

République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en

Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Nutrition et Diététique Humaine

THEME :

**Etude antibactérienne des extraits phénoliques de la farine de la pulpe de
Caroube « Ceratonia siliqua »**

Réalisé par :

Benaïssa Rihab

Boukhari Leïla

SOUTENU : le 19/09/2018

Devant le jury composé de :

Mme BOUJEMAA.N	MCB	USDB1	Présidente
Mme KADRI.F	MCB	USDB1	Examinatrice
Mme BENMANSOUR.N	MCB	USDB1	Promotrice

Année Universitaire 2017-2018

Remerciement

Avant tout, nous remercions le bon dieu le tout puissant de nous avoir données le courage et la patience durant l'élaboration de ce travail.

Nous mettons difficile d'exprimer en quelques mots tout ce que nous devons à ma promotrice madame BENMANSOUR nabahet, pour le climat fraternel qu'elle a sue créer dans nos relations de travail. Nous tenons à présenter nos vifs et sincères remerciements de nous avoir accueillies, dirigés et conseillés durant la réalisation de ce projet. Nous n'oublierions pas de remercier également les membres du jury Mme la Présidente BOUJEMAA.N, Mme l'Examinatrice KADRI.F qui ont été toujours disponible et a l'écoute de tous les étudiants.

Nous tenons à remercier l'ensemble des enseignants de la faculté de biologie de l'université de SAAD DAHLEB et l'ensemble du personnel administratif de l'hôpital de MEDEA, laboratoire d'hygiène de BLIDA pour l'accueil et l'ambiance amicale qu'ils nous avons réservés.

Dédicace

Je remercie Dieu de m'avoir donné le courage, la patience et la volonté pour finaliser ce travail. Je dédie le fruit de ce dernier comme un geste de reconnaissance aux personnes les plus chères à mon cœur :

A mes parents, mes sœurs plus précisément Soumia

A mon mari qui m'a beaucoup aidé

A mes amies Zola, Hanane et Meryem

A tous mes enseignants du primaire à l'université.

LEILA

Dédicace

Je dédie ce travail à mes parentes, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études.

A Mon Fiancé Mahdi

A ma sœur : Imane

A mon frère : Imade

A mes oncles : Yassine , Hamide , Ali

A mes tantes, mes cousins ET mes cousines : Zahra , Manare, Mouna, f. Zahra , Meryem et Houria

A mes amies : Zola , Hanane , Lila et Meryem

A tous mes collègues et les amies

Que Je n'ai pas mentionné.

RIHAB

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 antibactérienne des extraits aqueux, extrait phénolique et des huiles essentiels de la farine de la pulpe de caroube.

Les résultats d'extraction par Clevenger ont montré l'absence totale des huiles essentielles dans les caroubes murs.

L'étude du pouvoir antibactérien vis-à-vis des extraits aqueux des gousses de caroube murs a montré que nos extraits n'ont aucunes activités inhibitrices vis-à-vis des 3 souches de références : Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 29213 et Listeria monocytogènes ATCC 13922.

En revanche les résultats ont révélé une activité antibactérienne importante des extraits phénolique avec une zone d'inhibition allant de 5 à 22 mm pour Escherichia Coli, de Staphylococcus aureus 10 à 18 mm et pour Listeria monocytogènes de 8 à 22 mm et les résultats de la concentration minimale inhibitrice des extraits phénoliques ont révélé des CMI remarquables pour les souches Escherichia Coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 29213 et Listeria monocytogènes ATCC 13922 allant respectivement de 1,59 1,55 et 3,12% .

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 : Caroube, Polyphénols, pouvoir antibactérien, souche, Clevenger .

Abstract

The carob pulp "*Ceratonia. Siliqua*" is used in various sectors, particularly in the food industry, cosmetics and pharmaceuticals.

Our work aims to determine the antibacterial activity of aqueous extracts, phenolic extract and essential oils of carob pulp flour.

The extraction results by Clevenger showed the total absence of essential oils in the carob walls.

The study of the antibacterial power with respect to the aqueous extracts of the carob pods walls showed that our extracts have no inhibitory activities with respect to the 3 reference strains: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Listeria monocytogenes* ATCC 13922.

On the other hand, the results revealed a significant antibacterial activity of the phenolic extracts with an inhibition zone ranging from 5 to 22 mm for *Escherichia Coli*, from *Staphylococcus aureus* 10 to 18 mm and for *Listeria monocytogenes* from 8 to 22 mm and the results of the Minimum inhibitory concentration of phenolic extracts revealed remarkable MICs for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* strains ranging from 1.59 to 1.55 and 3.12%.

This study contributes to the knowledge of the antimicrobial activity of carob pulp *in vitro* and could find an interesting strong pathway in the treatment of gastroenteritis in our farms.

Key words: Carob, polyphenols, antibacterial power

ملخص

لب الخروب يستخدم في مختلف القطاعات لاسيما في الصناعات الغذائية و مستحضرات التجميل و المستحضرات الصيدلانية

و يهدف عملنا الى تجديد النشا البكتيري و تحديد البوليفينول من طحين لب الخروب

و اظهرت النتائج ان النشاط البكتيري كبير تمثل في منطقة تثبيط تتراوح ما بين ٥ الى ٢٢ مم لايشيريشيا كولي و ١٠ الى ١٨ مم لستافيلوكوك و ٨ الى ٢٢ مم بالنسبة لايستيريا مونوسيتوجان

كشفت نتائج تركيز الحد الادنى مثبت لافتا للنظر لدينا من ٣٠ ١٢ و ٥٨ ١٠

تساهم هذه الدراسة على معرفة نشاط مضادات الميكروبات في لب الخروب المختبر يمكن العثور على اهتمام حافل في علاج التهاب المعدة والامعاء في مزارعنا

الكلمات المفتاحية البوليفينول الفعالية المضادة للميكروبات الخروب

Abstract

The carob pulp "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 carob pulp by TLC activity.

The results revealed a important antimicrobial activity with a zone of inhibition ranging from 5 mm to 22 mm for Escherichia coli, 10 mm for 18 mm for Staphylococcus aureus , and 8 mm to 22 mm for Listeria .

The results of the minimum inhibitory concentration showed remarkable MIC for Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Listeria for phenolic extracts from 3.12 and 1.59%.

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 carob pulp 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

LISTE DES ABREVEATIONS :

BHI Agar : BD Brain Heart Infusion (gélose pour infusion cœur-cervele)

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DI : diamètres d'inhibition

DSA : Directions des Services Agricoles

E.coli : Escherichia coli

EM : Energie métabolique

h : Heure

LDL : Low Density Lipoproteins

MHS : Milieu Hecktoen sélectif

MJ : mégajoule

mn : Minute

Qx : quintaux

Qx/ha : quintaux par hectare

s : Seconde

S.aureus: Staphylococcus aureus

T° : température

UFC : Colony Forming Unit (Unité Formant Colonie)

µl: micron litre

µm: micron mètre

% : pourcentage

°C : degré Celsius

Introduction

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**).

Le but de cette étude est de déterminer l'activité antibactérienne des extraits aqueux, de l'huile essentielle et des composés phénoliques de la pulpe de la farine de caroube vis-à-vis aux trois souches bactériennes de références :

Escherichia Coli ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Listeria monocytogenes* ATCC 13922.

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
 - Pour la partie expérimental comporte :
 - Activité antibactérienne des extraits aqueux de la farine de la pulpe de caroube.
 - Extraction des huiles essentielles.
 - Evaluation cinétique de la croissance bactérienne.
 - Extractions sélectives des phénols totaux.
 - Activité antibactérienne des composés phénoliques de la caroube.
 - La troisième partie :

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

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 al, 2001)**.

I. Présentation de la plante étudiée :

I.1. Taxonomie :

Scientifiquement, le caroubier est appelé *Ceratonia siliqua*. Ce nom dérive du grec *keras* et du latin *siliqua*, faisant allusion à la forme de son fruit qui ressemble à la ‘corne’ de bouc (**Bolonos, 1955**). Par ailleurs, le nom dialectal *kharouv*, originaire d’hébreu, a donné lieu à plusieurs dérivés tels *Kharroub* en arabe, *algarrobo* en espagnol, *carroubo* en italien, *caroubier* en français, etc... En outre, les graines de caroube, vu leur uniformité, 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**).

