

Mémoire De Fin D'études

En vue de L'obtention Du Diplôme Master II

OPTION :ALIMENTATION ET NUTRITION

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliqué et Immunologie

Présenté Par :

◆ BENYAHIA RoquiaHayet

Thème

**ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES EXTRAITS
PHENOLIQUES DE LA FARINE DE LA PULPE DE LA CAROUBE
PAR INTERACTION PREBIOTIQUE-PATHOGENES**

Soutenu le 02/10/2014 devant le jury composé de :

- Mr LARIBI. M Professeur Président
- MrREBIAHLS M Maitre-Conférence « B »Examinateur
- MrSelles. C Maitre-conférence « B »Examinateur
- MmeYOUCEFI. F Maitre-assistante « A » Promotrice

Remerciements :

Grâce à Dieu le tout puissant et à l'intervention de plusieurs personnes ce travail a pu voir le jour.

Le grand mérite revient à mon encadreur Mme YOUCEFI.F qui a su me guider avec patience me prodiguer conseils judicieux et orientations scientifiques.

C'est un grand honneur par moi d'avoir travaillé sous sa direction.

J'adresse également mes remerciements les plus sincères au Pr. LARIBI. M pour m'avoir accueillie au sein de la formation Master II ALIMENTATION ET NUTRION, et qui m'a fait l'honneur de présider ce jury.

Aussi, je remercie Mr SELLES maître de conférences à l'université de Tlemcen de m'avoir permis de travailler au sein de laboratoire et pour sa précieuse aide.

Je tiens également à remercier Mlle GHANEMI. FZ maître assistante à l'université de Tlemcen pour sa précieuse aide.

J'exprime aussi mes remerciements pour les membres de jury qui ont daigné examiner ce projet et présider le jury de sa soutenance.

- *Monsieur LARIBI M professeur à l'université de Tlemcen ;*
- *Monsieur REBIAHIS M maître-conférenceB à l'université de Tlemcen*
- *Monsieur SELLES C maître-conférenceB à l'université de Tlemcen*

Je remercie l'ensemble des enseignants à qui revient le mérite de notre formation.

Enfin, que tous ceux qui ont participé de près et de loin à l'élaboration de ce projet de fin d'études y trouvent l'expression de mes sincères remerciements et de toute magratitude.

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition moyenne de la pulpe de caroube	8
Tableau.2: Superficie occupée par le caroubier	12
Tableau.3 : Production mondiale de caroube	12
Tableau 4 : principales classes des composés phénoliques	16
Tableau 5 : exemples des composés prébiotiques commercialisés	27
Tableau 6 : Proposition de critères de sélection des prébiotiques à application Intestinale	30
Tableau 7 : Effets positifs des prébiotiques sur la santé (effets probables ou suspectés).	35
Tableau 8 : Nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées.....	37
Tableau 9 : l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne.....	46
Tableau 10: résultats de la CMI des extraits phénoliques vis-à-vis des souches bactériennes.....	53
Tableau 11 : rapports frontaux en fonction des standards.....	56

TABLE DES MATIERES

Introduction générale

Chapitre I : généralités sur le caroubier

1. Présentation de la plante étudiée	1
1.1. Taxonomie.....	1
1.2. Biologie	1
1.3. Biologie et physiologie du cycle de végétation.....	3
1.4. Reproduction.....	4
2. Origine et répartition géographique.....	4
2.1. Origine de caroubier	4
2.2. Distribution géographique de caroubier	5
3. Composition chimique de la caroube.....	7
4. Propriétés et utilisation	7
4.1. Propriétés.....	7
4.2. Utilisation du caroubier	9
4.2.1. Arbre.....	9
4.2.2. Fruits.....	10
4.3. Les autres parties de l'arbre.....	11
5. Production du caroubier	11

Chapitre II : les polyphénols

Introduction	14
1. Présentation des polyphénols.....	15
2. Classification des polyphénols	15
2.1. Les flavonoïdes.....	16
2.2. Les tannins.....	17
3. Les polyphénols de la caroube.....	17
4. Caractéristiques des polyphénols de la caroube	18
5. Propriété biologique et effets des polyphénols	19
6. Activité antimicrobienne des composés phénoliques.....	20
6.1. Antiseptique	20
6.2. Anti-inflammatoire	20
6.2.1. Anti-inflammatoire hormonaux.....	20

6.2.2. Anti-inflammatoire non hormonaux.....	21
6.3. Activité antifongique.....	21
6.4. Antiparasitaires.....	22
6.5. Activités antibactériennes.....	22
6.5.1. Bacteriostase.....	22
6.5.2. Bactéricide.....	23
7. Les polyphénols : intérêt nutritionnel.....	23
7.1. Prévention contre les maladies cardiovasculaires.....	23
7.2. Prévention contre le cancer.....	23
7.3. Effets protecteurs contre les maladies hormono-dépendants telle que l'ostéoporose	24

Chapitre III : les prébiotiques

1. Définition.....	25
2. Les différentes familles prébiotiques.....	27
2.1. les prébiotiques reconnus.....	28
2.1.1. Les FOS et l'inuline.....	28
2.1.2. Les galacto oligosaccharides (GOS).....	28
2.1.3. Le lactulose.....	28
2.2. Les prébiotiques émergents.....	29
3. La différence entre les prébiotiques et les probiotiques.....	29
4. Critères de sélection d'un prébiotique.....	29
5. Aspect réglementaire des prébiotiques.....	30
6. Mécanisme d'action des prébiotiques.....	31
7. Effet bénéfiques des prébiotiques sur la santé.....	31
7.1. Santé du système digestif.....	31
7.2. Absorption minérale.....	32
7.3. Prévention de cancer.....	33
8. Les prébiotiques dans l'alimentation des nourrissons.....	33
9. la farine de la gousse de caroube FPC.....	36

Chapitre V : MATERIELS ET METHODES

1. L'objectif.....	37
2. Plan de travail.....	37
3. Les souches pathogènes.....	37
4. Matériels biologiques.....	38
5. Milieux de culture et conditions de croissance.....	38
6. Etude de l'activité antimicrobienne.....	39
7. Etude de l'évolution de la cinétique de croissance et de production.....	39

8. Technique en milieux solides	39
9. Concentration minimale inhibitrice : test de microdilution	40
10. Extraction des phénols	41
10.1 Elimination des sucres.....	41
10.2 Extraction.....	41
11. Dosage des polyphénols par chromatographie couche mince	43

Chapitre VI : Résultats et discussions

1. cinétique de croissance bactérienne	44
2. démonstration du pouvoir antibactérien des extraits phénoliques.....	46
2.1Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques-vis-à-vis Escherichia Coli 10536.....	47
2.2Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques-vis-à-vis Salmonella 13311.....	48
2.3Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques-vis-à-vis Listeria 13932.....	50
3. détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	52
4. Dosage des polyphénols par chromatographie sur couche mince.....	53

Conclusion générale

Références bibliographiques

Figures :

Figure 1: L'arbre du caroubier	2
Figure 2: feuillage, inflorescences et fructification du caroubier	2
Figure 3 : le fruit du caroubier	3
Figure 4 : Distribution du caroubier en Algérie suivant les domaines bioclimatiques	6
Figure 5 : Distribution du caroubier à Tlemcen suivant les étages bioclimatiques	6
Figure 6 : Pulpe et farine brute de caroube après élimination des sucres	8
Figure 7 : les grains de la caroube	9
Figure 8 : superficie occupée par le caroubier	12
Figure 9 : production mondiale de caroube	13
Figure 10 : structure de base des flavonoïdes	16
Figure 11 : les mécanismes d'action des prébiotiques	31
Figure 12 : présentation du matériel biologique utilisé (gousse, grains, pulpe, farine) ...	38
Figure 13 : Extraction des phénols a reflux	42
Figure 14 : évaporation sous pression réduite	42
Figure 15 : Filtration des phénols totaux	42
Figure 16 : courbe représentative de la cinétique bactérienne <i>Escherichia coli</i> ATCC 10536 durant 24 heures	44
Figure 17 : Courbe représentative de la cinétique bactérienne de <i>listeria</i> ATCC 13932 durant 24h.....	45
Figure 18 : Courbe représentative de la cinétique bactérienne de <i>Salmonella</i> ATCC 13311 durant 24h.....	45
Figure 19 : photo représentative de dénombrement de <i>Salmonella</i> ATCC 13311, <i>Escherichia</i> <i>Coli</i> ATCC 10536 et <i>listeria</i> ATCC 13932 sur gélose Mueller Hinton après 8h d'incubation à 37°C.....	46

Figure 20 : effet inhibiteur de différentes concentrations des extraits phénoliques sur la croissance d' <i>Escherichia Coli</i> 10536.....	47
Figure 21 : Diamètre des zones d'inhibitions de ' E. Coli en mm en fonction des concentrations des extraits phénoliques.....	48
Figure 22 : Diamètre des zones d'inhibitions de Salmonella 13311 en mm en fonction des concentrations des extraits phénoliques.....	49
Figure 23 : effet inhibiteur de différentes concentrations des extraits phénoliques sur la croissance Salmonella Typhimurium.....	49
Figure 24 : Diamètre des zones d'inhibitions de <i>Listeria</i> 13932 en mm en fonction des concentrations des extraits phénoliques.....	50
Figure 25 : effet inhibiteur de différentes concentrations des extraits phénoliques sur la croissance <i>Listeria</i> 13932.....	51
Figure 26 : Diamètre des zones d'inhibitions des souches bactériennes E .Coli 10536, S 13311 et L 13932 en fonction des % des extraits phénolique.....	52
Figure 27 : la concentration minimale inhibitrice de croissance d' <i>Escherichia Coli</i> ATCC 10536, <i>Salmonella</i> ATCC 13311 et <i>Listeria</i> 13932.....	54
Figure 28 :Résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits phénoliques de la farine de pulpe de caroube	55

Liste des abréviations :

% : pourcentage

°C : degré Celsius

T° : température

h: heure

mn: minute

m : mètre

cm : centimètre

mm : millimètre

µm : micron mètre

Kg : kilogramme

g: gramme

mg: milligramme

mg/g : milligramme par gramme

mg/l: milligramme par litre

g/ jour : gramme par jour

L: litre

ml: millilitre

µl: micron litre

nm: nanomètre

Da : dalton

Ha : hectare

t : tonne

v/v : volume/ volume

K: potassium

Ca:calcium

Mg:magnesium

Na:sodium

Cu: cuivre

Fe:fer

Mn :manganèse

Zn : zinc

(HO•) : n hydroxyle

(O2•-) : superoxydes

SH: groupement sulfhydryle

OH: groupe hydroxyle

Ca⁺⁺ : ion de calcium

Mg⁺⁺ :ion de magnésium

H₂O: molécule d'eau

PH : potentiel d'hydrogène

UV : ultra-violet

EM : énergie métabolique

FAO: food and agriculture organization

EFSA:European Food SafetyAuthority (autorité européenne de sécurité des aliments)

AFSSA : agence française de sécurité sanitaire des aliments

LDL: low density lipoproteins

E .coli: *Escherichia coli*

BHIB: Brain – heart – infusion

DO: densitéoptique

MH: Mueller Hinton

GOS: galactooligosaccharides

FOS: fructooligosaccharide

IMO: isomaltooligosaccharide

SOS: oligosaccharide de soja

XOS: xylooligosaccharide

GI: gastro intestinale

IgA: immunoglobulines A

OGM: organisme génétiquement modifié

AGCC : acide gras courte chaine

FPC : farine de pulpe de caroube

RF : rapports frontaux

RESUME

La pulpe de caroube « *Ceratonia.Siliqua* » est utilisée dans différents secteurs notamment en industrie agroalimentaire, cosmétiques et pharmaceutique.

Notre travail a pour objectif de déterminer l'activité antimicrobienne ainsi que le dosage des polyphénols de la farine de la pulpe de caroube par chromatographie sur couche mince.

Les résultats ont révélé une activité antimicrobienne importante avec une zone d'inhibition allant de 8 à 21 mm pour *Escherichia Coli* ATCC 10536, *Listeria* ATCC 13932 respectivement ; et de 1 à 24 mm pour *Salmonella* ATCC 13311.

Les résultats de la concentration minimale inhibitrice ont révélé des CMI remarquables pour les souches *Escherichia Coli* ATCC 10536, *Listeria* ATCC 13932 et *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311 pour des extraits phénoliques allant de 3,12 et 1,56%.

Le dosage des métabolites secondaires par chromatographie sur couche mince nous a permis de mettre en évidence six composés qui sont quercétine, acide tannique, acide gallique, résorcinol, catéchine et phloroglucénol.

Cette étude contribue à la connaissance de l'activité antimicrobienne de la pulpe de caroube in vitro et pourrait trouver une voie forte intéressante dans le traitement des gastroentérites au sein de nos élevages.

INTRODUCTION GENERALE

L'utilisation des plantes pour se soigner date de la préhistoire et tous les peuples sur tous les continents ont cette vieille tradition. Malgré les efforts des chimistes, synthèse de nouvelles molécules, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes.(**Newman et al., 2000**). Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale.(**Kirby et al., 1996**). Il est certain que la plupart des antibiotiques prescrits dérivent des microorganismes et que, un à trois antibiotiques sont mis sur le marché chaque année(**Clark., 1996**), mais il est aussi évident que les agents antimicrobiens d'origine végétale ont leur place dans l'arsenal de médicaments prescrits par les cliniciens (**Cowan., 1999**). Chaque antibiotique a une durée de vie effective limitée au bout de laquelle les microorganismes développent des résistances.

Récemment, la résistance considérablement croissante des micro-organismes vers ces antibiotiques et leurs interactions avec la chaîne alimentaire conduit à la nécessité de développer les agents antimicrobiens naturels supplémentaires comme priorité de santé publique (**Chopra., 2007**).

Nombreuses plantes médicinales prescrites dans la médecine traditionnelle se sont avérées efficaces pour leurs propriétés antimicrobiennes contre plusieurs agents pathogènes et même contre les plus résistants, ce sont donc une alternative prometteuse comme agents antimicrobiens naturels (**Abdallah., 2011**).

Parmi les plantes qui ont une activité antimicrobienne se distingue le caroubier connu sous le nom scientifique *Ceratonia siliqua*. C'est un arbre indigène de la région méditerranéenne qui appartient à la sous-famille *Caesalpinaceae* et à la famille *Leguminosae* (syn. Fabaceae) (**Yousif et Alghzawi., 2000**). Il est prescrit dans la médecine folklorique turque comme anti-diarrhéique et diurétique (**Kivak et Mert., 2002**).

Les gousses du fruit de caroube ont été longtemps utilisées comme alimentation pour le bétail et en nutrition humaine, y compris des bonbons, biscuits et boissons traitées, en raison de leur contenu élevé en sucres et leur prix relativement bas (**Khair et autres., 2001**).

Le but de cette étude est de déterminer l'activité antimicrobienne des composés phénoliques de la pulpe de la farine de caroube vis-à-vis aux trois souches bactériennes : *Escherichia Coli* ATCC 10536, *Salmonella* ATCC 13311, *Listeria* ATCC 13932.

Notre travail s'articule autour de trois parties :

La première partie consiste en une synthèse bibliographique qui a pour objet :

- La présentation de la plante étudiée, ses propriétés et utilisations
- La présentation des polyphénols, leur classification et leurs propriétés biologiques
- La présentation des prébiotiques, leurs critères de sélection ainsi que leurs effet bénéfique sur la santé.

La deuxième partie s'attaque au protocole expérimental, et comporte :

- Extractions sélectives des phénols totaux.
- Activité antimicrobienne des composés phénoliques de la caroube
- Dosage des polyphénols par chromatographie sur couche mince

La troisième partie :

Dans cette partie, nous discuterons les résultats obtenus lors de cette étude, une conclusion résumera le parcours expérimental.

Chapitre I : Généralité sur le caroubier

1. Présentation de la plante étudiée

1.1. Taxonomie

Le nom scientifique du caroubier, *Ceratonia siliqua* L. dérive du grec Keras (corne) et du latin siliqua désignant une silique ou gousse et faisant allusion à la dureté et à la forme du fruit, il est connu aussi sous le nom de pain de St. Jean-Baptiste. (**Battle et al., 1997**). Par ailleurs, le nom dialectal kharouv, originaire de l'hébreu, a donné lieu à plusieurs dérivés tels que Kharroub en arabe, algarrobo en espagnol, carroubo en italien, caroubier en français. (**Boudy., 1950**). Cette espèce appartient au genre *Ceratonia* de la sous-famille des *Caesalpinioïdae*, de la famille des *Fabaceae* (Légumineuses), qui fait partie de l'ordre des *Fabales* (Rosales), Classe des *Magnoliopsida*. (**Quezel et Santa., 1962**).

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

1.2. Biologie

Le caroubier est un arbre ou arbuste sclérophylle, sempervirent, qui peut atteindre 7 à 20m de hauteur et une circonférence à la base du tronc de 2 à 3m (**Figure 1**). Il a une écorce lisse et grise lorsque la plante est jeune et brune et rugueuse à l'âge adulte. Son bois de couleur rougeâtre est très dur. Le caroubier peut vivre jusqu'à 200 ans. (**Ait Chitt et al., 2007**).

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

Les feuilles persistantes, de 10 à 20cm long, se caractérisent par un pétiole sillonné sur la face interne et un rachis portant 8 à 15 folioles opposées, de 3 à 7 cm (**Figure 2**), elles sont coriaces, entières, ovales à elliptiques, paripennées, légèrement échancrées de couleur verte. (**Ait Chitt et al., 2007**).

Les fleurs sont verdâtres, de petite taille (6 à 16 mm de longueur), spiralées et réunies en un grand nombre pour former des grappes droites et axillaires, plus courtes que les feuilles à l'aisselle desquelles elles se sont développées. (Batlle et al., 1997).

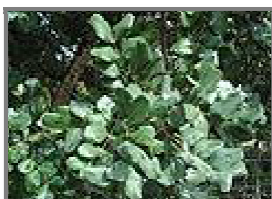
Les fleurs femelles sont constituées d'un pistil court et recourbé avec un petit ovaire (5 à 7 mm) bicarpellé.

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

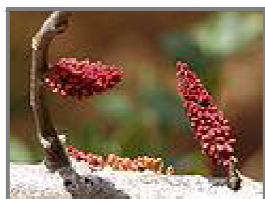
La floraison apparaît en hiver, sur le vieux bois. Le développement du fruit est très long. Pour arriver à maturité en Été, il met généralement entre 9 et 10 mois. Il est de grande taille : de 10 à 20 cm de longueur, et de 2 à 3 cm de largeur. Il est vert puis brun, et, au moment de la maturité, brun foncé à noir (Figure3). Il est sinueux sur les bords, aplati et présente un tissu pulpeux, sucré, rafraîchissant renfermant de 12 à 16 graines brunes soit 10 à 20 % du poids de la gousse en fonction de cultivar et du climat. (Rejeb., 1995).



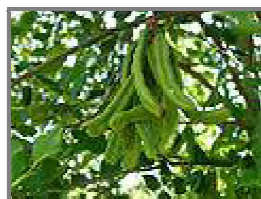
Figure 1: L'arbre du caroubier (The nature conservancy., 2001)



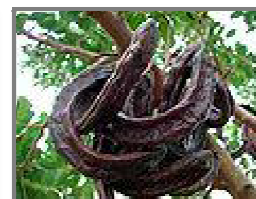
Feuilles



Fleurs



Gousses vertes



Gousses mûrs

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



Figure 3 : le fruit du caroubier

1.3. Biologie et physiologie du cycle de végétation

a) Cycle végétatif annuel

Floraison et fécondation

La floraison du caroubier apparaît en automne sur le bois de deux ans et les vieux bois. Les fleurs mâles apparaissent d'août à septembre et la durée d'émission du pollen semble dépasser celle de la réceptivité des stigmates. Certains ont observé des anthères mûres de juillet à décembre. Cette période de floraison dépend surtout des conditions climatiques, car dans certaines régions chaudes, la floraison peut avoir lieu même au mois de juin.

