

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل -

Université Mohammed Seddik Ben Yahia -Jijel-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie Appliquée
et Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية
و العلوم الغذائية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme: **Master Académique en Biologie**

Option : Contrôle de Qualité des Produits Alimentaires

Thème

**Évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques
des gousses vertes du caroubier de la wilaya de Jijel**

Membres de Jury :

Présidente : Dr BENALI S.

Examinatrice : M^{me} DJABALI S.

Encadrant: M^{lle} AYAD R.

Présenté par :

BERGHIDA Nour El Houda

ZINEDDINE Latifa

Année Universitaire: 2016-2017

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

Nous tenons à exprimer notre vif remerciement et profonde gratitude à notre encadreur **M^{me} AYAD Rima** qui, tout au long de l'encadrement, nous a fait bénéficier de son expérience, ses conseils qu'elle nous a prodigué, la patience, la confiance qu'elle nous a témoigné, ont été déterminants dans la réalisation de notre travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury, **M^{me} Djabali Saliha** et **Dr Ben Ali Sonia** pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.

On n'oublie pas nos parents et nos maris pour leur contribution, leur soutien et leur patience. Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci mille fois à tous ceux qui ont rendu « ce travail » finalement possible.



Merci

Liste des figures

	Page
Figure 01. Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde (Batlle et Tous, 1997).....	05
Figure 02. Gousses vertes du caroubier. A : échantillon d'El Emir Abdelkader (A) ; B : échantillon de Chekfa (C); C : échantillon de Texenna (T).....	25
Figure 03. Résultats du pH et d'acidité des trois échantillons.....	26
Figure 04. Taux d'humidité des trois échantillons exprimé en %.....	27
Figure 05. Teneurs de la matière sèche des trois échantillons.....	28
Figure 06. Teneurs en cendres des trois échantillons.....	29
Figure 07. Teneurs en matière grasse des trois échantillons.....	30
Figure 08. Teneurs en protéines des trois échantillons.....	31
Figure 09. Concentrations en polyphénols totaux des trois échantillons.....	32
Figure 10. Concentrations en flavonoïdes des trois échantillons.....	33
Figure 11. Concentrations en flavonols des trois échantillons.....	33
Figure 12. Pourcentage de l'activité antioxydante par le test au DPPH des trois échantillons.....	34
Figure 13. Capacité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate des trois échantillons.....	35
Figure 14. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux (annexe 2).	
Figure 15. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes (annexe 2).	
Figure 16. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols (annexe 2).	
Figure 17. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (capacité antioxydante totale) (annexe 2).	

Liste des Tableaux

	Page
Tableau 01. Caractérisation morphologique des gousses vertes de caroube.....	25
Tableau 02. Résultats du pH et d'acidité des trois échantillons (annexe 1).	
Tableau 03. Taux d'humidité des trois échantillons exprimé en % (annexe 1).	
Tableau 04. Teneurs de la matière sèche des trois échantillons (annexe 1).	
Tableau 05. Teneurs en cendres des trois échantillons (annexe 1).	
Tableau06. Teneurs en matière grasse des trois échantillons (annexe 1).	
Tableau 07. Teneurs en protéines des trois échantillons (annexe 1).	
Tableau 08. Concentrations en polyphénols totaux des trois échantillons (annexe 1).	
Tableau 09. Concentrations en flavonoïdes des trois échantillons (annexe 1).	
Tableau 10. Concentrations en flavonols des trois échantillons (annexe 1).	
Tableau 11. Pourcentage de l'activité antioxydante par le test au DPPH des trois échantillons (annexe 1).	
Tableau 12. Capacité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate des trois échantillons (annexe 1).	

Liste des abréviations

A°	:	Acidité
Abs	:	Absorbance
cm	:	centimètre
H	:	Hydrogène
HR	:	Humidité relative
Kg	:	kilo gramme
mg	:	milligramme
ml	:	millilitre
mM	:	millimole
M	:	mole
min	:	minute
MM	:	Masse Molaire
m³	:	mètre cube
MS	:	Matière Sèche
N	:	Normalité
nm	:	nanomètre
ppb	:	partie par billion
ppm	:	partie par million
pH	:	potentiel d'hydrogène
P	:	poids
R	:	Radical
R²	:	coefficient de détermination
Trs	:	Tours
UV	:	Ultra Violet
µg	:	microgramme
µl	:	microlitre
Da	:	Dalton

	Page
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Caroubier	
1-Présentation du caroubier.....	03
1-1-Taxonomie.....	03
1-2-Description botanique	03
1-3-Reproduction biologique	04
2-Origine et répartition géographique.....	05
2-1-Origine du caroubier.....	05
2-2-Répartition géographique du caroubier.....	05
2-3-Caroubier en Algérie.....	06
3- Morphologie et description des principales parties de l'arbre.....	06
3-1- Système racinaire.....	07
3-2-Feuilles.....	07
3-3-Fleurs.....	07
3-4-Fruit.....	08
3-5- Grains.....	08
4- Intérêt et utilisation de caroubier.....	08
Chapitre II : Composition chimique de la caroube	
1-Métabolites primaires.....	10
1-1-Sucres.....	10
1-2-Acides aminés et protéines.....	10
1-3-Lipides.....	11

Sommaire

1-4-Cendres.....	11
1-5-Fibres.....	11
2-Métabolites secondaires.....	12
2-1- Principales classes des polyphénols	13
2-1-1- Composés phénoliques simples.....	14
2-1-1-1- Acides phénoliques.....	14
2-1-1-2- Flavonoïdes.....	14
2-1-2-Composés phénoliques complexes (tannins)	14
2-1-2-1- Tanins hydrolysables.....	14
2-1-2-2- Tannins condensés.....	14
3-Extraction des polyphénols du caroubier.....	15
4-Méthodes de dosage des polyphénols.....	15
4-1- Dosage des polyphénols totaux.....	15
4-2- Dosage des flavonoïdes totaux.....	15
5-Les polyphénols du caroubier.....	15
6-Caractéristiques des polyphénols du caroubier.....	16
7-Activité antioxydante des polyphénols.....	16

Matériel et méthodes

1-Origine des gousses et obtention des poudres de caroube.....	18
2-Caractérisation morphologique des gousses.....	18
3-Caractérisation physicochimique des poudres de la caroube.....	18
3-1-Détermination du pH	18
3-2-Détermination de l'acidité titrable.....	18
3-3-Détermination de l'humidité.....	19
3-4-Détermination de la matière sèche.....	20
3-5-Détermination de la teneur en cendres.....	20
3-6-Détermination de la teneur en matière grasse	21
3-7-Détermination de la teneur en protéines (Méthode de Kjeldahl).....	21
4-Dosage des composés phénoliques.....	22

Résultats et Discussion

1-Caractérisation morphologique des gousses.....	25
2- Caractérisation physicochimique des poudres de la caroube.....	26

Sommaire

2-1-Détermination du pH et de l'acidité titrable.....	26
2-2-Détermination du taux d'humidité.....	27
2-3-Détermination de la teneur en matière sèche.....	28
2-4-Détermination de la teneur en cendres.....	28
2-5-Détermination de la teneur en matière grasse.....	29
2-6-Détermination de la teneur en protéines.....	30
3- Dosage des composés phénoliques.....	31
3-1- Dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu.....	31
3-2-Dosage des flavonoïdes.....	32
3-3- Dosage des flavonols.....	33
4- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	34
4-1- Test au DPPH.....	34
4-2-Capacité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate.....	35
Conclusion générale et perspectives.....	38
Références bibliographiques.....	41

Annexes



Introduction

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) dont l'origine semble être l'Est de la méditerranée est domestiqué depuis 4000 ans avant J.C.; sa culture extensive date au moins de 2000 ans avant J.C.) , sa longévité est considérable (jusqu'à 200 ans) ; il peut atteindre jusqu'à quinze mètres de hauteur (**Ait Chitt et al., 2007**).

Le caroubier présente un intérêt de plus en plus grandissant en raison non seulement de sa rusticité, de son indifférence vis-à-vis de la nature du sol, de son bois de qualité, de sa valeur ornementale et paysagère, mais surtout pour ses graines qui font l'objet de transactions commerciales dont la valeur dépasse de loin celle de la production ligneuse. Ainsi, les gousses entières, la pulpe, les graines et la gomme font l'objet d'un commerce important en direction de l'Europe et sont largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire (**Biner et al., 2007**).

La production mondiale annuelle, essentiellement méditerranéenne, est estimée à 310 000 tonnes, dont une bonne partie est fournie par l'Espagne suivie de l'Italie, du Portugal du Maroc et de l'Algérie (**FAOSTAT, 2010**). Par ailleurs, cet arbre est d'une importance économique considérable; ses gousses, plus riches en sucre que la canne à sucre et la betterave sucrière, sont utilisées en industrie agroalimentaire et pharmacologique, notamment comme anti-diarrhéique, leur richesse en fibres leur confère des vertus hypocholestérolémiantes et hypoglycémiantes (**Hariri et al., 2009**).

Cette matière végétale représente également une source importante d'une immense variété de molécules bioactives qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun et al., 1996**).

Les polyphénols possèdent un large éventail d'activités biologiques *in vitro* (antibactériennes, anti-cancérogène, anti-inflammatoire, antioxydante, etc.) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques. Les polyphénols présentant ainsi des propriétés antioxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique (stress oxydant). Ces substances suscitent beaucoup d'intérêts dans plusieurs domaines, celui de la nutrition par leur caractère préventif à l'égard de diverses maladies, en cosmétologie et surtout dans les industries agroalimentaires par leurs implications, en particulier, sur la flaveur des aliments et leur incidence sur la conservation des produits alimentaires (**Janeiro et al., 2008**).

L'objectif de ce présent travail est une étude de la composition chimique de trois échantillons de gousses vertes du caroubier de la wilaya de Jijel ainsi qu'une évaluation de l'activité antioxydante de leurs composés phénoliques.

Pour répondre à cet objectif différentes étapes doivent être réalisées:

- Détermination de la composition chimique des échantillons récoltés
- Dosage de leurs composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et flavonols)
- Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par deux méthodes différentes

Notre travail est structuré en trois parties dont la première est une revue bibliographique englobant la présentation de l'espèce *Ceratonia siliqua*, leurs métabolites primaires et secondaires et l'activité antioxydante de ces derniers. La seconde partie rapporte la méthodologie détaillée du travail et la troisième expose nos résultats obtenus comparés et discutés suivie d'une conclusion générale et des perspectives.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I:

Le caroubier

1-Présentation du caroubier

Les écosystèmes méditerranéens sont caractérisés par des précipitations rares ou irrégulières et par de longues périodes estivales sèches. Ces contraintes climatiques combinées à une pression anthropique, conduisent généralement à une dégradation du couvert végétal et à une érosion rapide des sols. Pour contrecarrer ce fléau, sauvegarder la fertilité des sols et améliorer le niveau de vie de la population rurale, l'utilisation des espèces arborescentes pionnières à usage multiple comme le caroubier, adaptées aux aléas climatiques et pouvant s'installer sur des terrains marginaux, dans les programmes de reboisement et de restauration des sols dégradés reste une bonne stratégie (**Ait Chitt et al., 2007**).

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est domestiqué depuis 4000 ans avant J.C. ; sa culture extensive date au moins de 2000 ans avant J.C., sa longévité est considérable (jusqu'à 200 ans) ; il peut atteindre jusqu'à quinze mètres de hauteur (**Ait Chitt et al., 2007**).

1-1-Taxonomie

Le nom scientifique du caroubier, *Ceratonia siliqua* L. dérive du grec Keras (=corne) et du latin siliqua désignant une silique ou gousse et faisant allusion à la dureté et à la forme du fruit, il est connu aussi sous le nom de pain de St. Jean-Baptiste (**Battle et Tous, 1997**).

Le genre *Ceratonia* appartient à la famille des *Leguminosae* (*Fabaceae*) de l'ordre des *Rosales*. Ce genre renferme en plus de *Ceratonia siliqua*, deux autres espèces : *Ceratonia oreoethauma* qui est natif d'Arabie (Oumane) et *Ceratonia somalensis* originaire du nord de la Somalie (**Battle et Tous, 1997**).

1-2-Description botanique

Le caroubier est un arbre ou arbuste sclérophylle, sempervirent, qui peut atteindre 7 à 20 m de hauteur et une circonférence à la base du tronc de 2 à 3m. Il a une écorce lisse et grise lorsque la plante est jeune ; et brune et rugueuse à l'âge adulte. Son bois de couleur rougeâtre est très dur. Le caroubier peut vivre jusqu'à 200 ans (**Ait Chitt et al., 2007**).

C'est une espèce dioïque dont les fleurs sont initialement bisexuelles puis deviennent habituellement unisexuées au cours du développement floral (**Thomas et Metha, 1983**).

Par conséquent le semis donne des plants avec un ratio de 50% de femelles et 50% de mâles improductifs (**Ait Chitt et al., 2007**). Les feuilles persistantes, se caractérisent par un pétiole sillonné sur la face interne et un rachis portant 8 à 15 folioles, opposées, elles sont coriaces,

entières, ovales à elliptiques, paripennées, légèrement échancrées de couleur verte (**Ait Chitt et al., 2007**).

Les fleurs sont verdâtres, de petite taille (6 à 16 mm de longueur), spiralées et réunies en un grand nombre pour former des grappes droites et axillaires, plus courtes que les feuilles à l'aisselle desquelles elles se sont développées (**Battle et Tous, 1997**). Les fleurs femelles sont constituées d'un pistil court et recourbé avec un petit ovaire (5 à 7mm) bicarpellé.

Les stigmates sont bilobés et couvertes par des papilles. À la base, le disque nectarifère est entouré de 5 à 6 sépales rudimentaires. Par contre, la corolle est absente et les fleurs mâles portent 5 étamines (**Aafi, 1996**).

La floraison apparaît en hiver, sur le vieux bois. Le développement du fruit est très long. Pour arriver à maturité en été, il met généralement entre 9 et 10 mois. Il est de grande taille : de 10 à 20 cm de longueur, et de 2 à 3 cm de largeur. Il est vert puis brun, et, au moment de la maturité, brun foncé à noir. Il est sinueux sur les bords, aplati et présente un tissu pulpeux, sucré, rafraîchissant renfermant de 12 à 16 graines brunes soit 10 à 20 % du poids de la gousse en fonction de cultivar et du climat (**Rejeb, 1995**).

1-3-Reproduction biologique

De nombreux aspects liés à la reproduction biologique du caroubier, tel que la floraison, la pollinisation, la compatibilité entre les différents sexes ou encore entre les cultivars, ainsi que la fructification, restent largement inconnus (**Battle et Tous, 1997**). Le caroubier est dioïque, parfois hermaphrodite. Les pieds mâles sont stériles et improductifs. Cet aspect a été bien étudié par **Schroeder (1959)** ; il est considéré comme le seul arbre méditerranéen qui fleurisse en été : d'août à octobre (**Aafi, 1996**) ou en automne : de septembre à novembre (**Fournier, 1977**). Cependant, le temps et la durée de la période de floraison dépendent des conditions climatiques, ce qui est le cas pour la plupart des arbres fruitiers (**Battle et Tous, 1997**).

La pollinisation des fleurs du caroubier est, en grande partie, assurée par les insectes (**Retana et al., 1990, 1994; Rejeb et al., 1991; Ortiz et al., 1996**) mais aussi par le vent (**Passos de Carvalho, 1988; Tous et Battle, 1990**). Les fleurs sécrètent des substances nectarifères dont la quantité et la contenance en sucre sont élevées dans la fleur femelle par rapport à son homologue mâle (**Ortiz et al., 1996**). La fructification, chez le caroubier, se situe entre juillet et décembre de l'année qui suit la floraison, selon les régions et les cultivars (**Aafi, 1996**).