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**).

Tableau 01 : Classification de caroubier (**Quezel et Santa., 1962**).

Règne	Plantae
Embranchement	Tracheobionta
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Sous famille	Caesalpinioideae
Genre	<i>Ceratonia</i>
Espèce	<i>Ceratonia siliqua</i> L

I.2. Biologie et reproduction :

Le caroubier est une espèce dioïque, parfois hermaphrodite et rarement monoïque (**Linskens and Scholten, 1980; Batlle et Tous, 1988**) ; c’est l’unique arbre méditerranéen dont la saison de floraison est en été - automne. Cependant, le temps et la durée de la période de floraison dépendent des conditions climatiques locales (**Batlle et Tous, 1997**).

Hillcoat et al (1980) ont mentionné que *Ceratonia oreothauma* fleurit en mars et avril dans son lieu d’origine.

La pollinisation chez le caroubier est assurée en grande partie par les insectes (**Retana et al. 1990; Rejeb et al. 1991; Ortiz et al. 1996**).

En effet, **Retana et al (1990)** ont pu observer que l'intervention du vent dans la pollinisation était pratiquement nulle. Néanmoins, l'action du vent dans le transport du pollen depuis les fleurs mâles jusqu'aux fleurs femelles n'est pas exclue (**Thomson, 1971; Tous, 1984; Batlle et Tous, 1997**)

Les fleurs sécrètent des substances nectarifères dont la quantité et la contenance en sucre sont élevées dans la fleur femelle par rapport à son homologue mâle (**Ortiz et al. 1996**).

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

I.3. Origine et répartition géographique :

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 (Yémen).

Selon **Hillcoat et al. (1980)** le caroubier s'étend dans la nature, en Turquie, Chypre, Syrie, Liban, Palestine, le Sud de la Jordanie, Egypte, Arabie, Tunisie, Lybie et Algérie (**Tableau 02**) avant d'atteindre la méditerranée occidentale.

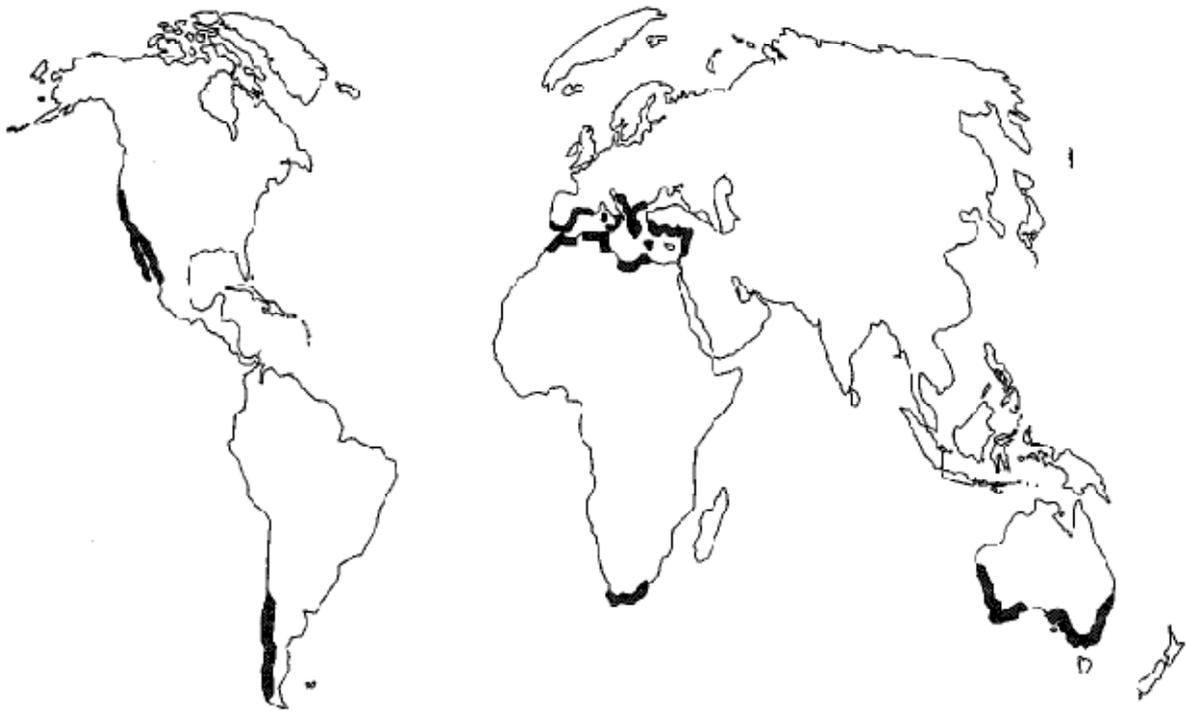


Figure 01 : Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde (**Battle et al, 1997**)

Melgarejo et Salazar (2003) considèrent sans aucun doute que la Méditerranée est le centre de diversité du caroubier et que même si cette zone n'est pas le centre d'origine, le plus important aux yeux d'un améliorateur reste bel et bien que c'est dans le bassin méditerranéen qu'existe une plus grande diversité de l'espèce et pour autant c'est l'aire dans laquelle il est fort possible de trouver de nouveaux matériels génétiques avec une plus grande probabilité de réussite (**Tableau 02**).

Tableau 02 : Superficies occupées par le caroubier et production mondiale (**Batlle et al, 1997**).

pays	Superficie (ha)	Production de gousses		Production de graines	
		t	%	t	%
Espagne	82000	135000	43.5	12000	37.5
Italie	30000	45000	14.5	4000	12.5
Portugal	21000	30000	9.7	3600	11.3
Maroc	25000	26000	8.5	4800	15
Grèce	15000	20000	6.5	1800	5.6
Chypre	12000	17000	5.5	1700	5.3
Turquie	≈10000	15000	4.8	1800	5.6
Algérie	≈5000	7000	2.3	800	2.5
Autres	≈10000	15000	4.8	1500	4.7
Total	210000	310000	100	32000	100

I.4. Composition chimique :

La pulpe et les graines sont les deux principaux constituants de la gousse du caroubier et représentent respectivement 90% et 10% de son poids total. Selon plusieurs auteurs, la composition chimique de la pulpe dépend en général, du cultivar, de l'origine et parfois de la période de récolte (**Orphanos et Papaconstantinou, 1969; Vardar et al., 1972; Calixto et Cañellas, 1982; Albanell et al., 1991**).

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

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

Tableau 03 : Surface cultivée, production et rendement de la caroube en Algérie, année 2009, *Tableau établi par l'auteur à partir des données fournies par (la DSA de Tlemcen,2009)*

Wilaya*	Surface cultivée (ha)	Production (Qx)	Rendement (Qx/ha)
Bejaia	645	18417	28,6
Tipaza	105	5600	53,3
Blida	100	8050	80,5
Boumerdes	32	1080	40
Bouira	22	144	6,9
Mila	10	80	8,0
Tlemcen	5	100	20
B.B. Arreridj	4	20	5,0
Aïn-Defla	2	300	150
Mascara	1	30	30,0
Tizi-Ouzou	1	20	20,0
Total	927	33841	36,5

Il a été disséminé par les grecs en Grèce et en Italie, par les arabes le long de la cote Nord de l'Afrique et au Sud et à l'Est de l'Espagne, ce qui par la suite a permis sa distribution dans le Sud du Portugal et dans le Sud-est de la France. Il fut aussi introduit avec succès par les espagnols et les anglais dans autres pays à climat entre autres méditerranéen notamment, au États-Unis (Arizona, Sud de la Californie), au Mexique, en Australie et en Afrique du Sud (Estrada et al, 2006).

