



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

THEME

Etude du pouvoir antimicrobien des extraits de feuilles du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.)

Réalisé par :

M r BOUGAR Slimane

M r BOUTRA Omar

M r SIDI ALI Chemseddine

Soutenu le 18 /09/2024 devant le jury composé de :

Président(e)	Mme.	ITATAHINE A.	MAB	U. Khemis Miliana
Promotrice	Mme.	KOCHERANE R.	MAB	U. Khemis Miliana
Examinatrice	Mme.	CASASNI L.	MAB	U. Khemis Miliana

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu Tout-Puissant pour la santé, la volonté d'entamer ce travail, ainsi que la patience qu'Il nous a accordée durant toutes ces années d'études.

*Nos remerciements et nos profondes considérations vont tout particulièrement à notre promotrice, Dr **KOCHERANE Rima**. Nous lui sommes reconnaissants pour son encadrement exceptionnel, sa patience, sa disponibilité, et les conseils précieux qu'elle nous a généreusement prodigués durant la préparation de ce mémoire. Ce fut une grande opportunité et un immense honneur pour nous.*

*Nous exprimons également notre vif remerciement aux membres du jury, en commençant par Dr **ITATAHINE Amina**, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury. Nous sommes reconnaissants envers Dr **CASASNI Lydia** qui a accepté d'examiner notre travail et espérons recevoir ses critiques et orientations.*

*Nous remercions chaleureusement Mme **TOUAHIR Nawel** pour son aide précieuse, ses conseils avisés, et son soutien tout au long de notre travail. Sa disponibilité et son expertise ont grandement contribué à la réussite de ce travail.*

Nous remercions les ingénieurs des laboratoires de l'Université de Khemis Miliana, en particulier Samira, Afef, Nadjiba et Keltoum, pour leur soutien et encouragement tout au long de notre travail.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avant toute chose, je remercie Dieu, le Tout-Puissant, pour m'avoir donné la force et la patience nécessaires.

Je dédie ce travail à toutes les personnes qui m'ont soutenu et encouragé durant les moments difficiles :

À mon père, Mohamed, et ma mère, BOUGAR Houria, pour m'avoir donné la vie et la joie de vivre.

À mes frères et sœurs.

À mon encadrante, Dr. Rima KOCHERANE, pour ses conseils précieux, sa présence constante, et sa patience.

À tous mes amis, notamment MOUAIICI Oussama, pour leur soutien inconditionnel.

BOUGAR Slimane

Dédicace

En ce moment particulier de ma vie,

Je tiens à dédier ce modeste travail :

À ma chère maman, la personne la plus extraordinaire au monde, pour tous ses sacrifices et son amour éternel. Merci pour avoir toujours cru en moi et m'avoir encouragée.

À mon cher père, qui a tout fait pour mon succès et mon confort. Merci d'être le père que tu es.

À mes frères, que j'adore énormément, en espérant qu'ils soient fiers de moi.

À mes deux sœurs, je vous souhaite réussite et bonheur. Merci d'être toujours présentes à mes côtés et de m'avoir continuellement encouragée.

À mes amis et à toutes les personnes que j'aime, ainsi qu'à ceux qui m'ont apporté de l'aide, de près ou de loin.

Et enfin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué, directement ou indirectement, à l'accomplissement de ce travail.

SIDALI Chemseddine

Dédicace

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont soutenue tout au long de la rédaction de ce mémoire.

Je dédie ce modeste travail à ma chère et tendre mère, source infinie d'affection, de courage et d'inspiration, qui a fait tant de sacrifices pour me voir réussir ce parcours.

À mon père, symbole de respect et de force, je témoigne toute ma reconnaissance pour ses efforts constants et son soutien indéfectible.

À toute ma famille Boutra, ainsi qu'à mes frères et sœurs que j'aime profondément, je vous remercie pour vos encouragements continus et pour l'espoir que vous m'avez toujours donné.

Je tiens à remercier tout particulièrement mon encadrante, Dr. KOCHERANE Rima, pour sa patience, sa disponibilité et ses précieux conseils, qui ont grandement nourri ma réflexion.

Enfin, un grand merci à tous mes camarades de la promotion Biotechnologie Microbienne. Vous occupez tous une place spéciale dans mon cœur.

BOUTRA Omar

Résumé

Cette étude vise à analyser les métabolites secondaires et à évaluer le pouvoir antimicrobien des extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *Ceratonia siliqua* L. (*Fabaceae*), collectées dans la région de Miliana (Aïn Defla). L'extraction à l'éthanol a présenté un rendement supérieur (30,16 %) par rapport à l'extrait aqueux (24,12 %). Le criblage phytochimique a révélé la présence de tanins, flavonoïdes et glucosides, responsables des activités biologiques observées. Le dosage des métabolites secondaires a montré que l'extrait éthanolique contenait des niveaux plus élevés de phénols totaux (36,77 mg EAG/g MS) et de tanins condensés (9,63 mg EC/g MS), tandis que l'extrait aqueux présentait une concentration plus importante en flavonoïdes (1,97 mg EQ/g MS).

L'évaluation antimicrobienne, réalisée par la méthode de diffusion sur disque contre trois souches bactériennes, a mis en évidence une activité inhibitrice de l'extrait éthanolique sur *Pseudomonas aeruginosa* (10 mm) et *Staphylococcus aureus* (16,67 mm), tandis qu'*Escherichia coli* s'est avéré modérément sensible à l'extrait aqueux (12,33 mm). L'activité antifongique a été testée sur la souche *Aspergillus brasiliensis* par la méthode de contact direct. L'extrait éthanolique a enregistré un taux d'inhibition élevé (72,40 %), contrairement à l'extrait aqueux, inefficace. Ces résultats mettent en évidence le potentiel antimicrobien des feuilles de *C. siliqua*, en particulier dans les extraits éthanoliques.

Mots-clés : *Ceratonia siliqua* L., extrait aqueux, extrait éthanolique, pouvoir antimicrobien, métabolites secondaires.

Abstract

This study aims to analyze the secondary metabolites and evaluate the antimicrobial potential of aqueous and ethanolic extracts from the leaves of *Ceratonia siliqua* L. (*Fabaceae*), collected in the Miliana region (Aïn Defla). Ethanolic extraction showed a higher yield (30.16%) compared to the aqueous extract (24.12%). Phytochemical screening revealed the presence of tannins, flavonoids, and glucosides, which are likely responsible for the observed biological activities.

The quantification of secondary metabolites indicated that the ethanolic extract contained higher levels of total phenols (36.77 mg GAE/g DM) and condensed tannins (9.63 mg CE/g DM), while the aqueous extract showed a greater concentration of flavonoids (1.97 mg QE/g DM).

Antimicrobial activity, assessed using the disk diffusion method against three bacterial strains, demonstrated that the ethanolic extract had inhibitory effects on *Pseudomonas aeruginosa* (10 mm) and *Staphylococcus aureus* (16.67 mm), whereas *Escherichia coli* exhibited moderate sensitivity to the aqueous extract (12.33 mm).

Antifungal activity was tested against the strain *Aspergillus brasiliensis* using the direct contact method. The ethanolic extract achieved a high inhibition rate (72.40%), whereas the aqueous extract was ineffective.

These results highlight the antimicrobial potential of *C. siliqua* leaves, particularly in ethanolic extracts.

Keywords: *Ceratonia siliqua* L., aqueous extract, ethanolic extract, antimicrobial potential, secondary metabolites.

الملخص

Ceratonia siliqua (Fabaceae) المعروفة باسم "الخروب"، هي شجرة دائمة الخضرة تنمو في منطقة البحر الأبيض المتوسط، وتنتشر بشكل واسع في الجزائر وتُعرف بخصائصها العلاجية.

تهدف هذه الدراسة إلى إجراء تحليل فيتوكيميائي للمواد الثانوية وتقييم القدرة المضادة للميكروبات للمستخلصات المائية والإيثانولية لأوراق هذه الشجرة التي تعود إلى منطقة مليانة (عين الدفلى)، مع التركيز على خصائصها المضادة للبكتيريا والفطريات. أظهر عائد استخراج المركبات الفينولية بواسطة الإيثانول نسبة 30,16%، بينما أظهر العائد من المستخلص المائي مردود يبلغ 24,12% وقد أبرز الفحص الفيتوكيميائي وجود عدة مجموعات كيميائية، بما في ذلك الفلافونويدات والجلوكوسيدات التي قد تفسر الأنشطة البيولوجية الملحوظة.

تم إجراء تحديد كمي للمستقبلات الثانوية على كلا المستخلصين (الإيثانولي والمائي المحضرين من أوراق الخروب). وأظهرت تقديرات الفينولات الكلية والفلافونويدات بواسطة الطريقة اللونية أن محتوى الفينولات الكلية (36,77 ملغ/غ) والتانينات المكثفة (9,63 ملغ/غ) أعلى في المستخلص الإيثانولي مقارنة بالمستخلص المائي. ومع ذلك، فإن محتوى الفلافونويدات (1,97 ملغ/غ) أعلى في المستخلص المائي. كشف اختبار تحليل التباين ANOVA ذو العامل الواحد عن وجود اختلاف عال جدًا بين المستخلصين من حيث محتوى المستقبلات الثانوية.

تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات بواسطة طريقة الانتشار على القرص ضد ثلاث سلالات بكتيرية. أدى المستخلص الإيثانولي إلى تأثير مثبط ضد *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* مع مناطق تثبيط قدرها 10 مم و 16,67 مم على التوالي. في المقابل، أظهرت *Esherichia coli* مقاومة للمستخلص الإيثانولي ولكنها كانت حساسة للمستخلص المائي، مع هالة قدرها 12,33 مم.

تم اختبار النشاط المضاد للفطريات على سلالة *Aspergillus brasiliensis* بواسطة طريقة الاتصال المباشر. أظهرت النتائج اختلافًا معنويًا عال جدًا بين معدلات التثبيط للمستخلصين سجل المستخلص الإيثانولي معدل تثبيط قدره 72,40% بينما لم يظهر المستخلص المائي أي تثبيط. تسلط هذه النتائج الضوء على الأنشطة البيولوجية المتعددة لأوراق *Ceratonia siliqua* لا سيما كعامل مضاد للميكروبات.

الكلمات المفتاحية : *Ceratonia siliqua*؛ مستخلصات، القدرة المضادة للميكروبات، المستقبلات الثانوية.

تهدف هذه الدراسة إلى تحليل المركبات الثانوية وتقييم القدرة المضادة للمستخلصات المائية والإيثانولية لشجرة

(، التي تم جمعها من منطقة ميليانة (عين دقلة). أظهرت عملية الاستخلاص (Fabaceae *Ceratonia siliqua* L.) بالإيثانول عائداً أعلى (30.16٪) مقارنةً بالاستخلاص المائي (24.12٪). كشفت الفحوصات الفيتوكيميائية عن وجود التانينات والفلافونويدات والجلوكوسيدات، وهي المسؤولة عن الأنشطة البيولوجية الملاحظة. أظهر قياس المركبات الثانوية غرام المادة الجافة) EAG / أن الاستخلاص الإيثانولي يحتوي على مستويات أعلى من الفينولات الكلية (36.77 ملغ غرام المادة الجافة)، بينما أظهر الاستخلاص المائي تركيزاً أعلى في الفلافونويدات / EC والتانينات المكثفة (9.63 ملغ غرام المادة الجافة / EQ (1.97 ملغ).

تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الانتشار على الأقراص ضد ثلاث سلالات بكتيرية، وأظهرت *Staphylococcus aureus* (م) و 10 *Pseudomonas aeruginosa* الاستخلاصات الإيثانولية تأثيراً مثبطاً على حساسية معتدلة للاستخلاص المائي (12.33 مم). تم اختبار النشاط *Escherichia coli* (م)، بينما أظهرت (16.67 باستخدام طريقة الاتصال المباشر. سجل الاستخلاص *Aspergillus brasiliensis* المضاد للفطريات على سلالة الإيثانولي نسبة تثبيط عالية (72.40٪)، على عكس الاستخلاص المائي الذي لم يظهر أي تأثير. تسلط هذه النتائج الضوء ، خاصة في الاستخلاصات الإيثانولية *C. siliqua* على القدرة المضادة للميكروبات لأوراق

Liste des figures

Figure 1 : Allure de l'arbre du caroubier.....	05
Figure 2 : Racines du caroubier	06
Figure 3 : Différentes formes de tronc du caroubier.....	07
Figure 4 : Feuilles du caroubier.....	07
Figure 5 : Inflorescence mâle, femelle et hermaphrodite du caroubier.....	08
Figure 6 : Gousses vertes et gousses mûres du caroubier.....	08
Figure 7 : Graines du caroubier.....	09
Figure 8 : distribution du caroubier dans le monde.....	10
Figure 9 : Répartition géographique du caroubier dans le Nord-ouest de l'Algérie.....	12
Figure 10 : Les différentes classes des composés phénoliques.....	21
Figure11 : Principales classes de flavonoïdes.....	23
Figure 12 : Exemple d'un anthocyane : la cyanidine	24
Figure 13 : Principales formes des tanins condensés.....	25
Figure 14 : Le protocole expérimental de cette étude.....	32
Figure 15 : Feuilles de <i>Ceratonia siliqua</i> L. récoltées à Miliana.....	33
Figure 16 : Localisation du site d'échantillonnage.....	34
Figure 17 : Préparation de l'extrait éthanolique de feuilles du caroubier.....	36
Figure 18 : Protocole de dosage des phénols totaux.....	39
Figure 20 : Protocole de dosage des flavonoïdes.....	39
Figure 22 : Protocole de dosage des tannins condensés.....	40
Figure 24 : Repiquage des souches.....	42
Figure 25 : Évaluation de l'activité antibactérienne.....	43
Figure 26 : Evaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct.....	45
Figure 27 : Rendement des extraits éthanolique et aqueux de feuilles de <i>Ceratonia siliqua</i>	48
Figure 28 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de caroubier exprimés par le diamètre des zones d'inhibition en mm.....	57
Figure 29 : Zones d'inhibition de l'extrait éthanolique des feuilles de <i>Ceratoniasiliqua</i> sur les souches bactériennes testées.....	57
Figure 30 : Effet de l'extrait éthanolique et aqueux des feuilles de caroubier sur la souche fongique <i>Aspergillus brasiliensis</i>	59

Liste des tableaux

Tableau.1 : Classification phylogénétique de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	04
Tableau 2 : Composition chimique du caroubier.....	13
Tableau 3 : Composés phytochimiques de chaque partie de la plante <i>Ceratonia siliqua</i>	15
Tableau 4 : Principaux produits de la caroube (pulpe et graines) et leurs utilisations majeures.....	17
Tableau 5 : Les activités biologiques des composés phénoliques.....	26
Tableau 6 : Liste des souches microbiennes testées.....	35
Tableau 7 : Liste des antibiotiques testés pour chaque souche bactérienne.....	43
Tableau 8 : diamètres des zones d'inhibition selon le degré de sensibilité.....	44
Tableau 9 : Résultats du screening phytochimique des feuilles de <i>C. siliqua</i>	49
Tableau 10 : Teneurs en métabolites secondaires de l'extrait éthanolique et aqueux des feuilles du caroubier.....	51
Tableau 11 : Analyse de la variance (ANOVA) à un seul facteur (type d'extrait sur la teneur en métabolites secondaires) pour les feuilles du <i>C. siliqua</i>	52
Tableau 12 : Diamètre de la zone d'inhibition en mm pour les souches bactériennes testées avec les deux extraits, le DMSO et les antibiotiques.....	56

Liste des abréviations

EA	extrait aqueux
MH	Milieu Muller Hinton
ATCC	American Type Culture Collection
E. Coli	<i>Escherichia coli</i>
Kda	Kilo dalton
R%	Rendement d'extraction en pourcentage
AGE	Acide Gallique Equivalent
CE	Catéchine Equivalent
DMSO	Dimethylsulfoxyde
Hcl	Chlorure d'hydrogène
Ca	Calcium
Mg	Magnésium
K	Potassium
P	Phosphore
H2SO4	D'acide sulfurique
MPO	myéloperoxydase
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction1

Partie 1 : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Aperçu sur le caroubier

1. Origine et historique	3
2. Etymologie et dénomination	3
3. Aspect botanique	4
3.1. Classification systématique	4
3.2. Description morphologique	4
4. Répartition biogéographique	9
5. Composition chimique du caroubier	12
5.1 Gousses et graines	13
5.2. Feuilles	13
6. Utilisations et propriétés biologiques de <i>C.siliqua</i> .L	15
6.1. Arbre	15
6.2. Feuilles	16
6.3.Gousses.....	17

Chapitre II : Métabolites secondaires et pouvoir antimicrobien

1. Métabolites secondaire	20
1.1. Les polyphénols	20
1.1.1. Classification des composés phénolique	20
1.1.1.1. Les composés phénolique simple	20
1.1.1.2. Les composés phénolique complexes	24
1.2. Les terpènes	26
1.3. Les alcaloïdes	26
2. Pouvoir antimicrobien	27
2.1. Activités antimicrobien	27
2.1.1. Les antibiotiques	27
2.1.2. Mode d'action des antibiotiques	27
2.1.3. Résistance bactérienne aux antibiotiques	28
2.1.4. Micro-organismes utilisés dans les tests antimicrobiens	28
2.1.5. Effet antimicrobien du caroubier	30

Partie 2 : Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel biologique.....	33
1.1. Matériel végétal	33
1.2. Matériel microbiologique.....	34
1.2.1. Souches bactériennes testées	34
1.2.2. Souches fongiques testées	35

2. Matériels non biologique	35
3. Méthodes d'étude	35
3.1. Séchage et broyage	35
3.2. Préparation de l'extrait éthanolique	35
3.3. Préparation de l'extrait aqueux	36
3.4. Etude phytochimique	36
3.4.1. Screening phytochimique	37
3.4.2. Caractérisation quantitative des extraits	38
3.5. Pouvoir antimicrobien	41
3.5.1. Activité antibactérienne	41
3.5.1.1. Milieux de cultures utilisées	41
3.5.1.2. Repiquage des souches	41
3.5.1.3. Préparation de l'inoculum bactérien	42
3.5.1.4. Ensemencement et dépôt des disques	42
3.5.1.5. Lecture et expression des résultats	43
3.5.2. Activité antifongique	44
3.5.2.1. Repiquage et préparation de l'inoculum fongique	44
3.5.2.2. Ensemencement des champignons	45
3.5.2.3. Lecture des résultats	45
 Chapitre II : Résultats et Discussion	
1. Rendement d'extraction	47
2. Screening phytochimique	48
3. Teneurs en métabolites secondaires	51
4. Pouvoir antimicrobienne des extraits de feuilles de <i>C.silqua</i> .L	55
4.1. Evaluation de l'activité antibactérienne	55
5. Evaluation de l'activité antifongique	59
Conclusion	61
Références bibliographiques	63
Annexes	78

Introduction

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales ont été utilisées comme remèdes pour le traitement de diverses maladies en raison de leur richesse en métabolites secondaires, des composants aux propriétés thérapeutiques. Ces métabolites sont accumulés dans différents organes de la plante et possèdent un large éventail d'activités biologiques (**Erenler et al., 2019**). En effet, plus de 80 % de la population des pays en développement recourt à ces plantes en première intention, en raison de leur accès facile par rapport aux médicaments modernes (**Haddouchi et al., 2016**). De nombreuses plantes médicinales prescrites dans la médecine traditionnelle se sont révélées efficaces pour leurs propriétés antimicrobiennes contre plusieurs agents pathogènes, y compris les plus résistants, offrant ainsi une alternative prometteuse en tant qu'agents antimicrobiens naturels.

Actuellement, la résistance aux antibiotiques atteignant un point critique dans de nombreux hôpitaux à travers le monde, il est urgent de compléter notre arsenal d'agents anti-infectieux (**Cushnie et Lamb, 2011**). Pour cette raison, l'intérêt pour les antimicrobiens d'origine naturelle a considérablement augmenté. Diverses molécules bioactives, telles que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tanins, les caroténoïdes, les stérols et les terpénoïdes, ont été identifiées dans plusieurs plantes médicinales (**Ghedadba et al., 2014**). De plus, l'utilisation d'extraits de plantes en combinaison avec d'autres thérapies présente un potentiel prometteur pour lutter contre diverses infections microbiennes et des maladies graves telles que le cancer.

Parmi les plantes aux propriétés antimicrobiennes, le caroubier, connu sous le nom scientifique de *Ceratonia siliqua*, se distingue. Cet arbre indigène de la région méditerranéenne appartient à la sous-famille des *Caesalpinaceae* et à la famille des *Fabacées* (**Abidar et al., 2020**). Toutes les parties de cet arbre sont utiles et exploitées pour leur grande richesse et leur valeur ajoutée dans divers domaines. Les feuilles sont un fourrage populaire et possèdent des propriétés diététiques et médicinales. Les extraits des feuilles, riches en tanins, ont été utilisés en Turquie dans la médecine traditionnelle pour traiter la diarrhée et dans l'alimentation diététique pour réduire l'apport alimentaire dans le traitement de l'obésité (**Priolo et al., 2000 ; Tahiri et al., 2009**), ainsi que pour abaisser de manière significative et bénéfique le taux d'urée dans le sang (**Berrougui, 2007**). De plus, l'écorce et les feuilles ont été utilisées dans la médecine traditionnelle comme laxatif, diurétique, anti-diarrhéique et pour le traitement de la gastro-entérite (**Ben Hsouna et al., 2011 ; El Bouzdoudi et al., 2017**). Ces extraits foliaires présentent de multiples propriétés médicinales : cytotoxiques et antimicrobiennes (**Kivçak et Mert, 2002 ; Meziani et al., 2015 ; Darwish et al., 2021 ; El**

Introduction

Bouzdoudi et al., 2023), antioxydantes (**Custodio et al., 2011 ; Rtibi et al., 2017**) et antifongiques (**Fadel et al., 2011**) ; inhibitrices de la prolifération des cellules tumorales (Custodio et al., 2011) et hépatoprotectrices (**Ibrahim et al., 2013**).

De ce fait, des études phytochimiques et biologiques ont été réalisées sur la caroube algérienne de différentes régions, telles que Tlemcen, Blida, Bouira, Tizi Ouzou et Constantine, dans le but de déterminer l'activité antimicrobienne du caroubier de différentes variétés. Notre étude vise à mettre en évidence la présence de certains types de métabolites secondaires dans les feuilles du caroubier et à évaluer le pouvoir antimicrobien des extraits éthanolique et aqueux des feuilles de *Ceratonia siliqua* L. de la région de Miliana (Aïn Defla), en confrontant nos résultats avec ceux des études antérieures.

Ainsi, l'étude est articulée autour de trois parties :

- La première partie de ce document est une compilation des connaissances bibliographiques, elle-même composée de deux chapitres. Le premier s'intéresse à un aperçu sur le caroubier et le deuxième présente des généralités sur les métabolites secondaires et le pouvoir antimicrobien.
- La seconde partie du manuscrit est consacrée à la partie expérimentale, à savoir :
 - L'extraction, le screening phytochimique, et le dosage des métabolites secondaires.
 - L'évaluation in vitro du pouvoir antimicrobien des différents extraits de feuilles.
- Enfin, la troisième partie présente les principaux résultats obtenus, leur discussion, ainsi qu'une conclusion générale et les perspectives.

Partie 1:

Synthèse bibliographique

1. Origine et historique

Le centre d'origine du caroubier demeure incertain, avec plusieurs hypothèses émanant de désaccords entre différents auteurs. **Schweinfurth (1894)** avait suggéré qu'il est originaire des régions montagneuses du sud de l'Arabie (Yémen). La découverte de la nouvelle espèce de caroubier *Ceratonia oreothauma* Hillc., Lewis and Verde., considérée comme une espèce plus ancienne que *Ceratonia siliqua* et survivant dans les montagnes de l'Arabie (Oman) et de la Somalie (**Hillcoat et al., 1980**), semble appuyer cette hypothèse. En revanche, **Vavilov (1951)** et **De Candolle (1983)** ont rapporté qu'il serait natif de la région est méditerranéenne (Turquie et Syrie). Des études archéobotaniques menées à partir de restes carbonisés de bois et de fruits ont démontré que le caroubier était présent dans la Méditerranée orientale au néolithique (4000 ans av. J.-C.), période initiale de la domestication des espèces ligneuses (**Estrada et al., 2006**).

Par ailleurs, **Zohary (1973)** considère le caroubier comme une relique de la flore indo-malaisienne, dont sont également issus les groupes *Olea*, *Laurus*, *Myrtus*, et *Chamaerops*. Cette dernière hypothèse, selon laquelle le caroubier aurait une origine tropicale, s'appuie sur plusieurs caractéristiques physiologiques importantes propres à l'espèce, notamment l'existence d'une période de floraison tardive (juillet-octobre), inhabituelle chez les arbres et arbustes méditerranéens. De plus, la présence d'un contenu enzymatique photosynthétique de type C4 (caractéristique des plantes de climat chaud) durant les premières étapes de son développement, qui est ensuite inhibé une fois la plante adulte (**Catarino et Bento-Pereira, 1976**), soutient cette hypothèse. Enfin, la longévité des feuilles, qui est presque le double de celle de la majorité des espèces méditerranéennes les plus communes, tend à confirmer l'origine tropicale de la plante (**Catarino, 1993 ; Mahdad et Gaouar, 2023**).

2. Etymologie et dénomination

Le nom scientifique du caroubier, *Ceratonia siliqua* L., proposé par Linné, est dérivé du nom latin *Ceratonia*, qui trouve ses racines dans le mot grec "keras" signifiant « petite corne », en référence à ses caroubes, gousses en forme de cornes à maturité (**Albanell, 1990**). Le nom d'espèce "*siliqua*" désigne également en latin une silique ou gousse (**Battle et Tous, 1997**). Sa popularité lui a valu différentes appellations telles que : carouge, figuier d'Égypte, fève de Pythagore, et pain de Saint Jean-Baptiste, selon la croyance que Saint Jean-Baptiste s'alimenta du fruit de cet arbre durant son séjour dans le désert, ce qui a donné origine à la dénomination « pain de Saint Jean-Baptiste » (**Albanell, 1990 ; Berroqui, 2007 ; Kocherane, 2021**).

Chapitre I : Aperçu sur le caroubier

En français, il est appelé caroubier. En Angleterre, il est connu sous les noms de Algaroba, carob, carob tree. Selon **Bock (2012)**, il est connu en Italie sous le nom de carrubo, en Espagne comme Algarrobo, Garrofer, Garrover, aux Pays-Bas comme Johannesbroodboom, et en Allemagne comme Bockshornbaum, Johannisbrotbaum, Karobenbaum. Le nom commun serait d'origine hébraïque "Karuv", avec des dérivés tels qu'al kharroube en arabe, tislighwa en tamazight et ahkhabon en berbère (**Rejeb, 1995 ; Batlle et Tous, 1997 ; Abi Azar, 2007 ; Guendouz et Mansouri, 2022**).

3. Aspect botanique

3.1. Classification systématique

Selon la systématique d'APG III (**2009**), la classification phylogénétique de *Ceratonia siliqua* L. est présentée dans le **tableau 1** suivant.

Tableau.1 : Classification phylogénétique de *Ceratonia siliqua* L. (**APGIII, 2009**)

Règne	<i>Plantae</i>
Clade	<i>Tracheobionta</i>
Clade	<i>Magnoliophyta</i>
Clade	<i>Rosidés</i>
Clade	<i>Rosidés I</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Sous-famille	<i>Caesalpinioideae</i>
Genre	<i>Ceratonia</i>
Espèce	<i>Ceratonia siliqua</i> L.

3.2. Description morphologique

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est un arbre ou arbuste typiquement méditerranéen à croissance lente(**figure1**), pouvant atteindre dans les conditions propices une hauteur de 7-10 m et même 15 à 20m en Orient et une circonférence à la base du tronc de 2 à 3m (**Öztürk, 2011 ; Gugliuzzo et al., 2019**). Il possède une cime très étalée et arrondie. C'est un arbre xérophile avec une longévité importante dépassant les 200 ans (**Rejeb et al., 1991 ; Benmahioul et al., 2011**).