La fleur femelle apparaît à partir de juillet et est adaptée à une pollinisation aussi bien anémophile qu'entomophile.

Fructification

Pour arriver à maturité, la caroube nécessite généralement entre 9 et 10 mois.

La chute des fleurs et des jeunes fruits a lieu en octobre, elle diminue en janvier et février, et devient presque nulle entre juin et août. Ainsi, 60 à 90 % des gousses tombent durant le premier stade de croissance au printemps.

La croissance de la caroube n'est pas rapide, elle passe par trois stades de développement suivant une courbe de croissance, comme la plupart des espèces fruitières (Ilahi et Vardar., 1976).

1.4. Reproduction

Le caroubier est dioïque, parfois hermaphrodite. Les pieds mâles sont stériles et improductifs.

Cet aspect a été bien étudié par (Schroeder., 1959); il est considéré comme le seul arbre méditerranéen qui fleurisse en été : d'Août à Octobre (Aafi., 1996) ou en automne : de Septembre à Novembre.(Fournier., 1977). Cependant, le temps et la durée de la période de floraison dépendent des conditions climatiques, ce qui est le cas pour la plupart des arbres fruitiers.(Batlle et al., 1997).

La pollinisation des fleurs du caroubier est, en grande partie, assurée par les insectes (Retana et al., 1990, 1994; Rejeb et al., 1991; Ortiz et al., 1996) mais aussi par le vent (Passos de Carvalho, 1988; Batlle et al., 1990). Les fleurs sécrètent des substances nectarifères dont la quantité et la teneur en sucre sont élevées dans la fleur femelle par rapport à son homologue mâle.(Ortiz et al., 1996).

La fructification, chez le caroubier, se situe entre Juillet et Décembre de l'année qui suit la floraison, selon les régions et les cultivars.(Aafi., 1996).

2. origine et répartition géographique

2.1. Origine de caroubier

Le lieu d'origine du caroubier demeure aberrant. Toutefois, (De Candolle., 1983) et (Vavilov., 1951) ont rapporté qu'il serait native de la région Est méditerranéenne (Turquie et Syrie).

Par contre, (Schweinfurth., 1894) a insinué qu'il est originaire des pays montagneux du Sud d'Arabie (Yemen). Tardivement, il a été considéré, par (Zohary., 1973), comme originaire de la flore d'Indo-Malaisie, groupé avec *Olea*, *Laurus*, *Myrtus* et d'autres plantes. Par ailleurs, *Ceratonia oreoethauma* est la seule espèce connue et originaire du Sud-est d'Arabie (Omane) et des bordures de la corne africaine (Nord de Somalie). (Hillcast et al., 1980).

2.2. Distribution géographique de caroubier

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

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

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

Suivant ces critères climatiques; on a établi l'aire de répartition du caroubier en Algérie (figure 4) et à Tlemcen dans les régions suivantes : Sidi M'djahed, Sebra, Henaya, Tlemcen, Sidi Abdeli, Remchi, Ben Sekran, Ain Youcef et de BeniSaf jusqu'à Marsat Ben M'hidi (figure 5).

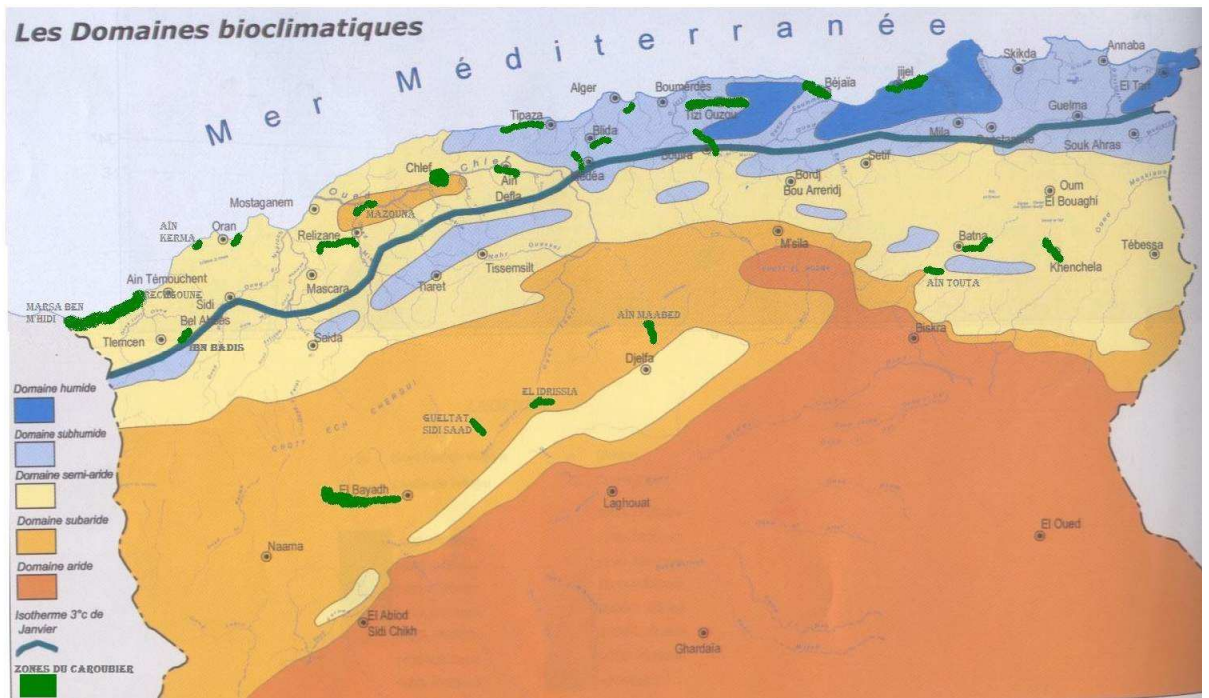


Figure 4 : Distribution du carouquier en Algérie suivant les domaines bioclimatiques(A.N.R.H, 2004)

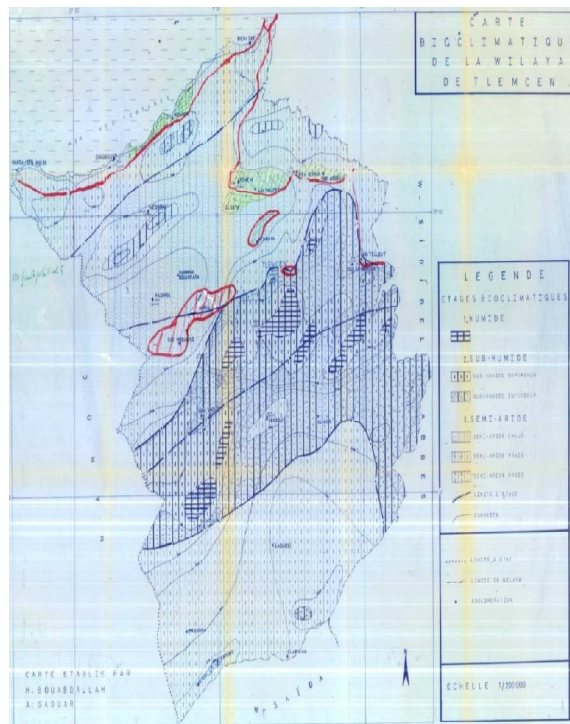


Figure 5 : Distribution du carouquier à Tlemcen suivant les étages bioclimatiques

3. composition chimique de la caroube

La composition chimique de la graine a été évaluée par **(Bouzouita et al., 2007)**, qui a démontré que la graine était pauvre en minéraux et en fibres et la pulpe et les graines sont les deux principaux constituants de la gousse du caroubier et représentent respectivement 90% et 10% de son poids total. Selon plusieurs auteurs, la composition chimique de la pulpe dépend en général, du cultivar, de l'origine et parfois de la période de récolte **(Orphanos et Papaconstantinou., 1969; Vardar et al., 1972; Calixto et Cañellas., 1982; Albanell et al., 1991)**.

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

4. propriétés et utilisation

4.1. Propriétés

La pulpe est très utilisée, soit comme aliment diététique, soit comme remplaçant du chocolat ou encore en alimentation animale. Elle est très riche en sucre (48-56%), en particulier, sucrose, glucose, fructose et maltose **(Tableau 1)**, mais pauvre en protéines (2-6%) et en lipides (0.4-0.6%) dont les acides saturés et insaturés sont en proportions égales **(Leroy., 1929; Puhan et Wieling., 1996)**. A partir d'extrait de gousses, cinq acides aminés, alanine, glycine, leucine, proline et valine, ont été isolés par **(Vardar et al., 1972)** et deux autres composés, tyrosine et phénylamine, ont été rapportés par **(Charalambous et Papaconstantinou., 1966)**. En plus, la pulpe présente également une teneur très élevée en fibres (27-50%) et une quantité non négligeable en tanins (18-20%) **(Saura-Calixto., 1987; Puhan et Wieling., 1996)**. Par ailleurs, l'analyse minéralogique faite, par **(Puhan et Wieling., 1996)**, sur la pulpe, a révélé une composition (en mg/100g de pulpe) de: K= 1100, Ca= 307, Mg= 42, Na= 13, Cu= 0.23, Fe= 104, Mn= 0.4, Zn= 0.59.

Tableau 1: Composition moyenne de la pulpe de caroube (**Puhan et Wielinga., 1996;**
Battle et al., 1997)

Constituants	%
Sucres totaux	48 – 56
Sucrose	32 – 38
Glucose	5 – 6
Fructose	5 – 7
Pintol	5 – 7
Tannins	18 – 20
polysaccharides non amines	18
Cendre	2 – 3
Lipides	0,2 – 0,6



Figure 6 : Pulpe et farine brute de caroube après élimination des sucres.

La graine est composée de 30% à 33% d'enveloppe tégumentaire, de 42% à 46% de l'albumen et de 23% à 25% d'embryon (**Neukom., 1988**). L'enveloppe tégumentaire est considérée comme étant une source naturelle pour la production de polyphénol antioxydant (**Batista et al., 1996; Makris et Keflas., 2004**). L'albumen est essentiellement constitué de gomme ou galactomannane, qui est une molécule polysaccharidique composée de deux unités de sucre, mannose et galactose, à une proportion de **4:1**.

Ce polysaccharide naturel est doté de diverses propriétés importantes, à savoir une haute viscosité dans l'eau, même à température et à pH variables (**García-Ochoa et Casas., 1992**), une capacité de former à partir d'une solution très diluée de stable solution

visqueuse et une haute potentialité de réagir avec d'autres polysaccharides induisant ainsi un effet de synergie. (Puhan et Wielinga., 1996).

La valeur nutritionnelle de la gousse du caroubier est considérée similaire à celle de la plupart des céréales (Coit., 1962; NAS., 1979). Selon (Noblet et al., (1989), la valeur d'énergie métabolique (EM) de la farine de caroube est estimée à 13.1mj EM/kg de produit frais.



Figure 7 : les grains de la caroube

4.2. Utilisation du caroubier :

Le caroubier se présente comme une essence à la fois forestière et arboricole. Il est d'une grande importance économique, écologique et sociale. Son utilisation est multiple.

4.2.1. Arbre

Il est utilisé pour le reboisement et la reforestation des zones affectées par l'érosion et la désertification (Boudy., 1950; Rejeb et al., 1991 ; Biner et al., 2007). Il est également utilisé comme plante ornementale en bordure des routes et dans les jardins.(Batlle et al., 1997).

Actuellement, il est considéré comme l'un des arbres fruitiers et forestiers les plus performants puisque toutes ses parties (feuilles, fleurs, fruits, bois, écorces et racines) sont utiles et ont des valeurs dans plusieurs domaines.(Aafi., 1996).

4.2.2. Fruit

Le fruit du caroubier ou la caroube, se compose d'une pulpe enveloppant des graines régulières. En effet la pulpe sucrée de la caroube est employée depuis longtemps comme nourriture de bétail à côté d'autres aliments comme la farine d'orge. **(Ait Chitt et al., 2007)**.

Selon les travaux de **(Lizardo et al., 2002)**, il semblerait que la farine de caroube soit un produit parfaitement adapté à l'alimentation des porcelets. Son incorporation dans les régimes s'avère très utile dans le soutien de la consommation, de la croissance et de la santé en post-sevrage.

La farine, obtenue en séchant, torréifiant et moulant les gousses après les avoir débarrassées de leurs graines, est employée surtout en agro-alimentaire **(Sbay et Abourouh., 2006)**; dans la préparation de jus sucrés, de chocolat, de biscuits et comme remplaçant de cacao. **(Berrougui., 2007)**.

En Egypte, on extrait des fruits un sirop qui est employé pour confire les fruits ; les Arabes fabriquent avec la pulpe une boisson alcoolisée et les Kabyles fabriquent à partir du fruit un plat appelé tomina. **(Bonnier., 1990)**.

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

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

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

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

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

4.3. Les autres parties de l'arbre

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

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

5. Production du caroubier

Selon les données du **(FAOSTAT., 2010)**, l'aire totale de la production mondiale du caroubier est estimée à 102939 ha (**Tableau 2**). La plus grande superficie, 83574ha, est celle de l'Europe, contre une superficie estimée à 1000ha pour l'Algérie et 13460ha pour les pays d'Afrique du Nord.

Tableau.2: Superficie occupée par le caroubier (FAOSTAT, 2010)

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

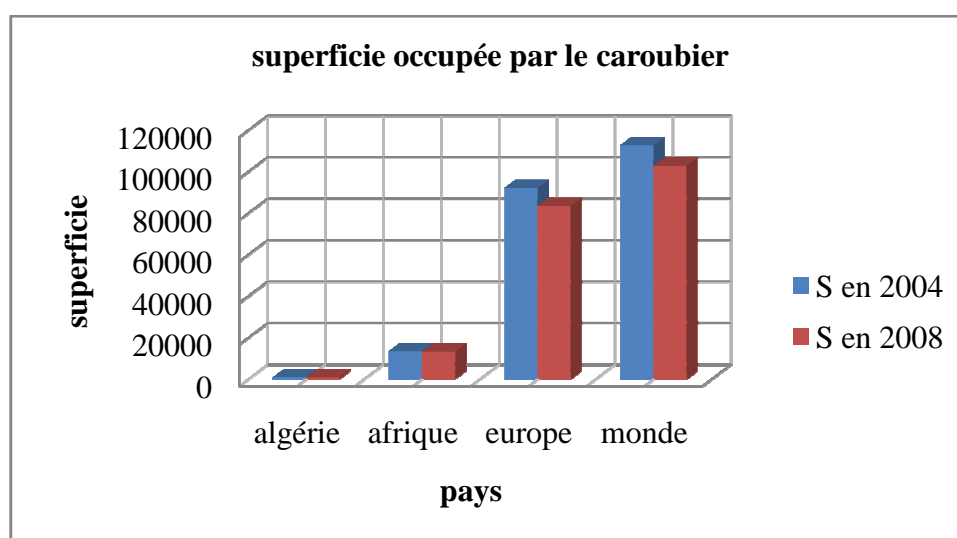


Figure 8 : superficie occupée par le caroubier

Tableau.3 : Production mondiale de caroube (FAOSTAT, 2010)

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

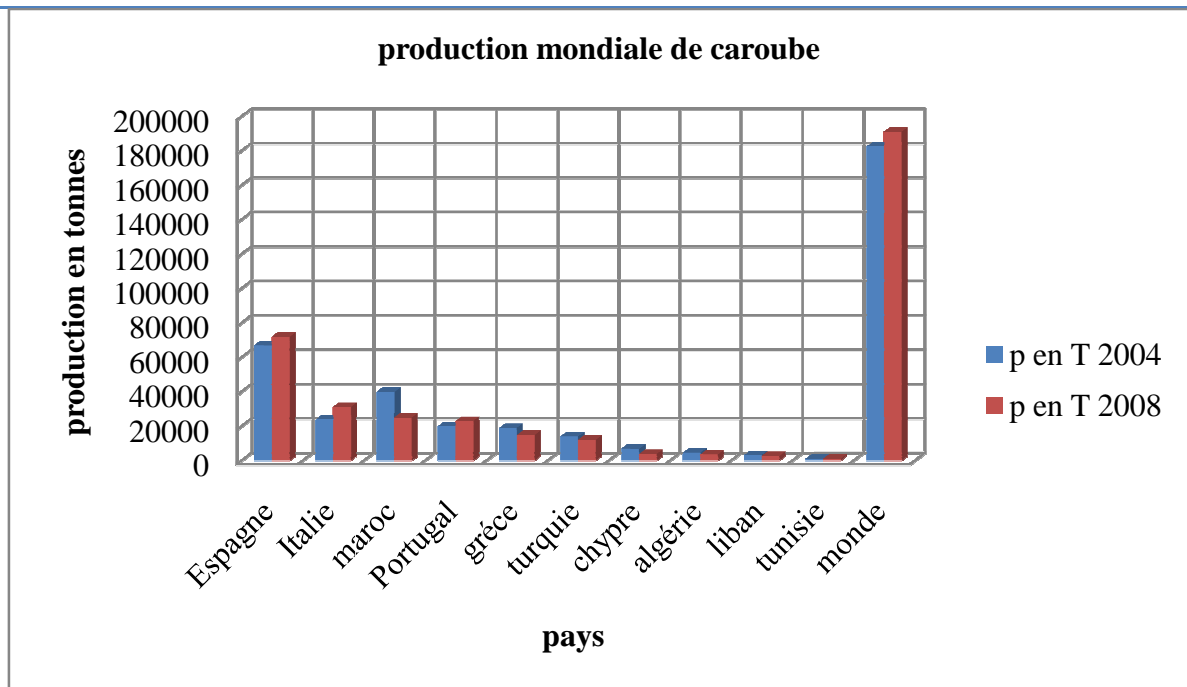


Figure 9 : production mondiale de caroube

Durant le siècle dernier, la production mondiale de caroube a connu une chute dramatique, elle est passée de 650.000 t en 1945. (**Orphanos et Papaconstantinou., 1969**) à 310.000 t en 1997.

La grande perte a été enregistrée en Espagne où la production a chuté de 400.000 t en 1930 à 150.000 t en 1990. (**MAPA., 1994**).

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

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

Chapitre II : les polyphénols

Introduction

Les plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels nous citons les composés phénoliques. Ces derniers constituent une richesse déjà largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétiques et pharmaceutiques. Les polyphénols (principalement les flavonoïdes et les tannins) sont présents dans toutes les parties de la plante. Ils entrent dans la composition des produits de consommation les plus courants, en particulier les fruits, les légumes et les produits transformés comme le chocolat, et le thé.

Les polyphénols végétaux ont d'abord été étudiés pour leurs effets protecteurs contre les organismes pathogènes, bactérie ou virus qui infectent la plante. Souvent présents en grande quantité dans les plantes consommées par les herbivores, ils limitent leur appétence et digestibilité. Ils ont donc été pendant longtemps considérés comme des facteurs antinutritionnels. C'est un regard tout à fait différent que nous leur portons aujourd'hui, après la reconnaissance de leurs propriétés anti-oxydantes et de leurs effets présumés sur la santé.

Les polyphénols sont considérés comme des composés quasi-universels des végétaux. Structuellement, ils se répartissent en plusieurs classes allant de composés présentant un simple noyau phénolique (ex : acide gallique) à des composés polymériques complexes comme les tannins.

In vitro, les polyphénols présentent des activités anti-oxydantes, antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Ces activités sont attribuées en partie à la capacité de ces composés à réduire les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (HO[•]) et superoxydes (O₂^{•-}) mais aussi à leur affinité pour une grande variété de protéines dont certains enzymes et récepteurs.