2-Origin et répartition géographique

2-1-Origin du caroubier

Le centre d'origine du caroubier demeure obscur puisqu'il existe plusieurs hypothèses émanant d'un désaccord entre différents auteurs. **Vavilov (1951)** situe l'origine du caroubier dans la région Est de la méditerranée (Turquie, Syrie et Palestine), tandis-que des études archéobotaniques menées à partir des restes carbonisés de bois et de fruits ont démontré que le caroubier était présent dans la méditerranée orientale au néolithique (4000 ans av. J.C.), période initiale de la domestication des espèces ligneuses (**Estrada et al., 2006**). Cependant, le caractère thermophile de cette espèce et sa présence sur les hauts plateaux du Yémen donne à penser que son origine peut être située dans la région Sud de l'Arabie (**Liphschitz, 1987**).

La découverte de la nouvelle espèce de caroubier *Ceratonia oreothauma* Hillc., Lewis and Verde., considérée comme une espèce plus ancienne que *Ceratonia siliqua* et survivant dans le montagnes de l'Arabie (Oman) et de la Somalie (**Hillcoat et al., 1980**) semble appuyer la dernière hypothèse.

Par ailleurs, **Zohary (1973)** considère le caroubier comme une relique procédant de la flore Indo-Malaisienne dont sont aussi issus les groupes *Olea*, *Laurus*, *Myrtus*, et *Chamaerops*. Cette dernière hypothèse selon laquelle le caroubier aurait une origine tropicale, trouve ses arguments à partir de caractéristiques physiologiques importantes propres à l'espèce notamment, l'existence d'une période de floraison tardive (Juillet-Octobre), inhabituelle chez les arbres et arbustes méditerranéens et la présence d'un contenu enzymatique photosynthétique de "type C4" (caractéristique des plantes de climat chaud) durant les premières étapes de son développement et qui par la suite est inhibé une fois la plante adulte (**Catarino et Bento-Pereira, 1976**). Aussi, la longévité des feuilles qui est quasiment le double que chez la majorité des espèces méditerranéennes les plus communes tend à confirmer l'origine tropicale de la plante (**Catarino, 1993**).

2-2-Répartition géographique du caroubier

Le caroubier est distribué dans toute la région du bassin méditerranéen. On le rencontre actuellement dans une zone allant de l'Espagne et du Portugal jusqu'en Turquie, en Syrie, en passant par le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Lybie, l'Egypte, le Liban, la Grèce, l'Italie et la France (figure 1). Plus récemment, le caroubier a été introduit dans de nombreux autres pays à climats chauds et semi-arides, principalement aux Etats-Unis (Floride et Californie), l'Australie et l'Argentine, l'Arizona, le Chili, le Mexique et l'Afrique du Sud (**Battle et Tous, 1997**).



Figure 1. Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde (Batlle et Tous, 1997).

2-3-Caroubier en Algérie

En Algérie, comme dans plusieurs pays méditerranéens, le caroubier croît dans les conditions naturelles à l'état sauvage sous des bioclimats de type subhumide, semi-aride et aride. Il est généralement en association avec l'olivier et le lentisque (Benmahioul *et al.*, 2011).

La superficie cultivée totale du caroubier en Algérie a fortement baissé, passant de 11000 ha en 1961 à 1000 ha en 2011 (FAOSTAT). En 2009, cette superficie était de 927 ha dont 645 ha, soit 69,58 % de la superficie totale se trouvent dans la wilaya de Bejaïa. La production nationale de la caroube est estimée à 33841 Qx et se concentre principalement dans la wilaya de Bejaïa 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%).

La superficie cultivée du caroubier dans le Nord-ouest de l'Algérie (comprenant la wilaya de Tlemcen et Mascara) ne représente que 6 ha, soit 0,65 % de la superficie nationale, tandis que la production de la caroube est de seulement 0,39 % (Mahdad, 2013).

3- Morphologie et description des principales parties de l'arbre

Ceratonia siliqua est un arbre typiquement méditerranéen qui croît sous les climats chauds et peut atteindre une quinzaine de mètres de hauteur (Quézel et Santa, 1962). Il possède une cime très étalée et arrondie. Le tronc est épais, très crevassé, tortueux comme l'olivier, car le caroubier pousse aussi lentement et vit longtemps, avec un tronc dont la base peut atteindre 2 à 3 mètres de circonférence (Benmahioul *et al.*, 2011).

Cette espèce ligneuse a une écorce lisse et grise à l'âge juvénile et brune, rugueuse à l'âge adulte. Son bois est blanc-jaunâtre lorsqu'il est jeune et devient rose veiné puis rouge foncé et dur en vieillissant. Il est très apprécié en ébénisterie, marqueterie, armurerie charronnage et aussi pour la fabrication du charbon (**Benmahioul et al., 2011**).

3-1- Système racinaire

Cet arbre développe un système racinaire pivotant, qui peut atteindre 18m de profondeur (**Aafi, 1996 ; Gharnit, 2003**).

3-2- Feuilles

Les feuilles de caroubier sont assez grandes (10 à 20 cm de longueur), composées de 4 à 10 folioles ovales ou elliptiques (3 à 7 cm de longueur) opposées, de couleur verte luisante à la face supérieure et vert pâle à la face inférieure. Le caroubier perd ses feuilles tous les deux ans, au mois de juillet.

3-3- Fleurs

Le caroubier est une espèce dioïque et rarement monoïque (**Linskens et Scholten, 1980 ; Batlle et Tous, 1988**). Les fleurs groupées en grappes latérales sont de couleur pourpre et parfois rougeâtre. La morphologie florale chez cette espèce est très complexe: on peut distinguer des inflorescences mâles avec des étamines courtes ou longues, des inflorescences femelles avec des étamines rudimentaires et, occasionnellement, des inflorescences hermaphrodites (**Benmahioul et al., 2011**).

La floraison chez le caroubier a lieu en automne sur le bois de deux ans et les vieux bois. Cette espèce est considérée comme la seule dans la région méditerranéenne qui fleurisse en été. Les floraisons femelles apparaissent à partir de juillet, tandis que les fleurs mâles apparaissent d'août à septembre. Les pieds femelles doivent être pollinisés par des sujets mâles pour produire, à partir de l'âge de 15 ans, des fruits comestibles et sucrés: les caroubes. La pollinisation est généralement anémophile (**Passos de Carvalhos, 1988**), mais elle est assurée aussi par les insectes (entomophile) (**Retana et al., 1990, 1994 ; Rejeb et al., 1991; Ortiz et al., 1996**). Les sujets hermaphrodites pourraient être envisagés en tant que pollinisateurs et producteurs.

3-4- Fruit

Les caroubes sont réunies en grappes simples. Ce sont des gousses indéhiscentes, de grande taille : 10 à 30 cm de longueur, 1,5 à 3 cm de largeur et de 1 à 2 cm d'épaisseur.

Chaque caroube pèse environ 15 à 30 grammes. La gousse est séparée à l'intérieur par des cloisons pulpeuses et renferme 12 à 16 graines brunes dont la longueur et la largeur sont respectivement de 8 à 10 mm et de 7 à 8 mm (**Batlle et Tous, 1997**).

La couleur de la caroube est d'abord verte, puis elle devient brune foncée à maturité. Pour arriver à cette maturité, la caroube nécessite généralement 9 à 10 mois, correspondant à trois stades de développement :

- le premier stade est caractérisé par une lente croissance en automne et en hiver ;
- le second correspond à un développement actif et une croissance rapide des gousses au printemps ;
- au dernier stade, la gousse mûrit et se durcit en juin-juillet.

3-5- Graines

Les graines sont ovoïdes, rigides, d'une couleur qui dépend la variété, elle peut être marron, rougeâtre, ou noir dont la longueur et la largeur sont respectivement de 8 à 10 mm et de 7 à 8 mm, respectivement (**Batlle et Tous, 1997**).

En raison de leur uniformité, les graines du caroubier sont appelées "carats" et ont pendant long temps servi aux joailliers comme unité de poids pour la pesée des diamants, des perles et d'autres pierres précieuses (**Rejeb, 1995**). Ils ont attribué aux arabes l'utilisation des graines entières du caroubier comme unité de poids dans le commerce de substances et matériels précieux. Il apparait donc que "elkilate" en espagnol ou "carat" en français (0,2 g) vient du nom arabe (Al-karat ou qirât) donné à la graine, laquelle est caractérisée par sa relative constance de poids (**Albanell, 1990**).

4- Intérêt et utilisation de caroubier

Le caroubier est cultivé depuis longtemps pour divers usages. Ses fruits sont comestibles et sucrés. On tire de la caroube deux principaux produits :

La farine, obtenue en séchant, torréfiant et moulant les gousses après les avoir débarrassées de leurs graines, est employée pour la production industrielle d'alcool par fermentation mais surtout en agroalimentaire comme antioxydant grâce à sa composition riche en polyphénols. En effet, la caroube contient 2 à 20% de composés phénoliques (**Owen et al., 2003 ; Makris et Kefalas, 2004**), 24 différentes structures principales ont déjà été identifiées et leur teneur déterminées par **Owen et al. (2003)**.

La gomme, extraite de l'endosperme blanc et translucide de la graine, est utilisée dans l'industrie agro-alimentaire, pharmaceutique (principalement contre les diarrhées), cinématographique, textile et cosmétique. 100 kg de graines donnent en moyenne 20 kg de gomme pure et sèche (**Ait Chitt et al., 2007**).

Le caroubier est aussi une plante mellifère et pastorale; son miel est de bonne qualité. Ses feuilles et la pulpe de ses fruits sont riches en unités fourragères, respectivement 0,29 et 0,6 à 0,9 UF/Kg de matière sèche (**Ait Chitt et al., 2007**).

Le caroubier est souvent utilisé pour lutter contre l'érosion des sols, comme brise vent et comme arbre ornemental compte tenu de sa couronne sphérique, et de son feuillage persistant, dense et brillant. Son bois est très apprécié en ébénisterie et pour la fabrication du charbon. L'écorce et les racines sont employées dans le tannage (**Ait Chitt et al., 2007**).

Chapitre II :

La composition chimique de la caroube

La pulpe et les graines sont les deux principaux constituants de la gousse du caroubier et représentent respectivement 90% et 10% de son poids total. Selon plusieurs auteurs, la composition chimique de la pulpe dépend en général, du cultivar, de l'origine et parfois de la période de récolte (**Albanell et al., 1991**).

Selon les travaux d'**Avallone et al. (1997)** et **Bengoechea et al. (2008)**, la gousse de caroube est riche en hydrates de carbone et en fibres, elle contient une faible quantité de protéines et des teneurs négligeables en lipides ; quant à la teneur de la caroube en minéraux, elle est appréciable.

La composition chimique de la graine a été évaluée par **Bouzouita et al. (2007)**, qui a démontré que la graine était pauvre en minéraux, en fibres et en protéines, par contre elle contient une quantité appréciable de lipides.

1-Métabolites primaires

Les métabolites primaires : sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes, les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques (**Ben Khaldi, 2013**).

1-1-Sucres

Les gousses de caroube sont caractérisées par une teneur élevée en sucres (environ 500 g/kg) plus élevée que celle présente dans la betterave ou dans la canne (environ 200g/kg) (**Petit et Pinilla, 1995**). Il est bien connu que le saccharose est le sucre le plus abondant dans la gousse de caroube (**Gubbuk et al., 2010**), suivi par le glucose et le fructose. Les teneurs des autres sucres (xylose, maltose) sont plus faibles et la cellulose et l'hémicellulose représente 18%. Cependant, ces proportions varient selon les auteurs (**Karkacier et Artik, 1995; Kumazawa et al., 2002 ; Biner, 2007**). Ces différences au sein de la littérature sont attribuées à de nombreux facteurs tels, l'origine géographique, les conditions climatiques, la diversité entre les variétés, la récolte et le stockage, et les facteurs technologiques tels que l'extraction et les méthodes d'analyse (**Owen et al., 2003; Papagiannopoulos et al., 2004**).

1-2-Acides aminés et protéines

La farine de gousse de caroube broyée contient à peu près 4,45% de protéines: aspartique (acide aspartique + asparagine), alanine, acide glutamique (acide glutamique + glutamine), leucine et valine; ensemble, représentent 57% de la teneur en acides aminés total des gousses (**Ayaz, 2009**).

La caroubine, protéine insoluble dans l'eau isolée à partir d'embryons de caroube, est un mélange composé d'un grand nombre de protéines polymérisées de taille différente (**Wang et al., 2001, Bengoechea et al., 2008**).

Certains auteurs (**Wang, 2001; Smith, 2010**) indiquent que ce système de protéine possède les mêmes propriétés rhéologiques que le gluten, mais la caroubine a une structure plus ordonnée, avec des changements mineurs dans la structure secondaire lorsqu'elle est hydratée. Il est bien connu que les protéines de germe de caroube ont une composition bien équilibrée en acides aminés (**Bengoechea et al., 2008**). Ces protéines pourraient être utilisées comme ingrédients sains dans les aliments nutraceutiques et peut constituer une nouvelle source de nourriture pour les différents secteurs de population.

1-3-Lipides

La gousse de la caroube présente une faible proportion en lipides (3%) La pulpe contient uniquement 0,4 à 0,6% de lipides (**Avallone et al., 1997 ; Biner et al., 2007**).

1-4-Cendres

Selon plusieurs auteurs (**Albanell et al., 1991; Bravo et al., 1994; Yousif et Alghzawi, 2000; Iipumbu et al., 2008; Yousef et al., 2009**), la teneur en cendres présentes dans la poudre de caroube variait entre 2% et 6% selon le type de caroube.

1-5-Fibres

Les fibres de caroube contiennent une quantité remarquable de tanins condensés et d'autres polyphénols (**Owen et al., 2003**). La fibre de caroube est un des fibres alimentaires ayant la plus forte teneur en polyphénols (**Papagiannopoulos, 2004**).

Certains chercheurs ont rapporté la quantité de fibres comme étant les fibres alimentaires totales (**Bravo et al, 1994; Iipumbu et al, 2008**) tandis que d'autres l'ont qualifiée des hémicelluloses, des celluloses ou simplement des fibres brutes (**FAO, 1991**). La différence dans la quantité de fibres rapportés dans la poudre de caroube est très probablement dû aux différentes méthodes appliquées pour calculer les différentes fractions de fibres (**Iipumbu et al., 2008**).

Les fibres de caroube augmentent le métabolisme des lipides en favorisant leur utilisation donc leur oxydation ; par conséquent ; les fibres de caroube exercent une bonne influence sur l'énergie ingérée et le poids corporel (**Gruendel et al., 2007**).

2-Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires: sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont synthétisés par la plante en réaction à des stimuli extérieurs et ont souvent une fonction régulatrice dans le cadre d'une série de réactions physiologiques et métaboliques en cascade à la suite d'un stress environnemental ou d'une attaque par des ravageurs. Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (**Brandt et Colt, 2001; Charles, 2005**).

On trouve les métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue les composés phénoliques ; ce sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies de métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (**Macheix et al., 2005**).

La désignation générale «*composés phénoliques*» concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (**François, 2010**).

Plus de 5000 molécules polyphénoliques, dont 2000 flavonoïdes, ont été identifiées et leur nombre est toujours en augmentation (**Tsao et Yang, 2003**). Les polyphénols sont présents dans toutes les plantes mais leur nature et teneur varient largement d'une espèce à l'autre, et donc d'un aliment à l'autre (**Grolier et al., 2001**).

