

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études  
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

-KAOUCH Khaldia  
-HALAOUI Linda Yassamine

**Thème**

**Évaluation de l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne  
de *Ceratonia siliqua* L.**

Soutenu publiquement le .....

**Jury:**

Présidente: Mme BENGUIAR R  
Examinatrice : Mme BELMOKHTAR R  
Encadrante: Mme MILIANI A  
Co-encadrante: Mme BOURIAH N

MCA Faculté SNV Tiaret  
MAB Faculté SNV Tiaret  
MCB Faculté SNV Tiaret  
Dr Faculté SNV Tiaret

Année universitaire 2022-2023

## **Remerciements**

*Nos profonds remerciements au bon Dieu qui a éclairé notre chemin et qui nous a donné la foi et le courage pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier en premier lieu notre encadrante Mme **MILIANI Asmaa** et la Co-encadrante Mme **BOURIAH Nacéra** de nous avoir encadrés et orientés, ainsi que pour son aide et ses précieux conseils tout au long de ce travail.*

*Non vifs remerciements s'adressent également à Mme **BENGUIAR Rachida** qui nous a faite le grand honneur d'accepter la présidence du jury, qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect.*

*Nous adressons également nos grands remerciements à Mme **BELMOKHTAR Rahma** qui ont bien voulu faire partie du jury et d'apporter leurs vives contribution à l'enrichissement de ce travail.*

*Merci à tous ce qui, de près ou de loin, nous a apporté leur aide pour réaliser et mener à terme ce travail.*

*Merci également à tous ceux qui, un jour ou l'autre, nous ont offert leur amitié et des moments inoubliables tout au long de notre cursus universitaire.*

## ***Dédicaces***

***Je dédie ce modeste travail à :***

*Avant tout chose, je dédie le DIEU, le tout puissant Pour m'avoir donné la force et la patience*

*A tous les personnes qui m'encouragent toujours aux moments difficiles :*

***Mon père : Mohammed***

*La lumière de ma vie et, merci pour toute que vous avez fait pour moi. Pour tes encouragements, tes conseils et ton soutien. Ce modeste travail est témoin de ma profonde reconnaissance et amour.*

***Ma mère : kheira***

*Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Ta présence à mes côtés m'a toujours donné la force d'affronter les différents obstacles. Que Dieu tout-puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur et longue vie. Je t'aime fort Maman.*

***Mes frères : Amine et Hossém.***

***Mes sœurs : Rabia et Amira Farah.***

*À l'homme qui m'a tant soutenu, aidé et encouragé, mon fiancé **walid** et à toutela famille Haloui.*

***Ma copine : Khaldia***

*Mon cher binôme. Tu es gentille, sensible et pleine de vie .J'avoue que j'apprécie énormément cette adorable personnage que tu es. Je te souhaite plein succès dans ta vie professionnelle*

***Tous mes ami(e) : Naffissa, Bochra, Ahlam***  
*Tous ceux que je connais et qui me connaissent*

***Linda Yassamine***

## ***Dédicaces***

***Avec l'aide de dieu, j'ai pu faire se modeste travail que je dédie :***

*A mon paradis, à la lumière de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, mon fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié.*

***Ma mère Halima***

*Mon soutien et ma force dans la vie, ma source d'amour et d'affection, à mon support et qui était toujours à mes coté, à mon roi.*

***Mon père Mohamed***

*Je dédie le fruit de ma réussite à mes sœur **Samira, Latifa, Amina, Fatima et Racha** et à mon frère **Rabah**, que Dieu les préserve et leur accorde santé et bien-être.*

*À qui m'a soutenue dans mon parcours universitaire, à celui qui m'a encouragée et motivée, et qui n'a ménagé ni temps ni effort pour m'aider.*

***Mon homme Walid***

***A mon binôme Linda***

*Je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.*

***A mes Amis***

*Je vous dédie ce travail à **Nafissa, Bochra et Ahlam** pour les moments que vous avez vécu ensembles et les souvenir.*

***Khaldia***

## Table des matières

### Liste des figures

### Liste des tableaux

### Liste des abréviations

Introduction .....	1
--------------------	---

### *Chapitre I : Synthèse bibliographique*

I.1. Description botanique.....	2
I.2. Classification botanique.....	3
I.3. Distribution géographique du caroubier .....	4
I.4. Production de caroubier.....	5
I.4.1. Production dans le monde.....	5
I.4.2. Production en Algérie.....	6
I.5. Utilisation et vertus thérapeutiques de la caroube.....	7

### *Chapitre II : Matériel et méthodes*

II.1. Objectif de travail.....	8
II.2. Lieu et période de l'étude.....	8
II.3. Matériel .....	10
II.3.1. Instruments et réactifs.....	10
II.3.2. Matériel biologique.....	10
II.3.2.1. Matériel végétal.....	10
II.3.2.2. Matériel microbiologique .....	11
II.4. Préparation des extraits bruts par macération.....	11
II.4.1. Extrait aqueux.....	11
II.4.2. Extrait méthanolique.....	11
II.4.3. Calcul du rendement en extraits.....	11
II.5. Screening phytochimique.....	12
II.6. Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du Piégeage du radical libre DPPH (Diphényle-picryl-hydrazyl).....	13
II.7. Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits.....	14
II.7.1. Souches microbiennes étudiées et milieux de culture utilisés.....	14
II.7.2. Préparation de l'inoculum.....	15
II.7.3. Préparation des extraits.....	15
II.7.4. Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits (Méthode de diffusion en milieu gélosé) .....	15
II.7.5. Évaluation de l'activité antifongique des extraits (Méthode de contact direct)....	16
II.7.6. Etude statistique.....	17

### *Chapitre III : Résultats et discussion*

III.1. Détermination de rendement d'extraction.....	18
III.2. Caractéristiques organoleptiques des extraits.....	19
III.3. Screening phytochimique.....	19
III.4. Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du Piégeage du radical libre DPP .....	21

III.4.1. Activité antioxydante des extraits exprimée par l'IC50.....	26
III.5. Étude de l'activité antimicrobienne de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	27
III.5.1. Étude de l'activité antibactérienne des extraits de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	27
III.5.2. Étude de l'activité antifongique des extraits de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	33
Conclusion.....	35
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	
Summary	

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Caroubier ( <i>Ceratonia siliqua</i> L.) (Originale) .....	2
<b>Figure 2:</b> Feuilles de caroubier (Originale).....	3
<b>Figure 3 :</b> Gousses mûres du caroubier (Originale).....	3
<b>Figure 4 :</b> Répartition géographique du caroubier dans le monde.....	5
<b>Figure 5 :</b> Meilleurs producteurs mondiaux de caroube.....	5
<b>Figure 6 :</b> protocole expérimental .....	9
<b>Figure 7 :</b> Graines de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	10
<b>Figure 8 :</b> Gousses de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	10
<b>Figure 9 :</b> feuilles de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	10
<b>Figure 10 :</b> Rendements en extraits de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	19
<b>Figure 11 :</b> Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'acide ascorbique .....	22
<b>Figure 12 :</b> Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait aqueux des gousses.....	22
<b>Figure 13 :</b> Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait aqueux des graines.....	23
<b>Figure 14 :</b> Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait aqueux des feuilles.....	23
<b>Figure 15 :</b> Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait méthanolique des gousses.....	24
<b>Figure 16 :</b> Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait méthanolique des graines.....	24
<b>Figure 17 :</b> Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait méthanolique des feuilles.....	25
<b>Figure 18 :</b> Test de sensibilité des souches microbiennes ( <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> et <i>C. albicans</i> ) l'extrait aqueux des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i> .....	31
<b>Figure 19 :</b> Test de sensibilité des souches microbiennes ( <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> et <i>C. albicans</i> ) à l'extrait méthanolique des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i> .....	31
<b>Figure 20 :</b> Test de sensibilité des souches microbiennes ( <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> et <i>C. albicans</i> ) à l'extrait aqueux des graines de <i>Ceratonia siliqua</i> .....	31
<b>Figure 21 :</b> Test de sensibilité des souches microbiennes ( <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> et <i>C. albicans</i> ) à l'extrait méthanolique des graines de <i>Ceratonia siliqua</i> .....	32
<b>Figure 22 :</b> Test de sensibilité des souches microbiennes ( <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> et <i>C. albicans</i> ) à l'extrait aqueux des feuilles de <i>Ceratonia siliqua</i> .....	32
<b>Figure 23 :</b> Test de sensibilité des souches microbiennes ( <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> et <i>C. albicans</i> ) à l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Ceratonia siliqua</i> .....	32

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Taxonomie de caroubier <i>ceratonia siliqua</i> L.....	4
<b>Tableau 2 :</b> Production de caroube en Algérie.....	6
<b>Tableau 3 :</b> Propriétés organoleptiques des extraits.....	19
<b>Tableau 4:</b> Screening phytochimique de <i>Ceratonia Siliqua</i> L.....	20
<b>Tableau 5:</b> Activité antioxydante des extraits exprimée par l'IC <sub>50</sub> .....	26
<b>Tableau 6:</b> Diamètres de zones d'inhibition des souches microbiennes testées.....	30
<b>Tableau 7:</b> Taux d'inhibition de la croissance mycélienne .....	33



## Liste des abréviations

**FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

**Qx** : Quintal

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle)

**IC50** : Concentration inhibitrice à 50%

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**ATCC**: American Type Culture Collection.

**PDA**: Potato-Dextrose-Agar

**MH**: Muller-Hinton

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

***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*

***E. coli*** : *Escherichia coli*

***C. albicans*** : *Candida albicans*

**EM** : Extrait méthanolique

**EA** : Extrait aqueux

# *Introduction*

Les maladies infectieuses causées par les microorganismes affectent la santé des gens, et causent de lourds dégâts au niveau économique ceci est dû à la résistance aux antibiotiques. Cette résistance aux antibiotiques chez les micro-organismes pathogènes et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse (**Eloff, 1998**).

L'Algérie, avec ses milliers d'hectares de forêt et de pâturage, regorge de plantes condimentaires et médicinales qui sont encore méconnues et exploitées de façon artisanale. En effet, l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques pour l'industrie cosmétique et pharmaceutique, ainsi que pour la production alimentaire, reste un domaine vierge en Algérie (**Miara et al., 2013**).

Ce travail vise à étudier l'activité antimicrobienne, antioxydante et la caractérisation phytochimique de différents extraits de *Ceratonia siliqua L.*, appelée communément «Kharroub » provenant de la région Tawyala à Tiaret et largement utilisée en médecine traditionnelle comme un anti-diarrhéique très utile dans les gastro-entérites des nourrissons. (**Azab, 2017**).

Notre manuscrit est scindé en trois chapitres :

- Le premier chapitre comporte une partie théorique relative aux caractères botaniques de la plante étudiée, ainsi qu'aux travaux antérieurs sur cette plante.
- le deuxième chapitre expose la méthodologie et les protocoles expérimentaux suivis au cours de notre travail (Préparation des extraits, screening phytochimique, les tests antimicrobiens et antioxydants).
- Le troisième chapitre est consacré aux résultats obtenus et leurs interprétations.

Nous avons terminé notre manuscrit par une conclusion générale et des perspectives.

*Chapitre I*  
*Synthèse bibliographique*

### I.1. Description botanique

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) appartenant à la famille des *Fabaceae* ; est une espèce arborescente à feuilles persistantes et thermophiles (**Gugliuzzo et al., 2019**). C'est un arbre typiquement méditerranéen qui croît sous les climats chauds (**Benmahioul et al., 2011**).

Elle atteint des hauteurs de 10-15m (**figure 1**) et possède des couronnes larges et semi-sphériques, un tronc épais avec de nombreux lenticelles dont la base peut atteindre 2 à 3 mètres de circonférence (**Öztürk, 2011**) très crevassé, tortueux comme l'olivier, car le caroubier pousse aussi lentement et vit longtemps, jusqu'à 500 ans.

Cette espèce ligneuse a une écorce lisse et grise à l'âge juvénile et brune, rugueuse à l'âge adulte. Les arbres possèdent une racine pivotante très profonde (16 m) et forte. Son bois est blanc-jaunâtre lorsqu'il est jeune et devient rose veiné puis rouge foncé et dur en vieillissant (**Benmahioul et al., 2011**).



**Figure 1** : Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) (Originale)

Les feuilles de cette espèce sont organisées en 2-4 paires de feuilles sclérophylles coriaces composées-pennées mesurant 10-20 cm de long et 36,8 mm large. Elles sont vertes vives sur leurs faces supérieures et vertes ternes sur leurs faces inférieures et sont orbiculaires ou ovales.

Les folioles pennées sont longues de 2 à 5 cm, larges de 1,5 à 4 cm, légèrement velues, ovales et ont des bords ondulés. L'arbre fleurit en automne (septembre-octobre) et la fertilisation se produit pendant cette période.

Les fleurs sont petites et nombreuses, disposées en spirale le long de l'axe de l'inflorescence en racèmes (Öztürk, 2011). Le caroubier (figure 2) est une espèce dioïque et rarement monoïque et parfois hermaphrodite (Benmahioul et al., 2011).

Les gousses sont les fruits de caroubier (figure 3), ils sont de couleur brune foncée, allongés, comprimés, droits ou courbés et épaissis aux points de suture. Ils sont de 20-35 mm de largeur et environ 150 mm de longueur, contenant 8-12 graines aplaties ovales et de couleur brune. La partie charnue entre les graines est remplie d'une substance sucrée. Le fruit pèse environ 20 g (Öztürk, 2011).



**Figure 2 :** Feuilles de caroubier  
(Originale)



**Figure 3 :** Gousses mûres du caroubier  
(Originale)

## I.2. Classification botanique

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) doit son nom à la forme de ses gousses qui une fois arrivées à maturité, ressemblent à des cornes. Étymologiquement, le terme latin *Ceratonia* provient du grec *keratia* qui signifie petite corne. Quant au nom d'espèce *siliqua*, il désigne en latin, une silique c'est-à-dire une gousse (Batlle et al., 1997).

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (Quezel et Santa, 1963).

**Tableau 1:** Taxonomie de caroubier *ceratonia siliqua* L.

<b>Règne :</b>	<b>Plantae</b>
<b>Embranchement :</b>	<b>Spermatophytes</b>
<b>Classe :</b>	<b>Dicotylédones</b>
<b>Ordre :</b>	<b>Fabales</b>
<b>Famille :</b>	<b>Fabaceae</b>
<b>Genre :</b>	<b><i>Ceratonia</i></b>
<b>Espèce:</b>	<b><i>Ceratonia siliqua</i></b>

### I.3. Distribution géographique du caroubier

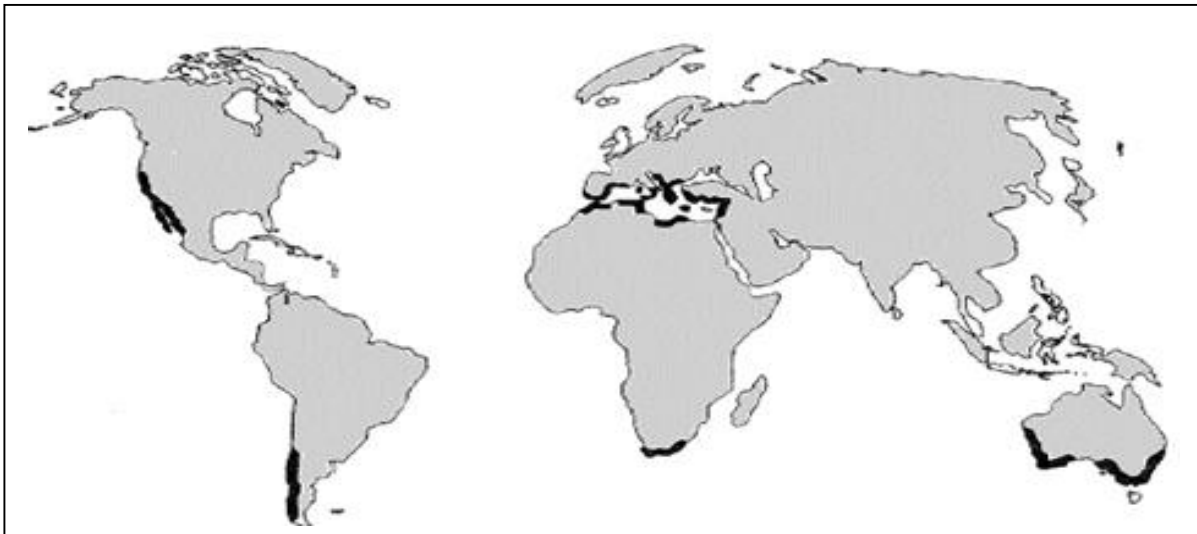
Selon **Hillcoat et al.(1980)**, le caroubier est étendu à l'état sauvage :en Turquie, Chypre, Syrie, Liban, Israël, Sud de Jordanie, Egypte, Arabie, Tunisie et Libye avant d'atteindre l'Ouest de la méditerranée. Il a été disséminé par les grecs en Grèce et en Italie et par les arabes le long de la côte Nord de l'Afrique, au Sud et à l'Est de l'Espagne. Dès lors, il a été diffusé au Sud du Portugal et au Sud-Est de France.