Figure 1 :Allure del'arbre du caroubier (*photo prise à Ain defla ,2024*)

-L'écorce :

Cette espèce ligneuse a une écorce lisse et grise lorsque l'arbre est jeune, brune et rugueuse à l'âge adulte. L'écorce est rugueuse à la base de couleur grise à rougeâtre (Melgarejo et Salazar, 2003), tandis que l'écorce est lisse sur la partie supérieure du tronc et à la base des branches (Kocherane, 2021).

-Le bois :

Son bois est blanc-jaunâtre lorsqu'il est jeune et devient rose veiné puis rouge foncé et dur en vieillissant. Il est très apprécié en ébénisterie, marqueterie, armurerie, charronnage et aussi pour la fabrication du charbon (Ait chitt *et al.*, 2007 ; Benmahioul *et al.*, 2011).

-Les racines :

Cet arbre développe un système racinaire pivotant, qui peut atteindre 18 m de profondeur (**figure 2**).Ce qui permet de classer cette espèce parmi celles qui présentent un système racinaire très étendu et spécialement distribué en surface (Aafi, 1996 ;Melgarejo et Salazar, 2003).



Figure 2 : Racines du caroubier (Mahdad, 2013)

Selon **Hirsch et al. (2001)**, le caroubier est une légumineuse non nodulante. Toutefois, **Missbah et al. (1996)** ont pu isoler dans la région de Debdou (Maroc) des souches de rhizobium nodulant le caroubier. Cependant, **Konate (2007)** réactiva et purifia la collection des souches isolées par **Missbah et al. (1996)** ensuite il procéda à un test d'authentification en les inoculant sur deux accessions du caroubier (Marrakech et Taounate) cultivées dans des conditions axéniques. L'examen du système racinaire des plantes, effectué à 2, 4 et 6 mois après l'inoculation, n'a montré aucune formation de nodosité.

L'absence ou la présence des rhizobiums chez le caroubier peut être considérée comme une des caractéristiques agronomiques des plus importantes en vue d'une mise en place d'un programme d'amélioration génétique de l'espèce (**Kocherane, 2021**).

-Le tronc :

Le tronc du caroubier est épais, très crevassé, robuste avec de clairs canaux de circulation de la sève, associés aux racines les plus épaisses, ce qui leur donne un aspect tortueux comme l'olivier, particulièrement marqué chez certaines variétés (**Melgarejo et Salazar, 2003 ; Öztürk, 2011**). Le tronc chez les arbres épais et vieux est tortueux et sinusoidal (**figure3**), le diamètre moyen est de 50 cm en fonction de l'âge de l'arbre (**Albanell, 1990 ; Ait chitt et al., 2007**).



Figure 3 : Différentes formes de tronc du caroubier (**Kocherane, 2021**)

-Les feuilles :

Ses feuilles sont persistantes, de 10 à 20 cm de longueur, se caractérisent par un pétiole sillonné sur la face interne et un rachis portant généralement de 4 à 10 folioles, opposés de 3 à 7cm. Elles sont coriaces, entières, ovales à elliptiques, paripennées, légèrement échancrées au sommet (**figure 4**) avec une couleur verte luisante à la face supérieure et vert pâle à la face inférieure (**Baumel *et al.*, 2018 ; Kocherane, 2021**).

Occasionnellement chez les arbres cultivés et plus fréquemment chez les caroubiers sauvages, le nombre de folioles peut être impair chez quelques feuilles (**Albanell, 1990**).

Le caroubier perd ses feuilles tous les deux ans, au mois de juillet, lesquelles sont renouvelées au printemps de la même année, en Avril et Mai (**Ait chitt *et al.*, 2007**).



Figure 4 : Feuilles du caroubier (*photo prise à Ain Defla, 2024*)

-Les fleurs

Les fleurs du caroubier sont petites et nombreuses, disposées en spirale le long de l'axe de l'inflorescence en racèmes, de couleur pourpre et parfois rougeâtre (Öztürk, 2011). Le caroubier (figure 5) est généralement une espèce dioïque, parfois monoïque et rarement hermaphrodite (Benmahioul *et al.*, 2011). Il est remarquable comme le seul arbre méditerranéen à fleurir en été, d'août à octobre, voire en automne, de septembre à novembre (Ait chitt *et al.*, 2007).



Figure 5 : Inflorescence mâle, femelle et hermaphrodite du caroubier (Kocherane, 2021)

-Le fruit :

Le fruit du caroubier, appelé caroube ou carouge, est habituellement classifié comme un fruit sec malgré son aspect pulpeux (Albanell, 1990). La caroube est une gousse pendante qui se développe très lentement, nécessitant 9 à 10 mois pour atteindre la maturité (Batlle et Tous, 1997). Les gousses sont de couleur brune foncée, allongées, comprimées, droites ou courbées, et épaissies aux points de suture. Elles mesurent de 20 à 35 mm de largeur et environ 150 mm de longueur, contenant 8 à 12 graines ovales et aplaties de couleur brune (figure 6). La partie charnue entre les graines est remplie d'une substance sucrée (Öztürk, 2011 ; Kocherane *et al.*, 2019).



Figure 6 : Gousses vertes et gousses mûres du caroubier (Kocherane, 2021)

- La graine :

Les graines du caroubier sont petites et aplaties, presque ovales, avec un pôle basal tronqué et une extrémité apicale écrasée (**figure 7**). Elles se composent de trois parties : le tégument, la radicule et l'endosperme. Le tégument est normalement lisse, dur, de couleur brune rougeâtre et brillant (**Albanell, 1990**). Les dimensions typiques des graines varient de 8 à 10 mm de longueur sur 6 à 8 mm de largeur, avec une épaisseur de 3 à 5 mm (**Battle et Tous, 1997 ; Gharnit et al., 2006 ; Mahdad et Guaour, 2016 ; Kocherane et al., 2019**).

Ces graines, toutes de poids sensiblement identique, deviennent très dures à maturité. Elles ont été utilisées par les anciens comme unité de mesure pour peser les pierres précieuses, d'où le terme « carat » (1 carat = 205,3 mg) (**Rejeb, 1995 ; Turnbull et al., 2006**). Ainsi, le terme « carat » en français ou « el kilate » en espagnol (0,2 g) dérive du nom arabe (Al-karat ou qirât) donné à la graine, en raison de sa constance relative en poids (**Albanell, 1990**).



Figure 7 : Graines du caroubier (**Berrabah, 2020**).

4. Répartition biogéographique :

a. Dans le monde :

Le caroubier est distribué dans toute la région du pourtour méditerranéen, dont l'aire de répartition s'étend sur l'Asie mineure, l'Afrique du Nord, l'Europe méridionale et la péninsule Ibérique. En effet, on le rencontre actuellement en allant de l'Espagne et du Portugal jusqu'en Turquie, en Syrie, en Yougoslavie, en passant par le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Lybie, l'Égypte, la Grèce, le Liban, Chypre, l'Italie et la France (**Rejeb 1995 ; Sbay et Abourouh, 2006 ; Abi Azar, 2007 ; Mahdad et Gaouar, 2023**).

Le caroubier s'est récemment répandu depuis l'Espagne (**figure 8**) vers d'autres régions au climat méditerranéen, telles que la Californie (États-Unis), le Mexique (Tijuana), le Chili et l'Argentine, et a été introduit dans certaines parties de l'Australie par des migrants méditerranéens ainsi qu'en Afrique du Sud et en Inde par les Britanniques (**Battle et Tous, 1997**). L'arbre a probablement été introduit aux États-Unis depuis l'Espagne en 1854. Dans les

Chapitre I : Aperçu sur le caroubier

années 1950, des greffons ont été introduits en Californie à partir de cultivars méditerranéens sélectionnés (Tous *et al.*, 2013). En Australie, ils ont été introduits au XIXe siècle (Tous, 1995), principalement pour des usages agroforestiers et récemment, pour la production de gousses (Tous *et al.*, 2013). En Chine, des semis de caroubier ont été plantés dans certaines régions forestières, comme le Sichuan et le Yunnan, principalement pour le reboisement et l'alimentation animale (Tous *et al.*, 2013). En Amérique latine, le nom Algarrobo (caroubier en espagnol) est donné à l'espèce *Prosopis chilensis* (Algarrobo chileno), un arbre autochtone de la famille des *Fabaceae*, présent au Chili, au sud du Pérou, en Bolivie et en Argentine. Quant à *C. siliqua*, récemment introduit au Chili, il est appelé en espagnol, Algarrobo europeo (caroubier européen). En outre, il a été observé que les cultivars de caroubier s'adaptent très bien en dehors de leur zone d'origine. Cette adaptation s'est manifestée par de bonnes performances agronomiques mais aussi, pour certains cultivars, par un changement de sexe (Batlle et Tous, 1997; Tous *et al.*, 2013).

La Méditerranée est sans aucun doute la région d'origine et de diversité de *C. siliqua* (Batlle et Tous, 1997; Melgarejo et Salazar, 2003; Viruel *et al.*, 2020) et, par conséquent, la région qui détient les ressources génétiques les plus importantes de cette espèce, nécessaires à la mise en œuvre de programmes d'amélioration génétique pour l'espèce (Mahdad et Gaouar, 2023).

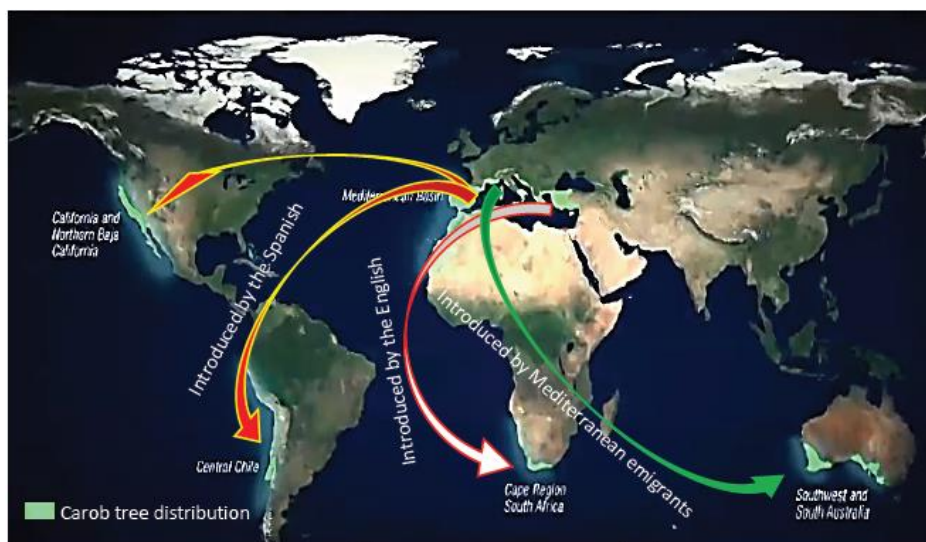


Figure 8 : distribution du caroubier dans le monde (Mahdad et Gaouar, 2023)

b. En Algérie

En Algérie, le caroubier est fréquemment cultivé dans l'Atlas Saharien et il est commun dans le Tell (Quézel et Santa, 1962). On le trouve à l'état naturel en association avec

Chapitre I : Aperçu sur le caroubier

l'amandier, *Olea europaea* et *Pistacia atlantica* dans les étages semi-aride chaud, subhumide et humide, à une altitude allant de 100 m à 1300 m dans les vallons frais qui le protègent de la gelée ; avec des températures de 5 °C à 20 °C et une pluviométrie de 200 mm à 600 mm/an (**Battle et Tous, 1997 ; Benmahioul et al., 2011**).

Ses lieux de prédilection sont les collines bien ensoleillées des régions littorales ou sublittorales, telles que le Sahel algérois, le Dahra, la Kabylie, la vallée de la Soummam (1074 ha) et de l'Oued-Isser, ainsi que les collines d'Oran et les coteaux de Mostaganem, dans les étages semi-arides chauds. Il est également présent dans les plaines d'Annaba, la Mitidja et les vallées intérieures (1054 ha). Le caroubier descend jusqu'à Bou-Saâda, bien qu'il n'y porte pas de fruit, et se trouve dans la zone des Traras au nord de Tlemcen (276 ha) (**Zitouni, 2010**).

Les régions côtières, comme les wilayas d'Alger, de Tipaza, de Blida, de Boumerdès et de Tizi Ouzou, sont propices à la culture du caroubier en raison de leur climat méditerranéen. De plus, les zones semi-arides du nord de l'Algérie, notamment les wilayas de Médéa, de Sétif, de Bordj Bou Arreridj et de Mila, sont également favorables à sa culture. Enfin, certaines zones montagneuses du nord de l'Algérie, telles que le massif de l'Atlas et les monts de Kabylie, offrent des conditions idéales pour la culture du caroubier grâce à leurs altitudes modérées et à leur climat méditerranéen (**Zitouni, 2010**).

Selon l'étude de **Gaouar (2011)**, l'aire de répartition du caroubier à Tlemcen inclut les régions de Sidi M'djahed, Sebra, Henaya, Tlemcen, Aïn Tellout, Sidi Abdelli, Remchi, Ben Sekran, Aïn Youcef et s'étend de Beni Saf jusqu'à Marsat Ben M'hidi. De plus, **Mahdad (2013)** a signalé que la répartition géographique du caroubier dans la région Nord-ouest de l'Algérie est représentée dans la **figure 9**.

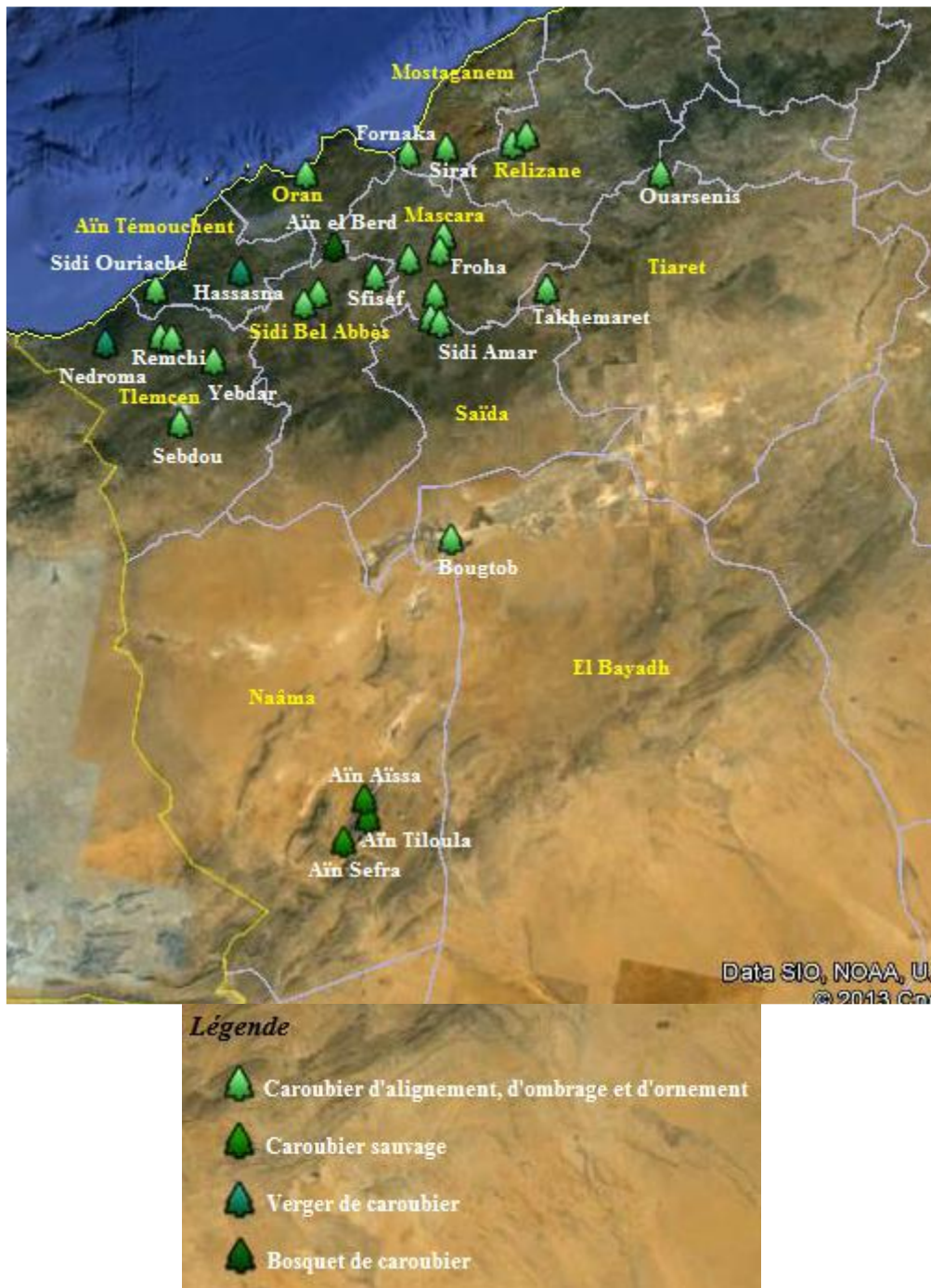


Figure 9 : Répartition géographique du caroubier dans le Nord-ouest de l'Algérie (Mahdad, 2013)

5. Composition chimique du caroubier

Ceratonia siliqua est apprécié pour sa riche composition chimique. Cette composition varie entre les différentes parties de l'arbre, notamment les graines, les gousses et les feuilles, et comprend une diversité de composés bioactifs (**tableau 2**).

Chapitre I : Aperçu sur le caroubier

1. Gousses et graines

Les recherches scientifiques ont démontré que la pulpe et les graines sont les deux principaux constituants de la gousse du caroubier, représentant respectivement 90% et 10% de son poids total (**Konaté, 2007**). La caroube est un mélange complexe de métabolites primaires et secondaires, avec une présence caractéristique de sucres et de fibres, suivie d'une grande diversité de polyphénols (**tableau 2**). De nombreux minéraux et acides aminés sont également présents dans les caroubes (**Goulas et al., 2016**).

Les gousses de caroube sont principalement utilisées pour leur teneur en sucres et en fibres alimentaires. Elles contiennent environ 48-56% de sucres totaux, dont le saccharose, le glucose et le fructose représentent les principaux constituants (**Battle et Tous, 1997**). Les fibres alimentaires, tant solubles qu'insolubles, représentent environ 35-40% du poids sec des gousses (**Marmouzi et al., 2015**). Ces fibres sont principalement composées de cellulose, d'hémicellulose et de lignine.

Les graines de caroube, quant à elles, sont riches en galactomannanes, une classe de polysaccharides utilisés dans l'industrie alimentaire comme épaississants et stabilisants (**Youssef et al., 2020**). Elles contiennent également des protéines (4-6%) et des lipides (0,6-0,8%), avec une présence notable de composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les tanins condensés (**Biner et al., 2007**). **Bouzouita et al. (2007)** ont évalué la composition chimique des graines et ont démontré qu'elles étaient pauvres en minéraux et en fibres. Selon **El Bouzdoudi et al. (2017)**, les graines présentent une teneur élevée en potassium (6,2 g/kg de matière sèche, 4,3 g/kg de matière fraîche et 0,305 mg/graine) et une très faible teneur en sodium (0,17 mg/kg de matière sèche, 0,13 mg/kg de matière fraîche et 0,01 mg/graine).

Tableau 2 : Composition chimique du caroubier (**Biner et al., 2007**).

La pulpe (90 %)	La graine (10 %)
Glucide 48 -72 %	L'enveloppe tégumentaire (cuticule) 30 -33%
Protéine 1- 2%	
Matière grasse 0,5-0,7%	
Cellulose et hémicellulose 18 %	L'endosperme (albumen) 42-46%
Minéraux (Ca, Mg, K, P)	L'embryon (germe) 23-25%
Pectine et fibres 4,2 à 9,6%	
Cendres 1,5 à 2,4%	
Poly phénols 16-20%	

2. Feuilles

Les feuilles du caroubier présentent une composition chimique complexe et riche en divers composés bioactifs. Elles contiennent notamment des polyphénols, des flavonoïdes et

Chapitre I : Aperçu sur le caroubier

d'autres composés phénoliques, ainsi qu'un profil minéral varié (**Avallone et al., 1997**). Parmi les flavonoïdes, la quercétine, la kaempférol et leurs dérivés glycosylés sont les plus abondants, connus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (**El Hajaji et al., 2010**). Les tanins et les acides phénoliques présents dans les feuilles contribuent également à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Bouzouita et al., 2007**).

Les polyphénols et flavonoïdes jouent un rôle crucial dans les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des feuilles du caroubier. **Ben Mansour et al. (2016)** ont mis en évidence des niveaux élevés de ces composés, soulignant leur potentiel bénéfique. Les feuilles sont également riches en minéraux essentiels, notamment en calcium, potassium et magnésium, importants pour diverses fonctions physiologiques (**Chaouche et al., 2014**).

Bien que moins étudiées, les huiles essentielles présentes dans les feuilles contiennent des composants volatils tels que des monoterpènes et des sesquiterpènes, qui ont des propriétés antimicrobiennes et antifongiques (**Ghanem et al., 2021**). Les propriétés antioxydantes des feuilles de caroubier, attribuées à leur riche contenu en polyphénols et flavonoïdes, ont été démontrées par **Nasr et al. (2017)**, montrant leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à protéger contre le stress oxydatif.

Outre les polysaccharides et les polyphénols, le caroubier renferme également des alcaloïdes, des saponines et des vitamines. Par exemple, les gousses contiennent des quantités significatives de vitamine E, principalement sous forme de tocophérols, et de vitamine C (**Santos et al., 2013**). Ces vitamines contribuent à l'effet antioxydant global des extraits de caroube (**tableau 3**).

La composition chimique des différents constituants du caroubier dépend généralement du cultivar, du sexe de la plante, de l'origine ou de la zone de culture et parfois de la période de récolte, ainsi que des conditions édapho-climatiques (**Avallone et al., 1997; Batlle et Tous, 1997; Benmahioul et al., 2011; Chaouche et al., 2014; Youssef et al., 2020**).

Chapitre I : Aperçu sur le caroubier

Tableau 3 : Composés phytochimiques de chaque partie de la plante *Ceratonia siliqua* (Guendouz et Mansouri, 2022)

Partie de <i>Ceratonia siliqua</i>	Composés phytochimiques
Feuilles	Acide gallique, kaempférol, acide tannique, hydrate, polydatine, quercétine, rutine, biocanine, myricétine, naringénine, génistéine, catéchine, taxifoline épigallocatechine-3-gallate, épicatechine-3-gallate.
Gousses	Sucres (saccharose, fructose, glucose, xylose), catéchine, épicatechingallate, épigallocatechingallate, épigallocatechine, quercétine, hydroxytyrosol, acide tannique, acide gallique, acide protocatechuique, acide gentisique, acide syringique, acide p-coumarique, m-coumarique Acide, acide synaptique, acide benzoïque, théophylline Lésion gastrique.
Graines	
Endosperme	Galactomannane, rhamnose, arabinose, xylose, mannose, glucose galactose .
Germe	Acide gallique, catéchine, acide gentisique, acide férulique, vanilline, théophylline, acides gras (acide oléique, acide linoléique, acide palmitique, acide stéarique), tous les acides aminés essentiels (acide glutamique).

6. Utilisation et propriétés biologiques de *C. siliqua* L. :

Le caroubier se présente comme une essence à la fois forestière et arboricole. Il est d'une grande importance socio-économique et écologique, car toutes ses parties (feuilles, fleurs, fruits, bois, écorces et racines) sont utiles et ont des valeurs dans plusieurs domaines.

6.1. Arbre :

L'arbre du caroubier est utilisé de manière polyvalente : il contribue au reboisement et à la reforestation des zones touchées par l'érosion et la désertification (Biner *et al.*, 2007). En parallèle, il est apprécié comme plante ornementale le long des routes et dans les jardins, grâce à ses feuilles persistantes et son port élégant (Batlle et Tous, 1997 ; Gaouar, 2011). Cette double fonctionnalité, à la fois écologique et ornementale, confère au caroubier une valeur inestimable dans les efforts de préservation de l'environnement et d'amélioration du cadre de vie urbain.

De par ses multiples usages, le caroubier trouve également des applications dans divers domaines techniques : il est utilisé en imprimerie, photographie, textile, matière plastique,

encre, cirage et matières adhésives (**Battle et Tous, 1997**). Le bois, connu sous le nom de carouge, est dur à grain fin ; il est utilisé pour la fabrication d'ustensiles et la production de combustible, tout en étant estimé dans la charbonnerie et la menuiserie (**Hariri et al., 2009**). L'écorce du caroubier a toujours été utilisée en tannerie, notamment dans l'achèvement et l'émaillage des peaux. De plus, l'extrait méthanolique des écorces de *C. siliqua* a montré une réduction significative ($P \leq 0,001$), justifiant ainsi l'usage traditionnel du caroubier dans le traitement des affections inflammatoires (**Lachkar et al., 2016**). En effet, le caroubier est une plante mellifère car ses fleurs sont très butinées par les abeilles, et sont utilisées par les apiculteurs pour la production du miel de caroube ou miel d'automne (**Rejeb et al., 1991 ; Gharnit, 2003**).

6.2. Feuilles

Les feuilles du caroubier sont une ressource précieuse souvent sous-estimée par rapport aux fruits et aux graines de cette plante, malgré leurs nombreuses applications potentielles. Elles sont largement utilisées comme fourrage pour le bétail, surtout dans les régions méditerranéennes où la plante est cultivée, en raison de leur richesse en protéines, fibres et autres éléments nutritifs essentiels (**Silanikove et al., 2006**).

En outre, les feuilles de caroubier sont utilisées pour produire du compost de haute qualité en raison de leur teneur élevée en matière organique. Ce compost organique est ensuite utilisé comme engrais naturel pour améliorer la fertilité des sols et soutenir une agriculture durable.

Plusieurs études ont également mis en évidence d'autres utilisations bénéfiques des feuilles de caroubier. L'association des feuilles avec le polyéthylène glycol (PEG) a été montrée pour améliorer la digestibilité et la qualité nutritive des tanins qu'elles contiennent (**Priolo et al., 2000**). En médecine traditionnelle, les feuilles sont utilisées pour traiter divers maux tels que la diarrhée en Turquie (**Rtibi et al., 2015 ; Custódio et al., 2015 ; Rtibi et al., 2018**).

Les feuilles de *C. siliqua* sont également reconnues pour leurs propriétés pharmacologiques diverses, incluant des activités antivirales (**Al-Hadid, 2016**), anxiolytiques et sédatives (**Avallone et al., 2002**), ainsi qu'antioxydantes (**El-Hajaji et al., 2011 ; Dallali et al., 2018 ; Ghanemi et al., 2021**), cytotoxiques, antimicrobiennes et antifongiques (**Kivçak et Mert, 2002 ; Custodio et al., 2011 ; Fadel et al., 2011 ; Meziani et al., 2015 ; Meziou-Chebouti et al., 2015**).

Des études récentes ont également exploré l'effet potentiel des extraits de feuilles et de gousses de caroubier sur l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales (**Ghanemi et Belarbi, 2021 ; Gregoriou et al., 2021**) et leur activité hépatoprotectrice (**Ibrahim et al.,**

2013). De plus, l'extrait de feuille de caroubier a montré des effets protecteurs contre les dommages oxydatifs induits chez les rats (**Ben Hsouna et al., 2011**).

Enfin, les feuilles de *C. siliqua* ont démontré un fort potentiel antioxydant et pourraient avoir des effets anti-inflammatoires en inhibant l'activité des neutrophiles MPO (myéloperoxydase) (**Rtibi et al., 2016b ; Rtibi et al., 2017**).

6.3. Gousses

En Égypte, les sirops à base de fruits de caroube constituent une boisson populaire (**Batlle et Tous, 1997**). Les Arabes fabriquent avec la pulpe une boisson alcoolisée, tandis que les Kabyles utilisent le fruit pour préparer un plat appelé tomina (**Bonnier, 1990**). Au Liban, les gousses de caroube sont principalement utilisées pour extraire la mélasse ou "débés", connue sous le nom de mélasse de caroube, et pour la fabrication d'un produit laitier artisanal appelé "Mekika", spécifique à la région (**Haddarah et al., 2013**).

