

# *Table des matières*

<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	1
<b>CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	4
1.Présentation du caroubier .....	5
1.1 Taxonomie .....	5
1.2 Biologie .....	5
1.3 Reproduction biologique .....	7
1.4 Ecologie .....	8
2.Repartition géographique .....	9
3.Composition chimique de la caroube .....	11
4.Interets et utilisations du caroubier.....	12
4.1 Arbre .....	12
4.2 Fruit .....	12
4.3 Les autres parties de l'arbre.....	14
5.PRODUCTION DU CAROUBIER .....	14
<b>CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES</b> .....	17
1.Préparation du matériel biologique végétal.....	18
2.Plan de travail.....	19
3.Méthodes d'analyses utilisées .....	19
3.1 Détermination de la matière sèche .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
4.Détermination quantitative des métabolites primaires .....	20
4.1 Détermination de la teneur en matière grasse .....	20
4.2 Détermination de la teneur en fibres brutes.....	22
4.3 Détermination de la teneur en cendres (matière minérale).....	23
4.4 Dosage des sucres totaux.....	24
4.5 Dosage des protéines brutes .....	26
4.6 Dosage de l'azote protéique .....	28
5.Détermination des métabolites secondaires.....	28
5.1 Extractions sélectives .....	28
5.2 Dosage des composés phénoliques .....	29
6. Etude du pouvoir antioxydant .....	34
7. Analyse statistique .....	36

<b>CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS</b> .....	37
1.Détermination de la matière sèche .....	38
2.Détermination quantitative des métabolites primaires .....	40
2.1 Teneur en lipides.....	40
2.2 Teneur en fibres totaux .....	42
2.3 Teneur en cendre.....	45
2.4 Teneur en sucres totaux .....	47
2.5 Teneur en matière azotée .....	49
3.Métabolites secondaires.....	52
3.1 Rendement massique des tanins et des flavonoïdes .....	52
3.2 Dosage des phénols totaux.....	53
3.3 Dosage des flavonoïdes .....	55
3.4 Dosage des tanins condensés .....	57
3.5 Dosage des tanins hydrolysables .....	60
3.6 Récapitulatif des taux de phénols totaux de flavonoïdes, tanins condensés et hydrolysables .....	62
4.Etude du pouvoir antioxydant .....	64
<b>CONCLUSION GENERALE</b> .....	67
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	70
<b>ANNEXES.</b>	

## *Liste des figures et des tableaux*

<b>Figure 1:</b> L'arbre du caroubier .....	6
<b>Figure 2:</b> feuillage, inflorescences et fructification du caroubier .....	7
<b>Figure 3 :</b> le fruit du caroubier .....	7
<b>Figure 4:</b> Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde) .....	9
<b>Figure 5 :</b> Distribution du caroubier en Algérie suivant les domaines bioclimatiques .....	10
<b>Figure 6 :</b> Distribution du caroubier à Tlemcen suivant les étages bioclimatiques .....	11
<b>Figure 7 :</b> (A)gousse et graine de caroube de Jijel (B)gousse et graine de Blida (C)gousse et graine de Tlemcen (D)pulpe broyer à droite, graine broyer à gauche .....	18
<b>Figure 8:</b> appareil à Soxhlet .....	21
<b>Figure 9:</b> appareil extracteur de fibres .....	23
<b>Figure 10:</b> Courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux .....	25
<b>Figure 11 :</b> Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols. ....	31
<b>Figure 12:</b> courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes. ....	34
<b>Figure 13 :</b> Solution de DPPH après réaction avec l'extrait phénolique .....	36
<b>Figure 14-1 :</b> taux de la matière sèche exprimé en pourcentage des pulpes de caroube de la région de Tlemcen, Blida et Jijel .....	38
<b>Figure 14-2 :</b> taux de la matière sèche exprimé en pourcentage des graines de caroube de la région de Tlemcen, Blida et Jijel .....	39
<b>Figure 14-3 :</b> taux de la matière sèche exprimé en pourcentage des pulpes et des graines de caroube de la région de Tlemcen, Blida et Jijel.....	39
<b>Figure 15-1 :</b> Teneur en lipides en % de MS des pulpes étudiées .....	40
<b>Figure 15-2 :</b> Teneur en lipides en % de MS des graines étudiées .....	41
<b>Figure 15-3 :</b> Teneur en lipides en % de MS des pulpes et des graines étudiées .....	41
<b>Figure 16-1 :</b> Teneur en fibres en %de MS des pulpes de caroube étudiées .....	43
<b>Figure 16-2 :</b> Teneur en fibres en %de MS des graines de caroube étudiées .....	43
<b>Figure 16-3 :</b> Teneur en fibres en %de MS des pulpes et des graines de caroube étudiées ....	44
<b>Figure 17-1 :</b> Teneur en cendres en% de MS des pulpes de caroube étudiées .....	45
<b>Figure 17-2 :</b> Teneur en cendres en% de MS des pulpes de caroube étudiées .....	46
<b>Figure 17-3 :</b> Teneur en cendres en% de MS des pulpes et des graines de caroube étudiées .	46

<b>Figure 18-1</b> : taux de sucres totaux en % de MS des pulpes de caroube .....	47
<b>Figure 18-2</b> : taux de sucres totaux en % de MS des graines de caroube .....	48
<b>Figure 18-3</b> : taux de sucres totaux en % de MS des pulpes et des graines de caroube .....	48
<b>Figure 19</b> : teneur en matière azotée en % de MS des pulpes et des graines de caroube étudiées .....	50
<b>Figure 20</b> : rendement massique des tanins et des flavonoïdes en% de MS des pulpes et des graines de caroube .....	52
<b>Figure 21-1</b> : taux de phénols totaux en mg/g de MS des pulpes de caroube .....	53
<b>Figure 21-2</b> : taux de phénols totaux en mg/g de MS des graines de caroube .....	53
<b>Figure 21-3</b> : taux de phénols totaux en mg/g de MS des pulpes et des graines de caroube ...	54
<b>Figure 22-1</b> : taux des flavonoïdes en mg/g de MS des pulpes de caroube .....	55
<b>Figure 22-2</b> : taux des flavonoïdes en mg/g de MS des graines de caroube .....	56
<b>Figure 22-3</b> : taux des flavonoïdes en mg/g de MS des pulpes et des graines de caroube .....	57
<b>Figure 23-1</b> : teneur en tanins condensés en mg/g de MS des pulpes de caroube .....	58
<b>Figure 23-2</b> : teneur en tanins condensés en mg/g de MS des graines de caroube .....	58
<b>Figure 23-3</b> : teneur en tanins condensés en mg/g de MS des pulpes et des graines de caroube .....	59
<b>Figure 24-1</b> : teneur en tanins hydrolysables en mg/g de MS des pulpes de caroube .....	60
<b>Figure 24-2</b> : teneur en tanins hydrolysables en mg/g de MS des graines de caroube .....	61
<b>Figure 24-3</b> : teneur en tanins condensés en mg/g de MS des pulpes et des graines de caroube .....	61
<b>Figure 25</b> : récapitulatif des taux de métabolites secondaires en mg/g de MS des pulpes et graines de caroube .....	63
<b>Figure 26</b> : Pourcentage de réduction en fonction de la concentration des extraits phénoliques des pulpes de caroubes étudiées .....	64
<b>Figure 27</b> : pourcentage de réduction en fonction de la concentration des extraits phénoliques des graines de caroubes étudiées.....	65
<b>Tableau 1</b> : Superficie occupée par le caroubier.....	15
<b>Tableau 2</b> : Production mondiale de caroube.....	15
<b>Tableau 3</b> : Valeurs de l'EC <sub>50</sub> des extraits phénoliques des pulpes et des graines de caroubes comparées à celle de l'acide ascorbique.....	66
<b>Tableau 4</b> : Tableaux représentatifs des résultats obtenus( <b>Annexes</b> ).	

## *Liste des abréviations*

**AFSSA** : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

**AE** : Acétate d'éthyle

**AlCl<sub>3</sub>**: Chlorure d'aluminium

**CaCO<sub>3</sub>**: Carbonate de calcium

**°C**: Degré Celsius

**C** : Concentration

**DO** : Densité optique

**DPPH** : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl

**EC<sub>50</sub>** : Concentration efficace réduisant 50% de la concentration du DPPH

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer

**FAO**: Food and agricultural organization

**g**: Gramme

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Acide sulfurique

**ha**: Hectare

**H** : heure

**HCl** : Acide chlorhydrique

**HDL**: High density lipoprotein

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: Eau oxygénée

**KOH**: Hydroxyde de potassium

**Kg**: Kilogramme

**L**: Litre

**LDL**: Low density lipoprotein

**ml**: Millilitre

**m:** Mètre

**mm:** Millimètre

**mg:** Milligramme

**MS :** Matière sèche

**nm :** Nanomètre

**MgSO<sub>4</sub>:** Sulfate de magnésium

**NaOH :** Hydroxyde de sodium

**N :** Normalité

**NNP :** Azote non protéique

**N T :** Azote total

**N P :** Azote protéique

**OMS :** Organisation mondiale de la santé

**TCA :** Acide trichloracétique

**V :** Volume

**µl:** Microlitre

**µg:** Microgramme

**%:** Pourcentage

Rapport-Gratuit.com

# **INTRODUCTION GENERALE**

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L., Fabacae Césalpinoïdae) 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 (*Ceratonia siliqua*) est une espèce agro-sylvo-pastorale ayant d'énormes intérêts socio-économiques et écologiques. Grâce à son aptitude à développer différentes stratégies d'adaptation aux contraintes hydriques, cet arbre s'installe favorablement dans les zones arides et semi-arides. Les écosystèmes méditerranéens sont caractérisés par des précipitations rares et 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 (**Rejeb, 1995**).

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**).

La caroube suscite actuellement beaucoup d'intérêt en Algérie, en particulier à Tlemcen où les industriels se disputent le marché international, en vue de son exportation sous forme de farine tirée de la pulpe et des graines pour leur culture agricole.

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 agro-alimentaire et pharmacologique, notamment comme antidiarrhéique, leur richesse en fibres leur confère des vertus hypocholestérolémiantes et hypoglycémiantes ; les composés phénoliques qu'elles contiennent sont à l'origine de leur propriété antioxydante (**Hariri et al., 2009**).

Ce mémoire est consacré à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante (phénols totaux) des pulpes et des graines de caroube originaires de trois régions différentes d'Algérie (Tlemcen, Blida et Jijel). Le but de cette étude consiste à évaluer la valeur nutritive de la caroube et de mettre en évidence une potentielle activité antioxydante des polyphénols qu'elle contient.

Dans ce présent travail, nous aborderons en premier lieu l'importance socio-économique et agro-alimentaire de la caroube dans le monde en général dans l'introduction. Une étude bibliographique sur l'intérêt de ses constituants phytochimiques, son utilisation dans divers domaines et ses propriétés biologiques et écologiques seront aussi abordées d'une manière exhaustive, une partie expérimentale vient ensuite pour montrer les méthodes utilisées afin d'atteindre notre but. En dernier lieu, nous exposerons les résultats obtenus afin de les comparer à d'autres travaux cités dans la bibliographie.

# **PARTIE I**

# **ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1. Présentation du caroubier: *Ceratonia siliqua* L.

### 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**). Par ailleurs, le nom dialectal *kharouv*, originaire de l'hébreu, a donné lieu à plusieurs dérivés tels que *Kharroub* en arabe, *algarrobo* en espagnol, *carroubo* en italien, *caroubier* en français, etc...(Boudy, 1950). Cette espèce appartient au genre *Ceratonia* de la sous-famille des *Caesalpinioïdae*, de la famille des *Fabaceae* (Légumineuses), qui fait partie de l'ordre des *Fabales* (Rosales), Classe des *Magnoliopsida* (**Quezel et Santa, 1962**).

Certains auteurs ont désigné *Ceratonia* comme étant l'un des genres les plus archaïques des légumineuses (**Tucker, 1992**) et qui serait complètement isolé des autres genres de sa famille (**Zohary, 1973**).

### 1.2 Biologie :

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 (**Figure 1**). 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% des mâles improductifs (**Ait Chitt et al., 2007**).

Ce rapport est modifié par greffage et bouturage (**Gharnit et al., 2004**) et il existe quelques formes hermaphrodites (**Romano et al., 2002**).

Les feuilles persistantes, de 10 à 20cm long, se caractérisent par un pétiole sillonné sur la face interne et un rachis portant 8 à 15 folioles, opposées, de 3 à 7 cm (**Figure 2**), 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 (**Batlle 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. A 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 (**Figure3**). 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**).



**Figure 1:** L'arbre du caroubier ([www.exoplantus.fr/.../28BC/4795/Caroubier.jpg](http://www.exoplantus.fr/.../28BC/4795/Caroubier.jpg))



**Figure 2:** feuillage, inflorescences et fructification du caroubier (The nature conservancy, 2001)



**Figure 3 :** le fruit du caroubier (<http://a10.idata.over-blog.com/0/14/04/24/img-0365.jpg>)

### 1.3 Reproduction biologique :

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**).

#### **1.4 Ecologie :**

Le caroubier, dont l'aire de répartition s'étend dans les secteurs des plateaux et en moyennes montagnes jusqu'à 1700 m d'altitude, est indifférent à la nature du substrat ; il tolère les sols pauvres, sableux, limoneux lourds, rocailleux et calcaires, schisteux, gréseux et des pH de 6,2 jusqu'à 8,6 ; mais il craint les sols acides et très humides (**Baum, 1989 ; Sbay et Abrouch, 2006; Zouhair, 1996**). Il s'adapte à plusieurs types de sols à l'exception des sols hydromorphes et salés et les croûtes schisteuses. On le rencontre sur sols marneux, sur sols pauvres superficiels et rocailleux calcaires, sur des pentes rocheuses, des escarpements peu accessibles et des collines incultes (**Nabli, 1989**).

C'est une espèce typique de la flore méditerranéenne, bien définie dans l'étage humide, subhumide et semi-aride. Il croît généralement à l'état disséminé dans l'étage du thuya et du genévrier de Phénicie, dans les peuplements de chêne vert et en association avec *Olea europea* et *Pistacia lentiscus* (**Boudy, 1950 ; Rejeb et al., 1991**).

La sécheresse cyclique a révélé que le caroubier résiste mieux au manque d'eau que le chêne vert, le thuya et l'oléastre qui lui sont associés. C'est une essence très plastique, héliophile, thermophile, très résistante à la sécheresse (200 mm/an). Il joue un rôle important dans la protection des sols contre la dégradation et l'érosion et dans la lutte contre la désertification (**Zouhair, 1996**).

Les études de **Rejeb (1995)** confirment que le caroubier se comporte comme une véritable espèce résistante à la sécheresse en s'adaptant morphologiquement et physiologiquement au manque d'eau.

Les principales adaptations peuvent se résumer comme suit :

- les stomates sont situés sur une seule face,
- le nombre de stomates est assez élevé et ils sont de petite taille,
- le système racinaire est développé,
- un dépôt de cire important,
- l'assimilation et les échanges gazeux dépendent de l'état hydrique général.

De par ses aptitudes d'adaptation aux stress du sol et du climat, le caroubier pourrait contribuer au développement des zones défavorisées (**Gharnit et al., 2006**).

## 2. Répartition géographique :

Originaire du Moyen-Orient, le caroubier est un arbre essentiellement méditerranéen d'importance écologique, industrielle et ornementale indiscutable (**Hariri et al., 2009**). On le rencontre à l'état naturel principalement en Espagne, Portugal, Maroc, Grèce, Italie, Turquie, Algérie, Tunisie, Égypte, et Chypre. Il a été introduit aussi en Australie, en Afrique du Sud, aux États-Unis et en Amérique du Sud (**Figure4**), (**Sbay et Abourouh, 2006**).



**Figure 4:** Centres d'origine et distribution du caroubier dans le monde (**Battle et Tous, 1997**)

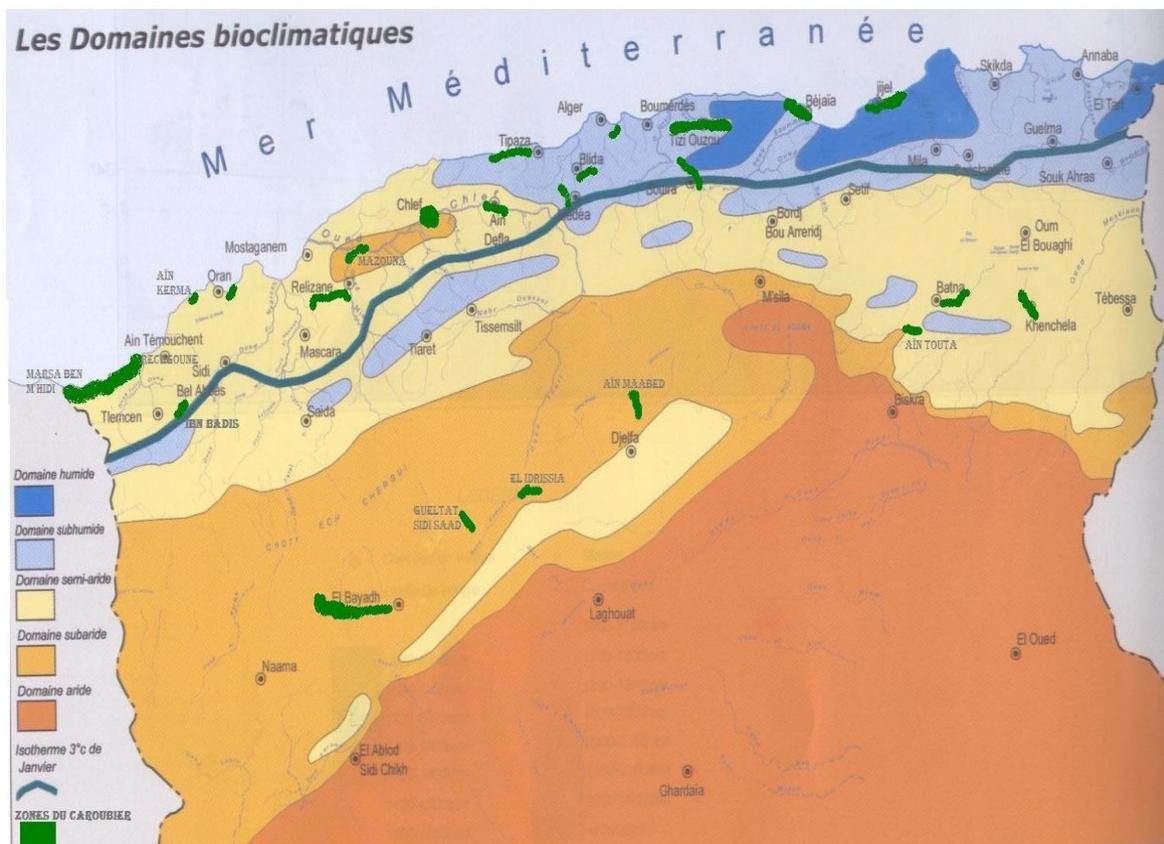
Généralement, la distribution des espèces arborescentes, telle que *C. siliqua* est limitée par des stress liés aux froids (**Mitrakos, 1981**). Dans les zones basses méditerranéennes (0-500m, rarement 900m d'altitude), le caroubier constitue une essence dominante et caractéristique du maquis des arbres sclérophylles (**Zohary et Orshan 1959; Folch i Guillen, 1981**).

Au Maroc, le caroubier est localisé dans les plaines et les moyennes montagnes du Rif, du Moyen Atlas, du Haut Atlas et de l'Anti-Atlas et dans des bioclimats de type humide, subhumide, semi-aride et aride côtier à variantes chaude et tempérée. Il est souvent en association avec l'olivier, le lentisque, le thuya ou l'arganier. La principale population spontanée de caroubier est localisée dans les régions situées entre 600 et 1000 m d'altitude, en association avec d'autres espèces forestières et abritées des vents et du froid (**Ait Chitt et al., 2007**).

En Tunisie, le Caroubier croît dans les conditions naturelles à l'état sauvage, en association avec l'olivier et le lentisque. Il est bien défini dans les étages humide, subhumide, et semi-aride supérieur, à variante chaude à tempérée (**Rejeb, 1989**). Dans les conditions naturelles, on le rencontre à l'état sauvage en association avec l'olivier et le lentisque, et en mélange, avec le callitris, mais le défrichage de ces associations, à la faveur des cultures vivrières et des arbres fruitiers, rend cette végétation de plus en plus rare en Tunisie (**Rejeb, 1995**).

En Algérie, le caroubier est fréquemment cultivé dans l'Atlas Saharien et il est commun dans le tell (**Quezel et Santa, 1962**). On le trouve à l'état naturel en association avec l'amandier, *Olea Europea* et *Pistacia Atlantica* dans les étages semi-aride chaud, subhumide et humide, avec une altitude allant de 100m à 1300m dans les vallons frais qui le protègent de la gelée ; avec une température de 5°C jusqu'à 20°C et une pluviométrie de 80mm à 600mm/an (**Rebour, 1968**).

Suivant ces critères climatiques ; on a établi l'aire de répartition du caroubier en Algérie (**figure5**) et à Tlemcen dans les régions suivantes : Sidi M'djahed, Sebra, Henaya, Tlemcen, Aïn Tellout, Sidi Abdli, Remchi, Ben Sekran, Aïn Youcef et de Beni Saf jusqu'à Marsat Ben M'hidi (**figure6**).



**Figure 5** : Distribution du caroubier en Algérie suivant les domaines bioclimatiques

(A.N.R.H, 2004)



Figure 6 : Distribution du caroubier à Tlemcen suivant les étages bioclimatiques

### 3. 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 (Orphanos et Papaconstantinou, 1969; Vardar et al., 1972; Calixto et Cañellas, 1982; Albanell et al., 1991).

Selon les travaux d'**Avallone et al., (1997)** ; **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.

#### **4. Intérêts et utilisations du caroubier :**

Le caroubier est un arbre d'importance écologique, industrielle et ornementale indiscutable. En terme de produits, l'arbre et toutes ses composantes sont utiles et particulièrement le fruit.

##### **4.1 Arbre :**

Il est utilisé pour le reboisement et la reforestation des zones affectées par l'érosion et la désertification (**Boudy, 1950; Rejeb et al., 1991 ; Biner et al., 2007**). Il est également utilisé comme plante ornementale en bordure des routes et dans les jardins (**Batle et Tous, 1997**). Actuellement, il est considéré comme l'un des arbres fruitiers et forestiers les plus performants puisque toutes ses parties (feuilles, fleurs, fruits, bois, écorces et racines) sont utiles et ont des valeurs dans plusieurs domaines (**Aafi, 1996**).

##### **4.2 Fruit :**

Le fruit du caroubier ou la caroube, se compose d'une pulpe enveloppant des graines régulières. En effet la pulpe sucrée de la caroube est employée depuis longtemps comme nourriture de bétail à côté d'autres aliments comme la farine d'orge (**Ait Chitt et al., 2007**). Selon les travaux de **Lizardo et al., (2002)**, il semble que la farine de caroube soit un produit parfaitement adapté à l'alimentation des porcelets. Son incorporation dans les régimes s'avère très utile dans le soutien de la consommation, de la croissance et de la santé en post-sevrage.