I.5. propriétés et utilisation du caroubier :

I.5.1. 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 04**), 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 et 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 rapporté par (**Charalambous et paconstantinou. 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 Wielinga. 1996**). Par ailleurs, l'analyse minéralogique faite, par (**Puhanet wielinga. 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 04: Composition moyenne de la pulpe de caroube (**Puhan et Wielinga., 1996 , Batlle 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
Lipide	0.2-0.6

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**).

La valeur nutritionnelle de la gousse du caroubier est considérée similaire à celle de la plupart de 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/kg de produit frais.

I.5.2. Utilisations 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.

I.5.2.1. Arbre :

Le caroubier est largement utilisé comme arbre d'ornement et d'ombrage tout au long des allées de la Californie, de l'Australie et d'ailleurs. Sur la base de sa faible exigence et sa grande tolérance pour les sols pauvres, le caroubier est de plus en plus recommandé pour le reboisement des zones côtières dégradées sous l'effet de l'érosion ou de la désertification (**Battle et Tous, 1997**).

De nos jours, le caroubier est considéré comme l'un des arbres fruitiers et forestiers les plus intéressants, puisque toutes ses parties (feuilles, fleurs, fruits, bois, écorce et racines) sont exploitées et ont des valeurs dans plusieurs domaines (**Aafi, 1996, Mhirit et Et-Tobi, 2002**).

Le bois du caroubier appelé *carouge* (**Rivière et Leco, 1900**) est dur à grain fin ; il est utilisé pour la fabrication d'ustensiles et la production de combustible (**Battle et al, 1997**).

L'écorce de l'arbre est utilisée en tannerie, particulièrement dans l'achèvement et l'émaillage des peaux (**Battle, 1997**).

I.5.2.2.Feuille :

Les extraits des feuilles qui contiennent de tanins ont été, en Turquie, utilisés dans la médecine 'traditionnelle' pour traiter la diarrhée et dans l'alimentation diététique (**Baytop, 1984**).

Corsia et al. (2002) ont démontré la capacité extraordinaire des extraits de feuilles et de gousses à l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales.

Rejeb et al. (1991) ont estimé la valeur énergétique des feuilles du caroubier à 0,25 UF/kg de matière sèche.

I.5.2.3.Fruit :

La pulpe sucrée de la caroube est employée depuis longtemps comme nourriture pour les bétails à côté d'autres aliments comme la farine d'orge (**Ait Chitt et al. 2007; Manso et al., 2010**).

La pulpe du fruit de caroube contient des glucides sucrés, ainsi que des fibres alimentaires, des tanins et des polyphénols (**Papagiannopoulos et al. 2004, Makris et Kefalas, 2004**). La caroube broyée est traitée industriellement et vendus dans les grands magasins et les marchés locaux comme un substitut du cacao (**Yousif, 2000. Kumazawa et al, 2002. Ayaz, 2007. Bengoechea et al., 2008**).

La pulpe des gousses de caroube contient des teneurs élevées en sucre (saccharose, fructose et glucose) et peut être utilisé comme matière première pour la production des sirops (**Petit et Pinilla, 1995**) et du saccharose cristallisé (**Lafuente, 1961**) pour l'industrie alimentaire. Les Arabes fabriquent avec la pulpe une boisson alcoolisée et les Kabyles fabriquent à partir du fruit un plat appelé tomina (**Bonnier. 1990**).

La farine élaborée à partir de la pulpe peut être utilisée comme ingrédient dans certains aliments, tels que les gâteaux, bonbons, crèmes glacées, boissons (**Figure02**) (**NAS, 1979**).

De plus, elle est utilisée comme substituant du cacao dans la production du chocolat car elle est moins calorifique et ne contient ni caféine ni théobromine (**Craig et Nguyen, 1984**).

Les graines de caroube sont constituées de trois différentes parties mais fortement liées. Il s'agit, de l'extérieur vers l'intérieur, une enveloppe (cuticule marronne, 30-33%), un endosperme (blanc et translucide, 42-46%) un embryon ou un germe (23-25%) (**Andrade et al. 1999. Neukom, 1988. Garnit. 2006**).

I.6. 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). À 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. Santiet 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**).

I.7. Les polyphénols Végétaux :

I.7.1. 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, bactéries 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.

I.7.2. 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 benzéniques 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**).

I.7.3. Effets biologiques 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 phytomicro nutriments. 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**).

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**).

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**).

I.7.4. Structure chimiques des polyphénols :

La structure chimique est identique à tous les polyphénols : un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés.

Une classification de ces substances a été proposée par (**Harborne. 1980**) (**Tableau05**).

Tableau05: principales classes des composés phénoliques

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C6	Phénols simple	Catéchol	Nombreuses espèces
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Quersétine, Cyanidine	Fruits et légumes
C6-C3-C6	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Fleurs, soja, pois
(C6-C3-C6) n	Tannins condensés		

I.7.4.1. Les flavonoïdes (C6-C3-C6):

Les flavonoïdes sont formés d'un squelette de base à 15 carbones (C6-C3-C6), correspondant à la structure de la « 2-phényl-benzopyrane », constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B) reliés par un cycle pyranique central (**figure 03**).

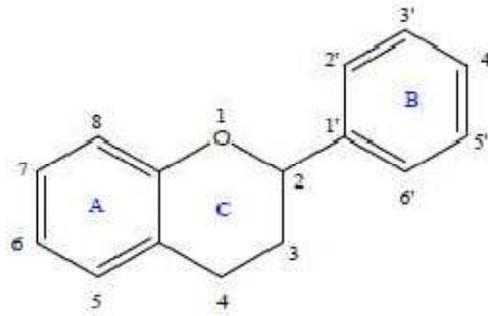


Figure 02: structure de base des flavonoïdes (Heim et al. 2002)

I.7.4.2. 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).

I.7.4.3. 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.

I.7.4.4. Tannins condensés :

Ce sont des produits de la polymérisation de Catéchines et leuco anthocyanidines. Ils sont aussi désignés sous le nom de « tannins catéchiques » et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides.

I.7.4.5. Les stilbènes :

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, formant un système conjugué. Cette particularité

leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule. Les plus abondants sont le trans-resvératrol et son dérivé glucosyle : le picéide, ainsi que les dimères : le resvératrol*trans*-déhydrodimère et l' ϵ -viniférine (**Waterhouse et Lamuela-Reventos. 1994 et Langcake. 1981**)

I.7.5. 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 terpenoïdes, 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**).

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**).

I.7.5.1. Principaux groupes de composés antimicrobiens des végétaux :

Parmi les principales vertus des plantes, on peut citer : stimulant de la digestion Anti inflammatoire, antalgique, antidiabétique, anti-cholestérol, tonique, antiparasitaire, antiseptique, antibactérien et anti fongique. Les antimicrobiennes phytochimiques sont de plusieurs types. Le tableau ci-dessous résume les différentes catégories de ces composés.

Tableau 06: Les principales classes des composés antimicrobiens des végétaux

Classe	Sous Classe	Exemple
Polyphénols	Phénols simples	Catéchine Epicatechine
	Acide phénoliques	Acide cinnamique
	Flavonoïdes et flavones	Chrysin Abyssinone
	Flavonoles	Totarol
	Tnins	Ellagitanins
	Coumarines	Warfarine
	Quinones	Hypéricine
Terpénoïdes et Les Huiles essentielles	//	Capsaïcine
Alcaloïdes	//	Pipérine Berbéline

I.7.6. 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.

Durant notre stage pratique qui s'est étalé du mois d'Avril jusqu'au mois de Septembre 2018, nous avons réalisé deux parties expérimentales :

- La première partie se structure sur l'extraction des polyphénols, et l'extraction des huiles essentielles par la méthode Clevenger.
- La deuxième partie se base sur l'étude de la cinétique de la croissance bactérienne et évaluer l'activité antibactérienne des extraits aqueux et des extraits phénoliques vis-à-vis des souches de référence

Nous avons effectué l'étude expérimentale au sein des structures suivantes :

- Laboratoire d'hygiène de Blida.
- Le laboratoire d'analyse microbiologique de l'hôpital Mustapha Boudiaf de Médéa.
- Et laboratoire de phytopharmacie.