Les gousses du caroubier ont été, jadis, utilisées en Égypte dans la médecine traditionnelle. Mélangées à de la bouillie d'avoine, du miel et de la cire, elles soignaient la diarrhée. Les caroubes figuraient également dans des préparations vermifuges et soignaient les troubles visuels et les infections oculaires (**Iserin, 1997**).

Selon certains auteurs, les fibres solubles de la pulpe de caroube peuvent avoir un effet préventif ou curatif sur la santé humaine et animale, en réduisant le risque de thrombose grâce à la diminution de la pression sanguine et du niveau de cholestérol dans le sérum (**Konate, 2007**). En thérapeutique, cette essence est connue pour ses effets hypocholestérolémiant, antiprolifératif, antidiarrhéique et laxatif, ainsi que pour son rôle nourrissant (**Berrougui, 2007**). Par ailleurs, elle joue un rôle effectif dans la suppression des parasites intestinaux (**Min et Hart, 2003**) et dans le traitement de la diarrhée (**Serairi-Béji et al., 2000**).

Après l'écrasement des gousses et la séparation de la pulpe et des graines, les produits dérivés de ces deux éléments sont principalement utilisés dans plusieurs domaines, comme indiqué dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Principaux produits de la caroube (pulpe et graines) et leurs utilisations majeures

Produits	Traitement reçu	Utilisations
Pulpe		
Brute	Aucun	Alimentation animale Cheval et ruminants) (Ait Chitt et

Chapitre I : Aperçu sur le caroubier

		<i>al.,2007)</i>
	Moulage	Alimentation humaine et animale (ruminants et non ruminants) (Sahle et al., 1992 ; Lizardo et al., 2002))
	Extraction et purification	Sucre et mélasse
	Fermentation et distillation	Alcool et production de protéines microbiennes (Turhan et al., 2010; Yatmaz et al., 2012; Germeç et al., 2015 ; Yatmaz et al., 2016; Germec et al., 2017))
	Extraction	Tanins comme anti-diarrhée
Poudre	Lavage, séchage,	Ingrédients alimentaires (Tsatsaragkou et al., 2014; Biernacka et al., 2017; Arribas et al., 2019 ; Salih et Jilal, 2020)); substituant du cacao (Durazzo et al., 2014))
	torréfaction et moulage	préparation de produits diététiques et pharmaceutiques (Nassar-Abbas et al., 2016; Rtibi et al.,2016a))
Graine		
Endosperme	Moulage	CBG ou E-410; aditifs alimentaires; fibre diététique; aliments pour mascottes ;

Chapitre I : Aperçu sur le caroubier

		produits pharmaceutiques et cosmétiques (Goncalves et Romano, 2005 ; Berrougui, 2007 ; Biner et al., 2007; Dakia et al., 2007 ;Sandolo et al., 2007; Mattaus et Ozcan, 2011;Prajapati Vipul et al., 2013)
Embryon	Moulage	Farine de germe; nutrition humaine et animale (Dakia et al., 2007)
Episperme	Extraction	Tanins pour le tannage des cuirs Biofertilisant (Parrado et al., 2008)

1. Métabolites secondaires

Les plantes produisent des métabolites dits « secondaires », par opposition aux métabolites primaires tels que les protéines, les glucides et les lipides. Ces métabolites secondaires, biosynthétisés naturellement, incluent de nombreux composés aux propriétés thérapeutiques utilisées en médecine traditionnelle et moderne (Nguyen *et al.*, 2019). Ils sont classés en trois catégories principales : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (Krief, 2003 ; Awuchi et Godswill, 2019).

1.1. Les polyphénols

Les polyphénols constituent l'un des groupes de substances les plus répandus chez les plantes après les terpénoïdes. À ce jour, plus de 8000 structures différentes de polyphénols ont été identifiées (Pandey et Rizvi, 2009), englobant une grande variété de molécules constituées d'un ou de plusieurs cycles aromatiques avec des degrés variables d'hydroxylation, de méthylation et de glycosylation (Manganaris *et al.*, 2014). Les principales catégories de composés phénoliques présents dans la caroube sont les acides phénoliques, les gallotannins et les flavonoïdes (Goulas *et al.*, 2016).

1.1.1. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques forment un vaste groupe de substances chimiques, caractérisées par la présence d'au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyle (figure 10). On distingue différentes classes de polyphénols, notamment les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Manach *et al.*, 2004). La classification des polyphénols repose sur leur structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui les lient. Ils se divisent en deux grands groupes : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Boros, 2010).

1.1.1.1. Les composés phénoliques simples

a- Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Cette classe est subdivisée en deux sous classes : les acides benzoïques de structure C6-C1 (acide gallique, protocatéchique, vanilique, p-hydroxybenzoïque, et syringique) et les acides cinnamiques caractérisés par un squelette en C6-C3 (acide p-coumarique, caféique, férulique et l'acide sinapique) (Balasundrum *et al.*, 2006). La caroube est l'une des sources les plus riches d'acide gallique puisque sa teneur a été estimée entre 23,7 mg/100g et 164,7 mg/100 g (Owen *et al.*, 2003 ; Ayaz *et al.*, 2007). Selon la base de données Phenol-Explorer, seuls les châtaigniers et les clous de girofle avaient une teneur en acide gallique plus élevée que les caroubes. L'acide syringique, l'acide 4-

hydrobenzoïque et l'acide gentisique sont également des acides benzoïques que l'on trouve dans la caroube (Goulas *et al.*, 2016).

La concentration d'acides cinnamiques dans les caroubes est relativement faible; des extraits de caroubes contiennent de l'acide cinnamique, de l'acide coumarique, de l'acide férulique et de l'acide chlorogénique(Ortega *et al.*,2009 ;Roseiro *et al.*,2013 ; Custodio *et al.*,2011).

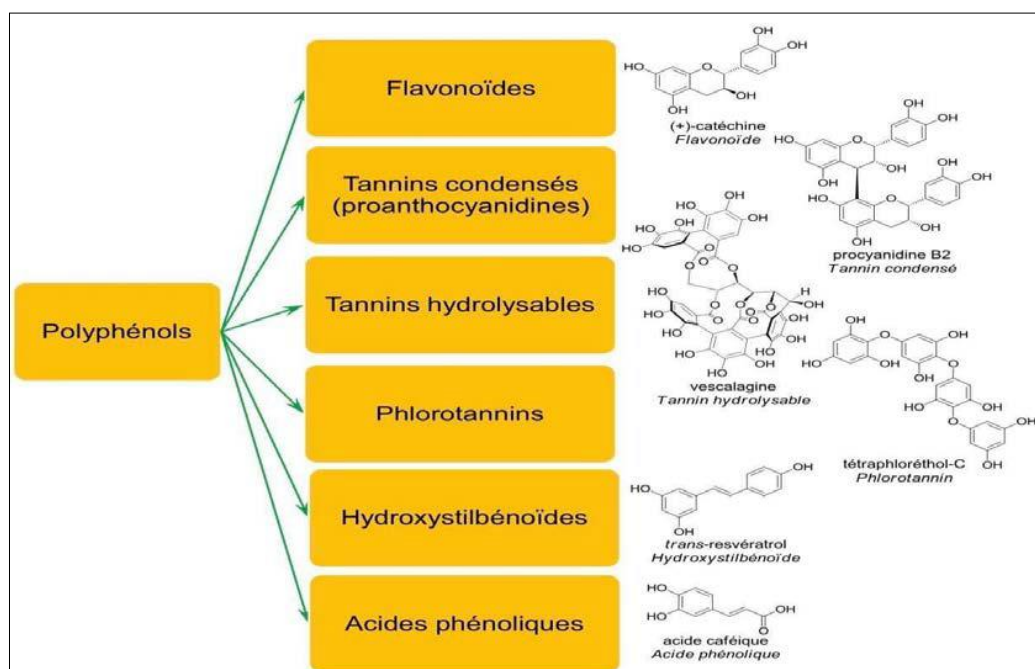


Figure 10 : Les différentes classes des composés phénoliques (Patel, 2015)

b- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal, reconnus pour leur pigmentation qui contribue à la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ces composés tirent leur nom du latin « flavus », signifiant jaune (Guignard, 2000 ; Bouakaz, 2006). Leur structure de base, le diphenylpropane (C6-C3-C6), se compose de deux anneaux benzéniques (A et B) reliés par un anneau pyrane oxygéné (C) (Bruneton, 1999).

Ces composés peuvent être présents sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides, et se trouvent dans diverses parties des plantes telles que les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits (Erlund, 2004 ; Seladji, 2015). Ils sont synthétisés dans les chloroplastes et migrent ensuite vers les vacuoles cellulaires (Piquemal, 2008). Les flavonoïdes jouent un rôle important en tant que pigments quasi universels des végétaux (Verhoeyen *et al.*, 2002). Ils possèdent également diverses activités biologiques, notamment

antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses, grâce à leur capacité à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH•) et superoxydes.

Les flavonoïdes partagent une origine biosynthétique commune et possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone. Ils sont classés en six principales classes (**figure 11**) : flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (**Medié-Sarié *et al.*, 2004; Balasundram *et al.*, 2006**). Environ 6500 flavonoïdes ont été identifiés, répartis en 12 classes, et ce nombre continue de croître (**Harborne et Williams, 2000**). Ces composés montrent des variations structurales au sein de chaque classe, influencées par le nombre et la disposition des groupes hydroxyle, ainsi que par leur degré d'alkylation et de glycosylation (**Pandey et Rizvi, 2009; Spencer *et al.*, 2008**). Cette diversité structurale contribue à leurs propriétés biologiques variées, telles que leurs effets antioxydants, anti-inflammatoires et autres activités bénéfiques pour la santé (**Spencer *et al.*, 2008**).

Les rhamnosides de quercétine et de myricétine sont généralement les flavonoïdes les plus abondants dans la nature. En revanche, la présence de flavones comme l'apigénine, la lutéoline et la chrysoérine, de flavanones comme la naringénine, ou d'isoflavones comme la génistéine, peut être moins fréquente selon les sources (**Owen *et al.*, 2003; Ortega *et al.*, 2009**).

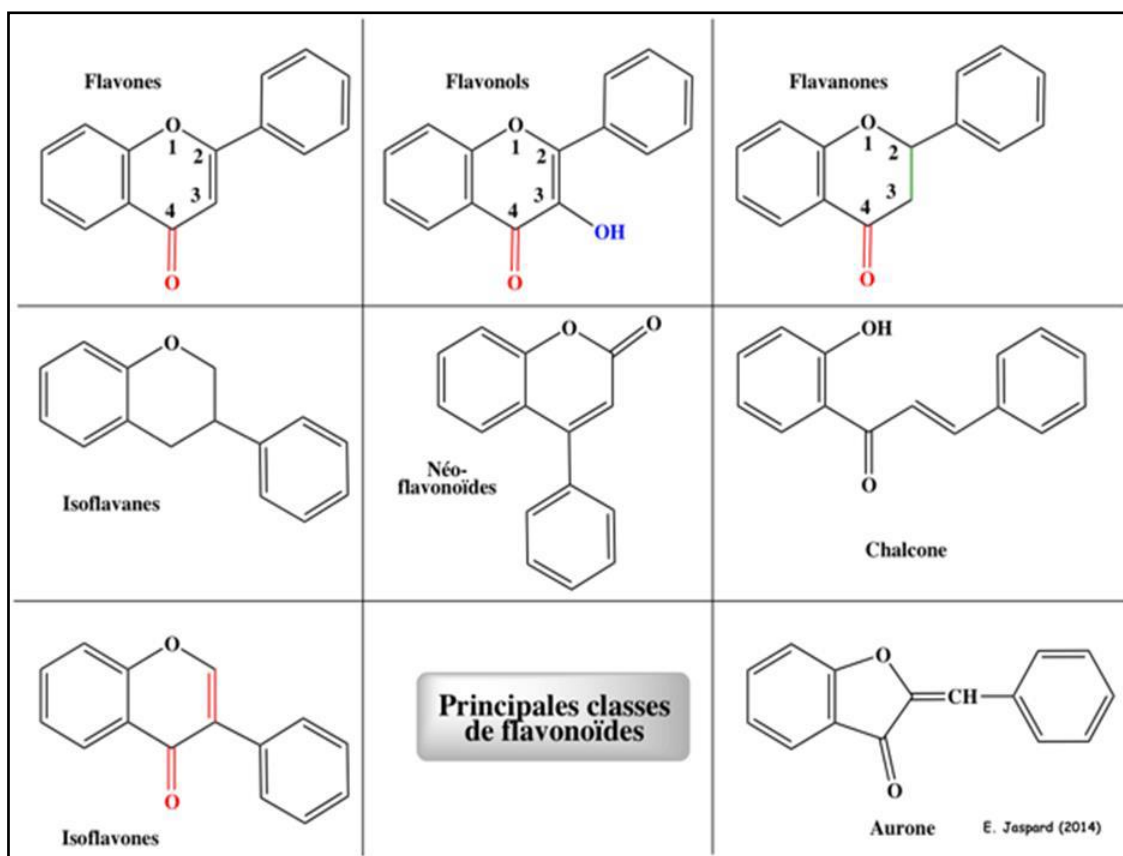


Figure11 : Principales classes de flavonoïdes (Jaspard, 2014).

c- Les anthocyanes :

Les anthocyanes sont des pigments végétaux appartenant à la famille des flavonoïdes, caractérisés par leur structure de base commune, le cation flavylum ou 2-phényl-1-benzopyrilium. Ces composés sont généralement glucosylés en position C-3 (**figure 12**), ce qui les distingue par leur diversité de couleur allant du bleu, au rouge, mauve, rose et orange (**Tanaka et al., 2008**). Les anthocyanes se différencient par le nombre et la position des groupes hydroxyle et méthyle sur leur noyau B, influençant ainsi leur teinte spécifique dans les plantes telles que l'*Arbutus unedo* L. (**Fadi, 2011**).

Les anthocyanes sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits, apportant des nuances vives et variées grâce à leur capacité à absorber différentes longueurs d'onde de lumière visible. Ces pigments sont utilisés comme antioxydants pour neutraliser les radicaux libres dans le corps, favorisant ainsi une bonne circulation, en particulier dans les zones comme le cœur, les mains, les pieds et les yeux (**Fadi, 2011**).

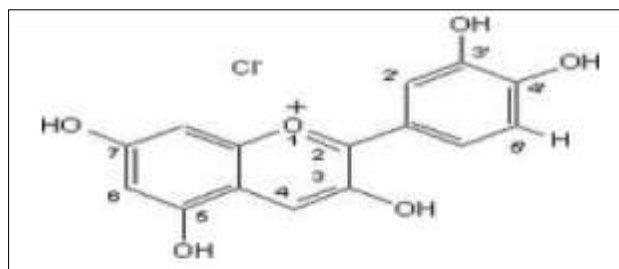


Figure 12: Exemple d'un anthocyane : la cyanidine (**Fadi, 2011**).

d- Les coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles présentes dans le règne végétal, caractérisées par leur structure de base, le noyau benzo- α pyrone résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy-cis cinnamique (**Aharoni et Galili, 2011**). Ces composés sont synthétisés dans les feuilles et s'accumulent principalement dans les racines, les écorces et les tissus âgés ou lésés des plantes.

Les coumarines sont classées en deux catégories principales : les coumarines simples, souvent avec des substitutions en position 6 et 7 (OH ou OCH₃), et les coumarines complexes, comprenant les furocoumarines (furobenzo- α -pyrones), les pyranocoumarines (benzodipyran-2-ones) et les phénylcoumarines (benzo-benzo-pyrones) Chaque groupe varie selon la fusion avec des cycles furane, pyrane ou phényl sur le noyau coumarine simple. Elles sont utilisées dans divers domaines tels que l'industrie alimentaire pour leur arôme, et dans l'industrie pharmaceutique pour leurs propriétés anti-inflammatoires et leurs effets bénéfiques sur la perméabilité capillaire, notamment par des composés comme l'esculétine et l'esculine (**Aharoni et Galili, 2011**).

1.1.1.2. Les composés phénoliques complexes

➤ Les tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires présents dans diverses parties des plantes vasculaires, notamment les racines, l'écorce, les feuilles, les fruits non mûrs et les galles. Ils sont caractérisés par leur nature phénolique, constituant des polyphénols hydrosolubles avec une masse moléculaire variant entre 500 et 3000 kDa. Une fonction clé des tanins est de protéger les plantes contre les parasites et les herbivores (**Frutos et al., 2004**). Les tanins sont divisés en deux principales catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**figure 13**). Les tanins hydrolysables, tels que les gallotanins et les ellagitannins, libèrent respectivement de l'acide gallique et de l'acide ellagique lors de l'hydrolyse (**Aharoni et Galili, 2011**). En revanche, les tanins condensés, également appelés proanthocyanidines, sont

des polymères de flavan-3-ols qui produisent des anthocyanidines sous l'effet de la chaleur dans un milieu acide (**Balasundram *et al.*, 2006**).

Les tanins constituent le groupe le plus caractéristique de polyphénols dans les caroubes et contribuent à leur astringence. Dans le jus de caroube, la concentration en tanins est dix fois plus élevée que dans le jus de raisin et elle diminue avec l'avancement de la maturation des fruits (**Rababah *et al.*, 2011**). Les tanins sont classés en formes hydrolysables et condensées (ou non hydrolysables). En général, les tanins hydrolysables sont considérés comme esters multiples d'acide gallique ou ellagique avec glucose et produits de leurs réactions oxydatives et sont connus sous le nom de tanins galloylés et ellagitannins, respectivement (**Manganaris *et al.*, 2014**).

Avallone *et al.* (1997) ont signalé la présence de tanins hydrolysables et condensés dans différentes parties de la caroube. En particulier, les gousses de caroube contiennent une valeur moyenne de 2,75 mg de tanins condensés/g et 0,95 mg de tanins hydrolysables/g. D'un point de vue chimique, les tanins de caroube sont principalement des tanins condensés (proanthocyanidines), composé de groupes flavan-3-ol et de leurs esters galloylés, acide gallique, (+)-catéchine, (-)-gallate épicatechine, (-)-gallate d'épigallocatechine, delphinidine, pelargonidine et cyanidine (**Owen *et al.*, 2003**; **Papagiannopoulos *et al.*, 2004**). Ces composés phénoliques sont dotés de certaines activités résumées dans le **Tableau 5**.

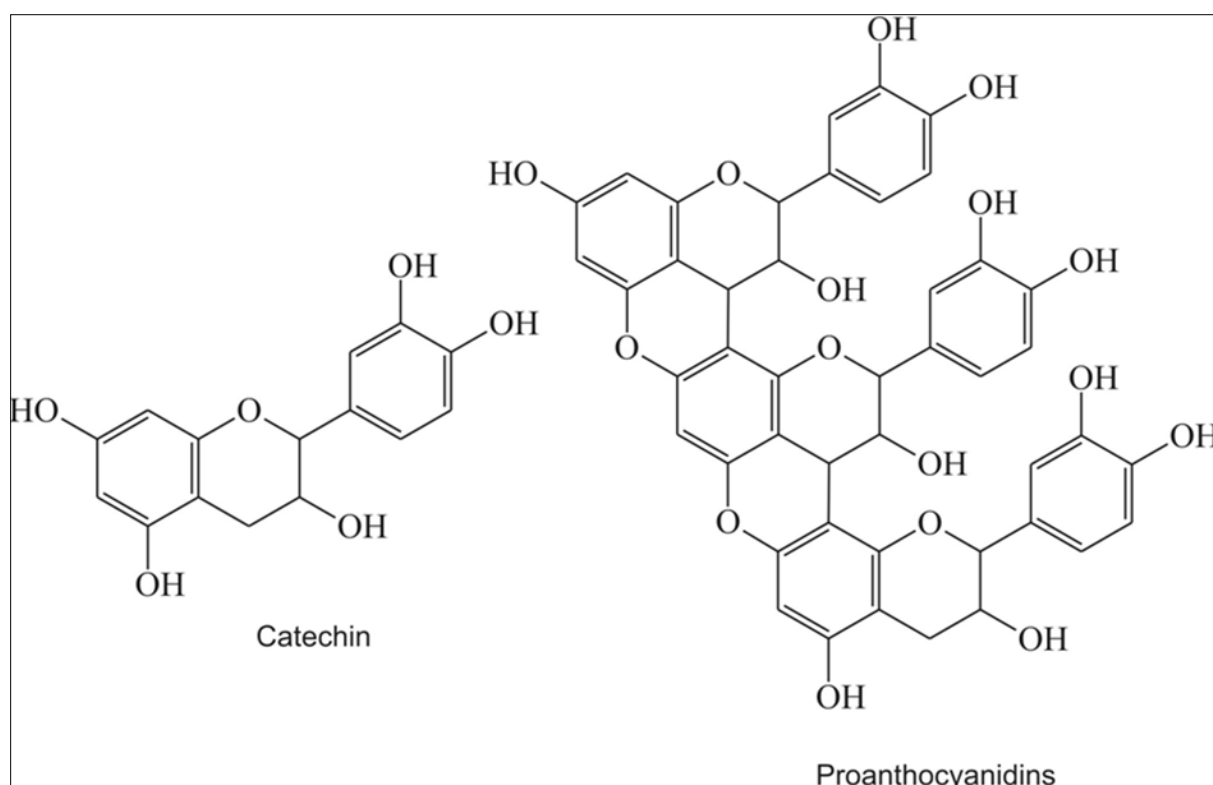


Figure 13 : Principales formes des tanins condensés (**Rauha, 2001**)

Tableau 5: Les activités biologiques des composés phénoliques (**bahorun ,1997**).

Polyphénols	Activités
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Anti oxydantes
Coumarine	Protectrices vasculaires et antiœdémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Aticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capilaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydante Atitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes

1.2. Les terpènes :

Les terpènes sont des composés organiques aromatiques dérivés de l'isoprène, un hydrocarbure à cinq atomes de carbone. Présents dans une variété de végétaux, ils jouent un rôle crucial dans plusieurs interactions biotiques, notamment la protection, la défense et la régulation du métabolisme des plantes (**Awuchi et Godswill, 2019**). Leur forte odeur les rend précieux pour la production d'huiles essentielles utilisées en aromathérapie et en parfumerie, ainsi que pour leurs usages médicaux traditionnels.

Les saponines, quant à elles, sont des composés largement présents dans de nombreuses plantes médicinales. Leur nom dérive du latin "sapo", signifiant savon, en référence à leur capacité à produire de la mousse lorsqu'elles sont agitées dans l'eau (**Donatien, 2009**). Les saponines existent sous deux formes principales : les saponines stéroïdes et les saponines triterpénoïdes, toutes deux ayant des structures chimiques similaires aux hormones humaines telles que l'œstrogène et la cortisone. Par exemple, la saponine stéroïde issue de l'igname sauvage est utilisée dans la fabrication de contraceptifs oraux (**Fadi, 2011**). Les saponines triterpénoïdes, comme celles présentes dans la réglisse et la primevère, sont souvent utilisées pour leurs propriétés expectorantes et pour faciliter l'absorption des aliments.

1.3. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des composés naturels largement présents dans divers groupes de plantes, avec plus de 3 000 types différents identifiés à ce jour (**Fadi, 2011**). Ils se distinguent en trois principaux types : les alcaloïdes non hétérocycliques ou atypiques, tels que la

colchicine ; les pseudo-alcaloïdes, dérivés de terpénoïdes ou de purines ; et les alcaloïdes hétérocycliques ou typiques (Mauro, 2006). Ces composés sont localisés dans toutes les parties des plantes, bien que leur accumulation spécifique dépende de l'espèce végétale, se concentrant souvent dans les écorces, les racines, les feuilles ou les fruits.

Du point de vue de la structure chimique, les alcaloïdes forment un groupe diversifié de composés contenant un groupe amine, caractérisé par un atome d'azote avec une paire d'électrons libres, associé à un ou plusieurs atomes de carbone et d'hydrogène.

La biosynthèse des alcaloïdes provient généralement d'acides aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'aspartate, l'antranilate, la phénylalanine et la tyrosine, qui subissent des processus de décarboxylation pour former des amines, lesquelles sont ensuite couplées à d'autres squelettes carbonés pour former des structures complexes. Des composés tels que la strictosidine et la norcoclaurine sont des précurseurs centraux dans la biosynthèse, contribuant à une grande diversité d'alcaloïdes connus (Fadi, 2011).

2. Pouvoir antimicrobien

Un antimicrobien est une substance chimique, naturelle ou synthétique, capable de tuer les microorganismes ou d'inhiber leur croissance. L'efficacité de ces substances dépend de divers paramètres physiques tels que la température, le pH et l'humidité (Lee *et al.*, 2010). Les composés phénoliques, en particulier, possèdent divers mécanismes d'action antimicrobiens. Ils peuvent agir en oxydant ou en dénaturant les protéines bactériennes (Shiota *et al.*, 2004), altérer les structures membranaires des bactéries, ou encore inactiver des fonctions cellulaires essentielles (Eldeen *et al.*, 2005; Song *et al.*, 2007; Hamouda Ali et Doumandji, 2017). De plus, ces composés sont capables de perturber les membranes cellulaires bactériennes, d'inhiber la synthèse des acides nucléiques et des protéines, ainsi que d'induire des dommages oxydatifs à l'intérieur des cellules bactériennes (Alcaráz *et al.*, 2000).

2.1. Activité antimicrobienne

2.1.1. Les antibiotiques

Un antibiotique est une substance chimique produite par des micro-organismes, capable d'inhiber la croissance et même de détruire les bactéries et autres micro-organismes. Les microbes sont sélectifs : certains organismes sont affectés, tandis que d'autres ne le sont pas du tout ou seulement dans une mesure limitée. Ainsi, chaque antibiotique possède un spectre antibactérien spécifique (Bentley et Bennett, 2003).

2.1.2. Mode d'action des antibiotiques

Le mode d'action des antibiotiques est généralement soit bactériostatique, empêchant le développement microbien, principalement observé avec les tétracyclines, phénicolés et

macrolides, soit bactéricide, détruisant les germes, associé aux bêtalactamines, aminosides et polypeptides (Lewis, 2013 ; Etebu et Arikekpar, 2016). Ces antibiotiques ciblent principalement quatre mécanismes d'action :

- Perturbation de la formation de la paroi bactérienne : Pénicillines, céphalosporines, vancomycine, polymyxines.
- Inhibition de la synthèse protéique : Chloramphénicol, streptomycine, érythromycine.
- Blocage de la réplication de l'ADN bactérien : Quinolones.
- Inhibition de la synthèse de l'ARN : Rifampicine.
- Modification du métabolisme énergétique de la bactérie : Sulfamides, triméthoprime.

2.1.3. Résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance bactérienne se définit par la capacité d'un micro-organisme à croître en présence d'un agent antimicrobien qui, en temps normal, empêche ou ralentit sa croissance. On parle de résistance naturelle lorsqu'elle est liée aux caractéristiques génétiques normales de l'espèce bactérienne. En revanche, la résistance est dite acquise lorsqu'elle affecte des souches d'une espèce bactérienne normalement sensible. Les bactéries ont démontré leur capacité à augmenter leur résistance aux antibiotiques par divers mécanismes, dont l'efficacité et la nature varient selon les espèces et les produits. Les principales stratégies connues sont de quatre types (Levinson, 2014 ; Paolozzi et Liébart, 2015) :

- **Production d'enzymes inactivatrices des antibiotiques** : par exemple, les bêta-lactamases.
- **Modification des cibles des antibiotiques** : empêchant l'action de ces derniers.
- **Diminution de la perméabilité cellulaire** : réduisant l'entrée des antibiotiques dans la cellule.
- **Réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotiques** : souvent due à un transport actif vers l'extérieur de la cellule via des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux.