La farine, obtenue en séchant, torréfiant et moulant les gousses après les avoir débarrassées de leurs graines, est employée surtout en agro-alimentaire (**Sbay et Abourouh, 2006**) ; dans la préparation de jus sucrés, du chocolat, de biscuits et comme remplaçant de cacao (**Berrougui, 2007**). En Egypte, on extrait des fruits un sirop qui est employé pour confire les

fruits ; les Arabes fabriquent avec la pulpe une boisson alcoolisée et les Kabyles fabriquent à partir du fruit un plat appelé tomina (**Bonnier, 1990**).

De nombreuses études cliniques ont souligné l'efficacité de la poudre de caroube dans le traitement des diarrhées aiguës infantiles (**Serairi et al., 2000**), ce qui a été confirmé par l'étude clinique menée par **Loeb et al., (1989)** chez des enfants âgés de 3 à 21 mois, que le transit intestinal, la température et le poids de l'enfant s'amélioreraient plus vite après administration de la poudre de caroube par voie orale. Selon **Rejeb (1995)** la pulpe est recommandée contre la tuberculose pulmonaire et les affections des bronches. Étant riche en antioxydants (composés phénoliques), en sucres, protéines, fibres, potassium et calcium, cette plante est connue en thérapeutique pour son effet hypocholestérolémiant, antiprolifératif, antidiarrhéique et troubles digestifs (**Berrougui, 2007**).

D'autres études expérimentales ont démontré les capacités bactéricides de la pulpe de caroube vis-à-vis de *staphylococcus aureus* ; la caroube adsorberait aussi les entérotoxines produites par certaines souches d'*Escherichia coli* et de staphylocoques ainsi que par le vibron cholérique, ce mécanisme d'adsorption pourrait être expliqué par la présence de tanins dans la partie insoluble et active de la caroube (**Tolentino, 1950**).

En plus de son pouvoir nématocide démontré par les travaux d'**El Allagui et al., (2007)** qui est dû à sa teneur en composés phénoliques, la caroube possède aussi une activité antimicrobienne et antioxydante selon **Ben Hsouna et al., (1986)**.

Selon l'étude récente de **Sanchez et al., (2010)** la caroube est une source bon marché d'hydrates de carbone pour la production de bioéthanol.

Quant aux graines de caroube, vu leur uniformité, elles sont appelées 'carats' et ont servi pendant longtemps aux joailliers comme unité de poids pour peser les diamants, les perles et d'autres pierres précieuses (1 carat = 205,3mg) (**Rejeb, 1995**).

La gomme de caroube est extraite de l'albumen des graines de *Ceratonia siliqua* du fait de sa richesse en galactomannanes (unités de  $\beta$ -D-mannose et de  $\alpha$ -D-galactose) (**Biner et al., 2007; Avallone et al., 1997**), issue de l'endosperme elle constitue le 1/3 du poids total de la graine ; 100kg de graines produisent en moyenne 20kg de gomme pure et sèche (**Jones, 1953**). Cette gomme est utilisée dans l'agro-alimentaire comme épaississant connu sous le code normalisé E410, la confiserie, le secteur cosmétique, pharmaceutique et aussi dans les préparations alimentaires diététiques, pour diminuer l'apport alimentaire dans le traitement de l'obésité ; et en cas d'insuffisance rénale chronique, elle retiendra dans le tube digestif, l'urée, la créatinine, l'acide urique, l'ammoniaque et les phosphates provoquant un abaissement

important et bénéfique du taux d'urée dans le sang (**Berrougui, 2007**). Elle est aussi utilisée dans la fabrication d'un condiment aromatique du Sénégal appelé nététu (**Ndir et al., 2000**). Selon **Coit (1967)**, la gomme de caroube est utilisée en imprimerie, photographie, matière plastique, encre et cirage.

la gomme de caroube peut être utilisée comme substitut de la pectine, de la gélatine, comme stabilisateur alimentaire, pour la croissance bactérienne et d'autres applications dans le textile ( **Calixto et Canellas, 1982**).

En plus de toutes ces vertus, l'étude de **Parrado et al., (2008)** a démontré que la gomme de caroube, lorsqu'elle est utilisée comme biofertilisant après avoir été transformée en un extrait enzymatique hydrosoluble, exerce une action phyto-hormonale bénéfique et significative sur la croissance de la plante, le nombre de fleurs et le nombre de fruits par plant.

#### **4.3 Les autres parties de l'arbre :**

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

Dans les domaines forestiers, les pieds mâles sont souvent taillés pour le fourrage. Plusieurs études ont montré que l'utilisation des feuilles associées avec le polyéthylène glycol (PEG) améliore la digestibilité et la qualité nutritive des tanins contenus dans les feuilles (**Priolo et al., 2000**), ces derniers ont été utilisés en Turquie, dans la médecine 'traditionnelle' pour traiter la diarrhée et dans l'alimentation diététique (**Baytop, 1984**) ; ils ont été également désignés comme étant porteurs d'activités cytotoxiques et antimicrobiennes (**Kivçak et Mart, 2002**).

#### **5. Production du caroubier :**

Selon les données du **FAOSTAT (2010)**, l'aire totale de la production mondiale du caroubier est estimée à 102939ha (**Tableau1**). La plus grande superficie, 83574ha, est celle de l'Europe, contre une superficie estimée à 1000ha pour l'Algérie et 13460ha pour les pays d'Afrique du Nord.

La production mondiale de caroube est estimée à 191355.64 tonnes. Elle est essentiellement concentrée en Espagne, Italie, Maroc, Portugal, Grèce, Turquie, suivie de Chypre, Algérie, Liban, et en dernier la Tunisie (**Tableau2**).

**Tableau1** : Superficie occupée par le caroubier (FAOSTAT 2010)

Pays	Superficie (ha) en 2004	Superficie (ha) en 2008
Algérie	1066	1000
Afrique du Nord	13526	13460
Europe	92218	83574
Monde	112711	102939

**Tableau2** : Production mondiale de caroube (FAOSTAT 2010)

Pays	Production en tonnes (2004)	Production en tonnes (2008)
Espagne	67000	72000
Italie	24000	31224
Maroc	40000	25000
Portugal	20000	23000
Grèce	19000	15000
Turquie	14000	12100
Chypre	7000	3915
Algérie	4600	3600
Liban	3200	2800
Tunisie	1000	1000
Monde	182680	191167

Durant le siècle dernier, la production mondiale de caroube a connu une chute dramatique, elle est passée de 650.000t en 1945 (**Orphanos et Papaconstantinou 1969**) à 310.000t en 1997. La grande perte a été enregistrée en Espagne où la production a chuté de 400.000t en 1930 à 150.000t en 1990 (**MAPA, 1994**).

Selon **Batle (1997)**, la régression accusée dans la production du caroubier a été principalement liée à la baisse des prix et aux programmes du développement des zones côtières au dépend des plantations de caroubier.

On remarque qu'en Algérie la production de caroube ainsi que la surface cultivée ont baissé par rapport aux données enregistrées en 2004, car il n'est plus utilisé comme plante fourragère pour l'aliment de bétails au profit de l'orge et c'est dû à son coût élevé et son rendement lent (10 à 15 ans après sa plantation).

# **PARTIE II**

# **MATERIELS ET METHODES**

## 1. Préparation du matériel biologique végétal :

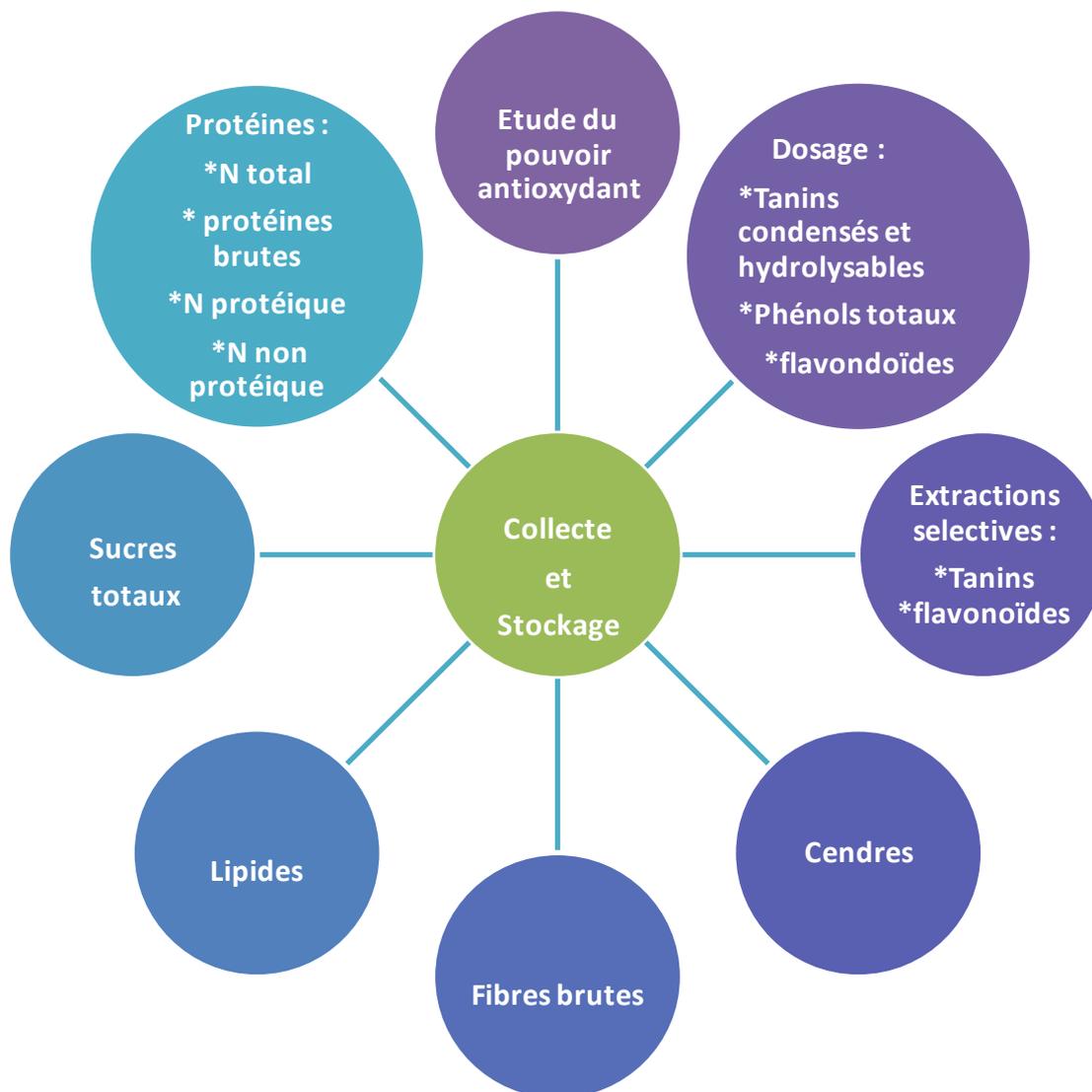
Le matériel végétal, constitué de gousses de caroubier mûres, a été collecté dans trois différentes régions de l'Algérie en Août 2009. Les lots de gousses de chacune des trois régions de provenance ont fait l'objet d'étude physico-chimique. Ces régions donatrices appartiennent à trois étages bioclimatiques différents, semi-aride (Tlemcen), subhumide (Blida) et humide (Jijel), dont la pluviométrie est respectivement de 500mm, 600mm et 1200mm par an (**Figure7**).

Au laboratoire, nous avons séparé la pulpe de la graine des gousses de chaque région afin de déterminer la teneur en eau. Ensuite, les six échantillons ont été broyés, séchés et conservés à l'abri de la lumière dans des flacons en verres pour des analyses ultérieures.



**Figure 7 :** (A) gousses et graines de caroubes de Jijel, (B) gousses et graines de Blida, (C) gousses et graines de Tlemcen (D), pulpe broyée à droite, graines broyées à gauche

## 2. Plan de travail :



## 3. Méthodes d'analyses utilisées :

### 3.1 Détermination de la matière sèche : (Audigie et al., 1980)

#### a. Principe :

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve aux températures de 100°C à 105°C, sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placés dans un dessiccateur.

**b. Mode opératoire :**

- Introduire dans chaque vase de tare 2g de l'échantillon frais : c'est le poids P1 ;
- Placer les dans une étuve réglée à 105 c° pendant trois heures ;
- Peser les vases de tare et répéter l'opération avec une heure d'intervalle entre chaque pesée jusqu'au poids constant ou à une différence de 2mg entre deux pesées successives ;

**c. Expression des résultats :**

La teneur en eau (%) du matériel végétal est donnée par la formule suivante:

$$\text{Teneur en eau (\%)} = (P-P1) / M \cdot 100$$

**P** : masse en g de la prise d'essai avant séchage.

**P1** : masse en g de la prise d'essai après séchage.

**M** : masse du matériel biologique.

A partir de la teneur en eau, on détermine le taux de matière sèche qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche (\%)} = 100 - \text{teneur en eau (\%)}$$

#### **4. Détermination quantitative des métabolites primaires**

##### **4.1 Détermination de la teneur en matière grasse : (ISO 659, 1998)**

**a. Principe :**

L'extraction par solvant organique (Hexane), spécifique pour la détermination du taux de la matière grasse est réalisée avec un appareil de type Soxhlet (**Figure8**).

A la fin de l'extraction, on peut admettre que toute la matière grasse est transférée dans le solvant.

**b. Mode opératoire :**

Il a été effectué selon la méthode **ISO 659, 1998**.

**c. Expression des résultats :**

Le taux de la matière grasse est calculé par la formule suivante :

$$\text{MG (\%)} = \frac{\text{P1} - \text{P2}}{\text{ME}} \times 100$$

Dont :

P2 : poids du ballon vide.

P1 : poids du ballon après évaporation.

ME : masse de la prise d'essai.

MG : taux de la matière grasse.

100: pour exprimer le pourcentage.



**Figure 8:** appareil à Soxhlet

## 4.2 Détermination de la teneur en fibres brutes :

Réalisé par la méthode de **Henneberg** et **Stohmann en 1860** appelée aussi la méthode **Weende** en utilisant un extracteur des fibres brutes **FIWE-VELP SCIENTIFICA** (Figure9).

### a. Principe :

Elle consiste à traiter l'échantillon à analyser successivement avec de l'acide sulfurique et de la potasse. L'hydrolyse acide/ basique (à chaud) permet de solubiliser la quasi-totalité du contenu cellulaire à l'exception des fibres alimentaires et des sels minéraux.

### b. Mode opératoire :

- Préparer deux solutions : l'une d'acide sulfurique à 1,25 % et l'autre de l'hydroxyde de potassium (KOH) à 1,25 % ;
- introduire dans un creuset 1g d'échantillon séché et broyé puis ajouter 150ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 1,25% ;
- après préchauffage et juste au début de l'ébullition, ajouter trois gouttes de N-octanol comme agent anti-mousse et compter exactement 30minutes ;
- vidanger l'acide sulfurique tout en lavant trois fois avec 30ml de l'eau distillée chaude ;
- ensuite ajouter 150 ml de KOH à 1.25 % ; préchauffer, ajouter 3 gouttes de N-octanol et compter encore une fois 30 minutes ;
- procéder à un deuxième lavage trois fois avec 30 ml d'eau distillée chaude ;
- effectuer un dernier lavage avec de l'eau distillée froide (30 ml) ;
- la dernière étape consiste à rincer les résidus contenus dans les creusets 3 fois avec 25 ml d'acétone ;
- introduire les creusets dans une étuve réglée à 105°C pendant une heure (1h) jusqu'à un point constant (M2) ; ce poids représente les fibres brutes plus la teneur en cendres par rapport au poids initial ; pour cela, il est nécessaire de poursuivre l'opération en plaçant les creusets dans un four à moufle à 550°C jusqu'à ce que la couleur des résidus devienne blanc grisâtre ;
- laisser les creusets refroidir dans un dessiccateur et peser les (M3).

**c. Expression des résultats :**

La teneur des fibres brutes est calculée par la formule présentée ci- dessous :

$$F \% = (M2 - M3) \times 100$$

F : pourcentage des fibres brutes.



**Figure 9:** appareil extracteur de fibres

**4.3 Détermination de la teneur en cendres (matière minérale) : (Audigie et Dupont, 1982)**

**a. Principe :**

Le principe consiste en une incinération du matériel biologique au four à moufle, dans un creuset en porcelaine, à une température de 900°C.

L'opération ne sera terminée que lorsque la couleur des résidus deviendra blanche grisâtre, qui se transformera en une couleur blanche après refroidissement.

**b. Mode opératoire :**

- On procède d'abord à une pré-incinération des creusets en porcelaine à 300°C pendant 15 minutes ;

- après refroidissement dans un dessiccateur, ils sont pesés (poids A) ;
- on met 2g de l'échantillon broyé dans les creusets et on les introduit dans un four à moufle à 900°C jusqu'à ce que le contenu des creusets prenne une couleur blanc grisâtre qui blanchit après refroidissement dans un dessiccateur ;
- enfin, on pèse les creusets avec les cendres (c'est le poids B).

### c. Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$T_c (\%) = \frac{B - A}{m} \times 100$$

Dont :

T<sub>c</sub> : teneur en cendres (%).

A : poids du creuset vide (g).

B : poids du creuset + échantillon après l'incinération.

m : masse de l'échantillon (g).

## 4.4 Dosage des sucres totaux :

### a. Principe :

Le dosage des sucres totaux est effectué par la méthode de phénol / acide sulfurique **(Dubois et al., 1956)**.

Cette dernière nécessite une hydrolyse acide qui permet la rupture de toutes les liaisons glucidiques dans le polysaccharide.

Le principe du dosage se base sur la condensation des produits de déshydratation des oses avec un chromogène qui est le phénol. A ce moment-là, il se forme des chromophores de couleur jaune-orange, leur apparition est suivie en mesurant l'augmentation de la densité optique à 490nm.

La teneur des sucres est exprimée en µg / ml (convertie en grammes / litre) de α D (+) Glucose à partir d'une courbe d'étalonnage.

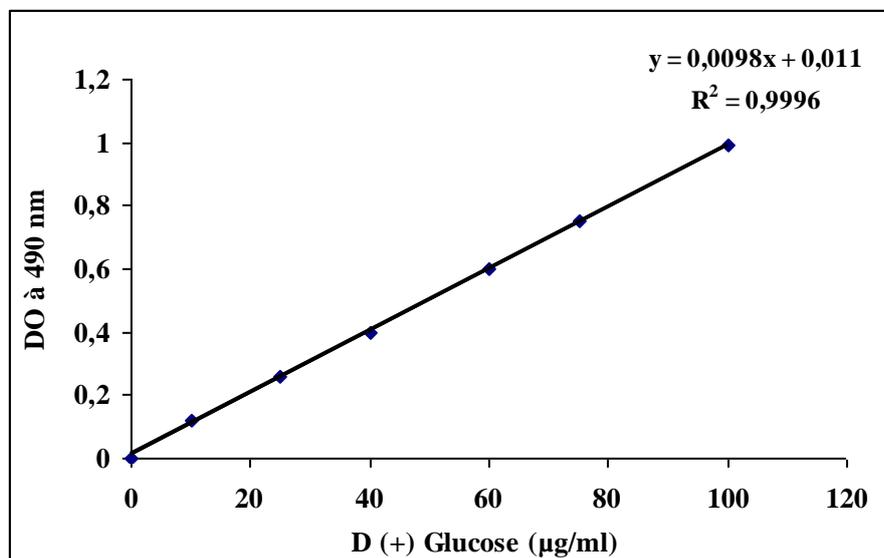
**b. Mode opératoire :**

● **Préparation de l'échantillon :**

- On additionne à 0,5g d'échantillon, 20 ml d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) 0,5 M, puis on place l'ensemble dans une étuve réglée à  $105^\circ C$  pendant 3 heures ;
- on transpose la solution dans une fiole de 500ml tout en ajustant le volume par de l'eau distillée jusqu'à 500ml ;
- on filtre la solution puis on réalise trois dilutions au 1/3 ;
- dans des tubes, on met 1ml de chaque dilution, ensuite on ajoute dans chaque tube 1ml de phénol à 5 % et 5ml d'acide sulfurique  $H_2SO_4$  à 98 % ;
- les tubes sont maintenus dans l'étuve pendant 5 minutes à  $105^\circ C$ , puis laissés dans l'obscurité pendant 30 minutes ;
- enfin, à l'aide d'un spectrophotomètre, on lit la densité optique à une longueur d'onde de 490 nm.

En parallèle, on trace la courbe d'étalonnage de la façon décrite dans l'**annexe 1**.

● **la courbe d'étalonnage :**



**Figure 10:** Courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux.

## 4.5 Dosage des protéines brutes : (Kjeldahl, 1883)

### a. Principe :

Pour déterminer la quantité des protéines contenues dans un échantillon, on procède à un dosage de l'azote total par la méthode de **Kjeldahl** qui a été développée en **1883** par un chimiste danois « **Johan KJELDAHL** ». Cette dernière s'effectue en trois phases :

- Digestion (minéralisation) ;
- distillation ;
- titration.

### b. Mode opératoire :

#### ● Minéralisation :

Dans un matras de **Kjeldahl**, on introduit :

- 1 g du matériel biologique broyé.
- 2 g de catalyseur (**annexe 3**).
- 25 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré à 97 %.
- 2 ml d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (eau oxygénée) à 30 %.

On chauffe le matras jusqu'à ce que la couleur noire se transforme en une couleur limpide, à ce moment-là l'azote organique est transformé en azote minéral.

Ensuite, on laisse refroidir et on transpose l'échantillon minéralisé dans une fiole, on lave le matras avec l'eau distillée tout en ajustant le volume jusqu'à 100 ml.

#### ● Distillation :

Elle se fait dans une unité de distillation **BÜCHI Distillation Unit B-324**.

Dans un matras, on introduit 10 ml du contenu de la fiole auquel on additionne 20 ml d'eau distillée et 30 ml de la soude à 35 %.

En parallèle, on prépare une solution d'acide borique à 0,1N avec 10 gouttes d'Indicateur de Tashiro (de couleur rose- violette en présence d'un milieu acide et verte dans le cas d'un milieu alcalin) (**annexe 4**).

La distillation s'effectue dans un appareil spécifique, elle est arrêtée au bout de 4 minutes à compter du début d'ébullition.

- **Titration :**

Puisqu'on utilise l'acide borique comme solution de récupération, on va alors titrer l'excès des anions de borate avec la solution de HCl à 0,1N jusqu'à changement de la coloration du vert au rose-violet dû au virage de l'indicateur de Tashiro.

**c. Expression des résultats :**

L'azote total est calculé suivant la formule représentée ci- dessous :

$$\text{Azote total (N) (\%)} = \frac{(V_B - V_E) F \cdot 0,0014 \cdot 10 \cdot 100}{M}$$

Dont :

$V_B$  : Volume de NaOH 0.1N utilisé pour un essai blanc (ml).

$V_E$  : Volume de NaOH 0.1N utilisé pour la titration de la solution à doser (ml).

F : Facteur de correction.

100 : coefficient du pourcentage

10 : coefficient du volume total de la solution à doser

M : masse de la prise d'essai.

