

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*Université Djilali Bounaama- Khemis Miliana*



*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre*  
*Département de Biologie*  
*Filière : sciences biologiques*  
*Option : microbiologie appliquée*

*Mémoire de Fin de Cycle*  
*En vue de l'obtention du diplôme de Master en*  
*Microbiologie appliquée*

*Thème*

*Activités biologiques d'extraits de quelques*  
*légumineuses*

Présenté par :

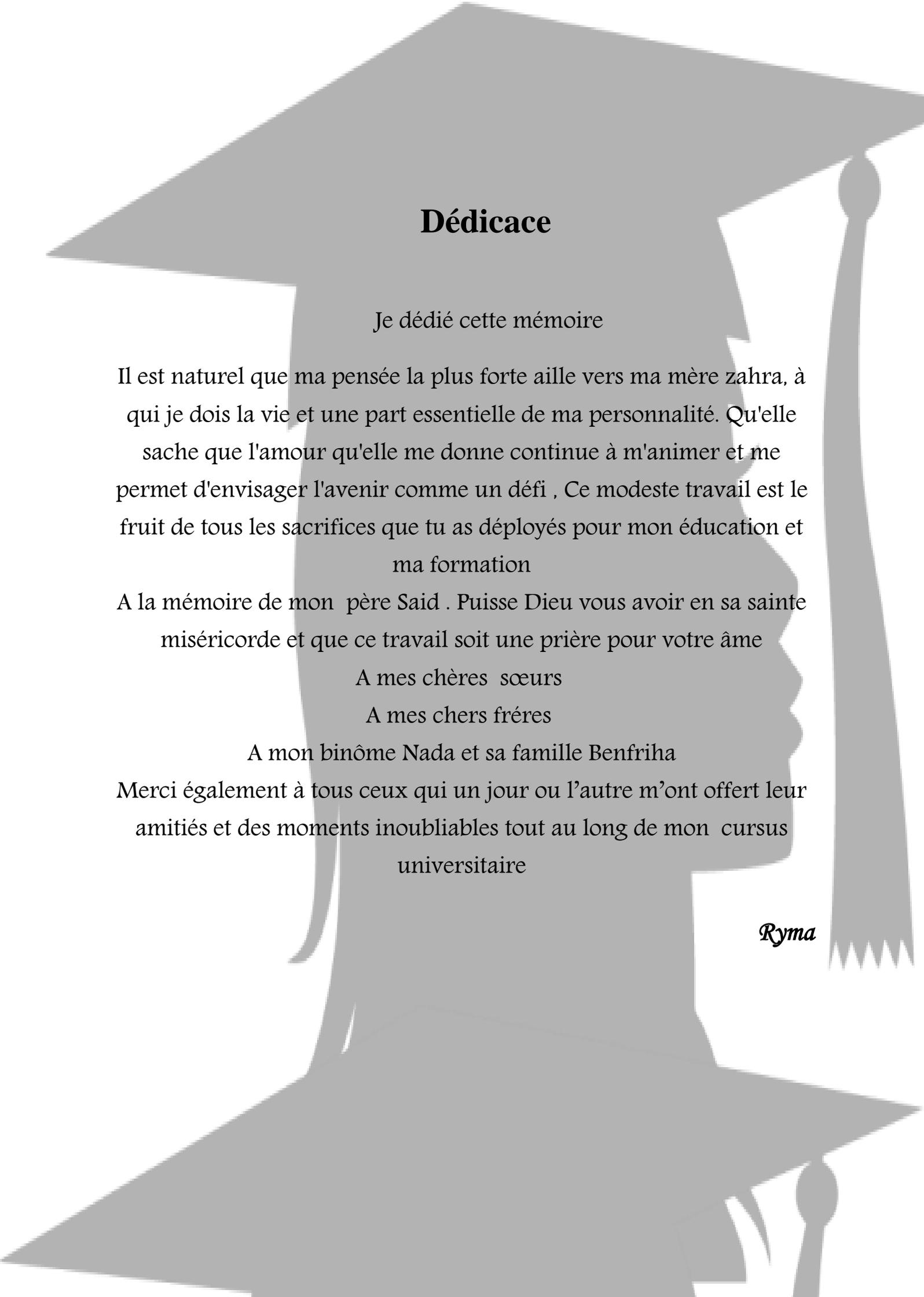
- **BOUZAR KOUADRI KARIMA**
- **BENFRIHA NADA**

Devant le jury composé de :

Mme **NASSIMA DIDOUH**  
Mme **MERIEM OUAZIB**  
Mme **ASMA AIZA**

**président**  
**Encadreur**  
**Examineur**

**Année universitaire : 2019 / 2020**



## Dédicace

Je dédie cette mémoire

Il est naturel que ma pensée la plus forte aille vers ma mère zahra, à qui je dois la vie et une part essentielle de ma personnalité. Qu'elle sache que l'amour qu'elle me donne continue à m'animer et me permet d'envisager l'avenir comme un défi, Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation

A la mémoire de mon père Said. Puisse Dieu vous avoir en sa sainte miséricorde et que ce travail soit une prière pour votre âme

A mes chères sœurs

A mes chers frères

A mon binôme Nada et sa famille Benfriha

Merci également à tous ceux qui un jour ou l'autre m'ont offert leur amitiés et des moments inoubliables tout au long de mon cursus universitaire

*Ryma*

# Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma mère Ahmed Belkacem H qui travaille pour mon succès, mon amour et mon soutien permanent, merci pour vos efforts ma mère

Mon père Benfriha Mohamed merci pour votre soutien continu

*A mes frères :*

Mohamed, Abdelkader, Fayçel ,et toute la famille

*A mes sœurs :*

Adla ,Habiba

A ma promotrice Dr Ouazib Meriem

A mes chers amis : B.aicha , T. Omar , s. raouf , k. joud

A mon binôme Ryma bouzar

A toutes mes enseignants de primaire jusqu'au l'université

A tous les amis sans exception chacun avec son propre nom

*Nada*

## Remerciements

Au terme de ce travail

Avant tous, nous remercions dieu le tout puissant, le miséricordieux de nous avoir donné le courage, la force la santé et la persistance pour finaliser ce travail.

*Nos remerciements s'adressent tout particulièrement à notre Promotrice **D.R MERIEM OUAZIB** pour toutes les orientations et les Conseils qu'elle nous a prodiguée tout le long de ce travail.*

Nous remercions les membres du jury d'avoir accepté d'examiner ce travail

Dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.

# Table de matières

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction 1

## Première partie : Synthèse bibliographique

### *Chapitre I : Etude botanique des plantes.*

1. Caroubier ( <i>Ceratonia Siliqua</i> )	2
I.1.Taxonomie	2
I.2.Classification de <i>Ceratonia Siliqua</i>	2
I.3.Répartition géographique	2
I.4. Ravageurs et Maladies	3
I.4.1. Larve polyphage de la mite de léopard ( <i>Zeuzera pyrina L.</i> )	3
I.4.2 .Larve de <i>Myelois ceratoniae</i> (le pyrale de caroubier)	3
I.4.3. Cochenille <i>Aspidiotus nerii</i>	3
I.5. Morphologie et description des principales parties de l'arbre	3
I.5.1. Arbre de caroubier	3
I.5.2.Feuilles	3
I.5.3. Fleurs	4
I.5.4. Fruit	4
I.5.5. Graines	4
I.6.Usage de caroubier	4
I.7. Composition chimique de caroubier	5
2. Pois chiche ( <i>Cicer arietinum</i> )	6
2.1. Taxonomie de <i>Cicer arietinum</i>	6
2.2. Histoire et origine	6
2.3. Répartition géographique	7
2.4. Types de cultivars chez le pois chiche	7
2.4.1. Type kabuli ( <i>Macrosperma</i> )	7
2.4.2 .Type desi ( <i>Microsperma</i> )	7
2.5. Importance de pois chiche	7
2.6. Maladies et ravageurs de pois chiche	8

## ***Chapitre II : Stress oxydatif.***

II.1. Stress oxydatif	10
II.1.2. Implication pathologique de stress oxydatif	10
II.2. Radicaux libres	11
II.3. Antioxydants	11
II.3.1. Antioxydants enzymatiques	12
II.3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)	12
II.3.1.2. Catalase	12
II.3.1.3. Glutathion peroxydase (Gpx)	12
II.3.2. Antioxydants non enzymatiques	12
II.3.2.1. Vitamines	12
II.3.2.2. Polyphénols	13
II.3.2.3. Caroténoïdes	13
II.3.2.4. Flavonoïdes	13
II.3.2.5. Tannins	14

## ***Chapitre III : métabolites secondaires***

III.1. Métabolites secondaires	15
III.2. Composés phénoliques	15
III.2.1. Définition	15
III.2.2. Classification	15
III.2.2.1. Acides phénoliques	16
III.2.2.2. Flavonoïdes	17
III.2.2.3. Tannins	17
III.2.2.4. Anthocyanes	19
III.2.3. Propriétés biologiques des composés phénoliques	19
III.2.4. Mécanisme d'action des composés phénoliques	20

## **Deuxième partie : Approche expérimentale**

1. Procédé de l'extraction	21
I.1. Macération aqueuse	21
I.2. Détermination du rendement d'extraction	21
I.3. Détection des composés phénoliques et des flavonoïdes	21

I.3.1.Détection des composés phénoliques (Réaction au FeCl <sub>3</sub> )	21
I.3.2.Mise en évidence des flavonoïdes	22
I.4.Préparation des solutions	22
I.5.Dosage spectrophotométrique des flavonoïdes totaux	22
II. Activité Antioxydante	22
II.1.Principe du test de DPPH	22
II.2.Réduction du radical libre DPPH par dosage spectrophotométrie	22
II.3.Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH	23
II.3.1.Préparation des extraits et de l'acide ascorbique	23
II.3.2.Préparation de la solution de DPPH	23
II.3.3.Détermination du potentiel antioxydant	23
III. Activité antimicrobienne	24
III.1.Activité antibactérienne	24
III.1.1.Test de l'activité antibactérienne	25
III.1.2.Lecture des résultats	25
III.2.Activité antifongique	26
III.2.1.Souches utilisées	26
III.2.2.Méthode de diffusion de disque	26

**Conclusion.**

**Références bibliographiques.**

**Résumé.**

## Liste des abréviations

- % : pourcentage.
- **EOA** : Espèces réactives de l'oxygène.
- **ADN** : Acide ribonucléique.
- **-OOH** : Groupement hydro peroxyde
- **O<sub>2</sub>-** : Le radical superoxyde .
- **OH: radical** hydroxyle .
- **Fe<sup>3+</sup>** :Fer ferrique.
- **Fe<sup>2+</sup>** :Fer ferreux.
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** :Le peroxide d'hydrogène.
- **H** :Hydrogène.
- **OH•** : Radical hydroxyl.
- **H<sub>2</sub>O** : Eau.
- **SOD** :Superoxyde dismutase.
- **Gpx** : Glutathion Peroxyde.
- **GR** : Glutathion Réductase.
- **GSH** : Glutathion réduit.
- **GSSG** : Glutathion oxydé.
- **ROOH** : Hydro peroxydes instables.
- **Q** : Equivalent quercétine.
- **pH** : Potentiel d'hydrogène.
- **UV** : Ultra violet.
- **THs** : Tannins hydrolysable.
- **TCs** : Tannins condensés.
- °C : Degré Celsius.
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium.
- **Mg<sup>+2</sup>** : Magnésium.
- **HCl** : Acide chlorhydrique.
- **mn**: Minute.
- **ml** : Millilitre.
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle).
- **Abs** : Absorbance.
- **g** : gramme

## Liste de figures

<b>Figure 1</b> : Feuille de caroubier	4
<b>Figure 2</b> :Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	11
<b>Figure 3</b> :Structure de la vitamine E	13
<b>Figure 4</b> : Structure des acides hydroxy benzoïques	16
<b>Figure 5</b> : Structure des acides hydroxy cinnamiques	16
<b>Figure 6</b> : Structure de base des flavonoïdes	17
<b>Figure 7</b> :Structure de base d'un flavane et d'un flavone	17
<b>Figure 8</b> :Structure de l'acide gallique et l'acide éllagique	18
<b>Figure 9</b> : Structure d'un tanin condensé	18
<b>Figure 10</b> :Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques	20
<b>Figure11</b> : Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl)	23
<b>Figure 12</b> : Protocole de l'activité antibactérienne	24

## Liste de tableaux

<b>Tableau I</b> : Maladies cryptogamiques et moyens de lutte	8
<b>Tableau II</b> : Exemples de pathologie liés au stress oxydatif	10
<b>Tableau III</b> : Propriétés biologiques des composés phénoliques	19

# *Introduction générale*

## Introduction générale

La famille botanique des légumineuses à graines est la famille la plus importante des dicotylédones. Elle regroupe 18,000 espèces classées en environ 650 genres (*Duranti, 2006*).