1. Présentation des polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires qui n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance ou la production.(**Fleuriet., 1892 ; Yusuf., 2006**)

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

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière.

2. Classification des polyphénols

Une classification de ces substances a été proposée par (**Harborne., 1980**)(**Tableau4**). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base.

Deux principales classes sont largement répandues :

- Les flavonoïdes.
- Les tanins et lignines.

Tableau 4 : principales classes des composés phénoliques (Macheix et Coll., 2006).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C ₆	Phénols simple	Catéchol	Nombreuses espèces
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Quersétine, cyanidine	Fruits et légumes
C ₆ -C ₃ -C ₆	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Fleurs, soja, pois
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tannins condensés		

2.1. Les flavonoïdes(Harborne., 1980)

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux. Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importants sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones et les anthocyanes. Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides, on les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racine, tige, bois, feuilles, fleurs et fruits.

Plusieurs milliers de molécules ont été identifiées à ce jour. Ainsi nous en absorbons chaque fois que nous consommons un aliment d'origine végétale. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones « **2-phényl-benzopyrane** », constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C₆ (A et B) reliés par un cycle pyranique central (**figure 10**).

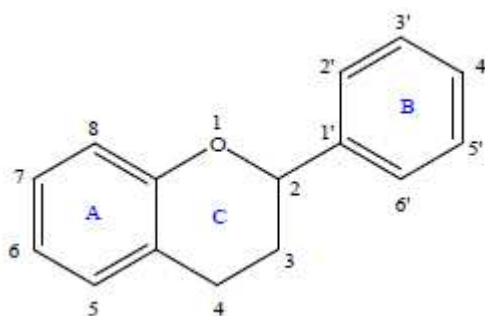


Figure 10 : structure de base des flavonoïdes (Heim et al., 2002)

2.2. Les tannins

Ils sont des composés végétaux non azotés qui représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse et concise car il n'y a pas de structure chimique de base. Leurs structures chimiques sont en effet variées et rassemblées en famille en fonction d'activité commune.

De ce fait toute classification chimique des tannins est forcément arbitraire, cependant on se réfère souvent à une distinction entre tannins hydrolysables et tannins condensés (**Griffith., 1991**).

2.2.1. Tannins hydrolysable : ils sont constitués par une molécule de sucre (le glucose le plus souvent) estérifié par l'acide gallique ou un de ses dérivés (acide ellagique, chébelique ou valonique). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique.

2.2.2. Tannins condensés : ce sont des produits de la polymérisation de **flavan-3-ols** (catéchines) et **flavan-3,4-diols** (leuco anthocyanidines). Ils sont aussi désignés aussi sous le nom de « tannins catéchiques » et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides.

3. Les polyphénols de la caroube

Les polyphénols se trouvent dans les gousses de caroube sous forme de granules bruns clairs, de taille entre 100µm et 500 µm. Ces granules se trouvent dans la fraction fibreuse de la pulpe de caroube et peuvent être extraits par des solvants polaires, à haute température (**Würsch et al., 1984**). La section d'une gousse de caroube examinée au microscope électronique montre la présence de larges cellules parenchymateuses remplies de granules de tannin ressemblant à des pièces d'ambre en microscopie optique (**Würsch et al., 1984**).

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, ils sont particulièrement abondants chez les conifères, les Fagacées, les Rosacées(**Ghestem et al.,2001**).

Tous les organes végétaux peuvent en renfermer (l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits, les racines, les graines) (**Khanbabae et Ree.,2001**). Les tanins sont présents dans une variété de plantes utilisées dans l'alimentation notamment les céréales et les légumineuses (sorgho,millet, orge, haricots secs, petits pois, caroube et les fruits comme

(pomme, mure, canneberge, datte, raisin, aubépine, pêche, poire, kaki, prune, framboise et fraise)(peronny.,2005).

4. Caractéristiques des polyphénols de la caroube

Peu d'études ont été consacrées à l'analyse des polyphénols de la caroube. Les teneurs et la composition en polyphénols diffèrent d'un auteur à un autre. Les fluctuations obtenues doivent être dues à différents facteurs comme la variété de la caroube, le pays producteur, la partie analysée (pulpe, fibre, partie soluble ou partie résiduelle insoluble), les méthodes utilisées pour l'extraction des polyphénols ou leur détermination (**Marakis., 1996**). Les variétés sauvages sont plus riches en tannins que les variétés cultivées (**Marakis et al., 1993**).

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

La teneur en tannins condensés des gousses de caroube se situe entre 16% et 20% de la masse sèche(**Würsch et al., 1984 ; Saura-Calixto., 1988**)rapporte aussi une teneur en polyphénols de 19,2% (17,9% de tannins condensés et 1,3% de tannins solubles dans l'eau). 94% de ces polyphénols font partie des résidus de fibre de la caroube.

Les polyphénols de la caroube ont une masse moléculaire très élevée rarement rencontrée chez d'autres plantes (**Würsch et al., 1984**). Près de 50% des tannins sont de masse moléculaire comprise entre 3200 et 3600 Dalton (**Tamir et al.,1971**), l'autre moitié se rencontre sous forme de granules de plus haute masse moléculaire avoisinant 32 000 Da (**Würsch et al., 1984**).

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

5. Propriété biologique et effets des polyphénols

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

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

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

Les polyphénols ont aussi un effet antiallergique « influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine » (**Di carlo G. et al., 1999**), effet anti-inflammatoire (**Landolfi et coll., 1984**), effets antifongiques et antibactériens, les plantes les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes sont riches en composés phénoliques. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne, ils ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp*, *Helicobacter pylori* (**Pauli., 2001**), les tannins sont utilisés pour la protection des filets de pêche contre la prolifération des germes responsables de la destruction de la cellulose des filets (**Ngom., 2000**).

L'effet protecteur des polyphénols contre l'oxydation des LDL (Low Density Lipoproteins) est bien établi in vitro et pourrait s'expliquer par un effet d'épargne d'autres antioxydants lipophiles tels que la vitamine E intégrée dans la phase lipidique des LDL (**Grolier et al., 2001; Vaher et Koel., 2003**).

Cependant, les polyphénols se caractérisent par une faible biodisponibilité dans l'organisme (**Arts et al., 2001**). Premièrement, les taux d'absorption intestinale des polyphénols ingérés peuvent varier largement d'un polyphénol à l'autre (**Heim et al., 2002**). L'absorption dépend aussi d'autres facteurs comme le dosage, le véhicule d'administration, le régime alimentaire, les différences de sexe et la population microbienne du côlon (**Heim et al., 2002**).

Les pranthocyanidines dont le degré de polymérisation moyen dans les aliments varie communément entre 4 et 10 (masse moléculaire comprise entre 1200 et 3000) ne sont pas absorbées à travers la barrière intestinale à moins d'être dégradées en molécules de plus petite taille (**Grolier et al., 2001**). Le métabolisme des polyphénols concerne des modifications de structure tels l'hydroxylation, la méthylation, la déglycosylation et le clivage de l'hétérocycle (**Heim et al., 2002**). Un autre facteur entravant l'activité des polyphénols dans l'organisme est le masquage dû à leur interaction avec les protéines du plasma (**Arts et al., 2001**).

6. Activité antimicrobienne des composés phénoliques :

L'activité antimicrobienne est une substance chimique qui détruit les germes pathogènes ou empêche leur multiplication.

Les grands groupes de composés antibiotiques sont les phénols et les polyphénols, les terpénoïdes, les huiles essentielles et les alcaloïdes. On distingue des composés à forte activité antimicrobienne et des composés à faible activité antimicrobienne. La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité microbienne des plantes. (**Maejorie Murphy., 1999**).

On distingue plusieurs types de cette activité selon leurs propriétés et les microbes concernés :

6.1. Antiseptique

Opération aux résultats momentanés permettant au niveau des tissus vivants dans la limite de leur tolérance, d'éliminer ou de tuer tous les microorganismes et/ ou d'inactiver les virus en fonction des objectifs fixés. (**CCLIN sud-ouest., 2000**).

6.2. Anti-inflammatoire

Substances chimiques ayant le pouvoir de réduire les réactions inflammatoires de l'organisme. On distingue plusieurs catégories chimiques d'anti-inflammatoires : les uns sont hormonaux. (**Camille., 2001**).

6.2.1. Anti-inflammatoires hormonaux :

Les glucocorticoïdes sont des hormones stéroïdes sécrétées par les glandes corticosurrénales, l'hydrocortisone et l'aldostérone. En thérapeutique, on peut utiliser des extraits naturels de ces glandes ou des produits obtenus par synthèse industrielle, ces derniers ont le même type de propriétés, mais sont (à doses égales) plus actifs. En plus de

leur activité anti-inflammatoire, qui est essentielle, les corticoïdes ont de nombreuses actions secondaires dont certains constituant un avantage supplémentaire en thérapeutique, mais dont d'autres sont gênants et peuvent imposer par leur intensité l'arrêt du traitement (danger d'hémorragies, résistance amoindrie vis-à-vis des infections, œdème et hypertension, modifications de la morphologie du sujet). L'hormone hypophysaire corticotrope a un effet anti-inflammatoire indirect en stimulant la sécrétion des stéroïdes surrénaliens.(Camille., 2001).

6.2.2. Anti-inflammatoires non hormonaux :

Ils proviennent de familles chimiques très diverses. Ils sont nombreux et on en découvre sans cesse de nouveaux. Certains ont une action rapide ; Les mieux connus, les plus anciens sont les salicylés dont le type est l'aspirine ; plus récents sont les dérivés pyrazolés, comme la phénylbutazone, ou indolique telle l'indométacine. D'autre ont un effet plus lent ; sels d'or, anti-malariques de synthèse. Ces médicaments sont plus particulièrement indiqués en rhumatologie.

Tous les anti-inflammatoires peuvent être utilisés par voie générale dans de très nombreuses affections. La plupart ont aussi une action locale.(Camille., 2001).

6.3.Activité antifongique

Utilisée pour lutter contre les mycoses et candidoses, infections dues à des champignons microscopiques. Ces dernières ont fortement progressé au cours des dernières années. Cette évolution s'explique notamment par l'utilisation accrue de médicaments tels que les antibiotiques, les corticoïdes ou les immunodépresseurs, la prescription des antibiotiques, en inhibant la prolifération bactérienne, facilite la croissance d'autres microorganismes : quant aux corticoïdes et aux immunodépresseurs, ils contribuent à l'affaiblissement de l'organisme et de la réponse immunitaire, ce qui augmente le risque que surviennent des infections dites opportunistes.

En fonction de la localisation et de la gravité de la mycose, on utilise des antifongiques à usage local sous forme de poudre, crème ou gel, ou des antifongiques à usage systématique sous forme de comprimés, d'ovules ou de perfusions intraveineuses. L'action des antifongiques est soit fongistatique (le champignon ne se développe pas), soit fongicide (le champignon est tué).

Les médicaments antifongiques sont essentiellement groupés en trois grandes classes : les dérivés azotés, les dérivés polyènes et les antifongiques divers.(**CCLIN sud-ouest., 2000**).

6.4.Antiparasitaires

Substances ayant pour but de lutter contre l'infection due à un parasite détruisant ce dernier.

Le terme « antiparasitaire » groupe un grand nombre de médicaments, dont le mode d'action et d'administration diffèrent en fonction de la localisation du parasite sur ou dans l'organisme. En effet, les parasites forment un ensemble extrêmement hétérogène que l'on peut classer en ectoparasites, qui infectent la peau ou les cheveux (arachnide responsable de la gale, pou, puce, etc.) et endoparasites, qui vivent à l'intérieur de l'organisme et se développent dans l'appareil circulatoire, le tube digestif ou le tissu musculaire (amibes, plasmodium, vers, etc.).

Les antiparasitaires externes (insecticides ou arachnides), tels que le lindane ou les pyréthrines, agissent comme neurotoxiques, par lésion du système nerveux du parasite.

Les médicaments luttant contre les parasites internes comprennent les anthelminthiques (ou vermifuges), qui combattent les vers intestinaux, les antiamibiens, contre la dysenterie, et les antipaludéens, qui traitent le paludisme (ou malaria).(**Maejorie Murphy., 1999**).

6.5.Activités antibactériennes

Les effets des antibiotiques sont extrêmement divers puisqu'ils dépendent de l'antibiotique, du germe étudié, de l'état physiologique de la bactérie ou du champignon inférieur. (**Maejorie Murphy., 1999**).

On distingue deux catégories concernant l'activité antibactérienne :

6.5.1.Bactériostase

La bactériostase correspond à un ralentissement de la croissance bactérienne (bacteriostase partielle), pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la croissance. Ceci ne vaut que si la bactérie était en phase de croissance avant le contact. Dans le cas contraire une absence de développement peut aussi correspondre à une augmentation très prononcée du temps de latence. Cette dernière hypothèse est très rarement évoquée.

La bacteriostase peut être étudiée en milieu liquide par exemple par un suivi photométrique de la croissance des microorganismes en présence de concentrations variées d'antibiotiques. (**Maejorie Murphy. C., 1999**).

6.5.2. Bactéricide

Certains antibiotiques provoquent, à partir d'une certaine concentration seuil, l'apparition d'une mortalité bactérienne. Cette bactéricide s'effectue essentiellement selon deux modalités.

L'effet peut être proportionnel à la concentration d'antibiotique (le plus souvent jusqu'à une concentration au-delà de laquelle il n'y a plus d'accroissement de la létalité) : l'effet est de type « tout ou rien » et la vitesse de mortalité est maximale dès que la concentration seuil de bactéricide est atteinte. **(Maejorie Murphy. C., 1999).**

7. Les polyphénols : intérêt nutritionnel

7.1.1. Prévention contre les maladies cardiovasculaires:

La consommation des polyphénols se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas.

Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LowDensityLipoproteins ou LDL), qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose. En inhibant l'oxydation des LDLs, ils limitent leur incrustation dans les parois des artères qui contribuent à l'épaississement des parois et à réduire le flux de sang qui parvient au niveau des tissus. Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères. Deux études cliniques récentes réalisées aux Etats-Unis et au Chili ont montré que les polyphénols améliorent le fonctionnement de l'endothélium.

Ces cellules qui tapissent les parois des artères jouent un rôle clé dans l'homéostasie des artères et la prévention de l'athérosclérose. Les polyphénols en prévenant l'athérosclérose et les risques de thrombose limiteraient les risques d'infarctus du myocarde, ce que tend à confirmer les quelques études épidémiologiques déjà publiées.

7.1.2. Prévention contre le cancer :

Ajoutés à un régime de divers animaux de laboratoire, ils limitent le développement de tumeurs induites expérimentalement par exposition à des agents carcinogènes. Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumon, peau, vessie, etc.) à tous les stades de la cancérogenèse. Au stade d'initiation, ils agissent comme agents bloquants en empêchant l'activation de procarcinogènes, en piégeant les mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation des ADN mutés. Au stade de promotion et de

progression, ils agissent comme agents suppresseurs de tumeurs. Les mécanismes impliqués peuvent être encore très variés: prévention du stress oxydant, inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et des réactions inflammatoires associées, inhibition de la protéine kinase C et de la prolifération cellulaire, induction de l'apoptose, inhibition de l'angiogénèse.

Les preuves de leurs effets chez l'homme restent cependant encore insuffisantes.

7.1.3. effets protecteurs contre les maladies hormono-dépendantes telle que l'ostéoporose :

En modulant la réponse aux œstrogènes endogènes. Certains polyphénols et plus particulièrement les isoflavones sont très étudiés aujourd'hui, ont une affinité remarquable pour les récepteurs des œstrogènes et sont qualifiés pour cela de phyto-œstrogènes. Les fruits et légumes contiennent aussi des polyphénols tels la quercétine de l'oignon qui possède également des propriétés pseudo-ostrogéniques ou inhibe la perte osseuse chez la rate ovariectomisée. Là encore, de nouvelles études sont nécessaires pour confirmer ces effets chez l'homme.

Les orientations récentes des recherches sur les polyphénols visent d'une part à mieux comprendre les mécanismes d'action au niveau moléculaire et cellulaire et à évaluer par des études cliniques leur incidence sur certains marqueurs clés associés aux pathologies.

D'autre part, les recherches épidémiologiques visant à préciser les associations entre les niveaux de consommation des divers polyphénols et le risque de développer les pathologies permettront de préciser la nature des polyphénols et les niveaux d'apports les plus favorables à la prévention des diverses pathologies.

Chapitre III : les prébiotiques

Introduction

L'intestin contient environ 100 000 milliards de bactéries et autres micro-organismes qui forment la « flore intestinale ». La flore a un rôle très important sur la santé car elle complète la digestion, fabrique des produits dérivés qui peuvent exercer un rôle métabolique et collabore avec le système immunitaire intestinal pour défendre notre organisme. D'après plusieurs études in vitro, les prébiotiques auraient un effet bénéfique dans la diminution de la constipation et un rôle dans la réduction du risque de cancer colorectal et des maladies infectieuses. Les espèces stimulées par les prébiotiques sont essentiellement des bactéries lactiques de l'intestin : lactobacilles et bifidobactéries. La majorité des prébiotiques utilisés à l'heure actuelle sont des fibres alimentaires solubles : les oligosaccharides, fructo-oligosaccharides.

Il ne faut pas confondre entre prébiotique qui sont des molécules organiques et les probiotiques qui sont des micro-organismes vivants.

1. Définition

Les prébiotiques sont des oligosaccharides définis comme « non digestibles ingrédients alimentaires » qui, lorsqu'ils sont consommés en quantités suffisantes, de manière sélective stimulent la croissance et /ou l'activité d'une ou d'un nombre limité des microbes dans le colon entraînant des avantages pour la santé. Ils ont une incidence positive sur la composition et le métabolisme de l'activité de la microflore intestinale.

Les composés prébiotiques peuvent aussi avoir immunomodulateur propriété, avec ou sans l'ajout de bactéries probiotiques. En outre, les effets des prébiotiques comme agents stabilisants dans des produits probiotiques pendant le stockage, la lyophilisation, et séchage par pulvérisation ont été rapportés par plusieurs auteurs. **(Desmond et al., 2005 ; Schwab et al., 2007).**

Autre autorisations d'oligosaccharide sont, par exemple, une faible valeur calorique, sucré réduit agissant comme des agents anti caries, possibilité de modifier la viscosité et le point de congélation d'aliments.

Selon (**robertfroid.,2007**),les critères de classement des prébiotiques sont les suivants :

- La résistance à l'acidité gastrique
- L'hydrolyse par le mammifère enzyme gastro-intestinal et l'absorption
- La fermentation par la microflore intestinale et la stimulation sélective de la croissance et /ou de l'activité de l'intestine bactérie associées à la santé et au bien-être.

Au contraire des probiotiques, la plupart des prébiotiques sont utilisés comme ingrédients alimentaires dans les biscuits, les céréales, le chocolat, la pâte à tartiner et autres produits alimentaires, par exemple. Les prébiotiques les plus communs sont :

- L'oligofructose
- L'inuline
- Les galacto-oligosaccharides
- Le lactulose
- Les oligosaccharides du lait maternel

Pour classifier un ingrédient alimentaire comme prébiotique, il existe 5 critères qui doivent être validés (**Wang., 2009**):

- Il doit être résistant aux différents processus de digestion pour atteindre le colon
- Il doit pouvoir être fermenté par la microflore intestinale
- Il doit être bénéfique pour la santé de l'hôte
- Il doit stimuler de façon sélective les probiotiques
- Il doit rester stable durant les différents traitements alimentaires du processus

Les molécules qui, à ce jour, satisfont à ces critères sont les inulines, les galacto oligosaccharides(GOS) et le lactulose. Elles entrent dans la composition de certains aliments et compléments alimentaires. Les inulines sont des mélanges d'oligo et de polysaccharides essentiellement composés de fructose. Les termes de fructo oligosaccharides (FOS) et d'oligo fructose sont utilisés pour des inulines de faible poids moléculaire.

