactérie possède un potentiel de résistance très élevé. En revanche il a une activité inhibitrice un peu grande vis-à-vis de la souche de *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 5mm. Par contre l'extrait des gousses possède un effet inhibiteur très faible vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus*.

La résistance de la souche *Escherichia coli ATCC* vis-à-vis de l'extrait des graines peut être attribuée à la capacité de l'agent antibactérien de diffuser uniformément dans la gélose.

Les deux extraits de *Ceratonia siliqua* donnent une activité antimicrobienne très faible contre les souches testées parce que tous les deux contiennent un total des composés phénoliques un peu faible et ne dépasse pas 33,73mg /g d'extrait.

Concernant le DMSO, on observe que ce dernier n'a aucun effet vis-à-vis des 3 souches bactériennes testées.

Le résultat enregistré par la Quercétine a indiqué qu'elle a une activité inhibitrice vis-à-vis des souches *d'E. Coli* et *Bacillus subtilis* avec une zone d'inhibition de diamètre=4mm. Mais elle a un effet plus grand contre la souche de *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de diamètre=6mm.

La zone d'inhibition augmente largement avec l'augmentation de la concentration des extraits, ce qui a été constaté aussi par (Dordevic et ses collaborateurs ; 2007).

La charge du disque influence l'activité antimicrobienne. Effectivement, Rasooli et ses collaborateurs ; 2008 ont remarqué que l'inhibition de la croissance est forte lorsque le disque est plus chargé.

D'après (Natarajan et al ; 2005) et (Fazeli et al ; 2007) la méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne influe aussi sur les résultats obtenus.

Brantner et al., en 1996 ont démontrés que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les stéroïdes à une certaines concentration peuvent inhiber la croissance des microorganismes. Il est confirmé que les flavonoïdes à caractère lipophile peuvent détruire les membranes microbiennes en augmentant la fluidité des lipides membranaires. Le nombre et la position des groupements hydroxyles présents sur le noyau aromatique des composés phénoliques peuvent entraîner la toxicité des microorganismes (Cowan ; 1999).

L'activité antimicrobienne dépend à la fois de la présence des composés phénoliques, et aussi de la présence de divers métabolites secondaires, de l'emplacement et le nombre des groupes d'hydroxyles (Falleh et al ; 2008).

A decorative border with a black and white checkered pattern surrounds the entire page.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion

La flore algérienne jouie d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques différentes. Dans le cadre de la valorisation de ces ressources, une plante aromatique *Ceratonia siliqua* a fait l'objet d'une étude phytochimique de ses extraits et d'une évaluation de ses potentiels antioxydants.

Dans le présent travail, le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires, où nous avons constaté la présence des flavonoïdes, de stérols, de triterpènes et d'alcaloïdes.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans les deux extraits analysés montrent qu'ils sont riches en ces métabolites. La teneur en polyphénols dans l'extrait des gousses est égale à 33,73mg d'acide gallique/g d'extrait, concernant l'extrait des graines la teneur en polyphénols est de l'ordre de 25,5mg d'acide gallique/g d'extrait.

Pour les flavonoïdes la teneur dans les gousses est égale à 2,30mg de Quercétine/g d'extrait et pour les graines est de 10,53mg de Quercétine/g d'extrait.

L'activité antioxydante in vitro est aussi étudiée avec la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) et la méthode de réduction du fer (FRAP). Les deux tests effectués ont montré que le pouvoir antioxydant est proportionnel à l'augmentation de la concentration des extraits.

Selon les résultats obtenus du test de l'effet scavenger du radical DPPH, les deux extraits méthanoliques testés jouissent d'un potentiel anti radicalaire de l'ordre de 0,446mg/ml pour les gousses et de 0,480 mg/ml pour les graines donc les deux extraits de *Ceratonia siliqua* donnent une activité antioxydante importante.

Le pouvoir réducteur des deux extraits méthanolique a été évalué et représenté par les absorbances notées, on a observés que les deux extraits de caroubier possèdent une activité de réduction de fer inférieure vis-à-vis à son standard qui a une activité plus grande.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons déduire que les extraits testés de la plante *Ceratonia siliqua* sont pourvus d'une activité antioxydante intéressante.