I. Matériel :

I.1. Matériel non biologique : (voir Annexe)

I.2. Matériel biologique :

✓ Matériel végétal :

La récolte de la plante de Caroubier (*Ceratonia siliqua*) a eu lieu en pleine fructification au mois de Mars 2018, dans la région de Chiffa (Wilaya de Blida) (**Figure 04**)



Figure 03 : L'arbre du caroubier (photo prise à Chiffa –Blida)

Après la récolte, 3Kg des gousses de caroube murs ont été séchées a l'aide de soleil, broyées par des grandes machines industrielles et conditionnée dans des bocaux en verre (**Figure05**).



Figure 04: présentation du matériel biologique utilisé (gousse, grains, pulpe, farine)
(Original)

✓ **Bactéries :**

Afin d'étudier le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques de caroubier, nous avons utilisé 03 souches bactériennes de référence provenant de l'institut pasteur : *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *E coli* ATCC 25 922 et *Listeria monocytogenes* ATCC 13 932

II. Méthodes :

II.1. Extraction des phénols :

II.1.1.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.

II.1.2. Extraction des phénols :

10g du matériel végétal broyé est macéré dans 100ml de mélange méthanol/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**).

II.2.Extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation :

Le choix du procédé d'obtention de l'huile essentielle est en général limité par les normes liées à son utilisation. En effet, le mode technologique d'exploitation du matériel végétal peut avoir une influence importante sur la composition finale de l'huile essentielle.

Dans notre étude, nous avons utilisé appareil de type Clevenger (**Afnor, 2000**).

• **Principe :**

Le matériel végétal séché est soumis à une hydro-distillation au moyen d'un dispositif d'extraction de type Clevenger (**Figure 06**).

Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale séchée et broyée dans un grand ballon en verre, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile et enfin elle est conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4-5°C). L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition.



Figure05 : Extraction des huiles essentielles par la méthode Clevenger

II.3. préparation de l'extrait aqueux:

La préparation de l'extrait aqueux de 10% de notre plante est réalisée par additionnement de 10g de poudre à 100ml d'eau distillée, puis laissée 30 minutes en infusion avec agitation de temps en temps. L'extrait aqueux obtenu est ensuite centrifugé à 1000 tours/min pendant 10 minutes puis filtré sur papier filtre de type wattman N=°3. Le filtrat est ensuite mis dans des petits flacons en verre.

Le même principe est utilisé pour l'extrait aqueux de 30ml, 25ml, 20ml et 5ml (**Ljubuncic et al, 2005**).

II.4. Etude de l'évolution de la cinétique de la croissance et de la production :

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

Les souches de référence : *Escherichia coli* **ATCC 25922**, *Staphylococcus aureus* **ATCC 29213** et *Listeria monocytogenes* **ATCC 13932** ont été réactivées deux fois et cultivées sur bouillon BHI (Brain-Heart-Infusion : réf. **CM0225 Oxoid , Biomérieux , France**).

L'incubation est faite en aérobiose 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 aérobiose a été utilisé, les souches ont été cultivées au moins trois fois avant l'expérience.

L'étude de l'évolution de la croissance d'*Escherichia coli* **ATCC 25922**, *Staphylococcus aureus* **ATCC 29213** et *Listeria monocytogenes* **ATCC 13932** est effectuée dans le milieu BHI bouillon à pH 6,8 à 37 °C en aérobiose.

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, cette méthode est utilisée dans le but de déterminer la charge microbienne d'*Escherichia coli* **ATCC 25922**, *Staphylococcus aureus* **ATCC 29213** et *Listeria*

monocytogenes ATCC 13932 évaluée à 105 UFC /ml mise en contact avec les différentes concentrations des extraits phénoliques.

II.5.Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques en milieu solide :

L'activité antibactérienne des extraits phénoliques a été évaluée en utilisant des souches bactériennes de référence

II.5.1.méthode de diffusion par disque :

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne d'une huile essentielle. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé d'huile essentielle, sur un tapis bactérien au tout début de sa croissance et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de l'huile essentielle, est ainsi déterminé (Figure07).

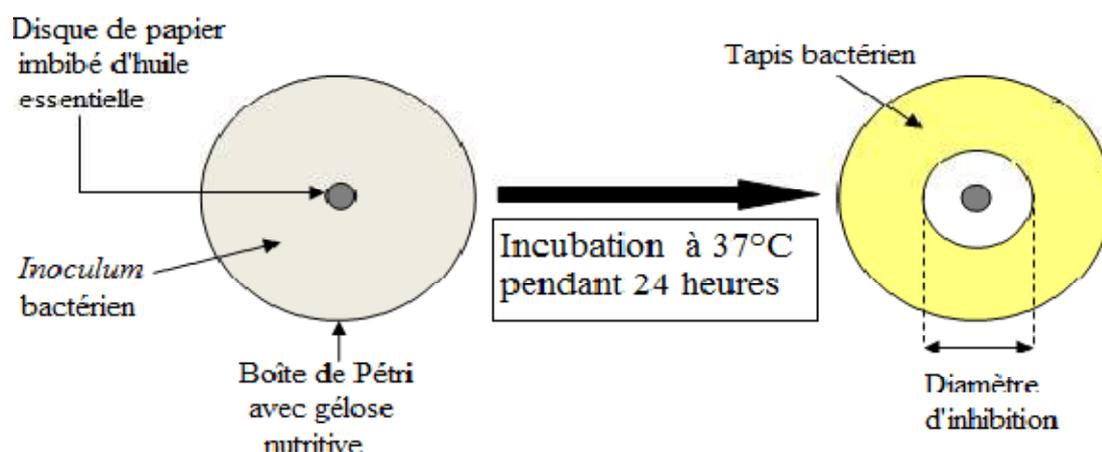


Figure 06: Principe de la méthode de diffusion par disque

Une suspension bactérienne de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland (108 UFC.ml⁻¹) est préparée et 20 ml de milieu gélosé milieu Mueller-Hinton sont coulés par boîte de Pétri et 500 ul d'inoculum sont déposés sur chaque boîte. Après une imprégnation de

5 minutes, l'excédent d'inoculum est éliminé par aspiration. On dépose à la surface de chaque boîte, quatre disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre (bioMérieux) imprégnés avec 5 ul d'extrait phénolique.

Après diffusion des extraits phénoliques dans le milieu pendant 15 mn à une température de 25°C, les boîtes sont incubées à 37°C. La lecture s'effectue après 24 h d'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition du germe-cible.

Les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés, y compris le diamètre des disques. Cette mesure est transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité (**Tableau 07**) (**Ponce et al, 2003, Biyiti et al, 2004**)

Tableau 07 : Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition (DI) (**Ponce et al, 2003, Biyiti et al, 2004**)

Inhibition	Transcription	Sensibilité
D<8 mm	-	Résistante
9mm≥D≤14mm	+	Sensible
15mm≥D≤19mm	++	Assez sensible
D≥20mm	+++	Très sensible

II.6.Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) :

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 5×10⁷ UFC/ml à l'aide d'une turbidité standard 0,5 Mc Farland.

Des dilutions en série sont préparées dans une gamme de concentration de (5-10-25 et 50%) dans des tubes à essai stériles contenant de bouillon MHI. Les CMI des différents composés vis-à-vis des souches bactériennes sont déterminées par la méthode de micro dilutions en puits.

Des plaques contenant 96 puits (Iwaki brand, Asahi Techno Glass, Japan) sont préparées en distribuant dans chaque puits 100 µl de bouillon MH et 100 µl d'inoculum. 100 µl de chaque solution des différentes concentrations des polyphénols 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 MH et 100 µl d'inoculum étaient utilisés comme témoins négatifs. Le volume final de chaque puit 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.