D'autres candidats existent (isomalto-oligosaccharides, lacto sucrose, xylooligosaccharides, oligosaccharides du soja, gluco-oligosaccharides, gomme arabique,

hydrolysats de pectines...) qui ont fait ou font l'objet d'études préliminaires mais sans, à ce jour, satisfaire les critères ci-dessus.

Parmi les prébiotiques commercialisés, on retrouve l'inuline, les fructo-oligosaccharides, les galacto-oligosaccharides, les isomalto-oligosaccharides, les malto-oligosaccharides, les xylooligosaccharides. (Mussatto *et al.*, 2007).

Tableau. 5 : exemples des composés prébiotiques commercialisés (Grizardet Barthomeuf., 1999 ; Franck., 2002).

PREBIOTIQUES	NOM	STRUCTURE	FOURNISSEUR
Oligofructoses	Raftilose	Fru-Frun+ Frun	Glc- Orafti (Belgique)
Fructooligosaccharides	Actilight	Glc-Frun	Beghin Meiji Industries (France)
Galactooligosaccharides	Oligomate	Glc-Galn	Yakult (Japon)
Lactulose	MLS-50	Gal-Fru	Morinaga (Japon)
oligosaccharides de soja	Soya-Oligo	Galn-Glc-Fru	Calpis (Japon)
Isomaltooligosaccharides	IMO 900	Glc	ShowaSangyo (Japon)
Glucooligosaccharides	Bioecolia	Glc	Solabia (France)
Mannooligosaccharides	Bio-MOS	Mann	AlltechBiotechnology (USA)
Xylooligosaccharides	Xylo-oligo	Xyl	Suntory (Japon)

2. Les différentes familles prébiotiques

On peut classer les prébiotiques en deux grands groupes : les prébiotiques reconnus, dont certains sont commercialisés, et les prébiotiques émergents.

2.1. les prébiotiques reconnus

Le premier groupe est essentiellement constitué de trois familles : les fructo oligosaccharides (FOS), les galacto oligosaccharides (GOS) et le lactulose ; ces prébiotiques sont aujourd'hui bien reconnus au Japon, en Europe et aux Etats Unis.

2.1.1. Les FOS et l'inuline

Les FOS sont des oligomères de D-fructose associés par des liaisons α -(1→2) avec un résidu D-glucose en bout de chaîne lié en β -(1→2). Ils sont obtenus par réaction d'hydrolyse enzymatique de l'inuline. L'inuline est un ensemble de polymères de fructose de DP >20, elle est extraite industriellement de la chicorée, mais on la trouve également dans l'ail, l'oignon, la tomate, la banane et l'artichaut de Jérusalem. (Crittenden., 1999).

Ce sont les prébiotiques les plus étudiés et leur aptitude à stimuler la croissance de Bifidobactérium a été établie par de nombreuses études tant in vitro que in vivo. (Roberfroid., 1998).

2.1.2. Les Galacto oligosaccharides (GOS)

Ce sont des oligomères de la forme $\text{Glc } \alpha$ -(1→4)-[β -(1→6) Gal]_n avec n de 2 à 5. Ils sont naturellement présents dans le lait mais également obtenus par synthèse enzymatique à partir du lactose. (Crittenden., 1999; Kolida., 2000). Ils sont non digestibles. (Bouhnik., 1997). Comme avec les FOS, les tests *in vitro* mettent en évidence un effet bifidogène mais ils accroissent également la population des lactobacilles. (Tanaka., 1983). Sur des rats porteurs d'une microflore humaine, (Rowland et al., 1993) a montré que les transgalacto oligosaccharides augmentaient le nombre de bifidobactéries et de lactobacilles mais en outre diminuaient le nombre d'entérobactéries. De plus ces oligomères réduisent les activités enzymatiques néfastes. Chez l'homme plusieurs études aboutissent aux mêmes résultats. (Tanaka., 1983; Ito., 1990).

2.1.3. Le Lactulose

C'est un disaccharide synthétique galactose- fructose lié en β -(1→4) dérivé du lactose. Il est connu pour ses effets laxatifs lorsqu'il est pris à fortes doses (supérieures à 20g par jour). (Salminen., 1997). Mais à plus faibles doses, il agit en tant que prébiotique en augmentant le nombre de bifidobactéries alors que le nombre de *Clostridium perfringens*, de *Bacteroides*, de *streptocoques* et d'entérobactéries décroît. (Salminen., 1997; Terada., 1992; Ballongue., 1997; Tuohy., 2002).

2.2. Les prébiotiques émergents

Plusieurs causes sont à l'origine du développement de nouveaux prébiotiques : tout d'abord les progrès réalisés dans les processus de production (**Gibson., 2000**), puis les développements des biotechnologies et de la génétique moléculaire (**Rabiu., 2001; Rastall., 2002**), enfin la recherche de diversification des voies de valorisation de certains produits naturels, déchets de l'agriculture.

Parmi ces prébiotiques émergents on peut citer : les isomalto oligosaccharides (IMO), les oligosaccharides de soja (SOS) et les xylooligosaccharides (XOS).

On ajoutera, dans une moindre mesure en terme de travaux d'expertise, les gluco-oligosaccharides et les pectiologosaccharides (**Rycroft., 2001; Olano-martin., 2002; Rastall., 2002**). Il a également été avancé que les amidons résistants pouvaient entrer dans cette catégorie. (**Crittenden., 2001; Wang., 2002; Shuusuke., 2003**).

3. La différence entre les prébiotiques et les probiotiques

Les prébiotiques sont des glucides non digestibles qui servent de « nourriture » aux probiotiques. Les prébiotiques contribuent à la prolifération et au maintien des probiotiques dans l'appareil digestif. Les glucides non digestibles ne sont pas tous des prébiotiques. Tous les prébiotiques doivent respecter des critères scientifiques particuliers. Les probiotiques sont de bonnes bactéries naturellement présentes dans notre appareil digestif, plus particulièrement le côlon. Certains probiotiques ont été associés à des bienfaits spécifiques pour la santé. (**Roberfroid., 2001**).

4. Critères de sélection d'un prébiotique

Afin de satisfaire à la définition des prébiotiques, les molécules doivent pouvoir atteindre intactes le côlon où elles pourront alors être fermentées sélectivement dans l'écosystème intestinal complexe. Les candidats prébiotiques doivent être sélectionnés selon les différents critères décrits dans le **Tableau 6**.

Tableau. 6 : Proposition de critères de sélection des prébiotiques à application intestinale. **(Franck., 2002 ; AFSSA., 2003).**

CRITERES DE SECURITE	<ul style="list-style-type: none">▪ produits ou organismes à l'origine de l'ingrédient parfaitement caractérisés▪ procédé d'obtention parfaitement décrit▪ identification et caractérisation des molécules actives▪ identification des microorganismes ciblés pour la fermentation▪ pas de production excessive de gaz
CRITERES FONCTIONNELS	<ul style="list-style-type: none">▪ non digestibilité et non assimilation dans la partie supérieure du système gastro-intestinal▪ fermentescible dans le côlon de façon sélective par un nombre limité de bactéries potentiellement favorables▪ capacité à altérer la composition de la microflore colique en faveur d'une flore potentiellement plus saine▪ induction éventuelle d'effets systémiques qui peuvent être positifs pour la santé de l'hôte
CRITERES TECHNOLOGIQUES	<ul style="list-style-type: none">▪ pas de modification de l'ingrédient au cours des transformations et du stockage des préparations

Les doses recommandées pour que les prébiotiques soient efficaces, dépendent du profil bactérien des sujets et de la nature de ses molécules actives. En effet, certains prébiotiques de faible masse molaire sont susceptibles d'induire la production de plus forte quantité de gaz à l'origine de douleurs abdominales et pourraient provoquer à forte dose des diarrhées osmotiques. Par ailleurs, les prébiotiques sont faiblement tolérés par les personnes à troubles intestinaux. **(Cummings et MacFarlane., 2002 ; Marteau et al., 2001).** En outre, jusqu'à présent, aucun élément n'indique un risque particulier allergique lié à l'utilisation de glucides indigestibles. **(AFSSA., 2003).**

5. Aspect réglementaire des prébiotiques

Les prébiotiques sont classés au niveau européen en tant qu'ingrédient alimentaire ou additif alimentaire. **(Franck., 2002).**

Tout comme pour les fibres alimentaires, la non-digestibilité des prébiotiques est une des caractéristiques principales. La question se pose donc de savoir s'il faut classer ou non les prébiotiques en tant que fibres alimentaires. Pour l'instant, seuls les FOS Actilight et Raftilose ont obtenu les confirmations réglementaires du statut de fibres solubles depuis 2002. **(Champ., 2003).**

6. Mécanisme d'action des prébiotiques:

- Survivre à l'acidité de l'estomac
- Eviter leur digestion dans l'intestin grêle
- Favoriser la fermentation sélective par les bactéries saprophytes du côlon
- Stimuler la croissance des probiotiques (bifidobactéries)
- Stimuler la motilité intestinale et la réabsorption d'eau, d'électrolytes et des sels minéraux (Ca^{++} , Mg^{++})

Figure 11 : les mécanismes d'action des prébiotiques(**Roberfroid., 2007**).



7. Effet bénéfique des prébiotiques sur la santé :

7.1. Santé du système digestif

On constate un intérêt grandissant pour les aliments qui contribuent à une saine digestion. Les prébiotiques sont des substances qui favorisent la régularité du système digestif en encourageant la prolifération des bactéries bénéfiques dans les intestins. Les recherches semblent indiquer qu'un avantage numérique de bonnes bactéries aide le système digestif à préserver sa santé normale, car cela signifie que les bactéries potentiellement nuisibles sont en position d'infériorité et qu'elles sont moins en mesure de causer des problèmes.

Plusieurs prébiotiques agissent sur le corps comme le feraient des fibres ; c'est-à-dire qu'ils ne sont pas complètement digérés lors de leur passage dans le système (GI) gastro intestinale ; et sont par conséquent considérés comme faisant partie des fibres alimentaires.

Une combinaison de prébiotiques tels que le polydextrose et le lactitol affecte l'écosystème microbien du tractus gastro-intestinal de rat et améliore la réponse

immunitaire en augmentant la sécrétion d'immunoglobulines A (IgA).(Peuranen et al., 2004).

En outre, dans le traitement de la trouble colite, il y a quelques indications expérimentales quant aux effets bénéfiques de l'inuline dans l'amélioration de la colite distale chez le rat.(Videla et al., 2001).

Chez les porcelets, (Tang et al., 2005) a rapporté que la supplémentation alimentaire de (OGM) par 0,12% galacto-oligosaccharide mannane a été en mesure d'augmenter les performances de croissance et de réduire la diarrhée.

7.2. Absorption minérale

Sans être laxatifs ni avoir directement l'effet fibre sur le volume, les prébiotiques améliorent le transit intestinal chez les gens souffrant de constipation ainsi que chez ceux souffrant de diarrhée.

Les prébiotiques ont également la capacité de réduire l'inflammation intestinale.

L'usage de prébiotiques augmente aussi l'absorption des minéraux. Cet effet est mesurable pour le magnésium, le calcium, le fer et le zinc. Lorsqu'elles utilisent les prébiotiques, les bactéries bénéfiques fabriquent des acides faibles (acides lactiques, butyrique) ; Ces acides abaissent le pH de l'intestin (le rendent plus acide), entraînant une amélioration du métabolisme de l'intestin en général et de l'absorption des minéraux, une réduction de la croissance des pathogènes.

Autre effet particulièrement intéressant, l'acide butyrique est utilisé par les cellules du gros intestin (le côlon) pour fabriquer de l'énergie et améliorer la santé de la paroi intestinale. Plus les bifidobactéries sont nombreuses et plus elles sont bien nourries (prébiotiques), plus elles produisent des acides gras à chaînes courtes (l'acide butyrique) qui améliorent l'environnement intestinal, aidant ainsi à prévenir la formation de cryptes aberrantes et de polypes et en bout de ligne, le cancer de l'intestin.

Chez les jeunes adolescents, la consommation quotidienne d'une combinaison de prébiotique à courte et à longue chaîne, fructanes de type inuline de manière significative, augmente l'absorption du calcium et favorise la minéralisation osseuse pendant la croissance pubertaire. Effets des facteurs alimentaires sur le calcium, l'absorption peut être

modulée par des facteurs génétiques spécifiques, y compris vitamine D polymorphismes du gène du récepteur.(**Abrams et al., 2005**).

En outre, des études sur des modèles animaux ont montré une disponibilité d'augmentation du calcium avec de l'inuline et de l'oligofructose dans l'alimentation.(**Scholz-Ahrens et Schrezenmeir., 2007**).

D'un point de vue fonctionnel les prébiotiques agissent sur l'absorption du calcium et du magnésium ce qui améliorerait la minéralisation osseuse et diminuerait donc le risque d'ostéoporose.(**Scholz-ahrens., 2000**).

7.3. Prévention de cancer

La fermentation des prébiotiques conduit à la production d'acides gras à chaîne courte(AGCC) qui fournissent plusieurs effets sur la muqueuse colique.

En effet, ils affectent directement ou indirectement la prolifération des entérocytes de l'intestin, l'inflammation, la carcinogenèse, la disponibilité des minéraux, et la colonisation par des pathogènes, les activités enzymatiques et la production de métabolites azotés. L'acide butyrique est utilisé par les cellules épithéliales de la muqueuse du côlon comme source d'énergie, étant en outre un facteur de croissance.(**Bugaut et Bentéjac., 1993**).De récentes études précliniques ont rapporté que le butyrate pourrait être dans l'adjuvant de la prévention de la carcinogenèse (**Scheppach et Weiler., 2004**)ou agent protecteur contre le cancer du côlon par la promotion de la différenciation des cellules.(**Kim, et al., 1982**).

En plus de butyrate, le propionate peut avoir des effets anti-inflammatoires sur les cellules du cancer du côlon. Dans une étude in vitro sur des lignées coliques HT29 L97 (qui représente le début et le stade final de cancer du côlon), les fractions de surnageant de la fermentation de inuline a montré une importante croissance d'inhibition et induction de l'effet apoptose dans les cellules tumorales du côlon humain. (**Munjal et al., 2009**).

7.4. Les prébiotiques dans l'alimentation des nourrissons

A côté de leurs effets sur la flore intestinale, les prébiotiques ont un effet sensible sur le comportement intestinal. Au niveau de l'intestin grêle, ils restent en solution dans le chyme et augmentent la pression osmotique, créent un appel d'eau dans la lumière intestinale. Au niveau du colon, la fermentation bactérienne s'accompagne de la production

de gaz et d'acides gras à chaîne courte qui sont connus pour influencer la motilité intestinale.

Si ces effets sont recherchés chez l'adulte pour améliorer le transit intestinal et éviter les problèmes de constipation créés par notre alimentation moderne trop pauvre en fibres, il n'en est pas de même chez le nourrisson où une consommation élevée de prébiotiques peut créer des symptômes pathologiques : diarrhée, flatulence, coliques.

Des études cliniques sont en cours pour déterminer la dose à la fois efficace et bien tolérée chez le jeune enfant. Les premiers résultats obtenus avec les oligosaccharides à effet prébiotiques prouvés (oligofructose et inuline) se révèlent décevants : la dose de 2 g par jour est bien tolérée mais ne montre pas d'effet bifidogène, alors qu'au taux de 3 g par jour, on observe une augmentation significative du nombre de selles. (**Guesry et al., 2000**).

Les tannins de la caroube sont largement utilisés dans le combat des diarrhées chez l'enfant. (**Loeb et al., 1989**).

Tableau 7. Effets positifs des prébiotiques sur la santé (effets probables ou suspectés). (Bornet *et al.*, 2002 ; Franck., 2002 ; AFSSA., 2003).

EVIDENCES SCIENTIFIQUES FORTES	
EFFETS DES PREBIOTIQUES	MECANISMES DES PREBIOTIQUES
faible valeur calorique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ non digestibilité et fermentation colique complète en lactate, acides gras à chaîne courte (acétate, propionate et butyrate) et gaz (CO₂, H₂, CH₄)
modulation de la flore intestinale	<ul style="list-style-type: none"> ▪ fermentation sélective par la flore positive endogène au détriment de la flore pathogène
amélioration de la motilité intestinale et soulagement de la constipation	<ul style="list-style-type: none"> ▪ augmentation de la pression osmotique ▪ production de butyrate fournissant de l'énergie aux colonocytes ▪ production de gaz ▪ accroissement de la biomasse bactérienne
EVIDENCES SCIENTIFIQUES PROMETTEUSES	
EFFETS DES PREBIOTIQUES	MECANISMES DES PREBIOTIQUES
stimulation de l'absorption des minéraux et réduction des risques d'ostéoporose	<ul style="list-style-type: none"> ▪ acidification du milieu améliorant la solubilisation du calcium et du magnésium
effet hypolipidémique, effet hypoglycémique et prévention du diabète	<ul style="list-style-type: none"> ▪ production d'acétate et de propionate modulant la lipogenèse hépatique ▪ production de propionate modulant la gluconéogenèse hépatique ▪ libération d'hormones intestinales (incrétines)
diminution des diarrhées	<ul style="list-style-type: none"> ▪ fermentation sélective par la flore positive endogène au détriment de la flore pathogène ▪ production d'acides gras à chaîne courte stimulant l'absorption d'eau par le côlon
prévention des infections intestinales	<ul style="list-style-type: none"> ▪ fermentation sélective par la flore endogène positive ▪ production d'acides gras à chaîne courte induisant un environnement acide ▪ modulation du système immunitaire via la flore endogène
diminution du risque de cancer du côlon	<ul style="list-style-type: none"> ▪ modulation du système immunitaire via la flore endogène ▪ modulation de la flore positive exhibant une faible activité enzymatique carcinogénique

8. la farine de la gousse de caroube FPC

La pulpe est très utilisée soit comme aliment diététique, soit comme remplaçant du chocolat, soit encore en alimentation animale. Elle est très riche en sucres (40-60%) en particulier, saccharose (27-40%), fructose (3-8%) et glucose (3-5%) mais pauvre en lipides (0,4-0,6%) ou protéines (2-6%).(Leroy., 1929; Avallone et al., 1997). Par ailleurs, la pulpe présente également une teneur très élevée en fibres (27-50%) et une quantité non négligeable de tanins.(Saura-calixto., 1988). Assez souvent, la pulpe est toastée et broyée donnant une poudre de couleur marron à arôme de chocolat (farine de caroube ; FPC). A part son utilisation en alimentation humaine, celle-ci semble particulièrement adaptée à l'alimentation du porc. Le remplacement du dextrose, de la poudre de lait ou des céréales par de la FPC permet d'obtenir des performances de croissance similaires chez le porcelet (Piva et al., 1978; Santi et al., 1987) aussi bien que chez le porc en croissance-finition (Lanza et al., 1983). Les sucres apportés par la FPC contribuent très probablement à la palatabilité des régimes et aucun effet antinutritionnel des tanins sur les paramètres mesurés n'est observé.

Les diarrhées de post-sevrage sont un problème très fréquent dans l'élevage du porc (Madec et al., 1998) et la décision de l'Union Européenne de prohiber l'utilisation des antibiotiques en tant qu'additifs alimentaires n'a fait qu'aggraver la situation. Les tanins de la caroube présentent d'importantes propriétés anti-diarrhéiques (Würsch., 1987) et sont largement utilisés dans le combat des diarrhées chez l'enfant (Loeb et al., 1989).