Les principales sources alimentaires de polyphénols sont les fruits et les légumes, les huiles et les plantes aromatiques ainsi que les boissons comme le thé, le café, la bière et le vin (**Socynska-Kordala et al., 2001**).

Les polyphénols se trouvent dans les gousses de caroube sous forme de granules brun clair, de taille entre 100 et 500 µm. Ces granules se trouvent dans la fraction fibreuse de la pulpe de caroube et peuvent être extraits par des solvants polaires, à haute température. La section d'une gousse de

caroube examinée au microscope électronique montre la présence de larges cellules parenchymateuses remplies de granules de tannin ressemblant à des pièces d'ambre en microscopie optique. En analyse par diffraction à rayons X, les granules ne possèdent pas de structure cristalline (Wursch *et al.*, 1984).

Selon Haslam (1998), les polyphénols se caractérisent par:

- **leur solubilité dans l'eau;** bien que les polyphénols purs des plantes soient difficilement solubles dans l'eau à l'état naturel, les interactions polyphénol-polyphénol assurent une solubilité minimale en milieu aqueux. Les tannins peuvent être dissous par des solvants organiques comme les alcools ou l'acétone ;
- **leur masse moléculaire;** les polyphénols naturels possèdent une masse moléculaire entre 500 g.mol⁻¹ et 3000-4000 g.mol⁻¹. En général, la masse moléculaire des polymères de proanthocyanidines solubles se situe entre 1000 et 6000 g.mol⁻¹. Cependant, dans certains tissus végétaux, la masse moléculaire peut atteindre 20 000 g.mol⁻¹ (≈ 40 unités flavan-3-ol) ;
- **leur structure;** pour une masse moléculaire relative de 1000 g.mol⁻¹, les polyphénols possèdent entre 12 et 16 groupes phénoliques et entre 5 et 7 noyaux aromatiques ;
- **leur complexation intermoléculaire;** les polyphénols possèdent la capacité de précipiter quelques alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines en solution.

2-1- Principales classes de composés phénoliques

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories: les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Pascual-Reguera, 1997).

2-1-1- Composés phénoliques simples

2-1-1-1- Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes, les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (Thompsen et Mottola, 1984).

2-1-1-2- Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (Souza, 2004). Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les

composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement *UV*, les herbivores et les attaques microbiennes (**Korkina et Afanas'ev, 1997**). Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin, etc.).

- **Flavonols**

Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison en C2-C3. Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides. Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses: D-glucose et L-rhamnose (**Korkina et Afanas'ev, 1997**). Leurs principaux représentants sont la quercétine, le kaempférol et la rutine (**Simić et al., 2007**).

2-1-2-Composés phénoliques complexes (tannins)

Les tannins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (**Karamać et Pegg, 2009**). Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines (**Manach et al., 2004**), d'où leur capacité à tanner le cuir. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tannins condensés (**Monteiro et al., 2007**).

2-1-2-1- Tanins hydrolysables : ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique (**Cheng et al., 2007**). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (**Nagata et al., 1992**).

2-1-2-2- Tannins condensés: les tanins condensés ou pro-anthocyanidols résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavanes (flavanes ol-3, flavane ol-4, flavane diol – 3,4). Ils sont désignés aussi sous le nom de tanins « catéchiques » (**Bruneton, 1997**).

En s'hydrolysant, les tannins condensés ne donnent pas de composés simples comme le glucose ou les acides phénols comme c'est le cas pour les tannins hydrolysables, mais plutôt des anthocyanidines (**Andersen et Markham, 2006**).

3-Extraction des polyphénols du caroubier

Pour l'analyse des polyphénols, on recommande généralement l'utilisation d'échantillons frais au lieu des échantillons séchés à l'air ou lyophilisés (**Mueller-Harvey, 2001**). **Okuda et al. (1989)** démontrent que certains composés phénoliques se décomposent rapidement s'ils sont exposés à la lumière ou à des températures élevées. Pour le séchage au four, des températures inférieures à 40°C sont utilisées. Il est à noter aussi que les tannins hydrolysables sont relativement stables à l'air et à

température ambiante tandis que les tannins condensés ont tendance à s'oxyder dans les mêmes conditions (**Okuda et al., 1989**). Les tannins complexes et de grande taille sont facilement dégradés en tannins de taille inférieure sous l'action de l'eau, des acides dilués et d'autres solvants comme le méthanol (**Mueller-Harvey, 2001**).

Pour l'extraction, plusieurs solvants peuvent être employés. L'hexane ou le dichlorométhane sont utilisés préalablement pour éliminer les lipides et la chlorophylle (**Mueller-Harvey, 2001**).

Une étude effectuée récemment par **Avallone et al. (1997)** étudie l'efficacité de différents solvants pour l'extraction des tannins. L'acétone pure est inefficace pour l'extraction des tannins tandis que l'acétone à 70% s'avère meilleure que le méthanol à 70% et permet d'extraire la majorité des polyphénols.

4-Méthodes de dosage des polyphénols

4-1- Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**). Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

4-2- Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Zhou et al., 2005**).

5-Polyphénols du caroubier

Les polyphénols se trouvent dans les gousses de caroube sous forme de granules brun clair, de taille entre 100 et 500 μm . Ces granules se trouvent dans la fraction fibreuse de la pulpe de caroube et peuvent être extraits par des solvants polaires, à haute température (**Wursch 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 ressemblant à des pièces d'ambre en microscopie

optique. En analyse par diffraction à rayons X, les granules ne possèdent pas de structure cristalline (Wursch *et al.*, 1984).

6- Caractéristiques des polyphénols du caroubier

Peu d'études ont été consacrées à l'analyse des polyphénols de la caroube. Les teneurs et la composition en polyphénols diffèrent d'un auteur à un autre. Les fluctuations obtenues doivent être dues à différents facteurs comme la variété de la caroube, le pays producteur, la partie analysée (pulpe, fibre, partie soluble ou partie résiduelle insoluble), les méthodes utilisées pour l'extraction des polyphénols ou leur détermination (Marakis, 1996).

Une gousse de caroube contient, en moyenne, 19 mg de polyphénols totaux par g de matière fraîche, 2,75 mg/g de tannins condensés et 0,95 mg/g de tannins hydrolysables. À noter que des concentrations beaucoup plus élevées (40,8 mg/g de polyphénols totaux, 16,2 mg/g de tannins condensés et 2,98 mg/g de tannins hydrolysables) sont détectées dans le germe alors que ces composés se trouvent à l'état de traces dans la graine (Avallone *et al.*, 1997).

Les polyphénols de la caroube ont une masse moléculaire très élevée rarement rencontrée chez d'autres plantes. Près de 50% des tannins sont de masse moléculaire comprise entre 3200 et 3600 Dalton, l'autre moitié se rencontre sous forme de granules de plus haute masse moléculaire avoisinant 32 000 Da (Würsch *et al.*, 1984).

Les principaux polyphénols décrits dans les gousses de caroube sont insolubles, hautement polymérisés, appartenant aux tannins condensés contenant un noyau flavane (Würsch *et al.*, 1984). Le degré de polymérisation des flavanols, estimé par Kumazawa *et al.* (2002) est de 31,1% et les flavanols constituent 23% des polyphénols totaux.

7-Activité antioxydante des polyphénols

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (Dacosta, 2003).

L'auto-oxydation (oxydation non enzymatique par O₂) est un des principaux phénomènes de dégradation des lipides polyinsaturés présents dans divers produits alimentaires tels que les huiles végétales et leurs dérivés (Moran *et al.*, 1997). Ce phénomène intervient typiquement au cours des

traitements industriels et domestiques : procédés thermiques, conditionnement, stockage et cuisson (**Argyri et al., 2005, Kapsokefalou et al., 2007**).

Une voie pour inhiber les évolutions oxydatives des lipides consiste à ajouter aux préparations alimentaires des antioxydants capables de piéger rapidement les radicaux peroxydes lipidiques propagateurs des chaînes radicalaires et/ou les espèces initiatrices de l'oxydation (**Goodman et al., 2012 ; Yasarawan et al., 2013**).

Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'années un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs (**Abi Azar, 2008**).

En effet, les polyphénols font partie de ce que l'on appelle les phyto-micronutriments. Ce sont les antioxydants les plus abondants dans les aliments puisque l'homme en consomme environ 1 g/jour (**Scalbert et Williamson, 2000**), soit près de dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de vitamine E ou de caroténoïdes (**Grolier et al., 2001**).

Les polyphénols neutralisent les radicaux libres et contribuent ainsi à prévenir diverses pathologies dégénératives telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies du système nerveux central ou les déficiences immunitaires, etc. (**Jovanovic et al., 1998; Torres et Bobet, 2001 ; Vaher et Koel, 2003**).

Ils ont de grandes capacités antioxydantes due à leur noyaux phénol, ils sont 15 à 30 fois plus efficace que les phénols simples. Les tannins peuvent également former des complexes avec d'autres polymères naturels comme les acides nucléiques et les polysaccharides (**Talbi, 2015**).

Materiel et Méthodes

Ce travail est réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de contrôle de qualité à l'université de Jijel pendant un mois et 15 jours dont le but principal est de doser les composés phénoliques des gousses vertes du caroubier et d'évaluer leur activité antioxydante par deux méthodes différentes.

1-Origine des gousses et obtention des poudres de caroube

Les gousses vertes de caroube sont récoltées de trois régions de la wilaya de Jijel, El Emir Abdelkader, Chekfa et Texenna. Cette récolte est effectuée durant le mois de mars. Ces gousses sont ensuite congelées dans des boîtes hermétiquement fermées à -18°C afin de les conserver jusqu'au début de notre travail.

Avant leur utilisation, les gousses sont portées à température ambiante pendant quelques heures, jusqu'à décongélation. Puis elles sont débarrassées de leurs graines et broyées à l'aide d'un broyeur. La poudre obtenue est conservée à 4°C dans des flacons de couleur sombre. Cette poudre sera utilisée pour toutes les expériences.

2-Caractérisation morphologique des gousses

Chaque échantillon élémentaire pèse 1kg. Trois paramètres différents ont été mesurés : la longueur, la largeur et l'épaisseur de chaque gousse, à l'aide d'un pied à coulisse.

Le nombre de gousses dans 1kg de chaque échantillon est également déterminé.

3-Caractérisation physicochimique des poudres de la caroube

3-1-Détermination du pH

1g de poudre est dilué dans 10ml d'eau distillée. Le pH a été déterminé en utilisant un pH-mètre préalablement étalonné par des solutions tampon 4 et 7. Tremper l'électrode et lire le pH à 25°C (AOAC, 1995).

3-2-Détermination de l'acidité titrable (AOAC 920.92, 2005)

On prélève à la pipette 25 ml de la solution et le verse dans un bécher ; quelques gouttes de phénolphthaléine sont ajoutés tout en agitant, la titration est effectuée par une solution d'hydroxyde de sodium 0.1 N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

L'acidité est déterminée par la formule suivante :

$$A \% = \frac{(250 \cdot V1 \cdot 100)}{(m \cdot V \cdot 10)} \cdot 0,06 = 150 \frac{V1}{m \cdot V}$$

Avec :

m : Masse de la prise d'essai (g),

V : Volume du filtrat pris pour le titrage (ml),

V₁ : Volume de la solution d'hydroxyde de sodium à 0.1 N utilisé (ml),

0,06 : Facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide acétique.

3-3-Détermination de l'humidité (AOAC, 2000)

La teneur en eau représente « la quantité d'eau perdue par une substance lorsqu'on l'amène en équilibre varié avec une pression de vapeur d'eau nulle (HR=0%) dans des conditions telles que des réactions perturbatrices éventuelles soient évitées.

Peser exactement 5g de l'échantillon et le mettre dans une capsule préalablement séchée et tarée, porter la capsule à l'étuve réglée à 105°C. Ensuite cette portion est laissée refroidir puis pesée. Les opérations de chauffage, de refroidissement et de pesage sont répétées plusieurs fois et ceci en utilisant des périodes successives de 15 min jusqu'à ce que la perte en masse entre deux pesées successives est nulle.

La teneur en eau est calculée selon la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{P_1 - P_2}{P_1 - P_0} \times 100$$

Avec:

H(%) : Humidité,

P₀= poids de la capsule d'essai,

P₁= poids de la capsule+ échantillon humide,

P₂=poids de la capsule + échantillon après étuvage.

3-4-Détermination de la matière sèche (AOAC, 1990)

La matière sèche est définie comme étant le résidu d'un aliment restant après l'élimination de l'eau, dans des conditions expérimentales données la somme de la teneur en eau et en matière sèche représente la totalité de l'aliment.

2 à 2,5 g de chaque échantillon broyé est pesé dans un creuset en porcelaine préalablement taré. Il est ensuite mis à l'étuve à 105 °C jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Le pourcentage de matière sèche est déterminé par la relation:

$$\%MS = M_{\text{sec}}/M_i \times 100$$

M_i = masse de l'échantillon initial (g),

M_{sec} = masse de l'échantillon sec (g) après passage dans l'étuve à 105 °C.

3-5-Détermination de la teneur en cendres (AOAC, 2000)

L'expression « **cendres totales** » est un terme se rapportant à la partie inorganique d'un échantillon alimentaire.

La minéralisation par voie sèche ou calcination consiste à brûler l'échantillon dans un four à moufle et recueillir le résidu minéral.

Des capsules d'incinération vides sont pesées. Environ 5g de poudre sont ajoutés et la masse de l'ensemble est notée. Les échantillons sont alors soumis à une température de 550°C dans un four à moufle pendant une nuit. Après refroidissement dans un dessiccateur, les capsules contenant les cendres sont pesées à nouveau.

La teneur en cendres des échantillons est calculée suivant la formule suivante :

$$C (\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

Avec :

$C(\%)$: teneur en cendres,

M_0 : masse en g de la capsule vide,

M_1 : masse en g de la capsule et les échantillons avant incinération,

M_2 : masse en g de la capsule avec les cendres (après incinération).

3-6-Détermination de la teneur en matière grasse (AOAC, 2000)

L'extraction par solvant organique, spécifique pour la détermination du taux de la matière grasse est réalisée avec un appareil de type Soxhlet. À la fin de l'extraction, on peut admettre que toute la matière grasse est transférée dans le solvant.

Pour réaliser cette manipulation, l'échantillon restant après la détermination de l'humidité a été transféré à un dé à coudre et branché le haut de la cartouche avec un tampon de coton dégraissé.

La cosse a été déposée dans un tube d'extraction de la graisse d'un appareil de Soxhlet. Le fond du tube d'extraction a été attaché à un ballon de Soxhlet. On verse environ 75 ml ou plus d'éther anhydre, à travers l'échantillon présent dans le tube dans la fiole.

La partie supérieure du tube de l'extraction des graisses a été fixé au condenseur. L'échantillon a été extrait pendant 16 heures ou plus sur le bain d'eau à 70°C à 80°C.

À la fin de la période d'extraction, la cartouche de l'appareil a été retiré et la plus de l'éther de pétrole est distillé, en lui permettant de le recueillir dans le tube de Soxhlet. L'éther de pétrole a été déversé lorsque le tube était presque plein. Lorsque l'éther de pétrole avait atteint un petit volume, il a été versé dans un petit sec bec à travers un petit entonnoir contenant un bouchon de coton.

Le flacon a été soulevée et filtrée à fond avec de l'éther. L'éther est évaporé sur un bain de vapeur à basse température et est ensuite séché à 100°C pendant 1 heure, refroidi et pesé.