Le caroubier a été, également, introduit avec succès dans plusieurs autres pays ayant un climat méditerranéen. C'est le cas en Australie, en Afrique du Sud, aux Etats Unis (Arizona, Californie du Sud), aux Philippines et en Iran (**Evreinoff, 1947; Batlle et al ., 1997** ).

Généralement, la distribution des espèces arborescentes, telle que *C. siliqua* est limitée par des stress liés aux froids (**Mitrakos, 1981**). En effet, l'espèce *C. oreothauma* qui semble être plus sensible au froid a une répartition restreinte et limitée seulement à Oman et à la Somalie (**Hillcoat et al., 1980**). Dans les zones basses méditerranéennes (0-500 m rarement 900 m d'altitude). Le caroubier constitue une essence dominante et caractéristique du maquis des arbres sclérophylles (**Zohary et Orshan, 1959 ; Folchi 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 le pistachier *Pistacia Atlantica* dans les étages semi-arides chauds, subhumides et humides à une altitude allant de 100 à 1300 m dans les vallons frais

qui le protègent de la gelée (**figure 4**) avec une température de 5°C jusqu'à 20°C et une pluviométrie de 80mm à 600mm/an (**Rebour, 1968**).

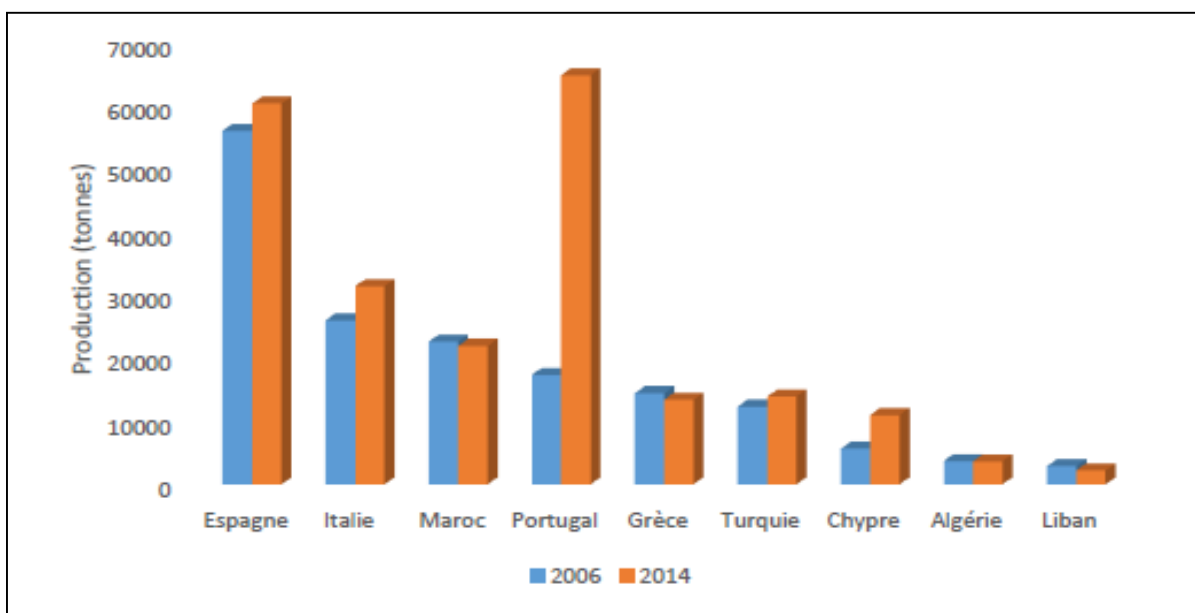


**Figure 4** : Répartition géographique du caroubier dans le monde (**Battle et al., 1997**)

#### I.4. Production de caroubier

##### I.4.1. Production dans le monde

Les statistiques présentées par l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture FAO datent de 2017, la production mondiale de caroube (pulpe) est estimée à 136 540 tonnes dont le Portugal (30,69%) est le premier producteur mondial suivi de l'Italie (21,17%) puis du Maroc (16,10%) (**figure 5**).



**Figure 5** : Meilleurs producteurs mondiaux de caroube entre l'année 2006 et 2014 (FOASTAT, 2017)



### I.4.2 .Production en Algérie

La production nationale de caroube (**tableau 2**) est estimée à 33841 qx et se concentre principalement dans la wilaya de Bejaia avec une production de 18.417 qx, ce qui représente 54,42 % de la production nationale suivie par la wilaya de Blida (23,79%) et Tipaza (16,55%).

**Tableau 2** : Production de caroube en Algérie (FAOSTAT, 2010)

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	40,0
Bouira	22	144	6,9
Mila	10	80	8,0
Tlemcen	5	100	20 ,0
B Arreridj	4	20	5,0
Ain defla	2	300	150
Mascara	1	30	30,0
Tizi Ouzou	1	20	20,0
<b>Total</b>	<b>927</b>	<b>33841</b>	<b>36,5</b>

### I.5. Utilisation et vertus thérapeutiques du caroubier

Le caroubier est un arbre d'une d'importance écologique, industrielle et ornementale indiscutable (**Hariri et al., 2009**). L'utilité des différentes parties du caroubier (feuilles, fleurs, fruits, bois, écorces et racines) rend ce dernier l'un des arbres fruitiers et forestiers les plus performants (**Aafi, 1996**).

Les fleurs de l'arbre du caroubier sont utilisées par les apiculteurs pour la production du miel de caroube, alors que les feuilles sont utilisées 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**).

La farine de caroube est utilisée de nos jours dans l'industrie agro-alimentaire comme additif (code E410) pour les glaces, les pâtisseries, les aliments diététiques (la caroube est dépourvu de gluten) (**Sbay et Abourouh, 2006**). Également comme succédané de cacao (**Berrougui, 2007**). Elle est aussi utilisée dans le domaine de l'impression, la photographie, le textile, la pharmacie et la cosmétique (**Batlle et Tous, 1997**).

De nombreuses études cliniques ont souligné l'efficacité de la poudre de caroube dans le traitement des diarrhées aiguës infantiles (**Hostettler et al., 1995**). Une étude récente présentée par **Sanchez et al. (2010)** montre que le caroube est une source de production de bioéthanol.

Cette plante possède en thérapeutique un effet hypocholestérolémiant (**Ruiz Roso et al., 2010**), hypoglycémiant (**Ahangarpour et al., 2017 ; Al-khazraji, 2018 et Rtibi, 2018**), antiprolifératif (**Ghanemi et Belarbi, 2021**), anti inflammatoire (**Lachkar et al., 2016**), antioxydant (**Custódio, 2015 ; Zahra et al., 2021**) et antimicrobien (**Haidar et Al-Taie, 2009 ; Ben hsouna et al., 2012**).

*Chapitre II*  
*Matériel et Méthodes*

### **II.1. Objectif de travail**

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation du patrimoine naturel Algérienne dont les objectifs principaux peuvent se résumer ainsi:

- Préparation des extraits bruts (extraits aqueux et méthanolique) des graines, des gousses et des feuilles de *Ceratonia siliqua* L. ;
- Etude phytochimique de la plante;
- Évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits de la plante par le test DPPH ;
- Évaluation « *in vitro* » de l'activité antimicrobienne des extraits de *Ceratonia siliqua* L.

### **II.2. Lieu et période de l'étude**

Nos essais expérimentaux se sont étalés sur une durée d'un mois (19 février 2023 à 21 mars 2023). Ils ont été réalisés au niveau des laboratoires de Technologie alimentaire, Biochimie et de Microbiologie, du département des Sciences de la Nature et de la Vie, Université IBN Khaldoun de Tiaret.

Le protocole expérimental suivi pour réaliser cette étude est mentionné dans la **figure 6**.

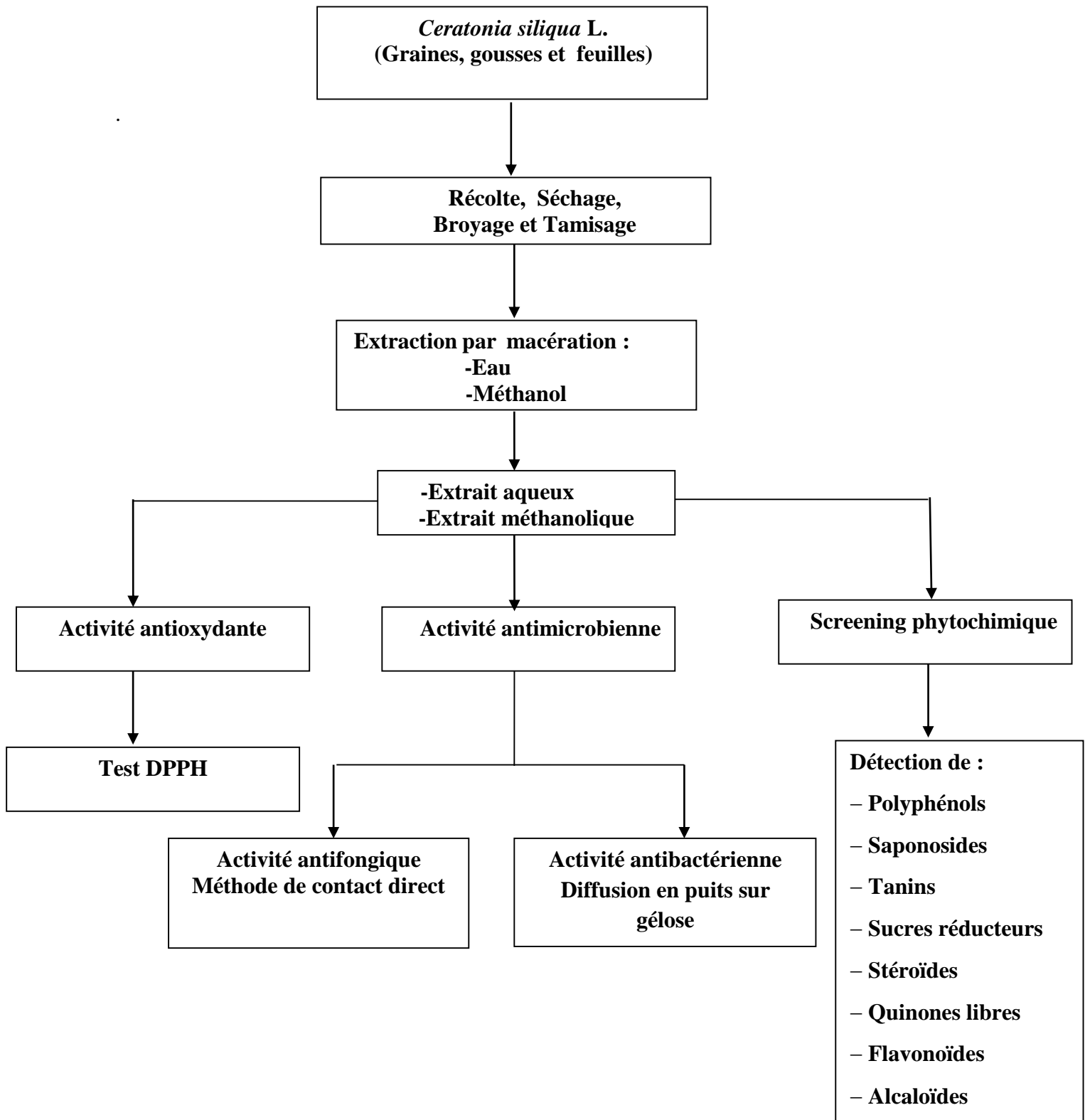


Figure 6:protocole expérimental

## II.3. Matériel

### II.3.1. Instruments et réactifs : (Annexe A: TableauA1)

### II.3.2. Matériel biologique

#### II.3.2.1. Matériel végétal

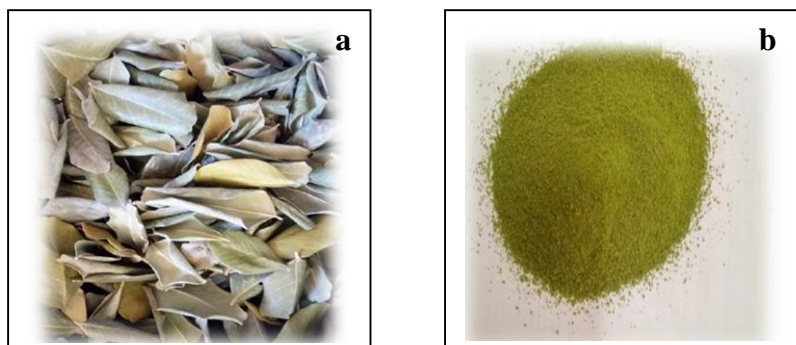
Notre étude a été portée sur un arbre fruitier méditerranéen *Ceratonia siliqua* L., communément appelée Kharroub. Les différentes parties (graines, gousses et feuilles) de *C.siliqua* ont été récoltées au mois de juillet 2022 dans la région Tawyala wilaya de Tiaret. Les échantillons séchés sont broyés dans un broyeur électrique (figures 7, 8,9) puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à température ambiante jusqu'à son utilisation.



**Figure 7 :** Graines de *C.siliqua* L. (**a** : avant le broyage, **b** : après le broyage)



**Figure 8 :** Gousses de *C.siliqua* L. (**a** : avant le broyage, **b** : après le broyage)



**Figure 9:** Feuilles de *C.siliqua* L. (**a** : avant le broyage, **b** : après le broyage)

### II.3.2.2. Matériel microbiologique

L'activité antimicrobienne est effectuée sur deux souches bactériennes (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ), deux souches fongiques (une levure de référence *Candida albicans* ATCC 24433 et une moisissure *Fusarium oxysporum*). Les souches utilisées proviennent du laboratoire de microbiologie de l'université IBN Khaldoun -Tiaret.

### II.4.2. Préparation des extraits bruts par macération

Les différentes parties (graines, gousses et feuilles) de *C.silqua* L. ont été exploitées pour préparer des différents extraits.

#### II.4.2.1. Extrait aqueux

50 g de poudre végétale (grains, gousses et feuilles) dissous dans 500 ml d'eau distillée et placés sous agitation mécanique pendant 24 heures à température ambiante. L'ensemble est filtré sur du papier filtre afin de séparer le marc du filtrat, ce filtrat a été ensuite séché dans une étuve à 50 °C (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**). Les extraits obtenus sont ensuite stockés à température -4°C à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation (**Madi, 2010**).

#### II.4.2.2. Extrait méthanolique

Une prise d'essai de 50 g de la matière végétale (grains, gousses et feuilles) a été mise à macérer dans 500 ml de méthanol absolu et placés sous agitation mécanique pendant 24 heures à température ambiante. L'extrait obtenu a été filtré et évaporé à sec sous pression réduite à 52°C au rotavapeur pour obtenir un extrait sec (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**).

#### II.4.2.3. Calcul du rendement en extraits

Le rendement de la plante en extraits est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter .Le rendement est exprimé en pourcentage est calculé comme suit :

$$R\% = PE/PA \times 100$$

Où

**R:** Rendement de l'extrait en pourcentage;

**PE:** Poids de l'extrait en gramme;

**PA:** Poids de la plante en gramme.

### II.4.3. Screening phytochimique

C'est l'ensemble des tests qui consiste à détecter les différentes familles chimiques présentes dans la plante par réaction de précipitation ou coloration à l'aide de réactifs spécifiques à chaque famille de composés (**Harbone, 1973**).

- **Quinones libres**

Quelques gouttes de NaOH 1/10 sont ajoutées à l'extrait évaporé à sec. La présence de quinones libres est révélée par un virage de la couleur des phases aqueuses au jaune, rouge ou violet (**Dahou et al., 2003; Ould Abdellahi et al., 2017**).

- **Tanins**

Préparer l'infusion de la plante en poudre à 10% (2 g de la poudre sèche sont recouvertes de 20 ml d'eau très chaude ou bouillante), après 5 à 6 minutes, on remue légèrement et on filtre. Une portion du filtrat est diluée avec de l'eau distillée dans un rapport de 1:4, puis on ajoute trois gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 10 %. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés) (**Diallo et al., 2004; Bouchouka, 2016**).

- **Saponines**

L'extrait est repris dans 5 ml d'eau distillée dans un tube à essai. Le tube est agité vigoureusement pendant environ 30 secondes puis on laisse reposer une demi-heure. Une mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence des saponines (**Vigor et al., 2011**).