1. L'objectif

Mettre en évidence l'activité antagoniste des polyphénols à différentes concentrations (5, 10, 25 et 50%) testée vis-à-vis trois bactéries pathogènes *Escherichia coli* 10536 ATTC et *Salmonella* 13311 ATCC et *Listeria* 13932.

2. Plan de travail



3. Les souches pathogènes

Les différents souches pathogènes utilisées dans cet expérimental sont reportés dans le tableau ci-dessous

Tableau 08 : Nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées

Souches	Référence	Milieu de culture
<i>Escherichia coli</i>	10536 ATTC	Bouillon BHI
<i>Salmonella</i>	13311 ATCC	Bouillon BHI
<i>Listeria</i>	13932 ATCC	Bouillon BHI

4. Matériel biologique

Le matériel végétal constitué de gousses de caroubemure, a été collecté dans la région de REMCHI.



Figure 12 : présentation du matériel biologique utilisé (gousse, grains, pulpe, farine)
(Original)

5. Milieux de culture et conditions de croissance

Tous les milieux de culture préparés sont autoclavés à 121°C pendant 15 min.

Les souches de référence : *Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella* ATCC 13311 et *Listeria* ATCC 13932 ont été réactivées deux fois et cultivées sur BHI bouillon (Brain-Heart-Infusion : réf. CM0225 Oxoid, Biomérieux, France). L'incubation est faite en aérobie pendant 24 h à 37°C. Pour l'étude de l'évolution du pathogène au cours de sa croissance le milieu Mueller-Hinton Gélose (Réf. CM0419 Oxoid, Biomérieux, France) à 37°C pendant 24 h en aérobie a été utilisé ; les souches ont été cultivées au moins trois fois avant l'expérience.

6. Etude de l'activité antimicrobienne

Pour évaluer in vitro l'activité antimicrobienne des composés phénoliques, la méthode utilisée est celle de diffusion par puits sur gélose telle que décrite par (**Berghe et Vlietinck., 1991**). Les tests ont été réalisés sur des bactéries pathogènes *Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella* ATCC 13311 et *Listeria* ATCC 13932 afin d'avoir une idée sur l'étendue du champ d'action des extraits aqueux différentes concentrations ont été testées. L'activité antimicrobienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition de croissance microbienne produite autour des puits après incubation.

7. Etude de l'évolution de la cinétique de croissance et de production

L'étude de l'évolution de la croissance d'*Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella* ATCC 13311 et *Listeria* ATCC 13932 est effectuée dans le milieu BHI bouillon à pH 6,8 à 37 °C en aérobie. Des prélèvements stériles sont effectués périodiquement toutes les 2 heures pendant 24 heures afin d'évaluer la croissance (DO) à 600 nm par spectrophotométrie sur un spectrophotomètre de type Jenway 6700 Visible UV-Visible ; la détermination de l'évolution de la charge microbienne en microcultures s'effectue par isolement sur milieu Mueller-Hinton gélose ; ces deux méthodes sont utilisées dans le but de déterminer la charge microbienne d'*Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella* ATCC 13311 et *Listeria* ATCC 13932 évaluée à 10^5 UFC/ml mise en contact avec les différentes concentrations des extraits phénoliques.

8. Technique en milieu solide (méthode de diffusion en milieu gélosé)

Les boîtes de Pétri contenant 1000 µl de suspension bactérienne à 10^5 UFC/ml sont remplies de 15 ml de gélose Mueller-Hinton le contact du germe cible avec les extraits phénoliques se fait par homogénéisation pendant 3 mn. Les boîtes sont ensuite séchées pendant 10 minutes à 37°C à l'étuve. À l'aide d'un emporte-pièce stérile, on pratique des cavités dans la gélose, ensuite chaque cavité est remplie par 50 µl du produit à tester à différentes concentrations (5, 10, 25 et 50%). Les boîtes de Pétri avant de les incuber à 37°C pendant 24h sont placées à 4°C pendant 3 heures pour faciliter la diffusion des extraits phénoliques. Le polyphénol diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencé avec la suspension bactérienne (**Eymard., 2003**). Elle est considérée comme positive pour tout produit

donnant un diamètre d'inhibition supérieur à 2 mm(**Thompson et al., 1996**) cité par (**Doumandjiet al., 2010**). La mesure de la zone d'inhibition (Zi) est effectuée selon la formule suivante:

$$Zi (mm) = \text{diamètre de la zone d'inhibition obtenue (mm)} - \text{diamètre de puits (6mm)}$$

.Tous les essais sont réalisés en triple.

9. Concentration minimale inhibitrice: test de microdilutions

Les CMI sont aussi déterminées vis-à-vis des bactéries cibles. L'inoculum de chaque bactérie testée est obtenu à partir d'une préculture de 12 h d'incubation, la charge microbienne était ajustée à 5×10^7 ufc/ml à l'aide d'une turbidité standard 0,5 McFarland. Des dilutions en série sont préparées dans une gamme de concentration de (5, 10, 25 et 50%) (p / v) dans des tubes à essai stériles contenant de bouillon BHI. Les CMI des différents composés vis-à-vis des souches bactériennes sont déterminées par la méthode de microdilutions en puits.

Des plaques contenant 96 puits (Iwaki brand, Asahi Techno Glass, Japan) sont préparées en distribuant dans chaque puits 100 µl de bouillon BHI et 100 µl d'inoculum. 100 µl de chaque solution des différentes concentrations des extraits phénoliques préparés sont versés dans les premiers puits de chaque plaque. 100 µl de chaque dilution en séries sont transférés dans les puits successifs. Les derniers puits contenant uniquement 200 µl de bouillon BHI et 100 µl d'inoculum étaient utilisés comme témoins négatifs. Le volume final de chaque puits était de 200 µl. Les plaques sont incubées sous agitation à 37°C/18–24h. Après incubation, tous les puits sont examinés et la CMI (%: v/v) est déterminée en prenant en compte la plus faible concentration en extrait qui inhibe tout développement bactérien (absence de turbidité). L'H₂O distillée stérile est utilisée comme témoin négatif. Chaque test est répété deux fois.

10. Extraction des phénols

10.1.Élimination des sucres

La caroube étant riche en sucres simples, avant de procéder à l'extraction ; on laisse la farine de caroube, séchée et moulue préalablement, macérer pendant 12 heures dans de l'eau froide (3°C). Ce procédé, répété 2 fois, permet d'éliminer les oses présents (**Kumazawa et al.,2002**); on procède par la suite aux extractions sélectives.

10.2 Extraction

10g du matériel végétal broyé est macéré dans 100ml de mélangeméthanol/eau (70% v/v) pendant 20 minutes, à 40°C.Après filtration, le mélange méthanol/eau, est évaporé à sec sous pression réduite à 45°C. Le résidu obtenu est récupéré avec 12ml de méthanol pur, pour les dosages ultérieurs(**Yu et Dahlgren., 2005**).



Figure 13 : Extraction des phénols a reflux (Original)



Figure 14 : évaporation sous pression réduite (Original)



Figure 15 : Filtration des phénols totaux (Original)

11. Dosage des polyphénols par chromatographie couche mince (CCM)

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélanges en leurs constituants ; elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile.

La chromatographie sur couche mince, ou sur plaque (CCM), est effectuée surtout en vue d'une analyse d'un mélange.

La phase stationnaire solide est fixée sur une plaque, et la phase mobile liquide, nommée éluant, est un solvant ou un mélange de solvants.

On dépose sur la phase fixe une petite quantité du mélange à séparer et on met cette phase au contact de la phase mobile.

La phase mobile migre de bas en haut, par capillarité, le long de la phase fixe en entraînant les constituants du mélange. C'est le phénomène d'élution, qui permet la séparation des constituants du mélange à analyser.

Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale (Rf) :

$$R_f = \frac{\text{hauteur de la tache}}{\text{hauteur du front du solvant}}$$

Chaque tache correspond à un constituant et on l'identifie par comparaison du Rf avec un témoin (une même substance migre à la même hauteur dans des conditions opératoires identiques ; même Rf).

L'analyse sur couches minces est réalisée sur une plaque en verre de gel de silice (5×10 cm). Le système de solvant utilisé pour les polyphénols totaux est : chloroforme/méthanol (9/1).

L'échantillon des polyphénols totaux 15 mg est préparé dans 0.5 ml de chloroforme puis déposé en petit spot sur la plaque.

L'observation du chromatogramme est effectuée en lumière visible et sous U.V. à 366 nm.

1. La cinétique de croissance bactérienne

A partir de l'analyse des cinétiques de croissance, il est intéressant de relever que les trois souches pathogènes d'*Escherichia coli*10536,*Salmonella*13311 et du*Listeria* 13932 ; présentent le même profil cinétique au début de la phase exponentielle, la cinétique de croissance est représentée respectivement dans la **figure16**, **17** et **18** avec des densités optiques variables selon l'espèce.

Il a été remarqué que pour les charges bactériennes de 10^5 UFC/ml; les pathogènes atteint 4h d'incubation la croissance est très rapide de 6h à 8h, les valeurs du taux de croissance diminue à partir de 8 heures.

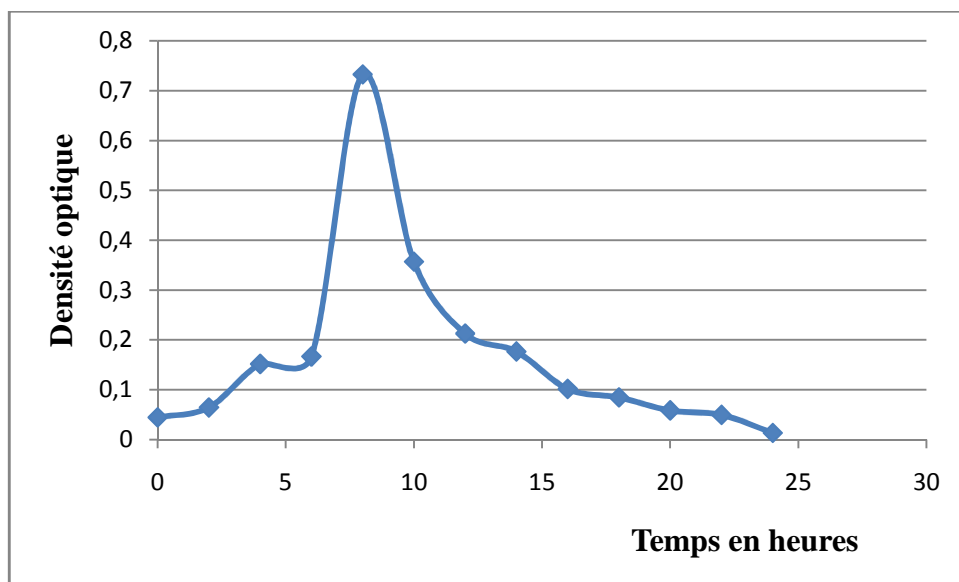


Figure 16 : Courbe représentative de la cinétique bactérienne d'*Escherichia Coli* ATCC 10536 durant 24h.

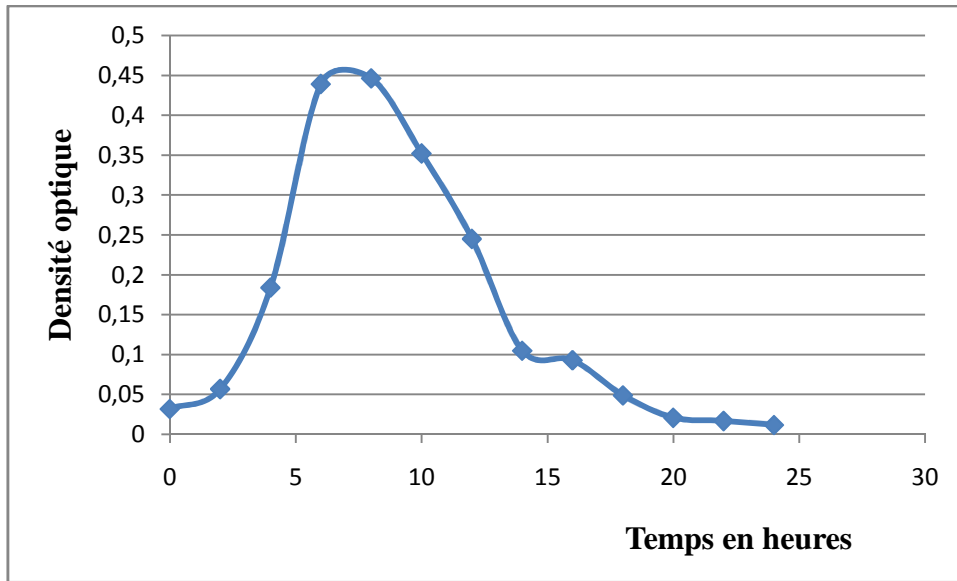


Figure 17 : Courbe représentative de la cinétique bactérienne de *listeria* ATCC 13932 durant 24h

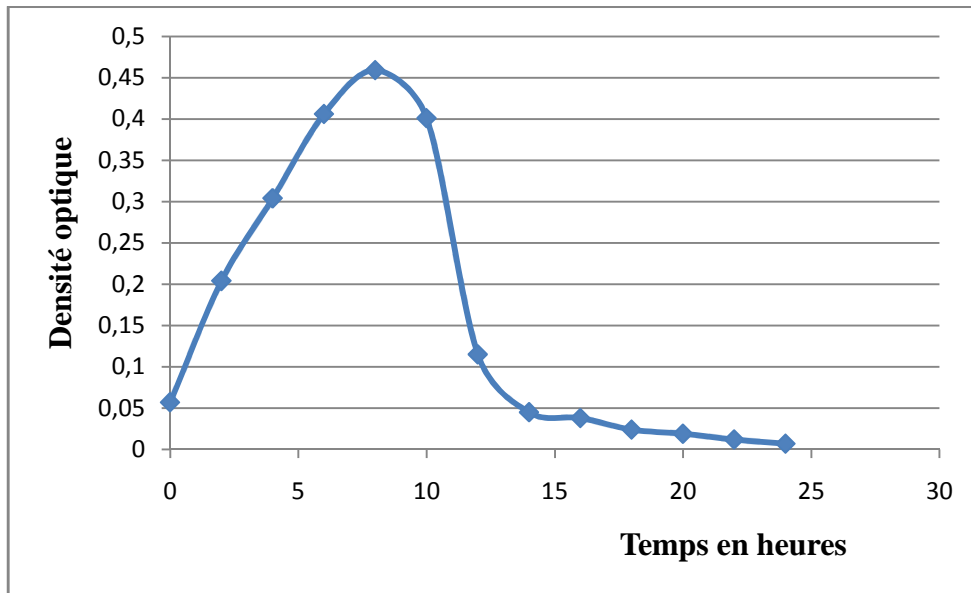


Figure 18 : Courbe représentative de la cinétique bactérienne de *Salmonella* ATCC 13311 durant 24h.

2. Dénombrement des souches

La méthode de (Guiraud, 1998) utilisée, nous a permis d'ajuster la charge microbienne de nos souches pathogènes, les résultats de dénombrement sont représentés respectivement, (157 *E.C*, 123 Set 131 *L UFC* /ml).

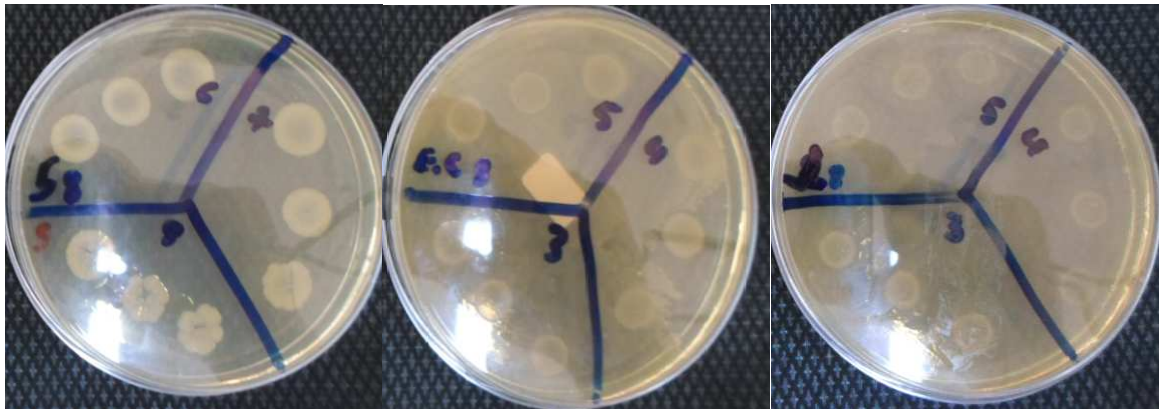


Figure19 : photo représentative de dénombrement de *Salmonella* ATCC 13311, *Escherichia coli* ATCC 10536 et *listeria* ATCC 13932 sur gélose Mueller Hinton après 8h d'incubation à 37°C.

3. Démonstration du pouvoir antibactérien des extraits phénolique

L'activité antimicrobienne des composés phénoliques est évaluée sur trois souches microbiennes de référence. Le pouvoir antimicrobien des composés phénoliques est obtenu par la mesure du diamètre de zone d'inhibition en mm.

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donné par (Mutai et al, 2009) ; ils ont classé les diamètres de zones d'inhibition de la croissance bactérienne en 5 classes ;

- Très fortement inhibitrice : 30mm
- Fortement inhibitrice : 21mm, 29mm
- Modérément inhibitrice ; 16mm, 20mm
- Légèrement inhibitrice : 11mm, 16 mm
- Non inhibitrice : $D < 10$

3.1 Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques-vis-à-vis *Escherichia Coli* 10536 :

La figure 20 indique les résultats obtenus des tests de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques aux différentes concentrations (5, 10, 25 et 50%) sur la souche bactérienne suivante : *Escherichia Coli*10536. Il présente un spectre d'activité antibactérienne apparaît comme des zones claires avec bordure distinctes comme elle indique la figure, le diamètre d'inhibition est variable et varie de 1cm à 2.1cm.

La meilleure zone d'inhibition obtenue est celle de la concentration de 25 et 50 % avec un diamètre de zone d'inhibition allant de 1,8 cm jusqu'à 2,1 cm

Ces résultats se concordent avec ceux de (Chiang et al, 2002) qui ont démontrés que l'activité antimicrobienne de *Ceratoniasiliqua* est due aux polysaccharides et principalement aux composés bioactifs des polyphénols et précisément aux flavonoïdes qui se trouvent en quantité considérable dans les gousses de caroube comme nous allons le démontrer.

L'inhibition est notés positive lorsqu'elle est supérieure à 0,8 mm (Schillinger et lucke,2001).



Figure 20 : effet inhibiteur de différentes concentrations des extraits phénoliques sur la croissance d'*Escherichia Coli* 10536

Aussi (MonjdAbdRazik et al, 2012) a démontré que l'extrait méthanoïque des fruits de *Ceratoniasiliqua* a une activité antibactérienne contre les bactéries gram positives et gram négatives.