Le taux d'azote total est converti en taux de protéines brutes selon la formule suivante :

$$\text{Taux de protéines brutes (\%)} = \text{N total (\%)} \times 6,25$$

D'où 6,25 est le facteur de conversion basé sur le taux moyen d'azote des protéines.

## **4.6 Dosage de l'azote protéique : (Manolkidis et al., 1970)**

### **a. Principe :**

La détermination de l'azote protéique est effectuée par la méthode de précipitation des protéines par une solution à 10 %, et à 5 % d'acide trichloracétique (TCA).

### **b. Mode opératoire :**

- On traite 1g d'échantillon séché et broyé avec 10ml d'acide trichloracétique à 10 % (précipitation des protéines) ;
- ensuite, on procède à une filtration et tout juste après, on lave le mélange (papier filtre + résidus) deux à trois fois avec TCA à 5 % pour éliminer l'azote non protéique.
- Le culot contenant l'azote protéique est séché dans l'étuve à 45°C pendant 3h.
- Enfin, on dose l'azote protéique par la méthode de **Kjeldahl** décrite précédemment.

### **c. L'azote non protéique :**

La quantité trouvée d'azote protéique est soustraite de l'azote total afin de quantifier l'azote non protéique.

$$N_{NP} (\%) = N_T (\%) - N_P (\%)$$

Dont :

$N_{NP}$  : teneur en azote non protéique.

$N_T$  : teneur en azote total.

$N_P$  : teneur en azote protéique.

## **5. Détermination des métabolites secondaires :**

### **5.1 Extractions sélectives :**

La caroube étant riche en sucres simples, avant de procéder à l'extraction ; on laisse les gousses de caroube, écrasées et séchées préalablement, macérer pendant 12 heures dans de l'eau froide (3°C). Ce procédé, répété 2 fois, permet d'éliminer les oses présents ; c'est une

méthode employée par **Kumazawa et al., (2002)** ; on procède par la suite aux extractions sélectives.

**a. Extraction des tanins : (Bruneton, 1999)**

10g de matériel végétal broyé sont mis en présence de 180ml d'eau distillée et 100ml d'acétone ; l'ensemble est porté à une macération à froid (4°C) pendant 4 jours.

Filtrer et extraire la solution deux fois avec 50ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides.

Décanter et extraire la phase aqueuse quatre fois avec 50ml d'acétate d'éthyle (AE). Sécher la phase organique avec  $MgSO_4$ , ensuite évaporer le solvant à sec ; le résidu obtenu est pesé pour avoir le rendement.

**b. Extraction des flavonoïdes : (Dauguet et Foucher, 1982)**

20g de matériel végétal sont placés dans 200ml de méthanol bouillant en présence de 10g de  $CaCO_3$ . L'ébullition est maintenue sous réfrigérant à reflux pendant 1 heure. Après filtration, le dépôt est porté de nouveau à ébullition pendant 1 heure dans la même quantité d'alcool.

Les deux solutions alcooliques sont réunies, elles sont éliminées par distillation sous pression réduite et le résidu sirupeux est repris par 100ml d'eau distillée bouillante.

La solution aqueuse est filtrée à chaud et le filtrat est épuisé successivement par l'éther diéthylique, acétate d'éthyle, et le n-butanol ; tous les composés flavoniques se retrouvent dans l'extrait acétate d'éthyle. Ce dernier est évaporé à sec et pesé pour calculer le rendement.

## **5.2 Dosage des composés phénoliques :**

**a. Dosage des phénols totaux :**

➤ **Extraction :**

Une prise d'essai de 2g du matériel végétal dégraissé est macérée dans 100ml du mélange acétone/eau (70% v/v) pendant 24 heures, à température ambiante.

Après filtration sous vide, le mélange acétone/eau, est évaporé à sec sous pression réduite à 45°C. Le résidu obtenu est récupéré avec 3ml de méthanol pur, pour les dosages ultérieurs (Yu et Dahlgren, 2005).

➤ **Dosage par la méthode de Folin Ciocalteu :**

● **Principe :**

La réaction est basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdique du réactif Folin Ciocalteu (un acide de couleur jaune, constitué de polyhétérocycles acides contenant du molybdène et tungstène), par les polyphénols en milieu alcalin (Catalano et al., 1999).

Elle se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée due à la formation d'un complexe molybdène tungstène mesuré au spectrophotomètre.

● **Mode opératoire :**

Le dosage des polyphénols est effectué par la méthode de Singleton (1965) et reporté par Dogyan et al., (2005).

Le résidu obtenu après l'extraction est dissout dans 5ml d'eau distillée, puis 100µl de cette solution mère est dilué jusqu'à 3ml. Ensuite ajouter 0.5ml du réactif de Folin Ciocalteu.

-Laisser réagir pendant 3 minutes. Ensuite, ajouter 2ml de carbonate de sodium à 20% ;

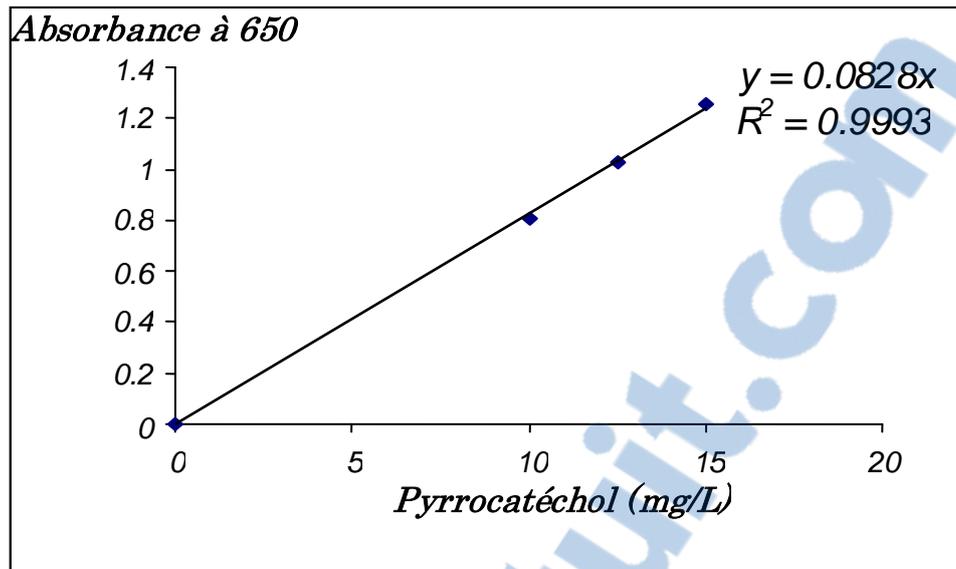
-Vortexer le mélange et laisser incuber à l'obscurité pendant 1 heure ;

-Lire l'absorbance à 650nm.

● **Expression des résultats :**

La teneur en polyphénols totaux est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage (annexe 6) et exprimée en milligramme équivalent de pyrocatechol par 100g de matière sèche.

L'équation est donnée ci-dessous:



**Figure 11** : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.

On obtient une valeur X mg équivalent de pyrocatéchol / 100g de matière sèche.

La formule suivante permet le calcul de la teneur en phénols totaux exprimée en mg/g.

$$T = C x \frac{V x D}{Ps}$$

T : teneur en phénols totaux

C : concentration des polyphénols en équivalent de pyrocatéchol déduite de la courbe

V : Volume de l'extrait total

D : facteur de dilution

Ps : poids de la matière sèche.

**b. Dosage des tanins condensés (test de la vanilline avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) :**

Cette méthode de détermination du taux des tanins condensés a été proposée par **SWain et Hillis (1959)**.

- **Principe :**

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide. Il est spécifique des flavones 3-ols.

- **Mode opératoire :**

Solution A : extrait de L'échantillon.

Solution B : Vanilline à 1% avec acide sulfurique à 70%.

Prendre 2ml de la solution B et 1ml de la solution A. Mettre les tubes au bain marie pendant 15 min à 20°C. Lire l'absorbance à 500 nm.

- **Expression des résultats :**

$$T (\%) = 5,2 \times 10^{-2} \times \frac{DO \times V}{P}$$

Avec :

$5,2 \times 10^{-2}$  : constante exprimée en équivalent de cyanidines.

DO : densité optique.

V : volume d'extrait utilisé.

P : Poids de l'échantillon.

T% : pourcentage du taux des tanins condensés.

**c. Dosage des tanins hydrolysables (au chlorure ferrique) :**

- **Principe :**

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

- **Mode opératoire :**

- $FeCl_3$  / HCL le réactif C (**annexe 2**).

- Prendre 1ml de l'extrait de l'échantillon et y ajouter dans chaque tube 3,5ml de réactif C
- lire l'absorbance à 660nm, 15 secondes après l'addition du réactif C.

- **Expression des résultats :**

$$T (\%) = DO \times \frac{M \times V}{E_{\text{moles}} P}$$

DO : Densité optique

$E_{\text{moles}}$  : 2169 de l'acide gallique

M : 300

V : Volume d'extrait utilisé.

P : Poids de L'échantillon.

T% : Pourcentage des tanins hydrolysables.

**d. Dosage des flavonoïdes :**

- **Mode opératoire :**

Le dosage des flavonoïdes est déterminé par la méthode de **Djeridane et al., (2006)**.

1ml de l'extrait brut est mélangé avec 1ml d' $AlCl_3$  à 2%. Après incubation pendant 15 minutes à température ambiante, l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 430nm.

**Préparation de l'étalon :**

À partir d'une solution mère de rutine 10mg/l, on prépare des dilutions de différentes concentrations :

9mg/l, 8mg/l, 7mg/l, 6mg/l, 5mg/l, 4mg/l, 3mg/l, 2mg/l, 1mg/l.

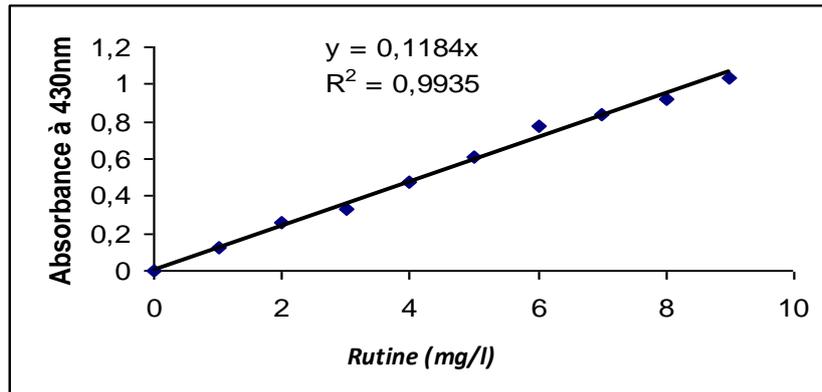
On prend 2ml de chaque concentration et on ajoute 2ml ( $AlCl_3$ ) à 2%, puis on les mélange au Vortex.

Après incubation de 15mn, on lit l'absorbance à 430nm.

- **Expression des résultats :**

La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme équivalent de rutine par 100g de matière sèche.

L'équation est donnée ci-dessous :



**Figure 12:** courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.

## 6. Etude du pouvoir antioxydant :

- **Principe :**

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est pratiquement le radical libre le plus stable.

En solution (méthanol ou éthanol), le DPPH est caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 515nm.

En présence d'un donneur d'hydrogène, le DPPH est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune pâle (forme d'hydrazine). Ce passage de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance (DO) qui peut s'exprimer par le pourcentage de réduction du DPPH (**Figure13**).

Conventionnellement, une grande capacité de piégeage des radicaux libres est considérée comme une grande activité antioxydante (**Lee et al., 2004**).

- **Mode opératoire :**

L'activité antioxydante des polyphénols totaux a été mesurée en utilisant le radical libre stable le DPPH par la méthode de **Sanchez et al., (2002)**.

**Préparation des solutions de contrôle :**

**L'essai à blanc :**

Pour calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre) :

1,950ml de méthanol est additionné à 50µl d'extrait phénolique à différentes concentrations puis on agite le mélange.

**La solution contrôle :**

Préparer 1,950ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l) dans un tube à essai et ajouter 50 µl d'extrait polyphénolique à différentes concentrations ; ensuite laisser incuber à l'obscurité pendant 30 minutes ; puis lire l'absorbance du mélange à 515nm en utilisant un UV-VIS spectrophotomètre.

- **Expression des résultats :**

Le pourcentage de réduction du DPPH par l'extrait phénolique selon la formule donnée par **Yen et Duh (1994)**.

$$\%R \text{ du DPPH} = \left( \frac{DO_{\text{contrôle}} - DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{contrôle}}} \right) \times 100$$

%R du DPPH : Pourcentage de réduction ou d'inhibition du DPPH.

DO<sub>contrôle</sub> : Densité optique du contrôle.

DO<sub>échantillon</sub> : Densité optique de l'antioxydant.

A partir de la variation du pourcentage de réduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait phénolique, nous pourrions déterminer graphiquement l'EC<sub>50</sub> qui est définie

comme étant la concentration de l'antioxydant nécessaire pour réduire ou inhiber 50% du DPPH.



**Figure 13 :** Solution de DPPH après réaction avec l'extrait phénolique

## **7. Analyse statistique :**

Le test t de Student a été utilisé pour les comparaisons statistiques. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  une erreur standard avec un seuil de significativité  $p \leq 0.05$ . Tous les calculs ont été effectués au moyen du logiciel Microsoft Office Excel 2007 de Microsoft® sur Windows®.

# **PARTIE III**

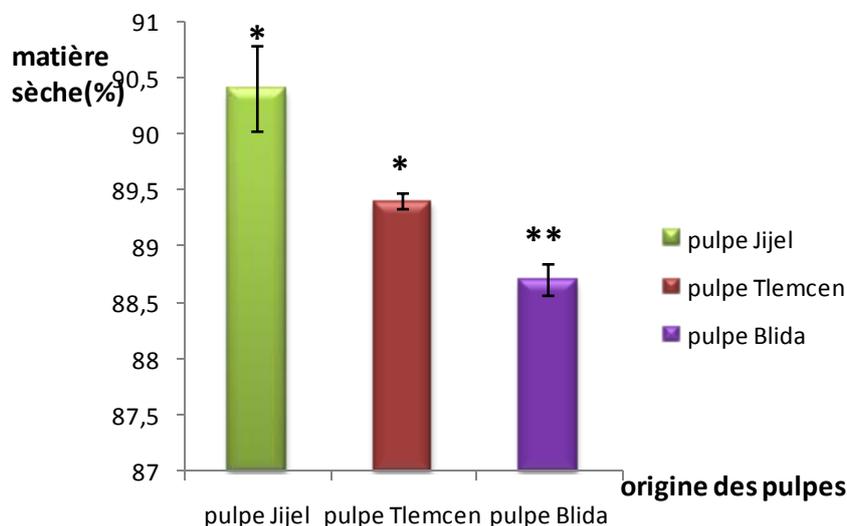
## **RESULTATS ET DISCUSSIONS**

## 1. Détermination de la matière sèche :

L'appréciation de la matière sèche repose sur la détermination de la teneur en eau des échantillons à analyser ; l'analyse a été réalisée sur des échantillons qui ont été récoltés en Août 2009, soit 5 mois après la récolte, ce qui explique l'expression des résultats en matière sèche.

Le taux de la matière sèche dans les pulpes de caroube des différentes régions a été estimé entre 88,68% et 90,40% ; alors que dans les graines, il a été estimé entre 28,40% et 30,80%.

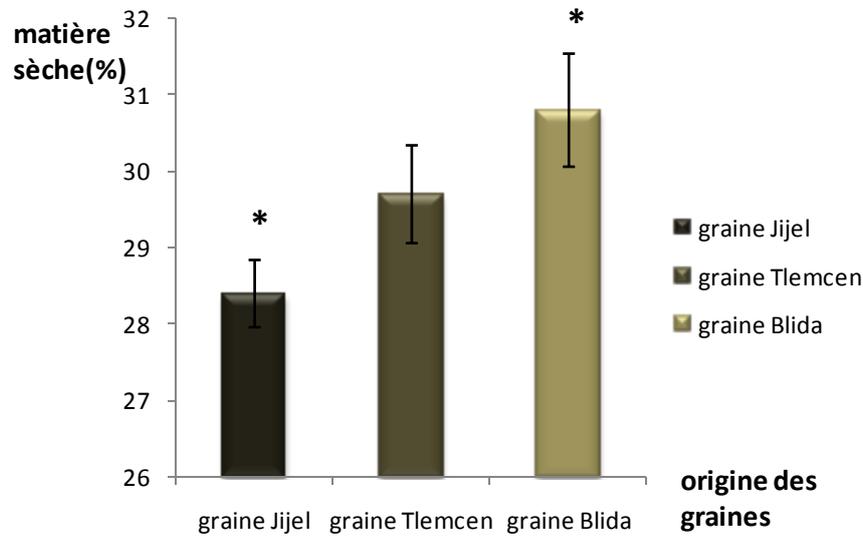
Les diagrammes suivants (**Figure14**) représentent les taux de matière sèche des différents échantillons étudiés, on remarque selon les diagrammes que le taux de matière sèche est important dans la pulpe de Jijel suivi de Tlemcen avec une différence peu significative entre elles, suivi de Blida qui a une différence moyennement significative avec la pulpe de Tlemcen ; par contre le taux de matière sèche est supérieur dans la graine de Blida suivi de Tlemcen et en dernier de Jijel mais elles ne présentent aucune différence significative entre elles ; par ailleurs, le taux de matière sèche au niveau de la pulpe est nettement supérieur à celui des graines et cela pour les trois régions étudiées, mais en l'occurrence cette différence n'est pas significative.



**Figure 14-1** : taux de la matière sèche exprimé en pourcentage des pulpes de caroube de la région de Tlemcen, Blida et Jijel

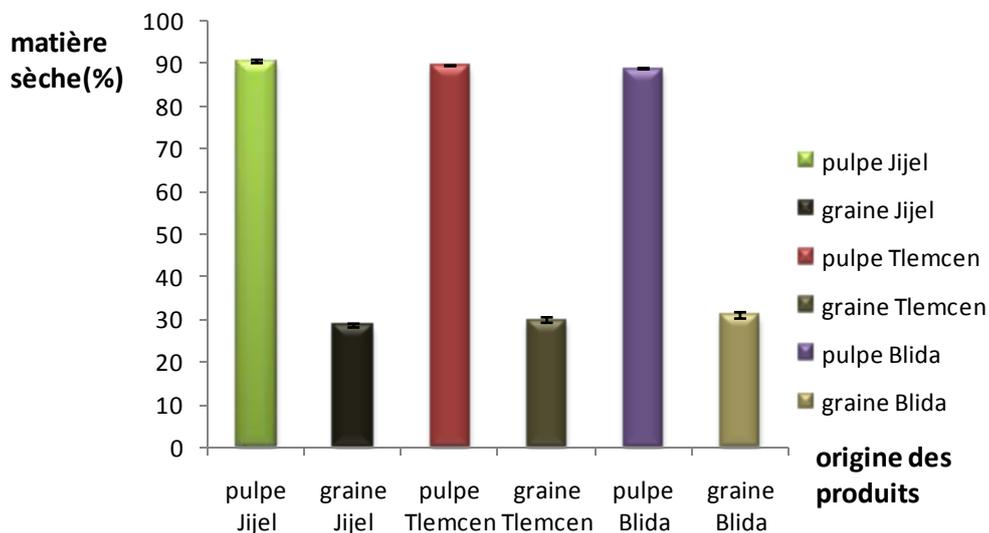
**\*\*** : Différence moyennement significative entre la pulpe de Blida et de Tlemcen

\* : Différence peu significative entre la pulpe de Jijel et de Tlemcen



**Figure 14-2 :** taux de la matière sèche exprimé en pourcentage des graines de caroube de la région de Tlemcen, Blida et Jijel

\* : Différence significative entre les graines de Jijel et de Blida



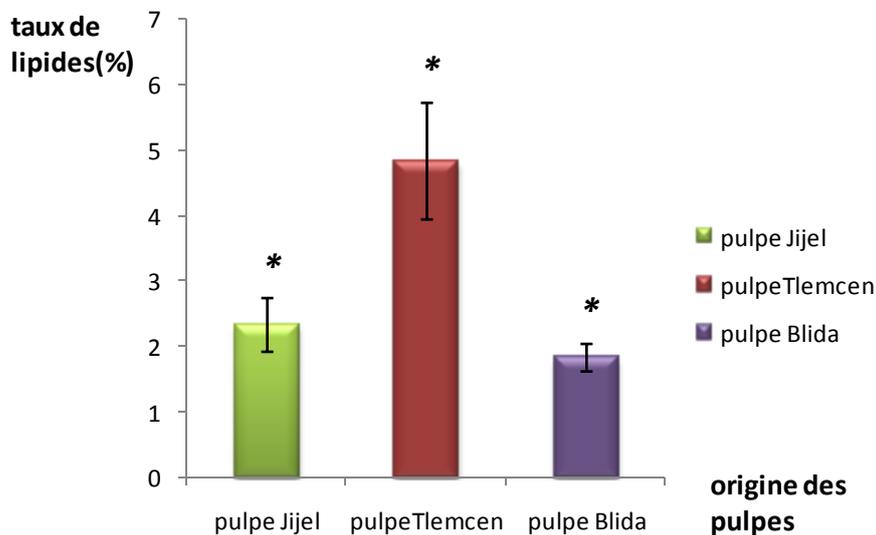
**Figure14-3 :** taux de la matière sèche exprimé en pourcentage des pulpes et des graines de caroube de la région de Tlemcen, Blida et Jijel

## 2. Détermination quantitative des métabolites primaires :

### 2.1 Teneur en lipides :

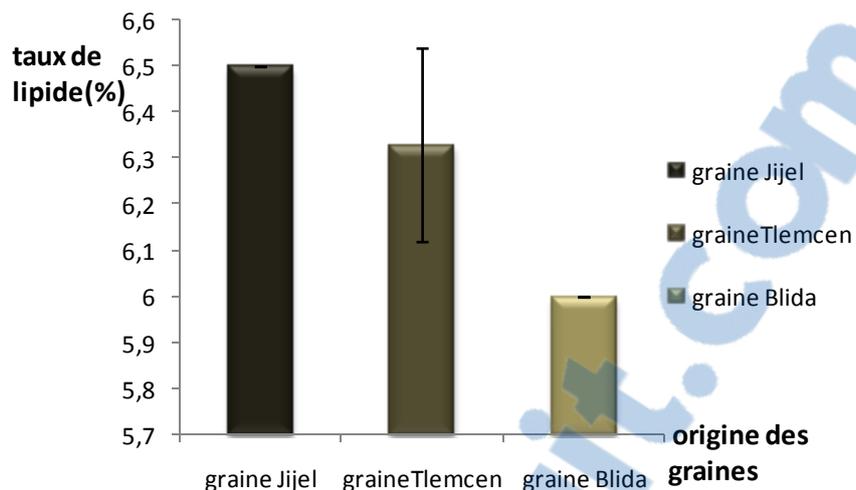
Les lipides sont des constituants biologiques nutritionnellement importants du point de vue calorique et de l'apport en acide gras essentiels ainsi qu'en vitamines liposolubles, ce sont des matières organiques insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques.

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. Dans les diagrammes ci-dessous (**Figure15**) sont illustrées les teneurs en lipides des pulpes et des graines de caroube étudiées, exprimées en pourcentage de matière sèche (MS).