2.1.4. Micro-organismes utilisés dans les tests antimicrobiens

➤ *Escherichia coli* : est une bactérie Gram-négative en forme de bâtonnet, couramment trouvée dans l'intestin des animaux à sang chaud, où elle est un membre commensal du microbiote intestinal. Bien que la plupart des souches soient inoffensives, certaines peuvent causer des infections graves, telles que des infections urinaires, des gastro-entérites et des méningites, et présentent une prévalence supérieure à 90 % chez l'homme. Ces infections sont souvent courantes et peuvent être associées à une morbidité et une mortalité

élevées. *E. coli* est également utilisée comme indicateur de contamination fécale et est un organisme modèle en biologie moléculaire et en microbiologie. La résistance aux β -lactamines chez *E. coli* est principalement due à la présence de gènes codant pour des β -lactamases, telles que les ESBLs et les AmpC, et, plus rarement, des carbapénémases, qui inactivent une large gamme d'antibiotiques, rendant le traitement des infections plus difficile (Poirel *et al.*, 2018 ; Liu *et al.*, 2020 ; Denamur *et al.*, 2021).

➤ *Staphylococcus aureus* est une bactérie Gram-positif en forme de cocci, souvent trouvée sur la peau et les muqueuses des humains et des animaux. C'est l'un des principaux agents pathogènes responsables d'infections nosocomiales et communautaires. Elle peut causer une variété de maladies infectieuses, telles que des infections cutanées bénignes, l'endocardite infectieuse, l'ostéomyélite, la bactériémie et une pneumonie fatale (Turner *et al.*, 2019 ; Guo *et al.*, 2020). *S. aureus* est particulièrement connue pour sa capacité à développer des résistances aux antibiotiques, notamment la souche MRSA (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline). Appartenant au genre *Staphylococcus* du phylum Firmicutes, cette bactérie a un diamètre d'environ 0,8 μm et forme des grappes ressemblant à des raisins sous le microscope. Elle se développe à 37 °C et à un pH de 7,4. Les colonies sur gélose au sang sont épaisses et hémolytiques, formant un anneau transparent autour des colonies. *S. aureus* produit également un pigment jaune doré caractéristique et est capable de décomposer le mannitol. La résistance aux β -lactamines chez cette bactérie est due à la production de β -lactamases et à des modifications des protéines de liaison à la pénicilline (PLP). La résistance à la méthicilline est surveillée à l'échelle mondiale, avec des variations significatives entre les régions, y compris en Afrique subsaharienne où la prévalence est en augmentation (Foster, 2002; Turner *et al.*, 2019; Da *et al.*, 2023).

➤ *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie Gram-négative en forme de bâtonnet, réputée pour sa grande résistance aux antibiotiques et sa capacité à survivre dans des environnements hostiles (Wu *et al.*, 2015). Pathogène opportuniste, elle cause des infections sévères chez les patients immunodéprimés ou hospitalisés, telles que les infections des voies respiratoires, les infections urinaires et les infections des plaies. Elle est également un agent pathogène majeur dans les infections pulmonaires chroniques chez les patients atteints de mucoviscidose. *P. aeruginosa* se développe de manière optimale entre 25°C et 37°C et peut croître jusqu'à 42°C, ce qui la distingue des autres espèces de *Pseudomonas*. Elle produit plusieurs pigments, dont la pyocyanine (bleu-vert), la pyoverdine (jaune-vert fluorescente) et la pyorubine (rouge-brun). Possédant un unique flagelle polaire, *P. aeruginosa* utilise ce flagelle pour l'adhérence, la motilité et la formation de biofilms. Cette bactérie est

fréquemment identifiée dans les infections respiratoires aiguës chez les patients sous ventilation, ainsi que dans les infections respiratoires chroniques chez les patients atteints de fibrose kystique, avec une mortalité élevée dans les cas de pneumonie associée à la ventilation mécanique (Chastre et Trouillet, 2000 ; Chastre et Fagon, 2002). *P. aeruginosa* présente une résistance intrinsèque à plusieurs classes d'antibiotiques, grâce à des mécanismes tels que les pompes d'efflux multi-drogues, les enzymes de modification des aminoglycosides, les bêta-lactamases et les mutations des sites cibles de la gyrase de l'ADN et de la topoisomérase IV (Kerr et Snelling, 2009).

➤ *Aspergillus brasiliensis* est un champignon filamentueux du genre *Aspergillus*, étroitement lié à *Aspergillus niger*. Il est souvent utilisé en laboratoire pour des études sur la biodégradation et la production de diverses substances. Ce champignon est un contaminant alimentaire courant, omniprésent dans le sol et régulièrement signalé dans les espaces fermés tels que les sites industriels. Il est également connu pour sa capacité à produire des enzymes utiles dans divers processus industriels, comme la production d'enzymes alimentaires et la bioconversion de substrats organiques. *Aspergillus brasiliensis* cause rarement des maladies chez l'homme, contrairement à d'autres espèces d'*Aspergillus*. Cependant, dans ces rares cas, il peut entraîner une maladie pulmonaire grave appelée aspergillose (Manikandan *et al.*, 2010).

2.1.5. Effet antimicrobien du caroubier

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est une plante reconnue pour ses propriétés antimicrobiennes, largement attribuées à ses composés phénoliques, tels que les flavonoïdes et les tanins (Owen *et al.*, 2003 ; Papagiannopoulos *et al.*, 2004). Ces composés phénoliques sont capables d'inhiber la croissance des micro-organismes pathogènes et peuvent être utilisés comme agents antimicrobiens naturels dans des applications thérapeutiques et alimentaires. Ben Harath *et al.* (2019) ont démontré que les extraits de feuilles de caroubier possèdent une activité antimicrobienne significative contre plusieurs souches bactériennes, y compris *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Ces effets sont principalement attribués à la présence de flavonoïdes spécifiques, tels que la quercétine et la myricétine, connus pour leurs propriétés antibactériennes (Papagiannopoulos *et al.*, 2004).

Les tanins présents dans les extraits de caroubier contribuent également à cette activité antimicrobienne. Les tanins sont capables de précipiter les protéines, entraînant la déstabilisation des membranes cellulaires bactériennes et, par conséquent, la mort des cellules bactériennes (Cowan, 1999). Les propriétés antimicrobiennes du caroubier ne se limitent pas aux extraits de feuilles. Les graines et les gousses de caroubier montrent également des effets

antimicrobiens. Une étude menée par **Boublenza *et al.* (2018)** a révélé que les extraits de graines de caroubier présentent une activité inhibitrice notable contre des bactéries Gram-positives et Gram-négatives, ainsi que contre des levures pathogènes. Cette activité a été attribuée aux polyphénols et à d'autres composés bioactifs présents dans les graines.

Partie 2: Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

Les différentes expérimentations ont été effectuées au niveau de :

- L'Université de Khemis Miliana, où nous avons préparé les extraits éthanolique et aqueux, effectué le screening phytochimique, et dosé les métabolites secondaires de la plante au laboratoire de Biochimie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- Laboratoire privé d'analyses médicales de M. Zibouche à Ain Defla, où nous avons déterminé les activités biologiques des extraits de feuilles du caroubier (antibactérienne et antifongique).

Le protocole expérimental suivi pour réaliser cette étude est mentionné dans la **figure14**.

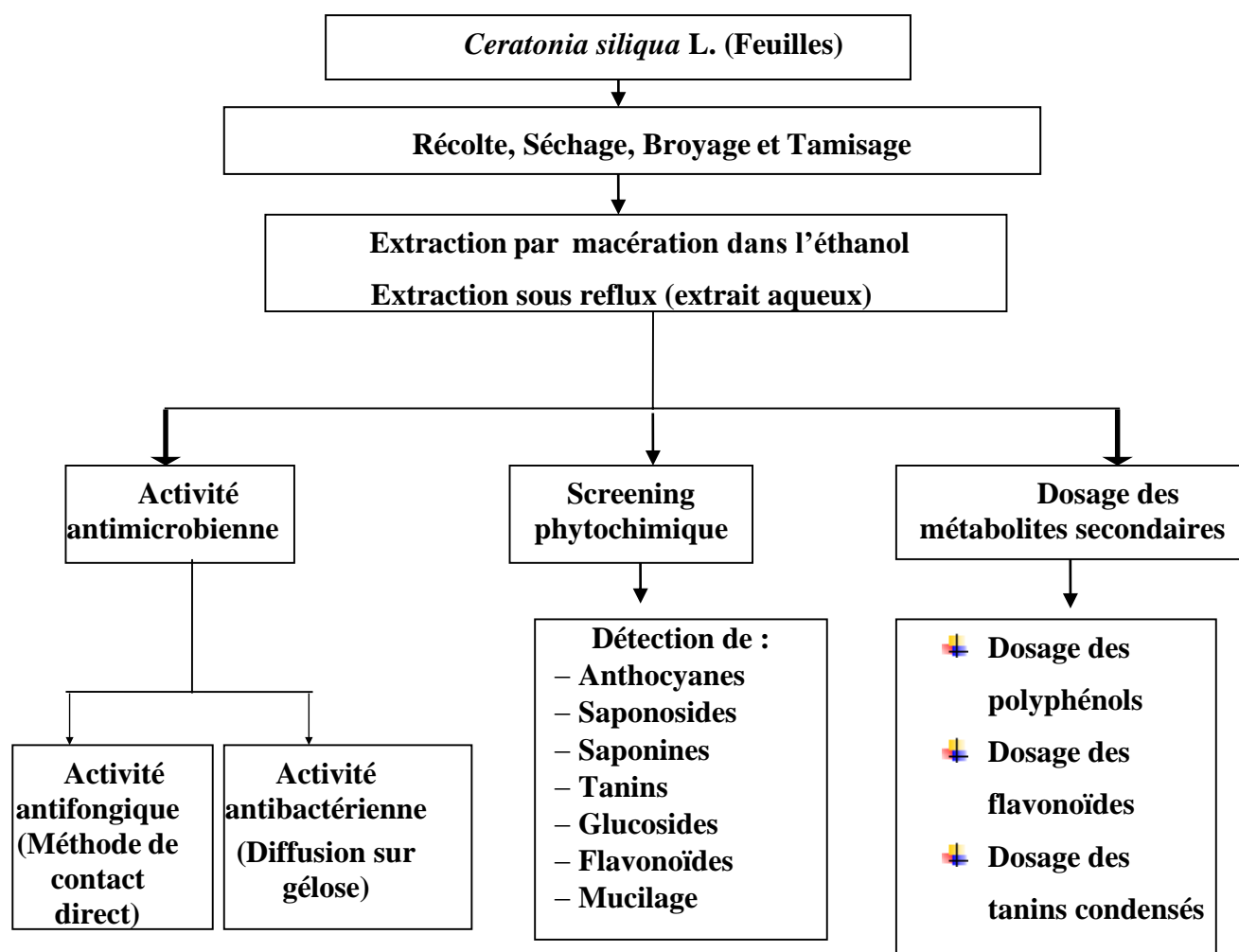


Figure 14 : Le protocole expérimental de cette étude.

1. Matériels biologiques

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de feuilles de l'espèce *Ceratonia siliqua*, récoltées en février 2024 dans la région de Miliana, wilaya d'Aïn Defla. (figure 15).



Figure 15 : Feuilles de *Ceratonia siliqua* L. récoltées à Miliana (Originale, 2024)

❖ Caractéristiques du site d'échantillonnage

La zone d'étude est située dans la ville de Miliana, relevant de la wilaya d'Aïn Defla. Miliana se trouve à environ 30 km du chef-lieu de la wilaya et à 110 km au sud-ouest d'Alger. La ville est bâtie à une altitude de 740 m sur les contreforts du mont Zaccar, dominant la vallée du Chélif (figure 16). La région de Miliana est principalement agricole. L'arboriculture fruitière prédomine, couvrant environ 47 % de la superficie cultivée totale sur les plaines et les terrains à faible pente. Les cultures céréalières et maraîchères (principalement la pomme de terre), ainsi que l'oléiculture, sont pratiquées en plaine, tandis que les zones montagneuses sont consacrées aux cultures sèches (céréales et fourrages) et à l'élevage ovin et caprin.

Le climat de Miliana est méditerranéen, avec une tendance subhumide et deux saisons contrastées. L'hiver s'étend d'octobre à mars, tandis que l'été dure d'avril à septembre. Il existe une irrégularité des précipitations et des variations saisonnières (température et pluie) entre les mois, les saisons et les années.

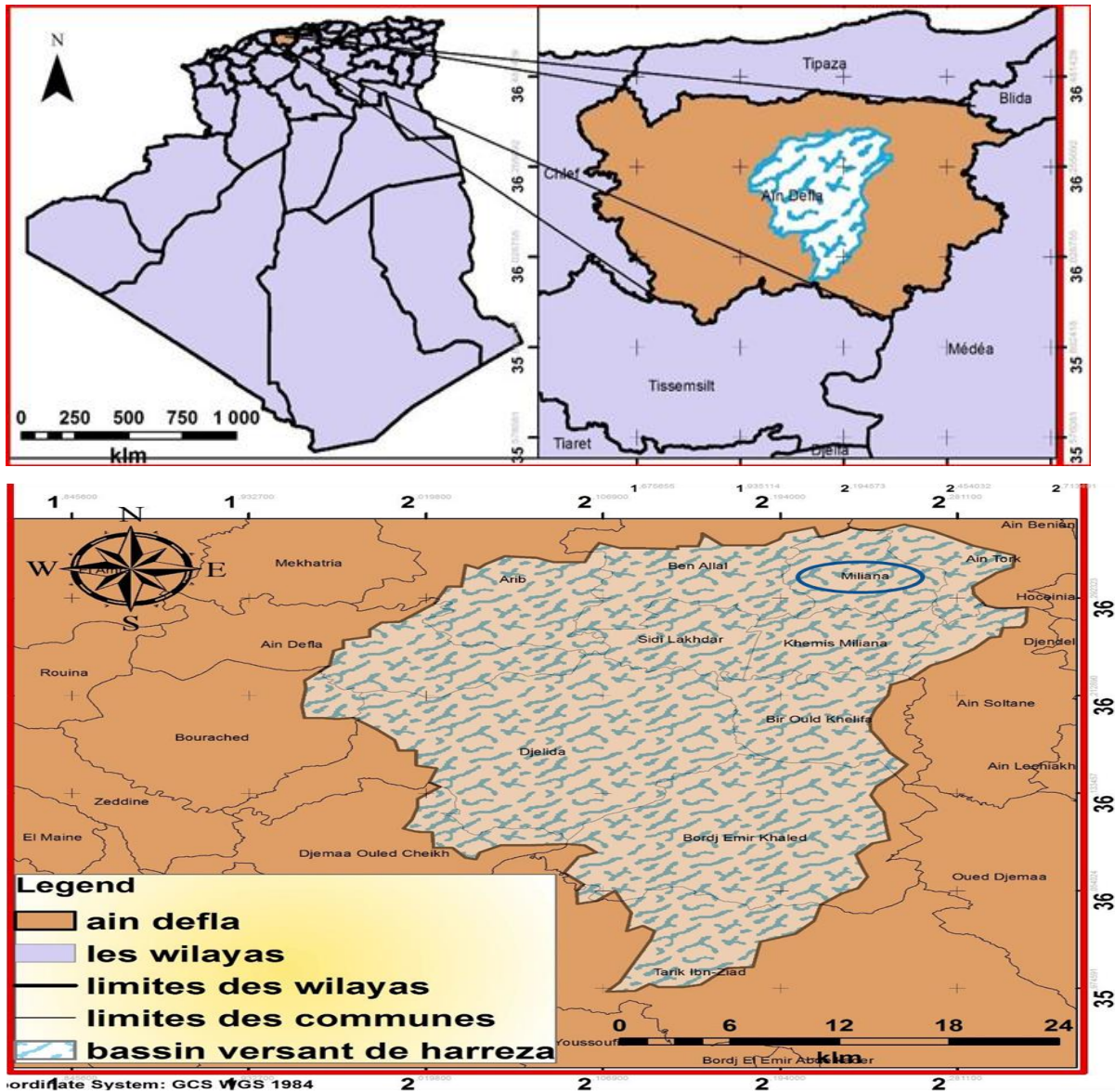


Figure 16 : Localisation du site d'échantillonnage (Naalamene, 2021).

1.2. Matériel microbiologique

1.2.1. Souches bactériennes testées

L'activité antibactérienne a été effectuée sur trois souches bactériennes. Les souches utilisées proviennent du laboratoire privé d'analyses médicales de M. Zibouche (Ain Defla) (tableau 6). Les souches bactériennes testées ont été choisies pour leur fréquence élevée dans les contaminations humaines, mais aussi parce qu'elles sont résistantes aux antibiotiques, voire multi-résistantes, et sont des lots de l'ATCC (American Type Culture Collection), référencées par l'Institut Pasteur.

Tableau 6 : Liste des souches microbiennes testées

Microorganismes testés	Gram	Souches	Référence
Les souches bactériennes	Gram+	<i>Staphylococcus aureus.</i>	ATCC 259 23
	Gram -	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853

1.2.2. Souche fongique testée

L'activité antifongique des extraits de feuilles de *Ceratonia siliqua* L. a été évaluée sur une souche d'*Aspergillus brasiliensis* (ATCC 6633). Cette souche provient du laboratoire d'hygiène de Blida.

2. Matériels non biologiques

Le matériel non biologique, constitué des appareils et des réactifs utilisés au cours de cette étude, est rapporté en Annexe I.

3. Méthodes d'étude

3.1. Séchage et broyage

Les feuilles de *Ceratonia siliqua* L., préalablement nettoyées pour éliminer la poussière et autres particules indésirables, ont été séchées à l'air libre dans un endroit sec, aéré et ombragé. La matière sèche obtenue a été réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre, après broyage, a été tamisée à travers un tamiseur de 0,5 mm de diamètre. Cette poudre est ensuite conservée dans des bocaux en verre, hermétiquement fermés et stockés à l'abri de la lumière.

3.2. Préparation de l'extrait éthanolique

25 g de poudre sont mis à macération pendant 48 heures avec 250 ml d'éthanol (96%). Le macérât obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman N°1. Le filtrat est ensuite évaporé sous vide à 60 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Rotavapor® 300 (**figure 17**). Les résidus sont ensuite dissous dans de l'éthanol pour l'étude phytochimique et dans du DMSO pour l'évaluation du pouvoir antimicrobien.

L'extrait, de couleur verte, est appelé extrait éthanolique des feuilles (EEF). Les extraits sont conservés à 4 °C jusqu'à leur utilisation (**Benhammou et al., 2009**).

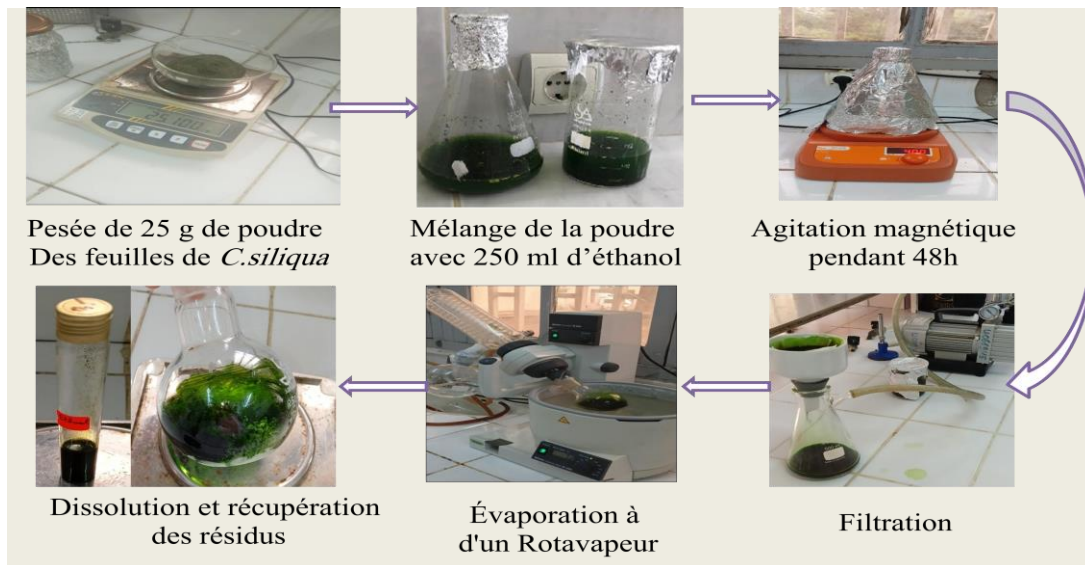


Figure 17 : Préparation de l'extrait éthanolique de feuilles du caroubier

Calcul du rendement en extraits

C'est la quantité des composés ou substances pouvant être extraite par un solvant typique dans des conditions spécifiques (Diallo, 2005). Le rendement (**R%**) est déterminé par la formule suivante :

$$R\% = \frac{(P - P_0)}{P_t} \times 100$$

Avec :

P : poids en gramme du ballon avec l'extrait sec.

P₀ : poids en gramme du ballon vide.

P_t : poids en gramme de la poudre végétale utilisée.

3.3. Préparation de l'extrait aqueux

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, 10 g de matériel végétal en poudre est mis en contact avec 100 ml d'eau. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux des feuilles (EAF) obtenu est conservé à 4°C (Touhami *et al.*, 2017).

3.4. Etude phytochimique

Le but de cette étude est de :

- Caractériser certains métabolites secondaires des feuilles de *C.siliqua* par criblage chimique ;
- Déterminer la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins;

3.4.1. Screening phytochimique :

Le criblage phytochimique est un ensemble de réactions chimiques simples permettant d'orienter rapidement vers une étude détaillée de certains types de constituants chimiques (Girre, 2001).

Le screening phytochimique a été effectué selon la méthode décrite Par (Bruneton, 1999 ; Boudjema *et al.*, 2020).

- Principe

Les tests phytochimiques sont des méthodes colorimétriques qui permettent de détecter différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante. Ils reposent sur des réactions qualitatives telles que la précipitation ou la coloration avec des réactifs spécifiques à chaque famille de composés. Le but de ces tests est de mettre en évidence la présence ou l'absence des principaux métabolites secondaires tels que les anthocyanes, les tanins, les flavonoïdes, les saponosides, les glucosides, les saponines et les mucilages.

Les tests sont effectués sur la poudre, l'infusé ou la décoction.

Les résultats seront classés selon Négué Diarra. (2003):

- Réaction franchement positive : + + +
- Réaction moyennement positive : + +
- Réaction faiblement positive : +
- Réaction négative : -

a) Recherche de Glucosides

On mélange 2g de poudre de la plante avec quelques gouttes d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré (96%). L'apparition d'une couleur rouge-bleu indique la présence de glucosides.

b) Recherche de Saponosides

Mélanger 2ml de l'extrait aqueux avec 2 ml d'une solution d'acétate de plomb à 1%. La formation d'un précipité blanc indique la présence de saponosides.

c) Recherche de Tanins

On mélange 1ml d'extrait avec 1ml d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée à 10%. Une coloration verte foncée ou bleu-vert indique la présence de tanins.

d) Recherche d'Anthocyanes

On mélange 5ml d'extrait aqueux avec 1ml d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) concentré (30%). Une coloration rouge indique la présence d'anthocyanes.

e) Recherche de Flavonoïdes

On introduit dans un tube à essai 5 ml d'infusé, auquel on ajoute 5 ml d'acide Chlorhydrique (HCl), 1ml d'alcool iso-amylique, puis quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge-orangée indique la présence des flavonoïdes.

f) Recherche de Saponines

50 ml d'eau distillée et 5g de poudre sont portés à ébullition modérée pendant 15 min. Après refroidissement, la solution est filtrée et ajustée à 50 ml avec de l'eau. Dans un tube à essai, 10 ml du décocté précédemment préparé sont introduits et agités dans le sens de la longueur pendant 15 secondes, à raison de deux agitations par seconde. On laisse reposer pendant 15 min. La formation d'une mousse stable et persistante indique la présence de saponines.

g) Recherche de Mucilage

On introduit 1ml d'infusé dans un tube à essai, puis on ajoute 5 ml d'alcool absolu. La formation d'un précipité floconneux indique la présence de mucilage.

3.4.2. Caractérisation quantitative des extraits :

Dosage des phénols totaux

▪ **But :** Détermination de la teneur en polyphénols totaux dans les extraits éthanolique et aqueux des feuilles de caroubier par la méthode spectrophotométrique UV-Vis utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Aloui *et al.*, 2020).

▪ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm (Boizot et Charpentier, 2006).

a-Mode opératoire

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon une méthode décrite par Ghedadba *et al.* (2015), avec de légères modifications, illustrée dans la figure 18 ci-dessous.

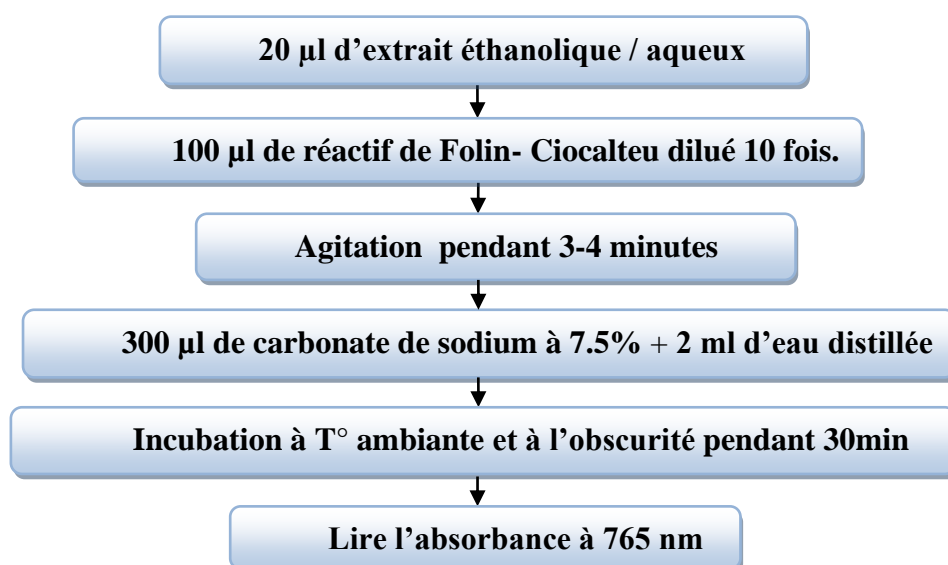


Figure 18 : Protocole de dosage des phénols totaux.

b-Expression des résultats

La concentration des phénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (**figure 19** ; **annexe II**) et elle est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/mg MS).

$$PT = (c \times V) / m$$

Avec :

PT: La teneur en phénols totaux (mg équivalent d'ac. gallique/ g de matière sèche).

c : Concentration de l'acide gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage ($\mu\text{g/ml}$).

V: Volume de l'extrait éthanologique

m: Le poids de la matière sèche (g).

✚ Dosage des flavonoïdes

Ce dosage est déterminé par la méthode de **Djeridane et al. (2006)** ; **Barros et al. (2007)**. La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits (**Bahorun et al., 2004**). Le protocole de dosage est illustré dans la Figure 20.