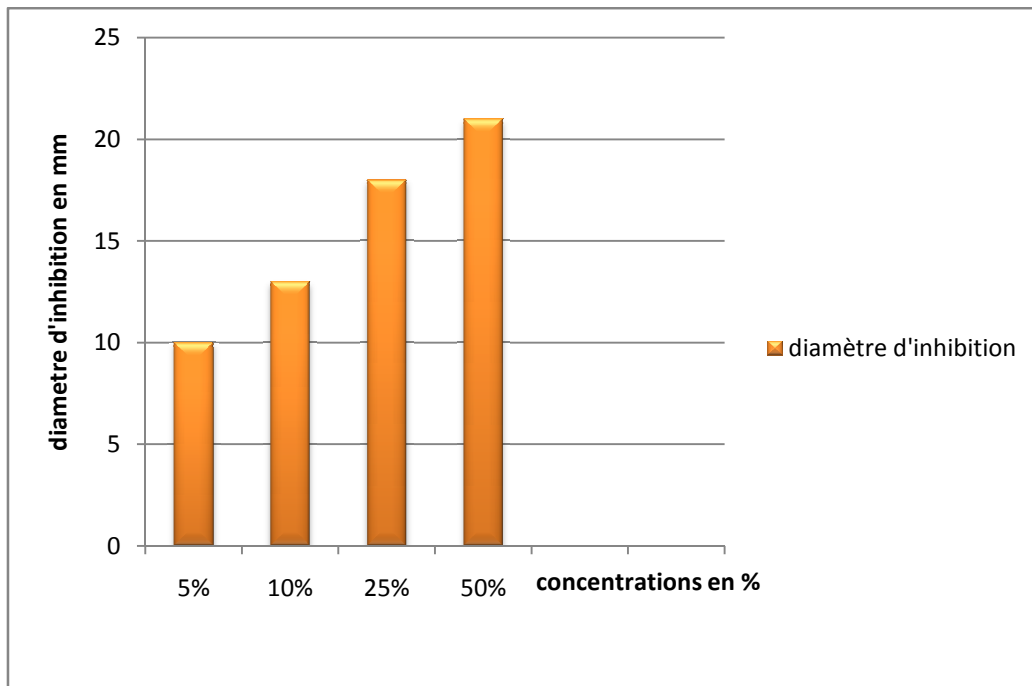


Figure 21: Diamètre des zones d’inhibitions de *E. Coli* en mm en fonction des concentrations des extraits phénoliques

La concentration la plus inhibitrice est de 50% avec un diamètre de 2,2 cm, 25% a aussi un effet inhibiteur très proche à celle de 50% avec un diamètre de 1,8 cm pour les concentrations de 5 et 10% le diamètre se varie entre 0,8 à 1,3 cm.

Ces résultats se rapprochent de ceux de (Ben Hsouna et al, 2012) qui ont trouvé qu’*E. Coli* ATCC 10536 avait une zone d’inhibition de $12 \pm 0,2$ millimètre. Ces auteurs ont trouvé aussi une sensibilité vis-à-vis des bactéries suivantes : *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 9027, et *Salmonella enteritidis*, qui ont un intervalle de zone d’inhibition allant de 10 à 12 millimètres.

3.2 Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques-vis-à-vis *Salmonella* 13311 :

La figure ci-dessous montre le spectre d’inhibition des polyphénols vis-à-vis la souche suivante : *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311 le meilleur diamètre d’inhibition enregistré aux concentrations de 25 et 50 % allant de 1,9 à 2,4 cm.

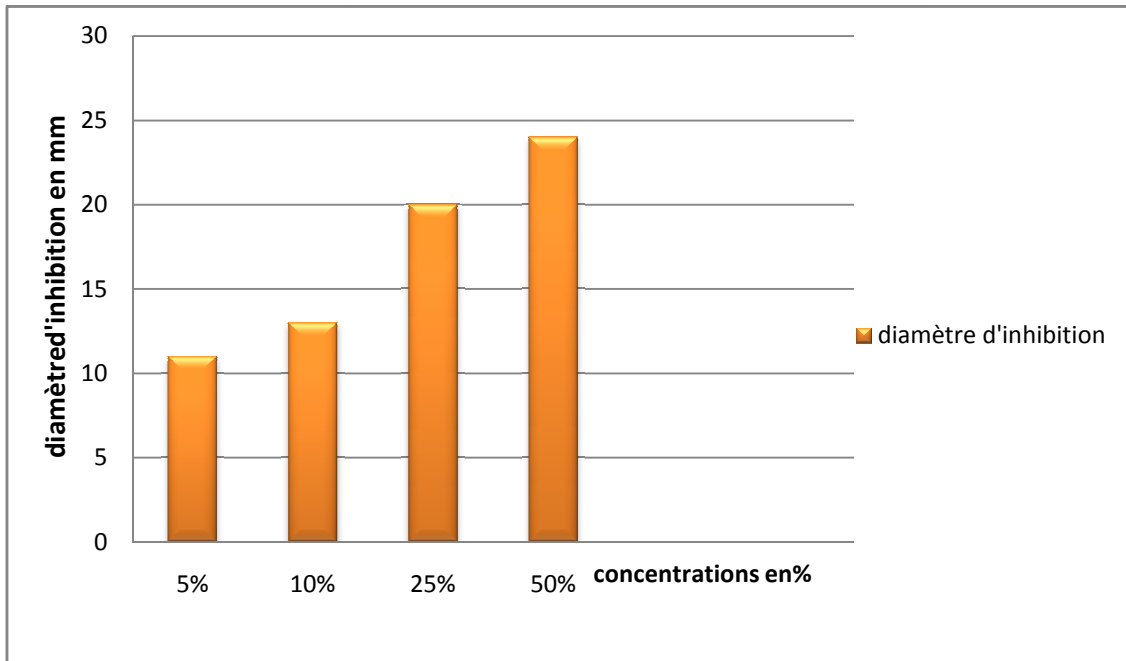


Figure 22: Diamètre des zones d’inhibitions de *Salmonella*13311 en mm en fonction des concentrations des extraits phénoliques

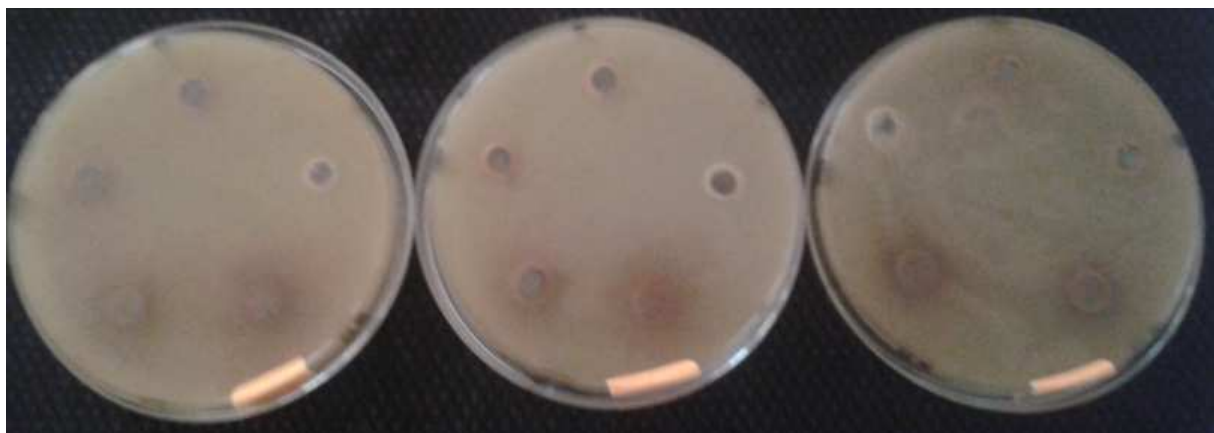


Figure 23: effet inhibiteur de différentes concentrations des extraits phénoliques sur la croissance *Salmonella Typhimurium*.

La plus forte activité a été obtenue avec un diamètre de zone d’inhibition de croissance de 10 à 24 mm

Cette bactérie a manifesté une certaine sensibilité variable à ces extraits phénoliques.

Ces résultats concordent avec les travaux de (LAMBERT et al, 2001) qui a testé l’effet antibactérien des polyphénols de plusieurs plantes contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Selon (Cowan,1999) les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes possédants des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes.

3.3 Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques-vis-à-vis *Listeria* 13932 :

Les résultats illustrés dans la figure ci-dessous montrent le pouvoir antagoniste des polyphénols contre la bactérie *Listeria* 13932.

Le diamètre d'inhibition est variable et varie de 0,8 à 2,1 cm les concentrations la plus inhibitrices est de 25 et 50 %.

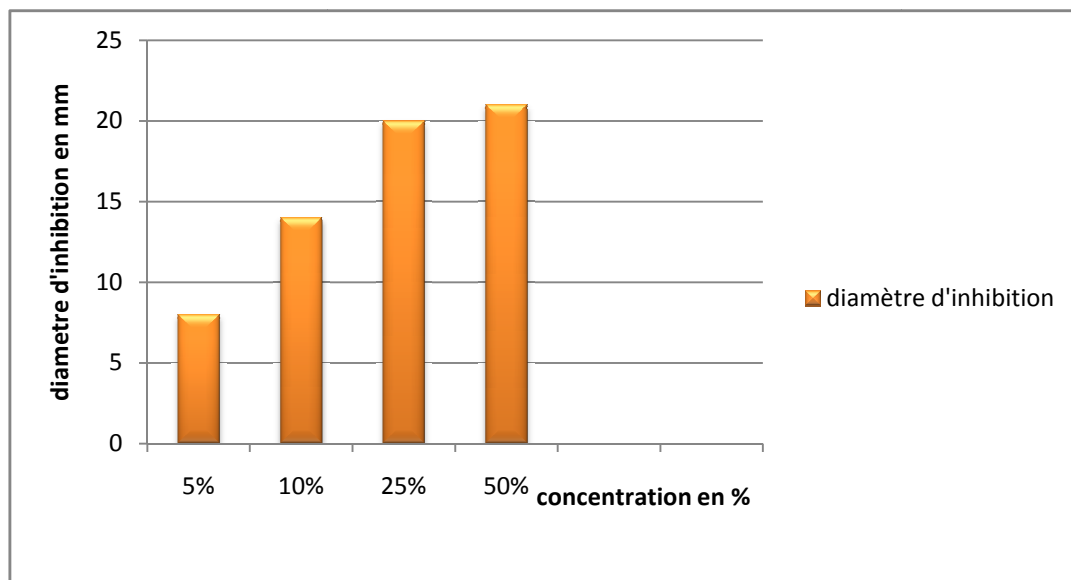


Figure 24 : Diamètre des zones d'inhibitions de *Listeria* 13932 en mm en fonction des concentrations des extraits phénoliques

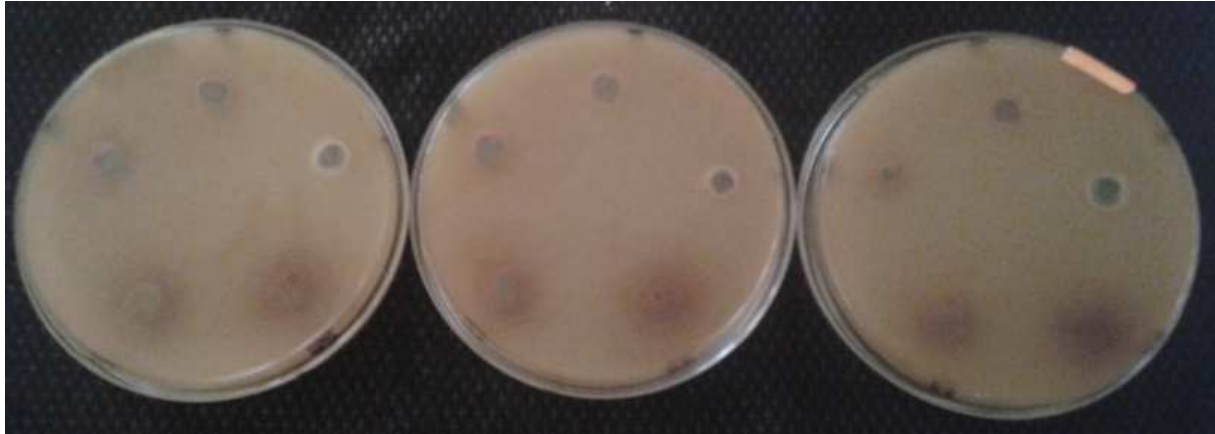


Figure 25 : effet inhibiteur de différentes concentrations des extraits phénoliques sur la croissance *Listeria* 13932.

Les résultats révèlent que l'extrait méthanolique de *Cératonia Séliqua* exerce un effet antimicrobien considérable sur la souche *Listeria* 13932, avec des zones d'inhibition de l'ordre croissant, se variant entre 8 à 21 mm.

Ces résultats se rapprochent de ceux de (**Anis BEN HSOUNA et al, 2012**) ; qui ont trouvé que les extraits phénoliques de la pulpe de caroube à un effet antimicrobien considérable contre la souche *Listeria* avec des zones d'inhibition variable de 0,4 à 13mm.

Cette efficacité est due à la présence des flavonoïdes qui sont des métabolites secondaires réputés pour leurs effets antimicrobiens (**MonjdAdbRazik et al, 2012**) .

Dans un autre travail (**BasmaMonjdAbdRazik et al, 2012**), ont prouvé que les extraits phénoliques de *Cératonia Séliqua* possèdent une activité antimicrobienne très puissante vis-à-vis des bactéries à gram positif.

Les composés phénoliques causent des dommages au niveau de la membrane externe des bactéries, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire aux protons et aux ions potassium, une réduction des réserves de L'ATP intracellulaire, une perturbation de la force proton motrice et une dénaturation des protéines intracellulaires. Biblio 23, 5 et 12.

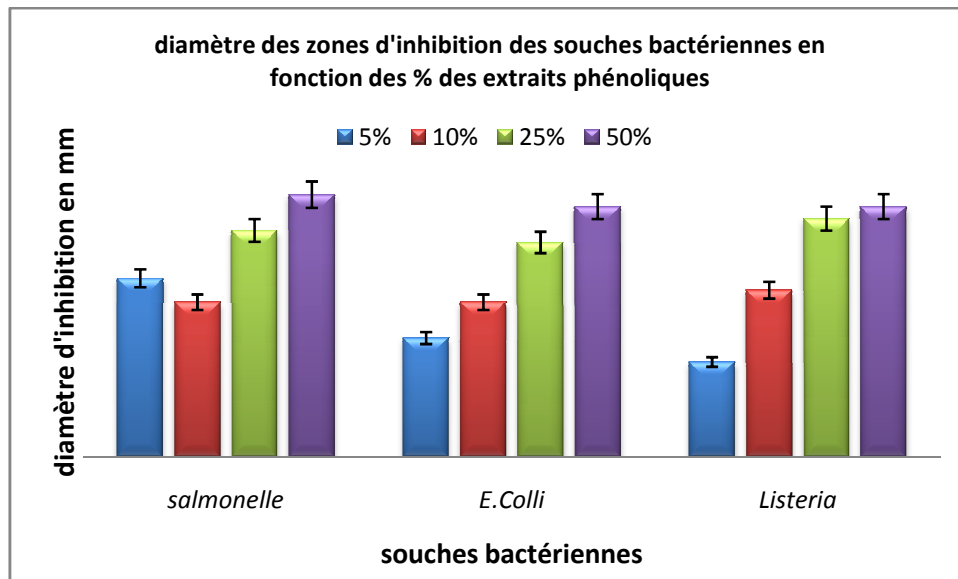


Figure 26: Diamètre des zones d’inhibitions des souches bactériennes *E. Coli* 10536, *S* 13311 et *L* 13932 en fonction des % des extraits phénolique

L’étude de l’activité antimicrobienne des extraits phénoliques de la farine de la pulpe de caroube sur les cultures bactériennes *Escherichia Coli* 10536 et *Listeria* 13932 montre des zones d’inhibition semblable avec un diamètre de l’ordre de 18 à 21 mm pour les concentrations de 25 et 50%.

Les concentrations de 5 à 10% donnent des diamètres d’inhibition voisin de l’ordre de 8 et 14 mm respectivement.

Tandis que l’effet inhibiteur sur la souche bactérienne *Salmonella* 13311 est plus important de ceux d’*Escherichia Coli* 10536 et *Listeria* 13932 ; pour les mêmes concentrations allant de 5 à 50% les diamètres d’inhibition sont de l’ordre de 10 à 24 mm respectivement.

4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice :

D’après les résultats obtenus pour la technique de diffusion sur gélose, nous nous sommes intéressés à déterminer la concentration minimale inhibitrice de l’extraits actif sur les trois souches pathogènes. Les CMI obtenus sont de l’ordre de (P / V) vis-à-vis de *Escherichia coli* ATCC 10536 et *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 et de *Listeria* 13932.