L'activité antimicrobienne des deux extraits méthanolique donne un effet différent contre les 3 souches bactériennes testés, nous avons remarqués que l'extrait des gousses est d'une activité anti bactérienne importante vis-à-vis d'*E.coli* malgré un potentiel de résistance très élevé et moins actif contre les souches de *B. subtilus* et *Staphylococcus*. Pour l'extrait des graines nous avons observés qu'il possède un effet d'inhibition vis-à-vis de *staphylococcus aureus* et il est moins actif contre *B.subtilus* et *E.coli*.

En perspectives, La détermination des composés actifs au niveau des gousses et graines de *Ceratonia siliqua* nécessite des études à l'échelle moléculaire notamment en ce qui concerne l'identification et la purification des différents composés phénoliques qui peuvent être responsables de divers effets ainsi que le mécanisme absolu par lequel ces composés réalisent leurs effets antioxydants.

A decorative border with a black and white checkerboard pattern surrounds the entire page.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Aafi A., (1996), Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*), Centre Nationale de la Recherche Forestière, Rabat (Maroc).

Abi Azar R., (2007), Complexassions des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier. Propriétés technologiques des coagulums obtenus, Agroparistech Ecole Doctorale Abies, Thèse de doctorat.

Ait Chitt M., Belmir M. et Lazrak A., (2007), Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier. Transfert de technologie en Agriculture, N°153, IAVRabat.

Albanell E., (1990). Caracterización morfológica, composición química y valor nutritivo de distintas variedades de garrofa (*Ceratonia siliqua L.*) cultivadas en España. Tesis doctoral. Barcelona. España.

Avallone R, Plessi M., Baraldi M. et Monzani A., (1997), Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratoniasiliqua*): Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins, Journal of food composition and analysis, Vol.10.

Ayaz S., Correia P.J, Alaiz M., Sanz C., Gruz J., Strnad M.,(2007), Determination Of Chemical Composition Of Anatolian Carob Pod (*Ceratonia Siliqua L.*): Sugars, Amino And Organic Acids, Minerals And Phenolic Compounds, Journal of food quality , vol. 30, No6.

B

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.

Bahorun.T, (1997) : Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritis.

Balentine C.W., Crandall P.G., O'Bryan C.A., Duong D.Q., Pohlman F.W., (2006). The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. Meat Science.

Barry, T.N., Manley, T.R. and Duncan, S.J. (1986). The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep 4. Sites of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentration. British Journal of Nutrition.

Bastida S., F. J. Sánchez-Muniz, R. Olivero, L. Pérez-Ollerros, B. Ruiz-Roso and

Klenow S. and Gleis M. (2009), New insight into the influence of carob extract and gallic acid on hemin induced modulation of HT29 cell growth parameters, *Toxicology in Vitro*, Vol. 23, N° 6.

Batlle I. and Tous J. (1988). Líneas de investigación sobre el algarrobo (*Ceratonia siliqua* L.) en el IRTA, Cataluña (España). In: Brito de Carvalho JH, ed. I Encorto Linhas de Investigaçãode Alfarroba. AIDA, Oeiras: AIDA.

Batlle I., al J.,(1997), Carob tree *Ceratonia siliqua* L., Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17, Gatersleben: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Rome: International Plant Genetic Resources Institute.

Belbache, H. (2003). Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora* Desf, mémoire de magister en chimie organique, université Mentouri Constantine.

Benaissa, O. (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine.

Benhamou H., Gagné S., Le Quéré D. and Dehbi L. (2000). Bacterial-mediated induced resistance in cucumber: Beneficial effect of the endophytic bacterium *Serratia phymthica* on the protection against infection by *Pythium ultium*. *Am. Phthopathol. Sc.*

Ben Hsouna A., M. Trigui, S. Jaoua., (1986), Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of the ethyl acetate extract of endemic *Ceratonia siliqua* leaves *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 34, N° 5.

Berrougui H., (2007), Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), une richesse nationale aux vertus médicinales, *Maghreb Canada Express* Vol. 5, N° 9.

Benzie I.F.F. et Strain J.J.,(1996): The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power" the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*.

Biner B, Gubbuk H., Karhan M., Aksu M. et Pekmezci M., (2007), Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey, *Food Chemistry* N°100.

Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E. (2004). New lanthanide complexes of 4-methyl-7-hydroxy coumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*.

Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhar, Z., Kilar, F., Felinger, A. (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*.

Bouakaz, I., (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister. Batna.

Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*, (9), 14 – 19.i.

Bouzouita N., A. Khaldi, S. Zgoulli, L. Chebil, R. Chekki, M.M. Chaabouni et P.

Thonart., (2007),The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia *Food Chemistry* Vol. 101, N°4.

Brantner A., Males Z., Pepeljnjak S., Antolic A., (1996). Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* Mill (Christ's thorn). *J. Ethnopharmacol.*

Bruneton, J. (1999).Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Bureš P., Pavliček T., Horová L. & Nevo E., (2004). Microgeographic genome size differentiation of the carob tree, *Ceratonia siliqua*, at 'Evolution Canyon'. *Israel. An. Bot.*

C

Chung Y.C., Chang C.T., Chao W.W., Lin C.F., Chou S.T., (2002). Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*

Ciulel I. (1982). Methodology for analysis of vegetable drugs. Ed I.P.A.C.Romania.

Correia P. & Martins-Loucao M.(2005). The use of macronutrients and water in marginal Mediterranean areas: the case of carob tree. *Field Crops Res.*, 91, 1
Cowan MM., (1999), Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microb. Rev.*

D

Daas P., Schols H. & de Jongh H., (2000). On the galactosyl distribution of commercial galactomannans. *Carbohydr. Res.*

Dacosta, E. (2003).Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris.

Dakia P., (2003). Extraction et caractérisation de la gomme de caroube (*Ceratonia siliqua* L.). Mémoire : Faculté-6.

Dakia P., Wathelet B. & Paquot M., (2007). Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ. *Food Chem.*

Dakia P. et al., (2008). Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid and water dehulling pre-treatment. *Food Hydrocolloids.*

Dea I. & Morrison A., (1975). Chemistry and interactions of seed galactomannans. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*

Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L. (2003). Natural product: their chemistry and biological significance. Journal of the American Oil Chemistry Society.

Dewick PM. (1995). The biosynthesis of shikimate metabolites. Nat. Prod. Rep.

Diallo.A, (2005) : Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat. Mal.

Djeridan.A ; Yousfi.M ; Nedjmi.D ; Boutassouna.D ; Stoker.P ; Vidal.N, (2006) :

Antioxidant activity of some medical plants extracts containing phenolic compounds foods chemistry.

Dohou.N ; Yani.K ; Thahrouch.S ; Idrissi Hassani.L.M ; Badoc.A ; Gmira.N, (2003) : Screening phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine; *Thynelaea lythroides*. Bull. Soc, Pharm. Bordeaux.

Dordevic S., Petrovic S., Dobric S., Milenkovic M., Vucicevic D., Zizic S., Kukic J., (2007). Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil .J Ethnopharmacol.

E

Edenharder, R., Grünhage, D. (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. Mutat. Res.

EL Hajaji H., Lachkar N., Alaoui K., Cherrah Y., Farah A., Ennabili A., El Bali B. & Lachkar M.,(2010). Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. Arabian Journal of Chemistry.

Erlund. (2004). Nut. Res.

Estrada C., Vázquez M., Melis B. & Vadell J.,(2006). Fruticultura de secano. El Algarrobo. In: Labrador. J, Porcuna. J.L & Bello. A (Cords), Manual de agricultura y ganadería ecológica. Eumedia. España.

F

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdely C., (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. C. R. Biologies.

FAOSTAT, <http://faostat.fao.org/>, (13/03/2010).

Favier, A.(2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la Compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.

Fazeli M.R., Amin G., Ahmadian-Attari M. M., Ashtiani H., Jamalifar H., Samadi N., (2007). Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food Control*.

F Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.10 p.leuriet, A. (1982). Thèse Doc. Etat, Montpellier.

Feucht, W., Treutter, D. et Christ, E. (1997). Role of flavanols in yellowing beech trees of the Black forest. *Tree Physiol*.

F. Jiménez-Colmenero (2009), Antioxidant activity of Carob fruit extracts in cooked pork meat systems during chilled and frozen storage, *Food Chemistry* Vol. 116, N° 3 .