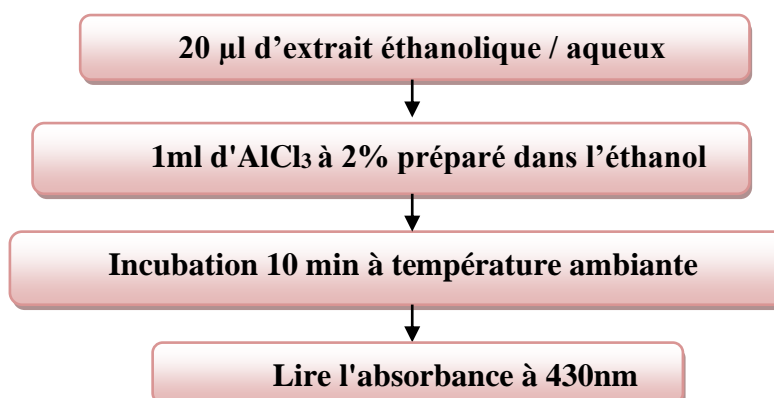


Figure 20 : Protocole de dosage des flavonoïdes.

a-Préparation de l'étalon

À partir d'une solution mère de quercétine à 5 mg/ml, on prépare des dilutions de différentes concentrations : 1-40 µg/ml. On prend 20 µl de chaque concentration et on ajoute 1 ml d'AlCl₃ à 2 %, puis on les mélange au vortex. Après incubation de 10 minutes, on lit l'absorbance à 430 nm.

b-Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage de la quercétine et exprimée en milligrammes équivalent de quercétine par g de matière sèche (**figure 21 ; annexe II**) selon la formule suivante :

$$[\text{flavonoïdes}] = \frac{a \cdot f}{b}$$

a : concentration des flavonoïdes en µg/ml déterminée à partir de la courbe étalon

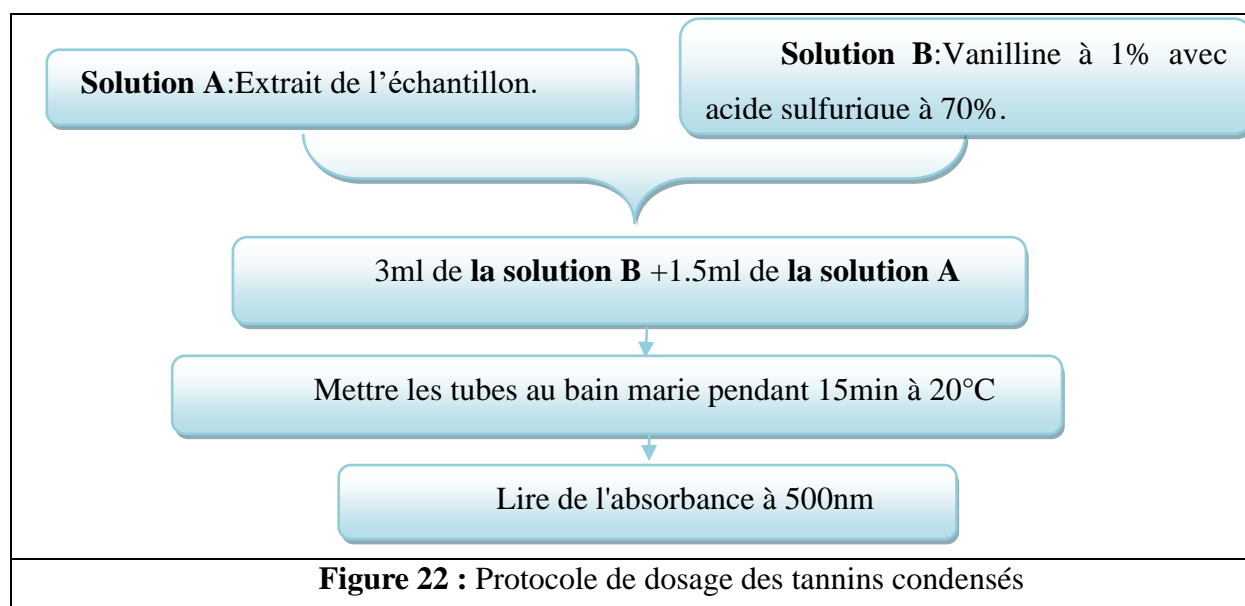
f : facteur de dilution (x100)

b : Le poids de la matière sèche (g).

+ Dosage des tanins condensés

a-Mode opératoire

Ce test de la vanilline avec H₂SO₄ est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide (**Sun et al., 1998**). Il est spécifique des flavones 3-ols (**figure 22**).



b-Expression des résultats

La teneur en tanins condensés est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage de la catéchine et exprimée en milligrammes équivalent de catéchine par g de matière sèche (**figure 23 ; annexe II**) selon la formule suivante :

$$[\text{Tanins condensés}] = \frac{a \cdot f}{b}$$

a : concentration des tanins condensés en µg/ml déterminée à partir de la courbe étalon

f : facteur de dilution (x100)

b : Le poids de la matière sèche (g).

3.5. Pouvoir antimicrobien

Pour cette partie, le pouvoir antimicrobien des extraits de feuilles de caroubier (éthanolique et aqueux) a été évalué en termes d'activités antibactérienne et antifongique.

Principe

La méthode de diffusion sur gélose, appelée aromatoگرامme, est l'équivalent de l'antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des extraits. La méthode consiste à utiliser des disques imprégnés des extraits et à les déposer sur la surface de la gélose ensemencée (**Hellal, 2011**).

3.5.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Muller Hinton) (**Celiktas et al., 2007 ; Sriti et al., 2023**).

3.5.1.1. Milieux de cultures utilisées

Les milieux de culture utilisés pour les différents tests microbiologiques sont les suivants (**Annexe I**) :

- Bouillon nutritive (BN) ;
- Gélose nutritive (GN) ;
- Gélose Muller-Hinton (MH).

3.5.1.2. Repiquage des souches

Après stérilisation de la zone de travail, les souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre contenant de la gélose nutritive, puis incubées à l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Celles-ci vont servir à préparer l'inoculum (**figure 24**).

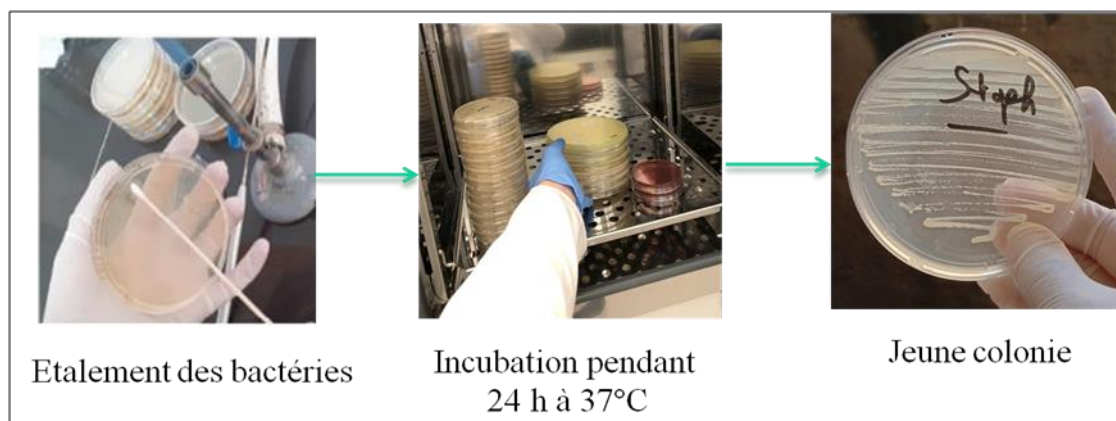


Figure 24 : Repiquage des souches (Originale, 2024)

3.5.1.3. Préparation de l'inoculum bactérien

Les inoculums sont préparés à partir de cultures jeunes (18 à 24 heures) en un milieu physiologique. Pour cela, quelques colonies isolées sont prélevées avec une anse de platine et transférées dans 9 ml de BN, puis homogénéisées à l'aide d'un vortex. La densité optique des suspensions bactériennes est mesurée à 625 nm avec un spectrophotomètre UV-Vis, et ajustée entre 0,08 et 0,10, correspondant à environ 10^8 UFC/ml. Si la concentration de l'inoculum est trop faible, elle est augmentée en ajoutant plus de culture ; si elle est trop élevée, de l'eau physiologique est ajoutée pour la diluer. L'inoculum ainsi préparé doit être ensemencé dans les 15 min qui suivent sa préparation.

3.5.1.4. Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur des boîtes de Pétri en utilisant un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne. L'écouvillon est étalé sur toute la surface de la gélose Mueller Hinton avec des stries serrées de haut en bas. L'opération est répétée quatre fois en faisant pivoter la boîte de Pétri de 60° à chaque passage, afin de couvrir toute sa surface. L'ensemencement se termine en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Ensuite, à l'aide d'une pince stérile, deux disques vierges de 6 mm de diamètre sont placés sur la gélose ensemencée. Avec une micropipette, 20 μ l de l'extrait à tester (éthanolique ou aqueux) sont ajoutés sur le premier disque, tandis que 20 μ l de DMSO sont ajoutés sur le deuxième disque en tant que témoin négatif. Un disque de 6 mm de diamètre contenant un antibiotique est également déposé sur la gélose ensemencée comme témoin positif. Les différents antibiotiques utilisés pour chaque souche bactérienne sont présentés dans le tableau 7.

Chapitre I : Matériel et méthodes

Tableau 7. Liste des antibiotiques testés pour chaque souche bactérienne.

Bactéries	Antibiotiques
<i>Escherichia coli</i>	Gentamicine 10 µg
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Imipénème 30 µg
<i>Staphylococcus aureus</i>	Vancomycine 30µg

Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées à température ambiante pendant 30 minutes pour permettre la diffusion des extraits. Elles sont ensuite placées à l'étuve, renversées sur leur couvercle, à 37 °C pendant 24 heures (**figure 25**).

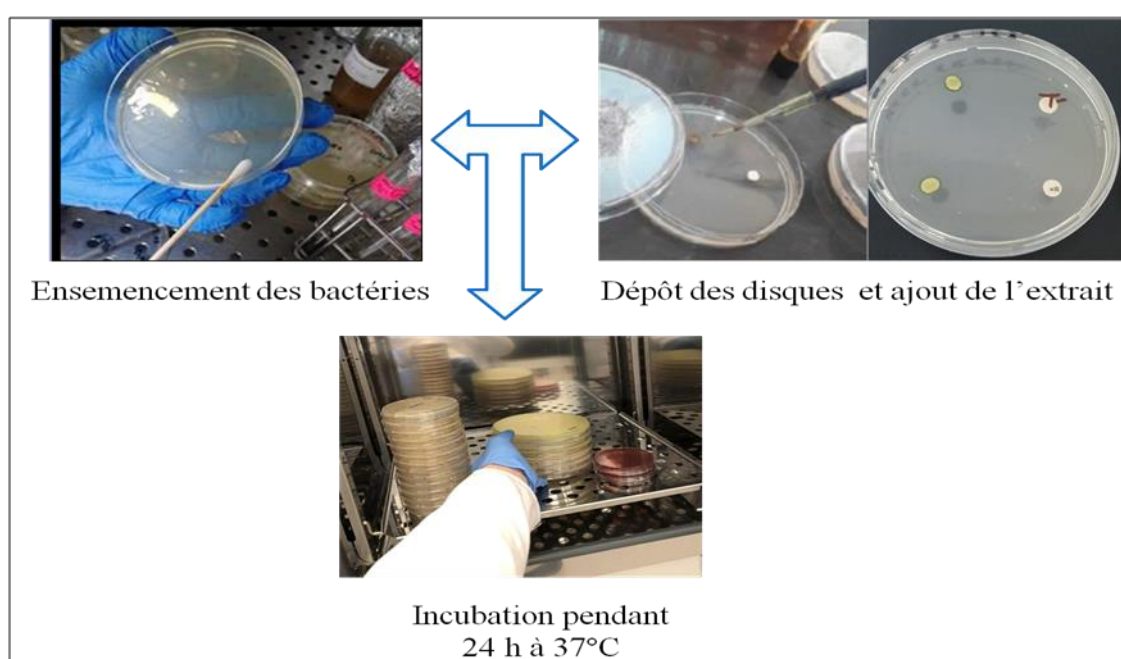


Figure 25 : Évaluation de l'activité antibactérienne (**Originale, 2024**)

3.5.1.5. Lecture et expression des résultats

Après incubation, la lecture des résultats se fait en mesurant les diamètres des halos d'inhibition autour des disques contenant les extraits, exprimés en millimètres. Le diamètre initial des disques est pris en compte dans ces mesures, effectuées à l'aide d'une règle graduée. Toutes les procédures sont réalisées dans des conditions stériles, et chaque mesure est répétée deux fois pour assurer la précision des résultats.

Expression des résultats

La zone d'inhibition est définie comme une auréole autour du disque, où aucune croissance bactérienne n'est observée. L'apparition et l'importance de cette zone claire après

incubation reflètent l'efficacité des extraits sur la souche bactérienne testée. Les résultats sont ensuite symbolisés par des signes en fonction de la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait, comme indiqué dans le **Tableau 8**.

Tableau 8: diamètres des zones d'inhibition selon le degré de sensibilité (**Ponce et al., 2003**)

Diamètre du halo d'inhibition(\emptyset)	Degré de sensibilité des germes	Résultat
$\emptyset < 08\text{mm}$	Résistant	-
$09 > \emptyset > 14\text{mm}$	Sensible	+
$15 > \emptyset > 19\text{mm}$	Très sensible	++
$\emptyset > 20\text{mm}$	Extrêmement sensible	+++

3.5.2. Activité antifongique

L'activité antifongique des extraits de feuilles de *Ceratonia siliqua* L. a été évaluée en utilisant la méthode de contact direct décrite par **Ben Abdallah et al. (2019)**. Pour cette évaluation, une souche d'*Aspergillus brasiliensis* (ATCC 6633), fournie par le laboratoire d'hygiène de Blida, a été utilisée.

3.5.2.1. Repiquage et préparation de l'inoculum fongique

La souche fongique étudiée est repiquée dans un milieu PDA (Potato-Dextrose Agar) afin d'obtenir des cultures jeunes. À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, quelques colonies bien isolées sont prélevées et homogénéisées avec 5 ml de solution saline. La suspension obtenue est ensuite homogénéisée à l'aide d'un vortex. À l'aide d'un écouvillon stérile, les champignons sont prélevés et inoculés sur la surface du milieu de culture (PDA) en conditions stériles. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et placées dans une étuve à 30 °C pour une incubation d'une durée de 5 jours.

Pour ajuster la charge microbienne des champignons, la densité optique de la suspension a été mesurée à 530 nm avec un spectrophotomètre et ajustée à une DO de 0,1, correspondant à une concentration d'environ 10^5 spores/ml.

3.5.2.2. Ensemencement des champignons

À l'aide d'une micropipette, 1 ml de chaque extrait est versé dans une boîte de Pétri vide, puis 9 ml de milieu PDA liquide et chaud sont ajoutés. Le mélange est homogénéisé, puis laissé à température ambiante pour permettre au milieu de se solidifier.

L'ensemencement est effectué en plaçant un fragment de champignon de 1 cm de diamètre, prélevé à partir de la périphérie du tapis mycélien, au centre de la boîte de Pétri (figure 26). Les boîtes sont incubées pendant 48 heures à 30°C. Chaque essai est répété trois fois.

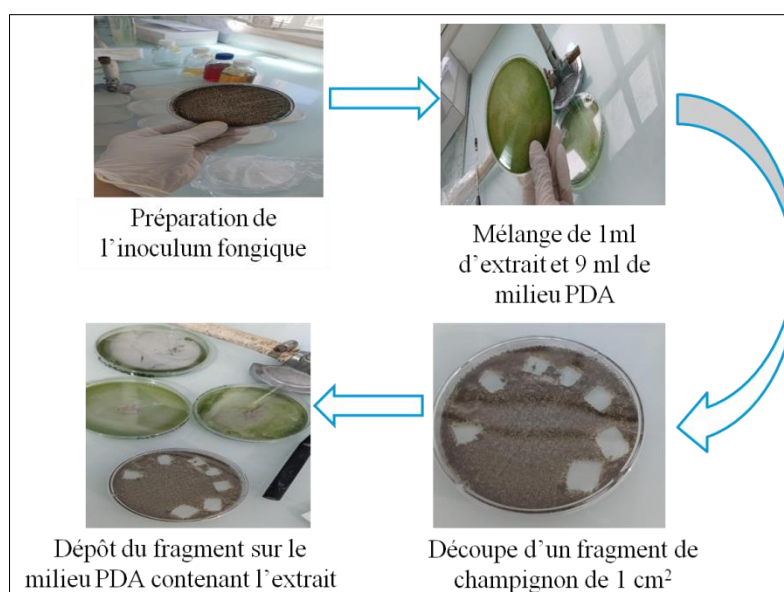


Figure 26 : Evaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct
(Original, 2024)

3.5.2.3. Lecture des résultats

Après le temps d'incubation requis, les diamètres des différentes colonies de champignons sont mesurés à l'aide d'une règle graduée. Le taux d'inhibition est calculé à partir de l'équation :

$$I (\%) = (dC - dE) / dC * 100$$

I (%) : Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

dC : Diamètre des colonies dans les boîtes « témoins positifs »

dE : Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

L'extrait de plante est dit :

- ✚ Très actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 75% et 100%, la souche fongique est dite très sensible.

- ✚ Actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 50% et 75%, la souche fongique est dite sensible.
- ✚ Moyennement actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 25% et 50%, la souche fongique est dite limitée.
- ✚ Peu ou pas actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 0% et 25%, la souche fongique est dite peu sensible ou résistante.

3.6. Traitement statistique des données

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel SPSS version 26. Les résultats sont considérés comme étant significatifs lorsque la probabilité (p) est inférieure à 0,05. Les différences pour les divers paramètres ont été analysées en utilisant un test de Student, une analyse de la variance (ANOVA) à un seul facteur et un test de Tuckey HSD (Honest Significant Difference) pour la comparaison des moyennes.

Ce chapitre présente les résultats de toutes les expériences menées dans notre étude, y compris le criblage phytochimique des feuilles, le dosage des métabolites secondaires, ainsi que l'évaluation du pouvoir antimicrobien des extraits de feuilles de *C. siliqua* L., suivis de leur discussion.

1. Rendement d'extraction

Pour l'obtention de différents extraits secs bruts préparés à partir de la poudre de feuilles de *Ceratonia siliqua* L., nous avons réalisé des extractions aqueuses (avec de l'eau distillée) et organiques (avec de l'éthanol). Les résultats obtenus montrent que le rendement en extraits des feuilles de *Ceratonia siliqua* L. varie en fonction du solvant utilisé (**figure 27**).

Le rendement de l'extrait éthanolique de feuilles de *Ceratonia siliqua* a montré une rentabilité de 30,16 %. Cette valeur est inférieure à celle trouvée par **Kaouch et Halaoui (2023)**, où le rendement de l'extrait méthanolique des feuilles était de 36,8 %. Nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Laraba et Souyad (2022)** pour l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *Ceratonia siliqua* récoltées à Constantine, qui est de 13,36 %. Ils sont également supérieurs à ceux de **Spizzirri et al. (2022)**, qui ont enregistré des rendements pour les extraits de feuilles de deux variétés de *C. siliqua* (Amele et Selvatica) récoltées dans la région sud de l'Italie, à 14,7 % et 7 %, respectivement, en utilisant une extraction par ultrasons dans l'éthanol. Nos résultats sont aussi supérieurs à ceux de **Tazir et Bendoukhane (2020)**, qui ont indiqué une valeur de 13,27 %, ainsi qu'à ceux de **Saadouni (2021)**, qui a mentionné un rendement de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de caroubier par méthanol, estimé à 13,65 %, en utilisant une méthode combinée de macération et d'ultrasons. **Ydjedd et al. (2017)** ont trouvé un rendement d'extraction pour les fruits de caroubier cultivés à Béjaïa de 0,80 % pour l'extraction par acétate d'éthyle, contre 53,06 % pour l'extraction par acétone à 70 %. Une autre étude réalisée par **Alabdallat et Bilito (2013)** sur les fruits de *Ceratonia siliqua* collectés en Jordanie a montré un rendement de 23,2 % en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction. Cette variabilité de rendement dépend strictement de la polarité du solvant, des techniques d'extraction, de la température, de la pression, du temps, ainsi que de la composition chimique de l'échantillon (**Alabdallat et Bilito, 2013**).

Le rendement de l'extrait aqueux des feuilles de *Ceratonia siliqua* dans le présent travail a montré une rentabilité de 24,12 %. Ce rendement est relativement supérieur à celui obtenu pour la même plante originaire de Tabarka (Nord-Ouest de la Tunisie), où le rendement en extraits aqueux des feuilles était de 10 %.

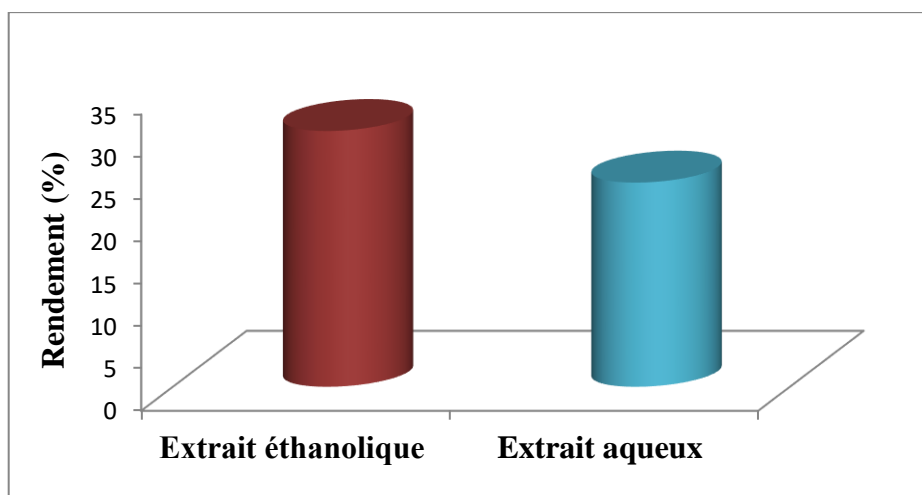


Figure 27 : Rendement des extraits éthanolique et aqueux de feuilles de *Ceratonia siliqua*.

Le test t de Student a montré une différence très significative entre les rendements d'extraction des deux types d'extrait (aqueux et éthanolique). Cela suggère que le type de solvant utilisé pour l'extraction influence de manière significative le rendement des extraits.

La solubilité des composés phénoliques est régie par leur nature, qui peut varier de simples substances aux composés fortement polymérisés (**Cacace et Mazza, 2003**), ainsi que par la polarité des solvants et la méthode utilisée (**Najjaa et al., 2020**). Selon **Alothman et al. (2009)**, l'extraction des composés phénoliques est influencée par leur solubilité dans le solvant utilisé, et la polarité de ce dernier joue un rôle dans l'accroissement de la solubilité phénolique. De même, **Cacace et Mazza (2003)** ont noté que la température peut influencer sur l'extraction d'un composé donné en modifiant son coefficient de diffusion ou sa solubilité dans le solvant. Ils ont également observé une diminution de la quantité d'anthocyanines extraites à des températures supérieures à 40 °C, ce qui peut être attribué à leur dégradation à des températures élevées. Ces multiples paramètres à optimiser rendent difficile l'élaboration d'un procédé d'extraction approprié à tous les composés phénoliques des plantes (**Naczk et Shahidi, 2006 ; Najjaa et al., 2020**).

D'une manière générale, il est difficile de comparer les résultats d'extraction avec des données bibliographiques en raison de l'impact de divers facteurs, notamment l'origine du matériel végétal, la saison de récolte, les conditions environnementales, la technique de séchage, ainsi que le type de solvant utilisé (**Daoudi et al., 2022**).

2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des principaux composés chimiques dans les tissus végétaux des feuilles de l'espèce *Ceratonia*


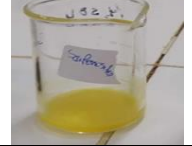




Chapitre II : Résultats et discussion

siliqua L. En effet, selon l'intensité de la couleur, les réactions observées sont classées comme suit :

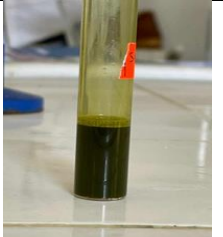
- Réaction franchement positive : + + +
- Réaction moyennement positive : + +
- Réaction faiblement positive : +
- Réaction négative : Absence (-)

Les résultats des tests effectués sur la poudre, l'extrait éthanolique, l'extrait aqueux, et le décocté de notre plante sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 9 : Résultats du screening phytochimique des feuilles de *C. siliqua*.

Composés chimiques	Réactifs	couleurs	Résultats	
Glucosides	Acide sulfurique (H ₂ SO ₄)	Rouge-bleu	+++	
Saponosides	Acétate de plomb	Précipité blanc	-	
Tanins	Chlorure ferrique (FeCl ₃)	Vert foncé ou bleu-noir	+++	
Anthocyanes	Hydroxyde d'ammonium (NH ₄ OH)	Rouge	-	
Mucilage	Alcool absolu	Précipité floconneux	-	
Flavonoïdes	Acide chlorhydrique (HCl), alcool iso-amylque et magnésium (Mg)	Rouge-orangée	+++	

Chapitre II : Résultats et discussion

Saponines	Agitation	Mousse	+	
------------------	-----------	--------	---	---

Le tableau 9 révèle que les feuilles du caroubier est particulièrement riche en tanins, flavonoïdes et glucosides, tandis que les saponines sont présentes en faible quantité. Les extraits de feuilles de caroubier se distinguent par l'absence totale d'anthocyanes, de mucilages et de saponosides.

Le criblage phytochimique met en lumière la présence de composés chimiques dotés d'activités biologiques notables, notamment les polyphénols comme les tanins et les flavonoïdes. Les tanins, et en particulier les tanins galliques, sont réputés pour leurs propriétés antidiarrhéiques ainsi que pour leurs activités antiseptiques, antibactériennes et antifongiques. Ils présentent également une forte activité antioxydante en capturant les radicaux libres et en inhibant la formation du radical superoxyde.

Les flavonoïdes, quant à eux, sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, et peuvent contribuer au traitement des maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. Certains flavonoïdes possèdent aussi des propriétés antivirales, antimicrobiennes et anti-tumorales. La présence de ces composés dans les feuilles de caroubier confère à cette plante un potentiel pharmacologique significatif, la rendant intéressante pour la production de médicaments.

Ces résultats concordent avec ceux de **Benkhada et Bensalah (2016)** ainsi que de **Bouchena et Ouaffai (2022)**, qui indiquent que les feuilles de caroubier algérien sont riches en flavonoïdes et en tanins. Cependant, nos résultats diffèrent légèrement, car ces auteurs mentionnent également la présence d'anthocyanes et de mucilages dans les feuilles de caroubier, une différence qui pourrait être attribuée aux variations climatiques, à l'âge de la plante, à la période de récolte, ou encore à la dessiccation. Nos résultats sont identiques à ceux indiqués par **Yahiaoui et al. (2021)** sur les feuilles spontanées du caroubier récolté à Bouira, sauf pour la présence de saponosides et de mucilages, qui sont absents dans notre étude. De même, **Shawakfeh et Ereifej (2005)** ont noté le même résultat que celui enregistré dans le présent travail.

Bouaziz (2014) a également souligné la richesse des Fabacées en flavonoïdes, notamment dans les parties aériennes de la plante. Nos résultats sont en accord avec ceux de

Belkamla et al. (2021), qui ont étudié l'extrait méthanolique de feuilles de caroubier récoltées dans la région de Constantine, et ont trouvé une richesse en tanins et flavonoïdes, ainsi qu'une absence de saponosides. Cependant, nos résultats diffèrent concernant la présence d'anthocyanes.

3. Teneurs en métabolites secondaires

Les moyennes et écarts types relatifs aux teneurs en métabolites secondaires de l'extrait éthanolique et aqueux des feuilles de *C. siliqua* sont donnés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Teneurs en métabolites secondaires de l'extrait éthanolique et aqueux des feuilles du caroubier.

Métabolites/Extraits	Extrait aqueux	Extrait éthanolique
phénols totaux (mg EAG/g MS)	17,92±0,81	36,77±1.16
Flavonoïdes (mg EQ/g MS)	1,97±0,01	1,18±0,02
Tanins condensés (mg EC/g MS)	1,67±0,02	9,63±0,35

a. Teneur en phénols totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux dans l'extrait aqueux et éthanolique des feuilles de la plante étudiée a été réalisée en se référant à une courbe d'étalonnage établie à partir d'une gamme de solutions standard d'acide gallique. La quantité de phénols totaux dans les extraits est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

Les résultats obtenus indiquent que la quantité de composés phénoliques dans l'extrait éthanolique des feuilles de *Ceratonia siliqua* est relativement importante, avec 36,77 mg EAG/g MS, par rapport à l'extrait aqueux, qui présente une valeur de 17,92 mg EAG/g MS. Ces résultats montrent ainsi la bonne capacité de l'éthanol à extraire les composés phénoliques. Nous constatons également que la quantité de phénols totaux varie d'un système de solvant à un autre et d'une fraction à une autre (**Hamia et al., 2014**).

A l'issue de l'analyse statistique ANOVA univarié, il apparaît une différence hautement significative ($\alpha \leq 0.01$) entre les deux extraits (éthanolique et aqueux) des feuilles du caroubier où la teneur en phénols totaux est plus élevée dans l'extrait éthanolique que l'extrait aqueux (**Tableau 11**).