- **Flavonoïdes**

Macérer 2g de la plante en poudre dans 40ml de HCl dilué 1% pendant 24h. Prendre 10 ml du filtrat, le rendre basique par l'ajout d'une solution NH<sub>4</sub>OH. L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes (**Bouchouka, 2016**).



#### ▪ Stérols et Triterpènes

L'extrait est dilué dans 2 ml d'anhydride acétique. L'ajout de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré permet l'apparition d'une coloration violette qui indique la présence de triterpènes, ou une coloration verte qui indique la présence de stérols (**Koffi et al., 2009**).

#### ▪ Alcaloïdes

Macérer 5g de la poudre sèche dans 50 ml de HCl à 1%, pendant 2h. Après filtration, on ajoute au filtrat, le réactif de Mayer (quelques gouttes). L'apparition d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes (**Bouchouka, 2016**).

#### ▪ Sucres réducteurs

À 5 ml de chaque extrait sont additionnés 5 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (**Trease et Evans, 1978 ; Yamini et al., 2011**).

#### II.4.4. Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du Piégeage du radical libre DPPH (Diphényle-picryl-hydrazyl)

L'activité antioxydante a été évaluée in vitro par la méthode de piégeage du radical DPPH. Le pouvoir antioxydant des produits testés a été comparé à un antioxydant de synthèse (Acide ascorbique).

#### Principe

Le diphényle picryl-hydrazyle (DPPH) est un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**)).

## Mode opératoire

Le test utilisant le DPPH a été réalisé en suivant la méthode décrite par **Burits et Bucar, (2000)** où 250µl de chacune des dilutions des produits testés sont mélangés dans la cellule placée dans la cuvette du spectrophotomètre avec 1750 µl d'une solution méthanolique de DPPH. Après une période d'incubation de 30 minutes, à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 517nm. Les expériences sont réalisées en 3 répétitions.

L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti radicalaire} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Où :

**Abs contrôle** : Absorbance du témoin (DPPH) au temps zéro avant addition de l'échantillon à tester ;

**Abs échantillon** : Absorbance de l'échantillon testé après 30 minutes.

Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures  $\pm$  écart - type.

Les concentrations en extraits testés et en témoins positifs, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir le paramètre IC<sub>50</sub>. L'IC<sub>50</sub> est définie comme étant la concentration d'extrait nécessaire pour piéger 50% des radicaux DPPH (**Torres et al., 2006 ; Sharififar et al., 2007**).

## II.4.5. Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

### II.4.5.1. Souches microbiennes étudiées et milieux de culture utilisés

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits de *Ceratonia siliqua* L sont les suivants :

- Deux souches bactériennes de collections internationales ATCC (American Type Culture Collection) : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC6538 .
- Deux souches fongiques : une levure de référence *Candida albicans* ATCC 24433 et une moisissure *Fusarium oxysporum*.

Trois milieux de culture ont été utilisés :

- Muller-Hinton pour les bactéries ;
- Sabouraud pour les levures ;
- Potato-Dextrose-Agar (PDA) pour les champignons ;

#### II.4.4.2. Préparation de l'inoculum

Les suspensions microbiennes ont été effectuées en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques d'une culture jeune de 18 h pour les bactéries et 72 h pour les champignons, les mettre ensuite dans 9 ml d'eau physiologique stérile. La lecture de la densité optique est effectuée en utilisant un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm. Les suspensions sont ajustées à  $10^5$  spores/ml pour les moisissures et  $10^8$  germes/ml pour les bactéries.

#### II.4.4.3. Préparation des extraits

A l'issue de notre expérimentation, nous avons respectivement repris nos extraits méthanolique et aqueux de *Ceratonia Siliqua* L. avec 1ml de DMSO à des concentrations de 200 mg/ml, 100mg/ml, 50mg/ml et 25 mg/ml.

#### II.4.4.4. Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits (Méthode de diffusion en puits sur gélosé)

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en puits sur gélose telle que décrite par **Güven et al., 2006** avec quelques modifications.

Le milieu gélose Mueller Hinton est coulé sur boîte de pétri à une épaisseur de 15 mm, après inoculation par écouvillonnage d'une dilution du 100 µl de microorganisme à tester réalisée suivant une échelle de Mac Ferland, des puits de 6 mm de diamètre sont réalisés de manière concentrique sur les milieux puis, mètre 0.1 ml de chaque concentration dans chaque puits au centre. Après une pré-diffusion de 45 minutes à température ambiante, les souches sont incubées à 37C° pendant 24 heures.

La sensibilité a été évaluée en mesurant le diamètre d'inhibition (exprimés en mm).

Des disques imprégnés de DMSO et de méthanol (témoins négatifs) sont aussi utilisés. Toutes les déterminations sont faites triplicata.

L'interprétation de nos résultats s'est faite par la comparaison avec ceux de l'échelle de mesure mises en place par **PONCE et al. (2003)** :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm ;
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm ;
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

#### II.4.4.5.Évaluation de l'activité antifongique des extraits (Méthode de contact direct)

L'évaluation de l'activité antifongique des extraits a été réalisée par la méthode de contact directe décrite par **Mishra et Dubey (1994)** rapporté par **Tatsadjieu et al. (2010)**.

Un volume de 1000 µl de chaque concentration (200 mg/ml, 100mg/ml, 50mg/ml et 25 mg/ml) des extraits méthanoliques et aqueux, est incorporé séparément dans des tubes contenant 20 ml du milieu PDA maintenu en surfusion. Chaque tube est homogénéisé instantanément par agitation manuelle puis son contenu est coulé dans une boîte de Pétri. Un disque mycélien de diamètre de 6mm, prélevé de la culture jeune du *Fusarium oxysporum* a été inoculé.

La lecture des résultats a été faite après 7 jours d'incubation à 25 °C par mesure du diamètre des zones de croissance. Parallèlement, le diamètre de la zone de croissance des mêmes souches fongiques en absence d'extrait ont été déterminé.

L'effet antimicrobien de nos extraits sur la croissance de la souche filamenteuse est déterminé par la mesure du taux d'inhibition de la croissance en utilisant la formule d'Ebbot (**kumar et al., 2007**) :

Où :

$$T (\%) = (D-D_i)/D.100$$

**D** : Diamètre moyen de 3 répétitions de la croissance mycélienne estimé du champignon testé sur milieu témoin (mm) ;

**D<sub>i</sub>** : Diamètre moyen de 3 répétitions de la croissance mycélienne de boîte traitées avec l'une des concentrations de l'extrait (mm) ;

**T**: Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage.

L'activité antifongique des extraits de plantes étudiées a été évaluée selon le pourcentage de l'inhibition de la croissance diamétrale des talles (%) :

- 30 à 40 %: faible activité,
- 50 à 60 %: activité modérée,
- 60 à 70 %: bonne activité,
- >70 %: excellente activité (**Abdellatif et al., 2011**).

#### **II.4.4.6. Etude statistique**

Pour mieux valoriser nos résultats, nous avons procédé à l'analyse de la variance ANOVA. Cette méthode statistique permet de comparer les moyennes de plusieurs échantillons supposés indépendants à l'aide du logiciel SPSS 20. L'analyse de la variance est suivie par le teste NEWMAN et KEULS qui permet de distinguer les groupes homogènes en comparant les probabilités de la manière suivante :

- Si  $p > 0.05$  : résultat non significatif.
- Si  $p < 0.05$  : résultat significatif.

*Chapitre III*  
*Résultats et discussion*

### III.1. Détermination de rendement d'extraction

Pour l'obtention de différents extraits secs bruts préparés à partir des poudres (graines, gousses et feuilles) de *Ceratonia siliqua* L., nous avons réalisé des extractions aqueuses (avec l'eau distillée) et organique (avec le méthanol).

Les résultats obtenus montrent que le rendement en extraits des graines, des gousses et des feuilles de *Ceratonia siliqua* L. varie en fonction du solvant utilisé (**Figure 10**). Le rendement de l'extrait méthanolique de feuilles a montré une rentabilité importante (36,8%), suivi par l'extrait métanolique de gousses (25,2%).

L'extrait aqueux des graines de *C.siliqua* représente le rendement le plus faible avec une valeur de 5,92% en comparaison avec les autres extraits de la plante. Ce rendement est relativement inférieur à ceux obtenus sur la même plante originaire de Tabarka (Nord-Ouest de la Tunisie), où le rendement en extraits aqueux des feuilles était de 10 %.

D'après **Spizzirri et ses collaborateurs (2022)**, les rendements des extraits des feuilles de deux variétés de *C.siliqua* (*Amele* et *selvatica*) récoltées dans la région sud de l'Italie étaient de 14.7% et 7% respectivement en utilisant une extraction par ultrasons dans l'éthanol.

Dans l'étude de **Ydjedd et al. (2017)**, le rendement d'extraction de fruit de caroubier cultivé à Bejaia (Algérie) était de 0,80 % pour l'extraction par acétate d'éthyle contre 53,06 % pour l'extraction par acétone 70 %. Une autre étude réalisée par **Alabdallat et Bילו (2013)** sur le fruit de *Ceratonia siliqua* collecté en Jordanie a montré un rendement de 23.2 % en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction.

Cette variabilité de rendement dépend strictement de la polarité de solvant, des techniques d'extraction, de la température, la pression, le temps ainsi que de la composition chimique de l'échantillon (**Alabdallat et Bילו., 2013**).

Le rendement des extractions aqueux et méthanoliques de *Ceratonia siliqua* sont illustrés dans la **figure 10**.

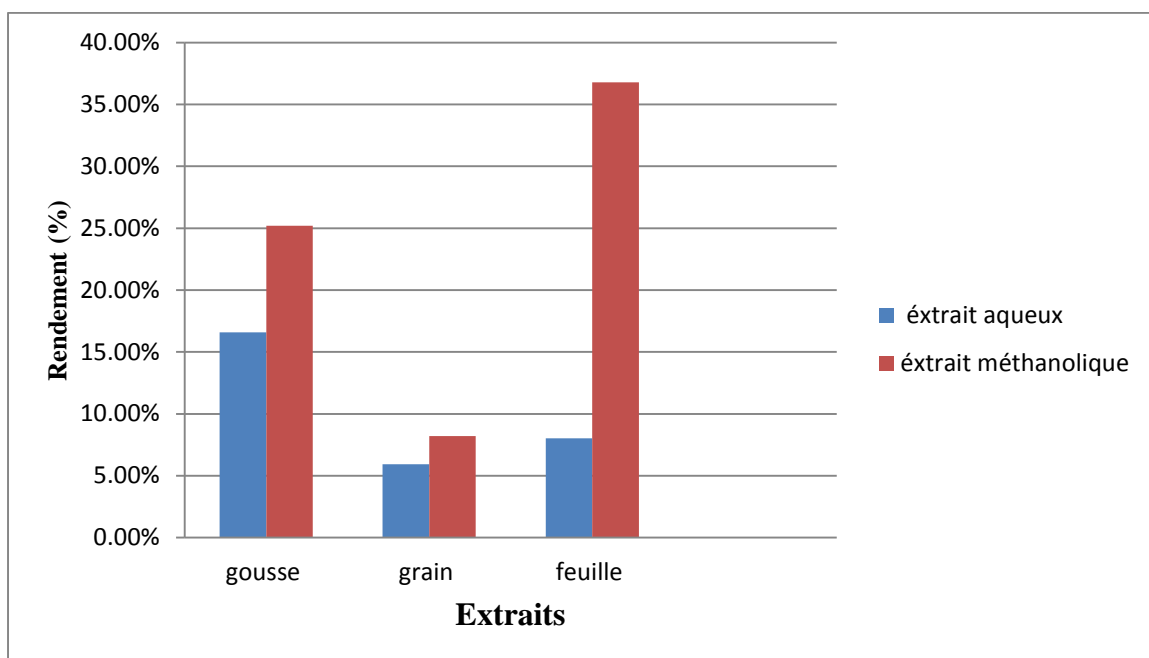


Figure 10 : Rendements en extraits de *Ceratonia siliqua* L.

### III.2. Caractéristiques organoleptiques des extraits

Les caractéristiques organoleptiques des extraits sont résumées dans le tableau.

Tableau 3 : Propriétés organoleptiques des extraits

Extraits	Extrait aqueux			Extrait méthanolique		
	Graines	Gousses	Feuilles	Graines	Gousses	Feuilles
Aspect	poudre	poudre	Poudre	pâteux	pâteux	Pâteux
Couleur	marron	marron miel	Jaune	jaune	marron foncé	Vert foncé

### III.3. Screening phytochimique

Les tests phytochimique consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par des réactions qualitatives de caractérisation en tube. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques.

Les résultats de criblage phyochimique de nos extraits motionnés dans le **tableau 4** montrent la présence ou l'absence de certains groupes chimiques.



Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la richesse du *C.Siliqua* L. en diverses classes de métabolites secondaires dans les trois parties (graines, gousses et feuilles).

Au regard des résultats du tableau 4, il ressort que les extraits aqueux et méthanoliques bruts des graines, des gousses et des feuilles sont riches et abondants en substances bioactives. Le méthanol et l'eau s'avèrent donc des solvants de choix pour l'extraction des métabolites secondaires de *Ceratonia Siliqua* L.

Les tests de recherches des flavonoïdes se sont révélés négatifs dans les deux extraits aqueux et méthanoliques des graines. Cependant, ces résultats restent différents à ceux rapportés par (Letkesses et Ladraa, 2017), où les essais phytochimiques ont révélé la présence des flavonoïdes en grande quantité dans les extraits méthanoliques des gousses et des graines de *Ceratonia siliqua* L.

**Tableau 4 :** Screening phytochimique de *Ceratonia Siliqua* L.

Métabolites secondaires	Extrait aqueux			Extrait méthanolique		
	Graines	Gousses	Feuilles	Graines	Gousses	Feuilles
<b>Quinones libres</b>	-	+	+++	-	+	++
<b>Tanins</b>	++	+++	+++	+	++	+
<b>Saponines</b>	-	+	+++	++	++	+++
<b>Flavonoïdes</b>	-	+	+	-	+++	+
<b>Stérols et triterpènes</b>	-	-	+++	+++	+++	+++
<b>Alcaloïdes</b>	+	+++	+++	+	++	-
<b>Sucres réducteurs</b>	-	+++	-	-	+++	-

(+) : présence (++) : présence considérable (+++) : abondance (-) : absence

Plusieurs travaux ont rapporté la richesse de caroubier en flavonoïde (**Kumazawa et al., 2002**)

Selon **Bouchena et Ouaffai, (2022)** , le criblage phytochimique des extraits aqueux des gousses de *Ceratonia siliqua* L. a permis de mettre en évidence des tanins, des saponosides, des flavonoïdes, des coumarines, des glycosides cardiaques, des mucilages, des protéines(contenant du soufre), des triterpénoïdes et des sucres réducteurs, par contre , les anthocyanes, les monosaccharides , les alcaloïdes et les quinones libre sont pas présent.

Cette différence peut être due aux conditions environnementales (climat, site biogéographique, altitude) aux cultivars de caroubier, la durée de maturation (nos gousses sont brunes donc matures), au moment de la récolte et à la durée de stockage (**Berghida et Zineddine, 2017**).

La présence de ces molécules phytochimiques dans *C.siliqua* L. montre que cette plante a des différentes activités biologiques importantes: antiseptiques, antifongiques, anti-inflammatoires, bactéricides et antibiotiques (**Belboukhari et al., 2013**).

#### **III.4. Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du Piégeage du radical libre DPPH**

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée in vitro par spectrophotométrie en suivant la réduction du radical DPPH, qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm (**Yi et al., 2008**). Le DPPH est un radical libre nous permettant de déterminer le potentiel de piégeage des extraits grâce à sa sensibilité à détecter les composants actifs à de faibles concentrations (**Hidayat et al., 2017**).

Les résultats de l'activité de piégeage du radical DPPH par les extraits des graines, des gousses et des feuilles de *Ceratonia siliqua* L. et les témoins positifs sont rapportés dans les figures 11, 12, 13, 14,15, 16 et 17.

Les résultats montrent que l'évolution de l'activité antiradicalaire est dose-dépendante, elle s'accroît avec l'augmentation des concentrations des extraits dans le milieu réactionnel.