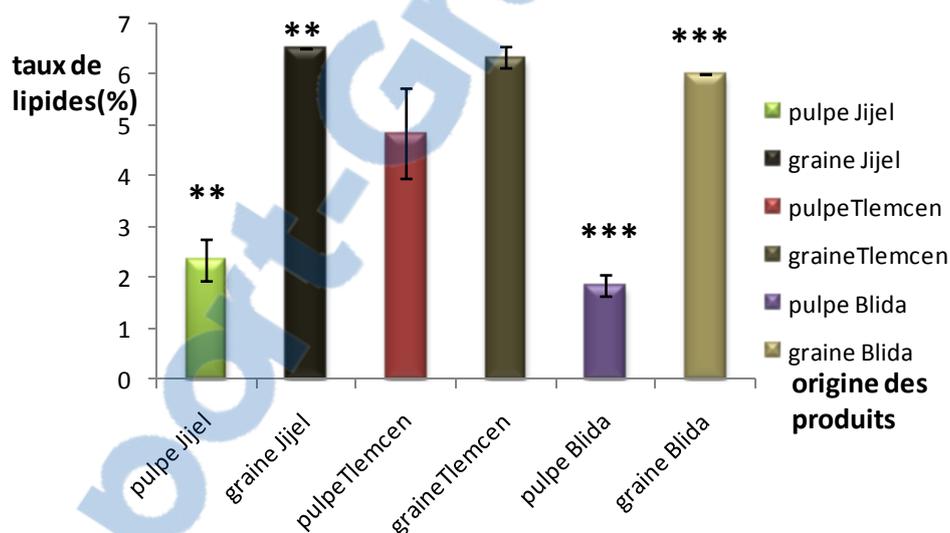


**Figure15-1** : Teneur en lipides en % de MS des pulpes étudiées

\* : Différence peu significative entre les pulpes Tlemcen-Jijel et les pulpes Tlemcen-Blida



**Figure 15-2 :** Teneur en lipides en % de MS des graines étudiées



**Figure 15-3 :** Teneur en lipides en % de MS des pulpes et des graines étudiées

**\*\*\* :** Différence très significative entre la pulpe et la graine de Blida

**\*\* :** Différence moyennement significative entre la pulpe et la graine de Jijel

Les résultats obtenus montrent que les graines de caroube contiennent plus de matière grasse par rapport aux pulpes avec une différence moyennement significative entre la pulpe et la graine de Jijel, par contre elle est très significative entre la pulpe et la graine de Blida, ceci s'explique du fait que la graine est un organe utilisé par la plante pour le stockage des

nutriments, aussi la pulpe de Tlemcen contient plus de lipides (4,83%) que celle de Jijel(2,33%) et de Blida (1,83%) en dernier, avec une différence peu significative entre les trois pulpes ; par contre le taux dans les graines de Jijel (6,5%) domine légèrement celui des graines de Tlemcen (6,33%) et de Blida (6%), mais la différence entre elles n'est pas significative. Ces valeurs rejoignent celle de **Dakia et al., en 2007** qui est de 6,6% représentée en majeure partie par l'acide oléique (34.4%) et l'acide linoléique (44.5%), tandis que l'acide palmitique (16.2%) et l'acide stéarique (3.4%) sont les principaux acides gras saturés. Tandis que pour les pulpes, les résultats obtenus sont beaucoup plus élevés que ceux de **Yousif et Alghzawi en 2000**, qui sont de (0,74%), pour la Jordanie et de ceux d'**Avallone et al., (1997)** qui sont de (0,6%) pour l'Italie.

La valeur obtenue pour la pulpe de Tlemcen rejoint celle d'**Ayaz et al., (2009)** (4,44%) et qui est représentée par 11 acides gras avec une prédominance de l'acide oléique ; l'acide palmitique est l'acide gras saturé le plus abondant, et une quantité nutritionnellement appréciable des acides gras essentiels tels que l'acide linoléique et l'acide  $\alpha$ -linoléique, de plus l'auteur a démontré que la pulpe de caroube contient plus d'acides gras insaturés que d'acides gras saturés (897 $\pm$ 53  $\mu$ g/g de MS et 335  $\mu$ g/g de MS) respectivement, ce qui confère à la caroube la propriété de diminuer le risque de maladies cardiovasculaires.

## 2.2 Teneur en fibres totales :

Les fibres alimentaires sont des polymères glucidiques d'origine végétale, associées ou non dans la plante à la lignine ou à d'autres constituants non glucidiques (polyphénols, cires, saponosides, phytostérols...) (**AFSSA, 2002**).

L'apport en fibres provient majoritairement des végétaux qui constituent notre alimentation : fruits, légumes, diverses graines et céréales (**Bruneton, 1999**).

Les fibres alimentaires ont plusieurs effets bénéfiques sur la santé, notamment :

- Augmentation du bol fécal ;
- diminution de la cholestérolémie et du taux de LDL plasmatique ;
- diminution de la glycémie et de l'insulinémie post- prandiale.

Le dosage des fibres alimentaires effectué sur les échantillons de caroube étudiés est représenté sur les diagrammes suivants (**Figure16**) en pourcentage de (MS).

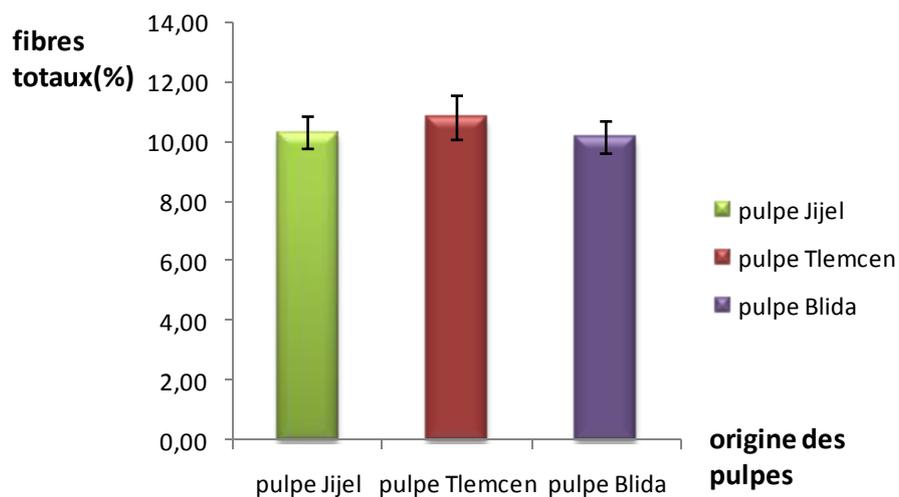


Figure 16-1 : Teneur en fibres en % de MS des pulpes de caroube étudiées

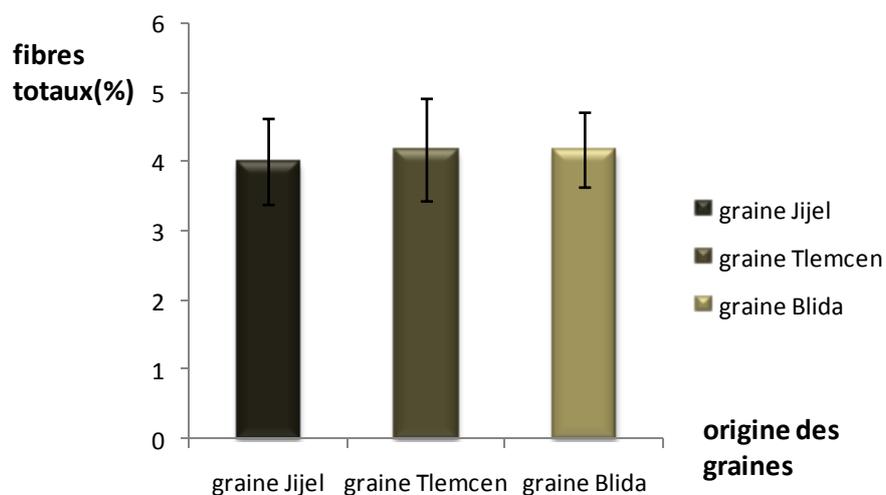
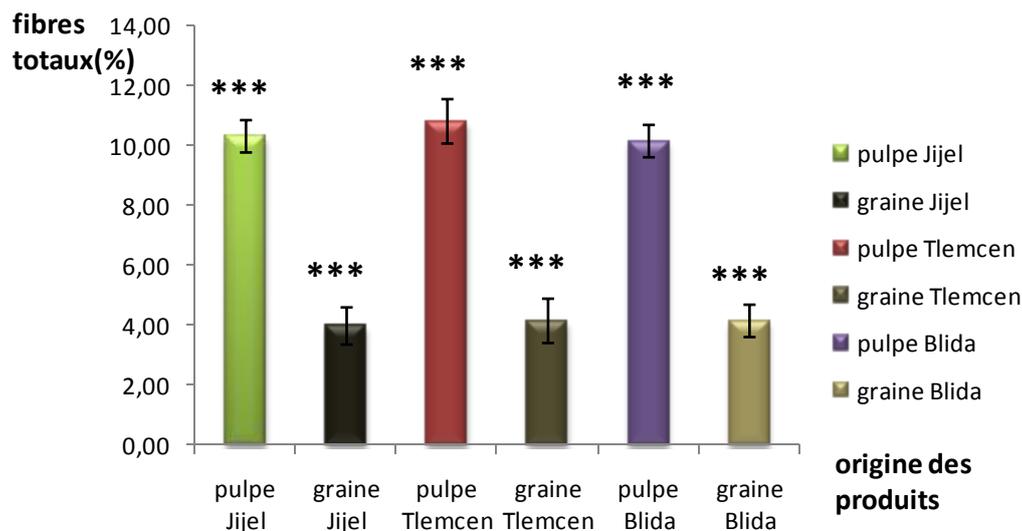


Figure 16-2 : Teneur en fibres en % de MS des graines de caroube étudiées





**Figure 16-3 :** Teneur en fibres en % de MS des pulpes et des graines de caroube étudiées

**\*\*\* :** Différence très significative entre la pulpe et les graines de Tlemcen, pulpe-graine de Blida et pulpe-graines de Jijel

Les taux de fibres alimentaires sont pratiquement les mêmes pour les pulpes (10,83%MS, 10,33%MS, 10,17%MS) pour les pulpes de Tlemcen, Jijel et Blida respectivement, mais sans aucune différence significative ; nous avons enregistré des valeurs très rapprochées également pour les graines (4%MS, 4,17%MS, 4,17%MS) de Jijel, Tlemcen et Blida respectivement, sans aucune différence significative, cependant, il existe une différence très significative entre le taux de fibres dans les pulpes et celui des graines.

Les résultats que nous avons obtenu concernant les pulpes sont comparables à ceux obtenus par **Yousif et Alghzawi en 2000** (10,99%de MS), ils ont aussi démontré que la caroube ne contient pas de caféine ni de théobromine qui sont des composés antinutritionnels contenus dans le cacao, ce qui est considéré comme un avantage du point de vue nutritionnel, qualifiant ainsi la caroube comme un bon substitut du cacao dans certaines denrées alimentaires ; par contre, selon **Donkoh et al., 1991**, ce dernier contient nettement plus de fibres que la caroube (32,5%MS). Par ailleurs, en comparant nos résultats à des travaux effectués sur la caroube d'Espagne par **Albanell et al., (1991)**, nous avons remarqué que la caroube d'Espagne contenait moins de fibres (8,01%) que celle d'Algérie ce qui est un avantage pour cette dernière.

Plusieurs travaux ont été réalisés sur les fibres de caroube et ont révélé les résultats suivants :

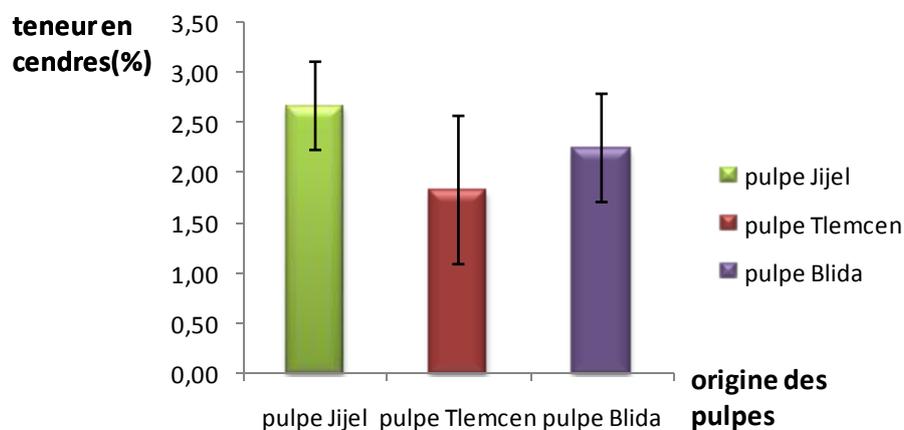
- Les fibres de caroube augmentent le métabolisme des lipides en favorisant leur utilisation donc leur oxydation ; par conséquent ; les fibres de caroube exercent une bonne influence sur l'énergie ingérée et le poids corporel (**Gruendel et al., 2007**) ;
- L'ingestion des fibres de caroube diminue le taux de glucose postprandiale dans le sang et l'insulinémie chez les sujets ayant le diabète de type 2 (**Tabatabai et Li, 2000 ; Gruendel et al., 2007**) ;
- La consommation des fibres de caroube réduit les taux de cholestérol HDL et LDL et de triglycérides dans le sang, donc ils contribuent à la prévention et au traitement de l'hyperlipidémie (**Zunft et al., 2001 ; Ruiz-Roso et al., 2010**).

### 2.3 Teneur en cendres :

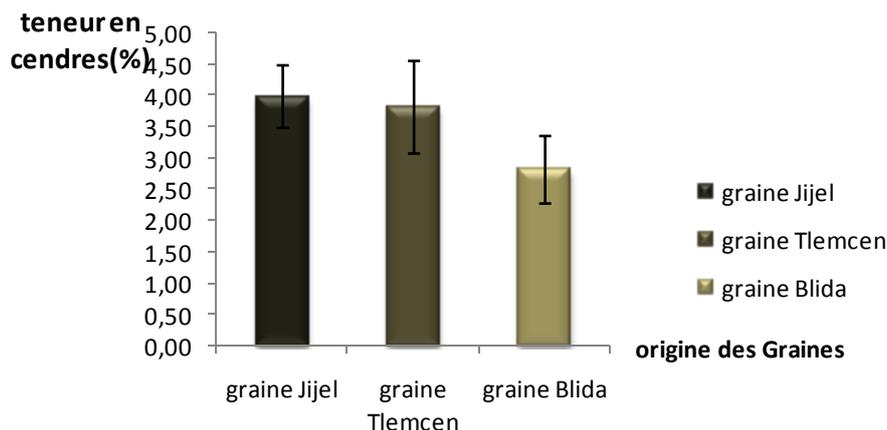
La détermination de la teneur en matière minérale nous éclaire sur la qualité nutritionnelle de l'échantillon à analyser.

En effet, la teneur en cendres des aliments doit avoir un seuil à ne pas dépasser pour la consommation humaine et animale.

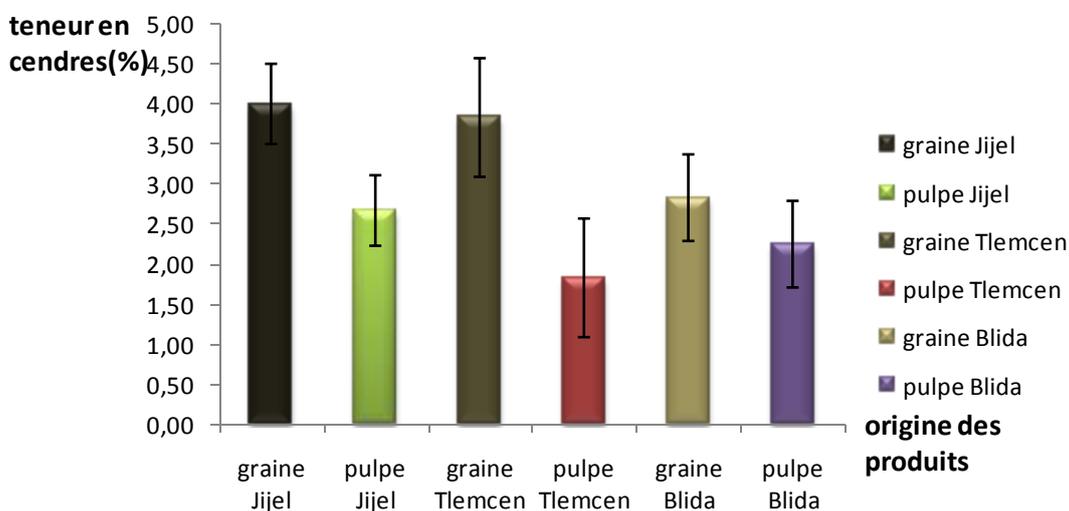
Les résultats obtenus pour la teneur en cendres des pulpes et des graines de caroube ne présentent aucune différence significative que ce soit pour les pulpes entre elles ou pour les graines, **la figure 17** illustre ces résultats.



**Figure 17-1** : Teneur en cendres en% de MS des pulpes de caroube étudiées



**Figure 17-2 :** Teneur en cendres en% de MS des graines de caroube étudiées



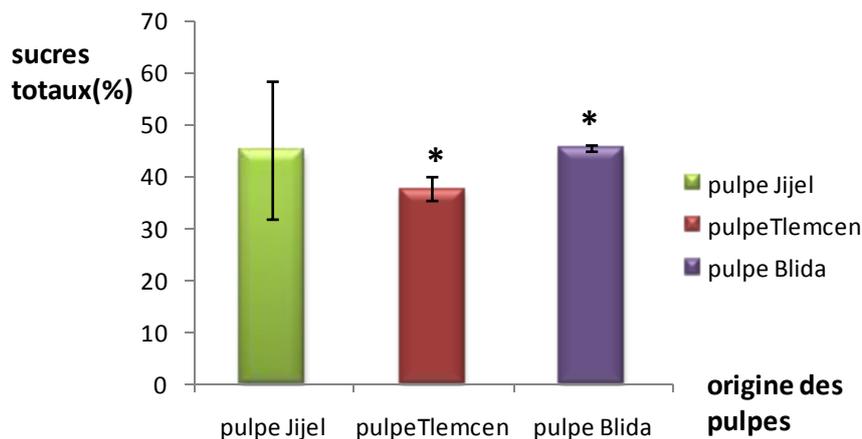
**Figure 17-3 :** Teneur en cendres en% de MS des pulpes et des graines de caroube étudiées

D'après les résultats ci-dessus, la teneur en matière minérale des graines (4%, 3,83% et 2,83%) pour Jijel, Tlemcen et Blida respectivement, est plus importante que celle des pulpes ; de plus il existe une prédominance de la graine et la pulpe de Jijel par rapport aux autres échantillons. Concernant les pulpes, la teneur en cendres de celles de Tlemcen (1,83%) vient après Blida (2,25%) et Jijel (2,67%), cela peut s'expliquer d'après (**Bezzala , 2005**) par la provenance géographique des échantillons, notamment les conditions climatiques et les caractères édaphiques des sols. De plus la proportion inégale au niveau de la pulpe et de la graine dépend de l'activité biologique des deux parties de la plante (**Linden et Lorient, 1994**).

Les résultats obtenus pour les pulpes se rapprochent de ceux cités dans la bibliographie (Albanell et al., 1991 ; Yousif et Alghzawi, 2000) ; d'après Ozcan et al., (2007), les différents minéraux se trouvant dans la pulpe de caroube et qui sont en quantité dominante sont le potassium 970mg/100g, suivi du calcium 300mg/100g, 71mg/100g de phosphore et 60mg/100g de magnésium, ainsi que les éléments traces suivants : fer, manganèse, zinc et cuivre ; concernant les graines nos résultats sont légèrement inférieurs à ceux de Dakia et al., (2006), supérieurs à ceux de Samil Kök (2007) et en adéquation avec ceux de Bouzouita et al., (2007).

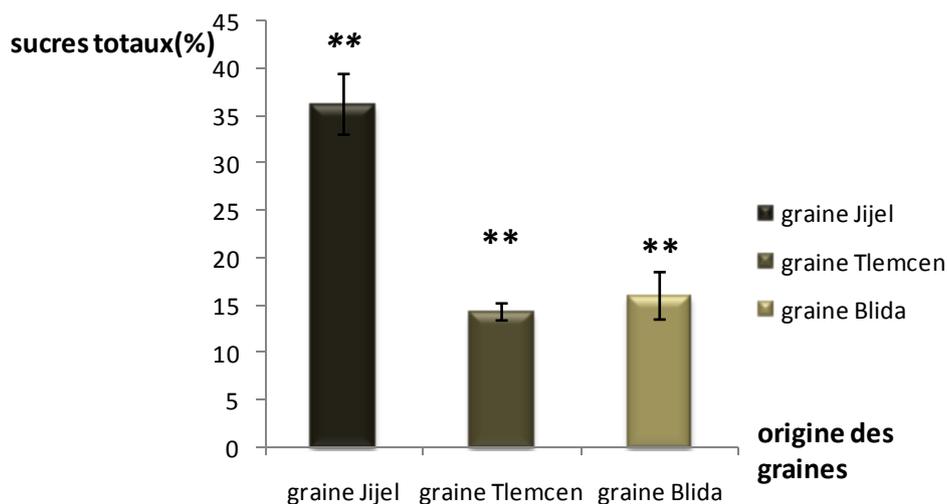
## 2.4 Teneur en sucres totaux :

Les résultats du dosage des sucres totaux au niveau des pulpes et des graines de caroube sont représentés dans la **figure 18**.



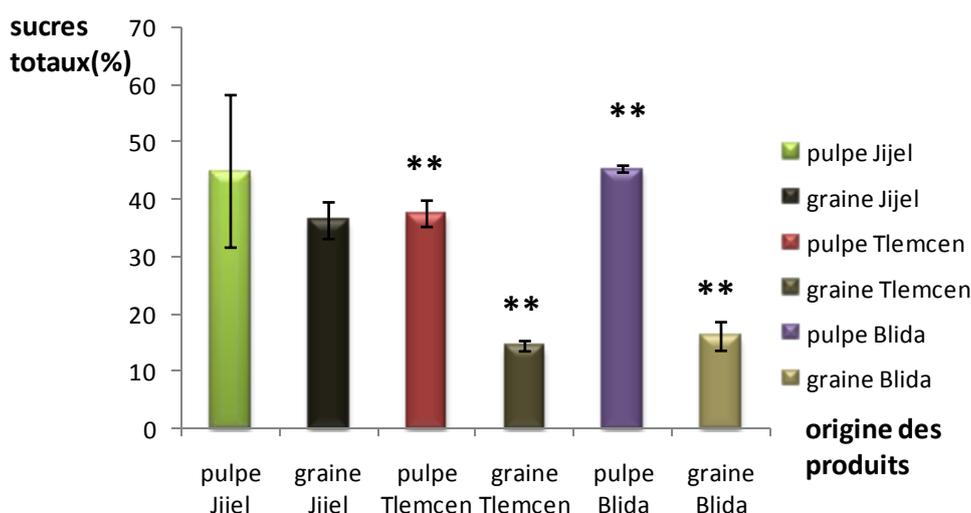
**Figure 18-1** : taux de sucres totaux en % de MS des pulpes de caroube

\* : différence peu significative entre les pulpes de Blida et de Tlemcen.