Tableau 11 : Analyse de la variance (ANOVA) à un seul facteur (type d'extrait sur la teneur en métabolites secondaires) pour les feuilles du *C. siliqua*.

ANOVA à un facteur						
Métabolites	Source de variation	SS	df	MS	F	Sig.
Phénols totaux	Extrait	532,984	1	532,984	525,755	0,000
Flavonoïdes	Extrait	0,936	1	0,936	3744,600	0,000
Tanins condensés	Extrait	94,963	1	94,963	1532,070	0,000

Les métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules végétales, dont la nature chimique et les teneurs sont extrêmement variables d'une espèce à une autre. En effet, nous avons constaté que notre extrait éthanolique des feuilles du caroubier contient une quantité importante de phénols totaux, dont la teneur est supérieure à celle rapportée dans d'autres travaux.

Nos résultats se rapprochent de ceux de **Guendouz et Mansouri (2022)**, qui ont rapporté une teneur en polyphénols de 37,32 mg/g dans les feuilles de caroubier récoltées à Tlemcen. Les résultats obtenus dans la présente étude sont supérieurs à ceux de **Meziou-Chebouti et al. (2015)**, qui ont mentionné une teneur de 1,55 mg EAG/g MS, et à ceux de **Ghanemi (2017)**, qui a estimé la teneur en polyphénols dans les extraits de feuilles de caroube à 9,215 mg EAG/g MS. **Yahiaoui et al. (2021)** ont également montré que les feuilles spontanées présentent une teneur de 1,9 mg EAG/g. D'autres études ont montré que le caroubier pourrait contenir des teneurs variées en composés phénoliques, telles que 13,51 mg EAG/g (**Youssef et al., 2013**) et 19,2 mg EAG/g (**Ayaz et al., 2007**). Toutefois, cette teneur est incluse dans l'intervalle de celle de l'extrait méthanolique des feuilles de cultivars portugais (16,4-39,4 mg EAG/g poids sec) selon **Custódio et al. (2009)** et est supérieure à celle de l'extrait à 80 % d'acétone des feuilles âgées de caroubier marocain (32,01 mg EAG/g MS) selon **El Bouzdoudi et al. (2017)**.

Dallali et al. (2018) ont noté que dans l'extrait méthanolique des feuilles récoltées au Nord-Est de la Tunisie, la teneur en phénols totaux varie de $2,50 \pm 0,14$ à $6,45 \pm 0,22$ mg EAG/g MS, ce qui montre que la teneur en phénols totaux varie d'un site à un autre pour la même plante.

Nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par **Benkamla et al. (2021)**, qui ont mentionné une valeur de 247,09 mg EAG/g d'extrait méthanolique de phénols totaux.

La différence observée entre les différentes études est probablement due à de nombreux facteurs, notamment les facteurs climatiques et environnementaux (température, altitude, ensoleillement et précipitation), la zone géographique, la sécheresse et les maladies (**Ebrahimi et al., 2008 ; Andarwulan et al., 2010**), la période de collecte des échantillons et le stade de développement de la plante (**El Bouzdoudi et al., 2016**). En effet, une augmentation de la biosynthèse et de l'accumulation des composés phénoliques se produit fréquemment dans les tissus végétaux en réaction aux stress biotiques et abiotiques. Ces composés participent à la défense contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui sont inévitablement produites lorsque le métabolisme aérobie ou photosynthétique est affaibli par des stress environnementaux. Les facteurs génétiques et les conditions de croissance de la plante peuvent jouer un rôle important dans la formation de métabolites secondaires, y compris les acides phénoliques (**Islam et al., 2003 ; Hashempour et al., 2010**). D'autres facteurs d'ordre technique, en particulier la méthode d'extraction et la méthode de quantification, peuvent également influencer l'estimation de la teneur en phénols totaux (**Lee et al., 2003**).

Concernant la teneur en polyphénols totaux de l'extrait aqueux des feuilles de cette étude (17,92 mg EAG/g MS), elle est nettement inférieure à celle trouvée par **Alali et al. (2007)** avec le même type d'extrait et d'organe (54,2 mg de GAE/g de PS), par **BenHsouna et al. (2011)** qui est de 130 mg GAE/g, par **Rtibi et al. (2016)** sur les feuilles de caroube tunisienne (62,5 mg/g MS), par **Abidar et al. (2020)** qui est de 52,95 mg EAG/g poids sec, et par **Ben Othmen et al. (2020)** qui est de 28,67 mg EAG/100 g MS. La teneur en polyphénols totaux dans l'extrait aqueux des feuilles de la présente étude est même supérieure à celle trouvée par **Aboura et al. (2017)** par infusion de feuilles de *C. siliqua* et qui est de l'ordre de 8,93 mg EAG/100 ml d'infusion.

b. Teneur en flavonoïdes

L'estimation quantitative des flavonoïdes dans les deux extraits aqueux et éthanolique, en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium, a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercétine ($y=0,038x-0,008$) et exprimée en mg équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

La teneur en flavonoïdes de l'extrait éthanolique des feuilles de *C. siliqua* dans la présente étude (1,18 mg EQ/g MS) est nettement inférieure à celle rapportée par d'autres sources pour la même espèce en Algérie, notamment **Guendouz et Mansouri (2022)**, qui ont trouvé 24,20

mg EQ/g MS. De même, en Tunisie, **Ben Hsouna et al. (2015)** ont rapporté une teneur de 21,71 mg EQ/g MS, et **Dallali et al. (2018)** ont enregistré des teneurs en flavonoïdes totaux variant d'un site de collecte à un autre, allant de 3,42 à 7,42 mg EQ/g MS pour le même type d'extrait et la même espèce. **Custódio et al. (2009)** ont rapporté des teneurs en flavonoïdes variant de 2,1 à 13,4 mg ER/g MS sur différents cultivars portugais.

Nos teneurs en flavonoïdes sont cependant supérieures à celles rapportées par **Meziou-Chebouti et al. (2015)**, qui ont trouvé 0,545 mg EQ/g MS sur les feuilles de caroubier récoltées à Boumerdes.

De même, les teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux de la présente étude (1,97 mg EQ/g MS) sont inférieures à celles d'autres sources, notamment **Rtibi et al. (2016)** et **Abidar et al. (2020)**, qui ont rapporté $25,35 \pm 0,124$ mg QE/g MS. Cependant, elles sont supérieures à celles rapportées par **Ben Othmen et al. (2020)** pour l'extrait aqueux de feuilles de *C. siliqua*, qui était de 1,43 g ER/100 g MS. **Sassi et al. (2016)** ont indiqué que 1 mg d'extrait aqueux de feuilles de *C. siliqua* contient 188 µg de quercétine (0,188 mg EQ/mg d'extrait), ce qui est supérieur à notre valeur. **Vaya et Mahmood (2006)** ont rapporté que le principal flavonoïde libre dans l'extrait de *C. siliqua* était la myricétine (340 mg/kg d'extrait).

Les valeurs trouvées dans ce travail sont cohérentes avec certaines études mais non concordantes avec d'autres. Les teneurs très élevées rapportées par ces études par rapport à nos résultats peuvent probablement s'expliquer par des différences dans le standard utilisé pour le dosage des flavonoïdes, la nature et le volume du solvant utilisé, la méthode et le type d'extraction, ainsi que la durée d'extraction (**Loe et al., 2018**).

c. Teneur en tanins condensés

La teneur en tanins condensés des extraits de feuilles de *Ceratonia siliqua* a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine ($y = 0,003x + 0,099$, voir annexe II) et exprimée en mg équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

La teneur en tanins condensés de l'extrait éthanolique des feuilles de caroubier est nettement supérieure à celle de l'extrait aqueux, avec des valeurs respectives de 9,63 mg EC/g MS contre 1,68 mg EC/g MS.

L'extrait éthanolique des feuilles présente une teneur en tanins condensés (9,63 mg EC/g MS). Cette teneur se situe dans l'intervalle des valeurs rapportées par **Custódio et al. (2009)**, qui varient de 1,8 à 23,7 mg EC/g sur différents cultivars portugais. Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par **Ghanemi (2017)**, où la teneur en tanins condensés a été estimée à 6,61 mg EC/g MS, ainsi que par **Mebirouk-Boudechiche et al. (2014)**, qui ont noté

une teneur de 4,75 g EL/kg MS. Ils dépassent également les valeurs mentionnées dans la littérature, telles que celles des caroubes de Sicile (Italie) avec 2,75 mg/g selon **Avallone et al. (1997)**, et 3,21 mg EC/g MS de proanthocyanidines pour les gousses de caroube d'Anatolie selon **Ayaz et al. (2007)**.

L'extrait aqueux des feuilles présente une teneur modérée en tanins condensés (1,67 mg EC/g MS). Cette teneur est nettement inférieure à celle enregistrée par **Rtibi et al. (2016)**, avec 38,50 mg/g MS sur l'extrait aqueux des feuilles de caroube de Tunisie, par **Abidar et al. (2020)** avec 11,43 mg EAT/g MS, et par **Ben Othmen et al. (2020)** chez les feuilles de caroubier (18,52 g EC/100 g PS).

Ces différences peuvent être partiellement attribuées aux différentes techniques de dosage utilisées, ainsi qu'au choix du solvant (**Pino et al., 2005**). Elles peuvent également s'expliquer par le stade de croissance des plantes étudiées, la saison de collecte ou encore par la nature du site de prélèvement (**Salem, 2005**).

4. Pouvoir antimicrobien des extraits de feuilles de *C.siliqua*

4.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits éthanolique et aqueux des feuilles de *Ceratonia siliqua* L. a été évaluée par la méthode de diffusion des disques imprégnés des extraits de plante sur un milieu solide (Mueller-Hinton) vis-à-vis de trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* 25923, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* 25922), après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C. Cette méthode qualitative est basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition.

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits éthanolique et aqueux des feuilles de caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) sont présentés dans le tableau 12 et la figure 28.

Les résultats de l'analyse de variance ont montré une différence très hautement significative entre l'extrait des feuilles de *Ceratonia siliqua* et les différents antibiotiques utilisés ($p < 0,001$), et ce, quelle que soit la souche bactérienne testée.

Le test T de Student n'a révélé aucune différence significative entre les diamètres des zones d'inhibition des extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *C. siliqua*.

Tableau 12 : Diamètre de la zone d'inhibition en mm pour les souches bactériennes testées avec les deux extraits, le DMSO et les antibiotiques.

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition en mm			
	Extrait éthanolique	Extrait aqueux	Témoin – (DMSO)	Témoin + (Antibiotique)
<i>Escherichia coli</i>	7±1***	12,33±0,47***	0	40,67±1.15***
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10±1***	8 ±0,82***	0	30±1***
<i>Staphylococcus aureus</i>	16,67±1.15***	8±0,82***	0	42,33±1,52***

Le tableau 12 indique l'absence de zones d'inhibition induites par le DMSO. L'extrait éthanolique des feuilles de *Ceratonia siliqua* a exercé un effet inhibiteur (+) contre les deux souches testées, démontrant une activité antibactérienne intéressante sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. En revanche, *Escherichia coli* montre une résistance à cet extrait. La souche la plus sensible est *Staphylococcus aureus*, avec un diamètre de zone d'inhibition de 16,67 ± 1,15mm. Elle est suivie par *Pseudomonas aeruginosa*, avec un diamètre de 10 ± 1 mm, tandis qu'*Escherichia coli* présente un diamètre de seulement 7 ± 1 mm, en faisant la souche la moins sensible parmi les trois.

Ces résultats montrent que l'extrait éthanolique possède une activité antibactérienne plus prononcée que l'extrait aqueux, ce qui confirme sa richesse en composés actifs. Il apparaît que *Staphylococcus aureus* (Gram positif) est la bactérie la plus sensible par rapport aux autres souches (Gram négatives), ce qui peut être attribué à la différence de structure entre les bactéries Gram positives et Gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries Gram positives est constituée d'une seule couche, tandis que celle des Gram négatives a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (**Bertani et Ruiz, 2018**).

En revanche, l'extrait aqueux des feuilles de caroubier présente une activité inhibitrice contre la souche *Escherichia coli*, avec un diamètre de zone d'inhibition de 12,33 mm. Cependant, les souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* montrent une résistance à cet extrait, avec des diamètres d'inhibition de 8 mm.

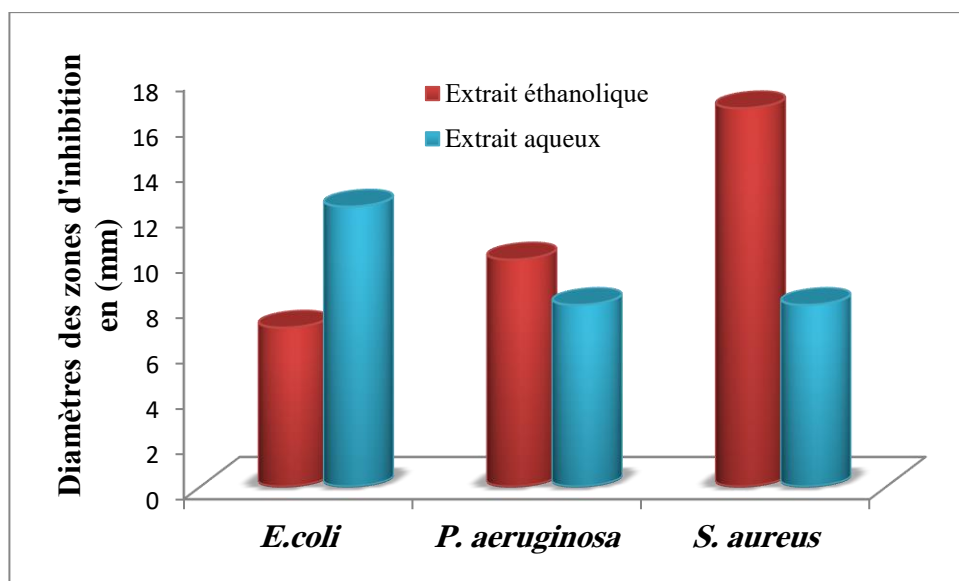


Figure 28: Résultats de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de caroubier exprimés par le diamètre des zones d'inhibition en mm.

Il est à noter que, pour l'ensemble des souches testées, le DMSO n'a montré aucune activité (0 mm), quel que soit l'extrait utilisé. En comparaison, les antibiotiques Gentamicine, Imipénème et Vancomycine ont présenté des diamètres d'inhibition respectifs de 40,67 mm, 30 mm et 42,33 mm (**figure 29**). Par ailleurs, les antibiotiques de référence ont montré des activités antibactériennes nettement supérieures à celles des substances végétales testées, avec des diamètres de zone d'inhibition significativement plus élevés ($p < 0,05$). Cela s'explique par le fait que les antibiotiques de référence sont des molécules isolées, pures et de concentrations connues (**Sourabie et al., 2010**), tandis que les extraits éthanolique et aqueux sont des mélanges non purifiés de substances actives provenant du métabolisme secondaire.

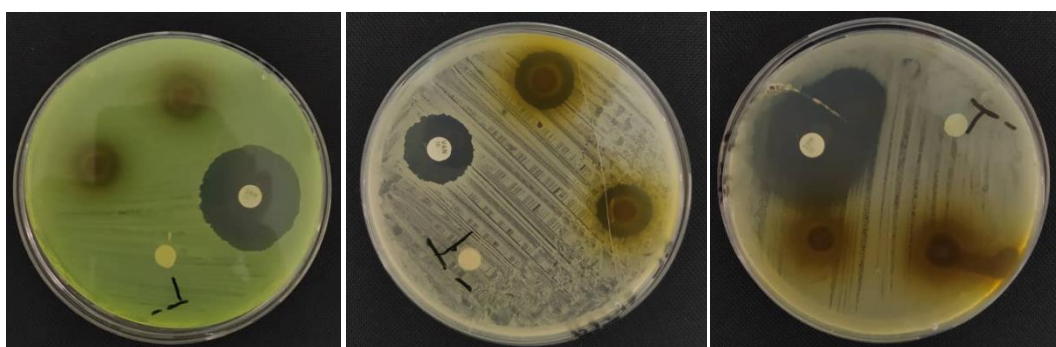


Figure 29 : Zones d'inhibition de l'extrait éthanolique des feuilles de *Ceratonia siliqua* sur les souches bactériennes testées (**Originale, 2024**).

De nombreux travaux antérieurs confirment l'effet antibactérien des extraits éthanolique et aqueux des feuilles de caroubier. **Meziani et al. (2015)** ont rapporté que ces extraits présentent une activité antimicrobienne puissante contre *Pectobacterium atrosepticum*, ce qui

pourrait être lié à la présence de composés phénoliques, de flavonoïdes et de tanins en quantités considérables dans les feuilles de caroubier, influençant la croissance et le métabolisme des microorganismes. Les phénols et flavonoïdes contribuent de manière significative à l'activité antibactérienne en formant des complexes avec la paroi cellulaire et en perturbant les enveloppes bactériennes (**Farhadi et al., 2019**).

Nos résultats concordent avec ceux de **Yahiaoui et al. (2021)**, qui ont révélé une activité antimicrobienne des extraits phénoliques des feuilles spontanées contre *Staphylococcus aureus* ($16,36 \pm 0,63$ mm) ainsi que des feuilles greffées contre *Pseudomonas aeruginosa* ($14,30 \pm 0,35$ mm). Cependant, nous constatons une divergence concernant le diamètre d'inhibition observé contre *Escherichia coli* ($21,83 \pm 0,93$ mm). De même, **Ghanemi et al. (2021)** ont également noté que l'extrait polyphénolique des feuilles de caroubier présentait un diamètre de zone d'inhibition de 11 mm contre *S. aureus* ; parmi les bactéries Gram-négatives, seule *E. coli* s'est révélée peu sensible, avec un diamètre de 8 mm.

En revanche, **Ait Ouahioune et al. (2022)** ont démontré que l'extrait éthanolique des feuilles de *C. siliqua* possède une forte activité antibactérienne, les macérats générant des zones d'inhibition plus larges contre *Staphylococcus aureus* comparé à *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, probablement en raison de la richesse de la plante en composés biologiquement actifs. Cependant, d'un point de vue pratique, cette activité antimicrobienne n'est pas suffisante pour l'utilisation des extraits dans des applications d'emballages antimicrobiens actifs. Les antimicrobiens typiquement utilisés dans ces emballages, tels que l'huile essentielle de cannelle ou l'huile essentielle de clou de girofle, ont montré des zones d'inhibition similaires tout en nécessitant 25 fois moins d'antimicrobien (**López et al., 2005**).

Kaouch et Halaoui (2023) ont signalé que l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux des feuilles montrent une activité antibactérienne importante sur *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres d'inhibition respectifs de 40,33 mm et 38 mm pour une concentration de 200 mg/ml.

Ces résultats sont cohérents avec ceux de **Ben Hsouna et al. (2015)**, qui ont mentionné que l'extrait hydroéthanolique s'est avéré actif contre toutes les souches bactériennes testées (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*), avec des zones d'inhibition allant de 12 à 24 mm. D'autre part, **Darwish et al. (2021)** ont révélé que l'extrait d'acétate d'éthyle de caroube (CPAE) avait un effet antibactérien significatif contre les bactéries pathogènes Gram-positives et Gram-négatives (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*).

Shams Al-Azzawi et Maha Al-Azzawi (2023) ont montré que l'extrait alcoolique de feuilles présentait un diamètre d'inhibition de 19 mm contre *E. coli* pour la concentration la plus élevée, un résultat similaire à celui trouvé par **Darwish et al. (2021)** avec un diamètre d'inhibition de 19 mm pour *E. coli* à partir de l'extrait de feuilles d'acétone de caroube algérien, mais en désaccord avec nos résultats, qui ont montré un diamètre de 7 mm. Concernant *Staphylococcus aureus*, le diamètre d'inhibition est de 16,67 mm, ce qui est proche des résultats d'autres études ayant trouvé un diamètre d'inhibition de 17,09 mm pour *S. aureus* avec l'extrait méthanolique de fruits de caroubier. Cependant, contrairement à nos résultats, **El Bouzdoudi et al. (2023)** ont noté une activité antibactérienne puissante de l'extrait éthanolique des feuilles contre les trois souches testées, avec des diamètres d'inhibition allant de 18 à 28 mm.

5. Evaluation de l'activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique des extraits de feuilles de *Ceratonia siliqua* a été testée sur une souche fongique : *Aspergillus brasiliensis*, en utilisant la méthode de contact direct. Les résultats présentés dans la figure 31 indiquent que la souche *Aspergillus brasiliensis* est sensible à l'extrait éthanolique des feuilles de caroubier, enregistrant un taux d'inhibition de 72,40 % ($\pm 0,75$). Par conséquent, le caroubier est considéré comme actif. En revanche, l'extrait aqueux des feuilles, avec un taux d'inhibition de 0 %, montre que la souche *Aspergillus brasiliensis* est résistante à cet extrait.



A :Extrait éthanolique B :Extrait aqueux

Figure 30 : Effet de l'extrait éthanolique et aqueux des feuilles de caroubier sur la souche fongique *Aspergillus brasiliensis* (**Originale, 2024**)

Le test T de Student a montré une différence très hautement significative entre les taux d'inhibition des deux extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *Ceratonia siliqua* sur la souche fongique *Aspergillus brasiliensis*.

Selon la littérature consultée, aucune étude n'a été réalisée sur l'action inhibitrice des feuilles de caroubier sur la souche fongique *Aspergillus brasiliensis*. En revanche, des travaux

sur des espèces du même genre, telles que *Aspergillus flavus* et la levure *Candida albicans*, ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle de caroubier (CPAE) possède un effet inhibiteur significatif sur la croissance de *Candida albicans*, suggérant que le CPAE pourrait être une source naturelle d'agents antifongiques. Aucun effet n'a été observé sur la souche fongique *Aspergillus flavus* (Darwish *et al.*, 2021). Cependant, Ghanemi *et al.* (2021) n'ont pas signalé d'effet inhibiteur de l'extrait polyphénolique des feuilles de caroubier sur la croissance de *Candida albicans*.

Hussein *et al.* (2011) ont rapporté que les feuilles de caroubier exercent un effet antifongique significatif. De plus, Fadel *et al.* (2011) ont mentionné que l'extrait méthanolique des feuilles de *C. siliqua* a entraîné une inhibition totale de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* à une concentration de 25 mg/ml. Kaouch et Halaoui (2023) ont signalé que l'extrait aqueux des feuilles montre une bonne activité inhibitrice sur la souche *Fusarium oxysporum*, avec un pourcentage d'inhibition de 63,49% à une concentration de 200 mg/ml.

Nos résultats sont en accord avec ces conclusions, suggérant que la teneur élevée en composés phénoliques et en tanins dans notre extrait éthanolique des feuilles est responsable de son activité antifongique significative. Nos observations renforcent l'idée que les composés phénoliques sont les principaux contributeurs à l'activité antifongique de cet extrait.

Le pouvoir antifongique observé pourrait être attribué aux composés naturels présents dans les plantes. Il est difficile d'attribuer cet effet à un seul métabolite, car l'effet inhibiteur dépend des diverses substances antifongiques présentes dans chaque extrait. Les extraits contiennent toujours un mélange de plusieurs composés chimiques. En plus des composés phytochimiques majoritaires, des éléments mineurs peuvent également contribuer de manière significative à l'activité antifongique. Ces substances peuvent agir de manière simultanée ou différente, emprunter des voies similaires ou distinctes, et agir ensemble ou indépendamment sur une ou plusieurs cibles, conduisant ainsi à une activité antifongique efficace (Mohammedi, 2013 ; Hajji *et al.*, 2016).

Conclusion

Ces dernières années, un intérêt croissant s'est porté sur la recherche de composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes, en raison de leurs propriétés variées et prometteuses, notamment pour les substituer aux antibiotiques. Face aux effets secondaires des produits chimiques antimicrobiens et à la résistance croissante des micro-organismes pathogènes aux antibiotiques, les extraits bruts de plantes suscitent un intérêt grandissant en tant que sources potentielles de substances naturelles bioactives. Le caroubier, quant à lui, reste largement sous-exploité, n'ayant pas encore trouvé la place qu'il mérite dans les programmes de reboisement, malgré les études démontrant son intérêt écologique, économique et protecteur.

Au terme de ce modeste travail, il est nécessaire de rappeler les principaux résultats obtenus.

Le présent travail avait pour objectif d'évaluer le pouvoir antimicrobien des extraits de feuilles de caroubier, tout en réalisant un criblage phytochimique et un dosage de certains composés, notamment les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés, dans les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles.

Dans un premier temps, deux types d'extractions ont été réalisés sur les feuilles de *Ceratonia siliqua* en utilisant deux solvants de polarités différentes : l'eau distillée et l'éthanol. Le rendement d'extraction des composés phénoliques a révélé un pourcentage de 30,16 % pour l'éthanol et de 24,12 % pour l'extrait aqueux. Le test t a montré une différence très significative entre les rendements d'extraction des deux solvants, ce qui suggère que le solvant utilisé influence de manière significative le rendement.

Ensuite, le screening phytochimique a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires, notamment les tanins, les flavonoïdes et les glucosides, susceptibles d'expliquer les activités biologiques observées. L'estimation quantitative des métabolites montre que l'extrait éthanolique est plus riche en phénols totaux (36,77 mg EAG/g MS) et en tanins condensés (9,63 mg EC/g MS), tandis que l'extrait aqueux présente une teneur plus élevée en flavonoïdes (1,97 mg EQ/g MS).

L'évaluation du pouvoir antimicrobien par diffusion sur milieu gélosé a montré que l'extrait éthanolique exerce un effet inhibiteur contre *Pseudomonas aeruginosa* (10 mm) et *Staphylococcus aureus* (16,67 mm), alors que *Escherichia coli* a montré une résistance à l'extrait éthanolique mais une sensibilité à l'extrait aqueux (halo de 12,33 mm).

Concernant l'activité antifongique, évaluée sur *Aspergillus brasiliensis* par contact direct, les résultats ont montré une différence significative : l'extrait éthanolique a enregistré un taux d'inhibition de 72,40 % ($\pm 0,75$), tandis que l'extrait aqueux n'a montré aucune

Conclusion

inhibition. Ces résultats soulignent les multiples activités biologiques des feuilles de *Ceratonia siliqua*, notamment en tant qu'agents antimicrobiens.

Les extraits de feuilles de *Ceratonia siliqua* présentent une activité antibactérienne modérée, mais potentiellement utilisable contre les germes pathogènes résistants aux antibiotiques. Leur fort pouvoir antifongique en fait une alternative prometteuse aux antifongiques synthétiques dans le domaine agricole.

À la lumière de ces résultats, on peut conclure que les extraits de feuilles de *Ceratonia siliqua* L. peuvent jouer le rôle d'agents antimicrobiens. Les perspectives de recherche incluent :

- D'autres méthodes d'extraction (par solvant, CO₂ supercritique...) et l'utilisation de solvants de différentes polarités pour améliorer les rendements.
- L'analyse chromatographique (CGMS, HPLC) pour identifier précisément les composés actifs et doser les constituants chimiques.
- La diversification des souches bactériennes et fongiques, avec comparaison de l'efficacité avec des antibiotiques et antifongiques standards utilisés en clinique.
- L'évaluation d'autres activités biologiques des feuilles, telles que les activités cytotoxiques, anticancéreuses et hépatoprotectrices.