Le pourcentage de gras brut a ensuite été calculé comme suit:

$$\text{Matières grasses brutes (\%)} = \frac{\text{poids de la matière grasse}}{\text{poids de l'échantillon}} \times 100$$

3-7-Détermination de la teneur en protéines (Méthode de Kjeldahl) (AOAC, 2000)

On introduit dans un matras de minéralisation 1 g de poudre et une pincée de catalyseur (sulfate de cuivre et de potassium), puis on ajoute 15 ml d'acide sulfurique pur ; On applique un chauffage progressif : d'abord une attaque à froid pendant 15 mn jusqu'à l'apparition de vapeur blanche d'anhydride sulfurique, puis le chauffage est rendu plus énergique, attaque à chaud pendant 4 à 5 heures. Quand la solution devient limpide, elle est refroidie et complétée à 100 ml avec de l'eau distillée. La distillation est réalisée dans un distillateur semi-automatique (VELP) où l'ajout de 20 ml de lessive de soude à 35 % dans le matras et 25 % d'acide borique dans une fiole de 250 ml est

réalisé. Le dégagement d'ammoniac est récupéré dans une solution d'acide borique contenant l'indicateur coloré ; le réactif de TACHIRO (mélange de bleu de méthylène et rouge de méthyle).

L'excès d'ammoniac est alors dosé par l'acide sulfurique 0.05 N dans un titreux automatique.

La teneur en azote total est déterminée par la formule suivante :

$$\% \text{ Azote Total} = V/V1 \times (N-N') \times 0.5 + 1.4 / P.$$

Avec :

V : Volume de la solution minéralisée (ml),

V' : Volume de la solution de soude ajoutée (ml),

N : Quantité d'acide sulfurique lue après titrage (ml) avec l'acide sulfurique de normalité 0,05 N,

N' : Volume de l'acide sulfurique dépensé dans le titrage du témoin (ml),

P : Poids de la prise d'essai (g).

La teneur en protéines est calculée en multipliant le taux d'azote total N (%) par le coefficient 6,25.

4-Dosage des composés phénoliques

4-1-Préparation de l'extrait méthanolique

La préparation de l'extrait hydro-alcoolique a été effectuée par macération de 5g de poudre dans un mélange méthanol/eau (16:4 V/V), sous agitation douce pendant une nuit à température ambiante. L'extrait méthanolique est récupéré après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre, le méthanol est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 40°C. Permettant ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur brune foncée, qui est considéré comme étant l'extrait brut (**Avallone et al., 1997**).

4-2-Dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre *UV-Vis* en utilisant l'essai de Folin- Ciocalteu. Cet essai est basé principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique phosphomolybdique (réactif de Folin) dans une solution alcaline, selon le protocole légèrement modifié de **Wong et al. (2006)**.

La solution mère a été préparée en dissolvant 10 mg de l'extrait de chaque échantillon avec 10 ml du méthanol.

Brièvement 300µl de chaque extrait ont été ajoutés à 1500µl de réactif de Folin-Ciocalteu dix fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes.

Après l'incubation 1200 µl de la solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ (7.5%) ont été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon, l'acide gallique (15.62-250 µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme de matière sèche (µg Eq AG/mg) (annexe 2).

4-3-Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes dans les extraits a été déterminée par la spectrophotométrie en utilisant la méthode de chlorure d'aluminium (**Zhou et al., 2005**).

Un mélange de 1ml de la solution 2% trichlorure d'aluminium et 1ml d'extrait est incubé à température ambiante pendant 10min. Après cette durée d'incubation l'absorbance du mélange est mesurée à 430 nm contre un blanc du méthanol (**Miliauskas et al., 2004**).

La concentration des flavonoïdes est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon, quercétine (3.12-50 µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents de quercétine par milligramme de matière sèche (µg Eq Q/mg) (annexe 2).

4-4-Dosage des flavonols

Un mélange de 2ml de la solution 2% trichlorure d'aluminium, 2ml d'extrait (1mg/ml) et 3ml d'acétate de sodium (75g/L) est incubé à 20°C pendant 2h et 30min. Après cette durée d'incubation l'absorbance du mélange est mesurée à 440 nm contre un blanc du méthanol (**Akinmoladun et al., 2007**).

La concentration des flavonols est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon, quercétine (3.12-50 µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents de quercétine par milligramme de matière sèche (µg Eq Q/mg) (annexe 2).

5- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

5-1-Test au DPPH

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) comme un radical libre relativement stable, selon le protocole décrit par **Mansouri et al. (2005)**.

Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**).

Brièvement, 1000 µl des solutions d'extraits ont été ajoutés à 1000 µl DPPH (0.004% préparée dans du méthanol).

Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 1000 µl de méthanol avec 1000µl de la solution méthanolique de DPPH.

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration, le test est répété 3fois. L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

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

5-2-La capacité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate

Cette méthode est basée sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) en présence des composés antioxydants et donc la formation d'un complexe vert de phosphate/Mo (V) à un pH acide (**Sahu et Laloo, 2011**).

0,3 ml de chaque extrait a été mélangé avec 3 ml de solution réactif (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium).

Les tubes contenant la solution de réaction ont été incubés à 95 °C pendant 90 minutes. Ensuite, l'absorbance de la solution a été mesurée à 695 nm en utilisant le spectrophotomètre contre le blanc (méthanol+réactif) (**Mašković, 2012**).

La capacité antioxydante totale a été exprimée en microgrammes d'équivalent d'acide ascorbique par milligramme de matière sèche (annexe 2).

Résultats et Discussion



1-Caractérisation morphologique des gousses

Selon les variétés, les gousses de caroube sont différentes morphologiquement dans leur taille, leur forme, leur qualité, leur couleur et dans leur rendement en graines. Ces variations peuvent être attribuées au génotype de la plante, l'origine géographique, les conditions climatiques et les méthodes de récolte et de stockage (Batlle et Tous, 1997 ; Owen et al., 2003; Biner et al., 2007 ; Naghmouchi et al., 2009; Sidina et al., 2009).

Les paramètres morphologiques: largeur, épaisseur et longueur, et le nombre de gousses dans 1 kilogramme de chaque échantillon sont rassemblés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 01. Caractérisation morphologique des gousses vertes de caroube.

Echantillons	Longueur (cm)	Largeur (cm)	Epaisseur (cm)	Nombre de gousses/1kg
A	09.33±2	1.46±1	0.26±0.01	60±5
C	07.83±2	1.13±1	0.23±0.01	110±5
T	12.83±2	2.26±1	0.56±0.01	50±5

A : El Emir Abdelkader ; C : Chekfa ; T : Texenna.

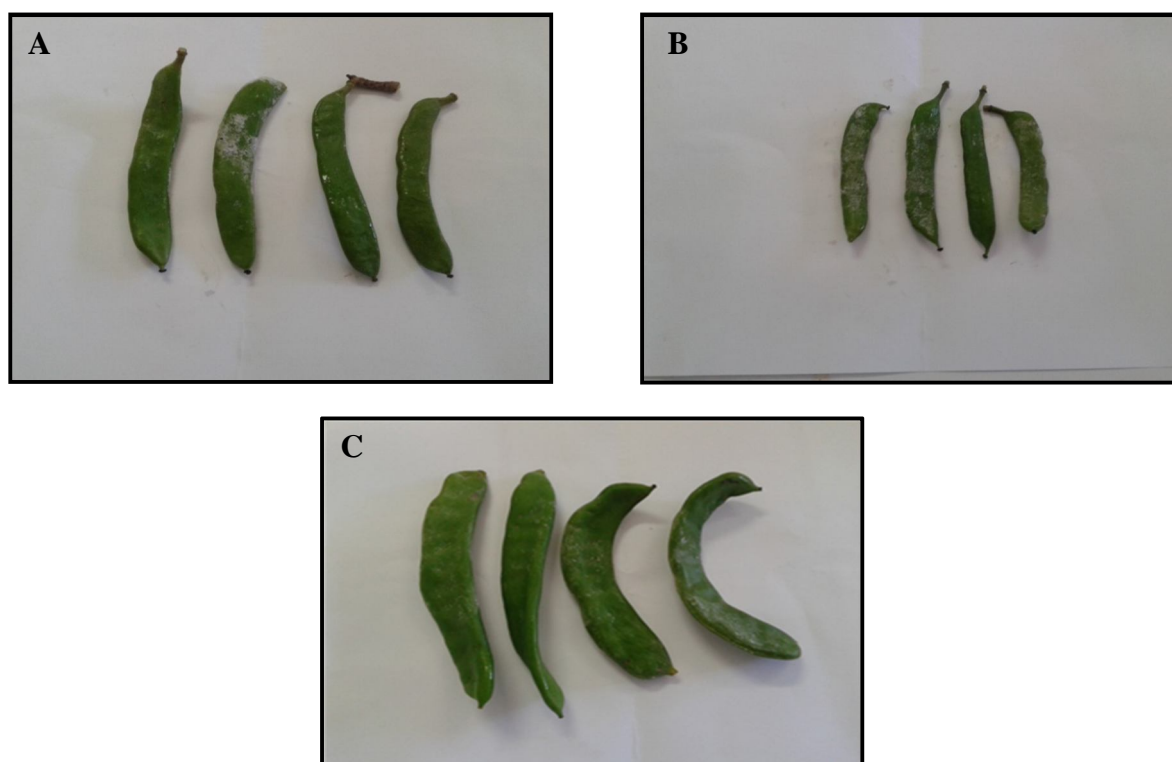


Figure 02. Gousses vertes du caroubier. A : échantillon d'El Emir Abdelkader (A) ; B : échantillon de Chekfa (C); C : échantillon de Texenna (T).

La figure montre clairement que les gousses provenant de la région de Texenna (échantillon T) ont une taille importante par rapport aux deux autres. Les gousses d'El Emir Abdelkader (échantillon A) sont les plus petites.

Selon **Batle (1997)**, la taille des gousses de caroube est de 10 à 20cm de longueur, 1.5 à 3 cm de largeur et de 1 à 2 cm d'épaisseur. Nos résultats de longueur et largeur sont en accord avec ces données alors que l'épaisseur est un peu faible, ce ci est peut être du à la non maturité des gousses.

Yousif et Alghzawi (1999) ont bien établi que les mesures physiques de la totalité des gousses de caroubes indiquent indirectement la qualité des gousses. Ils ont observé que, plus l'épaisseur est élevée, plus le taux de pulpe et de noyau est élevé et par conséquent les gousses ont une meilleure qualité. Sur l'optique de ces données, on peut dire que l'échantillon de Texenna a une bonne qualité par rapport aux deux autres.

On a enregistré un nombre de 110 ± 5 gousses par 1kg de l'échantillon de Chekfa, suivi par celui d'El Emir Abdelkader et celui de Texenna avec des nombres de 60 ± 5 et 50 ± 5 gousses par 1kg, respectivement. Ces résultats sont en relation directe avec ceux des mesures déjà déterminées (longueur, largeur et épaisseur).

2- Caractérisation physicochimique des poudres de la caroube

L'ensemble des tableaux des résultats du contrôle physicochimique des trois échantillons analysés sont en annexe 1.

2-1- Détermination du pH et de l'acidité titrable

L'acidité est une expression conventionnelle de la teneur en pourcentage d'acides gras libres. Il s'agira toujours de l'acidité exprimée en acide oléique (**Boudour, 1998**). Les résultats de la détermination du pH et d'acidité sont résumés dans la figure suivante.

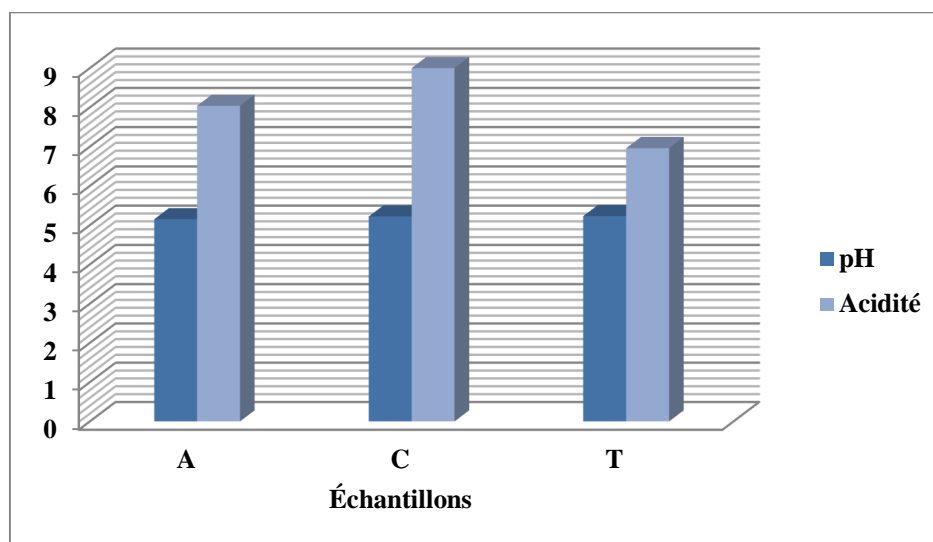


Figure 03. Résultats du pH et d'acidité des trois échantillons.

À partir de ces résultats on trouve que nos échantillons ont un pH acide et très proche à celui trouvé par **Abi Azar (2008)** qui a signalé une valeur de 5 pour ses gousses vertes broyées au laboratoire. Nos résultats sont en accord également avec ceux trouvés par **Nanda et al. (2003)** et **Silva et al. (2009)**.

Les valeurs d'acidité des trois échantillons sont proches. L'échantillon de Chekfa a donné la valeur la plus élevée, $9.00 \pm 0.1^\circ\text{D}$. Ces résultats sont appréciables par rapport à ceux trouvés par **Baston (2016)** qui a enregistré des valeurs très élevées allant de 13.90 ± 2.10 à $36.04 \pm 1.91^\circ\text{D}$. Cette acidité est beaucoup plus liée aux phénomènes de fermentation étant donné que les gousses de caroube sont riches en sucres ce qui implique l'installation de tels phénomènes avec production de substances acidifiantes.

2-2- Détermination du taux d'humidité

Les résultats d'humidité des trois échantillons sont illustrés dans la figure ci-dessous.

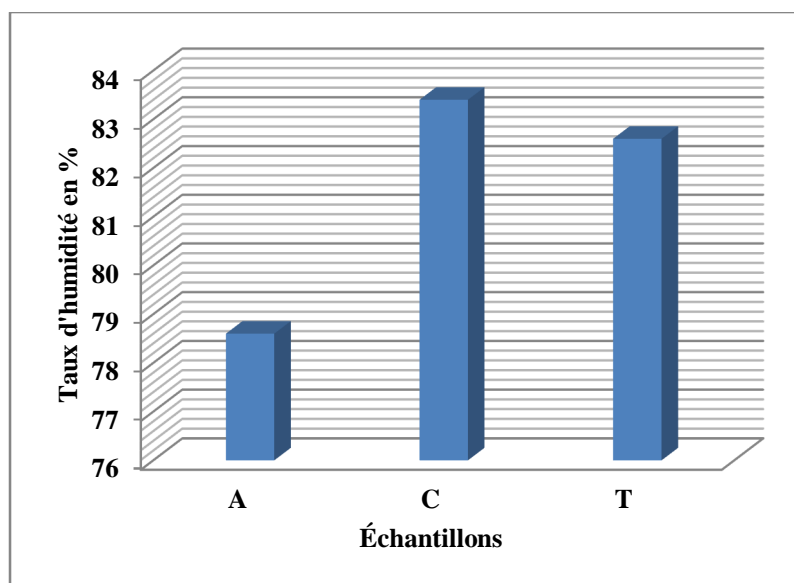


Figure 04. Taux d'humidité des trois échantillons exprimé en %.