Fleuriet, A. (1982). Thèse Doc. Etat, Montpellier.

Fournier P., (1977), Les quatre flores de la France (générale, alpine, méditerranéenne, littorale) Le Chevalier, Paris.

G

Gaouar N., (2011) : Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes variétés Algériennes. Mémoire de Magister en Agronomie .Université de Tlemcen.

Goldblatt P., (1981). Cytology and phylogeny of the leguminosea. In: Polhill R.M & Raven P.H., (Eds). *Advances in Legume Systematic*. Vol. 2. Royal Botanic Gardens, Kew, England.

Grolier P., Borel P., Scalbert A. et Remesy C., (2001), Le phytomicronutriments. In: *Traite de nutrition clinique de l'adulte*, Medecine-Sciences, Flammarion.

H

Hagerman, A.E. (2002). Tannin Chemistry (www.users.muohio.edu/hagermae). Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim (Germany) .

Halmi S, (2015) : Etude botanique et phytochimique.Approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*. Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri de Constantine.

Hariri A, N.Ouis, Sahnouni F et D.Bouhadi., (2009), mise en oeuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base des extraits de caroube, *rev. microbiol. ind. san et environn*.

Hillcoat D., Lewis G. & Verdcourt B., (1980). A new species of *Ceratonia* (Leguminosae-Caesalpinoideae) from Arabia and the Somali Republic. *Kew bull*.

Hoffman, L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Strasbourg. .

J

Jean-Blain, C. (1998). Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. Rev.Méd. Vét.

K

Karagozier, A.; Erdag, B.; Calmaz Emek, Y., (2008): Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*, Food Chemistry, 111: 400.

Kening Y., Vincenzo D. L. et Normand B. (1995). Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. The plant cell.

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle.

Knaggs, A.R. (2003).The biosynthesis of shikimate metabolites.Natural Product Reports.

Koffi N ; Beugré K ; Guédé N.Z ; Dossahoua T ; Laurent A, (2009):Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). Sciences et Nature.

Kohen R. and Nyska A (2002). Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. Toxicol. Path. (2002).

Kumazawa S., M. Taniguchi, Y. Suzuki, M. Shimura, Mi- Sun Kwon, and T.

Nakayama., (2002), Antioxidant Activity of Polyphenols in Carob Pods.

L

Leinmüller, E., Steingass, H. and Menke, K.H. (1991). Tannins in Ruminant feed stuff.

Linskens H. and Scholten W. (1980). The flower of carob. Potug. Acta. Bilo. (A) XVI (1-4).

Locatelli M., Travaglia F., Coisson J.D., Martelli A., Stevigny C., Arlorio M., (2010). Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI) : Impact of different roasting conditions. Food Chemistry.

Louca A. & Papas A.,(1973). The effect of different proportions of carob pod meal in the diet on the performance of calves and goats. Anim. Prod.

M

Macheix et al., (2006), Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier 1-28. Mueller-Harvey, I. et Mc Allan, A.B. (1992). Tannins: their biochemistry and nutritional properties. Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol.

Madi.A, (2010) : Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de Magister Université de Constantine.

Makris D. P. et P. Kefalas., (2004), Carob Pod as a source of polyphenolic Antioxidants, Food Technol. Biotechnol. vol. 42, N° 2.

Malecky, M. (2005). Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech.

Mariod A.A., Ibrahim R.M., Ismail M., Ismail N., (2009). Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. Food Chemistry.

Martin, S., Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angéiologie.

Mauro, N. M. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble.

McCleary B. & Matheson N., (1974). A-D-galactosidase activity and galactomannan and galactosylsucrose oligosaccharide depletion in germinating legume seeds. Phytochemistry, 13, 1747-1757. McCleary B., Matheson N. & Smal.

Merwin M.L., (1981). The culture of carob (*Ceratonia siliqua*) for food. Fooder and fuel in semi-arid environments. International Tree Crops Institute USA Inc., California.

Moreira L. & Filho E., (2008). An overview of mannan structure and mannan degrading enzyme systems. Appl. Microbiol. Biotechnol.

Mueller-Harvey, I. (2001). Analysis of hydrolysable tannins. Anim. Feed Sci. Technol.

N

Naczk, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A.

NAS., (1979), Tropical legumes: resources for the future. National Academy of Sciences, Washington DC. USA.