Jusqu'à présent, les graines de légumineuses étaient incluses, en France, dans le groupe des féculents au même titre que le pain, les céréales et les pommes de terre. Dans le dernier rapport de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire (*Anses, 2016*).

Les légumineuses (pois, lentilles, haricots, soja et pois chiches) sont l'une des cultures les plus importantes en raison non seulement de leur qualité nutritionnelle mais également pour leurs divers avantages agro-environnementaux. Les graines et poudres de légumineuses sont des sources importantes de protéines, glucides, vitamines, minéraux et fibres alimentaires (*Baljeet et al., 2014 ; Rachwa- Rosiak et al., 2015*).

Les légumineuses alimentaires occupent une place importante dans l'alimentation humaine pour de nombreux pays en voie de développement. Celles-ci riches en protéines, permettent dans une certaine mesure de corriger les carences en protéines animales d'une population dont l'alimentation est exclusivement à base de céréales (*Bacha et Ounane, 2003*).

L'objectif de ce présent mémoire s'est appuyé sur l'étude des activités biologiques de l'extrait de graines et de gousses de deux types de légumineuses alimentaires le caroubier ( *Ceratonia siliqua L*) et le pois chiche ( *Cicer arietinum L* ).

# *Synthèse bibliographique*

*Chapitre I :*  
*Etude botanique des plantes*

## 1. Caroubier (*Ceratonia Siliqua*)

### I.1.Taxonomie

Scientifiquement le caroubier est appelé *Ceratonia siliqua* (linnée) ,ce nom dérive de grec keras et de latin siliqua ,faisant allusion à la forme de son fruit qui rassemble à la corne de bouc (*Bolonos,1955*) , Par ailleurs le nom dialectal kharouv originaire ,de l'hébreu à donné lieu à plusieurs dérivés tels que kharoub en arabe ,algnobo en Espagnol ,carroubo en italien, caroubier en français..etc.(*Boudy,1950*).

### I.2. Classification de *Ceratonia siliqua*

La classification de *ceratonia siliqua* selon *Quezel et santa, 1962* est comme suit :

**Règne** : plante.

**Sous règne** : tracheobionta.

**Division** : magnaoliophyta.

**Classe** : magnoliopsida.

**Sous classe** : rosidae.

**Famille** : fabaceae.

**Ordre** : fabales.

**Genre** : ceratonia.

**Espèces** : *Ceratonia siliqua*.

### I.3.Répartition géographique

En général, la distribution des espèces arboricoles telles que *Ceratonia siliqua* est limitée par le stress lié au froid (*Mitrakos, 1981*), la production mondiale de caroube est estimé à 250000 tonne , elle est essentiellement concentré en Espagne au Maroc , en Italie au Portugal ,en Grèce ,en Turquie au Chypre et Algérie ,par ailleurs de faible production ont été enregistrées au Liban , en Tunisie en Australie et en Afrique de sud (*Jones,1953*).

En Algérie, le caroubier est fréquemment cultivé dans l'Atlas Saharien et il est commun dans le tell (*Quezel et Santa, 1963*).

## I.4. Ravageurs et Maladies

### I.4.1. Mite de léopard

En Espagne, l'insecte le plus préjudiciable est la larve polyphage de la mite de léopard (*Zeuzera pyrina* L.) qui attaque le bois du tronc et des branches, endommageant considérablement de jeunes arbres. (Martorell, 1987 ; Tous et Battle, 1990).

### I.4.2. Larve de *Myelois Ceratoniae* ( le pyrale de caroubier)

*E. ceratoniae* est une espèce répandue dans tout le bassin méditerranéen et notamment au Maroc, en Algérie, Tunisie, Libye et Egypte .sa présence à aussi signalée en Espagne, en Italie en Grèce et en France. Le papillon mesure de 6 à 14 mm de longueur et de 24 à 26 mm d'envergure (Le Berre, 1978).

### I.4.3. Cochenille *Aspidiotus nerii*

La cochenille *Aspidiotus nerii* Bouché (= *Aspidiotus hederæ* Vallot) est une espèce très polyphage (Baachowsk Y, 1948) ,Jusqu'en 1974 cet insectes évoluant sur des nombreuses plantes-hôte naturelles tel le caroubier, n'existait sur olivier en Crète que dans des situations très particulières, le long des routes non asphaltées par exemple, où la destruction des entomophages du fait de la poussière permettait la présence locale de quelques fortes contaminations (Alexandrakis et Neuenschwander, 1979).

## I.5. Morphologie et description des principales parties de l'arbre

### I.5.1. Arbre de caroubier

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), appartenant à la grande famille des légumineuses mesurant généralement cinq mètres de hauteur et pouvant atteindre exceptionnellement quinze mètres, cultivé depuis longtemps qui peut vivre jusqu'à 500 ans, pour ses produits divers mais aussi pour sa résistance au manque d'eau donc le caroubier présente une bonne résistance à la sécheresse par ce qu'il a de fortes racines qui pénètrent dans le sol, pour atteindre une profondeur de 18 m ou même plus(Aafi, 1996 ; Gharnit, 2003).

### I.5.2. Feuille

Ses feuilles persistantes sont assez grandes (10 à 20 cm de longueur), composées de 4 à 10 folioles ovales ou elliptiques (3 à 7 cm de longueur) opposées, de couleur verte luisante à la face supérieure et vert pâle à la face inférieure (figure1). Le caroubier perd ses feuilles tous les deux ans, au mois de juillet (Aafi, 1996).



**Figure 1 :** Feuille de caroubier (*Benhamou et al., 2000*).

### **I.5.3. Fleurs**

Les fleurs sont petites et nombreuses, de 6 à 12 mm de long. Elles sont disposées en spirale le long de l'axe de l'inflorescence en grappes supportés sur des éperons de vieux bois et même sur le tronc. Ils sont pentamères et symétriques avec calice sans corolle placé sur un court pédoncule. Le calice est en forme de disque, vert rougeâtre et porte les nectars (*Tucker, 1992 ; Custodio et al., 2004*).

### **I.5.4. Fruit**

Les gousses sont brunes avec une surface ridée et sont coriace à maturité. La pulpe comprend une couche externe coriace (péricarpe) et plus douce région interne (mésocarpe). Les graines se trouvent dans la gousse transversalement, séparées par un mésocarpe (*Battle et Tous, 1997*).

### **I.5.5. Graines**

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

### **I.6. Usage de caroubier**

La gomme de caroube retient 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 sanguin. La gomme de caroube épaissit les rations sans modifier l'apport calorique et est très utile comme adjuvant des régimes amaigrissants (*Salvatore et al., 2018*), La poudre de caroube riche en (pectines, tanins, mannanes et galactanes) est efficace dans le traitement des diarrhées aiguës infantiles (*Berger, 1951*), l'arbre de caroubier est utilisée 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*).

Les fibres solubles de la pulpe de gousses peuvent avoir un effet préventif ou curatif sur la santé humaine et animale, grâce à la réduction du risque de thrombose par le biais de la diminution de pression sanguine et de la cholestérolémie ( *Beaggar et al., 1996*), le caroube est aussi utilisé dans le sirop de toux à cause de ses effets expectorant (*Merzouki et al.,1997 ;Amico et source,1997*), Les extraits aqueux antiathérogènes de fruits inhibent la peroxydation lipidique, l'inflammation et améliorent l'efflux de cholestérol(*Berrougui et al.,2008*).

La composition chimique de la farine de graines a été examinée, en particulier les lignanes. Les phytostérols détectés étaient le sécoisolaricirésinol, le lariciresinol, l'isolariciresinol et le pinorésinol (*Durazzo et al.,2014*),Les rats nourris avec de la poudre de gousse de caroube ont montré une amélioration du modèle osseux de l'ostéoporose chez le rat (*Sharaf et al.,2015*).

### **I.7. Composition chimique de caroubier**

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 graine est composée essentiellement d'antioxydants et de polysaccharides (galactose et mannose dans une proportion de 1 pour 4). Son embryon est riche en protéines (52 %) et en carbohydrates (27 %). Aussi, l'analyse de la composition chimique de la farine du germe du caroubier a montré une haute quantité d'acides aminés comme l'acide glutamique, l'acide aspartique et l'arginine (*Bengoechea, 2008*).

Les recherches scientifiques ont démontré que cette plante est riche en sucres (40-60%) en particulier, saccharose (27-40%), fructose (3-8%) et glucose (3-5%) qui sont considérés comme étant les sucres majeurs qui contribuent à la saveur des fruits (*Shaw, 1988*).

La composition chimique de la pulpe de gousses dépend en général de la variété, du climat, des techniques de cultures, de l'origine et parfois de la période de récolte (*Albanell et al., 1991; Petit et al., 1995*).

## **2. Pois chiche (*Cicer arietinum*)**

### 2.1. Taxonomie de *Cicer arietinum*

La classification de « *Cicer arietinum L.* » selon (*USDA, 2016*) est comme suit :

**Règne:** Plantae.

**Sous règne :** Tracheobionta (plantes vasculaires).

**Embranchement :** Spermatophyta (plantes à graines).

**Sous embranchement :** Magnoliophyta (=angiospermes, phanérogames ou plantes à fleurs).

**Classe :** Magnoliopsida (ou dicotylédone).

**Sous classe :** Rosidae.

**Ordre :** Fabales.

**Famille :** Fabacées.

**Genre :** Cicer.

**Espèce :** *Cicer arietinum L.*

**Nom commun :** Pois chiche.

### 2.2.Histoire et Origine

*Duschak, (1871)* a signalé que l'origine du mot *Cicer* est Hébreu « Kirkes », ou le mot « Kikar » désigne rond. Le mot « *arietinum* » est aussi latin, traduit du mot grec « Krios », une allusion à la forme des graines qui ressemblent à la tête de bélier (*Van Der , 1987*), Il est probablement originaire de l'actuel sud-est de la Turquie (*Ladizinsky, 1975*).

Le pois-chiche (*Cicer arietinum L*) est connu depuis la haute antiquité dans le bassin méditerranéen, dans le Sud – Est de l'Asie et en Inde (*Erroux, 1975*).

Cette légumineuse s'est diffusée progressivement vers l'ouest de la Méditerranée, ainsi qu'en Asie orientale et australe et en Afrique de l'Est (*Gordon, 2001*).