**Figure 18-2 :** taux de sucres totaux en % de MS des graines de caroube

**\*\* :** Différence moyennement significative entre les graines de Jijel -Tlemcen et Jijel-Blida



**Figure 18-3 :** taux de sucres totaux en % de MS des pulpes et des graines de caroube

**\*\* :** Différence moyennement significative entre pulpes et graines de Tlemcen et pulpes-graines de Blida

La caroube est un fruit riche en sucres simples ce qui lui vaut sa saveur très sucrée et son utilisation comme aliment de bétail. Selon les résultats de notre étude, le taux de sucres totaux au niveau de la pulpe de Blida est légèrement plus élevé que celui de Jijel ; celui de Tlemcen est le plus faible (45,3% ; 44,9% et 37,5% respectivement) avec une différence peu significative entre la pulpe de Blida et de Tlemcen. Cependant la teneur en sucres des graines

est beaucoup plus faible que celle des pulpes correspondantes (36,3%, 14,4%, 16,1%) pour Jijel, Tlemcen et Blida respectivement. On remarque ainsi que la graine de Jijel est aussi riche en sucres que la pulpe, nous avons relevé une différence moyennement significative entre les graines de Jijel avec celles de Tlemcen et de Blida ; par ailleurs la différence est moyennement significative entre les pulpes et graines de Tlemcen et pulpes et graines de Blida.

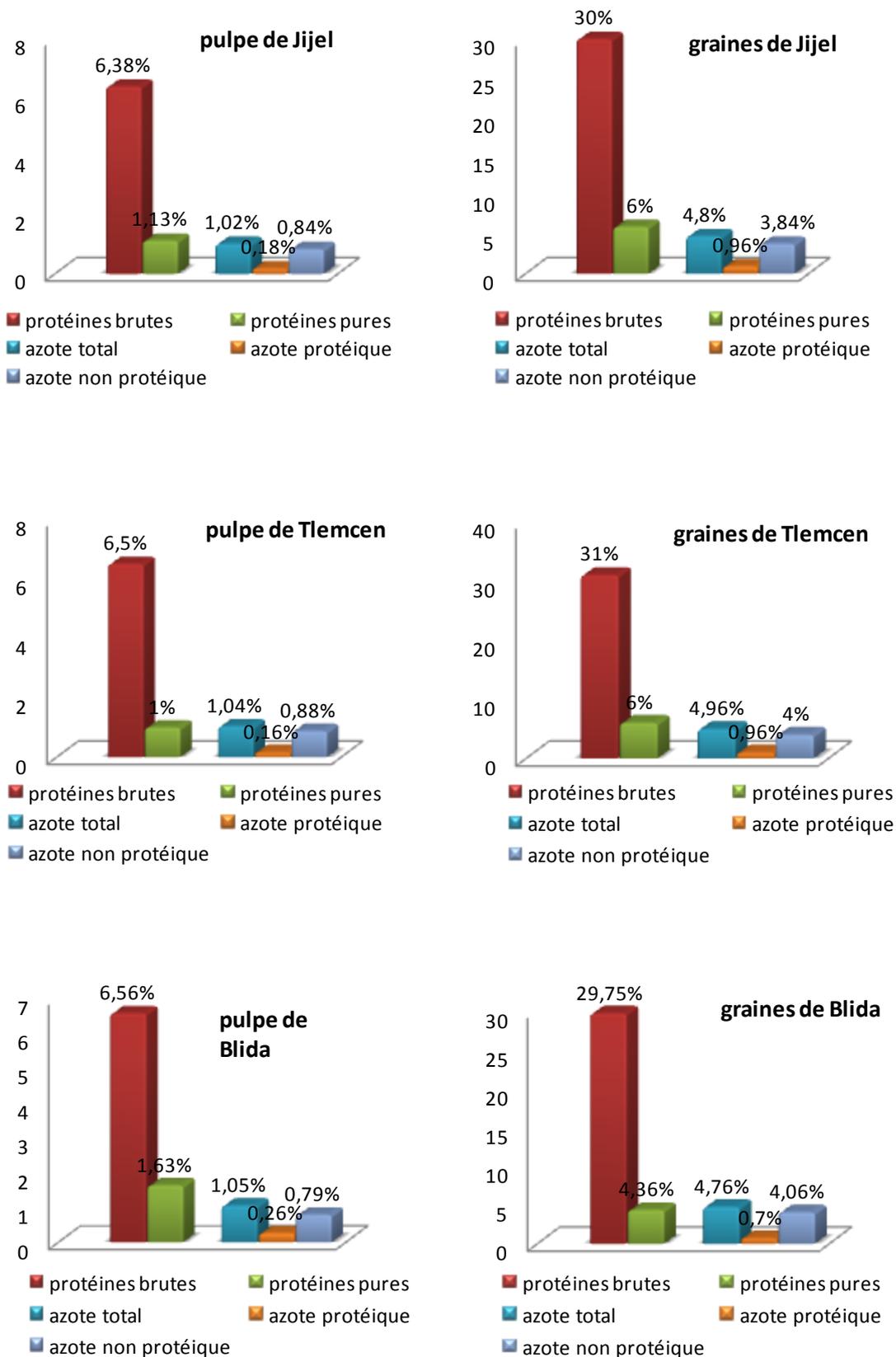
Nos résultats concernant la teneur de la caroube en sucre s'accordent parfaitement avec la littérature, ainsi les études effectuées par **Biner et al., (2007)** ont montré que les sucres sont représentés majoritairement par le sucrose avec 384 mg/g de matière sèche, le glucose avec 33 mg/g de matière sèche et le fructose avec 115 mg/g de matière sèche. Concernant la composition des graines en sucres elle a été étudiée par **Dakia et al., en 2008**, elle est représentée par le mannose avec 64,9%, le galactose 17,9%, le glucose 2,5%, l'arabinose 1,2%, le xylose 0,7%, le rhamnose 0,1% et 82,8% de galactomannanes.

## 2.5 Teneur en matière azotée :

Les protéines tiennent une place importante dans notre alimentation. En effet, pour l'Homme et l'animal, le besoin en protéines est d'environ 12 à 15% de la matière sèche du régime alimentaire, suivant l'espèce et l'état physiologique. Elles sont fournies essentiellement par les graines de céréales et des légumineuses.

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.

L'évaluation du taux de protéines brutes des pulpes et graines de caroube révèle des quantités appréciables dans les pulpes de Jijel, Tlemcen et Blida (6,38%, 6,5%, 6,56%) respectivement ; pour ce qui est des graines, le taux est appréciable (30%, 31%, 29,75%) pour Jijel, Tlemcen et Blida dans cet ordre, comme le montrent les **figures19**.



**Figure 19 :** teneurs en matière azotée en % de MS des pulpes et des graines de caroube étudiées

Ce qui ressort essentiellement de ces résultats concernant la comparaison entre les protéines totales et les protéines pures des échantillons étudiés ; il existe une grande différence entre les protéines totales et pures des différentes pulpes, le taux de protéines a baissé jusqu'à environ 1%. Concernant les graines, la différence est flagrante soit 4% à 6% au lieu de 30%. En effet, le taux de l'azote non protéique des différentes pulpes et graines confirme ces résultats et cela dans la mesure où la grande proportion de l'azote total se trouvant dans la caroube est sous forme non protéique, ce qui dévalue la qualité nutritionnelle de la caroube.

les résultats concernant le taux de protéines brutes sont compatibles avec ceux de la littérature (**Albanell et al., 1991 ; Yousif et Alghzawi, 2000 ; Ayaz et al., 2007**).

De nombreuses études ont démontré que la composition en acides aminés varie d'un fruit à l'autre suivant l'espèce, l'origine géographique, le stade de maturation et la méthode de culture.

Beaucoup de travaux ont été réalisés afin de déterminer la composition en acides aminés de la caroube, il a été démontré que la pulpe de caroube contenait 18 acides aminés représentés en majorité par l'acide aspartique suivi de l'alanine, l'acide glutamique, la leucine, la valine et l'arginine ; la cystéine et le tryptophane sont les acides aminés qui ont montré la plus faible concentration (**Bengoechea et al., 2008 ; Ayaz et al., 2007**).

**Ayaz et al., (2009)** ont comparé ces résultats sur la composition en acides aminés de la caroube avec le taux standard des protéines selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), afin d'évaluer la qualité nutritionnelle de cette dernière, il en ressort que le taux d'acides aminés essentiels dans la caroube était bien raisonnable sauf pour la lysine qui est en dessous du taux requis, ce qui nous permet de conclure que la caroube est un fruit ayant une bonne qualité nutritionnelle, ce qui a été confirmé par **Flynn et al., (2002)** qui stipule que la caroube étant riche en acide glutamique et en arginine, elle peut constituer un excellent ingrédient dans la nourriture des sportifs, car ces deux acides aminés augmentent la masse musculaire, la synthèse de collagène ainsi que la production de glycogène.

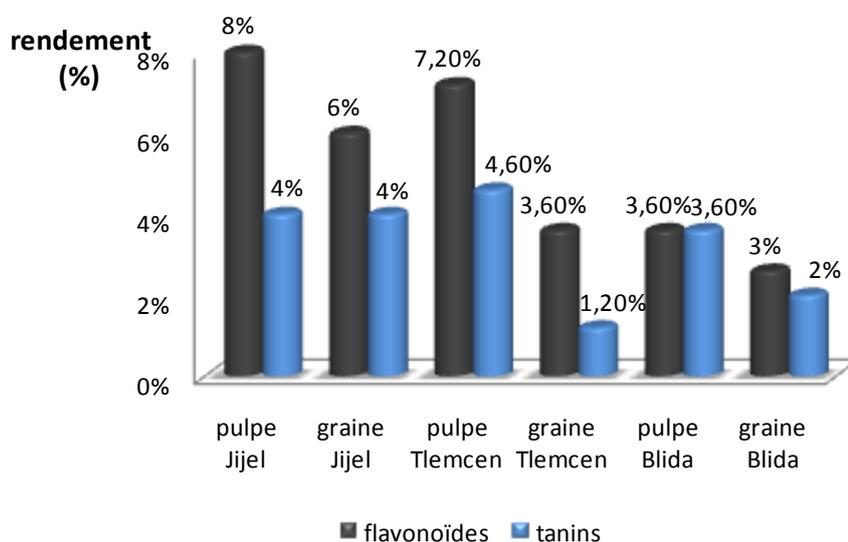
Concernant la composition en acides aminés des graines de caroube, elle a été décrite par **Del Re-Jiménez et Amadó, (1989)**, elle contiennent de l'acide glutamique qui est majoritaire, ensuite l'arginine et l'acide aspartique, suivis de la sérine, glycine, alanine, leucine, lysine, proline, valine, thréonine ; la plus faible concentration est celle de la cystéine et de la méthionine.

### 3. Métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des composés biosynthésés naturellement par les végétaux pour leur défense contre les agressions extérieures, en d'autres termes, ils constituent l'immunité des plantes. Ils possèdent des vertus thérapeutiques et sont utilisés en médecine humaine.

#### 3.1 Rendement massique des tanins et des flavonoïdes :

Les rendements obtenus suite aux extractions sélectives des tanins et flavonoïdes ont donné les résultats représentés dans **la figure 20**.



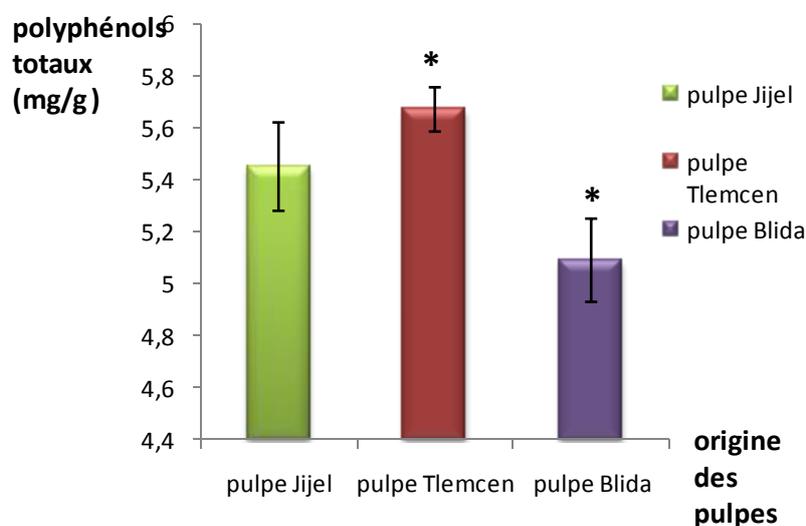
**Figure 20** : rendement massique des tanins et des flavonoïdes en% de MS des pulpes et des graines de caroube

Ce qui nous interpelle en examinant ces résultats est que le rendement des flavonoïdes est plus élevé que celui des tanins et cela pour tous les échantillons exceptée la pulpe de Blida pour laquelle le rendement est le même pour les deux composés ; de plus, les pulpes et graines de Jijel sont les plus riches en flavonoïdes et en tanins (8% et 4% respectivement) pour la pulpe et (6% et 4% respectivement) pour les graines, suivis de ceux de Tlemcen (7,20% et 4,60%) pour la pulpe et (3,60% et 1,20%) pour les graines puis Blida avec (3,60%, et 3,60%) pour la pulpe et (3% et 2%) pour les graines.

### 3.2 Dosage des phénols totaux :

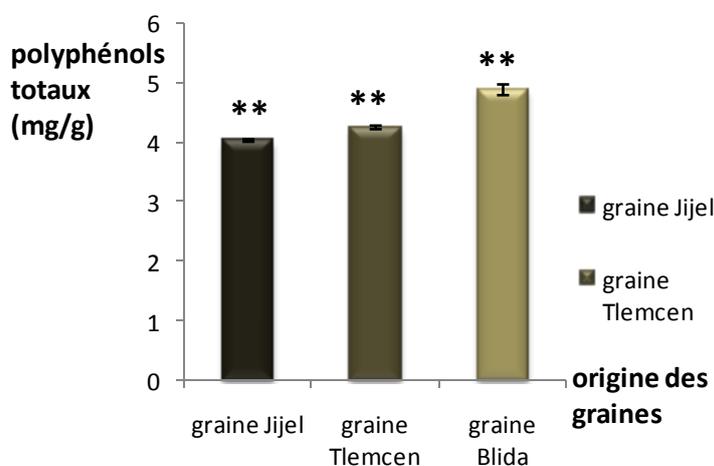
Le dosage des polyphénols totaux, en équivalent de pyrocatéchol, des extraits des pulpes et des graines de caroube a été estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu. Pour cela, une courbe d'étalonnage a été tracée avec un extrait de pyrocatéchol à des concentrations allant de 0 à 100 mg/L ; des mesures de densité pour chaque extrait ont été réalisées à 650 nm.

Les quantités de polyphénols correspondantes ont été rapportées en équivalent gramme de l'étalon utilisé et déterminées par l'équation  $y=ax$ . **La figure 21** présente les teneurs en phénols totaux des échantillons.



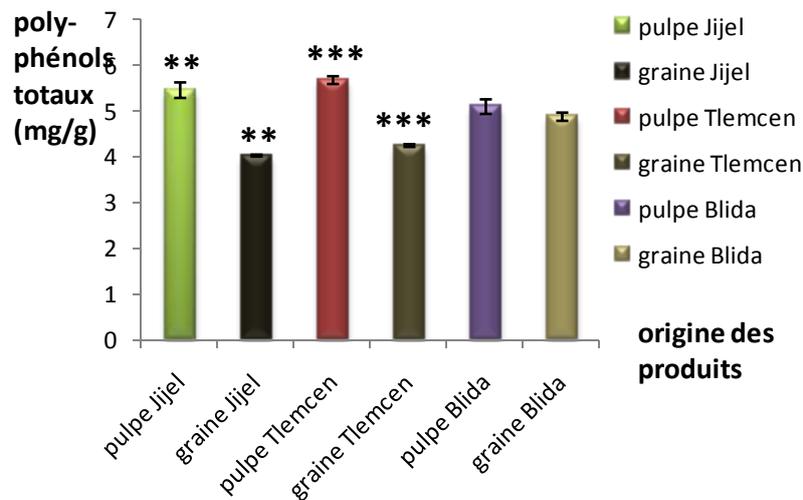
**Figure 21-1** : taux de phénols totaux en mg/g de MS des pulpes de caroube

\* : Différence peu significative entre les pulpes de Tlemcen et celles de Blida



**Figure 21-2** : taux de phénols totaux en mg/g de MS des graines de caroube

\*\* : différence moyennement significative entre les graines de Jijel, Tlemcen et Blida.



**Figure 21-3** : taux de phénols totaux en mg/g de MS des pulpes et des graines de caroube

\*\* : différence moyennement significative entre la pulpe et les graines de Jijel

\*\*\* : différence très significative entre la pulpe et les graines de Tlemcen

La pulpe de Tlemcen contient le plus de polyphénols (5,67mg/g) avec une différence peu significative entre elle et la pulpe de Blida (5,09mg/g) et une différence très significative entre elle et la graine (4,24mg/g), suivie de la pulpe de Jijel (5,45mg/g) avec une différence moyennement significative entre elle et la graine (4,02mg/g), vient en dernier la pulpe de Blida qui a, à peu près le même taux de phénols totaux que la graine (4,84mg/g). Par contre, pour les graines, celles de Blida ont le taux le plus élevé, suivies des graines de Tlemcen et celles de Jijel qui viennent en dernier.

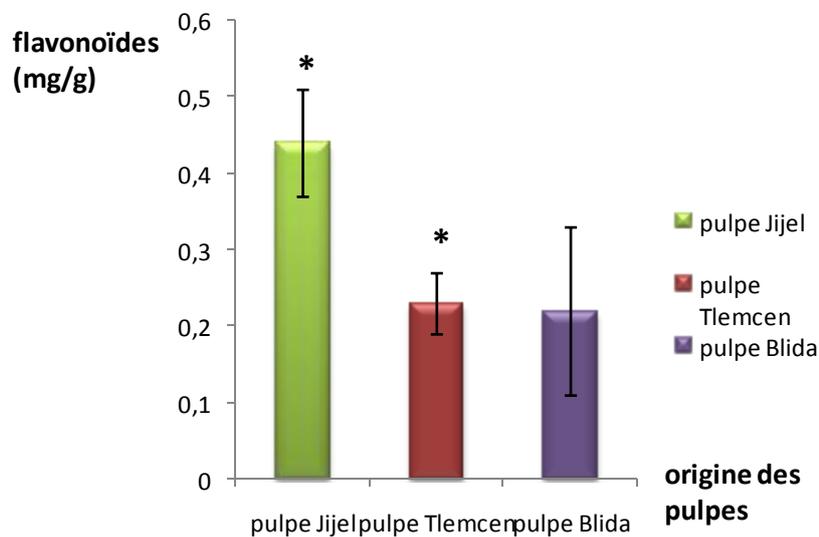
Les résultats que nous avons obtenus sont supérieurs à ceux de **Avallone et al., (1997)** qui sont de 1,9mg/g de MS, ou d'**Owen et al., (2003)** qui sont de 3,94mg/g MS. Alors qu'ils sont conformes au taux de polyphénols dans l'étude de **Papagiannopoulos et al., (2004)** avec (4,142mg/g MS) ainsi que ceux d'**Ortega et al., (2011)** qui sont de 6,12mg/g MS, en outre d'autres travaux ont montré que la caroube pouvait contenir beaucoup plus de polyphénols, jusqu'à 13,51mg/g (**Ayaz et al., 2007**), 19,2mg/g (**Glew et al., 2003**); cette différence observée dans les différentes études peut s'expliquer par la provenance géographique, le cultivar, la variété et surtout le degré de maturité, ce qui a été prouvé par les travaux de **Abi Azar (2007)**, réalisés sur des gousses de caroube vertes et qui ont montré que ces dernières

contenaient 45,2 g/l de polyphénols totaux. En effet, **Joslyn et al., (1968)** constatent par extraction à l'eau chaude et au méthanol que les gousses vertes contiennent beaucoup plus de polyphénols totaux que les gousses mûres (67 mg/g de matière sèche pour les gousses mûres et 204,3 mg/g de matière sèche pour les gousses vertes).

La caroube étant riche en polyphénols, elle a suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs notamment celui de **Doha et al., (2008)** qui ont trouvé que les polyphénols de la caroube réduisaient le taux de glucose dans le sang et qu'ils avaient un index glycémique de 83,4%, selon les travaux de **Ben Hsouna et al., (1986)** les polyphénols de caroube possèdent une activité antioxydante ainsi qu'antibactérienne et antifongique, de plus ils agissent contre le stress oxydatif au niveau des cellules du colon, ce qui leur confère la propriété anticancérigène ; cela a été démontré dans les travaux de **Klenow et al.,(2009)**.

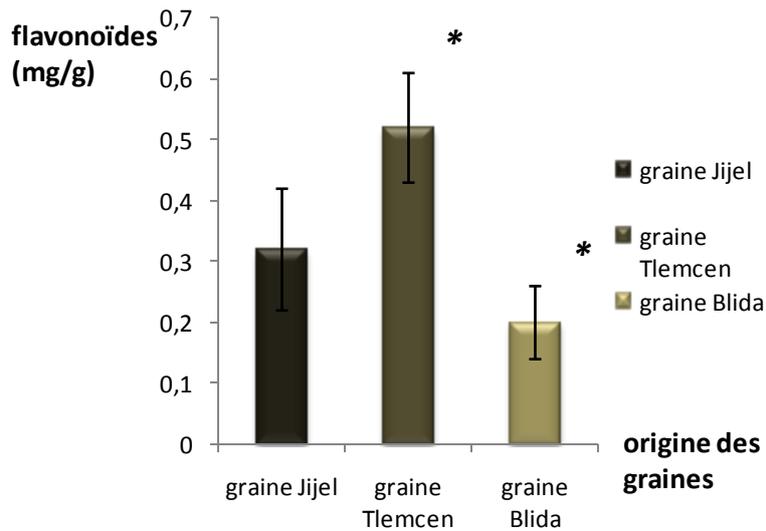
### 3.3 Dosage des flavonoïdes :

Les teneurs en flavonoïdes des pulpes et des graines de caroube des différentes régions étudiées sont illustrées dans **la figure 22**.