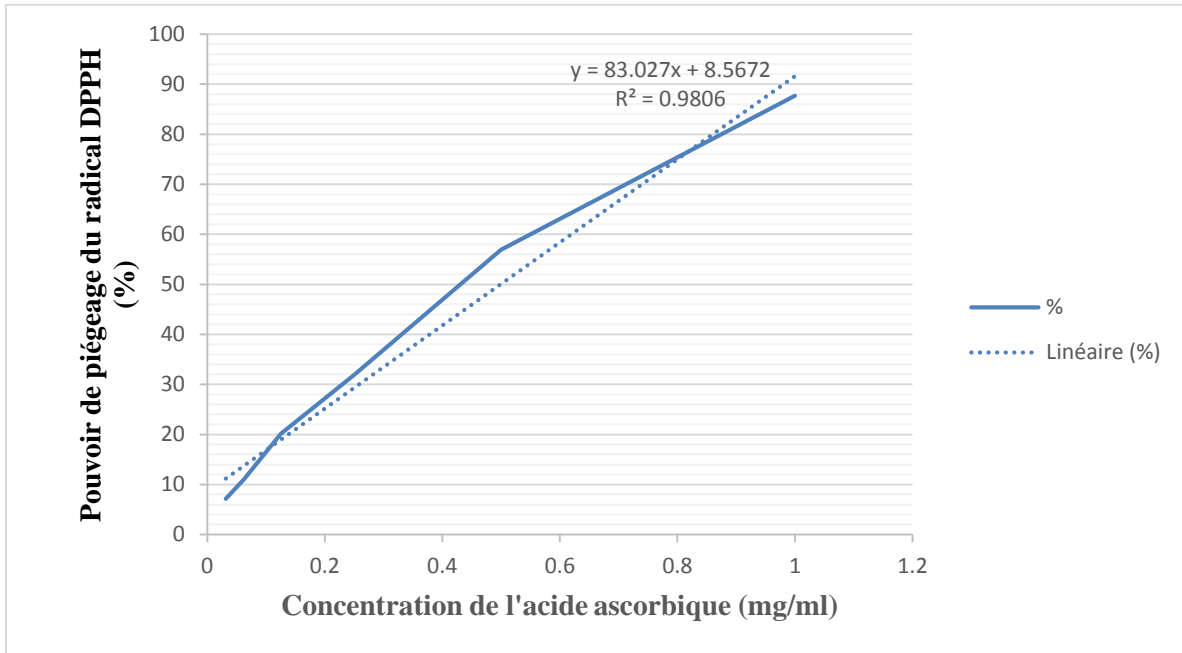


Figure 11: Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'acide ascorbique (témoin positif)

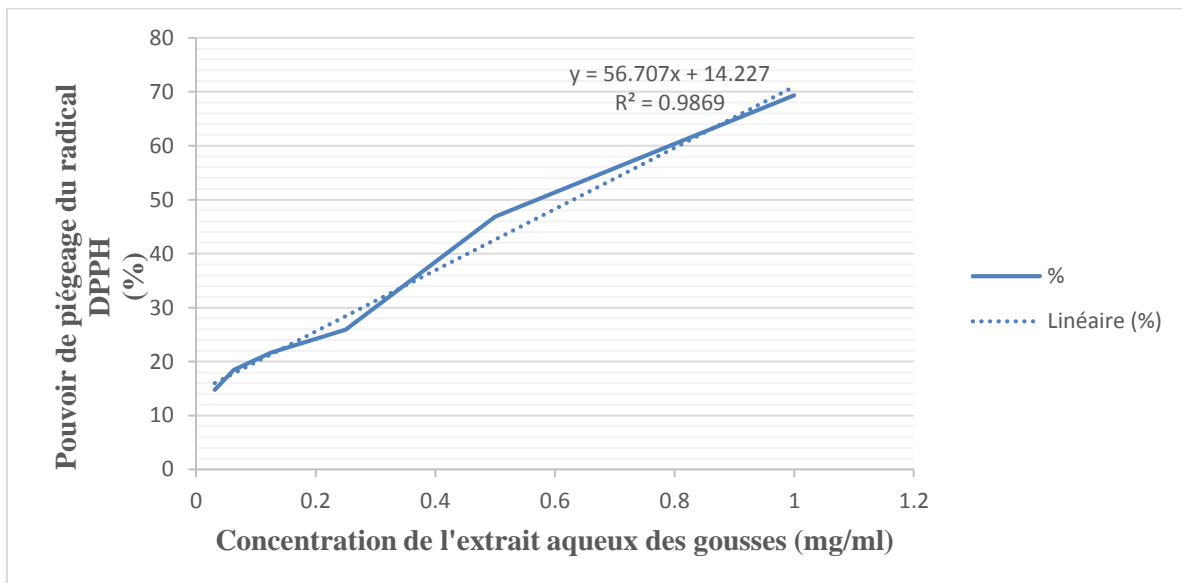


Figure 12 : Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait aqueux des gousses

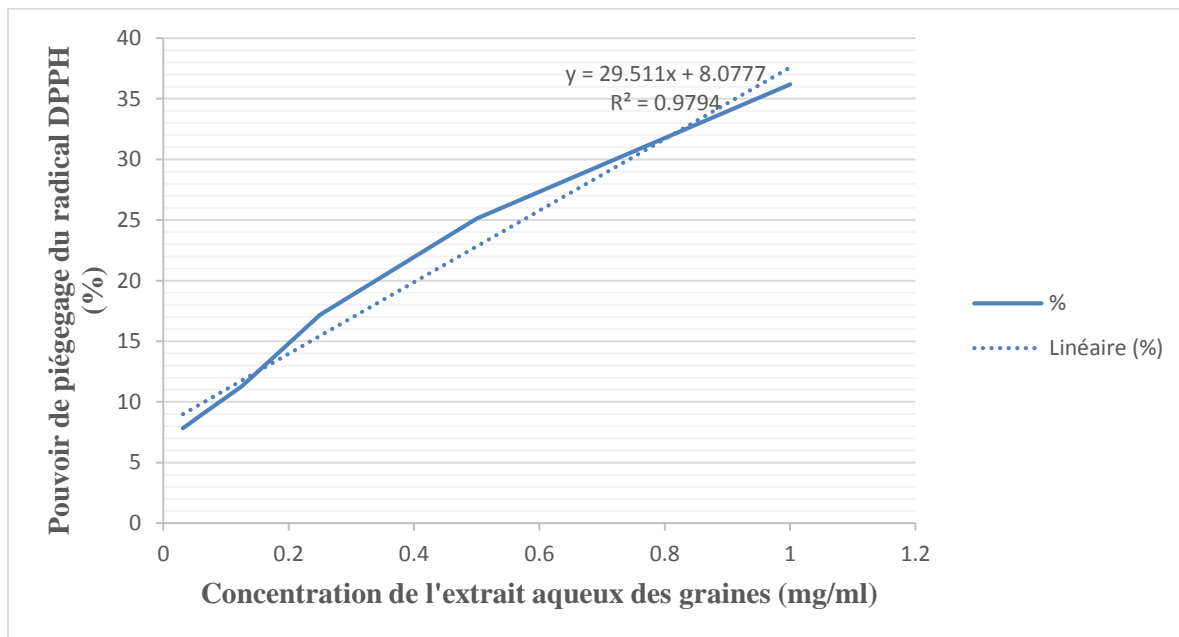


Figure 13: Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait aqueux des graines

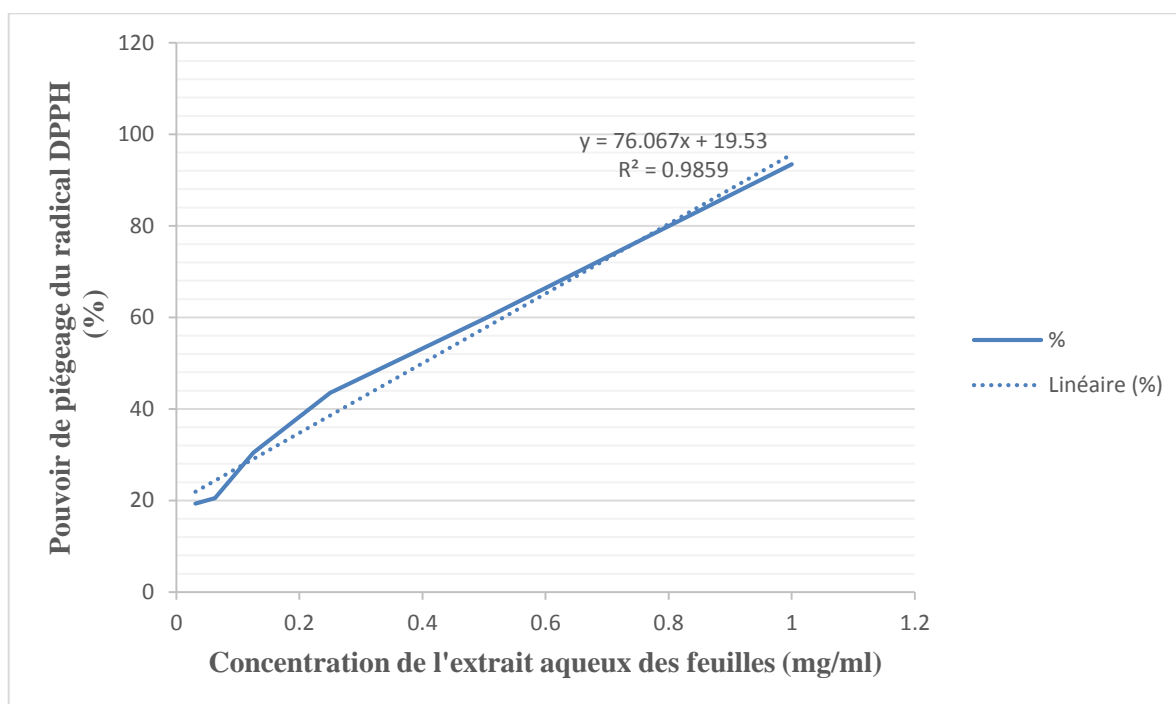


Figure 14 : Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait aqueux des feuilles

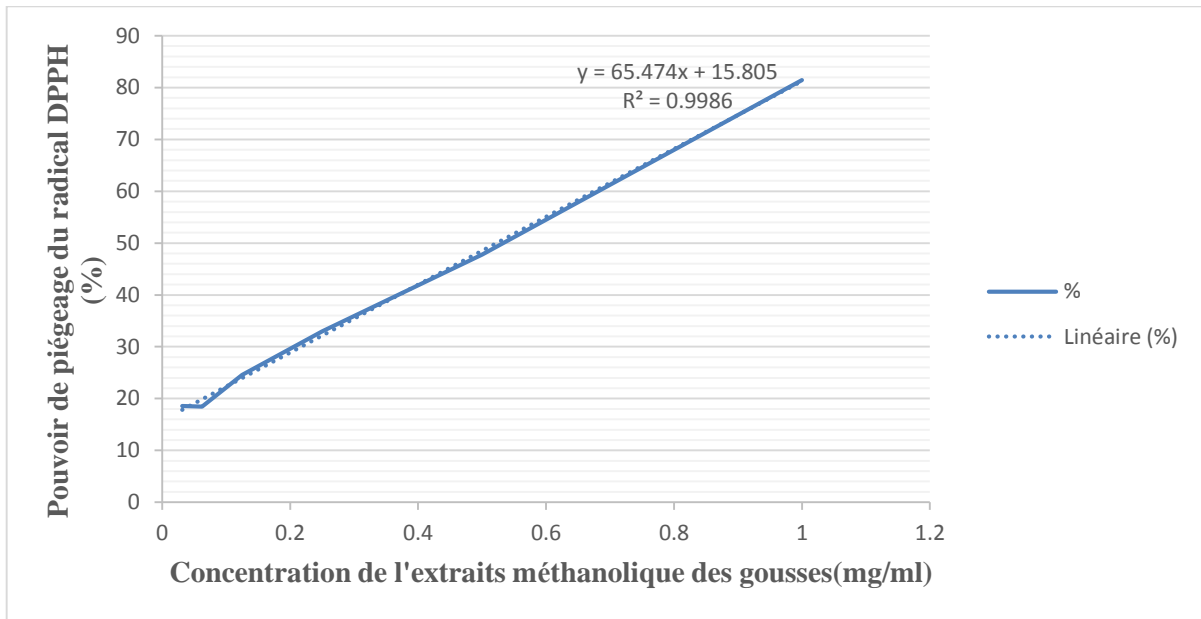


Figure 15: Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait méthanolique des gousses

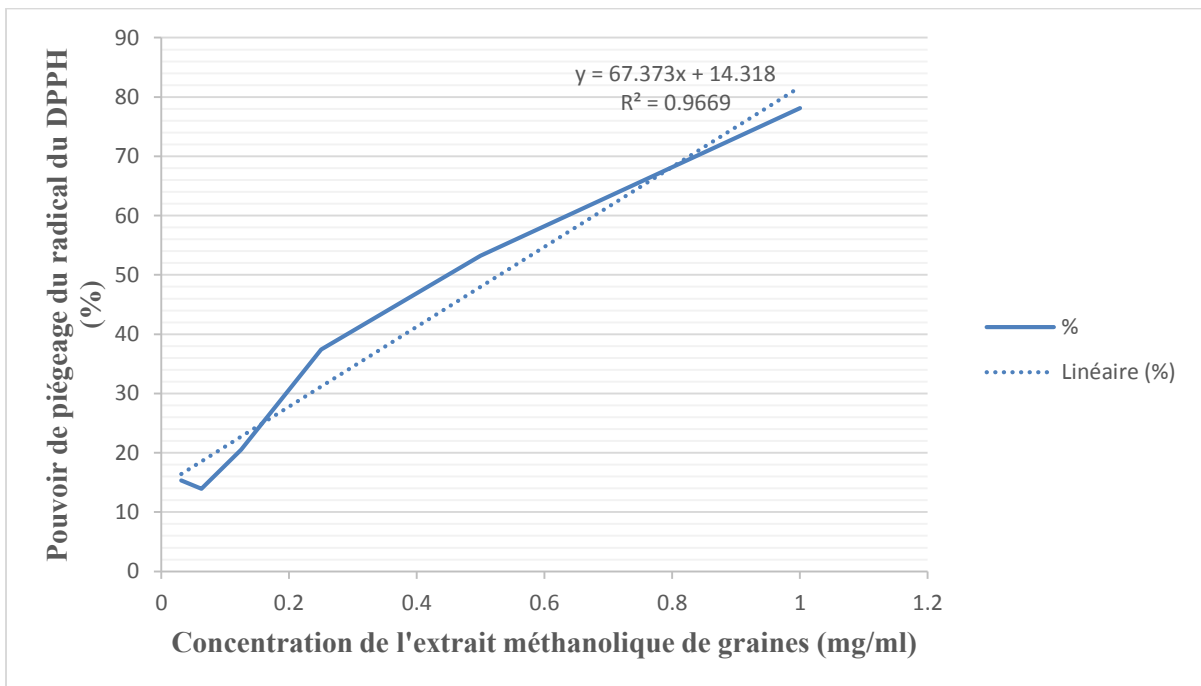
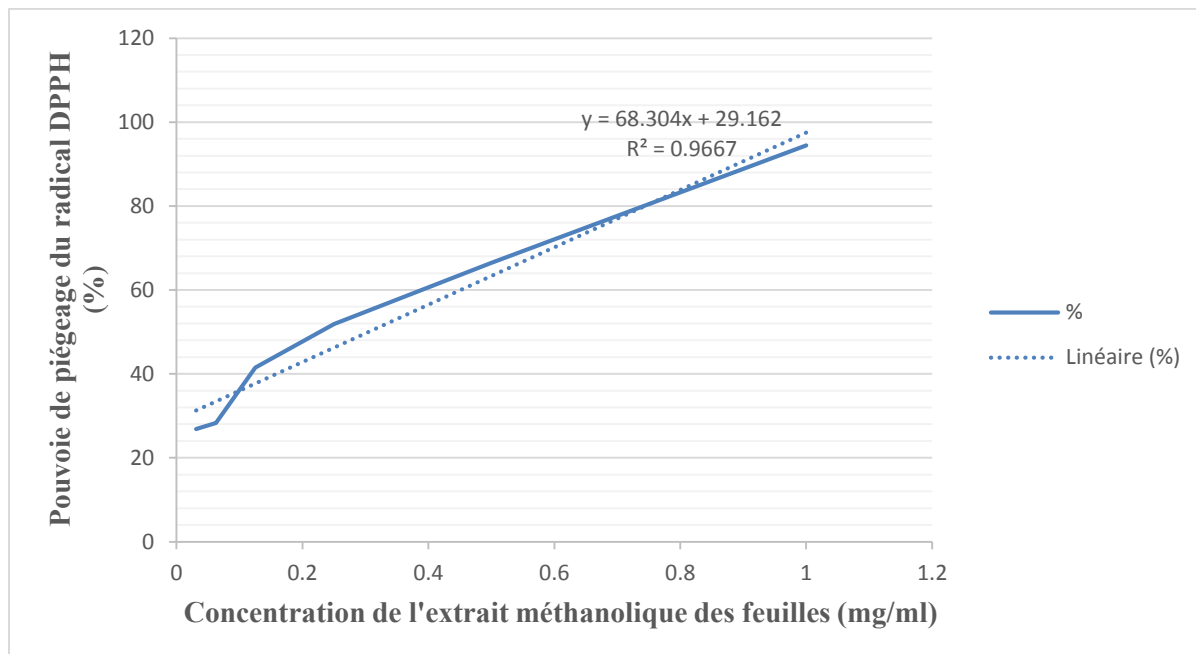


Figure 16: Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait méthanolique des graines



**Figure 17:** Pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait méthanolique des feuilles

L'analyse statistique ( $p < 0,05$ ) (Annexe C) montre que l'interaction des variables étudiées (la nature de l'antioxydant et la concentration) ont un effet significatif sur le pouvoir de piégeage du radical DPPH. Le test Newman Keuls nous a permis de classer ces variables selon leurs pouvoirs de piégeage du radical DPPH comme suit :

Nature des antioxydants : Extrait aqueux des graines < Extrait aqueux des gousses < Extrait méthanolique des graines = Acide ascorbique < Extrait méthanolique des gousses < Extrait aqueux des feuilles < Extrait méthanolique des feuilles ;

- Les concentrations  $0,03125 < 0,0625 < 0,125 < 0,25 < 0,5 < 1$  mg/ml.