Les résultats obtenus montrent que le taux d'humidité des trois échantillons est très élevé avec un taux important enregistré pour l'échantillon de la région de Chekfa suivi par celui de Texenna et enfin celui d'El Emir Abdelkader.

Les études menées sur la poudre de caroube ont montrées que le taux d'humidité de celle-ci varie selon les auteurs de 6% à 15,6% (Avallone et al., 1997; Batlle et Tous, 1997; Yousif et Alghazwi, 2000; Iipumbu et al., 2008; Youssef et al., 2009), alors que les taux trouvés durant notre étude varie de 78.6 à 83.4 % ce qui révèle une augmentation de 5 fois par rapport à ce qui est trouvé. Cette différence peut être due aux conditions environnementales (pluie et humidité), aux cultivars de caroubier mais beaucoup plus à la durée de maturation (nos gousses sont vertes donc non mures), au moment de la récolte (récoltées au mois de mars c'est-à-dire avant trois mois que les gousses deviennent brunes foncées en juillet) ; et à la durée de stockage (stockées au congélateur durant un mois avant le début des manipulations) (Albanell et al., 1991; Avallone et al., 1997; Iipumbu et al., 2008).

2-3- Détermination de la teneur en matière sèche

L'appréciation de la matière sèche repose sur la détermination de la teneur en eau des échantillons à analyser (Gaouar, 2011)

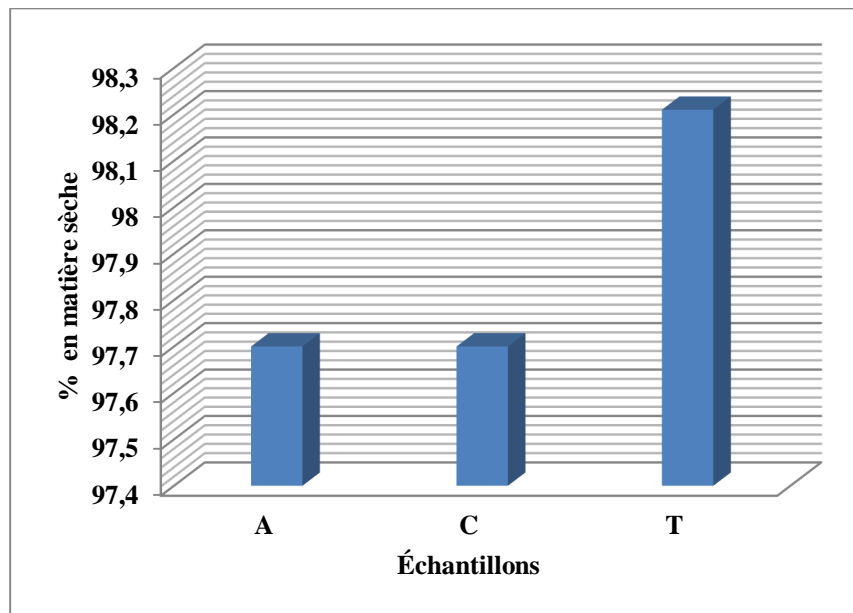


Figure 05. Teneurs de la matière sèche des trois échantillons.

Le taux de la matière sèche des gousses vertes de la caroube des trois régions est très proche (figure 05). On enregistre la même teneur pour les échantillons d'El Emir Abdelkader et de Chekfa, celle de Texenna est la plus élevée parce qu'elle contient plus de pulpe.

Ces résultats se concordent avec ceux de **Gaouar (2011)** qui a trouvé un taux de matière sèche très important dans la pulpe de caroubier de Jijel et qu'il a été estimé entre 88.68% et 90.40%.

2-4- Détermination de la teneur en cendres

La détermination de la teneur en matière minérale nous éclaire sur la qualité nutritionnelle de l'échantillon à analyser. En effet, la teneur en cendres des aliments doit avoir un seuil à ne pas dépasser pour la consommation humaine et animale (**Gaouar, 2011**).

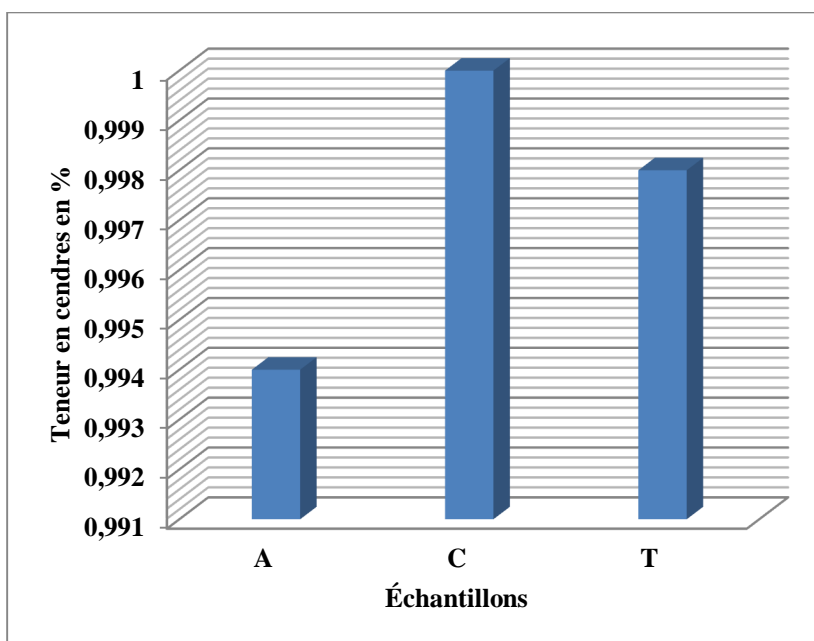


Figure 06. Teneurs en cendres des trois échantillons.

Les teneurs en cendres des trois échantillons sont très proches avec une légère augmentation enregistrée pour l'échantillon de Chekfa (figure 06). Ces valeurs sont inférieures à celles trouvées par plusieurs auteurs (**Limpumbu, 2008 ; Sigge et al., 2011 ; Khelifa et al., 2013; Youssef et al., 2013**) qui ont obtenu des taux compris entre 2 et 6%.

Cette baisse en teneurs de cendres de nos échantillons est probablement due au non maturité des gousses.

2-5-Détermination de la teneur en matière grasse

La teneur en matière grasse est déterminée par la méthode de Soxhlet, notant ainsi que de multiples paramètres influent sur le taux de matière grasse comme la granulométrie, l'humidité, la nature du solvant et la méthode d'extraction utilisée.

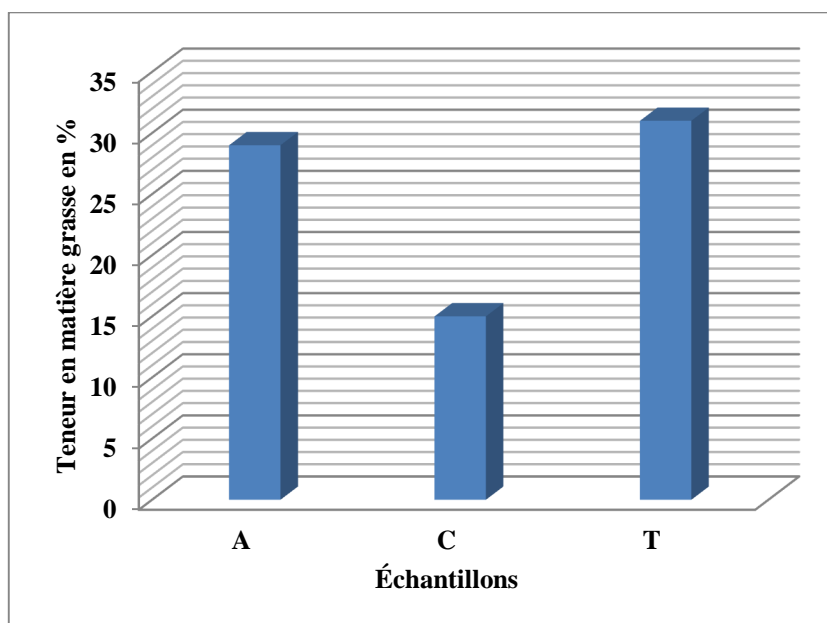


Figure 07. Teneurs en matière grasse des trois échantillons.

Les résultats obtenus révèlent que les gousses vertes de caroubier sont très pauvres en matière grasse avec un pourcentage allant de 0.15 à 0.31%. Ces teneurs sont inférieures par rapport à celles trouvées par **Puhan et Wieling (1996)**, **Avallone et al. (1997)** et **Yousif et Alghzawi (2000)**, qui ont enregistré des valeurs de 0,4% à 0.74% de matière grasse.

Alors que **Gaouar (2011)** a trouvé que la pulpe de caroubier de la région de Jijel a un taux de 2.33% de matière grasse. Cette baisse est liée beaucoup plus au degré de maturation des gousses ainsi qu'aux cultivars de caroubier. D'autres paramètres d'ordre technique ou opératoire peuvent également influencer ce pourcentage de matière grasse à savoir la méthode d'extraction et la nature du solvant utilisé.

2-6- Détermination de la teneur en protéines

La teneur en protéines brutes est l'un des critères utilisés pour évaluer la valeur nutritive d'un aliment. La teneur en protéines dépend sans aucun doute des conditions pédoclimatiques ainsi que du stade de développement de la plante (**Gaouar, 2011**).

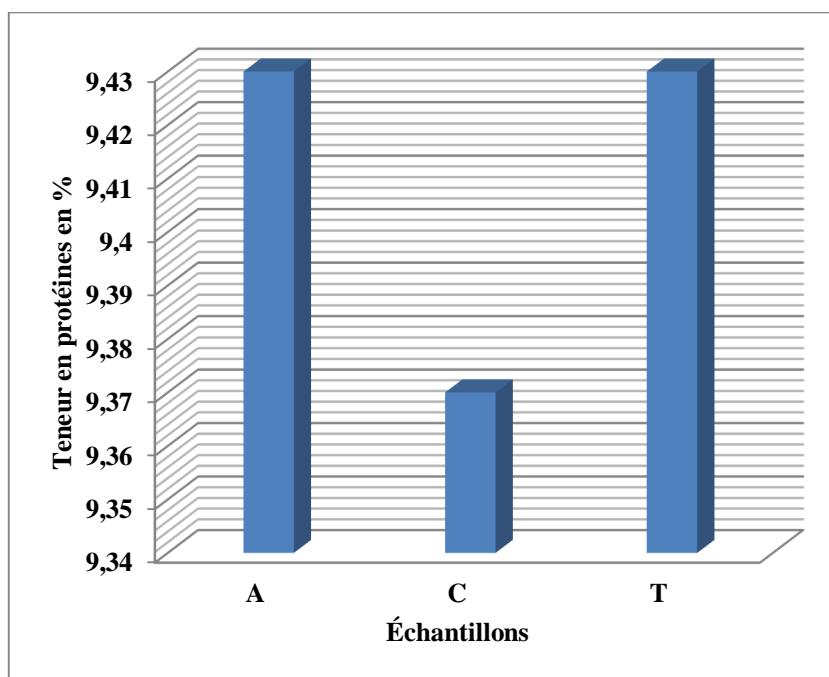


Figure 08. Teneurs en protéines des trois échantillons.

L'évaluation de la teneur en protéines des trois échantillons a montré que l'échantillon d'El Emir Abdelkader et l'échantillon de Texenna ont le même taux de protéines qui est de 9.43% alors que l'échantillon de Chekfa a une valeur de 9.37%.

D'après l'étude menée par **Gaouar (2011)** sur des gousses matures de caroubier de la wilaya de Jijel, la teneur de la pulpe en protéines est de l'ordre de 6.38%. Cette différence de composition en acide aminés est due au stade de maturation. Les gousses en cours de maturation sont en état d'accumulation de réserves c'est pour ça on enregistre cette différence du pourcentage de protéines entre gousses vertes et gousses matures.

Le taux de protéines est également influencé par l'espèce, l'origine géographique et la méthode de culture. En outre, l'étude d'**Abi Azar (2008)** sur les gousses vertes de caroubier libanais a montré un taux de protéines de 1.12% qui est très inférieur à celui enregistré dans notre étude. Ce ci prouve que l'origine géographique a une influence importante sur le taux de protéines.

3- Dosage des composés phénoliques

3-1- Dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu

Le dosage des polyphénols totaux, en équivalent d'acide gallique, des extraits de gousses vertes de caroube a été estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 09.

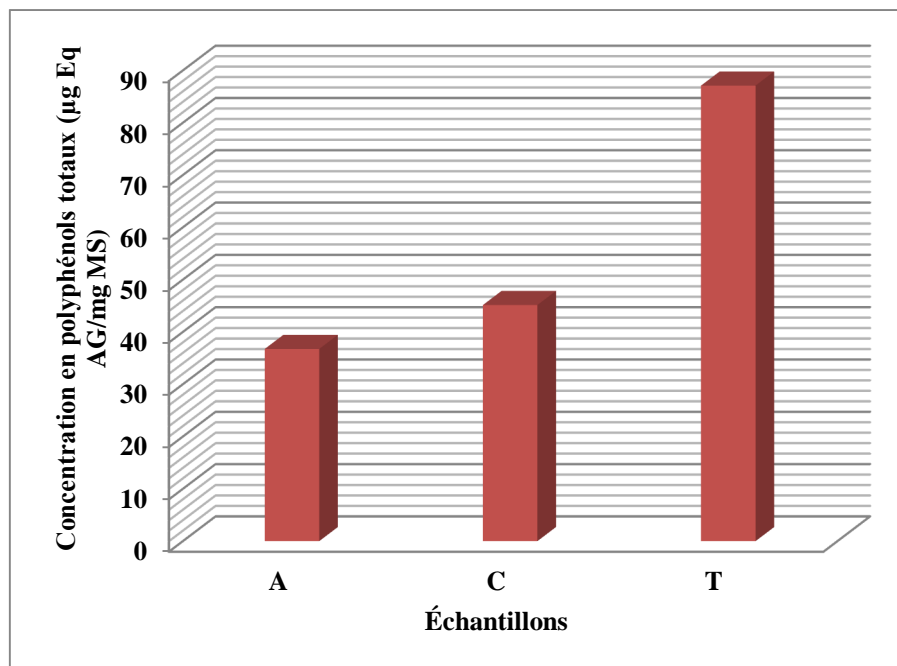


Figure 09. Concentrations en polyphénols totaux des trois échantillons.

D'après les résultats obtenus, la concentration la plus élevée en polyphénols totaux est enregistrée pour l'échantillon de Texenna avec une valeur de $87.10 \pm 0.01 \mu\text{g Eq AG/mg de MS}$.

Les résultats que nous avons obtenu sont supérieurs à ceux d'**Avallone et al. (1997)** et d'**Owen et al. (2003)**, qui ont enregistré une valeur de $1.9 \pm 0.12 \mu\text{g Eq AG/mg}$ de polyphénols totaux, en outre d'autres travaux ont montré que la caroube pouvait contenir beaucoup plus de polyphénols, jusqu'à $13.51 \pm 0.00 \mu\text{g Eq AG/mg}$ (**Ayaz et al., 2007**) et $19.2 \pm 0.00 \mu\text{g Eq AG/mg}$ (**Glew et al., 2003**).