**Figure 22-1** : taux des flavonoïdes en mg/g de MS des pulpes de caroube

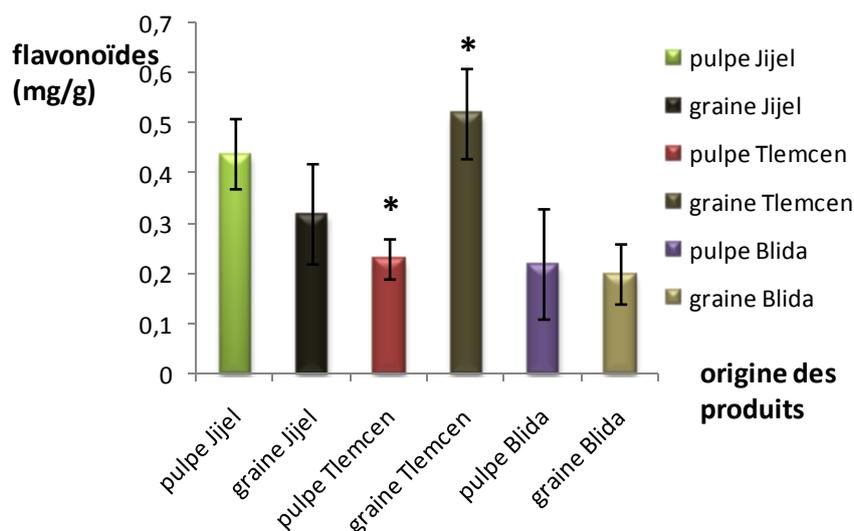
\* : Différence peu significative entre la pulpe de Jijel et celle de Tlemcen



**Figure 22-2** : taux des flavonoïdes en mg/g de MS des graines de caroube

\* : Différence peu significative entre les graines de Blida et celles de Tlemcen

La pulpe de Jijel détient la teneur la plus importante en flavonoïdes (0,44mg/g) de MS par rapport aux autres pulpes, avec une différence peu significative entre elle et la pulpe de Tlemcen qui a une teneur de 0,23mg/g de MS, suivie de la pulpe de Blida avec (0,22mg/g) de MS. Concernant les graines, celles de Tlemcen ont le taux le plus fort avec 0,52mg/g et une différence significative avec la pulpe de Tlemcen, suivies des graines de Jijel et de Blida avec 0,32 et 0,2mg/g de MS respectivement. Entre les graines de Tlemcen et celles de Blida il existe une différence peu significative par contre pour les graines de Jijel et Tlemcen la différence n'est pas significative. D'après ces résultats on remarque que les graines de Tlemcen détiennent la teneur la plus élevée en flavonoïdes par rapport aux six échantillons étudiés.



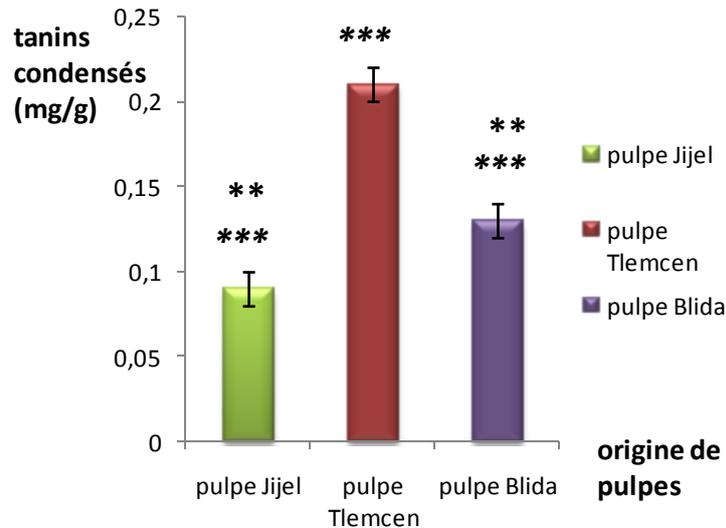
**Figure 22-3** : taux des flavonoïdes en mg/g de MS des pulpes et des graines de caroube

\* : Différence peu significative entre la pulpe et les graines de Tlemcen

Ces résultats rejoignent ceux d'**Ayaz et al., (2007)** qui ont trouvé que la caroube contenait entre 0,41 et 0,48mg/g MS de flavonoïdes, par contre **Owen et al., (2003)** ainsi que **Ortega et al., (2011)** ont démontré que le taux de flavonoïdes pouvait être plus important avec 1,02mg/g MS et 3,33mg/g MS respectivement, en outre 9 différents flavonoïdes ont été détectés par **Vaya et Mahmood (2006)**, représentés majoritairement par la myricétine (0,148mg/g d'extrait).

### 3.4 Dosage des tanins condensés :

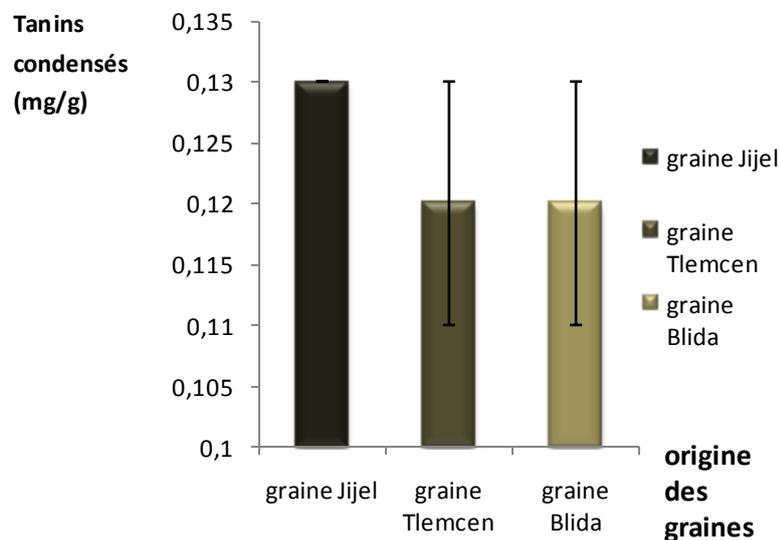
**Les figures 23** rassemblent les résultats du dosage des tanins condensés des pulpes et des graines de caroube. Il ressort de notre dosage que les tanins condensés constituent la majorité des tanins chez les caroubes étudiées. On remarque dans la **figure 23-1** une prédominance de la pulpe de Tlemcen avec 0,21mg/g de MS suivie de la pulpe de Blida puis celle de Jijel en dernier avec 0,13 et 0,09mg/g de MS respectivement. Les études statistiques réalisées sur le taux de tanins condensés des pulpes ont révélé une différence très significative entre la pulpe de Tlemcen et celles de Blida et de Jijel, par ailleurs la différence entre les pulpes de Jijel et de Blida est moyennement significative.



**Figure 23-1** : teneurs en tanins condensés en mg/g de MS des pulpes de caroube

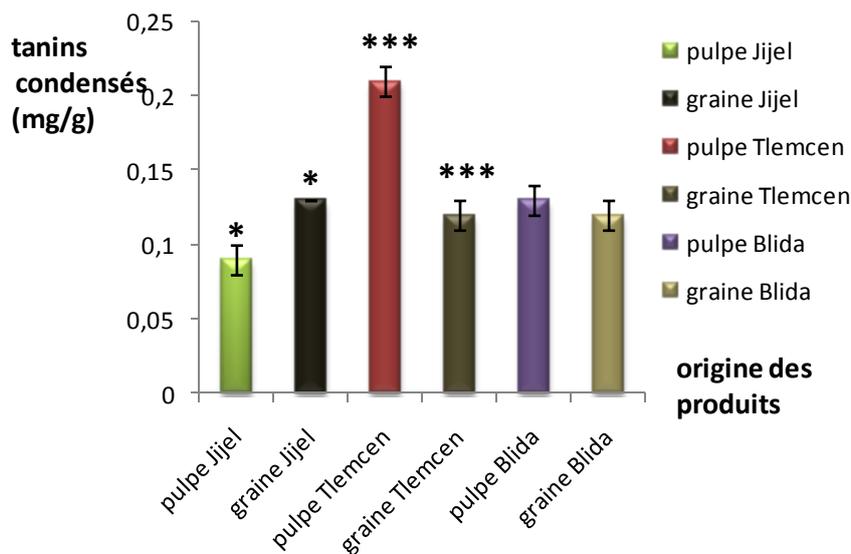
\*\*\* : Différence très significative entre la pulpe de Jijel et celle de Tlemcen et la pulpe de Tlemcen avec celle de Blida

\*\* : Différence moyennement significative entre la pulpe de Jijel et de Blida



**Figure 23-2** : teneurs en tanins condensés en mg/g de MS des graines de caroube

Les résultats illustrés dans la **figure 23-2** montrent que le taux de tanins condensés chez la graine de Jijel est légèrement plus élevé (0,13mg/g) que celui des deux autres graines qui ont un taux équivalent (0,12mg/g de MS).



**Figure 23-3** : teneur en tanins condensés en mg/g de MS des pulpes et des graines de caroube

\* : Différence peu significative entre la pulpe et les graines de Jijel

\*\*\* : Différence très significative entre la pulpe et les graines de Tlemcen

Le diagramme ci-dessus montre que le taux de tanins condensés est quasiment le même pour tous les échantillons étudiés, sauf pour celui de la pulpe de Tlemcen qui est le plus important et celui de la pulpe de Jijel qui est le plus faible. Cette différence entre la pulpe de Tlemcen et la graine est confirmée par l'étude statistique qui la qualifie de différence très significative, par contre il existe une différence peu significative entre la pulpe et la graine de Jijel.

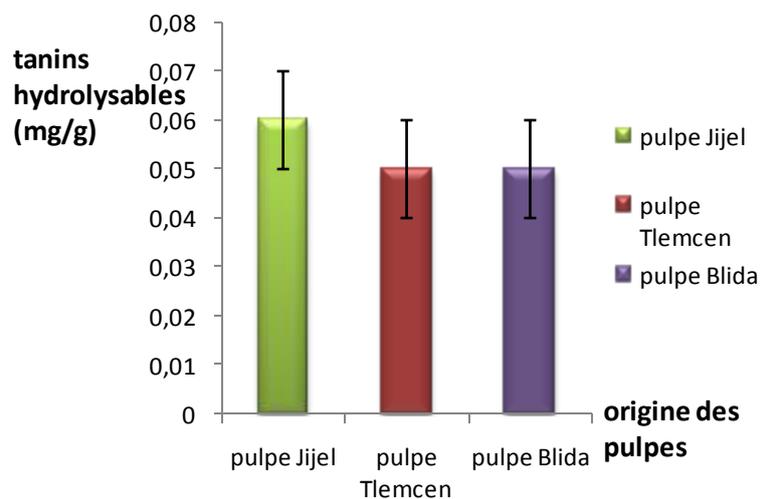
Les résultats obtenus sont nettement plus faibles que ceux de la littérature, selon **Wursch et al., (1984)**, la teneur en tanins condensés des gousses de caroube se situe entre 16 et 20% de la masse sèche. **Saura Calixto (1988)** rapporte aussi une teneur de 17,9% de tanins condensés, par ailleurs **Avallone et al., (1997)** constatent une teneur plus élevée des tanins condensés 2,75mg/g (proanthocyanidines) en comparaison avec les tanins hydrolysables ; de plus, les principaux polyphénols décrits dans les gousses de caroube sont insolubles, hautement polymérisés, appartenant aux tanins condensés contenant un noyau flavane (**Wursch et al., 1984**).

Les tanins condensés de la caroube ont suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs notamment (**Priolo et al., 2002 ; Silanikove et al., 2006**) qui rapportent que les tanins condensés contenus dans la caroube exercent un effet négatif sur le bétail qui se traduit par la diminution de la digestibilité des protéines alimentaires à cause de leur interaction, cela explique l'effet

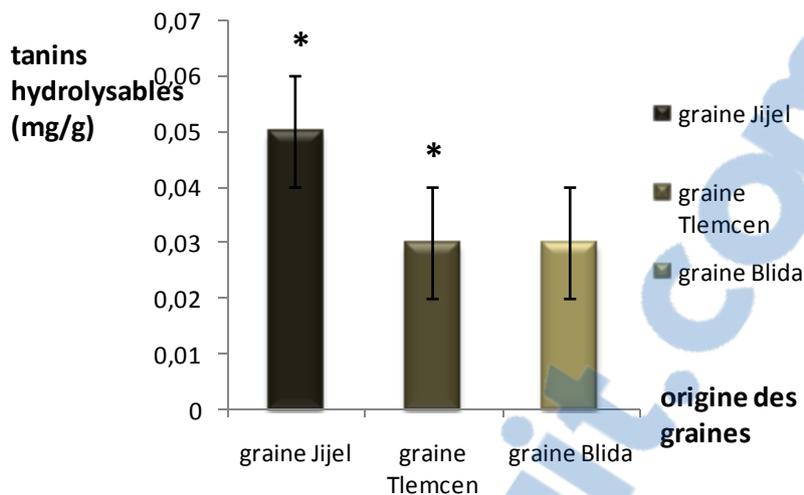
hypocholestérolémiant des tanins condensés ; de plus les travaux de **Vasta et al., (2009)** viennent ajouter un autre effet néfaste des tanins condensés qui réduisent la biohydrogénation ruminale suite à l'affection de l'activité des microorganismes du rumen ; par contre les travaux de **Zulim Botega et al., (2009)** mettent en évidence un effet bénéfique des tanins condensés de la caroube qui est d'être utilisé comme additif dans l'huile de tournesol afin de prolonger la vie de l'huile de friture et diminuer la toxicité potentielle de l'huile chauffée, ce qui confère aux tanins condensés de la caroube la propriété d'être bénéfiques sur le plan santé comme sur le plan économique.

### 3.5 Dosage des tanins hydrolysables :

Les figures suivantes (24) nous donnent les résultats du dosage des tanins hydrolysables des échantillons étudiés.

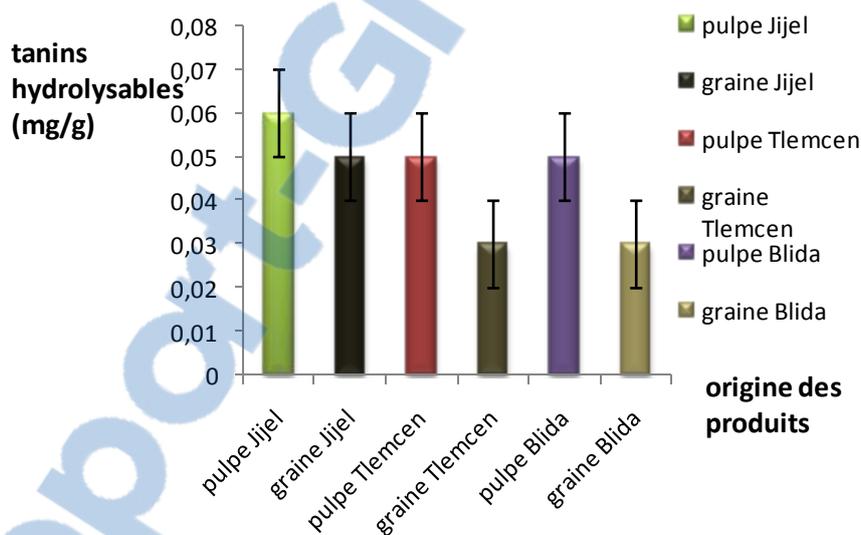


**Figure 24-1** : teneurs en tanins hydrolysables en mg/g de MS des pulpes de caroube



**Figure 24-2** : teneurs en tanins hydrolysables en mg/g de MS des graines de caroube

\* : Différence peu significative entre les graines de Jijel et celles de Tlemcen



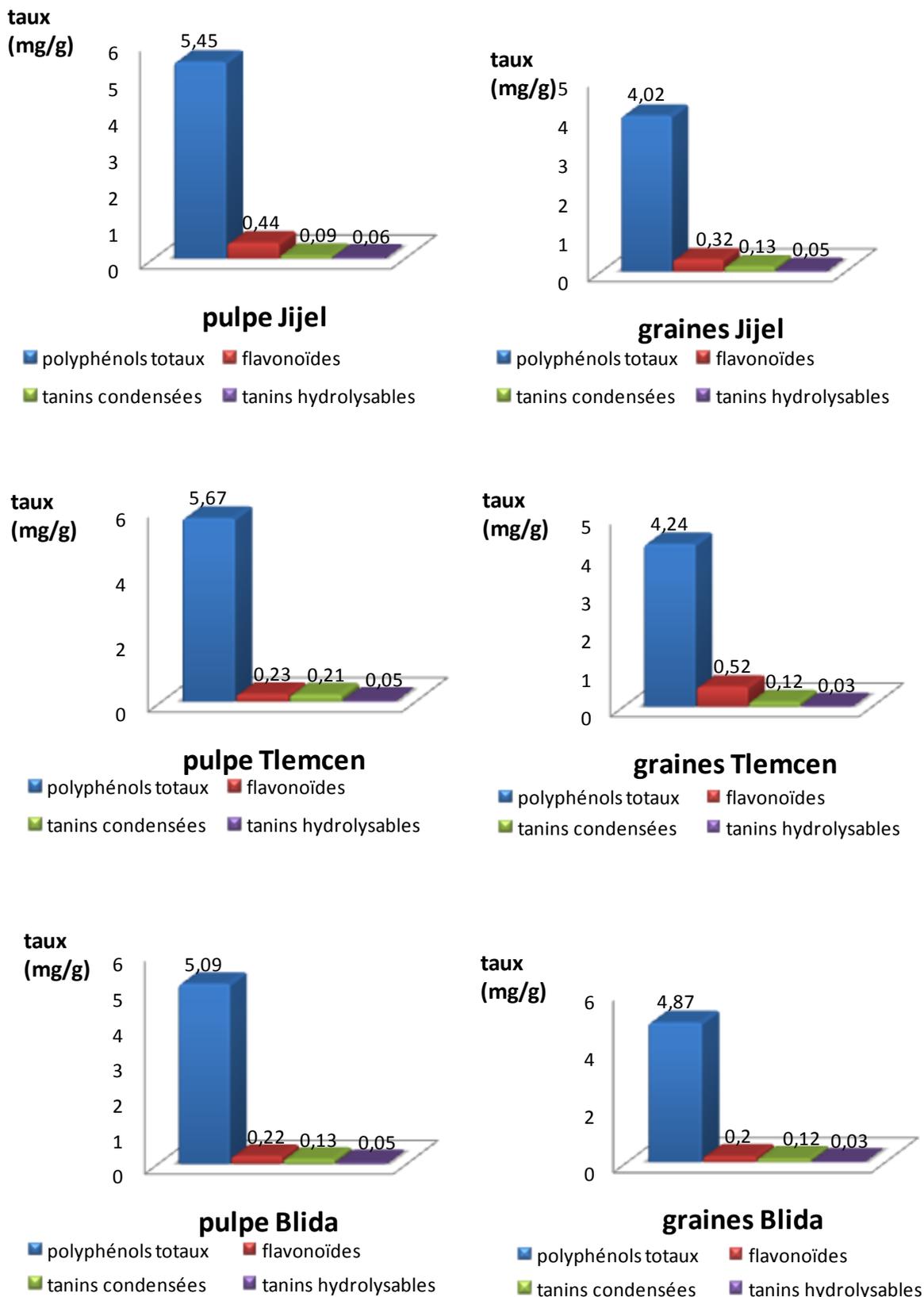
**Figure 24-3** : teneurs en tanins condensés en mg/g de MS des pulpes et des graines de caroube

Les résultats montrent que le taux de tanins hydrolysables dans la pulpe de Jijel est le taux le plus fort avec 0,06mg/g de MS, suivi des graines de Jijel et des pulpes de Tlemcen et de Blida (0,05mg/g) pour les trois, et en dernier les graines de Tlemcen et de Blida (0,03mg/g), l'étude statistique montre une différence peu significative entre les graines de Jijel et celles de Tlemcen.

De même que pour les tanins condensés, nos résultats des tanins hydrolysables sont beaucoup plus faibles que ceux de **Saura–Calixto (1988)** avec 1,3% et plus faibles que ceux d'**Avallone et al., (1997)** avec 0,95 mg/g représentés par les ellagitanins et les gallotanins.

### **3.6 Récapitulatif des taux de phénols totaux de flavonoïdes, tanins condensés et hydrolysables :**

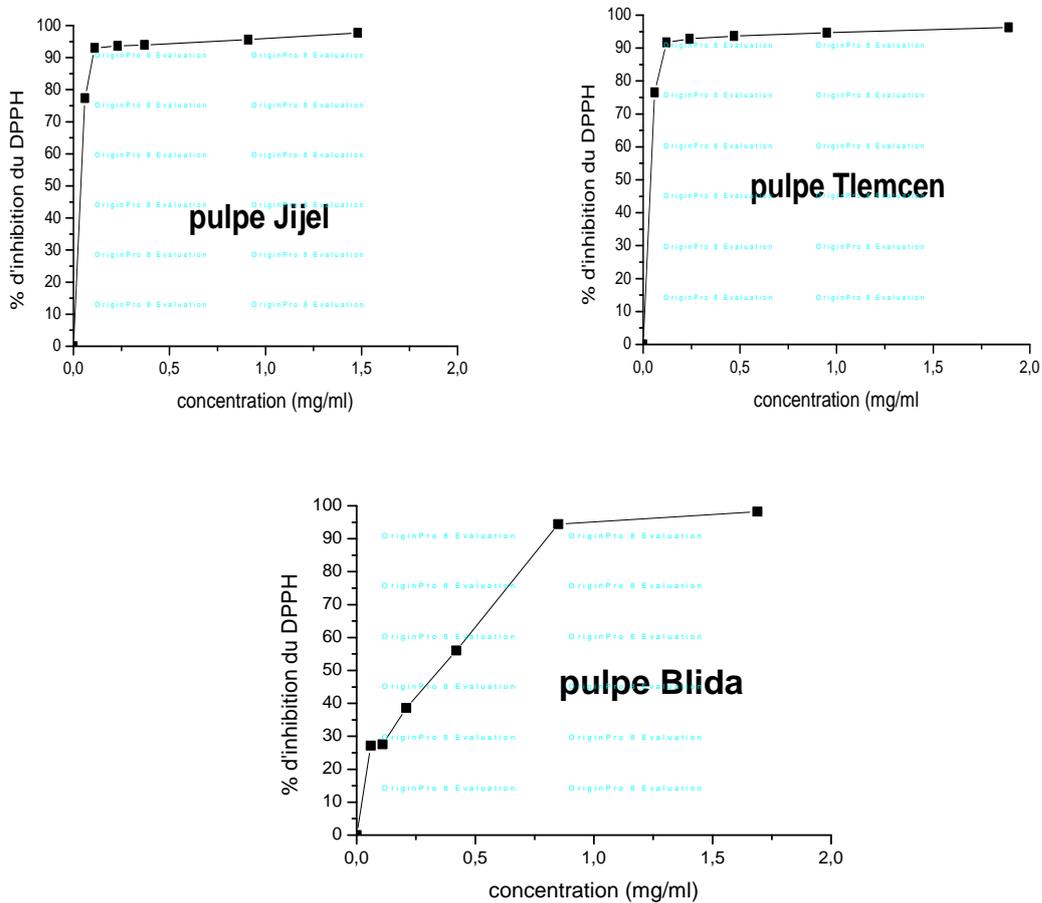
Selon les résultats représentés dans la **figure 25** ci-dessous, le taux de polyphénols totaux chez tous les échantillons est le taux le plus important, vient en second le taux de flavonoïdes, en troisième, les tanins condensés et en dernier, les tanins hydrolysables. Ces résultats nous rassurent sur la fiabilité de nos valeurs, la littérature scientifique confirme la hiérarchie des taux des métabolites secondaires que nous avons décrite précédemment.