III.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* ATTC 25922, staphylococcus aureus ATTC 29213, *Listeria monocytogenes* ATTC 13932, et présentent le même profil cinétique au début de la phase exponentielle, la cinétique de croissance est représentée respectivement dans la figure 8,9,10 avec des densités optiques variables selon l'espèce.

Il a été remarqué que pour les charges bactériennes de 105 UFC/ml; les pathogènes atteignent 4h d'incubation la croissance est très rapide de 6h à 8h, les valeurs du taux de croissance diminuent à partir de 8 heures.

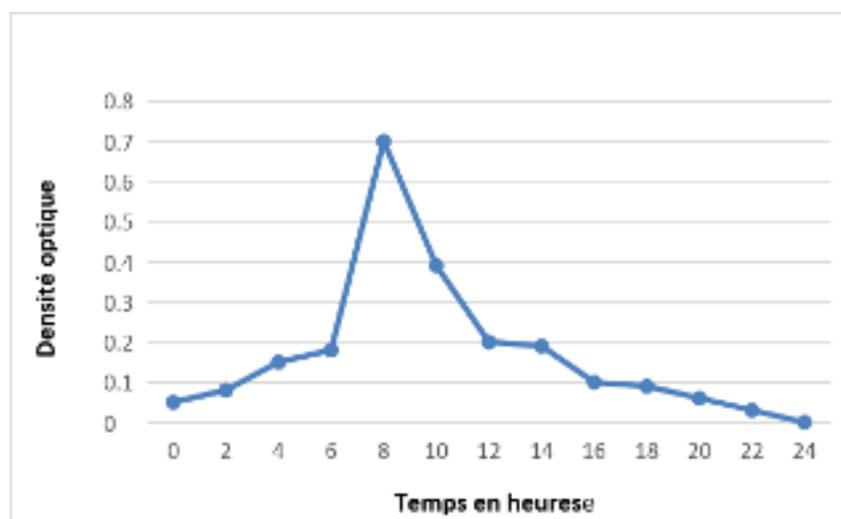


Figure 07: Courbe représentative de la cinétique bactérienne d'*Escherichia Coli* ATCC 25922 durant 24h.

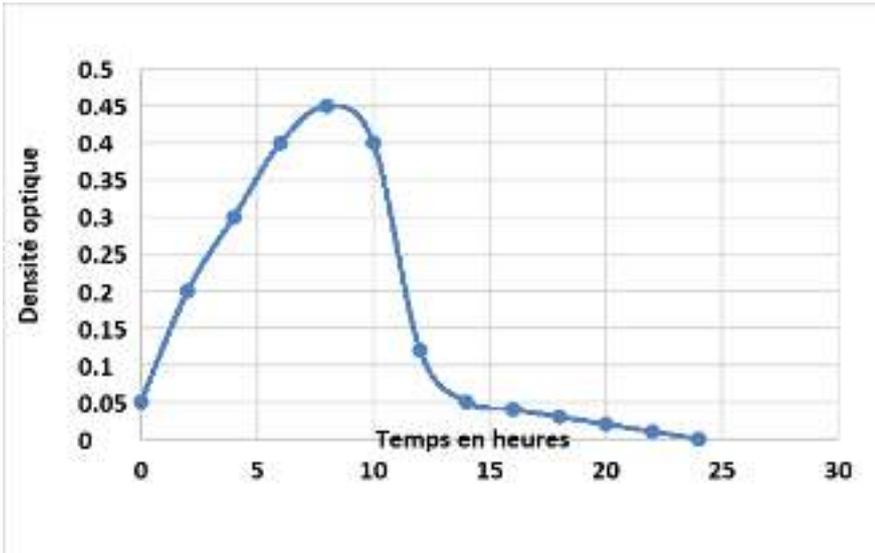


Figure 08: Etude de la cinétique microbienne *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 durant 24 Heurs

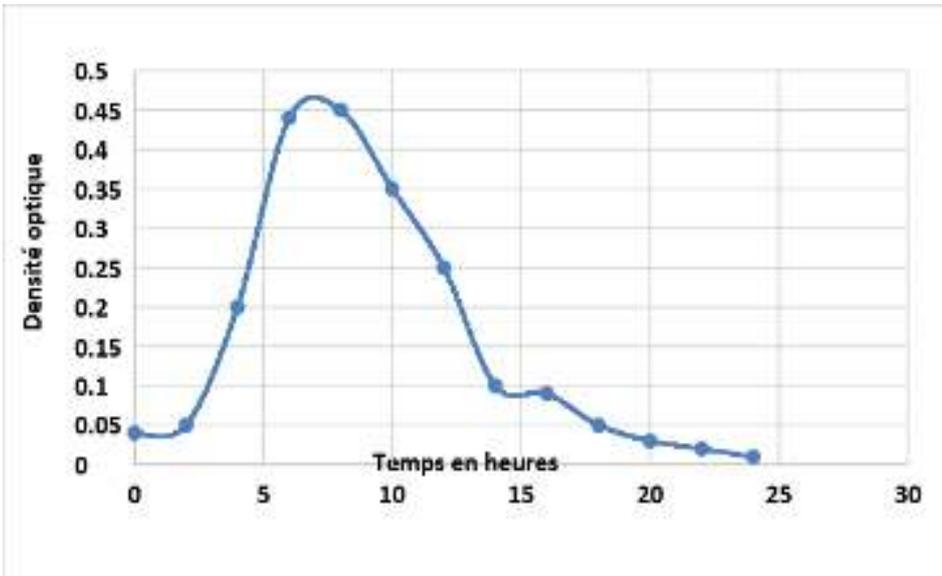


Figure 09 : Courbe représentative de la cinétique bactérienne de *listeria monocytogènes* ATCC 13932

III.2 Extraction des huiles essentielles de la poudre de caroube par Clevenger :

Au cours de notre stage, nous avons réalisé presque 5 extractions de la poudre de caroube par clevenger et nous avons remarqué que la poudre des gousses de caroube mure sont dépourvus d'huile essentielles.

III.3.1 Détermination de l'extrait aqueux de la poudre :

Nous avons signalé que notre extrait de la poudre de caroube mur ne possède aucune activité antimicrobienne vis à vis des 3 souches bactériennes de référence :

Escherichia coli ATTC 25922, *Staphylococcus aureus* ATTC 29213, *Listeria monocytogenes* ATTC 13932.

Ce résultat concorde avec celui-ci de (Chiang et al, 2002) qui ont démontrés que les gousses de caroube murs sont dépourvues d'activité antimicrobienne. (Figure 11)



Figure10 : Absence de la zone d'inhibition d'E.coli par différentes concentrations des Extraits aqueux

III.3.2 Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques-vis-à-vis *Escherichia Coli* 25922:

La figure 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 apparait

comme des zones claires avec bordure distinctes comme elle indique la figure, le diamètre d'inhibition est variable et varie de 10mm à 21mm.



Figure 12 : Effet inhibiteur de différentes concentrations des extraits phénoliques sur la Croissance d'*Escherichia Coli ATCC 25922*

La meilleure zone d'inhibition obtenue est celle de la concentration de 25 et 50 % avec diamètre de zone d'inhibition allant de 18mm jusqu'à 21mm.

Ces résultats se concordent avec ceux de **(Chiang et al, 2002)** qui ont démontrés que l'activité antimicrobienne de *Ceratonia Siliqua* 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)**.