Natarajan D., John Britto S., Srinivasan K., Nagamurugan N., Mohanasundari C., Perumal G., (2005). Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*-A rare medicinal herb. J Ethnopharmacol.

Neukom H., (1988), Carob bean gum: properties and application. in Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain.

Neychev, H., (2007). Enhanced resistance to Salmonella enteric sero var typhimurium infection in mice after coumarin treatment. Microbes and infection.

O

Ortega N., A. Macià, M.P. Romero, J. Reguant and M.J. Motilva (2011), Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an in- vitro digestion model, Food Chemistry .

Owen RW, Haubner R, Mier W, Giacosa A, Hull WE, Spiegelhalder B, Bartsch H. (2003). Isolation, structure, elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. Food and Chemical Toxicology.

P

Papagiannopoulos M, Wollseifen HR, Mellenthin A, Haber B, Galensa R., (2004), Identification and quantification of polyphenols in carob fruits (*Ceratonia siliqua* L.) and derived products by HPLC -UV- ESI/MSn, J Agric FoodChem.

Petit M. & Pinilla J., (1995). Production and purification of a sugar syrup from carob pods. Lebensm. Wiss. Technol.

Phylogeny Group III octobre (2009), « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III », Botanical Journal of the Linnean Society.

Pincemail J., Meurisse M., Imet R. L. et Defraigne J. O. (1999). Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. vaisseaux, coeur, poumons., 4 (4).disease in a defined population :the Hisayama study, Stroke.

Pokorny J. et ai, (2001): Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited. ISBN: 1 85573-463X.

Ponce A.G., fritz R., DEL Valle C., roura S.I., (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-wissenschaftund technology.

Q

Quezel P. et Santa S. (1962/63). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méditerranéennes. Tome 1. Edit CNRS. Paris.

Ouici Asma , (2012) Pouvoir antioxydant des polyphénols du fruit de caroubier(*ceratonia siliqua* l), Mémoire Master en Biologie; Option physiopathologie.

R

Rakotonanahary, M. (2012). thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier.

Rasooli I., Fakoor M.H., Yadegarinia D., Gachkar L., Allameh A., Rezaei M.B., (2008). Antimycotoxigenic characteristics of Rosmarinus officinalis and Trachyspermum copticum L. essential oils. International Journal of Food Microbiology.

Rebour H., (1968), fruits Méditerranéen, la maison rustique Paris.

Rejeb M. N.,(1995), Le caroubier en Tunisie: Situations et perspectives d'amélioration, in Quel avenir pour l'amélioration des plantes ? Edit. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris.

Ribéreau-Garyon.P, (1968) : Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod Paris.

S

Sahle M., Coleon J. & Haas C., (1992). Carob pod (Ceratonia siliqua) meal in geese diets. Brit. Poultry Sci.

Sánchez S., Lozano L.J., Godínez C., Juan D., Pérez A. et Hernández F.J.,(2010), Carob pod as a feedstock for the production of bioethanol in Mediterranean areas Applied Energy Vol. 87, N°11.

Sanchez-Moreno.C, (2002) : Méthodes used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. International journal of foods Science and Technology.

Sarni-Manchado, P., Cheynier, V.(2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Abrégé de botanique. Masson (Ed). Paris.

Sbay H. et M. Abourouh., (2006), Apport des espèces à usages multiples pour le développement durable : cas du pin pignon et du caroubier, Centre de Recherche Forestière Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification, Rabat.

Schofield, P., Mbugua, D.M. et Pell, A.N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. Anim. Feed Sci.

Shimizu, H.(2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population :the Hisayama study, Stroke, 35 (9).

Simon M.,(2010). Production enzymatique d'oligosaccharides à partir de gomme de caroube. Mémoire : Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux (Belgique).

sittikijyothin W., Torres D. & Gonclaves M.P., (2005). Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. Carbohydr. Polym.

Slide player.fr

T

The Nature Conservancy (2011) , www.thoughtco.com

Trease E.G., Evans W.C., (1978). Pharmacognosy. 11th Edition, Balliere Tindall. London.

V

Vigor C, Vercauteren J, Montels J. (2011). les substances naturels dans la chaine du medicament.