Ces différences observées entre les études peuvent s'expliquer par la provenance géographique, le cultivar, la variété et surtout le degré de maturité. Ceci laisse à penser que les gousses vertes sont plus riches en polyphénols totaux que les gousses mûres, constatation déjà faite par Joslyn et al. en 1968 qui a trouvé que les gousses vertes de caroube contiennent $204.3 \pm 0.77 \mu\text{g Eq AG/mg}$ de polyphénols totaux contre $67.0 \pm 0.77 \mu\text{g Eq AG/mg}$ pour les gousses mûres.

3-2-Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des extraits méthanoliques des gousses vertes des trois échantillons sont présentées dans la figure 10.

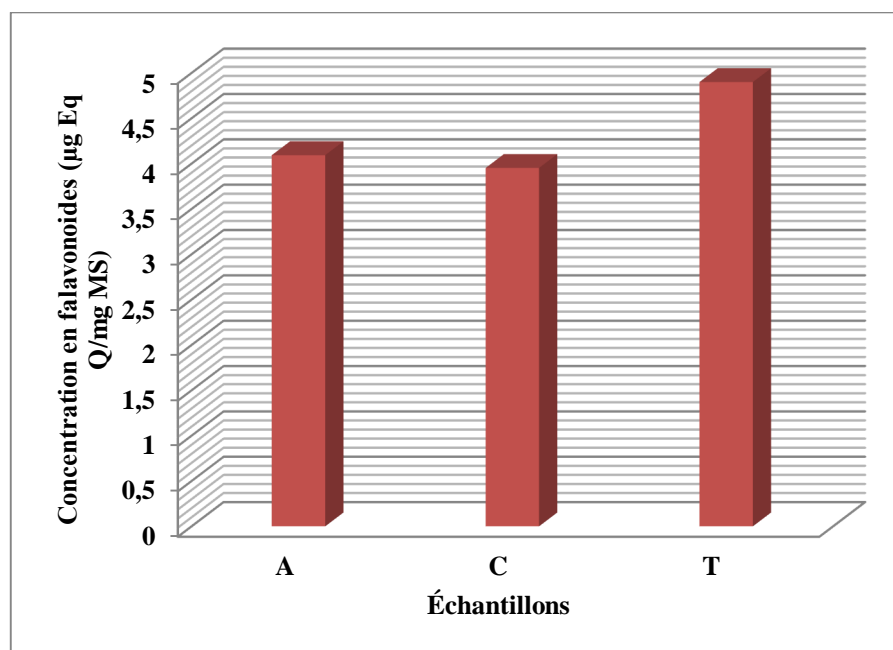


Figure 10.Concentrations en flavonoïdes des trois échantillons.

Les trois extraits ont présenté des teneurs en flavonoïdes significativement proches avec une légère augmentation enregistrée pour l'échantillon de Texenna avec une valeur de $4.899 \pm 0.001 \mu\text{gEq Q/mg de MS}$. Ces résultats sont en accord avec ceux d'**Ortega et al. (2011)** qui a trouvé un taux en flavonoïdes de $3,33 \mu\text{g Eq Q/mg MS}$.

3-3- Dosage des flavonols

Les concentrations en flavonols des trois extraits étudiés sont illustrées dans la figure 11.

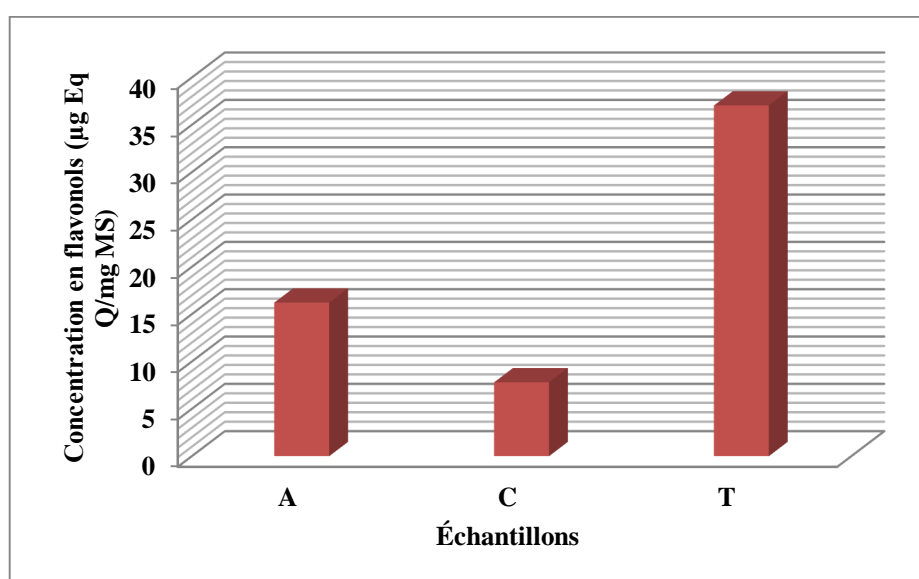


Figure 11.Concentrations en flavonols des trois échantillons.

La teneur la plus élevée est enregistrée pour l'échantillon de Texenna avec une valeur de $37.00 \pm 0.1 \mu\text{g Eq Q/mg}$ suivi par celle de l'échantillon d'El Emir Abdelkader puis celle de l'échantillon de Chekfa avec des valeurs de $16.22 \pm 0.1 \mu\text{g Eq Q/mg}$ et $07.80 \pm 0.1 \mu\text{g Eq Q/mg}$, respectivement.

Il n'existe pas de travaux sur le dosage des flavonols des gousses vertes de caroubier mais d'une manière générale les gousses de caroube contiennent 448mg/kg de polyphénols y compris l'acide gallique, de tannins hydrolysable et condensés, des glycoside-flavonols, et des traces d'iso-flavonoïdes (Papagiannopoulos et al., 2004).

4- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

4-1- Test au DPPH

L'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique des gousses vertes du caroubier vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune.

Les résultats peuvent être exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire ou peuvent également être exprimés en utilisant le paramètre IC_{50} (Markowicz Bastos et al., 2007).

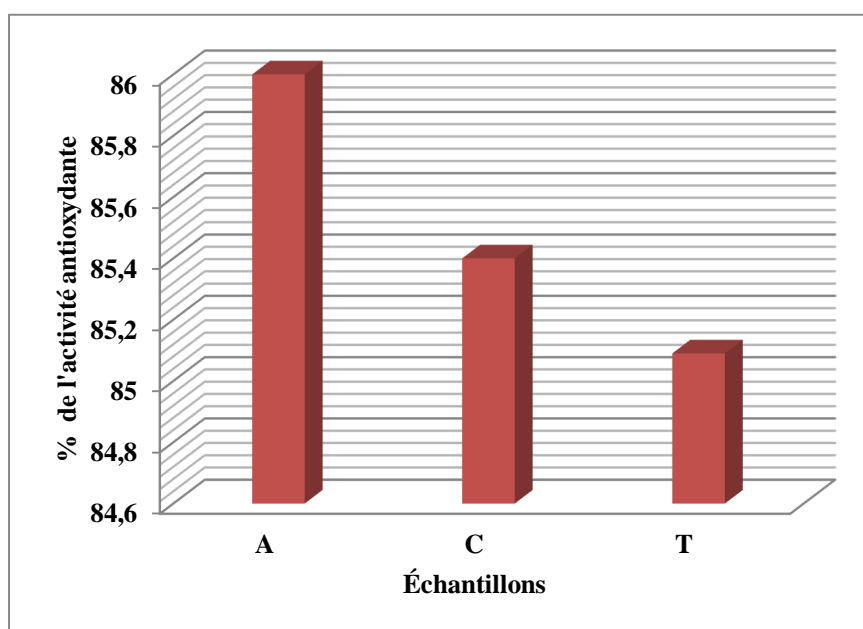


Figure 12. Pourcentage de l'activité antioxydante par le test au DPPH des trois échantillons.

Les pourcentages de l'activité antioxydante des trois échantillons analysés ont révélé une activité antioxydante importante pour l'échantillon d'El Emir Abdelkader avec un pourcentage de $86.00 \pm 0.02\%$ (figure 12), suivi par celui de Chekfa puis de Texenna avec des pourcentages de

85.40±0.02% et 85.09±0.02%, respectivement. Les résultats de pourcentages obtenus sont très proches. Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **El Hajaji et al. (2010)**, qui ont enregistré des valeurs allant de 1.17 à 61.17 %.

Selon **Makris et Kefalas (2004)**, cette activité antioxydante importante des extraits phénoliques des échantillons analysés est due à leur forte teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes particulièrement les pranthocyanidines.

4-2-La capacité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate

La capacité antioxydante totale a été mesurée par un spectrophotomètre en utilisant la méthode de phosphomolybdate qui est basée sur la réduction de Mo(VI) en Mo(V) en présence des antioxydants et la formation d'un complexe phosphate/ Mo(V) d'une couleur verte mesuré à 695 nm. La capacité antioxydante totale des extraits des gousses vertes de caroubier est exprimée en microgrammes d'équivalent d'acide ascorbique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g Eq AA/mg d'extrait}$) (figure 13).

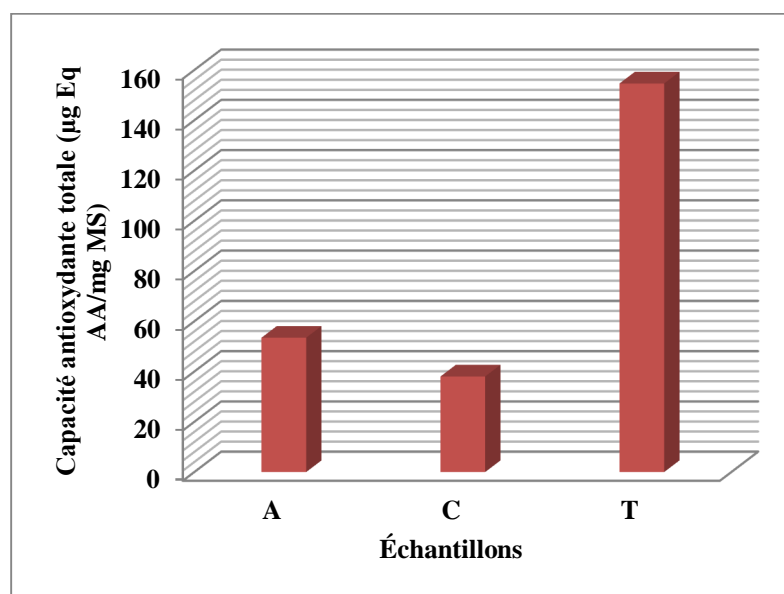


Figure13. Capacité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate des trois échantillons.

La capacité antioxydante totale la plus élevée est trouvée avec l'extrait méthanolique de l'échantillon de Texenna avec une valeur de 154.62 $\mu\text{g Eq AA/mg d'extrait}$, tandis que les deux autres extraits, d'El Emir Abdelkader et de Chekfa, ont montré des valeurs de 53.46 $\mu\text{gEq AA/mg d'extrait}$ et de 38.03 $\mu\text{gEq AA/mg d'extrait}$, respectivement.

EL Hajaji et al. (2010), ont trouvé des valeurs allant de 100 à 107.30 $\mu\text{g Eq AA/mg}$. En comparant avec ces résultats, l'échantillon de Texenna dépasse la limite supérieure et les deux autres

échantillons ont donné des valeurs inférieures à ce qui obtenu par ces auteurs. Cette bonne activité antioxydante peut être attribuée aux fortes concentrations en polyphénols totaux des extraits analysés.

Conclusion

Les radicaux libres en général et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en particulier, sont impliqués dans plusieurs pathologies humaines allant de l'inflammation au cancer tout en passant par les maladies cardiovasculaires, le diabète et le processus d'apoptose. Pour cela, il est très intéressant de rechercher et d'identifier des antioxydants naturels à partir de plantes.

L'activité antioxydante des composés phénoliques présents dans les plantes est principalement due à leurs propriétés redox qui leur permettent d'agir en réduisant les agents donneurs d'hydrogène et d'extinction de l'oxygène singulet. Les composés phénoliques peuvent aussi avoir des propriétés de chélation des métaux.

Parmi les plantes médicinales ayant un intérêt thérapeutique important figure le caroubier, *Ceratonia siliqua* qui appartient à la famille des *Leguminosae* (*Fabaceae*).

L'objectif de cette étude est la détermination de la composition chimique de trois échantillons de gousses vertes du caroubier de la wilaya de Jijel ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante de leurs composés phénoliques en utilisant deux méthodes différentes.

Les gousses provenant de la région de Texenna (échantillon T) ont une taille importante par rapport aux deux autres. Les gousses d'El Emir Abdelkader (échantillon A) sont les plus petites. En parallèle, le nombre de gousses par 1kg de l'échantillon de Chekfa est plus important, presque le double, par rapport aux nombres des deux autres échantillons.

Nos échantillons ont un pH acide et très proche à celui signalé par plusieurs auteurs. Les valeurs d'acidité des trois échantillons sont proches.

Les résultats obtenus montrent que le taux d'humidité des trois échantillons est très élevé alors que le taux de la matière sèche est très proche.

Les teneurs en cendres sont très proches avec une légère augmentation enregistrée pour l'échantillon de Chekfa. Ces valeurs sont inférieures à celles trouvées par plusieurs auteurs.

La détermination de la teneur en matière grasse par la méthode de Soxhlet a révélé que les gousses vertes de caroubier sont très pauvres en matière grasse avec un pourcentage allant de 0.15 à 0.31%. Ces teneurs sont inférieures en comparaison à ce qui est rapporté par la littérature.

L'évaluation de la teneur en protéines des trois échantillons par la méthode de Kjeldahl a montré que l'échantillon d'El Emir Abdelkader et l'échantillon de Texenna ont le même taux de protéines qui est de 9.43% alors que l'échantillon de Chekfa a une valeur de 9.37%.

Ces échantillons sont étudiés pour la concentration en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante de leurs extraits méthanoliques. Dans ce but, les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les flavonols sont dosés ainsi que deux méthodes différentes pour l'évaluation du pouvoir antioxydant, test au DPPH et méthode au phosphomolybdate, sont utilisées.

Le dosage des polyphénols totaux, en équivalent d'acide gallique, des extraits de gousses vertes de caroube a été estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu. D'après les résultats obtenus, la concentration la plus élevée en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en flavonols est enregistrée pour l'échantillon de Texenna.

Les pourcentages de l'activité antioxydante des trois échantillons analysés ont révélé une activité antioxydante importante pour l'échantillon d'El Emir Abdelkader et sont supérieurs à ceux rapportés par la littérature.

La capacité antioxydante totale la plus élevée est trouvée avec l'extrait méthanolique de l'échantillon de Texenna avec une valeur de 154.62 µg Eq AA/mg de MS.

D'après nos résultats, nous pouvons suggérer que les extraits des gousses vertes du caroubier de la wilaya de Jijel ont une importante activité antioxydante qui est due à la présence des composés phénoliques tels que les flavonoïdes. Sur la base de ces propriétés et la réalisation d'autres études *in vitro* et *in vivo* pour connaître mieux les propriétés thérapeutiques de cette plante, il sera possible de l'utiliser comme une matière première pour formuler de nouveaux produits (antioxydants naturels, conservateurs, stabilisateurs, épaississants et gélifiants) destinés à l'industrie pharmaceutique ou l'industrie agro-alimentaire.

Il faut noter que le caroubier de Texenna a donné des résultats très encourageants qui devront être complétés par des études phytochimique et thérapeutique plus approfondies en mettant en comparaison les caractéristiques des gousses vertes et gousses matures de cette plante.