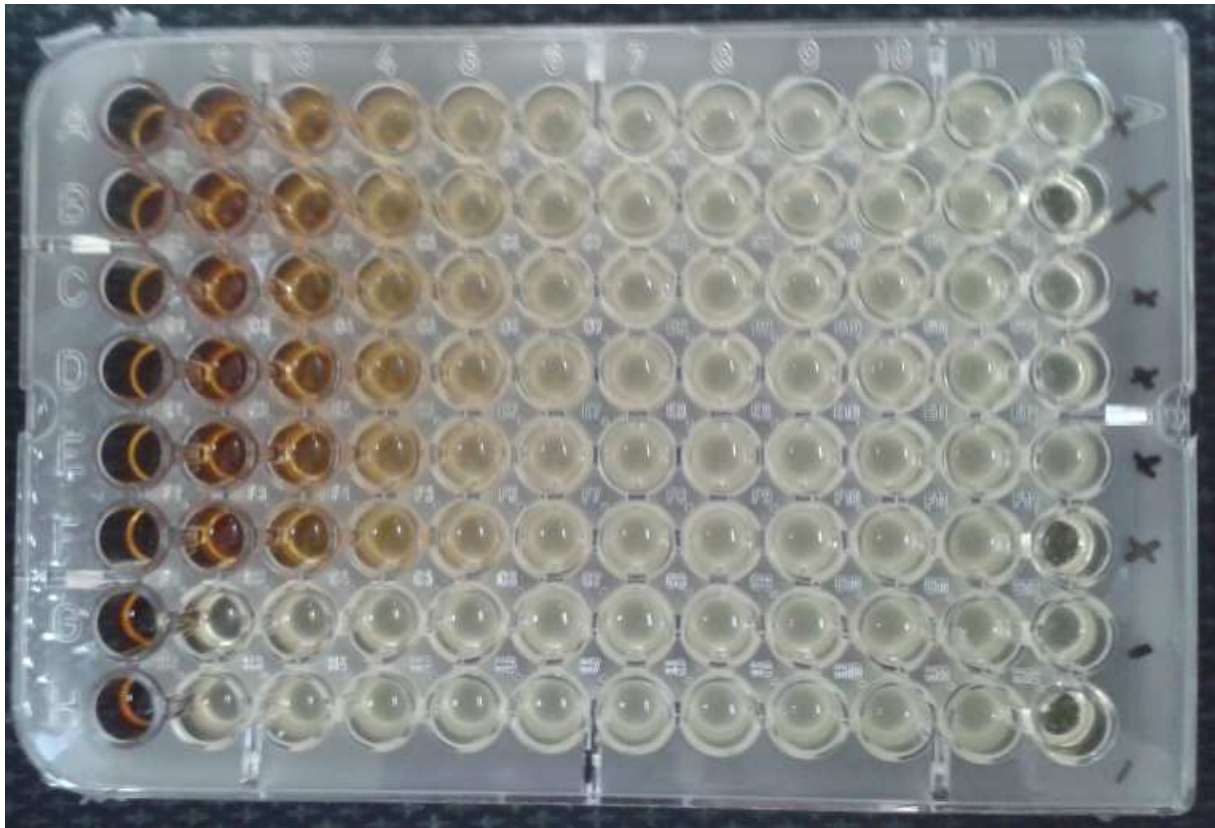


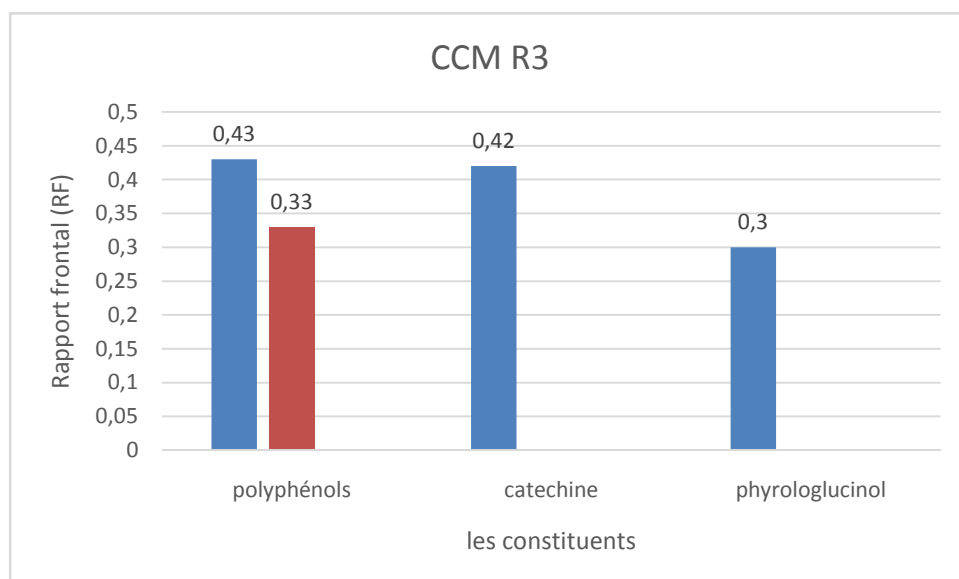
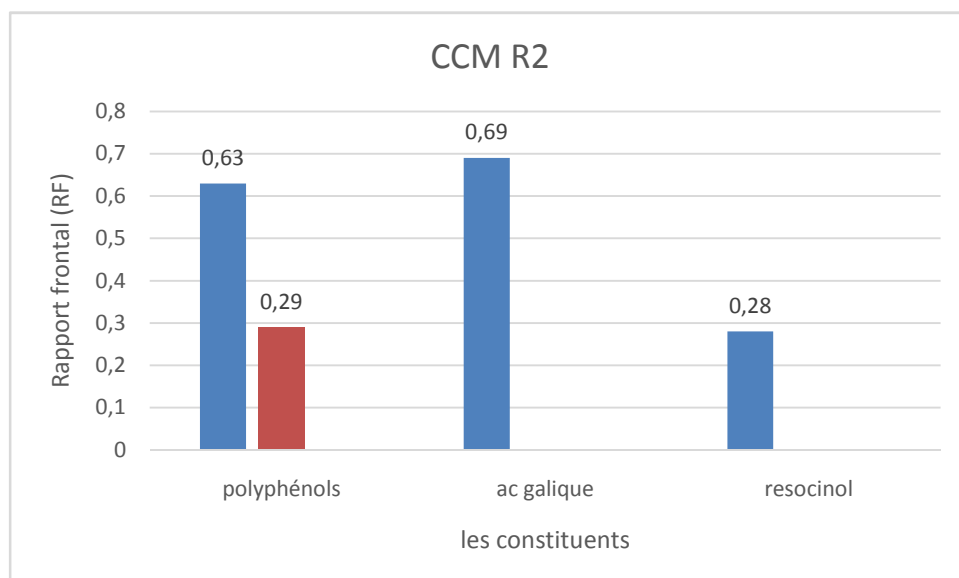
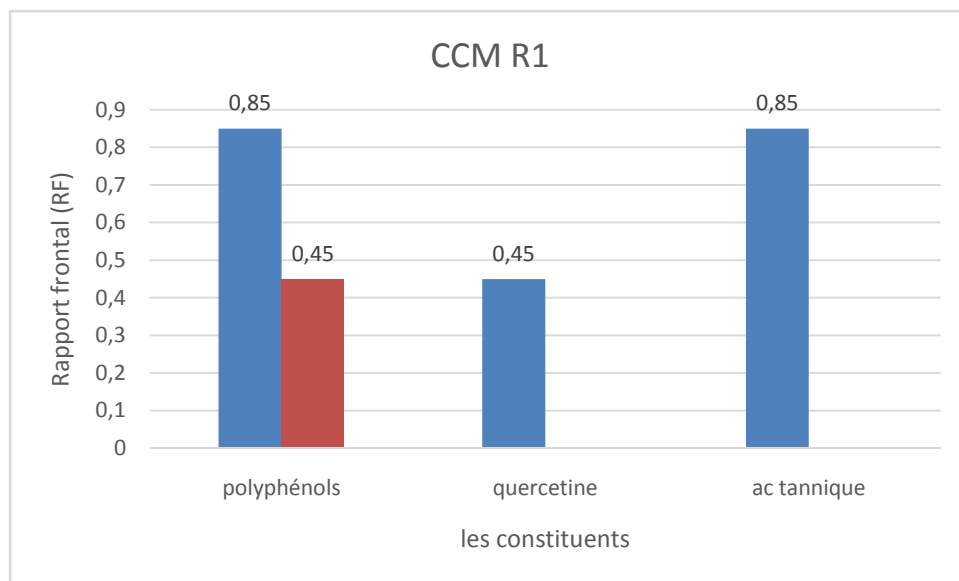
Figure 27: la concentration minimale inhibitrice de croissance d'*Escherichia Coli* ATCC 10536, *Salmonella* ATCC 13311 et *Listeria* 13932.

Résultats : E.C puit (5, 6), listeria puit (5, 6) et salmonelle puit (6, 7)

5. Dosage des polyphénols par chromatographie sur couche mince :

La chromatographie sur couches minces (CCM) est une méthode d'analyse couramment utilisée pour l'identification de composés organiques, et permet un contrôle précis et rapide de la pureté des produits analysés (AUTRAN, 1991). De plus, étant donné que la CCM indique le nombre de composants d'un mélange.

Pour la présente étude, il sera utilisé différents étalons qui peuvent renfermer les polyphénols



CONCLUSION GENERALE

Il est connu depuis les époques antiques que quelques plantes et épices ont une activité antimicrobienne. Il y a eu un intérêt considérable de les utiliser pour éliminer les microorganismes qui ont développé une certaine résistance aux antibiotiques.

Dans le présent travail, nous avons tenté de contribuer à la valorisation de la pulpe de caroube en Algérie en exploitant ses activités biologiques.

La pulpe de caroube est utilisée comme agent conservateur, exhausteur de goût, agent gélifiant, substituant de cacao, additif dans l'alimentation de bétail et comme traitement de diarrhées chez les nourrissons.

Le présent travail a porté sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne contre des souches pathogènes.

Les résultats de l'activité antimicrobienne ont révélé l'efficacité de tous les extraits contre les souches testées respectivement *E. Coli*, *Listeria*, *Salmonella*. Aussi, les résultats ont démontré des zones d'inhibition de 8 mm à 21 mm pour des extraits de 5% à 10% et de 18 mm à 21 mm pour des concentrations allant de 25% à 50% ; 8mm à 14mm pour les extraits de 5 à 10%, et de 15mm à 21mm pour des concentrations allant de 25 à 50% respectivement; le diamètre d'inhibition du *Salmonella* s'est varié entre 10mm à 13 pour des extraits de 5 à 10% et de 18 à 24 mm pour les concentrations 25 à 50%.

Les résultats de la concentration minimale inhibitrice ont révélé des CMI remarquables pour les souches *Escherichia Coli* ATCC 10536, *Listeria* ATCC 13932 et *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311 pour des extraits phénoliques allant de 3,12 et 1,56%.

Le dosage des polyphénols par chromatographie sur couche mince nous a permis de mettre en évidence six composés qui sont quercétine, acide tannique, acide gallique, résorcinol, catéchine et phloroglucénol.

Cette étude contribue à la connaissance de l'activité antimicrobienne de la pulpe de caroube *in vitro*, il serait également intéressant de réaliser d'autres études pour évaluer le potentiel antioxydant et antimicrobien *in vivo*. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier les constituants bioactives de la pulpe de caroube.

Il serait aussi intéressant de tester les différentes molécules isolées (extraits de polyphénols et flavonoïdes) *in vivo* sur différents modèles biologiques, afin de trouver une application thérapeutique des molécules actives isolées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Aafi A., (1996), Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), Centre Nationale de la Recherche Forestière, Rabat (Maroc), pp. 10.

Abdallah EM., (2011), Plants: An alternative source for antimicrobials. *J. Appl. Pharma. Sci.*, 1(6): 16 -20

AbiAzar R., (2007), Complexations des protéines lactières par les extraits de gousses vertes de caroubier. Propriétés technologiques des coagulums obtenus, Agroparistech Ecole Doctorale Abies, Thèse de doctorat

Abram S.A., Griffin I.J. et Hawthorne K.M. (2007), Effect of prebiotic supplementation and Ca intake on BMI, *J. pediatr.* 151, 293-298

AFSSA., (2003), Alimentation infantile et modification de la flore intestinale. Rapport du groupe de travail. <http://www.afssa.fr>.

Ait Chitt M., Belmir M. et Lazrak A., (2007), Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier. Transfert de technologie en Agriculture, N°153, IAV Rabat, pp.1-4.

Albanell E., Caja G. et Plaixats J., (1991), Characterization of Spanish carob pod and nutritive value of carob kibbles, *Options Méditerranéennes* N°16, pp. 135- 136

Anis BEN HSOUNA¹, Abdullah Sulaiman ALAYED, and Emad M. ABDALLAH², (2012), Evaluation of antimicrobial activities of crude methanolic extract of pods of *Ceratonia siliqua* L. against some pathogens and spoilage bacteria, *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(14), pp. 3480-3484, 16 April, 2012.

Arts M.J.T.J., Haenen G.R.M.M., Voss H.P. et Bast A., (2001), Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with proteins. *Food Chem.*

AUTRAN J. C., 1991, Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Ed. Tec et Doc, Paris: 115-137

Avallone R, Plessi M., Baraldi M. et Monzani A., (1997),Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua*): Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins, Journal of food composition and analysis, Vol.10, pp.166–172

Ayaz F.A, Torun H., Ayaz S., Correia P.J, Alaiz M., Sanz C., Gruz J., Strnad M., (2007), Determination Of Chemical Composition Of Anatolian Carob Pod (*Ceratonia Siliqua L.*): Sugars, Amino And Organic Acids, Minerals And Phenolic Compounds, Journal of food quality, vol. 30, No 6, pp. 1040-1055.

B

Bakkali F; Averbeck K. et Idaomar M., (2008), Biological effects of essential oils, Food and Chemical Toxicology, N° 46, PP. 446-475

Basma Monjd Abd Razik , Hiba Ali Hasan , Muna Khalil Murtadha., (2012), The Study of Antibacterial Activity of Plantago Major and *Ceratonia Siliqua* VOL.11, NO.1.

Battle I., al J., (1997), Carob tree *Ceratonia siliqua* L., Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17, Gatersleben: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Rome: International Plant Genetic Resources Institute, pp. 92.

Batista M. T., Amaral M. T. et Proença Da Cunha A., (1996), Carob fruits as source of natural antioxidant. In Proceeding of the III International Carob Symposium. Cabanas-Tavira, Portugal

Bastida S., F. J. Sánchez- Muniz, R. Olivero, L. Pérez-Olleros, B. Ruiz-Roso and F. Jiménez-Colmenero., (2009), Antioxidant activity of Carob fruit extracts in cooked pork meat systems during chilled and frozen storage, Food Chemistry Vol. 116, N° 3, pp. 748-754

Baytop T., (1984), Therapy with medicinal plant in Turkey (Past and Present), Publication of the Istanbul University, N°: 3255, Istanbul

Bengochea B, A. Rome ro, A. Villanueva, G. Moreno, M. Alaiz, F. Millán, A. Guerrero et M.C. Puppo., (2008), Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua* L) germ proteins Food Chemistry, Vol. 107, N°2, pp. 675-683

Ben Hsouna A., M. Trigui, S. Jaoua., (1986), Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of the ethyl acetate extract of endemic *Ceratonia siliqua* leaves Journal of agricultural and food chemistry, vol. 34, N° 5, pp. 827-829

Ben Hsouna A., 1, 2., Sulaiman ALAYED A 2. et ABDALLAH E.M2., (2012), Evaluation of antimicrobial activities of crude methanolic extract of pods of *Ceratonia siliqua* L. against some pathogens and spoilage bacteria. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 6(14) , pp. 3480-3484, 16 April , 2012

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

Biner B, Gubbuk H., Karhan M., Aksu M. et Pekmezci M., (2007),Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey, *Food Chemistry* N°100, pp.1453-1455

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

Bonnier G. (1990), la grande flore en couleurs (tome 3), pp.309-310

Bornet F., Brouns F., Tashiro Y. et Duvillier V., (2002), Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides : natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. *Digestive and LiverDisease* 34(suppl2):111-120.

Boudy P., (1950), *Economie forestière Nord-Africain*, Tome II : Monographie et traitement des essences forestières, Ed. Larose, Paris, pp.443-445.

Bouhnik Y., Flourie B. et D'Agay-Abensour L., (1997), Administration of transgalactooligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *J Nutr* 1997;127:444–8.

Bouzouita N., A. Khaldi, S. Zgoulli, L. Chebil, R. Chekki, M.M. Chaabouni etP. Thonart., (2007),The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia *FoodChemistry* Vol. 101, N°4, pp. 1508-1515

Bugaut, M. et Bentéjac M., (1993), Biological effects of short-chain fatty acids in nonruminant mammals. *Annual Review of Nutrition*, 13, 217e241.

Burt S., (2004), Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review *International Journal Food Microbiology*, N°94, pp. 223-253.

C

Calixto F.S. et J. Canellas., (1982), Components of nutritional interest in carob pods *Ceratonia siliqua*, Journal of the Science of Food Agriculture N°33, pp. 1319- 1323

Casewell M., Friis C., Marco E., McMullin P., Phillips I., (2003), The European ban on growth - promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health, J. Antimicrob. Chemother. , 52: 159 – 161

Champ M., (2003), Les fibres alimentaires : définitions et aspects analytiques. La lettre scientifique de l'Institut Français pour la nutrition 91:1-11.

Charalambous J. and Papaconstantinou J., (1966). Current result on the chemical composition of the carob bean. In the composition uses of carob bean (J. Charalambous, ed.). Cyprus Agricultural Research Institute Ministry of Agriculture and Natural Resources Nicosia, Cyprus

Clark, A.M.,(1996) Pharmacol. Res, 13 (1996) 1996.

Cowan, M.M., (1999) Clin. Microbiol. Rev. 12 (1999) 564-582

Chiang, L.C., Chiang, W., Chang, M.Y., Ng, L.T., Lin, C.C., (2002), Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds in vitro. Antivir. Res., 2002;55:53–62

Chopra I., (2007), The increasing use of silver - based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern?. J. Antimicrob .Chemother., 59(4): 587 – 590

Coit J. E., (1962), Carob culture in the semi-arid southwest. Vista, CA: J. Eliot Coit. 6p

Cowan MM., (1999), Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microb. Rev. Vol. 12. pp. 564-582.

Crittenden R.G., (1999), Prebiotics. Dans: Tannock G. (Ed); Probiotics: a critical review. Horizon Scientific Press, Wymondham.

Crittenden R.G., Laitila A., Forssell P., Matto J., Saarela M. et Mattila-sandholm T., (2001), Adhesion of bifidobacteria to granular starch and its implications in probiotic technologies. Appl Environ Microbiol., Vol. 67, pp. 3469-3475.

Cummings J. et MacFarlane G., (2002), Gastrointestinales effets de probiotiques. British Journal of Nutrition 87(suppl2):145-151.

D

De Candolle A., (1983), L'origine des plantes cultivées. Balilière, Paris, France

Desmond C., Corcoran B.M., Coakley M., Fitzgerald G.F., Ross R.P. et Stanton C., (2005), Development of dairy-based functional foods containing probiotics and prebiotics. Australian Journal of Dairy Technology, 60: 121–126.

Di Carlo. G., Mascoli. N, etIzzo. A. A., (1999), Rev. Life Sci., 65, 337-53

Doha Mohamed A., Hamed Ibrahim M., Al-OkbiSahar Y., (2008), Ceratoniasiliqua Pods as a Cheap Source of Functional Food Components, Deutsche Lebensmittel-Rundschau, Vol. 104, N ° 1, pp. 25-29

DuffusetJ.H. Duffus,The Royal Society of Chemistry, Cambridge, p.180.

E

El Allagui N., (2007), Action de différents extraits végétaux sur la mortalité des nématodes à galles du genre Meloidogynessp., Rev. Tela Botanica Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France BDNFF, Vol. 4. N°4

F

FleurietA., (1982),Thèse Doc. Etat, Montpellier.

Folch I., et Guillen R., (1981), La vegetaciodelaPaïsos Catalans, Ed. Ketres,Barcelona

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

Fouzia djenadi., (2011), contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne du genévrier (Juniperusphoenicea) : essai des huiles essentielles et composés phénoliques, Université A Mira de Béjaïa Algérie – Master en biologie option biochimie appliqué.

Frank A., (2002),Prébiotiques. In Aliments fonctionnels, Roberfroid M (coordonnateur) Editions Tec& Doc, Collection Sciences & Techniques Agroalimentaires, Lavoisier, Paris, 105-123.

G

García-Ochao F. et Casas J. A., (1992).Viscosity of locust bean (Ceratoniasiliqua) gum solutions.J. Sci. Food Agri. 59: 97- 100

Ghestem A., Seguin E., Paris M etOrecchioni. A-M. (2001), Le préparateur en pharmacie. Dossir 2. Editions TEC & DOC paris. 275P

Gibson G.R., Berry-ottaway P. etRastallr.A., (2000),Dans: Prebiotics: new developments in functional foods. Chandos Publishing Limited. Oxford.

Griffiths D.W., (1991), In Toxic substances in crop plants, ed. J.P.F. D'Mello, D.M.

Grizard D. etBarthomeuf C., (1999),Non-digestible oligosaccharides used as prebiotic agents: mode of production and beneficial effects on animal and human health. *Reproduction, Nutrition, Development* 39(5-6):563-588.

Grolier P., Borel P., Scalbert A. et Remesy C., (2001), Les phytomicronutriments. In: *Traite de nutrition clinique de l'adulte, Medecine-Sciences, Flammarion*, 165-177.

Groupe de travail CCLIN sud-owest 2000/2001, l'Usage des antiseptiques. P 7.

Guesry P.R., (2005),Impact of 'functional food'. *Forum Nutr* (57): 73-83.

H

Harborne J. B., (1980),Plant Phénolics; *Encyclopedia of Physiology, New series*, 8, 329-402

Hariri A, N.Ouis, Sahnouni F et D.Bouhadi., (2009), mise en œuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base des extraits de caroube, *rev. microbiol. ind. san et environn.* pp. 37-55.

Hayouni EA., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. (2007), The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biologicalactivities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperusphoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 10 :10-16
Hong Yao, Bin Wu, Yiyucheng, HaibinQu., (2009). High throughputchemiluninescenceplatform for evaluatingantioxydativeactivity of total flavonoid glycosides from plant extracts. *Food chemistry*.115:380-386

Heim K.E., Tagliaferro A.R.et Bobilya D.J., (2002), Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. nutr.Biochem.*, 13, 572-584.

I

Ito M., Deguchi Y. etMiyamori A., (1990), Effects of administration of galactooligosaccharides on the human fecal microflora, stool weight and abdominal sensation. *MicrobEcol Health Dis* 1990;3:285–92.

J

Joslyn M.A., Nishira H., Ito S., (1968),Leucoanthocyanins and related phenolic compounds of carob pods (*Ceratonia siliqua*), *J. Sci. Food Agric.*, N°19, pp.543-550

Jovanovic S.V., Steenken S., Simic M.G. et Hara Y., (1998), Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoids. In: Rice-Evans C., Packer L., Flavonoids in health and disease, New York, Marcel Dekker, 137-161.

K

Khanbaba K. et Ree T.R. (2001), Tannins: classification and définition. Journal of Royal Society of Chemistry, 18: 641-649.

Kirby, G.C., et al (1996), Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 90 (1996) 605-609.