W

(en) Wojciechowski MF, Lavin M, Sanderson MJ, « A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family », American Journal of Botany, vol. 91, no 11, novembre (2004).

Whiteside L. (1981). The carob cookbook. Ed. Thorsons Publishers Limited, Wellingborough.Northamptonshire.

Wursch P., Vedovo S., Rosset J. et Smiley M., (1984), The tannins granules from ripe carobpod. Lebensm.-Wiss.u.-Technol.

Y

Yamini K., Anto Shering M., Praveen Kumar Reddy S., Lakshmi Narasimha Reddy N(2011). Pharmacognostical and Preliminary Phytochemical Screening on Leaves of *Trianthema decandra* Linn. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives.

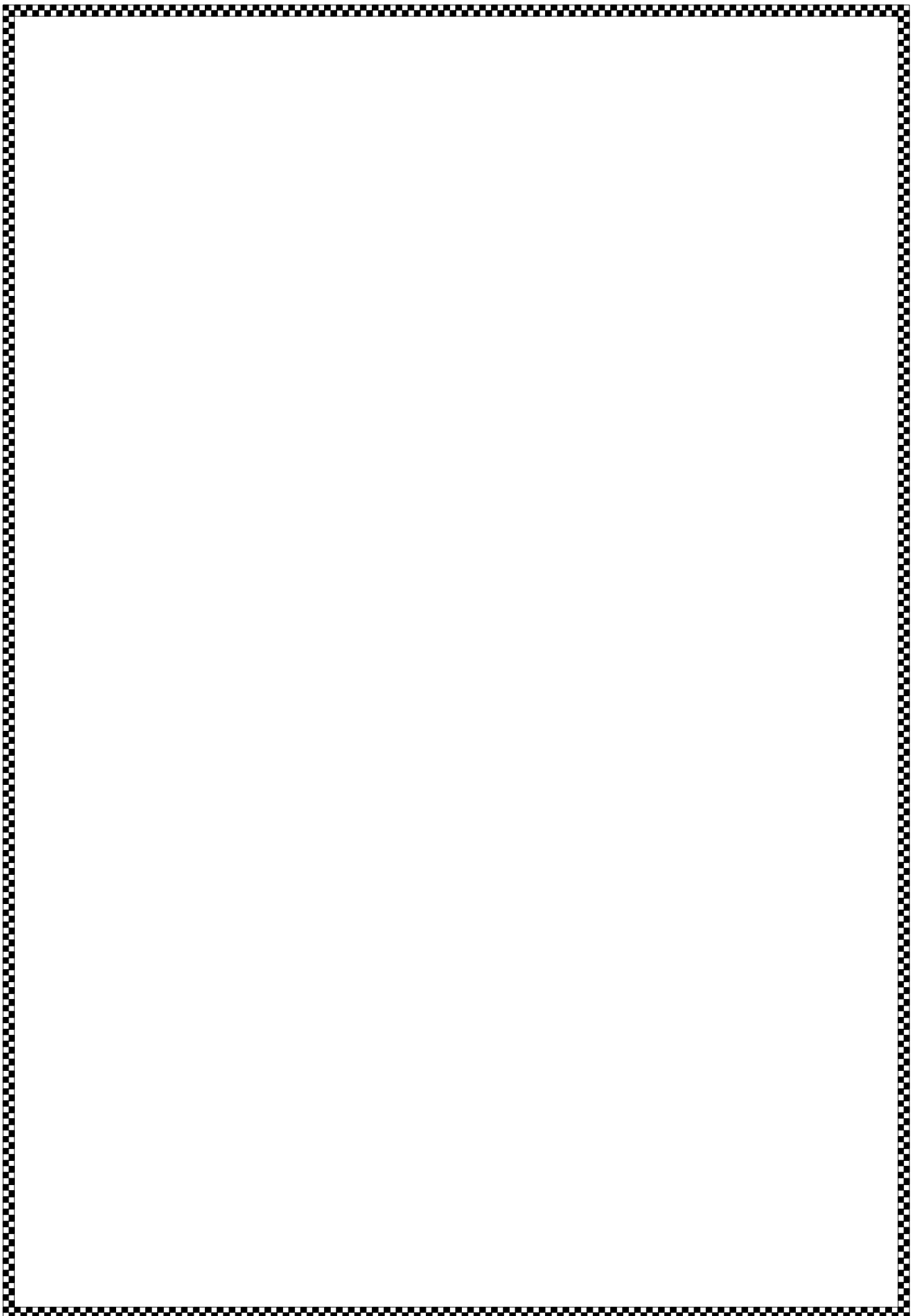
Yildirim A ; Mavi A et Kara A, (2001) : Determination of antioxidant and antimicrobialactivities of *Rumex crispus* L. extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry.