Références Bibliographiques



- Aafi A. (1996).** Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), Centre Nationale de la Recherche Forestière, Rabat (Maroc). 10.
- Abi Azar R. (2007).** Complexation des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier. Propriétés technologiques des coagulums obtenus, Agro Paris Tech Ecole Doctorale Abies, Thèse de doctorat, Liban.1-196.
- Ait Chitt M., Belmir M., Lazrak A. (2007).** Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier. *Transfert de technologie en Agriculture*. 153: 1-4.
- Akinmoladun A.C., Ibukun E.O., Dan-Ologe I.A. (2007).** Phytochemical constituents and antioxidant properties of extracts from the leaves of *Chromolaena odorata*. *Scientific research and essays*. 2(6):191-194.
- Albanell E., Caja G., Plaixats J. (1991).** Characterization of Spanish carob pod and nutritive value of carob kibbles, *Options Méditerranéennes*. 16: 135- 136.
- Andersen Y.M., Markham K.R. (2006).** Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications. Ed. CRC, Taylor & Francis, Boca Raton, FL. 553-616.
- AOAC. (1990).** Official methods of analysis. AOAC, 15th Edition. Washington, DC.1230.
- AOAC. (1995).** Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 16th Edition. Washington, DC, USA.
- AOAC. (2000).** Official Methods of Analysis. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th Edition, Washington, DC, USA.
- AOAC. (2005).** Official method of analysis. Association of Official Analytical Chemists, 18th Edition, Washington, DC, USA.
- Avallone R., Plessi M., Baraldi M., Monzani A. (1997).** Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua* L.): protein, fat, carbohydrates and tannins, *Journal of food composition and analysis*. 10: 166-172.
- Ayaz F.A, Torun H., 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*. 30 (6): 1040-1055.
- Ayaz F.A., Torun H., Glew R.H., Bak Z.D., Chuang L.T., Presley J.M., Andrews R. (2009).** Nutrient Content of Carob Pod (*Ceratonia siliqua* L.) Flour Prepared Commercially and Domestically, *Plant Foods Hum Nutr*. 64: 286–292.

- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*.46:1086-1089.
- Battle I., Tous J. (1997).** Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 1-92.
- Bengoechea B., Rome A., Villanueva A., Moreno G., Alaiz M., Millán F., Guerrero A., Puppo M.C. (2008).** Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua* L.) germ proteins, *Food Chemistry*. 107(2): 675-683.
- 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*. 100: 1453-1455.
- Boudour N. (1998).** Etude comparative de la composition chimique de deux variétés d'huile d'olive issues des régions de Guelma et de Tademaït. Thèse de magister. Université de Constantine, Algérie. 1-104.
- Bouzouita N., Khaldi A., Zgoulli S., Chebil L., Chekki R., Chaabouni M.M and Thonart P. (2007).** The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia, *Food Chemistry*. 101(4): 1508-1515.
- Brandt K., Mølgaard J.P. (2001).** Organic agriculture: does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods? *J. Sci. Food Agric*. 81: 924-931.
- Bravo A., Anacona J.R. (1994).** Metal complexes of the flavonoid quercetin: antibacterial properties. *Transition Metal Chemistry*. 26: 20–23.
- Bravo L., Grados N., Calixto, F.S. (1994).** Composition and Potential Uses of Mesquite Pods (*Prosopis pallid* L): Comparison with Carob Pods (*Ceratonia siliqua* L.). *J. Sci Food Agric*. 65 : 303-306.
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. mdicales internationales Editions Technique and Documentation, Cachan, [S.I.]. 647-673.
- Catarino F., (1993).** Le caroubier une plante exemplaire. Naturopa conseil de l'Europe. Centre Naturopa.73:14-15.
- Catarino F.M., Bento-Pereira F. (1976).** Ecological characteristics and CO₂ fixation in a xerophytic plant (*Ceratonia siliqua* L.). Vardar, Sheikh, Ozturk. Turquia.

- Cheng J.C., Bo Zhou F.D., Yang L., Liu Z.L. (2007).** Antioxidant activity of hydroxycinnamic acid derivatives in human low density lipoprotein: Mechanism and structure–activity relationship. *Food Chemistry*. 104: 132–139.
- Dacosta Y., (2003).** Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris. 317.
- De Souza R.f., De Giovani W.F. (2004).** Antioxidant Properties of Complexes of Flavonoids with metal ions. *Redox Report*. 9(2): 97-104.
- El Hajaji H., Lachkar N., Alaoui K., Cherrab Y., Farah A. Ennabili A., El Bali B., Lachkar M. (2011).** Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob growing in Morocco. *Arab. J. of Chem*. 4: 321 – 324.
- 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. Eumedía. España. 186-195.
- FAOSTAT. (2010).** Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics. www.fao.org.
- Fournier P. (1977).** Les quatre flores de la France (générale, alpine, méditerranéenne littorale) In: **Rahal El Kahkahi M., Moustaine A., Mouhajir S., Bachir A., Lemrhari R., Zouhair M., Ait Chitt M., R Errakhi. (2016).** Technical sheet on the culture carob tree (*Ceratonia Siliqua L.*) in Morocco.
- François N.M. (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat. Université Paul Verlaine-Metz. 1-295.
- Gaouar N. (2011).** Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes variétés Algériennes Thèse de Magister en Agronomie .Université de Tlemcen, Algérie. 1-95.
- Gharnit N., El Mtili N., Ennabili A., Sayah F. (2006).** Importance socioéconomique du caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) dans la Province de Chef Chaouen (nord-ouest du Maroc). *Rev. Tela Botanica*.4.02 (33): 41-48.
- Goodman B.A., Severino J. F., Pirker K. F. (2012).** Réactions of green and black teas with *Cu* (II). *Food and Function*. 3(4): 399-409.
- Grolier P., Borel P., Scalbert A., Remesy C. (2001).** Les phyto-micronutriments. In: Traite de nutrition clinique de l'adulte, *Medecines-Sciences*, Flammarion. 165-177.
- Gruendel S., Otto B., Garcia A.L., Wagner K., Mueller C., Weickert M.O., Heldwein W., Koebnick C. (2007).** Carob pulp preparation rich in insoluble dietary fibre and polyphenols increases plasma glucose and serum insulin responses in combination with a glucose load in humans, *Br. J. Nutr.* 98 (1): 101-5.

- Gubbuk H., Kafkas E., Guven D., Gunes E. (2010).** Physical and phytochemical profile of wild and domesticated carob (*Ceratonia siliqua* L.) genotypes. *Span. J. Agric. Res.* 8: 1129–1136.
- Hariri A., Ouïs N., Sahnouni F et Bouhadi D. (2009).** Mise en œuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux à base des extraits de caroube, *Rev. microbiol. ind. san et environn.* 37-55.
- Haslam E. (1998).** Practical polyphenols: from structure to molecular recognition and physiological action. *Cambridge University Press*, Cambridge, UK. 420.
- Hillcoat D., Lewis G. et Verdcourt B. (1980).** A new species of *Ceratonia* (*Leguminocea-Caesalpinioideae*) from Arabia and the Somali Republic. *Kew bull.* 35: 261-271.
- Iipumbu L. (2008).** Compositional analysis of locally cultivated carob (*Ceratonia siliqua* L.) cultivars and development of nutritional food products for a range of marker sectors. Stellen bosch university. South Africa. 107.
- Japon-Lujan R., Janeiro P., Luque de Castro M.D. (2008).** Solid-liquid transfer of biophenols from olive leaves for the enrichment of edible oils by a dynamic ultrasound-assisted approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 56: 7231–7235.
- Jovanovic S.V., Steenken S., Simic M.G., Hara Y. (1998).** Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer actions of flavonoids. In: **Rice-Evans C., Packer L.** Flavonoids in health and disease, New York, Marcel Dekker.137-161.
- Kapsokefalou M., Zhu L., Miller D.D. (2006).** Adding iron to green tea may decrease its antioxidant capacity in rats after an oral dose of the mixture. *Nutrition Research.* 26 (9):480-485.
- Karamać M., Pegg R.B. (2009).** Limitations of the tetra-methylmurexide assay for investigating the Fe (II) chelation activity of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 57(14): 6425-6431.
- Karkacier M., Artık N. (1995).** Determination of physical properties, chemical composition and extraction conditions of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.). *Gıda* 20 (3):131–136.
- Khelifa M., Bahloul A., Kitane S. (2013).** Determination of Chemical Composition of Carob Pod (*Ceratonia Siliqua* L.) and its Morphological Study. *J. Mater. Environ. Sci.* 4(3): 348-353.
- Korkina L.G., Afanas'ev I.B. (1997).** Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv. Pharmacol.* 38: 151–163.
- Kumazawa S., Taniguchi M., Suzuki Y., Shimura M., Kwon M., Nakayama T. (2002).** Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *J. Agric. Food Chem.* 50: 373-377
- Lipshitz N. (1987).** *Ceratonia siliqua* L. in Israel: An ancient element or a newcomer. *Israel J. Bot.* 36: 191-197.

- Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes. 121-216.
- Makris D.P., Kefalas P. (2004).** Carob Pod as a source of polyphenolic Antioxidants. *Food Technol. Biotechnol.* 42 (2):105–108.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition.* 79: 727-747.
- Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemist.*89: 411-420.
- Marakis S. (1996).** Carob bean in food and feed: Current status and future potentials- A critical appraisal. *J. Food Sci. Technol.* 33: 365-383.
- Mašković P.Z., Manojlović N.T., Mandić A.I., Mišan A.Č., Milovanović I., Radojković M., Cvijović M.S., Solujić S.R. (2012).** Phytochemical screening and biological activity of extracts of plant species *Halacsya sendtneri* (Boiss.) Dörfel. *Hem. Ind.* 66 (1): 43–51.
- Miliauskas G., Venskutonis P.R., Van Beck T.A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 85: 231–7.
- Monteiro M., Farah A., Perrone D., Trugo L.C., Donangelo C. (2007).** Chlorogenic acid compound from coffee are different ially absorbed and metabolized in humans. *Journal of Nutrition.*137: 2196-2201.
- Moran J.F., Klucas R.V., Grayer R.J., Abian J., Becana M. (1997).** Complexes of iron with phenolic compound from soybean nodules and other legume tissues: Prooxidant and antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine.* 22: 861–870.
- Mueller-Harvey I. (2001).** Analysis of hydrolysable tannins. *Anim. Feed Sci. Technol.* 91:3-20.
- Nagata T., Hayatsu M., Kosuge N. (1992).** Identification of aluminium forms in tea leaves by Al NMR. *Phytochemistry.* 31(4): 1215-1218.
- Naghmouchi S., Khouja M.L., Romero A., Tous J., Boussaid M. (2009).** Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.) populations: morphological variability of pods and kernel. *Scientia Horticulturae.* 121: 125–130.
- Okuda T., Yoshida T., Hanato T. (1989).** New methods of analysing tannins. *J. Nat. Prod.* 52: 1-31.
- Ortega N., Macia A., Romero M., Reguant J., Motilva M. (2011).** Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an in-vitro digestion model. *Food Chemistry.* 124: 65–71.

- Ortiz P.L., Arista M., Talavera S. (1996).** Produccion de nectar y frecuencia de polinizadores en *Ceratonia siliqua* L. (*Caesalpinaceae*). *Anales del Jardin Botanico de Madrid*. 54: 540-546.
- Owen R. W., Haubner R., Hull W.R., Erben G., Spiegelhalder B., Bartsch H., Haber B., (2003).** Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre, *Food and Chemical Toxicology*. 41 (12): 1727-1738.
- Papagiannopoulos M., Wollseifen H.R., 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/MS. *J. Agric. Food Chem.* 3784-3791.
- Pascual-Reguera M.I., Ortega-Carmona I., Molina-Diaz A. (1997).** Spectrophotometric determination of iron with ferrozine by flow-injection analysis. *Talanta*. 44(10): 1793-1801.
- Passos de Carvalho J. (1988).** Carob pollination aspects In: **Arab. (2013).** Effet des composés phénoliques de la caroube sur les paramètres du stress oxydatif chez des rates soumises à un rypergras. Mémoire de Master en biologie. Université Abou Bakkr Belkaid-Tlemcen, Algérie.1-75.
- Petit M., Pinilla J. (1995).** Production and purification of a sugar syrup from carob pods. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28: 145-152.
- Puhan Z., Wielinga M. W. (1996).** Products derived from carob pods with particular emphasis on carob bean gum (CBG). Report Technical Committee of INEC.
- Quezel P., Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. In: **Baghdad B., Taleb A., Carlo Iñigo Iñigo A., El Hadi H., Dalimi M. (2014).** The Vascular Vegetation Populating the Flora in Building Materials of Historic Monuments Cities of the West Central Region of Morocco. *Open Journal of Ecology*.4 (9): 565-570.
- Rejeb M.N. (1995).** Le caroubier en Tunisie: Situations et perspectives d'amélioration, in *Quel avenir pour l'amélioration des plantes*. Edit. John Libbey Eurotext, Paris. 79-85.
- Retana J., Ramoneda J., Garcia Del Pino F. (1990).** Importancia de los insectos en la polinizacion delalgarrobo. *Bol. San. Veg. Plagas*. 16 : 143-150.
- Sahu A.N., Laloo D. (2011).** Antioxidant activities of three Indian commercially available Nagakesar: An in vitro study. *J Chem Pharm Res*. 3(1): 277–83.
- Sanchez-Moreno C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. of Foods Sci.Tech*. 8:121-137.
- Scalbert A., Williamson G. (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.*130: 2073-2085.
- Schroeder C.A. (1959).** The floral situation of the Carob in California. In: **Battle et Tous. (1997).** Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected

crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 1-92.

Sidina M.M., El Hansali M., Wahid N., Ouatmane A., Boulli A., Haddioui A. (2009). Fruit and seed diversity of domesticated carob. *Scientia Horticulturae*. 123: 110-116.

Sigge G. O., Iipumbu, L., Britz, T. J. (2011). Proximate composition of carob cultivars growing in South Africa. *South African Journal of Plant and Soil*. 28(1): 17-22.

Simić A., Manojlović D., Šegan D., Todorović M. (2007). Electrochemical behavior and antioxidant and prooxidant activity of natural phenolics. *Molecules*. 12(10): 2327-2340.

Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol*. 152-177.

Smith B.M., Bean S.R., Schober T.J., Tilley M., Herald T.J., Aramouni F. (2010). Composition and molecular weight distribution of carob germ protein fractions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 58(13): 7794-800.

Talbi M. (2015). Dosages des polyphénols de la plante *d'Artemisia Campertise* L par chromatographie HPLC. Mise en évidence de l'activité biologique : Chimie moléculaire et biomoléculaire. Thèse de Magister. Université d'Oran Ahmed Benballa, Algérie. 46.

Thomas V., Metha A.R. (1983). Effect of phloroglucinol on shoot growth and initiation of roots in carob tree cultures grown in vitro. In: **Sen S.K., Giles K.L.,** (Eds.), *Proc. Int. Plant Cell Cult.* Crop Improvement, Calcutta India. New York and London: Plenum Press. 451-457.

Thompson J. C., Mottola H. A. (1984). Kinetics of the complexation of iron (II) with ferrozine. *Analytical Chemistry*. 56(4): 755-757.

Torres J.L., Bobet R. (2001). New flavanol derivatives from grape (*Vitisvinifera*) by products, antioxidant aminoethylthio-flavan-3-ol conjugates from a polymeric waste fraction used as a source of flavanols. *J. Agric. Food Chem*. 49: 4627-4634.