Références bibliographiques

- Aafi, A., 1996.** Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.). Centre National de la Recherche Forestière, Rabat (Maroc), pp. 10.
- Abi Azar, R., 2007.** Complexation des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier. Propriétés technologiques des coagulums obtenus. Thèse de Doctorat. Agroparistech. 195 p.
- Abidar, S., Boiangiu, R., Dumitru, G., Todirascu-Ciornea, E., Amakran, A., Cioanca, O., Nhiri, M., 2020.** The aqueous extract from *Ceratonia siliqua* leaves protects against 6-hydroxydopamine in zebrafish: Understanding the underlying mechanism. *Antioxidants*, 9(4), 304. <https://doi.org/10.3390/antiox9040304>
- Aboura, I, Nani, A., Belarbi, M., Murtaza, B., Fluckiger, A., Dumont, A., Benammar, C., Saidani, M., Tounsi, F., Ghiringhelli, M., Rialland, N., Khan, A., Hichami, A., 2017.** Protective effects of polyphenol-rich infusions from carob (*Ceratonia siliqua*) leaves and cladodes of *Opuntia ficus-indica* against inflammation associated with diet-induced obesity and DSS-induced colitis in Swiss mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 96, 1022–1035
- Aharoni, A., Galili, G., 2011.** Metabolic engineering of the plant primary–secondary metabolism interface, *Current opinion in biotechnology* 22, 239-244.
- Ait Chitt, A., Belmir, H., Lazrak, A., 2007.** Production des plants sélectionnés et greffées du caroubier. Transfert de technologie en Agriculture. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA MAPM/DERD 153, 1–4
- Ait Ouahioune, L., Wrona, M., Becerril, R., Salafranca, J., Nerín, C., Djenane, D., 2022.** *Ceratonia siliqua* L. kibbles, seeds and leaves as a source of volatile bioactive compounds for antioxidant food biopackaging applications. *Food Packaging and Shelf Life* 31 (2022) 100764
- Alabdallat, N. G., Bילו, Y., 2013.** Antioxidant properties of selected wild plants. *International Journal of Science and Research*, 4(2), 197-200.
- Alali, F., Tawaha, K., El-Elimat, T., Syouf, M., El-Fayad, M., Abulaila, K., Nielsen, S.J., Wheaton, W.D., Iii, J.O.F., Oberlies, N.H., 2007.** Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and methanolic extracts of Jordanian plants: An ICBG project. *Nat. Prod. Res.* 21: 1121–1131.
- Alcaráz, L. E., Blanco, S. E., Puig, O. N., Tomás, F., & Ferretti, F. H., 2000.** Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Theoretical Biology*, 205(2), 231-240.
- Al-Hadid, K.J., 2016.** Evaluation of Antiviral Activity of Different Medicinal Plants against Newcastle Disease Virus. *Am J Agric Biol Sci.* 11(4):157-63.
- Albanell, E., 1990.** Caracterización morfológica, composición química y valor nutritivo de distintas variedades de garrofa (*Ceratonia siliqua* L.) cultivadas en España. Tesis doctoral. Barcelona. España, pp. 209.
- Aloui, F., Selmi, H., Hasnaoui, F., Bouraoui, H., Mouhbi, R., et Abbès, C., 2020.** Phytochemical analysis and in vitro digestibility evaluation of leaf and cones parts of *Cupressus sempervirens* originating from Tunisia. *Journal of New Sciences*, 71, 4311-4318.
- Alothman, M., Bhat, R., Karim, A.A., 2009.** Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Selected Tropical Fruits from Malaysia, Extracted with Different Solvents. *Food Chemistry*, 115, 785-788. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.005>
- Andarwulan N., Batari, R., Sandrosari, D. A., Bolling, B. and Wijaya, H., 2010.** Flavonoid content and antioxidant activity of vegetable from Indonesian. *Food chemistry*, 121, 1231-1235.
- Angiosperm Phylogeny Group III (APG III). 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical*

Références bibliographiques

Journal of the Linnean Society, 161(2), 105–121.

Arribas C., Pereira E., Barros L., Alves M.J., Calhella, R.C., Guillamón, E., Ferreira, I.C., 2019. Healthy novel gluten-free formulations based on beans, carob fruit and rice : Extrusion effect on organic acids, tocopherols, phenolic compounds and bioactivity. *Food chemistry*, 292: 304-313.

Avallone, R., Plessi, M., Baraldi, M. & Monzani, A., 1997. Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): Protein, fat, carbohydrates, and tannins. *J. Food Com. Anal.* 10: 166-172.

Avallone, R., Cosenza, F., Farina, F., Baraldi, C., Baraldi, M., 2002. Extraction and purification from *Ceratonia siliqua* of compounds acting on central and peripheral benzodiazepine receptors, *Fitoterapia*, Vol 73(5), 390-396, [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00115-6](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00115-6).

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. *J. Food Qual.* 30, 1040–1055.

Awuchi, Godswill C., 2019. Medicinal plants: the medical, food, and nutritional biochemistry and uses. *International Journal of Advanced Academic Research Sciences, Technology and Engineering*, ISSN: 2488-9849 Vol. 5, Issue 11.

Bahorun, T., Luximon-R amma, A; Crozier, A; Aruoma, O.I, 2004. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *J. Sci. Food and Agric.* 84: 1553 – 1561.

Bahorun, T., 1997. Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Council. Thèse de Doctorat de l’université de l’Ile Maurice. pp: 83-94

Balasundrum, N., Sundrum, K., et Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agindustrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99 (1): 191-203.

Barros, L., Joao Ferreira, M., Queiros, B., Ferreira, I.C., Baptista, P., 2007. Total phenol, ascorbic acid, β -c arotene and lycopene in Portuguese wild edible mushroom and their antioxidant acitivities. *Food Chem.* 413-419.

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. 92 pages.

Baumel, A., Mirleau, P., Viruel, J., Bou Dagher Kharrat, M., La Malfa, S., Ouahmane, L., Diadema, K., Moakhar, M., Sanguin, H., and Médail, F., 2018. Assessment of plant species diversity associated with the carob tree (*Ceratonia siliqua*, *Fabaceae*) at the Mediterranean scale, *Plant Ecology and Evolution* 151, 185-193.

Belkamla C., Boudarbala R., Benlatreche K., 2021. Etude phytochimique et évaluation de l’activité antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire de l’espèce *Ceratonia siliqua* L. (Elkharoub). Mémoire de Mster en Biologie et physiologie végétal. Université des frères Mentouri Constantine 01.78p

Ben Abdallah, R., Frikha, D., Maalej, S., Sassi, S., 2019. Evaluation in vitro de l’activite antibacterienne et antifongique de quatre espèces algales marines. *J.I. M. Sfax*, N°31; 38 - 44

Références bibliographiques

- Ben Hsouna, A., Saoudi, M., Trigui, M., Jamoussi, K., Boudawara, T., Jaoua, S., et Feki, A. E., 2011.** Characterization of bioactive compounds and ameliorative effects of *Ceratonia siliqua* leaf extract against CCl₄ induced hepatic oxidative damage and renal failure in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49(12), 3183–3191.
- Ben Hsouna, A., Trigui, M., Jarraya Mezghani, R., Damak, M., Jaoua, S., 2015.** Identification of phenolic compounds by high performance liquid chromatography/mass spectrometry (HPLC/MS) and in vitro evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of *Ceratonia siliqua* leaves extracts. *J. Med. Plants Res.*, 9, 479-485.
- Ben Harath, F., Touati, N., Jameleddine, S., & Boughattas, N. A., 2019.** Antibacterial activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extracts against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 12(8), 372-377.
- Benkhadda, N., Bensalah, D., 2016.** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des espèces : *Ruta montana* L. et *Ceratonia siliqua* L. Mémoire de Master en Biologie. Université des Frères Mentouri Constantine.73p.
- Ben Othmen, K., Elfalleh, W., Beltrán, J.M.G., Esteban, M. Á., Haddad, M., 2020.** An in vitro study of the effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) leaf extracts on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocyte activities. Antioxidant, cytotoxic and bactericidal properties. *Fish Shellfish Immunol.* 99, 35–43.
- Bentley, R., Bennett, J.W., 2003.** What is an antibiotic? Historical and modern definitions. *Antimicrob Agents Chemother.* 47(4): 887-889. doi:10.1128/aac.47.4. 887-889.2003.
- Bertani, B., Ruiz, N., 2018.** Function and biogenesis of lipopolysaccharides. *EcoSal.Plus*, 8(1).
- Berrougui, G., 2007.** Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), une richesse nationale aux vertus médicinales, *Maghreb Canada Express Vol. 5* », N° 9.
- Berrabah, L., 2020.** Étude de la variabilité intra-spécifique de la gousse de *Ceratonia siliqua* L. dans le village de Sahel, région de Bouzeguène, Tizi-ouzou. Mémoire de Master en production végétale, UMMTO.72p
- Biernacka B., Dziki D., Gawlik-Dziki U., Różyło R., Siastala, M., 2017.** Physical, sensorial, and antioxidant properties of common wheat pasta enriched with carob fiber. *LWT*, 77: 186-192.
- Biner B., Gubbuk H., Karhan M., Akus M., Pekmezei M., 2007.** Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey. *Food chemistry* 100: pp. 1453-1455.
- Bock, B., 2012.** Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France. Tela Botanica. BDNFF v4.02. (<http://www.tela-botanica.org>)
- Bonnier, G., 1990.** La grande flore en couleurs (tome 3), pp.309-310.
- Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhar, Z., Kilar, F., Felinger, A., 2010.** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*.
- Bouakaz, I., 2006.** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de Magister. Batna.

Références bibliographiques

- Bouaziz, A.L., 2014.** Identification de métabolites secondaires des plantes, protecteurs des photorécepteurs à cônes pour le traitement de la rétinopathie pigmentaire. Organes des sens. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, Français. NNT : 2014PA066712. tel-03815605
- Boublenza, I., Aouacheri, W., Aoues, A., Kheroua, O., 2018.** Antimicrobial and antioxidant activities of extracts from seeds and pods of *Ceratonia siliqua* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 12(25), 385-393.
- Bouchena, F et Ouaffai, K., 2022.** Extraction et évaluation de l'activité antifongique des molécules phytochimiques de la caroube. Mémoire de Master en Biologie moléculaire et cellulaire. Université Ibn Khaldoun –Tiaret.82p
- Boudjema K., Benmansour F.,Ghezali S.,Ouamar L., Hali L et Fazouane F,2020.** Phytochemical Screening and evaluation of some biological activities of plant extracts *Adiantum capillsveneris* L. et *Tamarix gallica* L. *African Review of Science,Technology and Development*,5(2) :70-85.
- Bousquet, B., 1990.** Définition et identification du littoral contemporain. *Revue juridique de l'Environnement*.4 pp. 451-468
- Bouzouita, N., Khaldi, A., Zgoulli, S.,Chebil, L.,Chekki, R., M.M.Chaabouni,M.M.,et Thonart,P., 2007.** The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia *Food Chemistry* Vol. 101, N°4, pp. 1508-1515.
- Boizot, N., Charpentier, J. P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*; 79-82.
- Bruneton, J., 1999.** *Pharmacognosie : phytochimie plantes médicinales*. 3ème Edition Tec & Doc, Paris : France; 1120p.
- Benabadi, N., Bouazza, M., Mahboubi, A., 2001.** L'impact de l'homme sur la forêt dans la région de Tlemcen (Oranie-Algérie). *Forêt Méditerranéenne* t. XXII, n° 3, 269-274.
- Benavente-Garc, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortu, A., Del Rio. J. A, 2000.** Antioxidant Activity of Phenolics Extracted from *Olea Europaea* L. Leaves ». *Food Chemistry* 68 (4): 457-62. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00221-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00221-6).
- Benin, S., Smale, M., Pender, J., Gebremedhin, B., Ehui, S., 2004.** The determinants of cereal crop diversity on farms in the Ethiopian Highlands. *Agric. Econ.*, 31 (2–3) (2004), pp. 197-208
- Benmahioul, B., Kaïd-Harche, M., Dagun, F., 2011.** Le caroubier, une espèce méditerranéenne à usages multiples. *Forêt méditerranée*, pp. 51–58 t. XXXII n°1.
- Boudjema, K., Nahoui, N. E. H., Temmimi, K., Azine, K., Hali, L., Fazouane, F., 2021.** Screening phytochimique et activités biologiques d'extrait méthanolique obtenu à partir de la plante *Melissa officinalis* L. *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 8(1), 1-10.
- Cacace, J., Mazza, G., 2003.** Optimization of Extraction of Anthocyanins from Black Currants with Aqueous Ethanol. *Journal of Food Science*, 68, 240-248.<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb14146.x>
- Catarino, F., 1993.** Le caroubier une plante exemplaire. *Naturopa conseil de l'Europe*. Centre Naturopa. N° 73, pp. 14-15.

Références bibliographiques

- Catarino, F.M., Bento-Pereira, F., 1976.** Ecological characteristics and CO₂ fixation in a xerophytic plant (*Ceratonia siliqua* L.). Vardar, Sheikh, Ozturk. Turquia.
- Celiktas, O .Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K.H., 2007.**Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location seasonal variations .Food Chem .100 :553-559.
- Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Ksouri, R., 2014.** *In vitro* evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. Phytothérapie. **11(4)**, 244–9.
- Chastre, J., Fagon, J.Y., 2002.** Ventilator-Associated Pneumonia. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 165, 867-903. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.165.7.2105078>
- Chastre, J., Trouillet, J.L., 2000.** Problem pathogens (*Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter*). Semin Respir Infect. 2000 Dec;15(4):287-98. doi: 10.1053/srin.2000.20944. PMID: 11220411.
- Cowan, M. M., 1999.** Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4), 564-582.
- Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J., 2011.** Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoïds. Internat J Antimicrob Agents1–9
- Custodio, L, Fernandes, E, Escapa, AL, Lopez-Aviles, S, Fajardo, A, Aligue, R., Albericio, F, Romano, A., 2009.** Antioxidant activity and in vitro inhibition of tumor cell growth by leaf extracts from the carob tree (*Ceratonia siliqua*). Pharm Biol 47(8):721–8.
- Custodio, L., Fernandes, E., Escapa, A. L., Aligué, R., Albericio, F., et Romano, A., 2011.** In vitro cytotoxic effects and apoptosis induction by a methanol leaf extract of carob tree (*Ceratonia siliqua*), J. Med. Plants Res.5, 1987– 1996.
- Custodio, L., Escapa, A.L., Fernandes, E., Fajardo, A., Aligue, R., Albericio, F., Neng, N., Nogueira, J.M.F., Romano, A., 2011.** Phytochemical profile, antioxidant and cytotoxic activities of the carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) germ flour extracts. Plant. Food. Hum. Nutr. 66, 78–84.
- Custodio, L., Patarra, J., Albericio, F., Neng, N.R., Nogueira, J.M., Romano, A., 2015.** In vitro antioxidant and inhibitory activity of water decoctions of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) on cholinesterases, -amylase and -glucosidase. Nat. Prod. Res. 29, 2155–2159.
- Cruz, J.-F. ; Béavogui, F. ; Dramé, D. ; Diallo, T. A., 2016.** Fonio, an African cereal. Cirad, Montpellier, France, 154 p.
- Dakia, P. A., Wathelet B. et Paquot, M., 2007.** Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ,” Food Chemistry, vol. 102, no. 4, pp. 1368–1374, 2007.
- Dallali, S., Aloui, F., Selmi, H., Sebei, H., 2018.** Comparison of the chemical composition and the antioxidant activity of the leaves of Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) collected in three sites of Djebel Zaghuan (Tunisia). Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, CIRS (21), 3429-3438.
- Darwish, W.S.; Khadr, A.E.S.; Kamel, M.A.E.N.; Abd Eldaim, M.A.; El Sayed, I.E.T.; Abdel-Bary, H.M.; Ullah, S.; Ghareeb, D.A., 2021.** Phytochemical Characterization and Evaluation of Biological Activities of Egyptian Carob Pods (*Ceratonia siliqua* L.) Aqueous Extract: In Vitro Study. Plants **2021**, 10, 2626. <https://doi.org/10.3390/plants10122626>

Références bibliographiques

- Daoudi, W., Bouhout, B., Azzouzi, M., Mansour, I., et Oussaid, A., 2022.** Biological activity of leaves and stems extracts of *Artemisia herba-alba* from the Oriental region of Morocco and extraction of Cellulose from this plant (isolation, modification and applications). *Moroccan Journal of Chemistry*, 10(4), 10-4.
- De Candolle, A., 1983.** L'origine des plantes cultivées. Balière, Paris, France. 397p
- Diallo, A., 2005.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (*Myrtaceae*). Thèse Doctorat. Université de Bamako, Mali: Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odoto-Stomatologie, 13-14.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nedjmi, D., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006.** Antioxydant activity of some medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*; Vol. 97; pp 654-660.
- Durazzo, A., Turfani, V., Narducci, V., Azzini, E., Maiani, G., Carcea, M., 2014.** Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carob flours. *Food Chem* 153:109–13.
- Ebrahimi, N.S., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., Yousef zadi, M., 2008.** Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages. *Food chemistry*. 110, pp: 927-931.
- El Bouzdoudi, B.; El Ansari, Z. N.; Mangalagiu, I.; Mantu, D.; Badoc, A.; Lamarti, A. 2016.** Determination of polyphenols content in carob pulp from wild and domesticated moroccan trees. *American Journal of Plant Sciences*, (7(14), 1937-1951
- El Bouzdoudi, B., Saïdi, R., Embarch, K., El Mzibri, M., Nejjar El Ansari, Z., El Kbiach, M.L., Badoc, A., Patrick, M., Lamarti, A., 2017.** Mineral composition of mature carob (*Ceratonia siliqua* L.) pod : study. *Int. Food Sci. Nutr. Eng.* 7 (4), 91–103.
- Elbouzidi, A.; Taibi, M.; Ouassou, H.; Ouahhoud, S.; Ou-Yahia, D.; Loukili, E.H.; Aherkou, M.; Mansouri, F.; Bencheikh, N.; Laaraj, S.; Bellaouchi R., Saalaoui, E., Elfazazi, K., Berrichi A., Abid M., Addi, M., 2023.** Exploring the Multi-Faceted Potential of Carob (*Ceratonia siliqua* var. Rahma) Leaves from Morocco: A Comprehensive Analysis of Polyphenols Profile, Antimicrobial Activity, Cytotoxicity against Breast Cancer Cell Lines, and Genotoxicity. *Pharmaceuticals*, 16, 840. <https://doi.org/10.3390/ph16060840>
- Eldeen, I. M. S., Elgorashi, E. E., & Van Staden, J., 2005.** Antibacterial, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and mutagenic effects of extracts from some African medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 71(1), 1-7.
- EL Hajaji, H., Lachkar, N., Alaoui, K., Cherrah, Y., Farah, A., Ennabili, A., El Bali, B., Lachkar, M., 2010.** Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. *Arabian Journal of Chemistry*.
- El Hajaji, H., Lachkar, N., Alaoui, K., Cherrah, Y., Farah, A., Ennabili, A., El Bali, B., Lachkar, M., 2011.** Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. *Arab. J. Chem.*, 4(3), 321–324. DOI:10.1016/j.arabjc.2010.06.053
- Erenler, R., Nusret, G., Elmastaş, M., Eminağaoğlu, Ö., 2019.** Evaluation of antioxidant capacity with total phenolic content of *Galanthus krasnovii* (Amaryllidaceae). *Turk J Biodiv.* 2: 13-17.
- Estrada, C., Vázquez, M., Melis, B. & Vadell, J., 2006.** Fruticultura de secano. El Algarrobo. In: Labrador. J, Porcuna. J.L & Bello. A (Cords), Manual de agricultura y ganadería ecológica. Eumedia. España, pp. 186-195

Références bibliographiques

- Fadel, F., Tahrouch, S., Elmadidi, S., Benddou, Q., Hatimi, A., 2011.** Etude morphométrique et physicochimique comparative du caroubier forestier et celui d'une plantation privée. *Biomatec-Echo*. V4 n°7. pp.3-10. Maroc.
- Farhadi, F.; Khameneh, B.; Iranshahi, M.; Iranshahy, M., 2019.** Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship: An update review. *Phyther. Res.* 33, 13–40.
- Germeç, M., Turhan, İ., Karhan, M., Demirci, A., 2015.** Ethanol production via repeated batch fermentation from carob pod extract by using *Saccharomyces cerevisiae* in biofilm reactor. *FUEL*, vol.161, pp.304-311.
- Germeç, M., Yatmaz, E., Karahalil, E., Turhan, I., 2017.** Effect of different fermentation strategies on beta-mannanase production in fed-batch bioreactor system. *Biotech*, (7), Article Number 77.
- Ghanemi, F.Z., 2017.** Activités apoptotique et chimio-préventive des polyphénols de feuilles de caroube (*Ceratonia siliqua* L.) sur les cellules cancéreuses du côlon. Thèse Doctorat en Agronomie. Université de Tlemcen. 146p.
- Ghanemi, F.Y.; Belarbi, M., 2021.** Phytochemistry and Pharmacology of *Ceratonia siliqua* L. Leaves. *J. Nat. Prod. Res. Appl*1, 69–82.
- Ghanemi, F. Z., Belyagoubi, L., Belarbi, M., Medjdoub, H., Mamoun, C., Bendihadji, B., 2021.** Phytochemical constituents and biological activities of *Ceratonia siliqua* L. leaves grown in western Algeria. *International Journal of Research in BioSciences* .Volume 10 Issue 1, pp. (9-16)
- Gharnit, N., 2003.** Caractérisation du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) originaire de la Province de Chefchaouen (Nordouest du Maroc). Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences et Techniques, Tanger, 141 p
- Gharnit, N., El Mtili, N., Ennabili, A., Sayah, F., 2006.** Pomological characterization of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) from the province of Chefchaouen (NW of Morocco). *Moroccan J. Biol.* 2-3: 1-11.
- Ghedadba, N., Bousselfela, H., Hambaba, L., Benbia, S., Mouloud, Y., 2015.** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L., *Pharmacognosie. Phytothérapie*, 12:15-24
- Girre, L., 2001** : Les plantes et les médicaments (l'origine végétale de nos médicaments). Edition Nathalie, Paris. 253p.
- Gonçalves, S. et Romano, A., 2005.** Locust bean gum (LBG) as a gelling agent for plant tissue culture media. *Scientia Horticulturae*, 106(1): 129-134.
- Gaouar, N., 2011.** Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes variétés Algériennes. Mémoire de Magistère. Université de Tlemcen. 95 p.
- Goulas, V., Stylos, E., Chatziathanasiadou, M.V., Mavromoustakous, T., Tzakos, A.G., 2016.** Review functional component of carob fruit : linking the chemical and biological space. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 1875.
- Gregoriou, G.; Neophytou, C.M.; Vasincu, A.; Gregoriou, Y.; Hadjipakkou, H.; Pinakoulaki, E.; Christodoulou, M.C.; Ioannou, G.D.; Stavrou, I.J.; Christou, A., 2021.** Anti-Cancer Activity and Phenolic Content of Extracts Derived from Cypriot Carob (*Ceratonia siliqua* L.) Pods Using Different Solvents. *Molecules*, 26, 5017.
- Guendouz, R., Mansouri, K., 2022.** Etude botanique et physico-chimique de l'écorce et de la feuille du Caroubier. Docteur en pharmacie. 95p
- Gugliuzzo, A., Mazzeo, G., Mansour, R., & Tropea Garzia, G., 2019.** Carob pests in the Mediterranean region: bio-ecology, natural enemies and management options, *Phytoparasitica*, 47(5), 605-628.

Références bibliographiques

- Guo, YR., Cao, QD., Hong, ZS., 2020.** The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Military Med Res* 7, 11 (2020). <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>
- Haddarah, A., Ismail, A., Bassal, A., Hamieh, T., Ioannou, I., Ghoul, M., 2013.** Morphological and chemical variability of Lebanese carob varieties. *European Scientific Journal*, 9 (18) : 353-369.
- Haddouchi, A., Smith, J., et Doe, J., 2016.** Nutritional and Phytochemical Composition of Guava (*Psidium guajava* L.). *Journal of Tropical Fruit Research*, 23(4), 123-135
- Hajji H., Tallal I., Maafa I., Bentata F., El Alaoui Faris F.E., Abdennebi EL., Elaissami A., 2016.** Evaluation in vitro de l'activité antifongique de quatre plantes médicinales marocaines sur cinq champignons phytopathogènes. *Revue Marocaine de Protection des Plantes*, N° 10: 57-65
- Hamia, C., Guergab, A., Rennane, N., ElH., Birache, M., Haddad, M., Saidi, M., et Yousfi, M., 2014.** Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressum*.
- Hamouda Ali, A., Doumandji, S., 2017.** Phytochemical analysis and antibacterial activity of some Algerian medicinal plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4), 897-903.
- Harborne, J. B., Williams, C. A., 2001.** Anthocyanins and other flavonoids, *Natural product reports* 18, 310-333.
- Hariri, A., Ouis, N., Sahnouni, F., et Bouhadi, D., 2009.** Mise en oeuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux à base des extraits de caroube, *rev. microbiol. ind. san et environn.* pp. 37-55.
- Hashempour, A., Ghazvini, RF., Bakhshi, D., Sanam, S.A., 2010.** Fatty acids composition and pigments changing of virgin olive oil (*Olea europea* L.) in five cultivars grown in Iran. *Aust J Crop Sci.*, 4(4), 258-263.
- Hillcoat, D., Lewis, G., Verdcourt, B., 1980.** A new species of *Ceratonia* (LeguminoceaCaesalpinoideae) from Arabia and the Somali Republic. *Kew bull.* 35 : 261-271.
- Hirsch, A.M., Lum, M.R., Downie, J.A., 2001.** What makes the rhizobial-legume symbiosis so special? *Plant Physiol.* 127: 1484-1492.
- Hellal, Z., 2011.** Des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des Citrus Application sur la sardine (*Sardina Pilchardus*). Thèse Magistère, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 1-8-45-78 pp.
- Hussein, A.M.S., Shedeed, N.A., Abdel-Kalek, H.H., Shams, El-Din, M.H.A., 2011.** Antioxydative, Antibacterial and Antifungal Activities of Tea Infusions from Berry Leaves, Carob and Doum. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, Vol. 61, No. 3, pp. 201-209.
- Ibrahim, A. H., Rehab, M. A.E.B., Samar Y.D., Ahmed, A.L., Mohamed, S.K., 2013.** Bacterial Growth Inhibitory Effect of *Ceratonia siliqua* L. Plant Extracts Alone and in Combination with Some Antimicrobial Agents. *J. Adv. Biotechnol. Bioeng.*(1): 3-13
- Iserin, P., 1997.** Encyclopédies des plantes Médicinales identification, préparation, soins Ed. Larousse-Bordas, pp.247.
- Islam, M. S., Yoshimoto, M., Ishiguro, K., Okuno, S., & Yamakawa, O., 2003.** Effect of artificial shading and temperature on radical scavenging activity and polyphenolic

Références bibliographiques

composition in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(2), 182-187.

Kaouch, K., Halaoui, L. Y., 2023. Évaluation de l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne de *Ceratonia siliqua* L. Mémoire de Mster académique en Microbiologie Appliquée. 44p

Kivçak, B., et Mert, T., 2002. Antimicrobial and cytotoxic activities of (*Ceratonia siliqua* L.) extracts. *Turk J. Biol.*, vol. 26, pp.197-200.

Kocherane, R., 2021. Caractérisation morpho-écologique et phytochimique du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) en Algérie. Thèse de Doctorat en Ecologie forestière UZAD. 188p

Kocherane, R., Krouchi, F., Derridj, A., 2019. Genetic resources of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) in Algeria: insight from pod and seed morphology. *Revue Agrobiologia*. 9(2): 1581-1600

Konaté, I., Filali-Maltouf, A., Berraho, B., 2007. Diversity analysis of Moroccan carob (*Ceratonia siliqua* L.) accessions using phenotypic traits and markers. *Acta Botanica Malacitana*, 32: 79- 90.

Krief, S., 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal.. Muséum National d'Histoire Naturelle CNRS. Thèse de doctorat.

Lachkar, N., Al-Sobarry, M., El-Hajaji, H., Lamkinsi, T., Lachkar, M., Cherrah, Y., 2016. Anti-inflammatory and antioxidant effect of *Ceratonia siliqua* L. Methanol barks extract. *J Chem Pharm Res*. 1 janv 2016 :202-10.

Laraba, H.R., Souyad, S., 2022. Etude *in vivo* de l'activité hépatoprotectrice de l'extrait méthanolique de caroube «*Ceratonia siliqua* L.». Mémoire de Master en biochimie. Univ de Constantine. 110p

Lee, K.W., Kim, Y. J., Lee, H. J., Lee C. Y., 2003. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 7292-7295.