Kim Y. S., Tsa O. D., Morita A., et Bella A., (1982), Effect of sodium butyrate and three human colorectal adenocarcinoma cell lines in culture. Falk Symposium, 31, 317e323.

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

Klenow S., Jahns F., Pool-Zobel B.L., Gleis M., (2009), Does an extract of carob (Ceratonia siliqua L.) have chemopreventive potential related to oxidative stress and drug metabolism in human colon cells, J. Agric Food Chem., vol.57, N°7, pp. 2999-3004.

Kolida S., Tuohy K. et Gibson G.R., (2000), The human gut flora in nutrition and approaches for its dietary modulation. Br Nut Bull., Vol 25, pp. 223 - 231.

Kumazawa S., M. Taniguchi, Y. Suzuki, M. Shimura, Mi-Sun Kwon, and T. Nakayama., (2002), Antioxidant Activity of Polyphenols in Carob Pods. J. Agric. Food Chem., Vol.50. N°2, pp. 373-377

L

Lambert R.J.W; Skandamis P.N; Coote P.J et Nychans G.J.E.,(2001), A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Appl. Microbiol, N° 91, PP 453-462.

Lanza A., D'urso G., Lanza E., Aleo C., (1983), Técnica Agrícola, 35, 115-127.

Landolfi. R, et Cool., (1984), Biochempharmacol, 33,1525-1530

Leroy A. (1929)., Elevage rationnel des animaux domestiques. Hachette ed, 448p

Lizardo R., Cañellas J., Mas F., Torrallardona D., et 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, N°34, pp.97-101

Loeb H., Vandenplas Y., Wursch P. et Guesry P., (1989). J. Pediatric Gastroenterol. Nutr., 8, 480-485.

M

- Macheix et coll., (2006)**, Les polyphenols en agroalimentaire, Lavoisier 1-28.
- Madec F., Bridoux N., Bounaix S., Jestin A., (1998)**, Preventive Vet. Med., 35, 53-72.
- Marakis S., Lambraki M. etDiamantoglou S., (1993)**,Tannin chemistry of nine Cretan carob varieties. ChimicaChronica, New Series, 22, 213-224.
- Marakis S., (1996)**, Carob bean in food and feed: Current status and future potentials- A critical appraisal. J. Food Sci.Technol., 33, 365-383.
- Makris D. P. et P. Kefalas., (2004)**, Carob Pod as a source of polyphenolic Antioxidants, Food Technol. Biotechnol. vol. 42, N° 2, pp. 105–108
- MAPA., (1994)**, Ministerio de Agriculture, Pesca Y Alimentación. Anuario deEstadisticaAgraria. Ed. Secretaría General Técnica, Madrid, Spain
- Marteau P., DeVrese M., Cellier C. etSchrezenmeir J., (2001)**, Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. American Journal of Clinical Nutrition 73(2Suppl):430S-436S.
- Mathur S., Singh R., (2005)**, Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria, a review. Inter. J. Food Micro., 105 (3): 281 - 295.
- Mitrakos K., (1981)**,Temperature germination responses in three Mediterranean evergreen sclerophylls, in Components of Productivity of Mediterranean-climateRegions-Basic and Applied Aspects (N.S. Margaris and H. A. Mooney, eds.). Dr. W.Junk Publishers, The Hague/Boston/London, pp. 277-279.
- Munjal, U., Glei, M., Pool-Zobel, B. L., et Scharlau D. (2009)**, Fermentation products of inulin-type fructans reduce proliferation and induce apoptosis in human colon tumour cells of different stages of carcinogenesis. British Journal of Nutrition, 27, 1e9.
- Murphy Cowan M., (1999)**, Plant products as Antimicrobial Agents.
- Mussato SI. etMancilla IM., (2007)**, Non-digestible oligosaccharides: A review. Carbohydrate Polimers. 2007; 68:587-597.

N

- NAS., (1979)**,Tropical legumes: resources for the future, pp. 109- 116. National Academy of Sciences, Washington DC. USA.
- Neukom H., (1988)**,Carob bean gum: properties and application. Pp. 551- 555 in Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain.
- Newman, D.J., Cragg, G.M etSnader, K.M., (200)**, Natural Prod. Rep. 17 (2000) 175-285.

Ngomn.m., (2009), Essai clinique randomisé de Acacia niloticaversusfluconazole dans le traitement de la candidose bucco oesophagienne chez les personnes vivants avec le VIH/SIDA à Dakar. Thes., Pharm, n° 19.

Noblet J., Fortune H., Dubois S. et Henry Y., (1989), Nouvelles méthodes d'estimation de teneur en énergie digestible, métabolisable et nette des aliments pour le porc. INRA ed., Paris. 106p

O

Olano-martin E., Gibson G.R. etRastall R.A., (2002), Comparison of the in vitro bifidogenicpropertiesofpectins and pectic-oligosaccharides. J ApplMicrobiol., Vol. 93, pp. 505-511.

Orphanos P. I. and Papaconstantinou J., (1969),The carob varieties of Cyprus,Tech. Bull. 5. Cyprus Agricultural Research Institute, Ministry of Agriculture andNatural Resource, Nicosia

Ortega N., A. Macià, M.P. Romero, J. Reguant and M.J. Motilva., (2011), Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an in-vitro digestion model, Food Chemistry Vol. 124, N°1, pp. 65-71

Ortiz P. L., Arista M. et Talavera S., (1996),Produccion de nectaryfrecuencia depolinizadores en Ceratoniasiliqua L. (Caesalpinaceae). Anales del Jardin Botanico de Madrid N°54, pp.540-546.

Owen R. W., R. Haubner, W. E. Hull, G. Erben, B. Spiegelhalder, H. Bartsch and B. Haber., (2003), Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre, Food and Chemical Toxicology Vol. 41, N°12, pp. 1727-1738

P

Papagiannopoulos M, Wollseifen HR, Mellenthin A, Haber B, Galensa R., (2004), Identification and quantification of polyphenols in carob fruits (Ceratoniasiliqua L.) and derived products by HPLC -UV- ESI/MSn, J Agric Food Chem., Vol.52, N°12, pp.3784-91

Passos de Carvalho J., (1988),Carob pollination aspects, in Proceedings of the IIIInternational Carob Symposium (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain, pp. 281-291

Pauli.A., (2001),Antimicrobialproperties of essential oil constituents. International Journal of Aramatherapy, 11, 126-133

Peronny S., (2005), La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du muséum national d'histoire naturelle. Discipline Eco Ethologie. 151p

Perret C., (2001), Analysis de tannins inhibiteurs de stilbéne oxydase produite par *Brytiscinereapers.*, FR. these de Doctorat. Université de Neuchatel. 173P

Peuranen, S., Tiihonen, K., Apajalahti, J., Kettunen, A., Saarinen, M., & Rautonen, N., (2004), Combination of microbial ecosystem and immune responses in rat gastrointestinal tract. *British Journal of Nutrition*, 91, 905 e 914.

PIVA G., SANTI E., AMERIO M., (1978), *Riv. Suinicoltura*, 19, 43-46.

Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B., (2010), Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, e-*Revue de génie industriel*, N° 4, pp1313-8871

Priolo A., Waghorn G. C., Lanza M., Biondi L. et Pennisi P., (2000), Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: Effects on lamb growth performance and meat quality. *J. Anim. Sci.* N°78, pp.810- 816.

Puhan Z. et Wielinga M. W., (1996), Products derived from carob pods with particular emphasis on carob bean gum (CBG). Report Technical Committee of INEC (unpublished).

Q

Que zel P. et S. Santa (1963), Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (tome1), Editions du centre national de la recherche scientifique, pp.557.

R

Rabiu BA., Jay AJ., Gibson GR., Rastall RA., (2001), Synthesis and fermentation properties of novel galacto-oligosaccharides by beta-galactosidases from *Bifidobacterium* species. *Appl Environ Microbiol*;67:2526–30.

Rastall R.A., V. Maitin., (2002), Prebiotics and synbiotics: Towards the next generation, *Curr. Opin. Biotechnol.* 13 490–496.

Rebour H., (1968), fruits Méditerranéen, la maison rustique Paris, 330pp.

Rejeb M. N., (1995), Le caroubier en Tunisie: Situations et perspectives d'amélioration, in *Quel avenir pour l'amélioration des plantes ?* Edit. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris, pp. 79-85.

Retana J., Ramoneda J. et Garcia del Pino F., (1990), Importancia de los insectos en la polinización del algarrobo. *Bol. San. Veg. Plagas*, N°16, pp.143-150.

Retana J., Ramoneda J., Garcíadel Pino F., Bosch J., (1994), Flowering phenology of carob, *Ceratonia siliqua* L. (Caesalpinaceae), *J. Hort. Sci.*, Vol.69.N°1, pp.97-103.

Roberfroid, M. B., Van Loo, J. A., and Gibson, G. R. (1998), The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 128, 11-19.

Roberfroid M., (2001), Prebiotics: preferential substrates for specific germs, *American Journal of Clinical Nutrition* 73(suppl):406S-409S.

Roberfroid M.,(2001), Prebiotic: the concept revisited. *J Nutr* 2007;137(suppl): 830S–7S.

Rycroft CE., Jones MR., Gibson GR., Rastall RA, A comparative in vitro evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. *J Appl Microbiol*; 91:878–87.

S

Salminen S., et Salminen E., (1997), Lactulose, lactic acid bacteria, intestinal microecology and mucosal protection. *Scan J Gastroenterol.*, Vol 32, pp. S 45 – S 48.

Sánchez S., Lozano L.J., Godínez C., Juan D., Pérez A. et Hernández F.J.,(2010), Carob pod as a feedstock for the production of bioethanol in Mediterranean areas *Applied Energy* Vol. 87, N°11, pp. 3417-3424

Santi E., Cerioli C., Speroni M., Morlacchini M., Dellaglio F., (1987), Riv. Suinicoltura, 28, 97-101
Saura-Calixto F. J., (1987). Determinación de la composición química de algarroba (*Ceratonia siliqua*), Azúcares, taninos, pectinas y aminoácidos. *Anales de Bromatología.*, XXXIX: 81- 93

SAURA-CALIXTO, F., (1988), *J. Food Sci.*, 53, 1769-1771

Saura-Calixto F., (1988), Effect of condensed tannins in the analysis of dietary fiber in carob pods. *J. Food Sci.*, 53, 1769-1771.

Sbay H. et M. Abourouh., (2006), Apport des espèces à usages multiples pour le développement durable : cas du pin pignon et du caroubier, Centre de Recherche Forestière Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification, Rabat, pp.1-9

Scalbert A. et Williamson G., (2000), Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.*, 130, 2073-2085.

Scheppach, W., & Weiler, F., (2004), The butyrate story: old wine in new bottles? Butyrate appears to be essential for a wide range of intestinal mucosal health benefits; however, the mechanisms behind this remain to be determined. *Current Opinion in Clinical Nutrition Metabolic Care*, 7, 563e567.

Schroeder C.A., (1959), the floral situation of the Carob in California, *Proc. Am.*

Scholz-ahrens K. et Schrezenmeir J., (2000), Inulin, oligofructose and mineral metabolism - experimental data and mechanism. *Brit. J. Nutr.*, Vol. 87, pp. S 186 – S 219.

Scholz-Ahrens, K. E., & Schrezenmeir, J., (2007), Inulin and oligofructose and mineral metabolism: the evidence from animal trials. *Journal of Nutrition*, 137(11 Suppl.), 2513S-2523S.

Schweinfurth G., (1894), Sammlungen arabisch-äthiopischer Pflanzen, Ergebnisse von Reisen in dem Jahre 1881, 1888-89, 1891-92. *Bull. Herb. Boissier* 2:1-114.

Schwab C., Vogel R., Ganzle M.G., (2007), Influence of oligosaccharides on the viability and membrane properties of *Lactobacillus reuteri* TMW1.106 during freeze-drying. *Cryobiology* 55: 108–114.

Serairi-Beji R., Mekki-Zouiten L., Tekaya-Manoubi L., Loueslati M.H., Guemira F. et Ben Mansour A., (2000), peut-on associer la pulpe de caroube et la solution de réhydratation orale dans le traitement de la diarrhée aiguë, *Med. Trop.* N°60, pp.125-128

T

Tamir M., Nachtomi E. et Alumot E., (1971), Degradation of tannins from carob pods by thioglycolic acid. *Phytochem.*, 10, 2769-2774.

Tanaka R., Takayama H., Morotomi M., Kuroshima T., Ueyama S. et Matsumoto K., (1983), Effects of administration of TOS and *Bifidobacterium breve* 4006 on the human faecal flora. *Bifidoflora*, Vol. 2, pp. 17-24.

Tang, Z. R., Yin, Y. L., Nyachoti, C. M., Huang, R. L., Li, T. J., Yang, C. B., et al., (2005), Effect of dietary supplementation of chitosan and galacto-mannan oligosaccharide on serum parameters and the insulin-like growth factor-I mRNA expression in early-weaned piglets. *Domestic Animal Endocrinology*, 28, 430-441.

Terada A., Hara h., Kataoka M. et Mitsuoka T., (1992), Effect of lactulose on the composition and metabolic activity of the human faecal microbiota. *MicrobEcolHealth Dis.*, Vol. 5, pp. 43 - 50.

Tolentino P., (1950), Mécanismes et limites de l'action thérapeutique de la farine de caroube dans les diarrhées infantiles: étude clinique et expérimentale, *Ann. Paed.* N°175, pp. 200-222

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

Tucker S. C., (1992), The developmental basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* (Leguminosae: Caesalpinoideae: Cassieae), *Am. J. Bot.* Vol.79, N°3, pp. 367-377

Tuohy K.M., Probert H.M., Smejkel C.W. et Gibson G.R., (2003), Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug Disc Today*, Vol. 8, pp.692– 700.

V

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

Vardar Y., Seçurenand Ö. et Ahmed M., (1972), Preliminary results on the chemical composition of the Turkish carob beans, *Qual. Plant Mater*, vol. XXI N°4, pp. 318- 327.

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

Vaya J , Mahmood S., (2006), Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua* L.) and pistachio (*Pistacia lentiscus* L.), *Biofactors*, Vol.28, N°3-4, pp.169-75.

Videla, S., Vilaseca, J., Antolin, M., Garcia-Lafuente, A., Guarner, F., Crespo, E. et al., (2001), Dietary inulin improves distal colitis induced by dextran sodium sulfate in the rat. *American Journal of Gastroenterology*, 96, 1486e1493.

W

Wang, J., Zhang., (2009), L. Structure and chain conformation of five water-soluble derivatives of a β -D-glucan isolated from *Ganoderma lucidum*. *Carbohydr. Res.*, 344, 105–112.

Wang, X., Brown I.L., Khaled D., Mahoney M.C., Evans A.J. et Conway P.L., (2002), Manipulation of colonic bacteria and volatile fatty acid production by dietary high amylose maize (amylomaize) starch granules. *J. of Appl Microbiol.*, Vol. 93, pp. 390-397.

Wang, Y., (2009), Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Res. Int.*, 42, 8–12.

Wursch P., Vedovo S., Rosset J. et Smiley M., (1984), The tannins granules from ripe carob pod. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, 17, 351-354.

WürschP., (1987), In : «Proceedings of the II Int. Carob Symposium», P. Fito, A. Mulet (Eds), 29 sep-1 oct., Valencia, Consejo Interdepartamental de Agricultura i Pesca, 621-628.

Y

Yousif AK., Alghzawi HM., (2000), Processing and characterization of carob powder. *Food Chem.*, 69 283 - 287.

Yu Z., Dahlgren R.A., (2005), Evaluation of methods for measuring polyphenols in copper foliage, *J.Chem.Ecol.* N°26, pp.2119 – 2140

Yusuf Y., Trends Food Sci. tech, 17, 64-71.

Z

Zohary M., (1973), Geobotanical Foundations of the Middle East, vol. 2, Stuttgart.

Zohary M., etOrshan P., (1959), The maquis of Ceratonia siliqua in Israel, Palest.J. Bot. Jerusalem, N°8, pp. 385-397.

Résumé

La pulpe de caroube « *Ceratonia. Siliqua* » est utilisée dans différents secteurs notamment en industrie agroalimentaire, cosmétiques et pharmaceutique.

Notre travail a pour objectif de déterminer l'activité antimicrobienne ainsi que le dosage des polyphénols de la farine de la pulpe de caroube par chromatographie sur couche mince.

Les résultats ont révélé une activité antimicrobienne importante avec une zone d'inhibition allant de 8 à 21 mm pour *Escherichia Coli*, *Listeria* respectivement ; et de 1 à 24 mm pour *Salmonella*.

Les résultats de la concentration minimale inhibitrice ont révélé des CMI remarquables pour les souches *Escherichia Coli*, *Listeria* et *Salmonella Typhimurium* pour des extraits phénoliques allant de 3,12 et 1,56%.

Le dosage des métabolites secondaires par chromatographie sur couche mince nous a permis de mettre en évidence six composés qui sont quercétine, acide tannique, acide gallique, résorcinol, catéchine et phloroglucénol.

Cette étude contribue à la connaissance de l'activité antimicrobienne de la pulpe de caroube *in vitro* et pourrait trouver une voie forte intéressante dans le traitement des gastroentérites au sein de nos élevages.

Mots clés : substances actives, Polyphénols, prébiotique, pouvoir antimicrobien, caroube.

Abstract

The carobpulp "*Ceratonia. Siliqua*" is used in various sectors including food processing, cosmetics and pharmaceuticals.

Our work aimed to determine the antimicrobial and dosing flour polyphenols of carobpulp by TLC activity.

The results revealed a important antimicrobial activity with a zone of inhibition ranging from 8 to 21 mm for *Escherichia coli*, *Listeria* respectively; and 1 to 24 mm for *Salmonella*.

The results of the minimum inhibitory concentration showed remarkable MIC for *Escherichia coli*, *Listeria* and *Salmonella Typhimurium* for phenolic extracts from 3.12 and 1.56%.

The dosage of secondary metabolites by TLC allowed us to identify six compounds that are quercetin, tannic acid, gallic acid, resorcinol, catechin and phloroglucénol.

This study contributes to the understanding of the antimicrobial activity of the carobpulp *in vitro* and could find an interesting strong voice in the treatment of gastroenteritis in our farms.

Key words: Bioactive substance, polyphenol, prebiotic, antimicrobial power, carob.

ملخص

لب الخروب "سيراتونيا سيليكا" يستخدم في مختلف الصناعات بما في ذلك الصناعات الغذائية، و مستحضرات التجميل والصناعات الصيدلانية.

هدف بحثنا هو تحديد نشاط مضاد البكتيريا وكذلك نشاط مادة البوليفينول بواسطة طبقة رقيقة اللون المحتواة في دقيق لب الخروب.

أظهرت نتائج بحثنا عن وجود نشاط هام مضاد للبكتيريا مع منطقة تثبيط تتراوح من 8 إلى 21 مليمتر، و 1 إلى 24 مليمتر لـ *Escherichia coli*، *Listeria* على التوالي؛ و 3,12% إلى 1,56%.

وأظهرت نتائج الحد الأدنى لنسبها التركيز المثبطة نسبته تتراوح من 3,12% إلى 1,56%.

سمحت جرعة من كباتا الثانوية التي اخترت بتطبيق طبقة رقيقة اللون لتعرف فعلة مستمر كباتا هيكر بيتين حمض التانين والكاليكاتشين سور سينول فلور و غليسول

تساهم هذا الدراسة في فهم المواد المضادة للميكروبات لب الخروب المختبر، ويمكن أن تجد صوتا قويا في علاج التهاب المعدة

والأمعاء في مجال تربية الحيوانات.

الكلمات المفتاحية : المواد الفعالة، البوليفينول، البريبايوتكس، مضادات الميكروبات، الخروب.