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

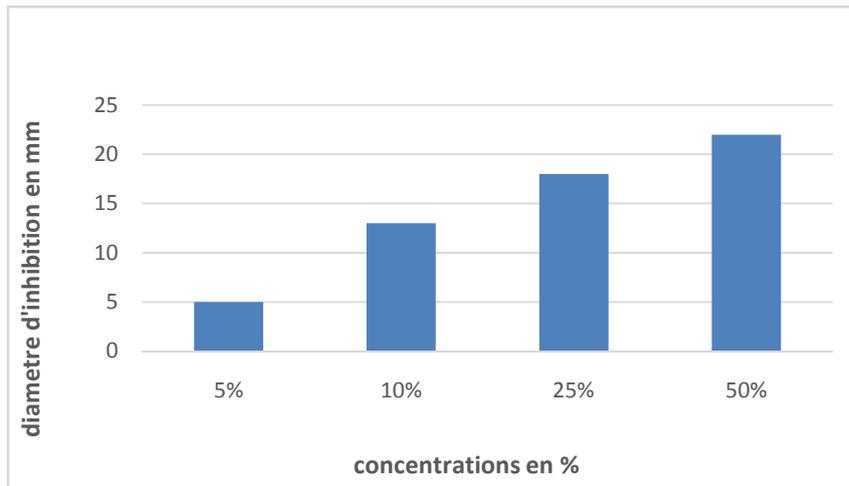


Figure 12 : Diamètre des zones d'inhibitions d'E.coli en mm en fonctions des Concentrations des extraits phénoliques.

La concentration la plus inhibitrice est de 50% avec un diamètre de 22 mm, 25% a aussi un effet inhibiteur très proche a celle de 50% avec un diamètre de 18mm pour les concentrations de 5 et 10%le diamètre se varie entre 8mm à 13 mm .

Ces résultats se rapprochent de ceux de (**Ben Hsouna et al, 2012**) qui ont trouvé qu'E. Coli **ATCC 25922** avait une zone d'inhibition de $12 \pm 0,2$ millimètre.

III.3.3 Le pouvoir antibactérien des polyphénols-vis-à-vis des *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 :

La (**figure13**) indique les résultats obtenus des tests de l'activité antibactérienne des polyphénols aux différentes concentrations (5-10-25-50%) sur la souche bactérienne suivante : *Staphylococcus aureus* **ATCC 29213**. Le spectre d'activité antibactérienne apparait comme des zones claires avec bordure distinctes le diamètre d'inhibition est variable et varie de 10 à 18 millimètres



Figure 13: photos représentatives d'inhibition de *Staphylococcus aureus* par les Différentes concentrations des polyphénols

Pour *Staphylococcus aureus* la zone d'inhibition a été observée à des concentrations allant de 5 à 50 %. L'inhibition est notée positive lorsqu'elle est supérieure à 8 millimètres (Schillinger et Lucke, 2001).

Notre résultats montrent une activité antimicrobienne remarquable des extraits phénoliques vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, ces résultats concorde avec ceux de (AbdRazik et al, 2012) qui ont démontrés que les extraits phénoliques de la pulpe de la caroube ont une activité antimicrobienne contre divers agents pathogènes, y compris le *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition allant de 12 à 17 millimètres (Figure 15).

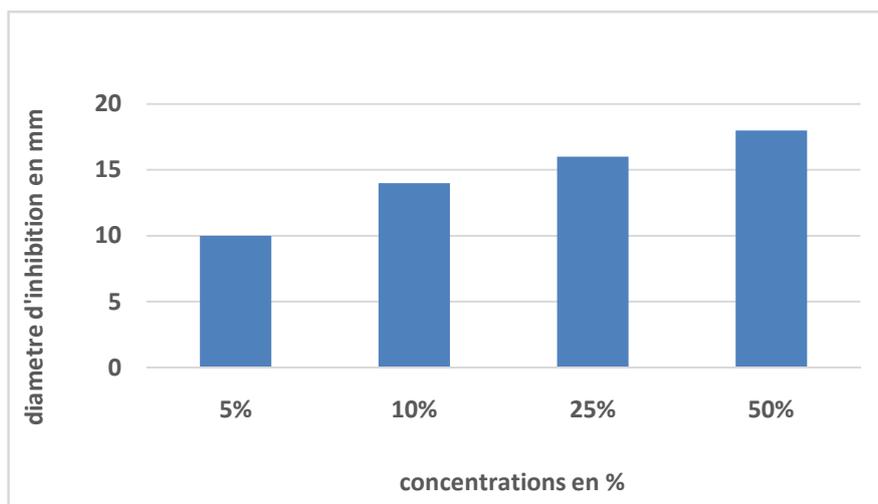


Figure 14 : diamètre des zones d'inhibition *Staphylococcus aureus* en mm en fonction des concentrations des polyphénols.

La concentration la plus inhibitrice est de 50% avec un diamètre de la zone d'inhibition de 18 millimètres, les concentrations 10 et 25% ont un effet inhibiteur proche à celle de 50% respectivement 14 et 16 millimètres et la concentration 5% présente le plus faible effet inhibiteur avec un diamètre de la zone d'inhibition de 10 millimètres.

Nous remarquons que les polyphénols ont une activité antimicrobienne très importante vis à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ceci s'explique par la présence de quantités considérables de composés phénoliques totaux et les flavonoïdes totaux dans l'extrait de méthanol de la gousse de *Ceratonia siliqua* (Taleb-Contini et al, 2003).

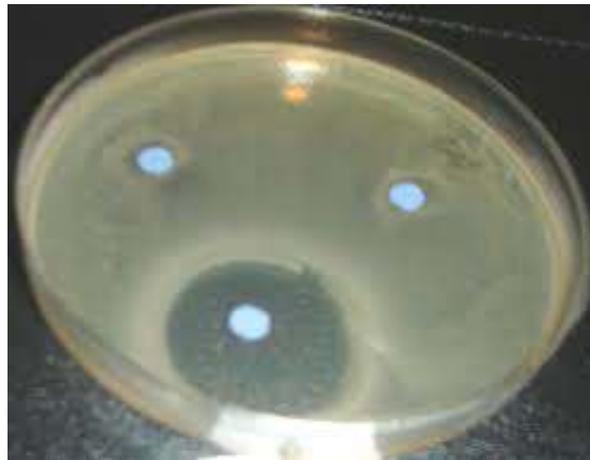
Ces résultats se concordent avec ceux de (Chiang et al, 2002) qui ont démontrés que l'activité antimicrobienne de *Ceratonia .Siliqua* est due aux polysaccharides et principalement aux composés bioactifs des polyphénols. Cette activité est due précisément aux flavonoïdes qui se trouvent en quantité considérable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

Cette efficacité est due à la présence des flavonoïdes qui sont des métabolismes secondaires réputés pour leurs effets antibactériens (Mounjd AbdRazik et al, 2012).

III.3.4 Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques-vis-à-vis *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 :

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



Figures15 : effet inhibiteur de différentes concentrations des extraits phénoliques sur la Croissance de *Listeria monocytogenes* ATCC 13932.

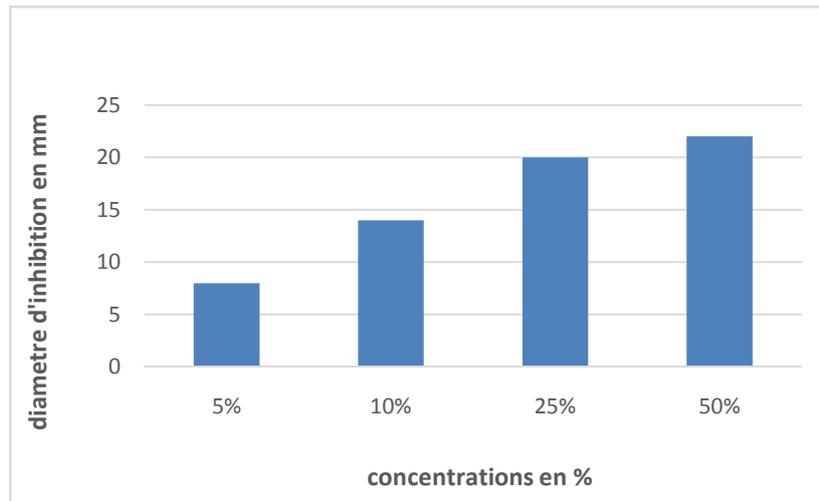


Figure 16: Diamètre des zones d'inhibitions de *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 en mm en fonction des concentrations des extraits phénoliques.

Les résultats révèlent que l'extrait méthanolique de *Cératonia Séliqua* exerce un effet antimicrobien considérable sur la souche *Listeria monocytogenes* ATCC 13932, avec des zones d'inhibition de l'ordre croissant, se varient 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 effet antimicrobien (MonjdAdbRazik et al, 2012).