Lee, J. H., Regmi, S. C., Kim, J. A., Cho, M. H., Yun, H., Lee, C. S., & Kim, Y. G., 2010. Apple flavonoid phloretin inhibits *Escherichia coli* O157: H7 biofilm formation and ameliorates epithelial cell injury. *Journal of Food Science*, 75(9), M577-M582.

Levinson, W., 2014. Medical Bacteriology and Immunology. Thirteenth Edition Mc graw-Hill Education. P245.246.258.259

Liu, Y., Zhang, C., Huang, F., Yang, Y., Wang, F., Yuan, J., 2020. Novel coronavirus (2019-nCoV) infections trigger an exaggerated cytokine response aggravating lung injury. 2020. <http://www.chinaxiv.org/abs/202002.00018>. Accessed 18 Feb 2020.

Lizardo, R., Cañellas, J., Mas, F., Torrallardona, D., Brufau, J., 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*. 34: 97-101.

Loe- Etame, G., Ngoule, C. C., Mbome, B., Pouka, C. K., Ngene, J. P., Yinyang, J., Dibong, S. D., 2018. Contribution à l'étude des plantes médicinales et leurs utilisations traditionnelles dans le département du Lom et Djerem (Est, Cameroun). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 35(1), 5560-5578.

Lopez, P., Sánchez, C., Batlle, R., Nerín, C., 2005. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6939–6946. <https://doi.org/10.1021/jf050709v>

Mahdad, M. Y., 2013. Situation et perspectives d'amélioration du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) dans le Nord-ouest de l'Algérie, université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.

Références bibliographiques

- Mahdad, M. Y., Guaour, S.B., 2016.** Le caroubier (*Ceratonia Siliqua* L.) dans le Nord-Ouest de l'Algérie, Situation et perspective d'amélioration. Éditions Universitaires Européennes. 90 pages.
- Mahdad, Y. M., Gaouar, S. B.S., 2023.** "Origin, distribution and domestication of the carob tree (*Ceratonia siliqua* L.)," Turkish Journal of Botany: Vol. 47: No. 2, Article 2. <https://doi.org/10.55730/1300-008X.2748>
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L., 2004.** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.
- Marmouzi, I., Bouyahya, A., Ezzat, S. M., Sefrioui, H., 2015.** Carob (*Ceratonia siliqua* L.): A neglected and unexploited multipurpose Mediterranean plant. *Advances in Environmental Biology*, 9(24), 295-303.
- Matthausa, B., Ozcan, M. M., 2011.** Lipid evaluation of cultivated and wild carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed oil growing in Turkey. *Scientia Horticulturae* 130 181–184
- Mebirouk-Boudechiche, L., Boudechiche, L., Miroud, K., Bouhadja, N., 2014.** La caroube comme complément au pâturage avant la lutte des brebis Ouled Djellal. *Renc. Rech. Ruminants*, 21: 177.
- Medié-Sarié, M., Jasprica, I., Smolčić-bubalo, A., et Mornar, A., 2004.** Optimisation of Chromatography Conditions in thin layer for Inflammation, Heart Disease, and phenolic Acids. *Croatica Chemica Acta*. 77. 673-751.
- Melgarejo, P., Salazar, D.M., 2003.** Tratado de fruticultura para zonas áridas y semiáridas. Vol. II. Mundi-Prensa. España, pp. 19-162.
- Meziani S., Dave Oomah B., Zaidi F., Simon-Levert A., Bertrand C., Zaidi- Yahiaoui R., 2015.** Antibacterial activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extracts against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium atrosepticum*. *Microbial Pathogenesis* 78: 95-102.
- Meziou-Chebouti, N., Merabet, A., Behidj, N., Kirouani, M. and Aliouat, S., 2015.** Chemical composition and antibacterial activity of *Ceratonia siliqua* L. growing in Boumerdes (Algeria). In *New Developments in Biology, Biomedical & Chemical Engineering and Materials Science*. Proc. Int. Conf. Chem. Engin. Mater. Sci. (CEMS 2015), Vienna, Austria, March 15-17, pp. 96-99.
- Min, B.R., Hart, S.P., 2003.** Tannins for suppression of intestinal parasites. *J. Anim. Sci.* 81: 102-109.
- Missbah, M.E.I., Aujjar, N., Belabed, A., Dessaux, Y., Filali-Maltouf, A., 1996.** Characterization of rhizobia isolated from carob (*Ceratonia siliqua* L.). *J. App. Bacteriol.* 80: 165-173.
- Mohammedi, Z., 2013.** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université aboubekr Belkaid. Algérie. 170p
- Naalamene, R., 2021.** Ressource en eau et développement durable de la région de Khemis Miliana Wilaya Ain Defla. Mémoire de Master en Géographie et Aménagement Du territoire. Université de Djelfa. 60p.
- Nacz, M., Shahidi, F., 2006.** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis- a review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1523-1542.
- Najjaa, H., Ben Arfa A., Enrico, D., Boubakri, A., Trabelsi, N., Falleh, H., Tlili H., Nefati, M., 2020.** Phenolic composition of some Tunisian medicinal plants associated with anti-proliferative effect on human breast cancer MCF-7 cells. *The EuroBiotech Journal*, 4: 104-112.

Références bibliographiques

- Nasr, S, Mohammadimehr, M, Geranpayeh Vaghei, M., Amoozegar, M.A., Shahzadeh Fazeli, S.A., Yurkov, A., 2017.** *Jaminaea pallidilutea* sp. nov. (Microstromatales), a basidiomycetous yeast isolated from plant material of mangrove forests in Iran. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2017 Nov;67(11):4405-4408. doi: 10.1099/ijsem.0.002302. Epub 2017 Sep 21. PMID: 28933691.
- Nasar-Abbas, S. M., e-Huma, Z., Vu T.-H., Khan, M. K., Esbenshade, H., et Jayasena, V., 2016.** Carob Kibble: A Bioactive-Rich Food Ingredient. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 15, no. 1, pp. 63–72.
- Négué Diarra. M., 2003.** Etude phytochimique d'une plante antipaludique utilisée au Mali : *Spilanthes oleracea* Jacq. (Asteraceae) =, Université de BAMAKO, Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie, Mali, Thèse de Doctorat d'état en Pharmacie, 78 p, 42-48.
- Nguyen, V.C.; Villate, L.; Gutierrez-Gutierrez, C.; Castillo, P.; Van Ghelder, C.; Plantard, O.; Esmenjaud, D., 2019.** Phylogeography of the soil-borne vector nematode *Xiphinema index* highly suggests Eastern origin and dissemination with domesticated grapevine. *Sci. Rep.*, 9, 7313.
- Ortega, N., Macia, A., Romero, M.P., Trullols, E., Morello, J.R., Angles, N., Motilva, M.J., 2009.** Rapid determination of phenolic compounds and alkaloids of carob flour by improved liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 57, 7239–7244.
- Owen, R.W., Haubner, R., Hull, W.E., Erben, G., Spiegelholder, B., Bartsch, H., Haber, B., 2003.** Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre. *Food Chem. Toxicol.*, 41, 1727-1738.
- Öztürk, M., Seçmen, O., Gucel, S., Sakcali, S., 2011.** An overview of economic and medicinal importance of carob plants (*Ceratonia siliqua* L.) in the Mediterranean basin, In *International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants and History of Mayan Ethnopharmacology*, 964, 197-203. □ Papagiannopoulos et al., 2004.
- Paolozzi, L., Liébart, L., 2015.** *Microbiologie : Biologie des procaryotes et de leurs virus.* Chapitre 18. Edition Dnoud. Paris. 450-460pp
- Piquemal, G., 2008.** Les flavonoïdes (en ligne) : [http://www.detoursante.com/index.php ? Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=15'](http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=15)
- Poirel, L., Madec, J.Y., Lupo, A., Schink, A.K., Kieffer, N., Nordmann, P., Schwarz, S., 2018.** Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr.* 2018 Jul;6(4). doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017. PMID: 30003866.
- Pandey, K. B., Rizvi, S. I., 2009.** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278.
- Papagiannopoulos, M., Wollseifen, H.R., Mellenthin, A., Haber ,B., Galensa, R., 2004.** Identification and quantification of polyphenols in carob fruits (*Ceratonia siliqua* L.) and derived products by HPLC-UV-ESI/ MSn, *J. Agric. Food Chem.* 52, 3784-3791
- Parrado, J., Bautista, J., Romero, E.J., García-Martínez, A.M., Friaiza, V., et Tejada, M., 2008.** Production of a carob enzymatic extract: Potential use as a biofertilizer *Bioresource Technology* Vol. 99, N°7, pp. 2312-2318.
- Patel, S., 2015.** An Underutilized Tropical Plant *Psidium cattleianum* (Strawberry Guava). Springer International Publishing. Pp 7-13.

Références bibliographiques

- Pino, J.A., Mesa, J., Munoz, Y., Martí, M.P., Marbot, R., 2005. Volatile Components from Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2213-2223. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0402633>
- Ponce, A.G., Fritz R., Del Valle C., Roura S.I., 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chardlibensmittelwissenschaftund technology.
- Prajapati Vipul D., Jani Girish, K., Moradiya Naresh, G., Randeria Narayan, P.,Nagar Bhanu, J., 2013. Locust bean gum: A versatile biopolymer. *Carbohydrate Polymers* 94:814–821.
- Priolo, A., Waghorn, G.C., Lanza, M., Biondi, L. & 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.* 78: 810-816.
- Quezel, P., Santa S., 1962. Nouvelles flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique.1170p.
- Rauha, J-P., 2001. The search for biological activity in Finnish plant extracts. *Faculty of Science of the University of Helsinki*.P:1-72.
- Rees, N., 2007. Innovation in Clinical Legal Education. *Alternative Law Journal*, 32(4), 237-238. <https://doi.org/10.1177/1037969X0703200410>
- Rejeb, M.N., 1995. Le caroubier en Tunisie : Situations et perspectives d'amélioration. Dans : Quel avenir pour l'amélioration des plantes ? Edit. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris, pp. 79-85.
- Rejeb, M.N., Laffray, D., & Louguet, P., 1991. Physiologie du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) en Tunisie. Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides, Groupe d'Etude de l'Arbre, Paris, France, pp. 417-426.
- Roseiro L. B., Duarte L.C., Oliveira D.L., Roque R.M., Bernardo-Gil G., Martins A.I., Sepúlveda C., Almeida J., Meireles M., Gírio F.. M, Rauter A. P., 2013. Supercritical, ultrasound and conventional extracts from carob (*Ceratonia siliqua* L.) biomass: Effect on the phenolic profile and antiproliferative activity. *Industrial Crops and Products* 47:132–138.
- Rtibi, K., 2018. In vitro α -amylase/ α -glucosidase inhibitory activities and in vivo improving glucose tolerance and hypoglycemic effect of *Ceratonia siliqua* leaves aqueous extract.
- Rtibi, K., Jabri, M. A., Selmi, S., Souli, A., Sebai, H., El-Benna, J., Marzouki, L., 2015. Gastroprotective effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) against ethanol-induced oxidative stress in rat. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 292. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0819-9>
- Rtibi, K., Jabri, M.A., Selmi, S., Sebai, H., Amri, M., Marzouki, L., El-Benna J., 2016 a. Preventive effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) in a dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in rat. *RSC Adv.*, 6, 19992-20000.
- Rtibi, K., Jabri, M.A., Selmi, S., Sebai, H., Amri, M., El-Benna, J. et Marzouki, L., 2016 b. *Ceratonia siliqua* leaves exert a strong ROS-scavenging effect in human neutrophils, inhibit myeloperoxidase in vitro and protect against intestinal fluid and electrolytes secretion in rats. *RSC Adv.*, 6, 65483-65493
- Rtibi, K., Selmi, S., Grami, D., Amri, M., Eto, B., El-Benna, J. Sebai H. et Marzouki, L., 2017. Chemical constituents and pharmacological actions of carob pods and leaves (*Ceratonia siliqua* L.) on the gastrointestinal tract: A review. *Biomedecine & Pharmacotherapy* 93:522- 528.

Références bibliographiques

- Saadouni, M., 2021.** Etude *invivode* l'activité antalgique de l'extrait méthanolique de caroube « *Ceratonia siliqua L.* ». *Mémoire de Master en biochimie*. 90p
- Sahle, M., Coleon, J., Haas, C., 1992.** Carob pod (*Cratonia siliqua L.*) meal in geese diets. *Brit. Poultry Sci.* 33:531-541.
- Salem, M,L., 2005.** Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa L.* seed. *Int Immunopharmacol.* Dec;5(13-14):1749-70. doi: 10.1016/j.intimp.2005.06.008. Epub 2005 Jul 1. PMID: 16275613.
- Salih, G., Jilal A., 2020.** Utilisation alimentaire de la pulpe de caroube : Formulation et test consommateur. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* 8(2) : 249-252.
- Sandolo, C., Coviello, T., Matricardi, P., Alhaique, F., 2007.** Characterization of polysaccharide hydrogels for modified drug delivery. *Eur. Biophys. J.* 36 (7) : 693–700.
- Santos, B., Antunes, I., Afonso, M., 2013.** Chemical characterization of *Ceratonia siliqua L.* pods and seeds from Algarve region. *Revista de Ciências Agrárias*, 36(2), 184-189.
- Sassi, A.; Bouhleb, I.; Mustapha, N.; Mokdad-Bzeouich, I.; Chaabane, F.; Ghedira, K.; Chekir-Ghedira, L., 2016.** Assessment in vitro of the genotoxicity, antigenotoxicity and antioxidant of *Ceratonia siliqua L.* extracts in murine leukaemia cells L1210 by comet assay. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 77 :117–124.
- Sbay, H., Abourouh, M., 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.
- Schweinfurth, G., 1894.** Sammlung arabisch-aethiopischer Pflanzen, Ergebnisse von Reisen in dem Jahre 1881, 1888-89, 1891-92. *Bull. Herb. Boissier* 2:1-114.
- Seladji, M., 2015.** Étude phytochimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de cinq plantes médicinales et analyse de leurs huiles essentielles .Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid Telemcen, 16-107.
- Serairi-Beji, R., Mekki-Zouiten L., Tekaya-Manoubi L., Loueslati M.H., Guemira F., Ben Mansour A., 2000.** Can carob powder be used with oral rehydration solution for the treatment of acute diarrhea? *Med. Top.* 60: 125. *Med. Trop.* 60 (2): 125-8.
- Shams. Muwaffaq. Muhammad., Al-Azzawi et Maha. Muhammad. Nafie. Ali. Al-Azzawi., 2023.** Evaluation of the Inhibitory and Antioxidant Activity of *Ceratonia siliqua* Leaf and Seed Extract. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 1213 012063
- Shawakfeh, K. Q.; Ereifej, K. I. 2005.** Pod characteristics of two *ceratonia siliqua l.* varieties from Jordan. *Italian journal of food science*, , 17(2).
- Shiota, S., Shimizu, S., Mizushima, T., Ito, H., Hatano, T., Yoshida, T., Tsuchiya, T., 2004.** Mechanisms of action of Corilagin and Tellimagradin I that remarkably potentiate the activity of β -lactams against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Immunology*, 48: 67-73
- Silanikove, N., Landau, S., Or, D., Kababya, D., Bruckental, I., Nitsan, Z., 2006.** Analytical approach and effects of condensed tannins in carob pods (*Ceratonia siliqua*) on feed intake, digestive and metabolic responses of kids. *Livest. Sci.*, 99, 29-38. doi:10.1016/j.livsci.2005.05.018
- Song, J.-H., Yang, T.-C., Chang, K.-W., Han, S.-K., Yi, H.-K. & Jeon, J.-G., 2007.** *In vitro* effects of a fraction separated from *Polygonum cuspidatum* root on the viability, in suspension and biofilms, and biofilm formation of mutants streptococci. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 419-425.

Références bibliographiques

- Sourabie, T.S, Nikiema, J-B., Lega, I., Nacoulma, OG., Guissou, IP., 2010.** Etude in vitro de l'activité antibactérienne d'extraits d'une plante de la pharmacopée burkinabé: cas de *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **4**(6): 2009-2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v4i6.64954>
- Spencer JP, Abd El Mohsen MM, Minihane AM, Mathers JC., 2008.** Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *Br J NutrJan*;99(1):12-22. doi: 10.1017/S0007114507798938. Epub 2007 Aug 1. PMID: 17666146.
- Spizzirri, U.G.; Abduvakhidov, A.; Caputo, P.; Crupi, P.; Muraglia, M.; Oliviero Rossi, C.; Clodoveo, M.L.; Aiello, F.; Restuccia, D. 2022.** Kefir Enriched with Carob (*Ceratonia siliqua* L.) Leaves Extract as a New Ingredient during a Gluten-Free Bread-Making Process. *Fermentation* **8**, 305. <https://doi.org/10.3390/fermentation8070305>
- Sriti, J., Haj Salem, M., Aidi Wannas, W., Bachrouch, O., Mejri, H., Belloumi, S., Limam, F., 2023.** Antioxidant, antibacterial and insecticidal activities of cypress (*Cupressus sempervirens* L.) essential oil. *International Journal of Environmental Health Research*, **34**(2), 1168–1179. <https://doi.org/10.1080/09603123.2023.2207475>
- Sun, B., Richardo-da-Silvia JM, Spanger, I., 1998.** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 4267–4274.
- Tanaka, Y., Sasaki, N., Ohmiya, A., 2008.** Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids, *The Plant Journal* **54**, 733-749
- Hariri, A., Ouis, N., Sahnouni, F., et Bouhadi, D., 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.* pp. 37-55.
- Tazir, Y., Bendoukhane, I., 2020.** Etude in vivo de l'effet d'extrait de caroube « *Ceratonia siliqua* L. » sur le syndrome métabolique induit par le fructose. Mémoire de Master en Biochimie appliquée. Univ de Constantine 1.107p
- Touhami, A., Chefrou A., Khellaf, N., Bukhari, A. et Fadel, Ismail., 2017.** Phytochemical Characterization of the Essential Oils Obtained from Mediterranean *Thymusspp.* (Lamiaceae) Harvested at Different Stages of Growth. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **5**: 37-45
- Tous, J., 1995.** Situación del algarrobo en Australia. *Bol. Agropecu. La Caixa*. **35**: 43-49. (in Spanish).
- Tous, J., Romero, A., Batlle, I., 2013.** The Carob Tree: Botany, Horticulture, and Genetic Resources. *Horticultural Reviews*, Vol 41, 1st Edition. Jules Janick, pp. 385-456. <https://doi.org/10.1002/9781118707418.ch08>
- Turhan, I., Bialka, L.K., Demirci, A., Karhan, M., 2010b.** Ethanol production from carob extract by using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology*. **101** (14), 5290-5296.
- Turnbull, L. A., Luis Santamaria, L., Martorell, T., Rallo, J., Hector, A., 2006.** Seed size variability: from carob to carats. *Biol. Lett.* **2** : 397–400.
- Turner, MJ , Aspin, G., Gillman, J., 2019.** Maladaptive schemas as a potential mechanism through which irrational beliefs relate to psychological distress in athletes. *Psychology of Sport and Exercise*, **44**. pp. 9-16. ISSN 1469-0292

Références bibliographiques

Vavilov, N.I., 1951. The Origin, Variation, Immunity, and Breeding of Cultivated Plants [translated from the Russian by K.S. Chester]. The Ronald Press Co., New York.364p

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**, **28**, 169–175.

Viruel J, Le Galliot N, Pironon S, Nieto-Feliner G, Suc JP., 2020. A strong east–west Mediterranean divergence supports a new phylogeographic history of the carob tree (*Ceratonia siliqua*, Leguminosae) and multiple domestications from native populations. *Journal of Biogeography* 47: 460-471. [https:// doi.org/10.1111/jbi.13726](https://doi.org/10.1111/jbi.13726)

Wu, G., Liu, X., Chen, T., Xu, G., Wang, W., Zeng, X., Xuanwen, Z., Wu, Y., Liu, C., Xu, Z., Wang, C., Zeng, Z., 2015. *frontiers in plant science*. [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Yahiaoui, K.; Bouchenak, O.; Boumaza, S.; Toubal, S.; Blizak, D.; Nouani, A.; Arab, K., 2021. Characterization and assessment of the antimicrobial function of total polyphenol extracts from pulps, leaves and seeds of two *Ceratonia siliqua L.* varieties. *Alger. J. Envir. Sci. Tech.* 7, 3429–3438.

Ydjedd, S., Bouriche, S., Lopez-Nicolas, R., Sanchez-Moya, T., Frontela-Saseta, C., Ros-Berruezo, G., Rezgui, F., Louaileche, H., Kati, D-E., 2017. Effect of in Vitro Gastrointestinal Digestion on Encapsulated and Nonencapsulated Phenolic Compounds of Carob (*Ceratonia siliqua L.*) Pulp Extracts and Their Antioxidant Capacity. *J. Agric. Food Chem.*, **65**, 827–835. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b05103

Yatmaz, E., Karahalil, E., Germeç, M., Iğın, M., Turhan, İ., 2016. Controlling Filamentous Fungi Morphology with Microparticles to Enhanced β -mannanase Production. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 39:1391–1399.

Yatmaz, E., Turhan, I., Karhan, M., 2012. Optimization of ethanol production from carob pod extract using immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells in a stirred tank bioreactor. *Bioresource Technology*.135:365-371.

Youssef, M.K.E., El-Manfaloty, M.M., Ali, H.M., 2013. Assessment of proximate chemical composition, nutritional status, fatty acid composition and phenolic compounds of carob (*Ceratonia siliqua L.*). *Food Public Health* 304–308.

Youssef, M. K. E., Abou-Elella, F., El-Sayed, S. M., 2020. Utilization of carob pods and their extracts in the production of nutritional and healthy dairy products: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3721-3730.

Zitouni, A., 2010. Monographie et perspectives d’avenir du caroubier (*Ceratonia siliqua*) en Algérie. Th. Ing. Agro. INA, El-Harrach, 201 p

Zohary, M., 1973. Geobotanical Foundations of the Middle East, Geobotanical foundations of the Middle East. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. vol. 2, Stuttgart. pp. 199-200

Annexe I

Matériel et appareillage	Produits chimiques et réactifs
<ul style="list-style-type: none">▪ Broyeur électrique▪ Micropipettes▪ Balance électrique▪ Papier wattman▪ Spectrophotomètre▪ Bain de marie▪ Etuve▪ Incubateur▪ Agitateur▪ Vortex▪ Tubes à essais▪ Boîtes de Pètri▪ Bec Bunsen▪ Disques vierges	<ul style="list-style-type: none">▪ Ethanol▪ Eau distillée▪ NAOH▪ FECL₃▪ HCL▪ NH₄OH▪ Anhydrique acétique▪ Acide sulfurique▪ Hcl▪ DMSO▪ Muller-Hinton▪ Potato-Dextrose-Agar (PDA)

Annexe II

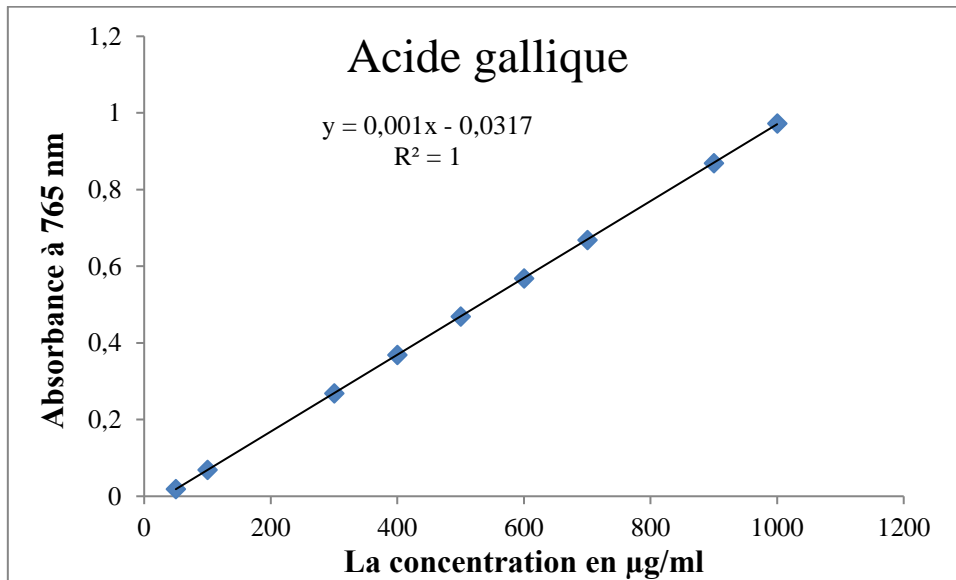


Figure 19 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

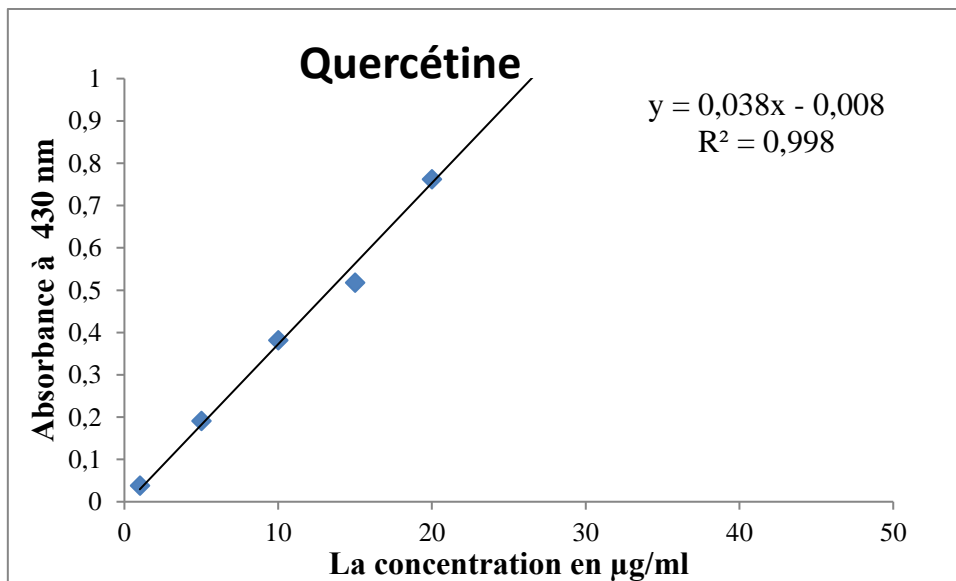


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

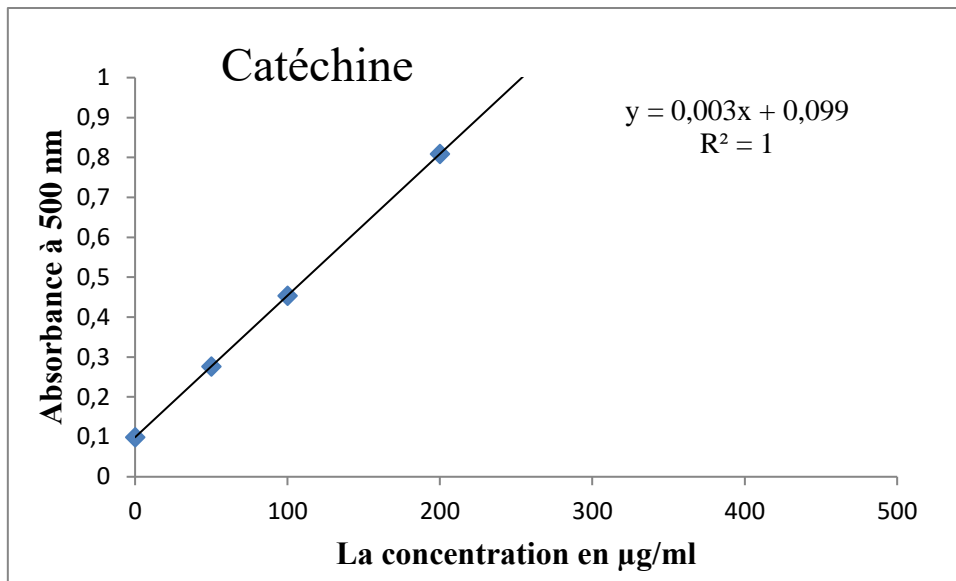


Figure 23 : Courbe d'étalonnage de la catéchine