Tsao R., Yang R. (2003). Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*. 1018: 29-40.

Vaher M., Koel M. (2003). Separation of polyphenolic compounds extracted from plant matrices using capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*. 990: 225-230.

Vavilov N.I. (1951). The Origin, Variation, Immunity, and Breeding of Cultivated Plants. The Ronald Press Co., New York. 72(6): 482.

- Wang J., Sun B., Cao Y., Tian Y., Li X. (2008).** Optimisation of ultrasounds-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*. 106(2): 804-810.
- Wang Y., Belton P. S, Bridon H., Garanger E., Wellner N., Parker M. L., Grant A., Feillet P., and Noel T.R. (2001).** Physicochemical Studies of Caroubin: A Gluten-like Protein. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3414-3419.
- Wong C., Li H., Cheng K., Chen F.A. (2006).** Systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medical plant using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* 97:705-711.
- Wursch P., Vedovo S., Rosset J., Smiley M. (1984).** The tannins granules from ripe carob pod. *Lebensm.-Wissu.-Technol.* 17:351-354.
- Yasarawan N., Thipyapong K., Sirichai S., Ruangpornvisuti V. (2013).** Fundamental Insights into Conformational Stability and Orbital Interactions of Antioxidant (+)-Catechin Species and Complexation of (+)-Catechin with Zinc (II) and Oxovanadium (IV). *Journal of Molecular Structure*. 1047: 344–357.
- Yousif A.K., Alghzawi H.M. (2000).** Processing and characterization of carob powder. *Food Chemistry*. 69 (3): 283-287.
- Youssef M. K. E., El-Manfaloty M. M., Ali H. M. (2013).** Assessment of proximate chemical composition, nutritional status, fatty acid composition and phenolic compounds of carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Food and Public Health*. 3 (6): 304-308.
- Zhou X., Peng J., Fan G., Wu Y. (2005).** Isolation and purification of flavonoid glycosides from *Trollius lebebouri* using high-speed counter-counter chromatography by stepwise increasing the flowrate of the mobile phase. *J Chromatogr A*. 1092: 216-21.
- Zohary M. (1973).** Geobotanical Foundations of the Middle East, vol. 2, Stuttgart. In: **Kolahi M., Atri M. (2014).** Plant Diversity, Life Form and Phytochoria of Hamedan Alvand Region in Iran *Open Access Library Journal*.1(7): 1-12.

Annexes

Tableau 02. Résultats du pH et d'acidité des trois échantillons.

Echantillons	pH	Acidité (°D)
EL Emir Abdelkader (A)	5.15±0.02	8.04±0.1
Chekfa (C)	5.22±0.02	9.00±0.1
Texenna (T)	5.23±0.02	6.96±0.1

Tableau 03. Taux d'humidité des trois échantillons exprimé en %.

Echantillons	A	C	T
Taux d'humidité (%)	78.6±0.2	83.4±0.2	82.6±0.2

Tableau 04. Teneurs de la matière sèche des trois échantillons.

Echantillons	A	C	T
Teneur en matière sèche (%)	97.7±1.0	97.7±1.0	98.21±1.0

Tableau 05. Teneurs en cendres des trois échantillons.

Echantillons	A	C	T
Teneur en cendres (%)	0.994±0.001	1.0±0.001	0.998±0.001

Tableau06. Teneurs en matière grasse des trois échantillons.

Echantillons	A	C	T
Teneur en matière grasse (%)	0.29±0.02	0.15±0.02	0.31±0.02

Tableau 07. Teneurs en protéines des trois échantillons.

Echantillons	A	C	T
Teneur en protéines (%)	9.43±0.03	9.37±0.03	9.43±0.03

Tableau 08. Concentrations en polyphénols totaux des trois échantillons.

Echantillons	Absorbance à 765 nm	Concentration en polyphénols totaux ($\mu\text{g Eq AG/mg}$)
A	0.625 \pm 0.01	36.74 \pm 0.01
C	0.726 \pm 0.01	45.14 \pm 0.01
T	1.230 \pm 0.01	87.10 \pm 0.01

Tableau 09. Concentrations en flavonoïdes des trois échantillons.

Echantillons	Absorbance à 430 nm	Concentration en flavonoïdes ($\mu\text{g Eq Q/mg}$)
A	0.1064 \pm 0.001	4.093 \pm 0.001
C	0.1012 \pm 0.001	3.952 \pm 0.001
T	0.1362 \pm 0.001	4.899 \pm 0.001

Tableau 10. Concentrations en flavonols des trois échantillons.

Echantillons	Absorbance à 440 nm	Concentration en flavonols ($\mu\text{g Eq Q/mg}$)
A	0.8911 \pm 0.1	16.22 \pm 0.1
C	0.8490 \pm 0.1	07.80 \pm 0.1
T	0.9950 \pm 0.1	37.00 \pm 0.1

Tableau 11. Pourcentage de l'activité antioxydante par le test au DPPH des trois échantillons.

Échantillons	Texenna	Chekfa	El Emir Abdelkader
Absorbance	0,1671 \pm 0.02	0,1636 \pm 0.02	0,1568 \pm 0.02
Pourcentage de l'activité antioxydante (%)	85,09 \pm 0.02%	85,40 \pm 0.02	86,00 \pm 0.02%

Tableau 12. Capacité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate des trois échantillons.

Échantillons	Texenna	Chekfa	El Emir Abdelkader
Absorbance	0.9739	0.2394	0.3366
Capacité antioxydante totale ($\mu\text{g Eq AA/mg d'extract}$)	154,62 $\mu\text{g/mg}$	38,03 $\mu\text{g/mg}$	53,46 $\mu\text{g/mg}$

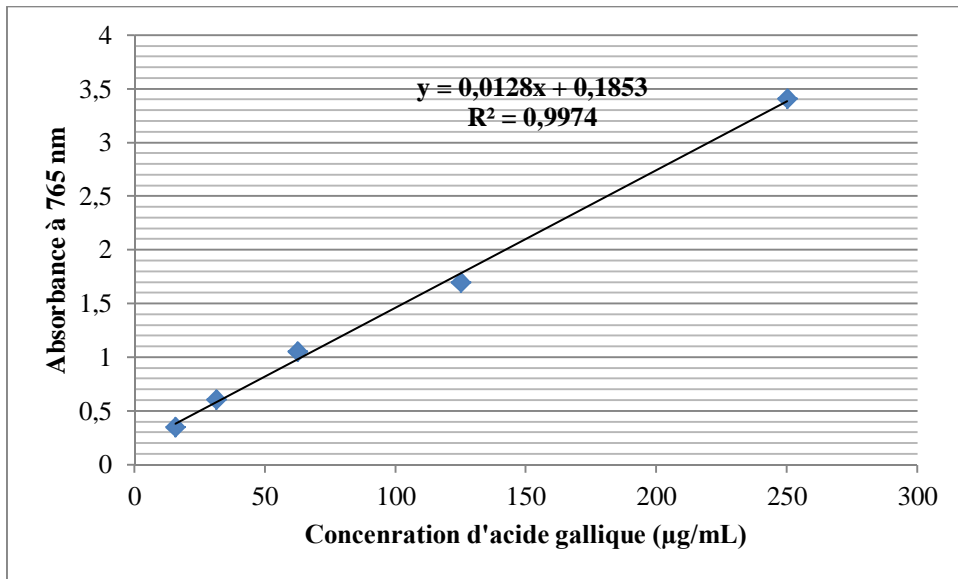


Figure 14. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

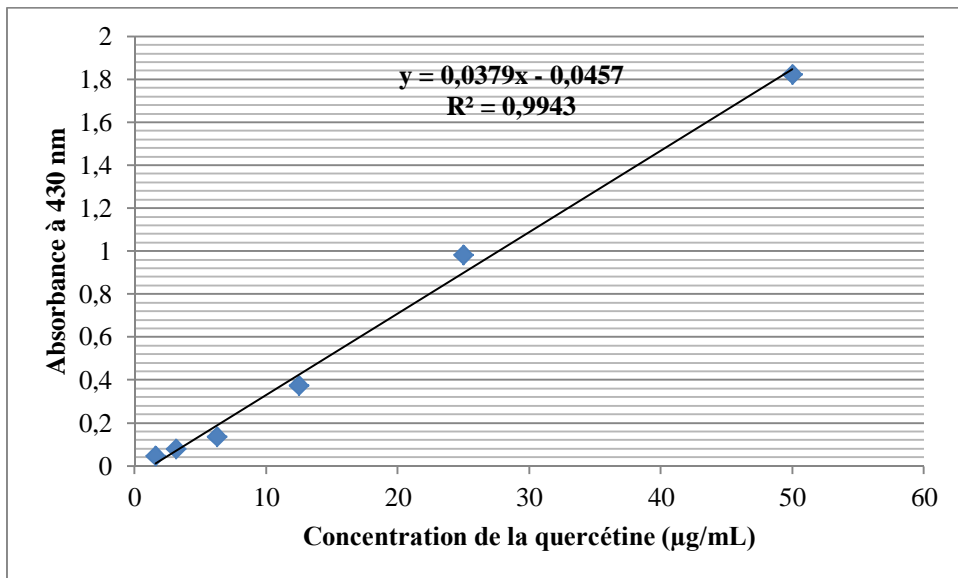


Figure 15. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

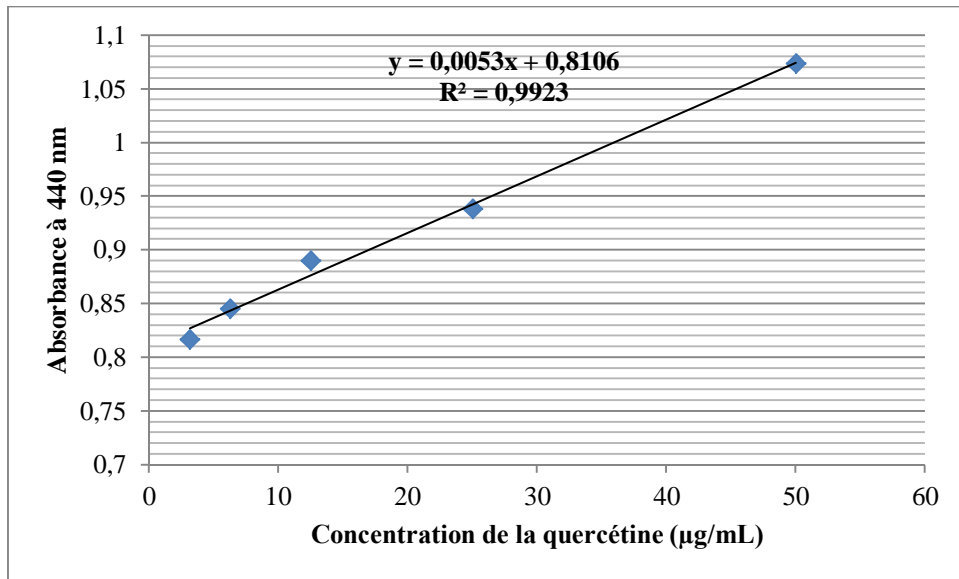


Figure 16. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols.

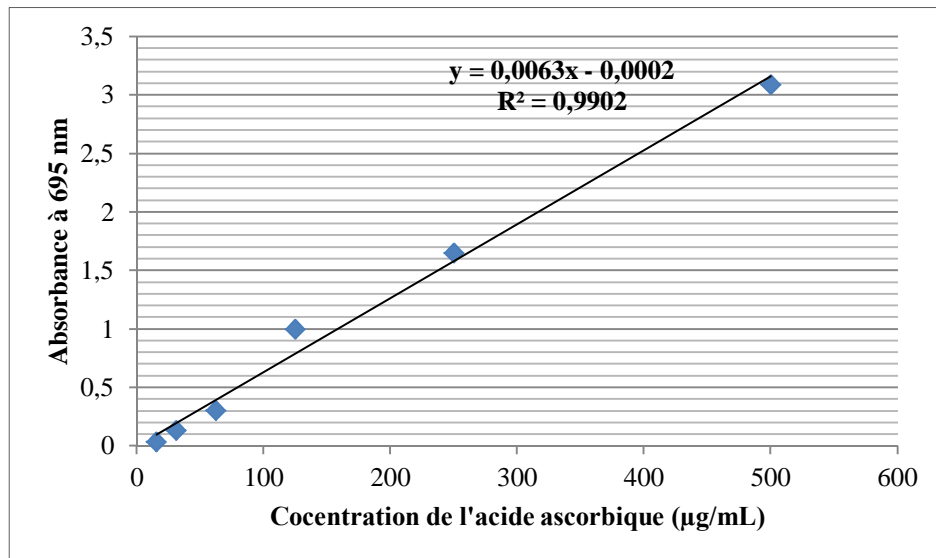


Figure 17. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (capacité antioxydante totale).

Présenté par :
BERGHIDA Nour-El-Houda
ZINEDDINE Latifa

Encadrant : M^{lle} AYAD Rima

Date de soutenance: 21 /06/2017

Thème :

Évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques des gousses vertes du caroubier de la wilaya de Jijel

Nature du diplôme : Master académique en biologie
Option : Contrôle de Qualité des Produits Alimentaires

Résumé

Dans le but de déterminer la composition chimique de gousses vertes du caroubier et d'évaluer l'activité antioxydante de leurs composés phénoliques en utilisant deux méthodes différentes, on a réalisé une étude sur trois échantillons de gousses vertes de la wilaya de Jijel. Les résultats obtenus ont montré une composition chimique presque similaire entre les trois échantillons analysés. Non seulement l'échantillon de Texenna est le plus riche en composés phénoliques dosés, il possède également la capacité antioxydante totale la plus élevée. Cette activité antioxydante importante est due à la présence des composés phénoliques tels que les flavonoïdes. Les résultats très encourageants du caroubier de Texenna méritent d'être complétés par des études phytochimiques et thérapeutiques plus approfondies.

Mots clés : caroubier, gousses vertes, composés phénoliques, activité antioxydante totale.

Abstract

With the aim of determining the chemical composition of green pods of carob tree and estimating the antioxidant activity of their phenolic compounds by using two different methods, we realized a study on three samples of green pods of the wilaya of Jijel. The obtained results showed an almost similar chemical composition between the three analyzed samples. Not only the sample of Texenna is the richest in measured phenolic compounds, it also possesses the highest total antioxidant capacity. This important antioxidant activity is due to the presence of the phenolic compounds such as flavonoids. The very encouraging results of the carob tree of Texenna deserve to be completed by more thorough phytochemical and therapeutic studies.

Key words: carob tree, green pods, phenolic compounds, total antioxidant activity.

ملخص

بهدف تحديد التركيبة الكيميائية للقرون الخضراء لشجرة الخروب و تقدير النشاط المضاد للأكسدة لمركباتها الفينولية، أجرينا دراسة على ثلاث عينات من القرون الخضراء لولاية جيجل. وأظهرت النتائج أن التركيبة الكيميائية للعينات الثلاث قيد الدراسة متقاربة و أن عينة تاكسنة ليست فقط غنية بالمركبات الفينولية المدروسة و إنما تمتلك أعلى نسبة لمضادات الأكسدة. هذا النشاط المضاد للأكسدة الكبير يرجع إلى وجود المركبات الفينولية مثل الفلافونويدات. بالإضافة إعطاء خروب منطقة تاكسنة لنتائج جد مشجعة يجب أن يستكمل بدراسات كيميائية نباتية وعلاجية عميقة.

الكلمات المفتاح: شجرة الخروب، القرون الخضراء ، المركبات الفينولية، إجمالي النشاط المضاد للأكسدة.