Les résultats montrent que les extraits polaires méthanoliques et aqueux possèdent des capacités de neutralisation du radical libre DPPH intéressantes, puisqu'ils agissent à faibles doses.

Nous remarquons aussi que c'est l'extrait méthanolique des feuilles qui est le piègeur du radical DPPH le plus puissant parmi les autres extraits utilisés.

Le test de Student–Newman-Keuls (**Annexe C**), montre que l'extrait méthanolique des graines et l'acide ascorbique sont homogènes mettant en évidence leurs pouvoirs de piégeage du radical DPPH similaires.

#### III.4. 1. Activité antioxydante des extraits exprimée par l'IC<sub>50</sub>

L'activité antioxydante des extraits testés est aussi exprimée par l'IC<sub>50</sub> (**tableau 5**). La valeur de chaque IC<sub>50</sub> exprime la concentration de l'extrait exigé pour réduire 50% de DPPH en solution. L'IC<sub>50</sub> et l'activité antioxydante des extraits testés sont inversement proportionnels (**Pokorny et al., 2001 ; Prakash et al., 2007**).

**Tableau 5:** Activité antioxydante des extraits et des témoins positifs exprimée par l'IC<sub>50</sub> (mg/ml)

Extraits et témoin positif		IC <sub>50</sub> (mg/ml)
<b>Extrait aqueux</b>	Gousse	0,6308
	Grain	1,4206
	Feuille	0,4006
<b>Extrait méthanolique</b>	Gousse	0,5176
	Grain	0,5296
	Feuille	0,3051
<b>Témoin positif</b>	Acide ascorbique	0,4991

La comparaison des extraits testés révèle que l'extrait méthanolique des feuilles représente l'extrait le plus actif avec une IC<sub>50</sub> de (0,3051 mg/ml), suivi par l'extrait aqueux des feuilles avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de (0,4006 mg/ml). L'extrait aqueux des graines représente l'activité anti radicalaire la plus faible avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de (1,4206 mg/ml).

Les composés phénoliques semblent être très performants pour leurs activités antioxydantes du fait de la présence de nombreux hydroxyles, pouvant réagir avec les radicaux libres (**Klervi, 2005 ; Panovska, 2005 ; Sokol-Letowska et al., 2007**). L'activité antiradicalaire des extraits polaires méthanoliques et aqueux est probablement liée à leur contenu en polyphénols et en flavonoïdes.

Une étude menée par **Abidar et al. (2020)** sur l'extrait aqueux des feuilles de *Ceratonia siliqua* L. a montré que la teneur en polyphénols totaux était de  $52.95 \pm 0.141$  mg EAG (équivalent acide gallique)/g Poids Sec. Ainsi, dans l'étude de **Hsouna et al. (2011)**, la teneur des polyphénols dans l'extrait brut de feuilles/fraction d'eau était de  $130 \pm 5.62$  mg EAG/g PS.

**Letkesses et ladraa, (2017)** ont montré que les extraits méthanoliques des gousses et des graines de *Ceratonia siliqua* L. possèdent une activité anti radicalaire avec un IC<sub>50</sub> de l'ordre de 0,446 mg/ml pour les gousses et 0,480 mg/ml pour les graines. En comparaison avec l'antioxydant standard (l'Acide ascorbique) qui démontre un IC<sub>50</sub>% = 0,038 mg/ml.

La différence dans le contenu phénolique y compris les flavonoïdes peut être attribuée à plusieurs facteurs à savoir la méthode d'extraction et la méthode de quantification. Par ailleurs, les facteurs climatiques et environnementaux (la zone géographique, la sécheresse, la température, l'altitude, l'ensoleillement et la précipitation), la variété, l'origine, la période de la récolte et le stade de développement ainsi que les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante peuvent également influencer l'estimation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes (**Locatelli et al., 2010, Bentahar et al., 2012 ; Dallali et al., 2018**). Les facteurs génétiques et les conditions de croissance de la plante peuvent jouer un rôle important dans la formation de métabolites secondaires (**Islam et al., 2003**).

### **III.5. Étude de l'activité antimicrobienne de *Ceratonia siliqua* L.**

#### **III.5.1. Étude de l'activité antibactérienne des extraits de *Ceratonia siliqua* L.**

L'activité antibactérienne des extraits méthanolique et aqueux (graines, gousses et feuilles) de *Ceratonia siliqua* L. a été évaluée par la méthode de diffusion en puits sur gélose vis-à-vis de trois souches microbiennes *S. aureus*, *E. coli* et *Candida albicans* après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

Les résultats obtenus relatifs aux diamètres des zones d'inhibition par les différents extraits sont groupés dans les figures 18, 19, 20, 21, 22, 23 et le tableau 6.

L'étude statistique ( $p < 0,05$ ) (Annexe C4) a montré que les différentes concentrations des extraits de *Ceratonia siliqua* présentent une activité antimicrobienne sur les microorganismes testés. Ainsi, ils n'ont pas manifesté la même sensibilité vis-à-vis des extraits de la plante.

La concentration 200 mg/ml se présente comme étant la plus efficace pour toutes les souches testées.

D'après nos résultats, les extraits méthanolique et aqueux de *C. siliqua* (graines, gousses et feuilles) aux différentes concentrations témoignent d'une activité antibactérienne intéressante sur *Escherichia coli*. En effet, *Escherichia coli*, présente une sensibilité élevée à l'extrait



méthanolique des gousses et l'extrait aqueux des feuilles avec des diamètres d'inhibition respectivement de 26,33 mm et de 21,33 mm pour une concentration de 200 mg/ml.

L'extrait méthanolique et l'extrait aqueux des feuilles montrent une activité antibactérienne importante sur *Staphylococcus aureus*. En prenant en considération les diamètres d'inhibition, l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux des feuilles sont extrêmement active sur *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibition respectivement de 40.33 mm et 38 mm pour une concentration de 200 mg/ml.

Il apparaît que *Staphylococcus aureus* (Gram+) est la bactérie la plus sensible par comparaison avec *Escherichia coli* (Gram-), ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries à Gram positives et ceux à Gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries à Gram positives est constituée d'une seule couche, alors que la paroi cellulaire des bactéries à Gram négatives a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (**Shtayeh et al., 1998 ; Fallah et al., 2008 ; Hayouni et al., 2007**).

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique des gousses et l'extrait aqueux des graines de *Ceratonia siliqua* se sont avérés inactifs contre *Staphylococcus aureus*.

L'extrait méthanolique des gousses et l'extrait aqueux des feuilles ont montré un effet antifongique très hautement remarquable vis-à-vis *Candidas albicans* avec des zones d'inhibition respectivement de 25,33 mm et de 24,67 mm pour une concentration de 200 mg/ml.

Au regard de ces résultats, nous constatons qu'il y a un pouvoir inhibiteur de chacun des extraits testés, le comportement des différentes souches étudiées varie selon la partie de la plante, le solvant utilisé et la concentration d'extrait.

Par ailleurs la DMSO n'a aucun effet vis-à-vis les trois souches microbiennes testées.

Une étude présenté par **Letkesses et Ladraa, (2017)** a montré que les extraits méthanoliques des gousses et des graines de *C.siliqua* donnent une activité antimicrobienne très faible contre *E.coli* et *S.aureus* parce que ces deux extraits contiennent un total des composés phénoliques un peu faible et ne dépasse pas 33,73mg/g d'extrait.

**Bouchena et Ouaffai (2021)** ont rapporté que l'extrait aqueux décocté de la gousse de Relizane a donné une zone d'inhibition de 9,6 mm pour une concentration de 300 mg/ml comparativement aux autres concentrations de (25, 50,100 ,200 mg/ml). En outre l'extrait aqueux de la pulpe des deux régions (Relizane et Tissemesilt) inhibe fortement la cinétique de la croissance de *Candida albicans* par une zone de diamètre de 10,8 mm pour une concentration de 300 mg /ml. Il apparue que les extraits aqueux obtenues par la méthode de macération avec une concentration de 200 mg/ml ont des valeurs élevées (11,1mm, 10,6mm et 9,4mm) par rapport aux autres concentrations.

**Brantner et al. (1996)** ont démontrés que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les stéroïdes à une certaines concentration peuvent inhiber la croissance des microorganismes. Il est confirmé que les flavonoïdes à caractère lipophile peuvent détruire les membranes microbiennes en augmentant la fluidité des lipides membranaires. Le nombre et la position des groupements hydroxyles présents sur le noyau aromatique des composés phénoliques peuvent entrainer la toxicité des microorganismes (**Cowan, 1999**). L'activité antimicrobienne dépend à la fois de la présence des composés phénoliques, et aussi de la présence de divers métabolites secondaires, de l'emplacement et le nombre des groupes d'hydroxyles (**Falleh et al., 2008**).

Tableau 6: Diamètres de zones d'inhibition des souches microbiennes testées

Souches microbiennes Extraits et témoins positifs			Diamètres de zones d'inhibition (mm) (moyenne±écart-type)			
			25mg/ml	50mg/ml	100mg/ml	200mg/ml
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gousses	EM	10,66±0,57	13,66±0,57	22,66±1,15	26,33±1,52
		EA	11,66 ±1,52	12,00±1,00	12,66±1,52	15,00±1,00
	Graines	EM	10,00± 0,00	13,00±1,00	18,00±0,00	20,67±0,57
		EA	11,00 ±0,00	11,00±0,00	11,66±0,57	12,00±0,00
	Feuilles	EM	17,00±0,00	13,33±1,15	14,33±1,15	15,00±1,00
		EA	12,33± 2,08	17,33±0,57	18,66±1,15	21,33±1,15
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Gousses	EM	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
		EA	8,33±0,57	10,67±0,57	13,67±1,52	20,33±0,57
	Graines	EM	11,00±1,73	15,33±1,15	16,33±1,52	22,66±2,51
		EA	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
	Feuilles	EM	23,66±1,15	28,33±1,52	34,00±0,00	40,33±0,57
		EA	18,66±1,15	22,33±5,50	34,67±1,15	38,00±2,00
<i>Candida albicans</i> M3 ATCC 10237	Gousses	EM	16,66±2,30	20,67±3,05	23,33±1,15	25,33±1,15
		EA	13,33±1,15	14,33±1,52	17,00±0,00	18,00±1,00
	Graines	EM	14,33±0,57	15,33±1,15	17,33±0,00	20,00±2,00
		EA	11,66±2,08	13,33±1,52	14,67±0,57	15,33±1,15
	Feuilles	EM	11,33±1,52	12,67±1,52	14,33±1,52	17,67±1,52
		EA	15,00±1,00	16,33±0,57	17,67±0,57	24,67±1,52

EM : Extrait méthanolique ; EA : Extrait aqueux.



Figure 18: Test de sensibilité des souches microbiennes (*S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*) à l'extrait aqueux des gousses de *Ceratonia siliqua*

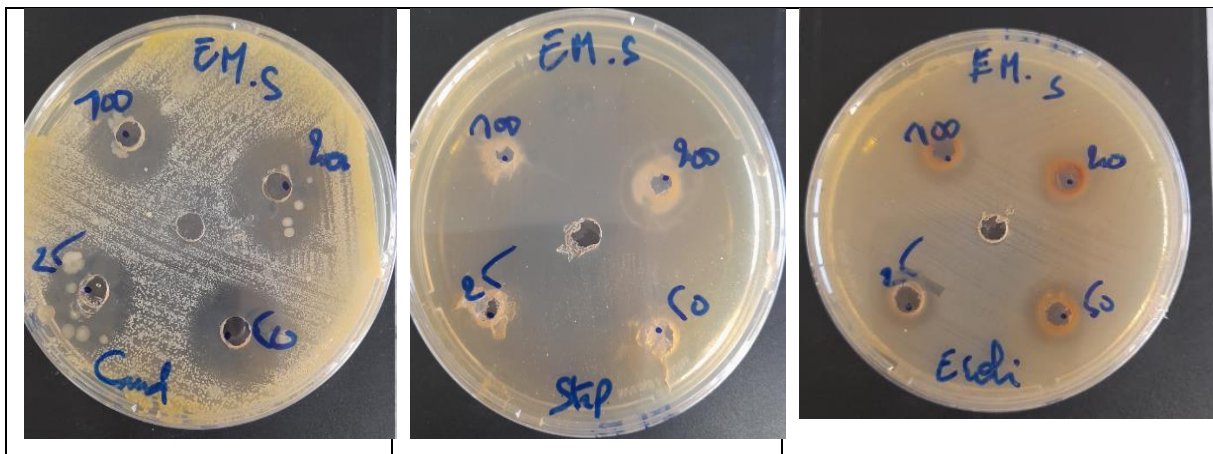


Figure 19 : Test de sensibilité des souches microbiennes (*S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*) à l'extrait méthanolique des gousses de *Ceratonia siliqua*

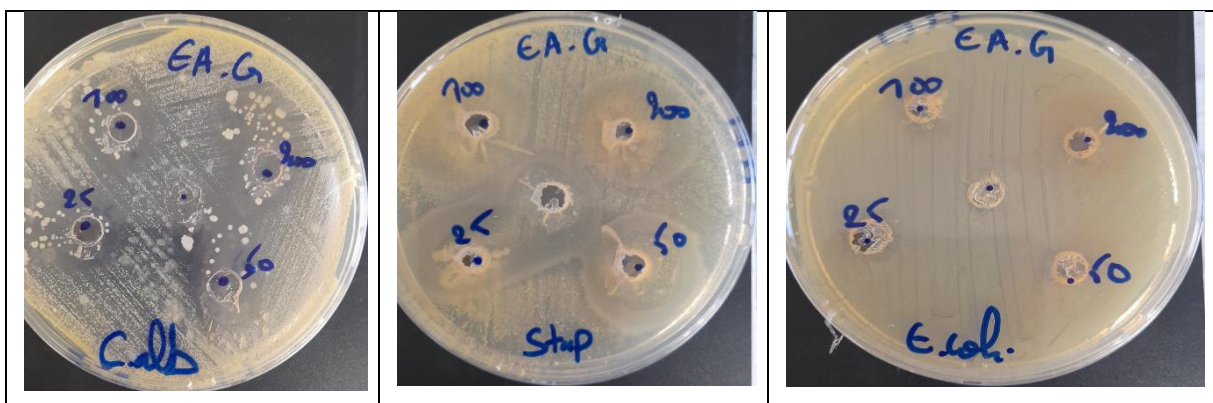
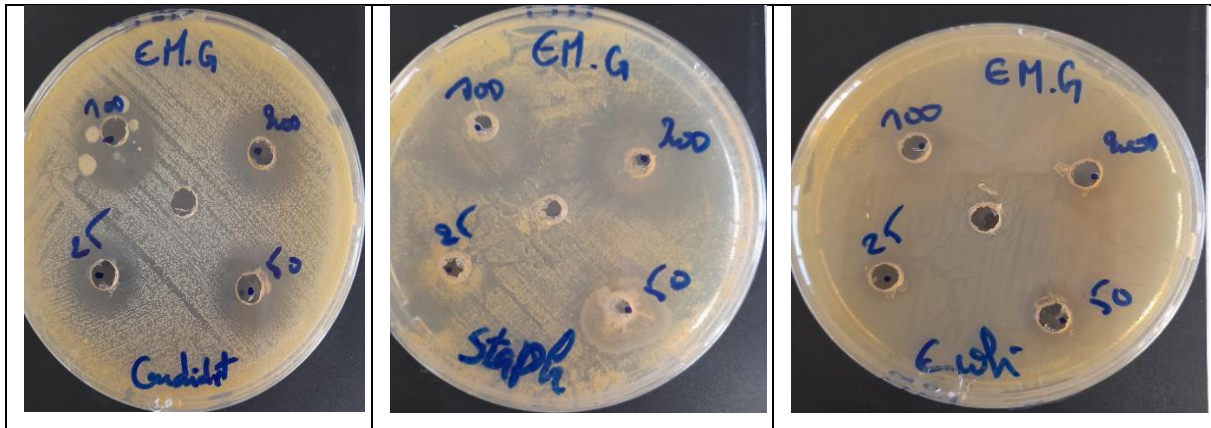
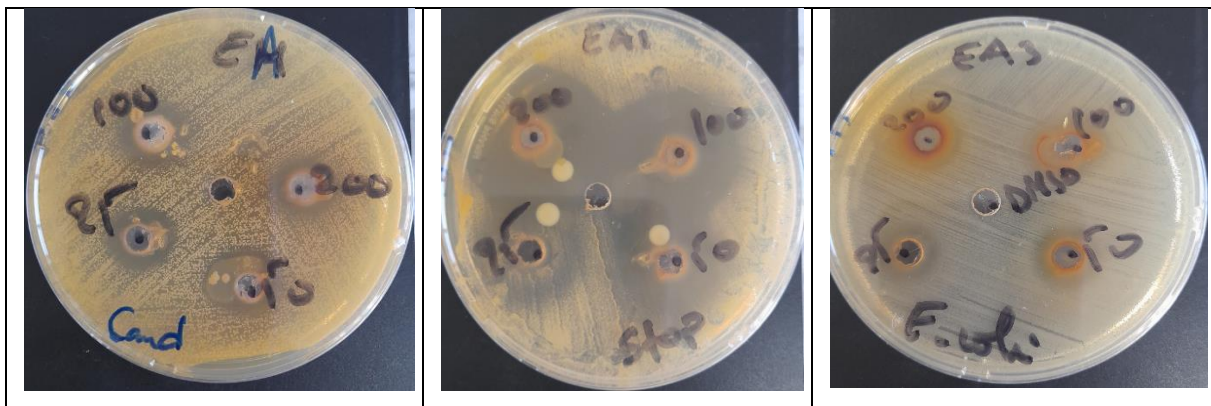