### 2.3. Répartition géographique

Actuellement, on peut distinguer trois grandes zones de production de pois chiche dans le monde, le bassin méditerranéen, le Sud de l'Asie et l'Amérique du Sud (*Bouchez, 1985*), En Algérie, le pois-chiche a été cultivé avant la colonisation, sauf qu'il a été difficile de le maîtriser (*Laumont et Chevassus, 1956 ; Labdi, 1990*), Pour des raisons historiques (colonialisme),

économiques et écologiques, Le pois chiche est localisé particulièrement dans les régions montagneuses et il est pratiqué Généralement en culture familiale comme c'est le cas dans la région de Tizi Ouzou (*Abdelguerfi-Laouar et al., 2001*).

#### 2.4. Types de cultivars chez le pois chiche

Deux groupe principaux sont distingués : les types kabuli et les types desi ; il existe également des cultivars intermédiaires. les variétés de types desi sont d'origine méditerranéenne (*Wang et al.,2005*).

##### 2.4.1. Type Kabuli ( Macrosperma)

Il est appelé aussi Garbanzo, caractérisé par un feuillage dont la couleur varie du vert clair au vert foncé et une floraison blanchâtre, Le type Kabuli se subdivise en deux sous-groupes, le gros Kabuli dont les grains ont un diamètre de 8 à 9 mm et un poids de mille grains variant de 410 à 490 g et le petit Kabuli dont les grains sont caractérisés par une forme plus régulière, un diamètre de l'ordre de 7 mm et un poids de mille grains de 265g environ (*Aac, 2004*).

##### 2.4.2. Type desi (Microsperma)

Plantes buissonnantes à folioles et fleurs relativement petites, à tiges contenant du pigment d'anthocyane violacé et à fleurs d'un bleu violet, cultivé surtout en Asie méridionale et en Ethiopie (*Brink et Belay, 2006*).

#### 2.5.Importance de pois chiche

La capacité symbiotique que possède le pois chiche d'utiliser l'azote atmosphérique pour sa croissance, le rend comme culture préférable de l'agriculture durable en réduisant la dépendance aux fertilisants azotés (*Babar et al., 2009 ; Khan et al., 2009 ; Hassan, 2006 ; Flandez- Galvez et al., 2003*).

Les graines de pois chiches brutes (100 g) fournissent en moyenne environ 5 mg de fer, 4,1 mg de zinc, 138 mg de magnésium et 160 mg de calcium. Environ 100 g de graines de pois chiche peuvent répondre aux besoins diététiques quotidiens en fer (1,05 mg / jour chez l'homme et 1,46 mg / j chez la femme) et en zinc (4,2 mg / j et 3,0 mg / j) alors que 200 g peuvent répondre aux besoins en magnésium (260 mg / j et 220 mg / j) (*Jukanti et al.,2012*),Le pois chiche est une bonne source de carbohydrates et des protéines qui constituent ensemble environ 80 % du poids sec de la graine. L'amidon est le principal carbohydrate chez le pois chiche. Les

acides gras majeurs chez le pois chiche sont les acides : linoléique, oléique et palmitique (*Ling et Robinson, 1976*).

## 2.6. Maladies et ravageurs de pois chiche

Cette culture est connue pour sa résistance à la sécheresse, mais sa contrainte majeure est sa sensibilité aux maladies, tout particulièrement L'antracnose ( Tableau I) (*Hawtin et Singh, 1984*).

**Tableau I : Maladies cryptogamiques et moyens de lutte (*Douici Khalifi, 2011*).**

Maladie	l'agent causal	Symptômes	Les moyens de lutte
L'antracnose	<i>Ascochyta rabiei</i>	Petite taches (1-2mm) de couleur brun rouge sur les feuilles et les tiges. Elles s'élargissent par la suite graduellement et deviennent nécrosées, souvent entourées d'une marge chlorotique jaune.	-La lutte contre les maladies fongiques doit viser à éviter l'introduction de l'organisme pathogène dans un champ sain ou à limiter le développement et la propagation de la maladie, si elle est présente. -Dans le
Rouille	<i>Uromyces Ciceris-arietini</i>	Apparaissent sous formes de plage, aux stades floraison et formation des gousses, taches noirâtres sur les tiges en fin de cycle.	cas où les conditions climatiques sont favorables au développement de la maladie, le recours à la protection chimique est
Flétrissement vasculaire	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>F.sp.ciceri</i>	Un flétrissement initial sur la partie foliaire supérieure. Les racines montrent	indispensable, mais elle doit intervenir avant que les tiges, les fleurs ou les

---

		un aspect sain, sans aucune pourriture visible, le collet montre une décoloration du système vasculaire	gousses montrent des symptômes. -La lutte chimique est basée essentiellement sur l'emploi de plusieurs matières actives antifongiques.
--	--	---	--

*Chapitre II*  
*Stress oxydatif*

### II.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre les niveaux d'oxydants et antioxydants en faveur des oxydants (*Yzydorczyk, 2011*). Le terme de stress oxydatif regroupe l'ensemble des altérations moléculaires et des manifestations pathologiques induites au sein d'un même organisme suite à une production accrue de radicaux libres et non contre carrées par les systèmes de défense antioxydants (*Kao et al., 2010*).

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires (*Haleng et al., 2007*).

#### II.1.2. Implication pathologique de stress oxydatif

De nombreuses pathologies, impliquant le stress oxydatif dans leur développement (voir tableau 2), ont été recensées. Outre les maladies cardio-vasculaires (oxydation des lipides) et le cancer (oxydation de l'ADN), c'est certainement dans le cadre du diabète (obésité, syndrome métabolique) que des avancées spectaculaires ont été réalisées au cours des dernières années. Plusieurs mécanismes pathogéniques conduisent à une augmentation du stress oxydatif et semblent impliqués dans l'apparition des complications du diabète (voir tableau II) (*Defraigne, 2005 ; Vincent et Taylor, 2006*).

**Tableau II :** Exemples de pathologie liés au stress oxydatif (*Helmut, 2013*).

Maladies où le stress oxydatif est la cause primordiale	Maladies où le stress oxydatif est le facteur déclencheur	Maladies entraînant un stress oxydatif secondaire
Cancers, Auto-immunité, Cataracte.	Maladie d'Alzheimer, Stérilité masculine, Rhumatismes, athéromes, asthmes.	Diabète, Insuffisance rénale, Maladie de Parkinson.

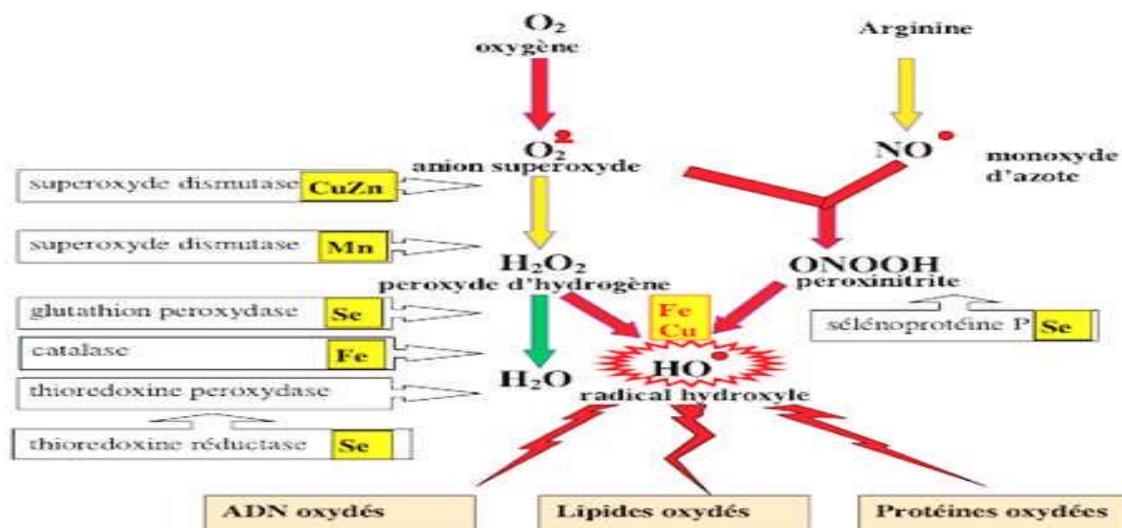
### II.2. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en céder un (agissant alors comme un réducteur). Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux ; ceci explique que la production d'un premier radical libre puisse causer d'importantes lésions dans une cellule (*Garait, 2006*).

Les radicaux libres se divisent en deux types : Primaires qui dérivent directement de l'oxygène et appelé (ROS) comme : le radical superoxyde  $O_2^-$ , radical hydroxyl  $OH$ , monoxyde d'azote  $NO$ , Secondaires comme : radical peroxy  $ROO$ , radical alkoxy  $RO$  (*Favier, 2003*).

### II.3. Antioxydant

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation pour former un composé stable (*ShimizuH, 2004*). Les espèces réactives d'oxygène (ERO) peuvent être très néfastes pour l'organisme. Il existe donc un système de défense contre les ERO, soit les antioxydants qui peuvent être classifiés en deux catégories : les antioxydants non enzymatiques et les antioxydants enzymatiques (figure 2) (*Roy,2008*).



**Figure 2:** Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (*Favier, 2003*).

#### II.3.1. Antioxydants enzymatiques

L'organisme se défend contre les radicaux en synthétisant des enzymes qui les neutralisent. Les principales enzymes antioxydants sont la su peroxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase(Vincent *et al.*, 2004).

### II.3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Superoxyde dismutase (SOD) éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Sarvajeet et Narendra, 2010; Favier et Goudable, 1997),Elles permettent d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à distance. La synthèse des SOD subit un rétrocontrôle négatif par les fortes concentrations de peroxyde d'hydrogène (Favier et Goudable, 1997).

### II.3.1.2. Catalase

La catalase est une enzyme métamérique qui catalyse la réduction de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en O<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O (Yzydorczyk, 2011 ; Sarvajeet et Narendra, 2010).

### II.3.1.3. Glutathion peroxydase (Gpx)

La glutathion peroxydase (Gpx) est une enzyme antioxydant présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries (Massât, 2011 ; Auberval, 2010 ; Belkheiri, 2010 ; Favier et Goudable, 1997).

L'action des glutathions peroxydases (Gpx) dépendent aussi de la disponibilité en GSH, GR et en NADPH, ce qui démontre bien que le système antioxydant endogène agit en interdépendance (Massart, 2011).

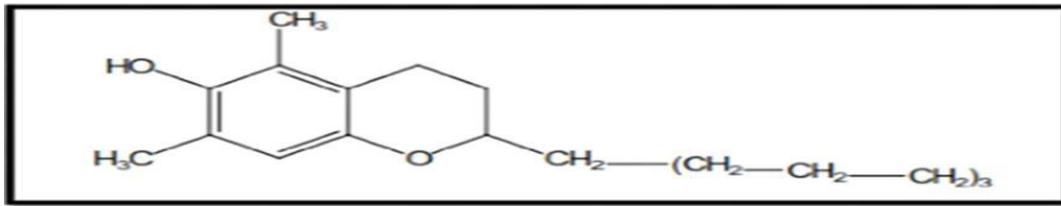
## II.3.2.Antioxydants non enzymatique

Différentes molécules de faibles poids moléculaires, liposolubles ou hydrosolubles, possédant souvent un groupement thiol, contribuent à la complémentarité des défenses antioxydants de l'organisme. Les composés hydrosolubles sont principalement représentés par le glutathion, l'acide ascorbique (vitamine C), l'acide urique et la bilirubine tandis que les antioxydants liposolubles sont représentés principalement par la vitamine E et le coenzyme Q10, l'albumine et les protéines liant les métaux peuvent également avoir des effets antioxydants consistants (Yzydorczyk,2011).