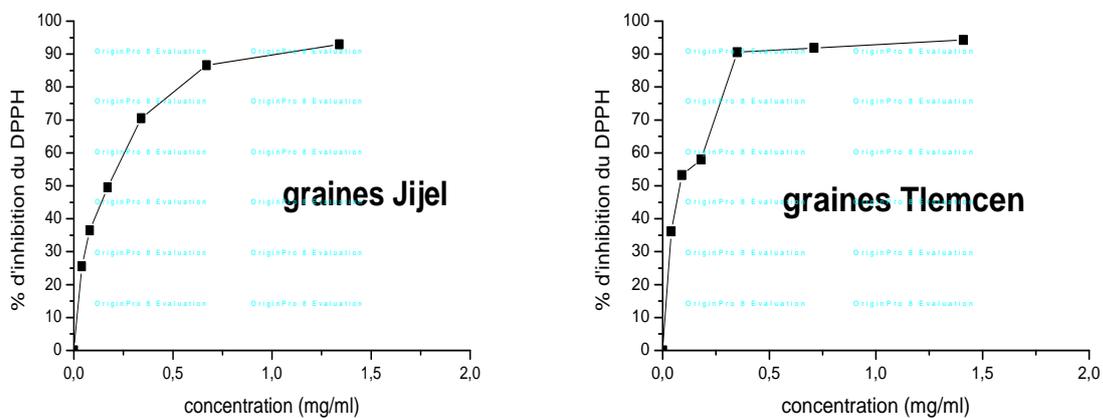
**Figure 25 :** récapitulatif des taux de métabolites secondaires en mg/g de MS des pulpes et graines de caroube

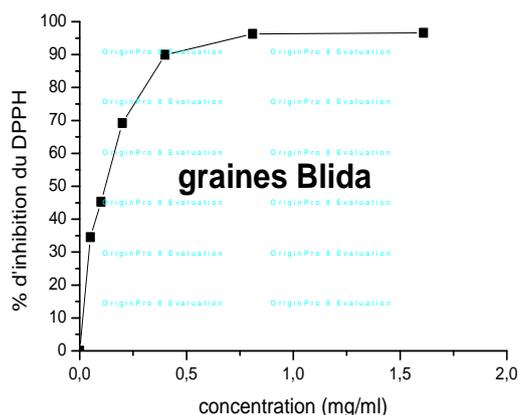
#### 4. Etude du pouvoir antioxydant :

Les figures ci-dessous représentent les variations du pourcentage de réduction du DPPH en fonction des concentrations des extraits phénoliques des pulpes et des graines de caroube étudiées.



**Figure 26 :** Pourcentage de réduction en fonction de la concentration des extraits phénoliques des pulpes de caroubes étudiées





**Figure 27** : pourcentage de réduction en fonction de la concentration des extraits phénoliques des graines de caroubes étudiées

La capacité anti-radicalaire ne peut être mesurée directement, mais par contrôle de l'effet de la réactivité. Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH, type de solvants, pH) et le profil phénolique en particulier ; le mécanisme principal d'action des composés phénoliques ( $\Phi$ -OH), est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH alors transformé en une molécule stable DPPHH (Popovici, Saykova et Tylkowski, 2010).

Les figures ci-dessus montrent une augmentation du pourcentage de réduction du DPPH proportionnelle aux concentrations des extraits phénoliques. En effet l'inhibition de ce radical atteint sa valeur maximale en ce qui concerne les pulpes (98,20% à une concentration de 1,69mg/ml) pour la pulpe de Blida suivit de la pulpe de Jijel (97,72% à une concentration de 1,48mg/ml) en dernier la pulpe de Tlemcen (96,25% à une concentration de 1,89mg/ml). Pour ce qui est des graines, l'inhibition du DPPH atteint son maximum (96,58% à la concentration de 1,61mg/ml) pour la graine de Blida ensuite la graine de Tlemcen (94,30% à la concentration de 1,41mg/ml) suivit de la graine de Jijel (92,99% à la concentration de 1,34mg/ml).

L'activité antioxydante de nos extraits exprimée en  $EC_{50}$  (Tableau 3) a été déterminée graphiquement, elle est définie comme étant la concentration de l'antioxydant nécessaire pour réduire ou inhiber 50% du DPPH en solution.

**Tableau 3** : valeurs de l'EC<sub>50</sub> des extraits phénoliques des pulpes et des graines de caroubes comparées à celle de l'acide ascorbique

	Pulpe Jijel	Graine Jijel	Pulpe Tlemcen	Graine Tlemcen	Pulpe Blida	Graine Blida	Acide ascorbique ( <b>Khaldi D., 2007</b> )
EC <sub>50</sub> (mg/ml)	0,04	0,17	0,04	0,08	0,35	0,11	0,06

Comme il est indiqué sur le **tableau 3** les phénols totaux des pulpes et des graines de caroube de nos trois régions étudiées sont d'excellents antioxydants naturels qui possèdent des capacités de neutralisation du DPPH puissantes comparables à celle de la vitamine C, puisque l'EC<sub>50</sub> des extraits phénolique des pulpes et des graines étudiées est très proches de l'EC<sub>50</sub> de la vitamine C voir inférieur pour ce qui est de la pulpe de Jijel et de Tlemcen.

Les résultats obtenus concernant l'EC<sub>50</sub> des pulpes se rapprochent de ceux de **Ben Hsoua et al. (1986)** qui a travaillé sur la caroube de Tunisie avec un EC<sub>50</sub> de 0,033mg/ml, par contre **Kumazawa et al. (2002)** a trouvé que EC<sub>50</sub> de l'extrait phénolique de la caroube été de 0,25mg/ml ce qui reste très faible par rapport a nos résultats. Selon **Makris et Kefalas (2004)** cette importante activité antioxydante des extraits phénoliques de la caroube est due à leur forte teneur en flavonoïdes particulièrement les pranthocyanidines, les travaux de **Bastida et al. (2009)** ont démontré que l'extrait phénolique de caroube pourrait être utilisé comme antioxydant contre l'altération des lipides de la viande de porc lors de la congélation, outre cet effet **Klenow et Gleis (2009)** ont démontré que l'activité antioxydante de l'extrait phénolique de la caroube via l'acide gallique qu'il contient est en relation avec la chélation du Fer donc ce qui réduit le risque de cancer du côlon chez les sujets qui consomment beaucoup de viande rouge.

# **CONCLUSION GENERALE**

Le caroubier est originaire des pays méditerranéens, mais est actuellement répandu dans de nombreux pays subtropicaux. Le caroubier reste très négligé et n'a pas encore eu la place qu'il mérite dans les programmes de reboisement et ce, malgré les différentes études et résultats qui ont montré que cet espèce est très intéressante aussi bien du point de vue écologique (plasticité, rusticité, résistance à la sécheresse, etc.), que économique (production de fruits ; de bois, création d'emploi, etc.), que pour la protection (rôle anti-érosif, conservation des sols). Les gousses du caroubier font l'objet de transactions commerciales à l'échelle régionale et internationale. Ceci a un impact positif sur l'économie des pays producteurs, mais surtout comme source de revenus pour les populations rurales.

On tire des gousses de caroube deux produits très différents, utilisés abondamment par l'industrie alimentaire: la farine de caroube utilisée comme substitut du cacao et la gomme de caroube.

La caroube est utilisée pour ses vertus médicinales car, grâce à sa teneur élevée en fibres, elle exerce un effet régulateur sur la fonction intestinale et est utilisée dans les cas de diarrhée ou de constipation chez les enfants. Elle est alors administrée sous forme de préparation instantanée, comme un chocolat chaud.

Sur le plan phytochimique, les recherches scientifiques ont démontré que cette plante est riche en antioxydants (flavonoïdes, isoflavonoïdes, tanins, composés phénoliques), en sucres, protéines, fibres, potassium et calcium. En thérapeutique, cette plante est connue pour son effet hypocholestérolémiant, antiprolifératif, anti-diarrhéique, contre les troubles digestifs, etc.

Nous avons entrepris une étude phytochimique sur la pulpe et la graine de caroube de trois régions d'Algérie, Tlemcen, Blida et Jijel.

L'analyse de la composition des pulpes et des graines de caroube en métabolites primaires, révèle une richesse en sucres totaux, entre 37,5 et 45,3% pour les pulpes, entre 14,4 et 36,3% pour les graines, un taux de protéines brutes estimé à un peu plus de 6% pour les pulpes et à 30% environ pour les graines, un taux de protéines pures entre 1,13 et 1,63% pour les pulpes et entre 4,36 et 6% pour les graines.

La détermination de la teneur en fibres montre des valeurs assez importantes aux alentours de 10% en ce qui concerne les pulpes et aux alentours de 4% pour ce qui est des graines, en l'occurrence ce pourcentage reste beaucoup plus important que le pourcentage de fibres dans le cacao.

L'étude de la teneur en cendres des pulpes de caroube a donné un taux estimé à 1,83-2,67% pour les pulpes et entre 2,83 et 4% pour les graines.

L'évaluation du taux de la matière grasse révèle une quantité de 6% pour les graines et entre 1,83 et 4,83% pour les pulpes.

En ce qui concerne les métabolites secondaires, nous avons remarqué que les pulpes de caroube sont plus riches en polyphénols totaux que les graines avec 5,09 à 5,67% pour les pulpes et aux environs de 4% pour les graines.

Le dosage des flavonoïdes, des tanins condensés et hydrolysables a révélé une dominance du taux des flavonoïdes, suivi des tanins condensés puis des tanins hydrolysables (0,2-0,52mg/g de MS ; 0,09-0,21mg/g de MS ; 0,03-0,06mg/g de MS) respectivement, et ceux pour les pulpes et les graines de caroube des trois régions étudiées.

Par ailleurs, l'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait phénolique des pulpes et des graines de caroube par la méthode du DPPH, a montré une activité très importante exprimée en pourcentage de réduction du DPPH allant jusqu'à 98,20% pour les pulpes et jusqu'à 96,58% pour les graines.

Lorsqu'on compare la composition chimique des pulpes des trois régions étudiées, elles semblent avoir à peu de différences près, les mêmes quantités en composés chimiques et chacune d'elles détient le meilleur taux pour l'un des constituants comme la pulpe de Blida qui contient le plus de sucres et de protéines, celle de Jijel le plus de minéraux et de flavonoïdes et celle de Tlemcen le plus de fibres, de lipides et de phénols totaux; cela s'applique aussi pour la comparaison entre les graines ; par contre en ce qui concerne la composition des graines par rapport aux pulpes, les premières peuvent être plus riches en un ou plusieurs composés comme elles peuvent être pauvres en d'autres et vice-versa.

En perspectives de cette étude, nos recherches s'orientent vers l'analyse de la composition détaillée de l'huile de caroube, des acides aminés qu'elle détient, des sucres qui la composent, des minéraux et des différents polyphénols qu'elle peut avoir, cela pour susciter l'intérêt aussi bien pour des études nutritionnelles que pour son utilisation en thérapeutique, ce qui pourrait donner au caroubier un essor dans le contexte socio-économique.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- **Aafi A. (1996)**, Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), Centre Nationale de la Recherche Forestière, Rabat (Maroc), pp. 10.
- **Abi Azar R., (2007)**, Complexations des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier. Propriétés technologiques des coagulums obtenus, Agroparistech Ecole Doctorale Abies, Thèse de doctorat.
- **Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) (2002)**. Les fibres alimentaires : définition, méthode de dosage, allégations nutritionnelles, Rapport du comité d'experts spécialisé dans la nutrition humaine.
- **Ait Chitt M., Belmir M. et Lazrak A., (2007)**, Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier. Transfert de technologie en Agriculture, N°153, IAV Rabat, pp.1-4.
- **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 , vol. 30, N°6, pp. 1040-1055.
- **Ayaz F.A., H.Torun, R.H. Glew, ZD. Bak, L.T. Chuang, J.M. Presley, R. Andrews, (2009)**, Nutrient Content of Carob Pod (*Ceratonia siliqua* L.) Flour Prepared Commercially and Domestically, Plant Foods Hum Nutr.,vol. 64, pp. 286–292.
- **Albanell E., Caja G. and Plaixats J. (1991)**, Characterization of Spanish carob pod and nutritive value of carob kibbles, *Options Méditerranéennes* N°16, pp. 135- 136.
- **Avallone R, Plessi M., Baraldi M. and Monzani A. (1997)**, Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua*): Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins, Journal of food composition and analysis, Vol.10, pp.166–172
- **Audigie C.L and Dupont G., (1982)**, Principes des méthodes d'analyses biochimiques, Paris, pp. 566-567.
- **A.N.R.H, (2004)**, L'atlas pratique de l'Algérie, Edition populaire de l'armée (EPA), pp. 116.
- **Battle I., Tous J., (1997)**, Carob tree *Ceratonia siliqua* L., Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17, Gatersleben: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Rome: International Plant Genetic Resources Institute, pp. 92.
- **Bate-Smith E.C., (1973)**, Ahaemanalysis of tannin: The concept of relative orstingency, Phytochemistry N°12, pp. 907-212.

- **Baum N., (1989)**, Arbres et arbustes de l’Egypte ancienne, pp. 354.
- **Bastida S., F. J. Sánchez-Muniz, R. Olivero, L. Pérez-Olleros, B. Ruiz-Roso and F. Jiménez-Colmenero (2009)**, Antioxidant activity of Carob fruit extracts in cooked pork meat systems during chilled and frozen storage, Food Chemistry Vol. 116, N° 3, pp. 748-754.
- **Baytop T. (1984)**, Therapy with medicinal plant in Turkey (Past and Present), Publication of the Istanbul University, N°: 3255, Istanbul.
- **Bruneton J., (1999)**, Pharmacologie-Phytochimie-Plantes médicinales, Tech.et Doc.Ed. Lavoisier (3° Edition), Paris.
- **Bezzala A., (2005)**, Essai d’introduction de l’arganier dans la zone de M’doukel et évaluation de quelques paramètres de résistance à la sécheresse, Magister en Sciences Agronomiques, Université El Hadj Lakhdar, Batna.
- **Boudy P., (1950)**, Economie forestière Nord-Africain, Tome II : Monographie et traitement des essences forestières, Ed. Larose, Paris, pp.443-445.
- **Biner B, Gubbuk H., Karhan M., Aksu M. et Pekmezci M., (2007)**, Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua L.*) in Turkey, Food Chemistry N°100, pp.1453-1455.
- **Berrougui H. (2007)**, Le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*), une richesse nationale aux vertus médicinales, Maghreb Canada Express Vol. 5, N° 9.
- **Bonnier G. (1990)**, la grande flore en couleurs (tome 3), pp.309-310.
- **Ben Hsouna A., M. Trigui, S. Jaoua, (1986)**, Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of the ethyl acetate extract of endemic *Ceratonia siliqua* leaves Journal of agricultural and food chemistry, vol. 34, N° 5, pp. 827-829.
- **Bengoechea B, A. Romero, A. Villanueva, G. Moreno, M. Alaiz, F. Millán, A. Guerrero and M.C. Puppo, (2008)**, Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua L.*) germ proteins Food Chemistry, Vol. 107, N°2, pp. 675-683.
- **Bouzouita N., A. Khaldi, S. Zgoulli, L. Chebil, R. Chekki, M.M. Chaabouni and P. Thonart, (2007)**, The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia Food Chemistry Vol. 101, N°4, pp. 1508-1515.
- **Belaizi M., Bolen M.R. et Boxus P., (1994)**, Régénération in vitro et acclimatation du caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) in Quel avenir pour l’amélioration des plantes, Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris, pp. 227-232.

- **Calixto F.S. and J. Canellas, (1982)**, Components of nutritional interest in carob pods *Ceratonia siliqua*, Journal of the Science of Food Agriculture N°33, pp. 1319–1323.
- **Catalano L, Franco I, De Nobili M, Leita L., (1999)**, Polyphenols in olive mill waste waters and their depuration plant effluents: a comparison of the Folin-Ciocalteu and HPLC methods, Agrochimica N°43, pp. 193-205.
- **Coit J.E., (1967)**, Carob varieties for the semi-arid southwest, Fruit Varieties. Hort. Digest N°21, pp. 5–9.
- **Condit I.J., (1919)**, The carob in California, Agric. Exper. Station, Bulletin n° 309, Berkeley Univ. California Press N°128, pp. 431-440.
- **Dakia P.A, B. Wathelet and M. Paquot, (2007)**, Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ Food Chemistry Vol. 102, N° 4, pp. 1368-1374.
- **Dakia P.A, C. Blecker, C. Robert, B. Wathelet and M. Paquot, (2008)**, Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment Food Hydrocolloids Vol. 22, N°5, pp. 807-818.
- **Dauguet J.C, Foucher J.P., (1982)**, Les flavonoïdes de *Arbutus unedo* L. (Ericacées), Plants médicinales et phytothérapie, vol. 16, N° 3, pp. 185-191.
- **Del Re-Jiménez L.B. and R. Amadò, (1989)**, Comparative study of the chemical composition of germ meals from carob, guar and tara seeds, Food Hydrocolloids, N°3, pp. 149–156
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N., (2006)**, Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, Food Chemistry, N° 97, pp. 654-660.
- **Dogyan S., Turan Y., Ertuerk H., Arslan D., (2005)**, Characterization and Purification of polyphenol oxydase from artichoke (*Cynara scolymus* L.), J.Agric.Food Chem., N°53, pp.776-785.
- **Doha Mohamed A., Hamed Ibrahim M., Al-Okbi Sahar Y., (2008)**, *Ceratonia siliqua* Pods as a Cheap Source of Functional Food Components, Deutsche Lebensmittel-Rundschau, Vol. 104, N ° 1, pp. 25-29.
- **Donkoh A., C.C. Atuahene, B.N. Wilson and D. Adomako, (1991)**, Chemical composition of cocoa pod husk and its effect on growth and food efficiency in broiler chicks, Animal Feed Science and Technology, Vol. 35, N° 1-2, pp. 161-169

- **Dubois M.K.A., Gilli Y.K., Hamilton P.A., (1956)**, Colometric method for determination of sugari et related substances, Anal et chem.Jour., Vol. 28, pp. 350-356.
- **El Allagui N. et al. (2007)**, Action de différents extraits végétaux sur la mortalité des nématodes à galles du genre *Meloidogyne* ssp., Rev.Tela Botanica Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France BDNFF, Vol. 4. N°4.
- **Flynn N.E., C.J. Meininger, T.E. Haynes and G. Wu, (2002)**, The metabolic basis of arginine nutrition and pharmacotherapy, Biomedicine Pharmacotherapy N°56, pp. 427–438.
- **Folch I., Guillen R. (1981)**, La vegetacio dela Països Catalans, Ed. Ketres, Barcelona.
- **Fournier P. (1977)**, Les quatre flores de la France (générale, alpine, méditerranéenne, littorale) Le Chevalier, Paris.
- **Gharnit N., N. El Mtili, A. Ennabili, F. Sayah, (2006)**, importance socio-économique du caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) dans la Province de Chefchaouen (nord-ouest du Maroc), Rev. Tela Botanica Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France BDNFF, VOL.4.02 N°33.
- **Gharnit N., El Mtili N., Ennabili A., Sayah F., (2004)**, Floral characterization of carob tree (*Ceratonia siliqua L.*) from the province of Chefchaouen (NW of Morocco). Moroccan J. Biol, pp. 41-51.
- **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., Vol. 98, N°1, pp.101-5.
- **Gruendel S., Otto B., Garcia A.L., Wagner K., Mueller C., Weickert M.O., Heldwein W., Koebnick C., (2007)**, Increased acylated plasma ghrelin, but improved lipid profiles 24-h after consumption of carob pulp preparation rich in dietary fibre and polyphenols, Br. J. Nutr., Dec; Vol. 98, N°6 , pp.1170-7.
- **Hartmann H.T., Kester D.E. (1983)**, Plant propagation, principles and practices, 4th Ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.
- **Hariri A, N.Ouis, Sahnouni F et D.Bouhadi (2009)**, mise en œuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base des extraits de caroube, rev. microbiol. ind. san et environn. pp. 37-55.
- **Jones D. K. (1953)**, Carob culture in Cyprus, FAO 53/2/1225. FOA. Rome.

- **Joslyn M.A., Nishira H., Ito S., (1968)**, Leucoanthocyanins and related phenolic compounds of carob pods (*Ceratonia siliqua*), *J. Sci. Food Agric.*, N°19, pp.543-550.
- **Khalidi D. (2007)**, Etude chimique et nutritive d'*Argania spinosa*, Mémoire de Magister, UABB Tlemcen.
- **Kivçak B. and Mert T. (2002)**. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Ceratonia siliqua* L. extracts. *Turk J.Biol.* N°26, pp.197-200.
- **Kjeldhal J., (1883)**, Neue method zur bestimmung des stickstoffs in organischen korpon. *Z Anal. Chem.*, Vol. 22. Pp.366-382.
- **Klenow S., Jahns F., Pool-Zobel B.L., Gleis M., (2009)**, Does an extract of carob (*Ceratonia siliqua* L.) have chemopreventive potential related to oxidative stress and drug metabolism in human colon cells, *J. Agric Food Chem.*, vol.57, N°7, pp. 2999-3004.
- **Klenow S. and Gleis M. (2009)**, New insight into the influence of carob extract and gallic acid on hemin induced modulation of HT29 cell growth parameters, *Toxicology in Vitro*, Vol. 23, N° 6, pp. 1055-1061.
- **Kumazawa S., M. Taniguchi, Y. Suzuki, M. Shimura, Mi-Sun Kwon, and T. Nakayama, (2002)**, Antioxidant Activity of Polyphenols in Carob Pods. *J. Agric. Food Chem.*, Vol.50. N°2, pp. 373–377.
- **Konate I., (2007)**, Diversité Phénotypique et Moléculaire du Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) et des Bactéries endophytes qui lui sont associées, Université Mohammed V-Agdal Faculté Des Sciences Rabat, thèse de doctorat.
- **Lee J. H., Koo N.S., Min D.J., (1986)**, Antioxydant protection of phospholipids bilayers by atocopherol, *J. Biol. Chem.* Vol.2 ,N°5, pp.12-14.
- **Linden G. et Lorient D., (1994)**, Biochimie agro-industrielle, valorisation alimentaire de la production agricole, Edition Masson, pp. 75.
- **Lizardo R., J. Cañellas, F. Mas, D. Torrallardona, J. Brufau, (2002)**, L'utilisation de la farine de caroube dans les aliments de sevrage et son influence sur les performances et la santé des porcelets, Journées de la Recherche Porcine, N°34, pp.97-101.
- **Loeb H., Vandenplas Y., Wursch P., Guesry P. (1989)**, Tannin-rich carob pod for the treatment of acute-onset diarrhea. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* N°8, pp. 480-485.
- **Makris D. P. Et P. Kefalas (2004)**, Carob Pod as a source of polyphenolic Antioxidants, *Food Technol. Biotechnol.* vol. 42, N° 2, pp. 105–108.