Figure 20 : Test de sensibilité des souches microbiennes (*S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*) à l'extrait aqueux des graines de *Ceratonia siliqua*



**Figure 21 :** Test de sensibilité des souches microbiennes (*S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*) à l'extrait méthanolique des graines de *Ceratonia siliqua*



**Figure 22 :** Test de sensibilité des souches microbiennes (*S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*) à l'extrait aqueux des feuilles de *Ceratonia siliqua*



**Figure 23:** Test de sensibilité des souches microbiennes (*S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*) à l'extrait méthanolique des feuilles de *Ceratonia siliqua*

### III.5.2. Étude de l'activité antifongique des extraits de *Ceratonia siliqua* L.

L'étude de l'activité antifongique des extraits de *Ceratonia siliqua* L. a été réalisée sur une souche *Fusarium oxysporum* par la méthode de contact direct en milieu gélosé.

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Le test de l'analyse de Variance (**Annexe C**) montre que l'effet de différents extraits a une différence significative ( $p < 0,05$ ) sur la croissance mycélienne du *Fusarium oxysporum*.

Pour différencier les concentrations (25;50;100 et 200 %) par rapport à leurs effets, nous avons fait un suivi de la croissance mycélienne pendant 7 jours d'incubation. Une évolution hétérogène entre les différentes concentrations a été constatée durant cette période (**tableau 7**).

**Tableau 7:** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne

C (mg/ml)	% Inhibition de la croissance du <i>Fusarium oxysporum</i>					
	Gousses		Graines		Feuilles	
	EM	EA	EM	EA	EM	EA
<b>25</b>	36,42 ±1,01	37,14±2,02	31,42±2,01	33,56±3,03	41,99±3,23	42,85±0,00
<b>50</b>	39,28±5,04	49,35±2,92	35,71±,00	35,71±0,00	44,28±2,02	50,00±0,00
<b>100</b>	52,85±4,03	52,13±1,01	44,99±1,01	39,99±4,03	45,28±0,60	52,14±3,02
<b>200</b>	58,71±1,82	52,85 ±2,02	50,71±5,04	50,00±,00	46,42 ±1,01	63,49 ±,91

**EM :** Extrait méthanolique ; **EA :** Extrait aqueux.

A la lumière des résultats obtenus (**tableau7**), il est important de noter que les extraits méthanolique et aqueux des différents organes de *Ceratonia siliqua* ont tous présenté des activités fongiques contre *Fusarium oxysporum*.

L'activité inhibitrice croît en parallèle avec la concentration en extrait dans le milieu de culture.

Les résultats du pourcentage d'inhibition des extraits de *Ceratonia siliqua* déterminés à partir des diamètres des zones d'inhibition, montrent que l'extrait aqueux des feuilles exerce une bonne activité inhibitrice sur la souche *Fusarium oxysporum* avec un pourcentage d'inhibition de 63,49% pour une concentration de 200 mg/ml.

L'extrait méthanolique et aqueux des gousses présentent des activités antifongiques modérées sur *Fusarium oxysporum* avec des pourcentages d'inhibition respectivement de 58,71% et 52,85% pour une concentration de 200 mg/ml.

Une étude présentée par **Messaoudi, Asmaa, (2013)** a montré que les polyphénols totaux et les flavonoïdes de caroubier ont exercé une forte activité antifongique contre *F.oxysporum* avec des taux d'inhibition respectivement 81.48 % et 66.66%.

Les extraits de *Ceratonia siliqua* sont des antifongiques naturels efficaces qui pourraient être utilisés par l'industrie des fongicides (**Cowan, 1999**).

Au regard de ces résultats, nous pouvons conclure que l'activité antimicrobienne des extraits dépend non seulement des composés phénoliques mais, aussi de la présence de différents métabolites secondaires à effet antifongique tels que les stéroïdes, les saponosides et les huiles essentielles qui ont par ailleurs déjà été signalés par plusieurs auteurs (**Tawil, 1980 ; Morris et al., 1997 ; Bajpai et al., 2007**)

Le pouvoir antifongique mis en évidence pourrait être expliqué par les composés naturels que contiennent les plantes. Il est assez difficile d'attribuer l'effet antifongique à un seul métabolite que contient un extrait. Cet effet inhibiteur dépend de la substance ou des substances à caractère antifongique présentes dans chaque extrait. Les extraits contiennent toujours un mélange de plusieurs composés chimiques. En plus des composés phytochimiques majoritaires d'une plante, des éléments mineurs peuvent apporter une contribution significative à l'activité antifongique. Ces substances agissent simultanément ou différemment, empruntent des voies semblables ou différentes, agissent ensemble ou indépendamment sur une ou plusieurs cibles, conduisant ainsi à une activité antifongique efficace (**Mohammedi, 2013 ; Hajji et al., 2016**).

## *Conclusion*



A l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

C'est dans ce contexte que nous avons entrepris notre étude qui vise la caractérisation phytochimique des extraits méthanoliques et aqueux des graines, des gousses et des feuilles de l'espèce *Ceratonia siliqua* L. et la recherche de l'activité biologique et des potentialités que peuvent avoir ces extraits, à savoir les activités antioxydantes, antimicrobiennes.

La détermination des rendements en extraits bruts a montré une rentabilité importante en extraits méthanolique de feuilles et de gousses avec des valeurs respectivement de 36,8 % et de 25,2 %.

Le criblage phytochimique des extraits aqueux et méthanoliques des différents organes de la plante avec des tests spécifiques a permis de caractériser les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponosides, les quinones libres, les stérols et les triterpènes. Ces métabolites secondaires ont de grandes valeurs thérapeutiques.

L'estimation de l'activité antioxydante des différents extraits de *Ceratonia siliqua* a été évaluée par l'étude de leur pouvoir à piéger 50 % du radical DPPH (IC<sub>50</sub>). Les résultats montrent que l'extrait méthanolique des feuilles représente l'extrait le plus actif avec une IC<sub>50</sub> de (0,3051 mg/ml), suivi par l'extrait aqueux des feuilles avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de (0,4006 mg/ml). Ces extraits pourraient donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques.

L'évaluation du pouvoir antibactérien des extraits de *C.siliqua* par la méthode de diffusion en puits sur gélose a révélé que ces derniers possèdent une activité antimicrobienne contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Candida albicans*.

*Escherichia coli*, présente une sensibilité élevée à l'extrait méthanolique des gousses et l'extrait aqueux des feuilles avec des diamètres d'inhibition respectivement de 26,33 mm et de 21,33 mm pour une concentration de 200 mg/ml.

Les extraits méthanoliques et aqueux des feuilles sont extrêmement active sur *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibition respectivement de 40.33 mm et 38 mm pour une concentration de 200 mg/ml.

L'extrait méthanolique des gousses et l'extrait aqueux des feuilles semblent les plus actives sur *Candidas albicans* induisant des diamètres d'inhibition respectivement de 25,33 mm et de 24,67 mm pour une concentration de 200 mg/ml.

La méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique des extraits de *Ceratonia siliqua* L. vis-à-vis de la souche *Fusarium oxysporum*.

Il ressort que *C.siliqua* pourrait être valorisée d'avantage particulièrement dans la lutte contre de nombreuses espèces microbienne responsables des différentes formes phytopathogènes.

En perspectives, nos travaux sont une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant :

- 1) Tester d'autres méthodes d'extractions et leurs influences sur la composition chimique et les effets antioxydants et antimicrobiens ;
- 2) Isolement et caractérisation des composés actifs dans les différents extraits par des méthodes plus spécifiques ;
- 3) Évaluation d'autres effets biologiques *in vitro* et *in vivo* des extraits et de leur composés actifs en utilisant différentes techniques.

*Références  
Bibliographiques*

- **Aafi A (1996).** Note technique sur le caroubier .Détermination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua*) : Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins, *Journal of food composition and analysis*, Vol. 10, pp : 166-172.
- **Abd-Ellatif S ; Abdel Rahman S.M. & Deraz S.F. ; (2011).** Promising antifungal effect of some folkloric medicinal plants collected from el-hammam habitat, Egypt against dangerous pathogenic and toxicogenic fungi. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science* 6 (9) : 26-32.
- **Abidar, S., Boianjiu, R. S., Dumitru, G., Todirascu-Ciornea, E., Amakran, A., Cioanca, O., ... & Nhiri, M. (2020).** The aqueous extract from *Ceratonia siliqua* leaves protects against 6- hydroxydopamine in zebrafish : understanding the underlying mechanism. *Antioxidants*, 9(4), 1-21.
- **Ahangarpour A, Heidari H, Junghani MS, Absari R, Khoogar M, Ghaedi E(2017).** Effects of hydroalcoholic extract of *Rhus coriaria* seed on glucose and insulin related biomarkers, lipid profile, and hepatic enzymes in nicotinamide-streptozotocin-induced type II diabetic male mice. *Res Pharm Sci.* oct 2017 ; 12(5) :416-24.
- **Alabdallat, N. G., & Bilito, Y (2013).** Antioxidant properties of selected wild plants. *International Journal of Science and Research*, 4(2), 197-200.
- **Ali-Shtayeh M. S., Yaghmour R. M. R., Faidi Y. R., Salem K et Al-Nuri M. A. (1998).** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethno Pharmacology*, 60: 265-271.
- **Al-khazraji S. (2018).** Hypoglycaemic Activity of *Ceratonia siliqua* Leaves Extracts in Alloxan Induced Diabetic Rats. 1 juin 2018.
- **Azab A. CAROB. (2017).** (*Ceratonia siliqua*) Health, Medicine And Chemistry, *Eur Chem Bull.* 5 déc 2017 ; 456-69.
- **Bajpai, V.K., Rahman, A. and Kang, S.C. (2007).** Chemical composition and Anti-fungal properties of the essentialoil and crude extracts of *Metasequoia Glyptostroboides* Miki ex Hu. *Ind. Crop.Prod.* ; 26 : pp. 28- 35.
- **Battle I., Tous J. (1997).** Carob tree. *Ceratonia siliqua* L, Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops, 17, Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/Internat.

- **Belboukhari N., Bourmita Y., Cheriti A, Mir K. (2013).** Profil phytochimique et évaluation médicinale d'une préparation traditionnelle saharienne. *PhytoChem&BioSub Journal*, Vol.7(2)
- **Ben hsouna, Bock, (2012).** Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France. Tela Botanica. BDNFF v4.02. (<http://www.tela-botanica.org>).
- **Benmahioul, B., Harche, M. K., & Daguin, F. (2011).** Le caroubier, une espèce méditerranéenne à usages multiples. *Forêt méditerranéenne*, 32(1), 51-58.
- **Bentahar, A., Khennouf, S., Bouaziz, A., & Djidel, S. (2012).** Evaluation de la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante des extraits aqueux des *Ceratonia siliqua* L. et *Ruta montana* L. In *Proceeding of the 2nd African Congress on Biology & Health University Ferhat Abbas Setif1*, 11, 30-34.
- **Berghida N. Zineddine L. (2017).** Évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques des gousses vertes du caroubier de la wilaya de Jijel. Mémoire de master. Université Mohammed Seddik Ben Yahia-Jijel, 28p.
- **Berrougui H. (2007).** Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), une richesse nationale Aux vertus médicinales, *Maghreb Canada Express* Vol. 5, N° 9.
- **Bouchena et Ouaffai. (2022).** Extraction et évaluation de l'activité antifongique des molécules phytochimiques de la caroube p42.
- **Bouchouka. E. (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydantes et antibactériennes de quelques plantes sahariennes. Thèse de doctorat. Université Annaba.
- **Bougandoura N., et Bendimerad N. (2012).** Effet antifongique des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. (Nepeta) briq.* *Revue des Bio Ressources*, 2 :1-7.
- **Bougandoura N., et Bendimerad N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq.* *Nature & Technologie*, (9) : 15.
- **Brantner A., Males Z., Pepeljnjak S., Antolic A. (1996).** Antimicrobial activity of *Paliurus christi* Mill (Christ's thorn). *J. Ethnopharmacol.*
- **Burits, M. and Bucar, F. (2000).** «Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil », *Phytotherapy Research*, 14, 323–328.
- **Cowan MM. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microb. Rev.*

- **Custódio L, Patarra J, Alberício F, Neng NR, Nogueira JMF, Romano A. (2015).** In vitro antioxidant and inhibitory activity of water decoctions of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) on cholinesterases,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Nat Prod Res*; 29(22), 2155-9.
- **Dallali, S., Aloui, F., Selmi, H., & Sebei, H. (2018).** Comparison of the chemical composition and the antioxidant activity of the leaves of Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) collected in three sites of Djebel Zaghouan (Tunisia). *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, CIRIS (21)*, 3429-3438.
- **Diallo.A, (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium Guineense* Willd. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat. Mal.
- **Dohou.N ; Yani.K ; Thahrouch.S ; Idrissi Hassani.L.M ; Badoc.A ; Gmira.N, (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine ; *Thynelaea lythroïdes*. Bull. Soc,Pharm.Bordeaux
- **Eloff, J.N. (1998).** Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants *Journal of Ethno-pharmacology*, 60: 1-8.
- **Evreinoff V. A. (1947).** Agriculture tropicale ; Le caroubier ou *Ceratonia siliqua* L., *Rev. Bot. Appl.* 389-401.
- **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. et Abdely, C. (2008).** "Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs and their biological activities .*C. Biologies*, V.331, 372-379.
- **Folch I., et Guillen R. (1981).** La vegetació dels Països Catalans. *Ed. Ketres*, Barcelona.
- **Ghanemi FZ, Belarbi M (2021).** Phytochemistry and Pharmacology of *Ceratonia siliqua* L. leaves. *J Nat*.
- **Gugliuzzo, A., Mazzeo, G., Mansour, R., & Tropea Garzia, G. (2019).** Carob pests in the Mediterranean region: bio-ecology, natural enemies and management options, *Phytoparasitica*, 47(5), 605-628.
- **Güven K., Yücel E., Cetintaş F. (2006).** Antimicrobial activities of fruits of *Crataegus* and *Pyrus* Species. *Pharmaceutical biology*, 44(2), 79-83.
- **Haidar M.J., Al-Taie T.S. (2009).** Treatment of candidiasis by *Ceratonia Siliqua*. *Tikrit Medical Journal* ; 15(2), pp : 181-186.
- **Hajji H., Tallal I., Maafa I., Bentata F., El Alaoui Faris F.E., Abdennebi EL. & Elaïssami A(2016).** Evaluation in vitro de l'activité antifongique de quatre plantes

médicinales marocaines sur cinq champignons phytopathogènes. Revue Marocaine de Protection des Plantes, N° 10: 57-65

- **Harborne, J. B. (1973).** Phytochemical methods ; a guide to modern techniques of plant analysis. London.
- **Hariri A., Ouis N., Sahnouni F. et Bouhadi D. (2009).** Mise en oeuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base des extraits de caroube, *rev. Microbiol. ind. san et environn*, pp : 37-55.
- **Hayouni, E.A., Abedrabba, M ., Bouix, M., Hamdi, M.(2007).**“The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts” , Food Chem (inpress).
- **Hidayat M.A., Fitri A. & Kuswandi B. (2017).** Scanometry as microplate reader for high throughput method based on DPPH dry reagent for antioxidant assay. *Acta Pharmaceutica Sinica*.
- **Hillcoat D., Lewis G., and Verdcourt B. (1980).** A new species of *Ceratonia* (Leguminosae Caesalpinoideae) from Arabia and the Somali Republic. *Kew bull*, 35(2), pp : 261-271.
- **Hostettler M., Steffen R., Tschopp A. (1995) :** Efficacy and tolerance of insoluble carob fraction in the treatment of travellers' diarrhoea. *J. Diarrhoeal. Dis. Res ;* 13(3) :155-8.
- **Hsouna, A. B., Saudi, M., Trigui, M., Jamoussi, K., Boudawara, T., Jaoua, S., & El Feki, A. (2011).** Characterization of bioactive compounds and ameliorative effects of *Ceratonia siliqua* leaf extract against CCl<sub>4</sub> induced hepatic oxidative damage and renal failure in rats. *Food and chemical toxicology*, 49(12), 3183-3191.
- **Islam, M. S., Yoshimoto, M., Ishiguro, K., Okuno, S., & Yamakawa, O. (2003).** Effect of artificial shading and temperature on radical scavenging activity and polyphenolic composition in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(2), 182-187.
- **K. Rtibi, S. Selmi, M. A. Jabri, G. Mamadou, N. Limas-Nzouzi, H. Sebai, J. El-Benna, L. Marzouki, B. Eto and M. Amri, (2016).** Effects of aqueous extracts from *Ceratonia siliqua* L. pods on small intestinal motility in rat and jejunal permeability in mice.