### II.3.2.1.Vitamines

#### ➤ Vitamine E

La vitamine E est le nom collectif d'un ensemble de huit tocophérols et tocotriénols connexes (figure 3), qui sont les vitamines liposolubles ayant des propriétés antioxydant. Il a été prétendu que la forme  $\alpha$ -tocophérol est le plus important antioxydant liposoluble et qu'il protège les membranes de l'oxydation par réaction avec les radicaux lipidiques produits dans la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique.(Hamid *et al.*, 2010)..



**Figure 3:** Structure de la vitamine E (*Diarra, 2006*)

### ➤ Vitamine C ou acide L-ascorbique

L'acide ascorbique ou "vitamine C" est un antioxydant monosaccharide trouvé chez les animaux et les plantes. Comme l'une des enzymes nécessaires à la fabrication d'acide ascorbique a été perdue par mutation au cours de l'évolution humaine, il doit être obtenu à partir du régime alimentaire. L'acide ascorbique est un agent réducteur et peut réduire et ainsi neutraliser les espèces réactives de l'oxygène tel que le peroxyde d'hydrogène (*Laguerre et al., 2007*).

#### II.3.2.2. Polyphénols

L'expression de « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles. Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéiques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B. par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique (*Bloor, 2001*).

#### II.3.2.3. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des métabolites secondaires, c'est-à-dire des composés synthétisés par le végétal et ainsi nommés car supposés ne pas avoir un rôle essentiel dans leur métabolisme principal. Ce sont des pigments photosynthétiques d'apparence orangée ou jaune, liposolubles, appartenant à la famille des terpénoïdes (*Jean Baptiste, 2009*).

#### II.3.2.4. Flavonoïde

Les flavonoïdes préviennent l'oxydation des lipides et l'athérosclérose.



Ils agissent principalement comme piègeurs de radicaux libres tels que le DPPH<sup>°</sup>, le superoxyde et le peroxyde d'hydrogène, ou encore comme chélateurs de métaux (*Nijveldt et al., 2001*).

#### II.3.2.5. Tannins

Les tannins sont révélés très efficaces pour réduire les ions métalliques et empêcher la peroxydation des lipides dans les microsomes et les mitochondries du foie. Ils sont également dotés d'une activité scavenger du radical DPPH° et de l'anion superoxyde (*Okuda, 2005*).

*Chapitre III :*  
*Métabolites secondaires*

### III.1. Métabolites secondaires

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

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

### III.2.Composés phénoliques

#### III.2.1.Définition des composés phénoliques

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe poly phénolique considérés. Ces composés regroupent une multitude de molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal (*Akroum,2011*).

Les composés phénoliques sont constitués d'un noyau aromatique comportant une ou plusieurs fonctions hydroxyles .ainsi que des groupes fonctionnels(ester, méthyl ester, glycoside, etc.). Il existe quatre grandes classes : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les stilbènes et les lignanes (*Leitao,2011*).

#### II.2.2.Classification des composés phénoliques

La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire, et ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone , en fonction de la nature de leur squelette carboné et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique, les composés phénoliques sont capables de se conjuguer à des oses ou des acides organiques: de ce fait, on peut les retrouver très souvent présents sous ces formes(*Chira et al., 2008*).

#### III.2.2.1. Acides phénoliques

Le terme acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant une fonction carboxylique et un groupe hydroxyle phénolique (Mokrini, 2006). Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts que sont les acides hydroxy benzoïques (C6-C1) et les acides hydroxy cinnamiques (C6-C3) (Nkhili, 2009).

➤ **Acides hydroxy benzoïques**

Les acides hydroxy benzoïques présentent une structure en C6-C1 (Figure 04), composée d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone. On trouve l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique, l'acide gallique, le principal composé est l'acide gallique (Chira et al., 2008)

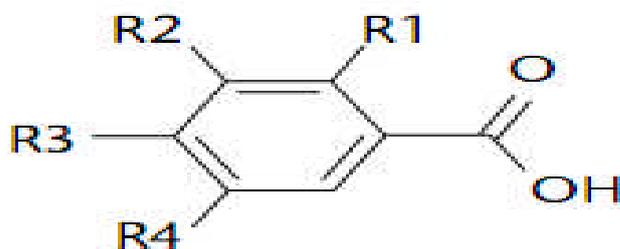


Figure 4 : Structure des acides hydroxy benzoïques (Laguerre et al., 2007).

➤ **Acides hydroxy cinnamiques**

Le squelette de base des acides hydroxy cinnamiques (figure 05) est un noyau benzénique avec une chaîne aliphatique à 3 carbones, avec un ou plusieurs groupements hydroxyles souvent estérifiés en esters d'alcool aliphatique. Les acides hydroxy cinnamiques communs sont les acides caféique, p-coumarique, férulique et sinapique (Chira et al., 2008).

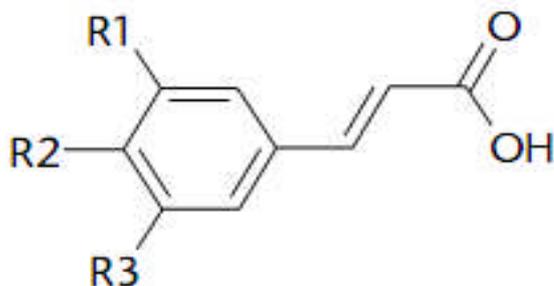
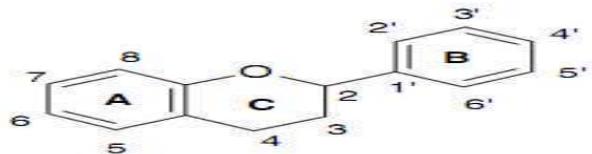


Figure 5: Structure des acides hydroxy cinnamiques (Laguerre et al., 2007).

### III.2.2.2. Flavonoïdes

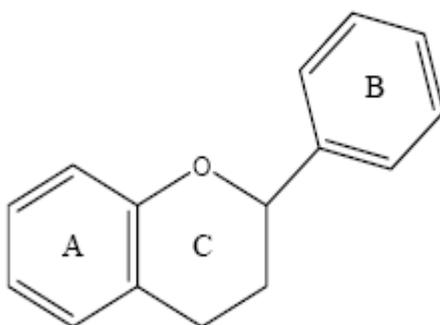
Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides (figure 6). On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (*Marfak, 2003*), Les flavonoïdes y compris flavones, les flavonols, flavanones, flavanonols, et anthocyanines (*Lee et al., 2004*)



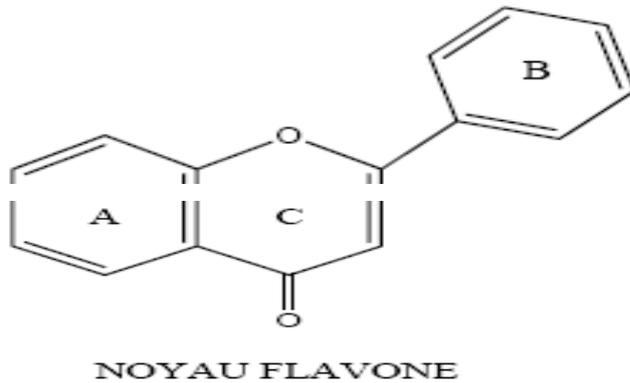
**Figure 6:** Structure de base des flavonoïdes(*Balasundram et al., 2006*).

- **Classification des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont classés selon plusieurs critères : présence ou non d'une double liaison en position 2, et présence ou non d'un groupement hydroxyle en position 3. Des groupements hydroxyles peuvent le plus souvent se situer en position 2', 3', 4' et 5' ainsi qu'en position 5 et 7 (figure 7). Les isoflavones proviennent d'une transposition du noyau aromatique (du carbone C2 Vers le carbone C3); Les flavones et flavonols d'une oxydation (formation de la double liaison sur le Cycle C) respectivement des flavanones et des dihydro flavonols (*Fiorucci, 2006*).



NOYAU FLAVANE



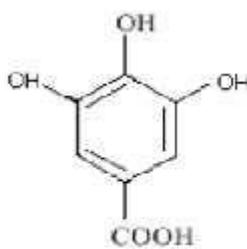
**Figure 7:** Structure de base d'un flavane et d'un flavone (*Elicoh-Middleton, 2000*).

### III.2.2.3. Tanins

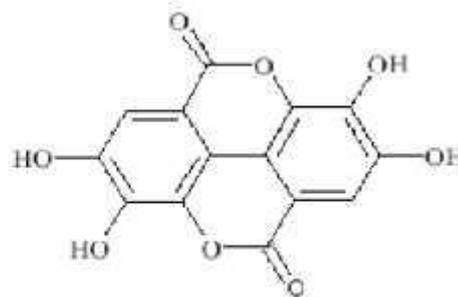
Ce sont des formes phénoliques condensées ayant une masse moléculaire élevée allant de 500 à 3000 Dalton (*Guignard, 2000*). On distingue deux grands groupes de tanins, différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition: les tanins hydrolysables et les tanins condensés (*Macheix et al., 2006*).

#### ➤ Tannins hydrolysables (THs)

Ce sont des polyphénols, mais ne font pas partie des flavonoïdes. Ils sont dits "galliques" s'ils portent comme acide phénol l'acide gallique, et "ellagiques" (figure 8), s'ils portent comme acide phénol l'acide hexa hydroxy diphénique (*Tsumbu, 2012*).



L'acide gallique



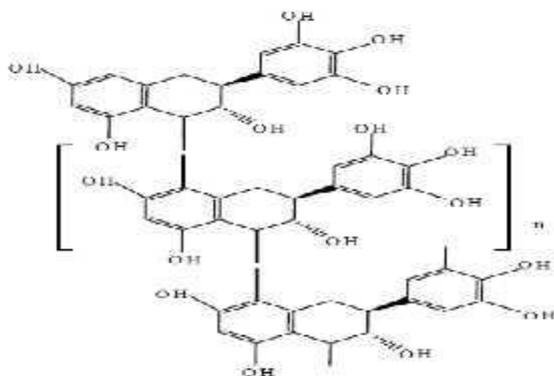
L'acide ellagique

**Figure 8:** Structure de l'acide gallique et l'acide ellagique (*Naczka et Shahidi, 2004*).

#### ➤ Tannins condensés (TCs)

Pro anthocyanidines : ce sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5 desoxy-3-flavonols et flavan-3,4-diols (Figure 9). Les polymères donnent une structure hérissée d'OH

phénoliques capable de former des liaisons stables avec les protéines (*Montenegro de Matta et al., 1976 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006*).



**Figure 9:** structure d'un tanin condensé (*Macheix et al., 2006*).

#### III.2.2.4. Anthocyanes

Ces composés phénoliques se caractérisent par une génine comportant un noyau flavylum ou cation 2-phénylbenzo-pyrylium. Il s'agit de pigments existant sous forme d'hétérosides stables et hydrosolubles responsables de la coloration rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette de la plupart des fleurs et fruits (*Derbel et Ghedira, 2005*).

#### III.2.3. Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques ont longtemps été considérés comme n'ayant aucun rôle précis pour la plante. Cependant, sont importants, notamment pour la protection de la plante contre les rayons ultraviolets (UV). Une autre propriété intéressante des composés phénoliques, plus particulièrement ceux de la classe des flavonoïdes, est leur facilité à céder un électron (*Boutour, 2011*).