Dans un autre travail (Basma Monjd AbdRazik et al, 2012), ont prouvé que l'extrait phénolique de *Cératonia Séliqua* possèdent une activité antimicrobienne très puissante vis-à-vis aux bactéries à gram positif.

Listeria monocytogenes ATCC 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 voisine de l'ordre de 8 et 14 mm respectivement.

Tandis que l'effet inhibiteur sur la souche bactérienne La concentration la plus inhibitrice est de 50% avec un diamètre de la zone d'inhibition de 18 millimètres, les concentrations 10 et 25% ont un effet inhibiteur proche à celle de 50% respectivement 14 et 16 millimètres et la concentration 5% présente le plus faible effet inhibiteur avec un diamètre de la zone d'inhibition de 10 millimètres.

III.3.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice :

D'après les résultats obtenus précédemment nous nous sommes intéressés à déterminer la concentration minimale inhibitrice des extraits phénoliques de *ceratonia séliqua* sur les trois souches bactériennes, le pathogène : *Escherichia Coli ATCC 25922* *Staphylococcus aureus ATCC 29213* et *listeria monocytogenes ATCC 13932* (Tableau 08).

Souches bactériennes	CMI %
<i>Staphylococcus aureus ATTC 29213</i>	1,59
<i>Escherichia Col ATTC25922</i>	1.55
<i>Listeria monocytogenes ATTC 13932</i>	3 ,12

Tableau 8 : résultats de la CMI des extraits phénoliques vis-à-vis les trois souches Bactériennes.



Figure 17 : la concentration minimale inhibitrice de la croissance de *Staphylococcus Aureus* ATTC 29213 *Escherichia Coli* ATCC 25922 et *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 pour une durée d'incubation de 24h à 37°C.

La concentration minimale inhibitrice varie de 1,55% à 3,12% dépendamment de la bactérie cible.

Les résultats obtenus montrent que l'effet inhibiteur des extraits phénoliques plus important chez *Listeria monocytogenes*, par rapport aux 2 souches *Staphylococcus aureus* ATTC 29213 et *Escherichia Coli* ATCC 10536. Ces résultats s'expliquent par la nature de la bactérie cible qui joue un rôle important dans la détermination de la concentration minimale inhibitrice, en général, les bactéries Gram positives sont plus sensibles aux propriétés antimicrobiennes que celles à Gram négatif (Bagamboula et al, 2004).

Ces différences pourraient être attribuées en grande partie à la complexité de la double membrane contenant l'enveloppe cellulaire des bactéries Gram négatif par rapport à la structure de la membrane unique des bactéries Gram positives, ou liée à la présence des lipopolysaccharides dans la membrane externe (Gao et al, 1999).

Conclusion

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*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*. Aussi, les résultats ont démontré des zones d'inhibition de 5 mm à 13 mm pour des extraits de 5% à 10% et de 18 mm à 22 mm pour des concentrations allant de 25% à 50% ; 10mm à 14 mm pour les extraits de 5 à 10%, et de 16mm à 18mm pour des concentrations allant de 25 à 50% respectivement; le diamètre d'inhibition du *Listeria* s'est varié entre 8mm à 14 pour des extraits de 5 à 10% et de 20 mm à 22mm pour les concentrations 25 à 50%.

Les résultats de la concentration minimale inhibitrice ont révélé des CMI remarquables pour les souches *Escherichia Coli* **ATCC 25922**, *Listeria monocytogenes* **ATCC 13932** et pour des extraits phénoliques allant de 3,12 et 1,59%.

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.

Partie II : matériel et méthodes

Partie III : Résultats et discussions

Partie I : synthèse Bibliographique

Introduction

Référence bibliographique

Table Des Matières

I. Généralité

Partie I: Synthèse bibliographique

Chapitre I :

I. Présentation de la plante étudiée.....	3
I.1. Taxonomie.....	3
I.2. Biologie et reproduction.....	3
I.3. Origine et répartition géographique.....	4
I.4. Composition chimique	7
I.5. propriétés et utilisation du caroubier	8
I.5.1. propriétés.....	8
I.5.2. utilisation du caroubier.....	9
I.6. La farine de la gousse de caroube FPC.....	11
I.7. polyphénols Végétaux.....	12
I.7.1. Introduction.....	12
I.7.2. Présentation des polyphénols.....	13
I.7.3. Effets biologiques des polyphénols.....	13
I.7.4. Structure chimiques des polyphénols	14
I.7.5. Activité antimicrobienne des composés phénoliques.....	16

Chapitre II : Matériel et Méthodes

I. Matériel.....	20
I.1 Matériel non biologique	20
I.2. Matériel biologique.....	20
II. Méthode.....	22
II.1. Extraction des phénols	22
II.1.1. Elimination des sucres	22
II.1.2. Extraction des phénols	22
II.2. Extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation.....	22
II.3. préparation de l'extrait aqueux.....	24
II.4. Etude de l'évolution de la cinétique de croissance et de production	24
II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques	
 En milieu solide.....	25
II.5.1. méthode de diffusion par disque	25
II.6. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	26

Chapitre III : Résultats et discussions :

III.1 La cinétique de croissance bactérienne.....	29
III.2Extraction des huiles essentielles de la poudre de caroube Par Clevenger.....	30
III.3.1 Détermination de l'extrait aqueux de la poudre.....	30
III.3.2. Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques-vis-à-vis <i>Escherichia Coli</i> 12922	31
III.3.3.Le pouvoir antibactérien des polyphénols-vis-à-vis <i>Staphylococcus</i> <i>Aureus</i> ATCC 29213.....	32
III.3.4.Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques-vis-à-vis <i>Listeria monocytogene</i> ATCC13932	35
III.3.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice	37
Conclusion générale et perspectives.....	38

Références bibliographiques

Annexes

Références bibliographiques

Aafi A., 1996. Note technique sur le caroubier (*Ceratoniasiliqua L.*). Centre Nationale de la recherche Forestière. Rabat (Maroc). 10p.

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.

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

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.

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

Battle I. et Tous J., 1997. Carob tree. *Ceratoniasiliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops». 17. Institut of plant Genetic and crops Plant Research. Gatersleben/International Plant Resources Institute. Rome. Italy. 97 p.

Bolonos M., 1955. Rapport sur le caroubier. Instituto forestal de Investigaciones y experiencias Madrid (Espagne) 9p.

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

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

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

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

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

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

Charalamabous 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.

Références bibliographiques

- Coit J. E., (1962)**, Carob culture in the semi-arid southwest. Vista, CA: J. Eliot Coit. 6p
- Craig W.J. & Nguyen T.T., 1984.** Caffeine and theobromine level in cocoa and carob products. *J. Food Sci.* 49: 302-305.
- Estrada C., Vázquez M., Melis B. & Vadell J., 2006.** Fruticultura de secano. El Algarrobo. In: Labrador. J, Porcuna. J.L & Bello. A (Cords), Manual de agricultura y ganadería ecológica. Eumedia. España, pp. 186-195.
- FAOSTAT:** The Statistics division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2013. (www.faostat.fao.org).
- Fleuriet A., (1982)**, Thèse Doc. Etat, Montpellier.
- García-Ochao F. et Casas J. A., (1992).** Viscosity of locust bean (*Ceratonia siliqua*) gum solutions. *J. Sci. Food Agri.* 59: 97- 100
- Harborne J. B., (1980)**, Plant Phenolics; Encyclopedia of Physiology, New series, 8, 329-402
- 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.
- Hillcoat D., Lewis G. and Verdcourt B., 1980.** A new species of *Ceratonia* (Leguminosae-Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. *Kew bull.* 35(2):261-271.
- Leroy A. (1929).**, Elevage rationnel des animaux domestiques. Hachette ed, 448p
- Melgarejo P. & Salazar D.M., 2003.** Tratado de fruticultura para zonas áridas y semiáridas. Vol. II. Mundi-Prensa. España, pp. 19-162.
- 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
- NAS., (1979)**, Tropical legumes: resources for the future, pp. 109- 116. National Academy of Sciences, Washington DC. USA.
- 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.
- Ortiz P. L., Arista M. et Talavera S., (1996)**, Producción de nectary frecuencia de polinizadores en *Ceratonia siliqua* L. (Caesalpinaceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* N°54, pp.540-546.
- Orphanos P. I. and Papaconstantinou J., (1969)**, The carob varieties of Cyprus, Tech. Bull. 5. Cyprus Agricultural Research Institute, Ministry of Agriculture and Natural Resource, Nicosia