- **Klervi, L.L. (2005)**, «Connaissance chimiotaxonomique du genre *Turbinaria* et étude des composés de défense de différents espèces de Sargassacées des Iles Salmon (Pacific sud)»,210p.
- **Koffi N ; Beugré K ; Guédé N.Z ; Dossahoua T ; Laurent A, (2009)**.Screening Phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou(Agboville, Côte-d'Ivoire). Sciences et Nature.
- **Kumazawa S., M. Taniguchi, Y. Suzuki, M. Shimura, Mi- Sun Kwon, and T,Nakayama., (2002)**. Antioxidant Activity of Polyphenols in Carob Pods.
- **Lachkar N, Al-Sobarry M, El-Hajaji H, Lamkinsi T, Lachkar M, Cherrah Y(2016)**. Anti-inflammatory and antioxidant effect of *Ceratonia siliqua* L. Methanol barks extract. J Chem Pharm Res. 1 janv 2016 :202-10.
- **Letkesses et Ladraa. (2017)**. Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de *Ceratonia siliqua* L p 49.
- **Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J. D., Martelli, A., Stévigny, C., & Arlorio, M. (2010)**. Total antioxidant activity of hazelnut skin (*Nocciola Piemonte* PGD): Impact of different roasting conditions. *Food chemistry*, 119(4), 1647-1655.
- **Madi.A, (2010)**. Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de Magister Université de Constantine.
- **Messaoudi Asmaa (2013)** .Contribution à l'étudié de l'effet des extraits phénoliques des plantes et microorganismes antagonistes sur la croissance de deux champignons :*Verticilliumdahliae* et *Fusariumoxysporum*.
- **Miara .D., Ait Hammou .M., Hadjadj Aoul .S. (2013)**. Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, pp. (206-207).
- **Mishra AK, Dubey NK, (1994)**. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(4), 1101-1105.
- **Mitrakos K. (1981)**. Temperature germination responses in three Mediterranean evergreens sclerophylls. Pp. 277-279 in *Components of Productivity of Mediterranean-climate Regions-Basic and Applied Aspects* (N.S. Margaric and H Mooney, Eds.), Dr. W. Junk Publishers, The Hague/Boston/London.



- **MOHAMMEDI Z., (2013).** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université aboubekr Belkaid. Algérie. 170p
- **Morris, J.A., Khettry, A. and Seitz, E.W. (1997).** Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *J. Am. OilChem. Soc.*; 56: pp. 595-603.
- **Ould Abdellahi .L, Kerrouri .S, Bouabid .B, El Yahyaoui .O, Sammama .A, Ould Ahmed .B, Ould Habiboullah .H, Barek Idoumou .A, Bengueddour .R. (2017).** Phytochimic Screening and characterization of the substances present in the extracts of two marine algas: *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt, 1955 and *Cystoseira tamariscifolia* (Hudson); Harvested from the bay of the star in Mauritania *Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(5): 1510-1514.
- **Öztürk, M., Seçmen, O., Gücel, S., & Sakcali, S. (2011)** .An overview of economic and medicinal importance of carob plants (*Ceratonia siliqua* L.) in the Mediterranean basin, In International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants and History of Mayan Ethnopharmacology, 964, 197-203.
- **Panovska, T.K., (2005).** «*In vitro* antioxydant activity of some *Tencrium* species (Lamiaceae) », *ActaPharm*, 55:207-214.
- **Pokorny J. et ai (2001).** Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited.
- **Ponce A.G., fritz R., DEL Valle C., roura S.I., (2003).** Antimicrobial activity of essentiel oils on the native microflora of organic Swiss chardlibensmittel-wissenschaftund technology.
- **Prakash, D., Singh, B.N. and Upadhyay, G. (2007).** «Antioxidant and free radical scavenging activities of phenols from onion (*Allium cepa*) », *Food Chemistry*, 102: 1389-1393.
- **Quezel P. et Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales (tome1), Editions du centre national de la recherche scientifique, pp.557.
- **Rebour H. (1968).** Fruits Méditerranéen, la maison rustique Paris, pp : 330.
- **Rtibi K. (2018).** In vitro  $\alpha$ -amylase/ $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities and in vivo improving glucose tolerance and hypoglycemic effect of *Ceratonia siliqua* leaves aqueous extract. 13 mars 2018.

- **Ruiz-Roso B., Quintela J.C., De la Fuente E., Haya J., Pérez-Olleros L. (2010).** Insoluble carob fiber rich in polyphenols lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic subjects. *Plant Foods Hum Nutr* ; 65(1) :50-6.
- **Sanchez-Moreno.C, (2002).** Méthods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International journal of foods Science and Technology*.
- **Sbay H. et Abourouh M. (2006).** Apport des espèces à usages multiples pour le développement durable : cas du pin pignon et du caroubier, Centre de Recherche Forestière Haut-commissariat aux Eaux et Forêts et à la lutte Contre la désertification, Rabat, pp : 1-9.
- **Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M. and Khoshnoodi M, (2007).** «In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss », *Food Control*, 18, 800-805.
- **Sokol-Letowska, A., Oszmiansk, J. et wojdylo, A. (2007).** « Antioxydant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap », *Food chemistry*, 103:853-859.
- **Spizzirri, U. G., Abduvakhidov, A., Caputo, P., Crupi, P., Muraglia, M., Oliviero Rossi, C., ... & Restuccia, D. (2022).** Kefir Enriched with Carob (*Ceratonia siliqua* L.) Leaves Extract as a New Ingredient during a Gluten-Free Bread-Making Process. *Fermentation*, 8(7) ,1-14.
- **Tatsadjieu N, Jazet M, Ngassoum MB, Etoa X, Mbofung MF, (2010).** Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex. Fries. *Food Control*, 5:161–166.
- **Torres, R., Faini, F., Modak, B., Urbina, F., Labbé, C. et Guerrero, J, (2006).** «Antioxydant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappus multifolius* », *Phytochemistry*, 67(10): 984-987.
- **Trease E.G., Evans W.C., (1978).** *Pharmacognosy*. 11th Edition, Balliere Tindall. London.
- **Vigor C, Vercauteren J, Montels J. (2011).** Les substances naturels dans la chaine du médicament.

- **Yamini K., Anto Shering M., Praveen Kumar Reddy S., Lakshmi Narasimha Reddy N(2011).** Pharmacognostical and Preliminary Phytochemical Screening on Leaves of *Trianthema decandra* Linn. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*.
- **Ydjedd, S., Chaala, M., Richard, G., Kati, D. E., López-Nicolás, R., Fauconnier, M. L., & Louaileche, H. (2017).** Assessment of antioxidant potential of phenolic compound fractions of Algerian *Ceratonia siliqua* L. pods during ripening stages. *International Food Research Journal*, 24(5), 2041-2049.
- **Yi Z., Yan Y., Liang Y. & Zeng B. (2008).** In vitro antioxidant and antimicrobial Activities of Pericarpium Citri Reticulatae of a new Citrus Cultivar and its main flavonoid. *LWT*41, 597- 603.
- **YOUSEF, R.T. and TAWIL, G.G. (1980).**Antimicrobial activity of volatile oils *Die Pharm.*; 35: pp. 698- 701.
- **Zahra GF, Larbi B, Meriem B, Houria M, Chaima M, Badiaa B. (2021).**Phytochemical constituents and biological activities of *Ceratonia siliqua* L. leaves grown in western Algeria. *Int J Res Biosci IJRBS*; 10(1) :9-16.
- **Zohary M., and Orshan P. (1959).** The maquis of *Ceratonia siliqua* in Israel, *Palest. J. Bot.* Jerusalem, 8, pp : 385-397.

# *Annexes*

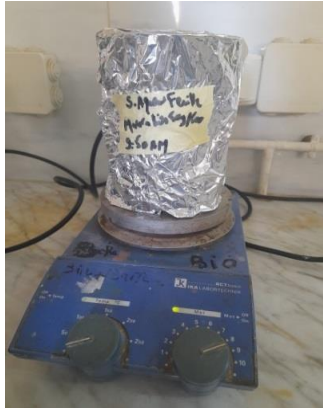
## Annexe A

Tableau A1 : Appareillage, milieu de culture, verrerie, et réactifs

Matériel et appareillage	Produits chimiques et réactifs
<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Broyeur électrique</li><li>▪ Micropipettes</li><li>▪ Balance électrique</li><li>▪ Papier wattman</li><li>▪ Spectrophotomètre</li><li>▪ Bain de marie</li><li>▪ Etuve</li><li>▪ Incubateur</li><li>▪ Agitateur</li><li>▪ Vortex</li><li>▪ Tubes à essais</li><li>▪ Boite de pètri</li><li>▪ Bec Bunsen</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Méthanol</li><li>▪ NAOH</li><li>▪ Ether de pétrole</li><li>▪ <math>FECL_3</math></li><li>▪ HCL</li><li>▪ <math>NH_4OH</math></li><li>▪ Anhydrique acétique</li><li>▪ Acide sulfurique</li><li>▪ Hcl</li><li>▪ Réactif de Mayer</li><li>▪ Liqueur de Fehling</li><li>▪ DPPH</li><li>▪ DMSO</li><li>▪ Muller-Hinton</li><li>▪ Sabouraud</li><li>▪ Potato-Dextrose-Agar (PDA)</li></ul>

Annexe B

**B1.Étapes d'obtention des extraits aqueux de *Ceratonia siliqua* (graines, gousses et feuille)**



Macération

Filtration

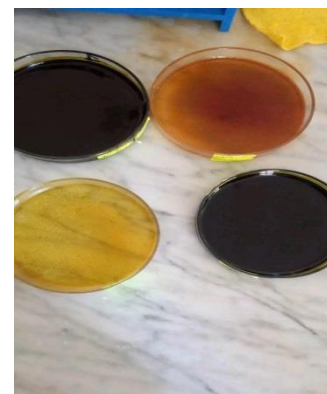
Séchage (extrait aqueux)

**B2.Étapes d'obtention des extraits méthanolique de *Ceratonia siliqua* (graines, gousses et Feuille)**



Macération




Filtration



Évaporation

Extrait méthanolique

B3. Screening phytochimique des extraits bruts de de *Ceratonia siliqua*

Tests	Résultats
Quinones libres	
Tanins	
Saponines	
Flavonoïdes	
Stérols et triterpènes	
Alcaloïdes	
Sucres réducteurs	

**B4. Photos de l'activité antioxydante**



**Dilutions**



**Spectrophotomètre (517 nm)**



**Acide ascorbique**



**Extrait aqueux grain**



**Extrait aqueux gousse**



**Extrait aqueux feuille**



**Extrait méthanolique grain**



**Extrait méthanolique gousse**



**Extrait méthanolique feuille**



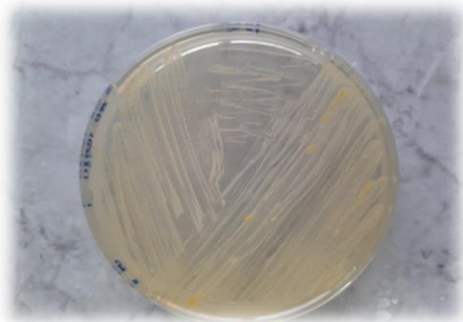
**B5. Photos de l'activité antimicrobienne**



**Extraits aqueux et méthanolique + DMSO**



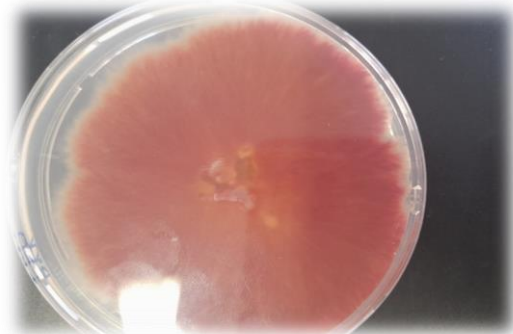
*E. coli*



*C. Albicans*



*S. aureus*



*F. oxysporum*

## Annexe C

## C1.Étude statistique de l'activité antioxydante (Méthode du Piégeage du radical libre DPPH)

Tableau C1 : Statistiques descriptives de l'activité antioxydante des extraits bruts

Concentration	Extraits	Moyenne	Ecart-type
1mg/ml	Acide ascorbique	87,6700	,04243
	Extrait aqueux des graines	36,1800	,02828
	Extrait aqueux des gousses	69,3550	,04950
	Extrait aqueux des feuilles	93,4200	,02828
	Extrait méthanolique des graines	78,1100	,02828
	Extrait méthanolique des gousses	81,4500	,02828
	Extrait méthanolique des feuilles	94,7250	,40305
	Total	77,2729	19,38658
0,5mg/ml	Acide ascorbique	56,9100	,01414
	Extrait aqueux des graines	25,1100	,02828
	Extrait aqueux des gousses	46,8800	,02828
	Extrait aqueux des feuilles	59,6700	,01414
	Extrait méthanolique des graines	44,2200	12,69964
	Extrait méthanolique des gousses	47,8100	,01414
	Extrait méthanolique des feuilles	66,4750	,03536
	Total	49,5821	13,35638
0,25mg/ml	Acide ascorbique	31,9100	,01414
	Extrait aqueux des graines	17,1700	,04243
	Extrait aqueux des gousses	25,9200	,02828
	Extrait aqueux des feuilles	43,5850	,09192
	Extrait méthanolique des graines	37,4400	,04243
	Extrait méthanolique des gousses	32,9400	,01414
	Extrait méthanolique des feuilles	51,8400	,04243
	Total	34,4007	10,91845
0,125mg/ml	Acide ascorbique	20,1600	,05657
	Extrait aqueux des graines	11,2900	,01414
	Extrait aqueux des gousses	21,6500	,01414
	Extrait aqueux des feuilles	30,4100	,02828
	Extrait méthanolique des graines	20,5000	,01414
	Extrait méthanolique des gousses	24,5300	,04243
	Extrait méthanolique des feuilles	41,4700	,04243
	Total	24,2871	9,11515
0,0625mg/ml	Acide ascorbique	11,0500	,02828
	Extrait aqueux des graines	8,9800	,02828
	Extrait aqueux des gousses	18,4300	,04243