Les différentes propriétés biologiques des composés phénoliques ( tableau III )

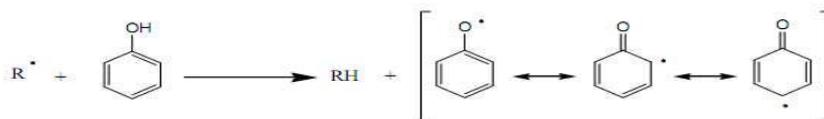
**Tableau III :** Propriétés biologiques des composés phénoliques.

Composés phénolique	Propriétés biologiques	Références
Les acides phénoliques	-Propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés salicylés. -Propriétés anti tumorales, activités antioxydants et anti radicalaires.	<i>Ekoumou, (2003)</i> <i>Hennebelle et al., (2004)</i>

#### III.2.4. Mécanisme d'action des composés phénoliques

Flavonoïdes	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Prévention des cancers, inflammations et allergies.</li> <li>-Activité chélatrice des métaux.</li> <li>-Protecteurs vasculaires et veinotoniques.</li> <li>-Inhibent l'adhésion et l'agrégation plaquettaire.</li> <li>- Activités anti hypertensive, antibactérienne, antivirale et anti hépatotoxique.</li> </ul>	<p><i>Curtay et Robin, (2000)</i>  <i>Ekoumou, (2003)</i>  <i>JiangrongetYueming, (2007)</i></p>
Tannins	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Fonctions antibactérienne, anti tumorales, antivirale et antimutagène.</li> <li>-Activités cardio protectrice, anti-inflammatoire et anti-thrombotique.</li> </ul>	<p><i>Luthar, (1992)</i>  <i>Derbel et Ghedira, (2005)</i></p>

Le processus d'oxydation est de type radicalaire : les antioxydants vont intervenir comme "capteurs" de radicaux libres. Les antioxydants de type phénolique réagissent selon un mécanisme (figure10).cèdent formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus ou moins rapidement, par un transfert de proton, pour donner un intermédiaire radical stabilisé par ses structures mésomères conjuguées (*Portes, 2008*).



**Figure 10:**Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques(*Portes, 2008*).

*Approche expérimentale*

## **1. Procédé de l'extraction**

### **I.1. Macération aqueuse**

Extraction par macération : Pour extraire les polyphénols de différentes parties par macération, nous avons opté pour le protocole décrit par (*Romani et al.,2006*) en y apportant quelques modifications : 10 à 30 g de la poudre sont macérés à température ambiante pendant 2,5 h (deux fois) avec 100 ml de solutions aqueuses des solvants : éthanol, acétone, méthanol à 70 % v/v et eau. Après filtration sur un tissu mousseline, les filtrats sont centrifugés pendant 20 min à 4000 t/min à température ambiante, filtrés sur papier filtre N° 1 et conservés à 4 °C jusqu'à utilisation.

### **I.2. Détermination du rendement d'extraction**

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par (*Falleh et al.,2008*) :

$R (\%) = 100 M_{ext}/M_{éch}$ . Où :

R est le rendement en %.

$M_{ext}$  est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg .

$M_{éch}$  est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

### **I.3. Détection des composés phénoliques et des flavonoïdes**

Le but de ces tests est la mise en évidence des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les six solutions aqueuses obtenues (après l'évaporation et avant l'étuvage).

Le protocole de chaque test est comme suit :

#### **I.3.1. Détection des composés phénoliques (Réaction au FeCl<sub>3</sub>)**

Polyphénols totaux : Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (FC) (*Boizot et Charpentier,2006*) .

100 µl d'extrait sont mélangés avec 500 µl du réactif FC et 400 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7,5 % (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant dix minutes et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

### **I.3.2. Mise en évidence des flavonoïdes**

La mise en évidence des flavonoïdes a été effectuée selon le protocole décrit par (*Békro et al., 2007*) en y apportant quelques modifications. 2 mL de chaque phase aqueuse obtenue après chaque méthode d'extraction, ont été placés dans un tube à essai contenant de l'alcool chlorhydrique (4 mL éthanol + 1 mL HCl concentré). Après ajout de 2 ou 3 copeaux de magnésium et l'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique, l'intensification d'une coloration rose-orange ou violacée a indiqué la présence de flavonoïdes.

### **I.4. Préparation des solutions**

Les extraits secs ont été pesés et dissous dans de l'eau distillée afin d'avoir des solutions aqueuses d'une concentration de 1 mg/mL pour tous les échantillons.

### **I.5. Dosage spectrophotométrique des flavonoïdes totaux**

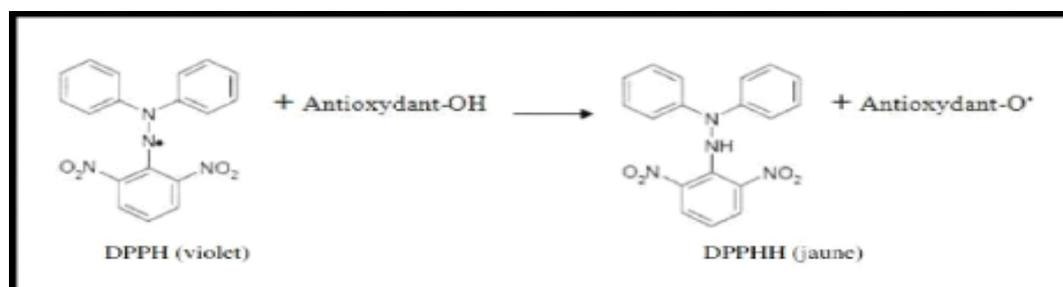
La méthode de (*Marinova et al., 2005*) a été utilisée pour le dosage des flavonoïdes totaux. Dans une fiole de 25 mL, 0,75 mL de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 5% (m/v) a été ajouté à 2,5 mL d'extrait. Le mélange a été additionné de 0,75 mL de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 10% (m/v), puis incubé pendant 6 minutes à l'obscurité. Après l'incubation, 5 mL de soude ( $\text{NaOH}$ , 1N) ont été ajoutés puis le volume a été complété à 25 mL. Le mélange a été agité vigoureusement avant d'être dosé au spectrophotomètre, La lecture a été faite à 510 nm. Les essais ont été réalisés en triple. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme par litre d'extrait équivalent quercétine (mg EQ /mL).

## **II. Activité Antioxydante**

### **II.1. Principe du test de DPPH**

La méthode de (*Blois ,1958*) a été utilisée avec quelques modifications pour la détermination du potentiel antioxydant. Cette méthode consiste à mesurer l'activité anti radicalaire par la technique de piégeage du radical au DPPH (2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazyl) (figure 11). Le DPPH, ( $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$  ; PM= 394,33), est un radical libre stable soluble dans le méthanol (ou éthanol). D'une couleur violette intense, il présente un maximum

d'absorbance à 517 nm. Lorsqu'une molécule antioxydante réduit le radical DPPH, la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle.



**Figure11** :Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) (Congo, 2012).

## II.2.Réduction du radical libre DPPH par dosage spectrophotométrie

### II.3.Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH

L'activité antioxydante des extraits *in vitro* a été testée selon la méthode de (Blois,1958) a été utilisée avec quelques modifications. Le test est effectué selon les étapes suivantes :

#### II.3.1.Préparation des extraits et de l'acide ascorbique

Les extraits aqueux secs et l'acide ascorbique (antioxydant de référence) dissous dans le méthanol à une concentration de 1 mg/mL ont été dilués à différentes concentrations croissantes (0,025-0,05-0,1-0,2-0,3 mg/mL).

#### II.3.2.Préparation de la solution de DPPH

Le DPPH a été solubilisé dans le méthanol absolu pour avoir une solution d'une concentration de  $6,34 \cdot 10^{-5}$  M (0,0025g DPPH dans 100 mL méthanol), La solution obtenue a été conservée à l'abri de la lumière.

#### II.3.3.Détermination du potentiel antioxydant

Le pouvoir anti radicalaire, par la neutralisation du radical DPPH, de l'extrait est évalué selon la méthode décrite par (Brand-Williams *et al.*, 1995), légèrement modifiée par (Lim *et al.*, 2007). Pour 500 $\mu$ l d'extrait, 2ml de DPPH (0.06mg/ml) sont ajoutés. Après une incubation de 30 minutes à l'abri de la lumière, l'absorbance de l'extrait est mesurée à 517nm.

Le pouvoir anti radicalaire de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical :

**DPPH : PI % = [(Abs Témoin – Abs Extrait) / Abs Témoin] ×100** D'où :

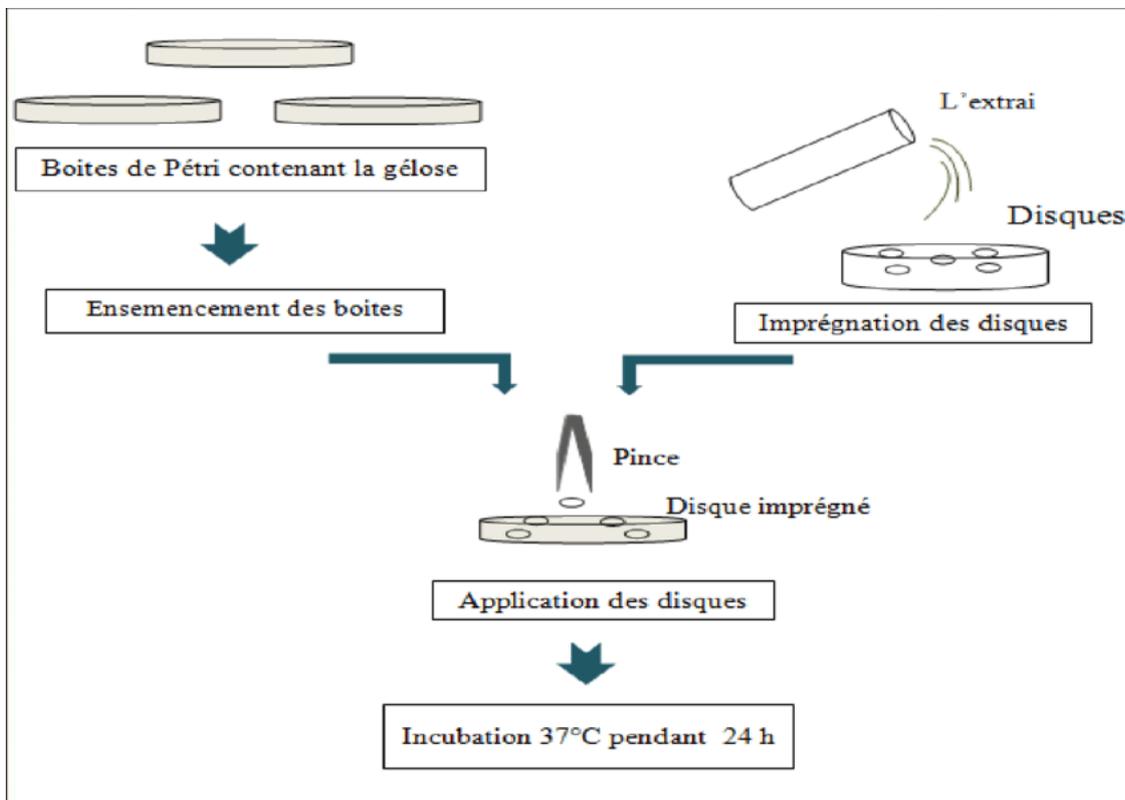
**Abs Témoin :** Absorbance du Témoin après 30 minutes à 517 nm.