Yamini K., Anto Shering M., Praveen Kumar Reddy S., Lakshmi Narasimha Reddy N., (2011). Pharmacognostical and Preliminary Phytochemical Screening on Leaves of *Trianthema decandra* Linn. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives.

Etude statistique :

Microsoft Word 2010.

Microsoft Excel 2010.



ANNEXES

ANNEXES

La préparation des solutions :

- **Solution de ferricyanure de potassium K_3Fe à 1 % :**

Mélanger 1ml de ferricyanure de potassium avec 100ml de l'eau distillée.

Donc : 2,5g 250ml de H_2O .

- **Solution de TCA à 10% :**

Mélanger 10g de TCA dans 100 ml de l'eau distillée.

Donc : 25g 250ml de H_2O .

- **Solution de $FeCl_3$ à 0,1% :**

Mélanger 0,1ml de $FeCl_3$ dans 100ml de l'eau distillée.

Donc : 0,4g 400 ml H_2O .

- **Solution tampon phosphate à 0,2M et pH= 6,6 :**

a. Solution 1 : $Na_2HPO_4 \rightarrow 28,4g + H_2O$ pour compléter 1L.

Donc : 28,4g \rightarrow 1000ml

X= 7,1g \rightarrow 250ml

b. Solution 2 : $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O \rightarrow 31,21g + H_2O$ pour compléter 1L.

Donc : 31,21g \rightarrow 1000ml

X= 7,8g \rightarrow 250ml

En fin, Phosphate buffer à 0,2M et pH= 6,6 est un mélange de solution 1 et solution 2 dont le volume 37,5ml et 62,5ml respectivement.

- **Préparation de la Liqueur de Fehling**

Solution A :

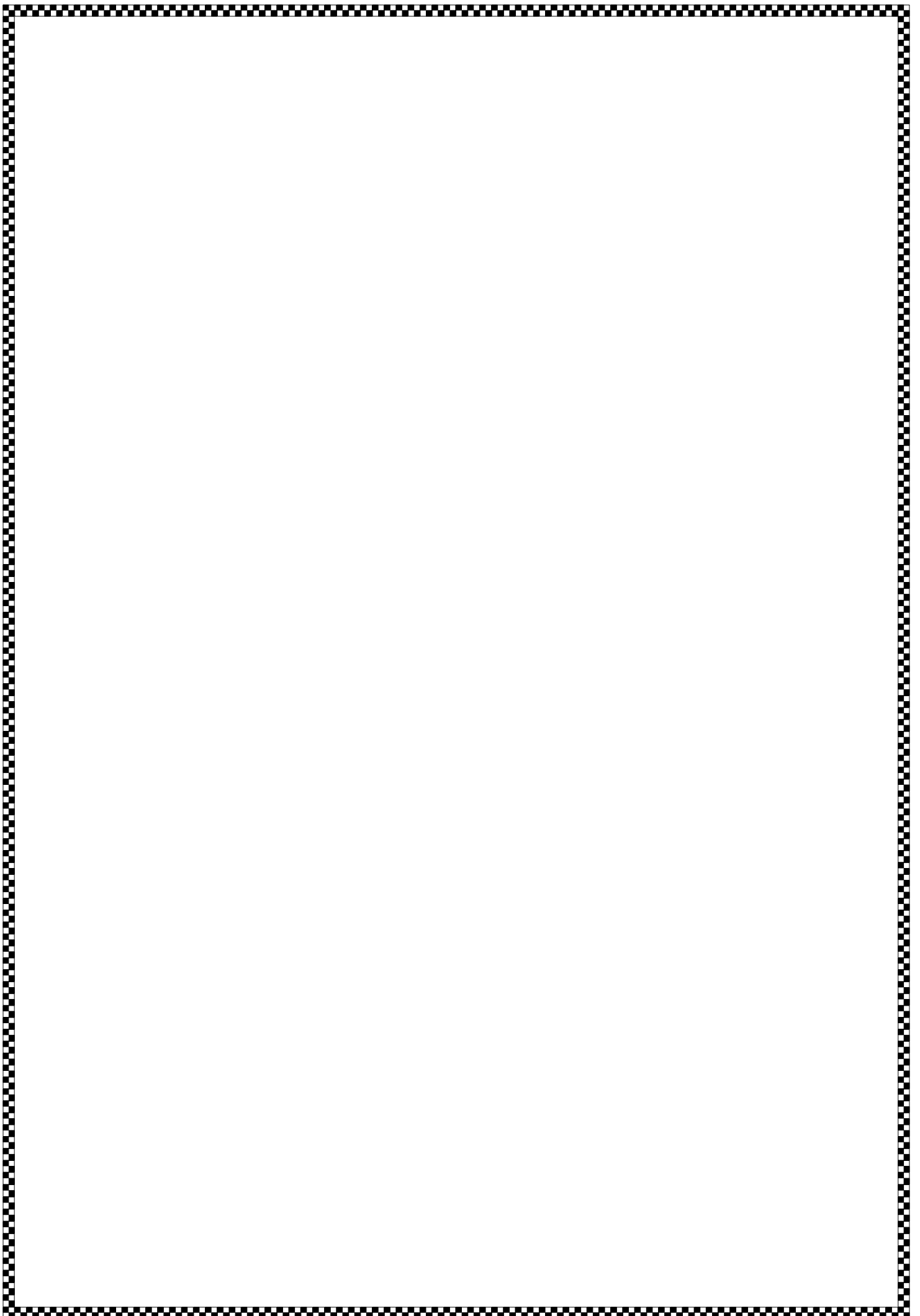
Dans un erlenmeyer de 250 ml : Dissoudre 7g de sulfate de cuivre penta hydraté dans 100 ml d'eau.