	Extrait aqueux des feuilles	20,5050	,02121
	Extrait méthanolique des graines	13,9400	,05657
	Extrait méthanolique des gousses	21,6500	,01414
	Extrait méthanolique des feuilles	28,3400	,02828
	Total	17,5564	6,46257
0,03125mg/ml	Acide ascorbique	7,1400	,02828
	Extrait aqueux des graines	7,8300	,04243
	Extrait aqueux des gousses	16,2400	2,14960
	Extrait aqueux des feuilles	19,3500	,02828
	Extrait méthanolique des graines	15,3200	,02828
	Extrait méthanolique des gousses	18,5400	,01414
	Extrait méthanolique des feuilles	26,8400	,01414
	Total	15,8943	6,60050

**Tableau C2: Analyse de la variance (Test ANOVA 2 facteurs)**

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Concentration	38788,170	5	7757,634	1961,465	,000
Extraits	7918,887	6	1319,815	333,706	,000
Concentration * Extraits	2859,214	30	95,307	24,098	,000
Total corrigé	49732,382	83			

**Tableau C3 : Test d'homogénéité intergroupe (Test de Newman –Keuls)**

**A - Facteur ' Nature de l'antioxydant '**

Extraits	N	Sous-ensemble					
		1	2	3	4	5	6
Extrait aqueux des graines	12	17,7600					
Extrait aqueux des gousses	12		33,0792				
Extrait méthanolique des graines	12			34,9217			
Acide ascorbique	12			35,8067			
Extrait méthanolique des gousses	12				37,8200		
Extrait aqueux des feuilles	12					44,4900	
Extrait méthanolique des feuilles	12						51,6150
Sig.		1,000	1,000	,282	1,000	1,000	1,000



## C2.Étude statistique l'activité antimicrobienne des extraits de *Ceratonia siliqua* sur *E.coli*

**Tableau C4 : Statistique descriptives**

Concentration	Extraits	Moyenne	Ecart-type
25 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	11,6667	1,52753
	Extrait aqueux des gousses	10,6667	,57735
	Extrait méthanolique des graines	11,0000	,00000
	Extrait aqueux des graines	10,0000	,00000
	Extrait méthanolique des feuilles	12,3333	2,08167
	Extrait aqueux des feuilles	17,0000	,00000
	Total	12,1111	2,54116
50 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	13,6667	,57735
	Extrait aqueux des gousses	12,0000	1,00000
	Extrait méthanolique des graines	13,0000	1,00000
	Extrait aqueux des graines	11,0000	,00000
	Extrait méthanolique des feuilles	13,3333	1,15470
	Extrait aqueux des feuilles	17,3333	,57735
	Total	13,3889	2,14583
100 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	22,6667	1,15470
	Extrait aqueux des gousses	12,6667	1,52753
	Extrait méthanolique des graines	18,0000	,00000
	Extrait aqueux des graines	11,6667	,57735
	Extrait méthanolique des feuilles	14,3333	1,15470
	Extrait aqueux des feuilles	18,6667	1,15470
	Total	16,3333	4,02930
200 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	26,3333	1,52753
	Extrait aqueux des gousses	15,0000	1,00000
	Extrait méthanolique des graines	20,6667	,57735
	Extrait aqueux des graines	12,0000	,00000
	Extrait méthanolique des feuilles	15,0000	1,00000
	Extrait aqueux des feuilles	21,3333	1,15470
	Total	18,3889	5,05428

**Tableau C5 : Analyse de la variance (Test ANOVA 2 facteurs)**

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Concentration	435,444	3	145,148	147,192	,000
Extraits	578,444	5	115,689	117,318	,000
Concentration * Extraits	272,556	15	18,170	18,426	,000
Total corrigé	1333,778	71			

**Tableau C6: Test d'homogénéité intergroupe (Test de Newman –Keuls)****A - Facteur ' Nature de l'extrait '**

Extraits	N	Sous-ensemble				
		1	2	3	4	5
Extrait aqueux des gousses	12	11,1667				
Extrait aqueux des graines	12		12,5833			
Extrait méthanolique des feuilles	12			13,7500		
Extrait méthanoliques des gousses	12				15,6667	
Extrait méthanoliques des graines	12					18,5833
Extrait aqueux des feuilles	12					18,5833
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

**B- Facteur 'Concentration '**

Concentration	N	Sous-ensemble			
		1	2	3	4
25 mg/ml	18	12,1111			
50 mg/ml	18		13,3889		
100 mg/ml	18			16,3333	
200 mg/ml	18				18,3889
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

### C3.Étude statistique l'activité antimicrobienne des extraits de *Ceratonia siliqua* sur *S.aureus*

**Tableau C7 : Statistique descriptives**

Concentration	Extraits	Moyenne	Ecart-type
25 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	,0000	,00000
	Extrait aqueux des gousses	8,3333	,57735
	Extrait méthanolique des graines	11,0000	1,73205
	Extrait aqueux des graines	,0000	,00000
	Extrait méthanolique des feuilles	23,6667	1,15470
	Extrait aqueux des feuilles	18,6667	1,15470
	Total	10,2778	9,09949
50 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	,0000	,00000
	Extrait aqueux des gousses	10,6667	,57735
	Extrait méthanolique des graines	15,3333	1,15470
	Extrait aqueux des graines	,0000	,00000
	Extrait méthanolique des feuilles	28,3333	1,52753
	Extrait aqueux des feuilles	22,3333	5,50757
	Total	12,7778	11,06428
100 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	,0000	,00000
	Extrait aqueux des gousses	13,6667	1,52753
	Extrait méthanolique des graines	16,3333	1,52753
	Extrait aqueux des graines	,0000	,00000
	Extrait méthanolique des feuilles	34,0000	,00000
	Extrait aqueux des feuilles	34,6667	1,15470
	Total	16,4444	14,50851
200 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	,0000	,00000
	Extrait aqueux des gousses	20,3333	,57735
	Extrait méthanolique des graines	22,6667	2,51661
	Extrait aqueux des graines	,0000	,00000
	Extrait méthanolique des feuilles	40,3333	,57735
	Extrait aqueux des feuilles	38,0000	2,00000
	Total	20,2222	16,54781

**Tableau C8 : Analyse de la variance (Test ANOVA 2 facteurs)**

Tests des effets inter-sujets					
Variable dépendante: Nbre					
Source	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Concentration	1018,375	3	339,458	142,099	,000
Extraits	10917,903	5	2183,581	914,057	,000
Concentration * Extraits	689,708	15	45,981	19,248	,000
Total corrigé	12740,653	71			

**Tableau C9: Test d'homogénéité intergroupe (Test de Newman –Keuls)****A - Facteur ' Nature de l'extrait '**

Extraits	N	Sous-ensemble				
		1	2	3	4	5
Extrait méthanolique des gousses	12	,0000				
Extrait aqueux des graines	12	,0000				
Extrait aqueux des gousses	12		13,2500			
Extrait méthanolique des graines	12			16,3333		
Extrait aqueux des feuilles	12				28,4167	
Extrait méthanolique des feuilles	12					31,5833
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

**B- Facteur 'Concentration '**

Concentration	N	Sous-ensemble			
		1	2	3	4
25 mg/ml	18	10,2778			
50 mg/ml	18		12,7778		
100 mg/ml	18			16,4444	
200 mg/ml	18				20,2222
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000



#### C4. Étude statistique l'activité antimicrobienne des extraits de *Ceratonia siliqua* sur *Candida albicans*

**Tableau C10 : Statistique descriptives**

Concentration	Extraits	Moyenne	Ecart-type
25 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	16,6667	2,30940
	Extrait aqueux des gousses	13,3333	1,15470
	Extrait méthanolique des graines	14,3333	,57735
	Extrait aqueux des graines	11,6667	2,08167
	Extrait méthanolique des feuilles	11,3333	1,52753
	Extrait aqueux des feuilles	15,0000	1,00000
	Total	13,7222	2,32140
50 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	20,6667	3,05505
	Extrait aqueux des gousses	14,3333	1,52753
	Extrait méthanolique des graines	15,3333	1,15470
	Extrait aqueux des graines	13,3333	1,52753
	Extrait méthanolique des feuilles	12,6667	1,52753
	Extrait aqueux des feuilles	16,3333	,57735
	Total	15,4444	3,07212
100 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	23,3333	1,15470
	Extrait aqueux des gousses	17,0000	,00000
	Extrait méthanolique des graines	17,3333	3,21455
	Extrait aqueux des graines	14,6667	,57735
	Extrait méthanolique des feuilles	14,3333	1,52753
	Extrait aqueux des feuilles	17,6667	,57735
	Total	17,3889	3,31021
200 mg/ml	Extrait méthanolique des gousses	25,3333	1,15470
	Extrait aqueux des gousses	18,0000	1,00000
	Extrait méthanolique des graines	20,0000	2,00000
	Extrait aqueux des graines	15,3333	1,15470
	Extrait méthanolique des feuilles	17,6667	1,52753
	Extrait aqueux des feuilles	24,6667	1,52753
	Total	20,1667	3,97418

**Tableau C11: Analyse de la variance (Test ANOVA 2 facteurs)**

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Concentration	412,819	3	137,606	55,350	,000
Extraits	516,569	5	103,314	41,556	,000
Concentration * Extraits	70,931	15	4,729	1,902	,047
Total corrigé	1119,653	71			

**Tableau C12 : Test d'homogénéité intergroupe (Test de Newman –Keuls)****A - Facteur ' Nature de l'extrait '**

Extraits	N	Sous-ensemble			
		1	2	3	4
Extrait aqueux des graines	12	13,7500			
Extrait méthanolique des feuilles	12	14,0000			
Extrait aqueux des gousses	12		15,6667		
Extrait méthanolique des graines	12		16,7500		
Extrait aqueux des feuilles	12			18,4167	
Extrait méthanolique des gousses	12				21,5000
Sig.		,699	,099	1,000	1,000

**B- Facteur 'Concentration '**

Concentration	N	Sous-ensemble			
		1	2	3	4
25 mg/ml	18	13,7222			
50 mg/ml	18		15,4444		
100 mg/ml	18			17,3889	
200 mg/ml	18				20,1667
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

**C5.Étude statistique l'activité antifongique des extraits de *Ceratonia siliqua* sur *Fusarium oxysporum***

**Tableau C13 : Statistique descriptives**

Concentration	Extraits	Moyenne	Ecart-type
25%	Extrait méthanolique des gousses	36,4250	5,04874
	Extrait aqueux des gousses	37,1400	2,02233
	Extrait méthanolique des graines	31,4250	2,01525
	Extrait aqueux des graines	33,5650	3,03349
	Extrait méthanolique des feuilles	41,9950	3,23148
	Extrait aqueux des feuilles	42,8500	,00000
	Total	37,7092	4,87844
50%	Extrait méthanolique des gousses	39,2800	1,01116
	Extrait aqueux des gousses	49,3500	2,92742
	Extrait méthanolique des graines	35,7100	,00000
	Extrait aqueux des graines	35,7100	,00000
	Extrait méthanolique des feuilles	44,2800	2,02233
	Extrait aqueux des feuilles	50,0000	3,02642
	Total	42,2692	7,17616
100%	Extrait méthanolique des gousses	52,8550	4,03758
	Extrait aqueux des gousses	52,1350	1,01116
	Extrait méthanolique des graines	44,9950	1,01116
	Extrait aqueux des graines	39,9950	4,03758
	Extrait méthanolique des feuilles	45,2800	,60811
	Extrait aqueux des feuilles	52,1400	,00000
	Total	47,5433	5,07106
200%	Extrait méthanolique des gousses	58,7100	1,82434
	Extrait aqueux des gousses	52,8500	2,02233
	Extrait méthanolique des graines	50,7100	5,04874
	Extrait aqueux des graines	50,0000	,00000
	Extrait méthanolique des feuilles	46,4250	1,01116
	Extrait aqueux des feuilles	63,4950	,91217
	Total	53,6983	6,24793

**Tableau C14 : Analyse de la variance (Test ANOVA 2 facteurs)**

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Concentration	1810,090	3	603,363	99,264	,000
Extraits	857,636	5	171,527	28,214	,000
Concentration * Extraits	435,365	15	29,024	4,744	,000
Total corrigé	3248,990	47			

**Tableau C15 : Test d'homogénéité intergroupe (Test de Newman –Keuls)****A - Facteur ' Nature de l'extrait '**

Extraits	N	Sous-ensemble			
		1	2	3	4
Extrait aqueux des graines	8	39,8175			
Extrait méthanolique des graines	8	40,7100			
Extrait méthanolique des feuilles	8		44,4950		
Extrait méthanolique des gousses	8		46,8175	46,8175	
Extrait aqueux des gousses	8			47,8688	
Extrait aqueux des feuilles	8				52,1212
Sig.		,476	,072	,402	1,000

**B- Facteur 'Concentration '**

Concentration	N	Sous-ensemble			
		1	2	3	4
25%	12	37,7092			
50%	12		42,2692		
100%	12			47,5433	
200%	12				53,6983
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

## Résumé

Notre travail porte sur l'étude de l'effet antimicrobien, antioxydant et la caractérisation phytochimique de différents extraits de *Ceratonia siliqua* L. (gousses, graines et feuilles) appartenant de la famille des *Fabaceae*, communément appelée « El Kharoub ». La détermination des rendements en extraits bruts a montré une rentabilité importante en extraits méthanolique de feuilles et de gousses avec des valeurs respectivement de 36,8 % et de 25,2 %. Le screening phytochimique des extraits de la plante a mis en évidence une richesse en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponosides, les quinones libres, les stérols et les triterpènes. L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage du radical libre DPPH a révélé que les deux extraits méthanolique et aqueux des feuilles sont dotés d'un potentiel anti-radicalaire élevé avec une IC<sub>50</sub> respectivement de l'ordre de 0,3051 mg/ml et 0,4006 mg /ml. L'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne des extraits de *Ceratonia siliqua* L. vis-à-vis les quatre souches microbiennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* et *Fusarium oxysporum*) a montré que la plante détient d'une activité antimicrobienne importante et ces souches testées sont des espèces sensibles.

**Mots clés:** *Ceratonia siliqua* L., extrait méthanolique, extrait aqueux, screening phytochimique, activité antimicrobienne, activité anti-oxydante.

## ملخص

يتمحور عملنا حول دراسة التأثير المضاد للميكروبات ومضادات الأكسدة والفحص الكيميائي النباتي لمختلف مستخلصات نبات *Ceratonia siliqua* L. (القرون، البذور والأوراق) التي تنتمي إلى عائلة *Fabaceae* المعروفة باسم "الخروب". أظهر تحديد مردود المستخلصات الخام مردودية معتبرة في مستخلصات الميثانول بالنسبة للأوراق والقرون بقيم 36.8% و 25.2% على التوالي. بين الفحص الكيميائي النباتي للمستخلصات النباتية ثراءً في النواتج الأيضية الثانوية مثل الفلافونويد والعفص والقلويدات والسابونوزيدات والكينونات الحرة والستيرولات والتريترين. كشف تقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة مسح الجذور الحرة DPPH أن المستخلصين الميثانولي والمائي للأوراق لهما إمكانات عالية مضادة للجذور الحرة مع تركيز IC<sub>50</sub> قدر ب 0.3051 مغ / مل و 0.4006 مغ/مل على التوالي. أظهر التقييم المختبري للنشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات *Ceratonia siliqua* L. فيما يتعلق بالسلالات الميكروبية الأربعة (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*) أن النبات له نشاط كبير مضاد للميكروبات وهذه السلالات المختبرة هي أنواع حساسة.

**الكلمات المفتاحية:** *Ceratonia siliqua* L.، مستخلص ميثانولي، مستخلص مائي، فحص كيميائي نباتي، نشاط مضاد للميكروبات، نشاط مضاد للأكسدة.

## Abstract

Our work focuses on the study of the antimicrobial and antioxidant effects and the phytochemical characterization of different extracts of *Ceratonia siliqua* L. (pods, seeds and leaves) belonging to the *Fabaceae* family, commonly called « El Kharoub ». Determination of crude extract yields showed significant profitability in methanolic extracts from leaves and pods, with values of 36.8% and 25.2% respectively. Phytochemical screening of plant extracts revealed a wealth of secondary metabolites such as flavonoids, tannins, alkaloids, saponosides, free quinones, sterols and triterpenes. Evaluation of antioxidant activity by the DPPH free radical scavenging method showed that both methanolic and aqueous leaf extracts have a high free radical scavenging potential, with IC<sub>50</sub> in the order of 0.3051 mg/ml and 0.4006 mg/ml respectively. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of *Ceratonia siliqua* L. extracts against four microbial strains (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* and *Fusarium oxysporum*) showed that the plant possessed significant antimicrobial activity, and these tested strains are sensitive species.

**Key words:** *Ceratonia siliqua* L., methanolic extract, aqueous extract, phytochemical screening, antimicrobial activity, antioxidant activity.