**Abs Extrait :** Absorbance de l'extrait après 30 minutes à 517 nm.

### III. Activité antimicrobienne

#### III.1. Activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne nous avons utilisés la méthode d'aromatogramme (figure 12).



**Figure 12 :** protocole de l'activité antibactérienne (*Boudjelal, 2013* )

Cette manipulation comporte les étapes suivantes :

- ✓ Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton (M.H) préparé comme suit : Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

- ✓ Les extraits ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives, sachant que la concentration de la solution mère.
- ✓ Préparation d'inoculum Les souches bactériennes misent en culture dans le bouillant nutritif et incubées à 37°C pendant 48h.
- ✓ Préparation des disques.
- ✓ Préparer les disques de papier filtre de 6 mm de diamètre (Wattman N° 1),
- ✓ Stériliser les disques à l'autoclave, à 120°C pendant 20 minutes.

### **III.1.1. Test de l'activité antibactérienne**

- ✓ 1ml de chaque suspension de culture bactérienne est étalé à la surface du milieu gélosé M.H à l'aide d'un râteau.
- ✓ Les disques imprégnés des extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.
- ✓ De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant les témoins positifs (Ac Ascorbique et la Quercétine) ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés et les disques imprégnés de DMSO (témoin négatif).
- ✓ Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C. L'expérience est répétée trois fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne.

### **III.1.2. Lecture des résultats**

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (*Ponce et al., 2003*).

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

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

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

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

## **III.2. Activité antifongique**

### **III.2.1. Souches utilisées**

L'activité antifongique des extraits méthanoliques de deux légumineuses sur deux souches fongiques (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*) et une levure (*Candida albicans*) a été testée en utilisant la méthode de diffusion de disque, Le milieu de culture utilisé est potato-dextrose Agar (PDA) pour les souches fongiques et sabouraud-dextrose Agar (SDA) pour la levure.

### **III.2.2. Méthode de diffusion de disque**

Tout d'abord, l'activité antimicrobienne a été déterminée par la méthode de diffusion de disque (Nccls, 1997). En bref, 100 µl de suspension contenant 10<sup>6</sup> CFU/ml de cellules microbiennes, ont été étalées sur des boîtes de pétri contenant PDA ou SDA. Les disques (6 mm de diamètre) ont été séparément imprégnés avec 15 µl de divers extraits et placés sur la gélose qui a déjà été inoculée avec le micro-organisme sélectionné. Un disque d'antibiotique de référence approprié a été appliqué sur chaque boîte de pétri (Amphotricine B 20 µg/disc); il a servi comme contrôle positif efficace contre les trois espèces microbiennes. Des disques vierges ont été utilisés comme contrôle négatif. Les boîtes ont été conservées à 4 °C pendant 1 h. Puis, elles ont été incubées pendant 48h à 30°C. L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de croissance en millimètres (y compris le diamètre du disque de 6 mm).

*Conclusion*

## Conclusion

En Algérie, les légumineuses alimentaires occupent une place importante dans les systèmes de cultures et dans l'alimentation de la population. La production reste assez faible et les importations sont en pleine croissance.

La présente étude a permis de mettre en évidence les activités biologiques d'extrait des graines et des gousses de deux types de légumineuses alimentaires le caroubier (*Ceratonia siliqua* L) et le pois chiche (*Cicer arietinum*).

La technique utilisée pour estimer l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et aqueux est la méthode de DPPH *in vitro*.

Le test de l'activité anti bactérienne des extraits est effectué par la méthode de diffusion de disques.

Le test de l'activité antifongique par la méthode de diffusion de disque, L'étude de l'activité antifongique est réalisés sur deux souches fongiques (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*) et une levure (*Candida albicans*).

L'évaluation qualitative de l'effet antibactérien de *ceratonia siliqua* à montré que tous les extraits hydro alcooliques et aqueux sont actifs sur toutes les souches bactériennes, l'extrait des gousses estimé d'une activité anti bactérienne importante vis-à-vis d'*E.coli* malgré un potentiel de résistance très élevé et moins actif contre les souches de *B. subtilus* et *Staphylococcus*. Pour l'extrait des graines nous avons observés qu'il possède un effet d'inhibition vis-à-vis de *staphylococcus aureus* et il est moins actif contre *B.subtilus* et *E.coli*.

D'après les résultats obtenus, les extraits testés sont pourvues d'une activité antioxydante intéressante, Les extraits de *Ceratonia siliqua* sont des antifongiques naturels efficaces qui pourraient être utilisés par l'industrie des fongicides.

L'extrait de métabolite secondaire de *Cicer arietinum* révèlent que l'activité inhibitrice croit au fur et à mesure que la concentration augmente.

D'après les résultats de dosage de l'activité antioxydante l'extrait de *cicer arietinum* doté d'une forte activité antioxydante .

## *Références bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- Aac.** (2004). Pois chiche. Situation et perspectives. Le bulletin bimensuel. 17(15). 4 p 2.
- Aafi A.** (1996). Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*), Centre Nationale de la Recherche Forestière, Rabat (Maroc), pp. 10.
- Abdelguerfi-Laouar M., Zine F., Bouzid L., Laib M. et Kadri A.,** (2001). Caractérisation préliminaire de quelques cultivars de *Cicer arietinum L.* collectés dans la région de Tizi Ouzou. Revue INRAA n°7, P :51-65.
- Akhtar Ayyub M.**(2001).Evaluation of chickpea germplasm, fungitoxicant, organic and inorganic material for the management of wilt *Fusarium oxysporum f. sp ciceris*.Thèse de Doctorat. Université de l’agriculture, Faisalabad, Pakistan; 132 p.
- Akroum, S.** (2011). Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels, thèse de doctorat, l’université de Constantine.1-112.
- Albanell E., Caja G., et Plaixats J.** (1991).Characterization of Spanish carob pod and nutritive value of carob kibbles. Options méditerranéennes 16, pp : 135- 136.
- Alexandrakis V., Neuenschwander P.**(1979). Influence de la poussière des chemins sur *Aspidiotus nerii Bouché* (Hom. Diaspididae) et son parasite principal *Aphytis chilensis* How. (Hym. Aphelinidae) observés sur olivier. Ann. Zool. Ecol. anim., 11, 171-184.
- Amico,f.p.and E.G.**(1997).Medical plants and phytotherapy in mussomeli area ( caltenisseta scily,Italy ). Fitoterapia ,68:143-159.
- Anses.**(2016). Rapport d’expertise collective. Actualisation des repères du PNNS : révision des repères de consommation alimentaires.
- Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui A et Khebri S.**(2010).Activité antioxydante et antimicrobienne d’extraits de *cuminum cyminum L.*Lebanese Science Journal 11, 69-81.
- Auberval, N.** (2010). Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d’origine naturelle. Thèse de doctorat.1-244.
- Avallone R, Plessi M., Baraldi M. and Monzani A.** (1997).Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua L.*):Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins, Journal of food composition and analysis, Vol.10, pp.166–172.

### B

**Babar, B. M., Shah, T. M., Abbas, G. and Ahsanulhaq, M. (2009).** Genotype X environment interaction for seed yield in Kabuli chickpea (*Cicer arietinum L*) genotypes developed through mutation breeding. Pakistan Journal of Botany., 4 : 1883-1890.

**Bacha F. et Ounane S. M.(2003).** Etude de l'effet de stress hydrique sur les activités des enzymes nitrate réductase et nitrogénase de la culture du pois chiche (*Cicer arietinum L*) .Institut National de la recherche agronomique d'Algérie. 13:1111-1992.

**Balachowsky A. S.(1948).** Les Cochenilles de France, d'Europe, du Nord de l'Afrique et du Bassin méditerranéen. IV. Monographie des *Coccoidea-Diaspidinae* 11 partie, 40-43. Hermann et Cie, Paris.

**Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006).** Phenolic compound in plants and agri-industrial by-products Antioxidant activity, occurrence and potential uses. Food Chemistry, 99:191-203.

**Baljeet, S.Y., Ritika, B.Y et Reena, K. (2014).** "Effect of incorporation of carrot pomace powder and germinated chickpea flour on the quality characteristics of biscuits. "International Food Research Journal, ( 21), 217–222.

**Battle I. (1997).** Current situation and possibilities of development of the carob tree (*Ceratonia siliqua L.*) in the Mediterranean region. Unpublished FAO Report. Rome. Italy.

**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.

**Beaggar M., Andersen O., Neilsen J. D. et Rytting K. L.( 1996).** Dietary fibre reduces blood pressure serum total cholesterol and platelet aggregation in rats. British Journal Nutrition 75: pp: 483- 493.

**Békro YA., Boua BB., Bi FHT., Ehile EE.(2007).** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (*Caesalpinaceae*). Sciences et Nature ;4:217.

**Belkheiri, N.(2010).** Dérivées phénoliques à activités antiathérogènes. Thèse de doctorat, l'université de Toulouse.1-193.

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

**Ben Hsouna A, Trigui M, Ben Mansour R, et al .(2011).** Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Ceratonia siliqua* essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat. *Int J Food Microbio* 148:66–72.

**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.

**Bendini., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., Gómez-Caravaca A ., Segura- Carretero A., Fernández-Gutiérrez A and Lercker G.(2007).** Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade, *Molecules* 12, 1679-1719.

**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.

**Berger H .(1951).** Locust bean, *Ceratonia siliqua*, a new dietetic remedy; antidiarrheal properties of carob meal and clinical use of carob bean meal for inspissation. *Med Welt* 20:665–9.

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

**Berrougui, H., Loued, S., Elghmari, A., Bouadili, A., Haddadi, B., Khalil, A .(2008).** *Chem.Phys. Lipids* 154, S53-S54.

**Bezanger-Beauquesne L., M. Pinkas., M. Torck et F. Trotin. (1990).** *Plantes médicinales xx des régions tempérées. 2 ème édition.* Maloine. Paris. pp:183-184.

**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.

**Blois MS,(1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 26 1199.

**Bloor S. J. (2001).** *Method. Enzymol*, 335,3-14.

**Boizot N. et J-P. Charpentier. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cah. Tech. INRA. N°. special. pp. 79-82.

**Bolonos.(1955).**Rapport le caroubier.instituto forestal de investigaciones y experiencias .madrid ( Espagne ) pp :9.

**Bouchez C.(1985).** Perspectives de développement de la culture du pois – chiche (*Cicer arietinum L.*) dans le bassin méditerranéen. Mémoire de DAA, ENSA Montpellier.

**Boudjelal Y :** phytochemical Screening and antimicrobial activity of the leaves and bark of *Juglans regia* Linn (pdf), Disponible sur :<https://www.researchgate.net/protocole-du-test-de-lactivite-antimicrobienne-des-extraits-de-juglans-figure-6>,page consultées le 21/10/2020.

**Boudy p.(1950).** Economie forestière nord africain, tome II : monographie et traitement des essences forestières ,edlarose, paris , pp.443-445.

**Boutour, M. (2011).** Protection contre le stress photo oxydant chez des feuilles d'érable argenté (*Acer Saccharinum*) grâce à l'oxydation de composés phénoliques caractérisés par voltammétrie cyclique. Thèse de doctorat, l'université de Québec.1-75.

**Bouzouita, N., Khaldi, A., Zgoulli, S., Cheli, L., Chekki, R., Chaabouni, M. M. and Thonart, P. (2007).**The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia.Food Chem. 101. 1508 – 1515. **Brandwilliams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT – Food Sci. Technol. 28, 25–30.