Solution B :

Dans un erlenmeyer de 250 ml : Dissoudre 34,6 g de tartrate double de sodium et de potassium, 10 g d'hydroxyde de sodium dans 100 ml d'eau.

- **Préparation de Mayer**

10 g de KI et 2,70 g de HgCl_2 dissous dans 20 ml d'eau.



Date de soutenance : 02/07/2017

LETKESSSES Halima essaadia

LADRAA Ismahan

Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de *Ceratonia siliqua L.*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie moléculaire et santé.

Résumé :

Ceratonia siliqua est une plante qui appartient à la famille des fabacée. Elle est fréquemment utilisée dans nos traditions culinaires et médicales pour lutter contre le cholestérol, les diarrhées aiguës infantiles et les troubles digestifs.

Notre travail s'est appuyé sur l'étude de l'extrait méthanolique des graines et des gousses de *Ceratonia siliqua*. Le criblage phytochimique a révélé la présence de quelques groupes chimiques (Flavonoïdes, Alcaloïdes, poly terpènes... etc) susceptibles d'exprimer les activités recherchées.

Les activités anti-radicalaires ont été évaluées à travers deux méthodes : le test du piégeage du radical libre DPPH et le test de la réduction du fer (FRAP).

Selon les résultats observés, les deux extraits des graines et des gousses sont dotés d'un potentiel anti-radicalaire et antioxydant mesuré par rapport à l'antioxydant standard employé.

Les résultats de l'activité antimicrobienne réalisée in vitro sur les 3 souches bactériennes indiquent que les deux extraits méthanolique de cette plante détiennent d'une activité anti bactérien faible.

Mots clés : fabacée; *Ceratonia siliqua*; métabolites secondaires ; polyphénols ; activité antioxydante ; activité antimicrobienne ; pouvoir réducteur.

Laboratoire de recherche : laboratoire de biochimie RDC.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. HABIBATNI Zineb, MCB à université constantine1.

Rapporteur : Dr. HALMI Sihem, MCB à université constantine1.

Co-rapporteur : Mme SAMRA Ilhem, MAA à université constantine1.

Examinatrice : Dr. MOSBAH Asma, MCB à université constantine1.

Année universitaire : 2016/2017