- 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)
- 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
- 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.
- Retana J., Ramoneda J. et Garcia delPino F., (1990)**, Importancia de los insectos en la polinizacion del algarrobo. Bol. San. Veg. Plagas, N°16, pp.143-150.
- Retana J., Ramoneda J., GarcíadelPino F., Bosch J., (1994)**, Flowering phenology of carob, *Ceratoniasiliqua L.* (Caesalpinaceae), J. Hort. Sci., Vol.69. N°1, pp.97-103.
- 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.
- Rivière CH. & Leco H., 1900.** Manuel pratique de l'agriculteur algérien. Editeur: Augustin CHALLAMEL. Paris, pp. 349-353.
- Saura-Calixto F., (1988)**, Effect of condensed tannins in the analysis of dietary fiber in carob pods. J. Food Sci., 53, 1769-1771.
- Scalbert. A, Williamson. G,** Dietary intake and bioavailability of polyphenols, *J.Nutr.* , **2000**, 130, 2073-2085.
- Thomson P., 1971.** The carob in California. California Rare Fruit Growers Yearbook III: 61-102.
- Tous J., 1984. Cultivo del Algarrobo. Hoja Divulgativa N2: 10. Ministerio de Agricultura. Madrid. 16 p.
- 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.
- Yousif A.K. et Alghzawi H.M. (2000)**, Processing and characterization of carob powder, Food chemistry, Vol. 69, N°3, pp.283-287.

Références bibliographiques

- Zitouni A., 2010.** Monographie et perspectives d'avenir du caroubier (*Ceratoniasiliqua*) en Algérie. Th. Ing. Agrn, INA, El-Harrach, 201 p.
- Kumazawa S., M. Taniguchi, Y. Suzuki, M. Shimura, Mi- Sun Kwon, and T. Nakayama., (2002),** Antioxidant Activity of Polyphenols in CarobPods. *J. Agric. Food Chem.*, Vol.50. N°2, pp. 373-377
- Marakis S., (1996),** Carobbean in food and feed: Current status and future potentials- A critical appraisal. *J. Food Sci. Technol.*, 33, 365-383.
- Marakis S., Lambraki M. et Diamantoglou S., (1993),** Tannin chemistry of nine Cretan carob varieties. *Chimica Chronica, New Series*, 22, 213-224.
- Tamir M., Nachtom E. et Alumot E., (1971),** Degradation of tannins from carob pods by thioglycolic acid. *Phytochem.*, 10, 2769-2774.
- Wursch P., Vedovo S., Rosset J. et Smiley M., (1984),** The tannins granules from ripe carob pod. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, 17, 351-354
- Djennane F, Mohammedi D, Tiouit D, Touati D, Rahal K. 2009.** Examen Cytobactériologique des Urines. *Techniques Microbiologiques. Institut Pasteur d'Algérie*, 76.
- Bridier G, Pinte J. 2006.** Le référentiel de l'infirmière libérale. *Éditions Estem*, 59.
- Labescat J. 2008.** Guide des examens complémentaires. Édition Wolters Kluwer, France, 69.
- Denis F, Ploy MC. 2007.** Bactériologie médicale: techniques usuelles. *Elsevier Masson*, 316-318.
- Ponce AG, Fritz R, del Valle C, Roura SI. 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Society of Food Science and Technology*, 36(7), 679-68
- Biyiti LF, Meko'o DJL, Tamze V, AmvamZollo PH. 2004.** Recherche de l'Activité Antibactérienne de quatre plantes médicinales Camerounaises. *Traditional Pharmacology and medicine in Africa*, 13, 11-20.4.
- Kumazawa S., M. Taniguchi, Y. Suzuki, M. Shimura, Mi- Sun Kwon, and T. Nakayama., (2002),** Antioxidant Activity of Polyphenols in CarobPods. *J. Agric. Food Chem.*, Vol.50. N°2, pp. 373-377
- Yu Z., Dahlgren R.A., (2005),** Evaluation of methods for measuring polyphenols in copper foliage, *J. Chem. Ecol.* N°26, pp. 2119 – 2140
- 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

Références bibliographiques

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

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Classification de caroubier	03
Tableau 02 : Superficies occupées par le caroubier et production mondiale.....	06
Tableau 03 : Surface cultivée, production et rendement de la caroube En Algérie, année 2009	07
Tableau 04 : Composition moyenne de la pulpe de caroube	08
Tableau05 : principales classes des composés phénolique.....	14
Tableau 06 : Les principales classes des composés antimicrobiens des végétaux.....	17
Tableau07 : Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition (DI).....	26
Tableau 8 : résultats de la CMI des extraits phénoliques vis-à-vis les trois souches Bactériennes.....	37

Liste des figures

Figure 01 : Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde	05
Figure 02: structure de base des flavonoïdes	15
Figure 03: L'arbre du caroubier (photo prise à Chiffa –Blida)	21
Figure 4 : présentation du matériel biologique utilisé (gousse, grains, pulpe, farine).....	21
Figure 5: Extraction des huiles essentielles par la méthode Clevenger.....	23
Figure 06: Principe de la méthode de diffusion par disque.....	25
Figure 07 : Courbe représentative de la cinétique bactérienne d' <i>Escherichia Coli</i> ATCC 25922durant 24h.....	28
Figure 08 : Etude de la cinétique microbienne <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 durant 24 Heurs	29
Figure 09: Courbe représentative de la cinétique bactérienne de <i>listeria monocytogènes</i> ATCC 13932.....	29
Figure 10 : Absence de la zone d'inhibition d'E.coli par différentes concentrations des Extraits aqueux.....	30
Figure 11 : Effet inhibiteur de différentes concentrations des extraits phénoliques sur la Croissance d' <i>Escherichia Coli</i> ATCC 25922.....	31
Figure 12 : Diamètre des zones d'inhibitions d'E.coli en mm en fonctions des Concentrations des extraits phénoliques.....	32
Figure 13 : photos représentatives d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i> par les Différentes concentrations des polyphénols	33

Figure 14 : diamètre des zones d'inhibition *Staphylococcus aureus* en mm en fonction des concentrations des polyphénols.....34

Figure15 : effet inhibiteur de différentes concentrations des extraits phénoliques sur la Croissance de *Listeria monocytogenes* **ATCC 13932**.....35

Figure 16: Diamètre des zones d'inhibitions de E.coli en mm en fonctions des concentrations des extraits phénoliques36

Figure 17 : la concentration minimale inhibitrice de la croissance de *Staphylococcus Aureus* **ATTC 29213** *Escherichia Coli* **ATCC 25922** et *Listeria monocytogenes* **ATCC 13932** pour une durée d'incubation de 24h à 37°C.....38

Annexe 1 :

- **Bouillon BHI :**

BD Brain Heart Infusion (BHI) Agar Formule

Par :

- ✓ litre d'eau purifiée
- ✓ Infusion cœur-cervelle (matières solides) 8,0 g
- ✓ Digestion peptique de tissu animal 5,0
- ✓ Digestion pancréatique de caséine 16,0

- ✓ Chlorure de sodium 5,0
- ✓ Glucose 2,0
- ✓ Phosphate d'hydrogène disodique 2,5
- ✓ Gélose 13,5
- ✓ pH $7,4 \pm 0,2$ *Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

Annexe 2 :

- **Matériel non biologique :**



Bain marie



Autoclave



Spectrophotomètre UV-visible