**Brink M., Belay G. (2006).** Ressource végétales de l'Afrique tropicale 1 céréales et légumes secs. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas/Backuys Publishers, Leiden, Pays-Bas/ CTA, Wageningen, Pays-Bas: 328 pp.

### C

**Calixto FS, Canellas J.(1982).**Components of nutritional interest carob pods *Ceratonia siliqua*. J Sci Food Agric 33:1319–2Carcea, M., Food Chem., 2014, 153, 109-113.

**Chebli B., Achouri M., IdrissiHassani L.M.,Hmamouchi. M.(2003).** Chemical composition and fungicidal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea*. - J.Ethnopharmacol.89, 165-169.

**Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., Teissédre, P. I. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6 : 75-82.

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

**Congo M.( 2012).** Etude des propriétés anti radicalaire et anti proliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L.* (Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42p.

**Curtay J.P., Robin J.M. (2000).**Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie INF*.1-4.

**Custodio L., Carneiro M.F. et Romano A.( 2004).** Microsporogenesis and another culture in carob tree (*Ceratonia siliqua L.*).*ScientiaHorticultirae*, 104 (1): 65-77.

### D

**D. Makris, P.(2004)** .Kefalas. CarobPods (*Ceratonia siliqua L*) as a Source of Polyphenolic Antioxidants. *Food Technol. Biotechnol.* 42 (2) 105–108.

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

**Davidson J. A., Pande S., Bretag T. W., Lindbeck K. D. et Kishore G. K.(2004).** Biology and management of Botrytis spp. in legume crops. In: Elad Y, Williamson B, Tudzynski P, Delen N (Eds). *Botrytis: Biology, Pathology and Control* .Kluwer Academic Publishers, Netherlands. pp: 295-318.

**Defraigne J-O.(2005).** Un mécanisme physiopathologique central à l'origine des complications du diabète ? *Rev Med Liege*, 60, 472-478.

**Derbel, S., et Ghedira, K. (2005).** Les phyto nutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie* numéro1 :28-34.

**Diallo.A.(2005)** . Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium*

**Diarra Y.(2006).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *acanthospermumhispidum dc.* (astraracea ) et *curculigopilosaschum .et thonn.*(hypoxidaceae), deux plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertrophie benigne de la prostate(hbp). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : p47.disease in a defined population :the Hisayama study, *Stroke*,35 (9).

**Djeridane A .Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. (2006).**Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds.97, 654–660.doctorat, l'université de Liège.1-126.

**Douici-khalfi A .(2011).** Maladie fongique du pois chiche et de la lentille , institut technique des grandes cultures :8p7.

**Duranti, M. (2006).** Grain legume proteins and Nutraceuticals properties .Fitoterapia, 77: 67 – 82.

### *E*

**Ekoumou C. (2003).**Etude phytochimique et pharmacologique de cinq recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse de doctorat en pharmacie.

**El-Haskoury, R., Zizi , S., Touzani, S., Al-Waili, N., Al-Ghamdi, Durazzo, A., Turfani, V., Narducci, V., Azzini, E., Maiani, G., Sharaf, H. A., Shaffie, N. M., Morsy, F. A., Badawi, M. A., Abbas.(2015).** Arab Soc. Med. Res,10, 65–75.

**Elicoh-Middleton Jr.,Chithan K., Theoharis C. (2000).**Effect of plant flavonoids on Mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. Pharmacology And Experimental therapeutics 4, 673-751.

**Ellis R.H. et al.(1990).**Towards the reliable prediction of time to flowering in six annual crops. V. Chickpea. Exp. Agric., 30, 271-282.

**ElmastasM.,Isildaka O., Turkekulb I., Temura N. (2007).**Determination ofAntioxidantactivity and antioxidant compounds in,wildediblemushrooms Journal of Food Composition and Analysis20, 337–345

**Erroux J.( 1975).**Agronomie méditerranéenne. Le milieu méditerranéen et ses problèmes. Les cultures Verviers en Algérie, Tome I.

### *F*

**Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimentale dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Actualité Chimique, 11:108-115.

**Favier, A., et Goudable, J. (1997).** Radicaux libre oxygénés et anti oxydants. NutreclinMétabol,11 :115-120.

**Falleh,H, R. Ksouri, K. Chaieb, N. Karray-Bouraoui, N. Trabelsi, M. Boulaaba and C. Abdelly.** Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities. Compt. Rend. Biol. Vol. 331. (2008). pp. 372-379.

**Flandez- Galvez, H., Ford, R., Pang, E. C. K. and Taylor, P.W. J. (2003).**An interspecific linkage map of the chickpea (*Cicer arietinum L*) genome based on sequence tagged microsatellite site and resistance gene analog markers. *Theoretical Applied in Genetics.*, 1447 – 1456.

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

### G

**Garait, B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régime alimentaire) au par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin. Thèse de doctorat, l'université de Joseph Fourier.1-203.

**Gaur P.M., Samineni S., Krishnamurthy L., Varshney R.K., Kumar S., Ghanem, M.E., Nayyar H.(2014).** High temperature tolerance in grain legumes. Girma F. and Haile D. 2014. Effects of supplemental irrigation on physiological parameters and yield of faba bean (*Vicia faba L.*) varieties in the highlands of Bale, Ethiopia. *Journal of Agronomy*, 13: 29-34.

**Gharnit N.(2003).** Caractérisation et essai de régénération *in vivo* du caoubier (*Ceratonia siliqua L.*) originaire de la province de chefchaouen (Nord-ouest du Maroc). Thèse de Doctorat en science. Université Abdelmalek Essaadi. Tanger.

**Gilbert G. et Boutique R. 1952, 1953,1954.**Mimosaceae et Papillionaceae, in Flore du Congo belge et du Ruanda Urundi vol III, P (167-227) ; vol IV P30 ; vol V p(11-36) Publ. I.N.E.A.C. édit. Bruxelles. Jard. Bot .

**Girard C.(1985).** L'installation du pois chiche de printemps. In - Bulletin FNAMS semences : 25-27.

**Guingard J. (1996).** Biochimie végétale. Lavoisier, Paris. 175-192.

### H

**Hagerman A.E and Butler Larry G.(1978).**Protein Precipitation Method for the Quantitative Determination of Tannins .*Food Chem*26, 809-812.

**Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. (2007).**Le stress oxydant .10, 628-638.

**Hamid A.,Aiyelaagbe O ., Usman L.A ., Ameen O. M and Lawal A. (2010).**Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* 4, 142-151.

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

**Hassan, F. (2006).**Heterologous expression of a recombinant chitinase from *Streptomyces olivaceoviridis* ATCC 11238 in Transgénic Pea (*Pisum sativum L.*). Doctorat thesis, University of Damas, Syria, pp. 150. 4.

**Hawtin G.c. and singh K.B. (1984).**Prospect and potential of winter sowing of chickpeas in the Mediterranean region. In légumineuses alimentaires au Maroc : Séminaire Settât, du 7 au 9 avril 1987.

**Helmut Sies.(2013).**Oxidative Stress.Elsevier. pp. 219–222. ISBN 978-1-4832-8911-3.

**Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie 1:2-5.

### J

**Jean- Baptiste F. M. (2009).** Apport de la modélisation pour l'estimation de la teneur en pigments foliaires par télédétection. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. 9.

**Jiangrong L., Yueming J. (2007).**Litchi Flavonoids: Isolation, Identification and Biological Activity. Molecules 12: 745-758.

**Jones D.k.(1953).**Carob culture in Cyprus. FAO 53 /2/1225.FAo .Rome .

**Jukanti A. K., Gaur P. M., Gowda C.L.L., Chibbar R.N.(2012).** Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum L.*): a review. British J Nutrition 108: 11-26.

### K

**Kao, M., Ang, D., Pall, A., and Struthers, A. (2010).** Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms clinical sequelae and therapeutique option. Journal of Humain Hypertension, 24: 18.

**Katre UV, Gaikwad SM, Bhagyawant SS, Deshpande UD, Khan MI, Suresh CG.(2005).** Cristallisation et caractérisation préliminaire aux rayons X d'une lectine de *Cicer arietinum* (pois chiche) Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun, 61 : 141-143. doi: 10.1107 / S1744309104032166. [ Article gratuit PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ].

**Khan, H., Zeb, A., Ali, Z. and Shah, S. M. (2009).** Impact of five insecticides on chickpea (*Cicer arietinum L.*) nodulation, yield and nitrogen fixing rhizospheric bacteria. Soil and environment., 1 : 56-591.

**Koffi N ; Beugré K ; Guédé N.Z ; Dossahoua T ; Laurent A.(2009 ).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou

**Kouamé J., Gnoula C., Bassolé P H., Guissou I. P., Simporé J., Nikiéma J.-B.(2009).** Etude Des Propriétés Cytotoxiques Et Anti-Radicalaires D'extraits De Feuilles Et De Galles De *Guiera Senegalensis J. F. Gmel* (Combretaceae). Science Et Technique, Sciences De La Santé 32, 2-9.

**Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat,

**Kumar, J. et S. Abbo.(2001).** Genetics of flowering time in chickpea and its bearing on productivity in semiarid environments. Agronomy, 72: 107-138.

### L

**Labdi M.(1990).** Chickpea in Algeria. In: Saxena N.P., Saxena M.C., Jouhansen C., Virmani S.M. et Harris H. Adaptation of chickpea in West Asia and North Africa region. ICARDA-ICRISAT: 137-140.

**Ladizinsky G.(1975).** A new *Cicer* from Turkey. Notes of the Royal Botanic Garden Edinburgh 34: 201-202.

**Laguerre, M., L'opez-Giraldo, L., Lecomte, J., Pina, M., Villeneuve, P. (2007).** Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante. P279.

**Laumont P., et Chevassus A.(1956).** Note sur l'amélioration du pois chiche en Algérie. Institut Agricole d'Algérie. Maison-carrée, Alger ; 24 p.

**LeBerre M.(1978).** Mise au point sur le problème du ver de la dattes *Myelois ceratoniae* Zeller. Bull Agr Sahar ; 1 : 1-35.

**Lee, J., Koo, N., Min, D. B. (2004).** Reactive Oxygen Species, Aging, and antioxidative Nutraceuticals. Comprehensive Reviews in food science and food safety. 3 : 21-33.

**Leitao, C. (2011).** Etude des composés à intérêts technologique et fonctionnel dans

**Leroux P., Gredet A.(1978).** Document sur l'étude de l'activité des fongicides. Versailles : INRA, 1978, 26 p.

**Li S.S., Kendall C.W., de Souza R.J., Jayalath V.H., Cozma A.I., Ha V., Mirrahimi A., Chiavaroli L., Augustin L.S., Blanco Mejia S., Leiter L.A., Beyene J., Jenkins D.J.,** meta-analysis of acute feeding trials. *Obesity* 22, 1773–1780.

**Lim, D.-H., Choi, D., Choi, O.-Y., Cho, K.-A., Kim, R., Choi, H.-S., Cho, H., 2011.** Effect of *Astragalus sinicus* L. seed extract on antioxidant activity. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 17, 510-516.

**Ling, L. Y. and Robinson, R. J. (1976).**Extracting and fractionating lipids from chickpea. *Cereals Food World.*, 21 : 424.

**Lowry OH, JJ Resebrough, Farel L, Randal RJ.(1951).** Mesure des protéines avec le réactif phénol Folin. *J BiolChem.* ; 193 : 265-275. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ] .

**Luthar Z. (1992).** Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seeds (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum* 12 : 36-42.