- **Manolkidis, Polychronidou A., Alichanidis E., (1970)**, Observations suivies sur la protéolyse pendant la maturation du fromage « théléme », Thèse de doctorat. Université de Thessaloniki, Grèce.
- **MAPA. (1994)**, Ministerio de Agricultura, Pesca Y Alimentación. Anuario de Estadística Agraria. Ed. Secretaría General Técnica, Madrid, Spain.
- **Martins-Louçao M.A., Duarte P.J., Cruz C., (1996)**, Phenological and physiological studies during carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germination, Seed Sci Technol N°24, pp. 33-47.
- **Mitrakos K. (1981)**, Temperature germination responses in three Mediterranean evergreen sclerophylls, in Components of Productivity of Mediterranean-climate Regions-Basic and Applied Aspects (N.S. Margaris and H. A. Mooney, eds.). Dr. W. Junk Publishers, The Hague/Boston/London, pp. 277-279.
- **Mole S., Waterman P.G. (1987)**. Tonic acid proteolytic enzymes: enzyme inhibition substrat derivation, Photochemistry, N° 26, pp. 99-102.
- **Nabli A. (1989)**, Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisienne, 1. Éléments de botanique et de phyto-écologie, MAB-FST-Laboratoire de botanique fondamentale et appliquée, pp. 247.
- **Ndir B., Lognay G., Wathelet B., Cornelius C., Marlier M., Thonart P., (2000)**, Composition chimique du nétéu, condiment alimentaire produit par fermentation des graines du caroubier africain *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth, (4, 5) Biotechnol. Agron. Soc. Environ. Vol.4, N° 2, pp.101–105.
- **Orphanos P. I. and Papaconstantinou J. (1969)**, The carob varieties of Cyprus, Tech. Bull. 5. Cyprus Agricultural Research Institute, Ministry of Agriculture and Natural Resource, Nicosia.
- **Ortiz P. L., Arista M. and Talavera S. (1996)**. Produccion de nectar y frecuencia de polinizadores en *Ceratonia siliqua* L. (Caesalpinaceae). Anales del Jardin Botanico de Madrid N°54, pp.540-546.
- **Ortega N., A. Macià, M.P. Romero, J. Reguant and M.J. Motilva (2011)**, Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an in-vitro digestion model, Food Chemistry Vol. 124, N°1, pp. 65-71.
- **Owen R. W., R. Haubner, W. E. Hull, G. Erben, B. Spiegelhalder, H. Bartsch and B. Haber (2003)**, Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre, Food and Chemical Toxicology Vol. 41, N°12, pp. 1727-1738

- **Ozcan M.M., Arslan D., Gökçalik H., (2007)**, Some compositional properties and mineral contents of carob (*Ceratonia siliqua*) fruit, flour and syrup. *Nt. J. Food Sci Nutr.*, vol.58, N°8, pp.652-8.
- **Papagiannopoulos M, Wollseifen HR, Mellenthin A, Haber B, Galensa R. (2004)**, Identification and quantification of polyphenols in carob fruits (*Ceratonia siliqua L.*) and derived products by HPLC-UV-ESI/MSn, *J Agric Food Chem.*, Vol.52, N°12, pp.3784-91
- **Parrado J., J. Bautista, E.J. Romero, A.M. García-Martínez, V. Friaza and M. Tejada, (2008)**, Production of a carob enzymatic extract: Potential use as a biofertilizer *Bioresource Technology* Vol. 99, N°7, pp. 2312-2318.
- **Passos de Carvalho J. (1988)**, Carob pollination aspects, in *Proceedings of the II International Carob Symposium* (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain, pp. 281-291.
- **Piotto B., Di Noi A. (2003)**, Seed propagation of Mediterranean trees and shrubs, *Agenzia Nazionale per la Protezione dell' Ambiente (ANPA)*. Roma, Italy.
- **Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B. (2010)**, Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *e-Revue de génie industriel*, N° 4, pp1313-8871.
- **Priolo A., Waghorn G. C., Lanza M., Biondi L. and Pennisi P. (2000)**, Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: Effects on lamb growth performance and meat quality. *J. Anim. Sci.* N°78, pp. 810- 816.
- **Priolo A., M. Lanza, M. Bella, P. Pennisi, V. Fasone and L. Biondi, (2002)**, Reducing the impact of condensed tannins in a diet based on carob pulp using two levels of polyethylene glycol: lamb growth, digestion and meat quality, *Anim. Res.* Vol. 51, N° 4, pp. 305 – 313.
- **Quezel P. et S. Santa (1963)**, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (tome1), Editions du centre national de la recherche scientifique, pp.557.
- **Rejeb M. N. (1995)**, Le caroubier en Tunisie: Situations et perspectives d'amélioration, in *Quel avenir pour l'amélioration des plantes?* Edit. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris, pp. 79-85.

- **Rejeb M. N., Laffray D. and Louguet P. (1991)**, Physiologie du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) en Tunisie, in Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides, Group d'Etude de l'Arbre, Paris, France, pp. 417-426.
- **Rejeb MN (1989)**, Mécanismes physiologiques d'adaptation à la sécheresse du Caroubier, Rev Res Amélior Prod Milieu Aride I, pp.47-55.
- **Rebour H. (1968)**, fruits Méditerranéen, la maison rustique Paris, 330pp.
- **Retana J., Ramoneda J., García del Pino F., Bosch J., (1994)**, Flowering phenology of carob, *Ceratonia siliqua* L. (Caesalpinaceae), J. Hortic. Sci., Vol.69. N°1, pp.97-103.
- **Retana J., Ramoneda J. and Garcia del Pino F. (1990)**, Importancia de los insectos en la polinizacion del algarrobo. Bol. San. Veg. Plagas, N°16, pp.143-150.
- **Romano A., Barros S., Martins-Loução M.A. (2002)**, Micropropagation of the Mediterranean tree *Ceratonia siliqua*, Plant Cell, Tissue Organ Cult., Vol.68. N°1, pp.35-41, 129p.
- **Ruiz-Roso B., Quintela J.C., de la Fuente E., Haya J., Pérez-Oller L., (2010)**, Insoluble Carob Fiber Rich in Polyphenols Lowers Total and LDL Cholesterol in Hypercholesterolemic Subjects, Plant Foods Hum Nutr., Vol.65. N°1, pp.50-6.
- **Silanikove N., Serge Landau, Diti Or, Dorit Kababya, Israel Bruckental and Zafrira Nitsan , (2006)**, Analytical approach and effects of condensed tannins in carob pods (*Ceratonia siliqua*) on feed intake, digestive and metabolic responses of kids, Livestock Science, Vol. 99, N°1, pp. 29-38
- **Samil Kök M.(2007)**, A comparative study on the compositions of crude and refined locust bean gum: In relation to rheological properties, Carbohydrate Polymers, Vol. 70, N°1, pp. 68-76
- **Sánchez S., L.J. Lozano, C. Godínez, D. Juan, A. Pérez and F.J. Hernández, (2010)**, Carob pod as a feedstock for the production of bioethanol in Mediterranean areas Applied Energy Vol. 87, N°11, pp. 3417-3424
- **Sanchez M., Review C. (2002)**, Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems, Food Sci. Tech. Int. Vol.8, N°3, pp. 121-137.
- **Sbay H. et M. Abourouh, (2006)**. Apport des espèces à usages multiples pour le développement durable : cas du pin pignon et du caroubier, Centre de Recherche Forestière Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification, Rabat, pp.1-9

- **Saura Calixto F. (1988)**, Effect of condensed tannins in the analysis of dietary fiber in carob pods, *J. Food Sci.* N°53, pp.1769-1771.
- **Sebastian K.T. et McComb J.A. (1986)**, A Micropropagation system for carob (*Ceratonia siliqua L.*), *Scientia Horticulturae* N°28, pp.127-131, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
- **Schroeder C.A. (1959)**, The floral situation of the Carob in California, *Proc. Am. Soc. hort. Sci.* N°74, pp. 248-251.
- **Singleton V.L. (1965)**, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *Am.J.Enol.* N°16, pp.144-158.
- **Swain T., Hillis w.E. (1959)**, The phenolics constituents of *Prunus domestica*-1-the contative analysis of phenolics constituent, *Journal of Science of Food and Agriculture* N°10, pp. 13.
- **Serairi-Beji R., L. Mekki-Zouiten, L. Tekaya-Manoubi, M.H. Loueslati, F. Guemira, A. Ben Mansour, (2000)**, peut-on associer la pulpe de caroube et la solution de réhydratation orale dans le traitement de la diarrhée aigue ?, *Med. Trop.* N°60, pp.125-128
- **Tabatabai A and Li S., (2000)**, Dietary fiber and type 2 diabetes, *Clin Excell Nurse Pract.* Vol.4, N°5, pp.272-6.
- **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, pp. 451-457.
- **Tous j. and Baltte I. (1990)**, *El algarrobo*, Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- **Tolentino P. (1950)**, Mécanismes et limites de l'action thérapeutique de la farine de caroube dans les diarrhées infantiles: étude clinique et expérimentale, *Ann. Paed.* N°175, pp. 200-222.
- **Tucker S. C. (1992)**. The developmental basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* (Leguminosae:Cesalpinoideae: Cassieae), *Am. J. Bot.* Vol.79, N°3, pp. 367-327
- **Vardar Y., Seçurenand Ö. And Ahmed M. (1972)**, Preliminary results on the chemical composition of the Turkish carob beans, *Qual. Plant Mater*, vol. XXI N°4, pp. 318- 327.

- **Vasta V., Harinder P., S. Makkar; M. Mele; A. Priolo, (2009)**, Ruminant biohydrogenation as affected by tannins *in vitro*, The British Journal of Nutrition Vol.102 N°1, pp. 82-92.
- **Vaya J, Mahmood S. (2006)**, Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua* L.) and pistachio (*Pistacia lentiscus* L.), Biofactors, Vol.28, N°3-4, pp.169-75.
- **Vinterhalter D., Vinterhalter B. (1992)**, Factors affecting *in vitro* propagation of carob (*Ceratonia siliqua* L.), Arch. Biol. Sci. Belgrade, Vol.44, N°3-4, pp. 177-186.
- **Wursch P., Vedovo S., Rosset J., Smiley M. (1984)**. The tannins granules from ripe carob pod, Lebensm.Wiss.u.Technol. N°17, pp.351-354.
- **Yu Z, Dahlgren R.A. (2005)**, Evaluation of methods for measuring polyphenols in copper foliage, J.Chem.Ecol. N°26, pp.2119-2140.
- **Yen G., Duh P. D. (1994)**, Scavenging effects of methanolic extract of peanut hulls on free radical and active oxygen species, J. Agri. Food tech. N°42, pp.629-636.
- **Yousif A.K. et Alghzawi H.M. (2000)**, Processing and characterization of carob powder, Food chemistry, Vol. 69, N°3, pp.283-287.
- **Zohary M. (1973)**, Geobotanical Foundations of the Middle East, vol. 2, Stuttgart.
- **Zohary M., and Orshan P. (1959)**. The maquis of *Ceratonia siliqua* in Israel, Palest. J. Bot. Jerusalem, N°8, pp. 385-397.
- **Zulim Botega D., S. Bastida, S. Marmesat, L. Pérez-Olleros, B. Ruiz-Roso, F. J. Sanchez-Muniz, (2009)**, Carob Fruit Polyphenols Reduce Tocopherol Loss, Triacylglycerol Polymerization and Oxidation in Heated Sunflower Oil, J Am Oil Chem Soc N°86, pp.419–425
- **Zunft H.J.F., W. Lüder, A. Harde, B. Haber, H.J. Graubaum, J. Gruenwald, (2001)**, Carob Pulp Preparation for Treatment of Hypercholesterolemia, Advances In Therapy, Vol.18 N°. 5
- **Zouhair O. (1996)**, Le caroubier: situation actuelle et perspectives d’avenir, Document interne, Eaux et forêts, Maroc, pp 22.
- **FAOSTAT (2010)**, [www.fao.org](http://www.fao.org)

Rapport-Gratuit.com

# ANNEXES

## 1. COURBE D'ÉTALONNAGE :

La gamme d'étalonnage est effectuée de la façon suivante :

- Une solution mère de  $\alpha$  D (+) glucose est préparée à une concentration de 1%. A partir de cette dernière, on prend 1 ml et on complète le volume par l'eau distillée jusqu'à 100ml.
- Ensuite, on prépare des dilutions de différentes concentrations :  
10, 25, 40, 60, 75 et 100 ( $\mu\text{g/ml}$ ).
- De chaque concentration, on prend 1 ml au quel on ajoutera 1 ml de phénol à 5% et 5 ml d'acide sulfurique à 98%.
- On maintient les tubes dans une étuve pendant 5 min à  $105^\circ\text{C}$ , ensuite on les laisse dans l'obscurité pendant 30 min.
- Enfin, on lit la densité optique, de chaque concentration, à 490nm et on trace la courbe d'étalonnage  $\text{DO} = f(\text{C})$ .

Dont :

C : est la concentration en  $\mu\text{g/ml}$

DO : est la densité optique.

## 2. REACTIF C :

Mélanger  $\text{FeCl}_3$  0.01M avec une solution d' $\text{HCl}$  0.001M (V/V).

## 3. CATALYSEUR :

Mélanger 20g de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  et 1g de  $\text{HgO}$ .

## 4. INDICATEUR DE TASHIRO :

10ml de méthyle rouge à 0.03% dans l'éthanol 70% et 1.5ml de bleu de méthylène à 0.1% aqueux.

## 5. DETERMINATION DU FACTEUR DE NaOH (0.1N) :

Prendre une solution composée de 20ml de NaOH (0.1N) et 3 gouttes de phénolphthaléine, faites la titrer avec la solution d'acide oxalique (0.1N) jusqu'à la disparition de la couleur rose.

Le facteur de NaOH est déterminé par la formule suivante :

$$F = N_{\text{exp}} / N_{0.1}$$

Dont :

F : facteur de correction.

N<sub>exp</sub> : normalité de NaOH expérimentale.

N<sub>0.1</sub> : normalité de NaOH (0.1N).

## 6. PREPARATION DE L'ETALON DE DOSAGES DES POLYHENOLS TOTAUX :

A partir de la solution mère, on a préparé des dilutions de différentes concentrations :

15mg/l, 14mg/l, 13 mg/l, 12 mg/l, 11 mg/l, 10 mg/l, 9 mg/l, 8 mg/l, 7 mg/l, 6 mg/l, 5 mg/l, 4 mg/l, 3 mg/l, 3 mg/l, 2 mg/l, 1 mg/l.

- prendre 3ml de chaque concentration et ajouter 0,5ml du réactif de Folin Ciocalteu
- Laisser réagir pendant 3 minutes.
- Après, ajouter 2ml de solution aqueuse de carbonate de sodium à 20%.
- Mettre le mélange au Vortex et laisser incuber à l'obscurité pendant 1 heure.
- Lire l'absorbance à 650nm.

## 7. Tableaux représentatifs des résultats obtenus :

Métabolites primaires	Pulpe Jijel	Graine Jijel	Pulpe Tlemcen	Graine Tlemcen	Pulpe Blida	Graine Blida
Matière sèche(%)	90,4±0,38	28,4±0,44	89,4±0,07	29,7±0,64	88,7±0,14	30,8±0,74
Sucres totaux (%MS)	44,9±13,3	36,3±3,2	37,5±2,3	14,4±0,9	45,3±0,6	16,1±2,5
Fibres (%MS)	10,33±0,54	4±0,62	10,83±0,74	4,17±0,74	10,17±0,54	4,17±0,54
Cendres (%MS)	4,00±0,5	2,67±0,44	3,83±0,74	1,83±0,74	2,25±0,54	2,83±0,54
Taux de lipides (%MS)	2,33±0,41	6,5±0	4,83±0,89	6,33±0,21	1,83±0,21	6±0

	proteines brutes(%)	protéines pures(%)	azote total(%)	Azote proteique(%)	azote non proteique(%)
pulpe Jijel	6,38	1,13	1,02	0,18	0,84
graine Jijel	30	6	4,8	0,96	3,84
pulpe Tlemcen	6,5	1	1,04	0,16	0,88
graine Tlemcen	31	6	4,96	0,96	4
pulpe Blida	6,56	1,63	1,05	0,26	0,79
graine Blida	29,75	4,36	4,76	0,7	4,06

Métabolites secondaires	Pulpe Jijel	Graine Jijel	Pulpe Tlemcen	Graine Tlemcen	Pulpe Blida	Graine Blida
Polyphenols totaux (mg/g MS)	5,45±0,17	4,02±0,02	5,67±0,09	4,24±0,03	5,09±0,16	4,87±0,09
Flavonoïdes (mg/g MS)	0,44±0,07	0,32±0,1	0,23±0,04	0,52±0,09	0,22±0,11	0,2±0,06
Tanins condensés (mg/g MS)	0,09±0,01	0,13±0	0,21±0,01	0,12±0,01	0,13±0,01	0,12±0,01
Tanins hydrolysables (mg/g MS)	0,06±0,01	0,05±0,01	0,05±0,01	0,03±0,01	0,05±0,01	0,03±0,01

Pouvoir antioxydant des phénols totaux de la pulpe de Jijel		Pouvoir antioxydant des phénols totaux de la pulpe de Tlemcen		Pouvoir antioxydant des phénols totaux de la pulpe de Blida	
Concentration (mg/ml)	% d'inhibition DPPH	Concentration (mg/ml)	% d'inhibition DPPH	Concentration (mg/ml)	% d'inhibition DPPH
0	0	0	0	0	0
0,06	77,36	0,06	76,55	0,06	27,2
0,11	92,99	0,12	91,69	0,11	27,52
0,23	93,65	0,24	92,83	0,21	38,59
0,37	93,97	0,47	93,65	0,42	56,02
0,91	95,6	0,95	94,63	0,85	94,46
1,48	97,72	1,89	96,25	1,69	98,2

Pouvoir antioxydant des phénols totaux de la graines de Jijel		Pouvoir antioxydant des phénols totaux de la graines de Tlemcen		Pouvoir antioxydant des phénols totaux de la graines de Blida	
concentration (mg/ml)	% d'inhibition du DPPH	concentration (mg/ml)	% d'inhibition du DPPH	concentration (mg/ml)	% d'inhibition du DPPH
0	0	0	0	0	0
0,04	25,57	0,04	36,16	0,05	34,53
0,08	36,48	0,09	53,26	0,1	45,28
0,17	49,51	0,18	57,98	0,2	69,22
0,34	70,52	0,35	90,55	0,4	89,9
0,67	86,64	0,71	91,86	0,81	96,25
1,34	92,99	1,41	94,3	1,61	96,58

## Résumé

Le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) est originaire des pays méditerranéens, il est robuste et rustique. Le caroubier est cultivé pour ses gousses, abondantes et riches en sucre à maturité, Elles sont broyées avec leurs graines pour en faire une farine destinée à l'aliment de bétail. Les pulpes et les graines de caroube de trois régions d'Algérie ont fait l'objet de notre étude, dans le but de déterminer leur composition chimique pour un intérêt nutritionnel et thérapeutique. En effet la détermination des teneurs en métabolites primaires révèle la présence de sucres totaux et de fibres à des taux très importants, la pulpe de Blida détient le meilleur taux de sucres avec 45,3%. Pour les fibres, la pulpe de Tlemcen en contient le plus avec 10,83%, les graines de Tlemcen contiennent le taux le plus fort en protéines brutes 31%, les graines de Tlemcen et de Jijel contiennent le plus de protéines pures avec 6%, un taux de lipides assez faible 6,5 % est la valeur la plus élevée, c'est celle des graines de Jijel, une teneur en cendres de l'ordre de 4% pour la pulpe de Jijel qui est la valeur la plus élevée. Concernant les métabolites secondaires, le taux des phénols totaux est assez important, de l'ordre de 5,67mg/g de MS pour la pulpe de Tlemcen, suivi du taux des flavonoïdes qui est de 0,52mg/g pour les graines de Tlemcen, des tanins condensés avec un maximum de 0,21mg/g pour la pulpe de Tlemcen, puis des tanins hydrolysables avec 0,06mg/g au maximum pour la pulpe de Jijel. L'évaluation du pouvoir antioxydant, par la méthode du DPPH de l'extrait phénolique a montré un pourcentage de réduction du DPPH important, allant jusqu'à 98,20% pour les pulpes et 96,58% pour les graines.

**Mots clés :** Caroube, pulpe, graines, valeur nutritive, polyphénols, activité antioxydante.

## Abstract

The carob tree (*Ceratonia siliqua L.*) is native to Mediterranean countries, it is robust and rustic. The carob tree is cultivate for its pods, abundant and rich in sugar at maturity, they are crushed with seeds into powder for livestock feed. Carob pulp and seeds of three Algerian regions have been the object of our study, in order to determine their chemical composition for a nutritional and therapeutic interest. Indeed the determination of primary metabolites revealed the presence of total sugars and fiber at very important levels, pulp of Blida has the highest rate with 45.3% sugar. For fiber, pulp Tlemcen contains the most with 10.83%, the seeds of Tlemcen contain the highest rate of crude protein 31%, the seeds of Tlemcen and Jijel contain the most level of pure protein with 6% a relatively low rate of 6.5% fat is the highest (the seed of Jijel), an ash content of about 4% for pulp of Jijel, which is the highest value. On secondary metabolites, the rate of total phenols is significant enough, the order of 5.67 mg / g of dry matter for the pulp of Tlemcen, followed by the rate of flavonoids, which is 0.52 mg / g for seeds of Tlemcen , condensed tannins, with a maximum of 0.21 mg / g for the pulp of Tlemcen and hydrolyzable tannins with 0.06 mg / g for the pulp of Jijel. Evaluation of antioxidant activity of phenolic extract by DPPH method showed an important percentage reduction of DPPH, up to 98.20% for pulps and to 96.58% for seeds.

**Keywords:** Carob, pulp, seeds, nutritive value, polyphenols, antioxidant activity.

## ملخص

شجرة الخروب (سيرانونيا أنثية لأم) هي شجرة دائمة الخضرة ، موطنها بلدان البحر الأبيض المتوسط ، و هو متواجد على نطاق واسع حاليًا في بلدان شبه كثيرة. إنها تنتمي إلى الفصيلة البقولية (الأسرة) البقوليات. (إنها شجرة قوية وريفي ، المزروعة لأغراض الزينة ، والخشب من الصعب تقدير والدواليب وتزرع شجرة الخروب لقرون لها ، وفيرة وغنية في السكر عند الاستحقاق. هي الأرض ومع البنور في وجبة لأطعم المسية وقد اللب والخروب ثلاث مناطق من الجزائر موضوع دراستنا ، من أجل تحديد تركيبها الكيميائي عن العائدة الغذائية والعلاجية في الواقع تحديد مستويات الأيضات الأولية كشفت عن وجود السكريات الكلية والألياف عند المنعطف مهمة جدا من 45 ، 3/10 و 83/ على التوالي ، البروتين الخام بنسبة 6 % عن اللب و 30/ بالنسبة للبنور ، ومستويات الدهون منخفضة نسبيًا مع 2 ، 33/ لولب الورق و 6 ، 33/ للبنور ، والرماد من حوالي 4 % عن أعلى قيمة و 1 ، 83/ ل أنثى. على المركبات الثانوية ، فإن معدل إجمالي الفينول وكبيره من أجل من 5 ، 67ملغ / غرام من نجف ، تليها نسبة من العلافونويد والعفص مكثف والعفص. وأظهر تقييم القدرة المضادة للأكسدة بطريقة DPPH من العينات استخراج تخفيض نسبة DPPH الهامة ، بزيادة 98 ، 20/ إلى 96 ، 58/ عن اللب والبنور.

**كلمات المفتاحية :** الخروب ، واللب والبنور والمواد الغذائية ، البوليفينول ، نشاط مضادات الأكسدة .