**Lyoussi A., Afr B., Tradit J.(2015).**Complement. *Altern. Med* ,12, 128-133.

### **M**

**M. Kamal E. Youssef1, Moshera M. El-Manfaloty, Hend M. Ali.(2013).** Assessment of Proximate Chemical Composition, Nutritional Status, Fatty Acid Composition and Phenolic Compounds of Carob (*Ceratonia Siliqua L.*). *Food and Public Health*.3(6): 304-308.

**M.J.(1992).**A prospective study of nutritional factors and hypertension among U.S. men. *Circulation* 86, 1475–1484.

**Macheix et al. (2006).**Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier 1-28. Mueller-Harvey, Makris, D., Kefalas, P. *Food Technol. Biotechnol.* 42 (2004) 105–108. 10.

**Malhotra M.C.(1998).**Germplasm program legumes. Annual report. Aleppo, Syria: ICARDA.

**Marfak, A. (2003).** Radiolyse Gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des Alcools : Formation de depides, thèse de doctorat, l'université de Limoges. 1-121.

**Marinova D., Ribarova F., Atanassova M.(2005).**Total phenolics in bulgarian Fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* ;40:255.

- Mark D. (2003).** E Robert Bobier., Terrance Hiatt & Francis Cheng I. (Variability of the
- Martorell J. (1987).** « El algarrobo, víctima del llamado desarrollo agrario ». Pp. 62-84 in Congreso Int. de Tecnología de Alimentos Naturales Y Biológicos. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), Madrid.
- Merzouki, A., E. Derfoufi, A. E. Allau and J. M. Mesas. (1997).** Wild medicinal plants used by local bouhmed population (Morocco). *fitoterapia*, 68 :444-460.
- Mitrakos K. (1981).** Temperature germination responses in three mediterranean evergreen sclerophylls. In: Margaris N.S. & Mooney H.A., (Eds). *Components of Productivity of Mediterranean-climate Regions - Basic and Applied Aspects*. Dr. W. Junk Publishers, The Hague/Boston/London. pp. 277-279.
- Mokrini, R. (2006).** Mécanismes radicalaires dans la dégradation de composés phénoliques en chimie sous rayonnement : Radiolyse gamma des chalcones et de l'acide férulique en solutions alcooliques. Chapitre III. Thèse de doctorat. université de Limoges. 1-106.
- Montenegro, Dematta, S. S., Dellemonache, F., Ferrari, F et Marini-Bettolo, G, B. (1976).**
- Morale S. (2011).** Etude phytochimique et évaluation biologique de *derris ferrugineabenth*, (Fabaceae) université d'Angers ; page 25-27.
- Morrissey, J.P. Osbourn, A.E. (1999).** Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *MicroMol Biol Rev* 63 (3):708-724.
- N**
- Nacz, M., Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of*
- Nasar-Abbas S.M., e-Huma Z., Khan M.K., Esbenshade H., Jayasena V. (2016).** Carob kibble: A bioactive-rich food ingredient. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15: 63-72.
- Nccls. (1997).** National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. Sixth ed. Approved Standard M2-A6, Wayne, PA.
- Nijveldt, R. J., Nood, Ev., Hoorn, DECv., Boelens P. G., Norren, Kv., Leeuwen, PAMv. (2001).** Flavonoïdes: a review Article: *Journal of clinical Nutrition*. 38:418-425.
- Nkhili, E. (2009).** Polyphénols de l'alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et pouvoir antioxydant. Chapitre I. Thèse de doctorat, l'université de Cadi ayyad. 1-158.

**Odabasoglu F., Aslam A., Sulayman C., Karagaz H., Malici M Y et Bayir. (2004).** Comparaison Of Antioxidant Activity And Phenolic Content Of Three Lichen Species .Phytotherapy Recherche 18, 938.

**Okuda T. (2005).** Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. Phytochemistry 66 : 2012–2031.

**Orphanos PI, Papaconstantinou J. (1969).** The carob varieties of Cyprus. Tech. Bull. 5. Cyprus Agricultural Research Institute. Ministry of Agriculture and Natural Resource, Nicosi.

### P

**Petit M. D. et Pinila J. M. (1995).** Production and purification of a sugar syrup from carob pods. Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie, 28, pp: 145-152.

**Ponce A.G., Fritz R., DEL Valle C., Roura S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-wissenschaft und technology.

**Popovici C., Ilonka S., Bartek T. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel 4, 25-39.

**Portes, E. (2008).** Synthèse et Etude Tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Application à la Présentation de Matériaux d'Origine Naturelle. Thèse de doctorat, l'université de Bordeaux I. 1-175.

### Q

**Quezel P., Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (tome 1), Editions du centre national de la recherche scientifique. 557.

### R

**Rachwa-Rosiak, D., Nebesny, E et Budryn, G. (2015).** "Chickpeas-composition, nutritional value, health benefits, application to bread and snacks: a review." Critical Review in Food Science and Nutrition, 55(8), 1137-45.

**Riberau-Gayon P. (1968).** Notions générales sur les composés phénoliques. In: Composés Phénoliques des végétaux. Dunod 005-133.

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

**Romani .A, P. Pinelli, C. Cantini, A. Cimato and D. Heimler.** Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus* L.). J. Food Chem. Vol. 95. (2006). pp. 221-225.

**R. Owen., R. Haubner., W. Hull., G. Erben., B. Spiegelhalder; H. Bartscha.(2003).** Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre. *Food and Chemical Toxicology*. 41.1727–1738.

**Roy, M. (2008).** Etude des superoxydes dismutase (SOD) dans l'ovocyte bovine. Thèse de doctorat, l'université Laval.1-159.

### S

**Salvatore S, Savino F, Singendonk M, et al .(2018) .** Thickened infant formula: what to know. *Nutrition* 49:51–6.

**Sarvajeet, S.G., Narendra, T. (2010).** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants.21: 917-919.

**Saxena M.C.(1980).** Recent advances in chickpea agronomy. In: Proceedings of the international workshop on chickpea improvement, 28 February-2 March 1979, ICRISAT, Hyderabad, India, 96-98.

**Saxena M.C.(1987).** Agronomy of chickpea. In: Saxena M.C. & Singh K.B., eds. *The chickpea*. Wallingford, UK: CAB International, 207-232.

**Sbay, H.(2008).** Le caroubier au Maroc, Un arbre d'avenir. CRF Collection Maroc Nature.

**Shaw, D.V. (1988).** Genotypic variation and genotypic correlation for sugars and organic acids of strawberries. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* Vol.113: 770–774.

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

**Singh, F. et Diwakar, B. (1995).** Chickpea Botany and production Practices. Skill Development Series no 16 ; ICRISAT

**Singh K.B. and Reddy M.V. (1991).** Advances in disease-resistance breeding in chickpea. *Advances in agronomy*, 45.191-222.

### T

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

**Tsumbu, C. N. (2012).** Contribution à l'étude des polyphénols de quelques plantes alimentaires du Bas-Congo et de leurs activités antioxydant *in vitro*. Thèse de doctorat, l'université de Liège.1-126.

**Tucker, S.C. (1992).**The role of floral development in studies of legume evolution.Can. J. Bot. 70:692-700.

### U

**USDA.(2016).**United States Department of Agriculture.

### V

**Van Der Maesen, L. J. G. (1987).** Origine, history and taxonomy of chickpea.Pages 11- 34

**Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L et Oomah B.D. (1998).**Antioxidant activity and total phenolics in selected fruit, vegetables, and grain products. Journal of agricultural and Food chemistry 46,4113-4117.

**VERRET F.(1982).**Etude de quelques légumineuses à grosses graines adaptées au semis de printemps dans la zone méditerranéenne. Mémoire D.A.A. ENSA Montpellier, 72p.

**Vigor C, Vercauteren J, Montels J. (2011).** Les substances naturels dans la chaîne du médicament.

**Vincent, A. M., Russell, J. W., Low, P., and Feldman, E. L. (2004).**Oxydative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. Endocrine reviews, 25(4), 612-628.

### W

**Wang Y., lin M.,tian Z., elmerich G., newton,W.(2005).** Biological Nitrogen Fixation, sustainable Agriculture and the Environnement ,page:254, edition Springer .

### Y

**Yamini K., Anto Shering M., Praveen Kumar Reddy S., Lakshmi Narasimha Reddy N.(2011).** Pharmacognostical and Preliminary Phytochemical Screening on Leaves of *Trianthemadecandra* Linn. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives. Ye XY, Wang HX, Ng TB. Dolichin, une nouvelle protéine antifongique de type chitinase isolée à partir de haricots de plein champ (*Dolichoslablab*) Biochem Biophys Res Commun. 2000; 269 : 155–159. doi: 10.1006 / bbrc.2000.2115. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ].

**Yzydorzyc, C. (2011).** Rôle de stress oxydant en période néonatale dans l'Hypertension artérielle et la dysfonction vasculaire et métabolique du l'adulte. Thèse de doctorat, l'université d'Auvergne.1-154.

## Résumé

Notre travail s'est appuyé sur l'étude des activités biologiques de l'extrait de graines et de gousses de deux types de légumineuses alimentaires le caroubier (*Ceratonia siliqua L*) et le pois chiche (*Cicer arietinum*), cette investigation a été réalisée afin d'estimer les activités biologiques pour cela la présente étude comprend trois parties principales la première est une synthèse bibliographique comportant une description botanique de plantes étudiés et de l'importance socio-économique et agro-alimentaire de la caroube et de pois chiche dans le monde en général, une étude bibliographique sur le stress oxydatif sera aussi abordée d'une manière exhaustive, ensuite nous aborderons le sujet du métabolites secondaires, une approche expérimentale vient ensuite pour montrer les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante, antibactérienne et antifongique.

**Mots clés :** Légumineuse, polyphénols, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, Activité antifongique.

## **Abstract**

Our work was based on the study of the biological activities of the extract of seeds and pods of two types of food legumes, the carob tree (*Ceratonia siliqua L*) and the chickpea (*Cicer arietinum*), this investigation was carried out in order to estimate the biological activities for this the present study comprises three main parts the first is a bibliographical summary comprising a botanical description of plants studied and of the socio-economic and agro-alimentary importance of carob and chickpeas in the world in general, a bibliographical study on oxidative stress will also be addressed in an exhaustive manner, then we will approach the subject of secondary metabolites, an experimental approach then comes to show the methods used to evaluate the antioxidant, antibacterial and antifungal activity.

**Keywords:** Legumes, polyphenols, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Antifungal activity.

## المخلص

اعتمد عملنا على دراسة الأنشطة البيولوجية لمستخلص البذور والقرون لنوعين من البقوليات الغذائية ، شجرة (*Cicer arietinum*) والحمص (*Ceratonia siliqua L*) الخروب .

قد تم إجراء هذا البحث لتقدير النشاطات البيولوجية و لهذا الغرض تتكون الدراسة الحالية من ثلاثة أجزاء رئيسية الأول هو ملخص ببيوغرافي يشتمل على وصف نباتي للنباتات التي تمت دراستها والأهمية الاجتماعية والاقتصادية والزراعية الغذائية للخروب والحمص في العالم. بشكل عام ، سيتم أيضاً تناول دراسة ببيوغرافية حول الأكسدة بطريقة شاملة ، ثم سنتطرق الى موضوع المركبات الفينولية ، ومن ثم نهج تجريبي لإظهار الطرق المستخدمة لتقييم نشاط مضادات الأكسدة و مضادات البكتيريا و الفطريات.

**الكلمات المفتاحية:** بقوليات ، بوليفينول ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للبكتيريا ، نشاط مضاد للفطريات .