

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme master académique
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : science biologique
Spécialités : Biologie moléculaire et cellulaire

Présenté par :

- Melle. BOUCHENA Chaimaa

- Melle. OUAFFAI Kenza

Extraction et évaluation de l'activité antifongique des molécules phytochimiques de la caroube

Soutenu publiquement, le :

Jury:

Grade

Président: FETTOUHI Bekhaled

« MCA »

Encadrant: ACEM Kamel

« PR »

Examineur: YEZLI Wassim

« MCA »

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

En toute simplicité, nous tenons à remercier Allah de nous avoir guidé, aidé et éclairé notre chemin.

Au terme de ce travail nous tenons à remercier en premier lieu notre promoteur **Mr. ACEM Kamel** de nous avoir accompagné durant cette recherche, pour ses orientations, ses encouragements et surtout pour ses précieux conseils.

Nous tenons à remercier les membres de jury **Mr. FETTOUHI Bekhaled** et **Mr. YEZLI Wassim** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements vont également à tous Les techniciens des laboratoires pédagogiques de l'université

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance et notre sincère gratitude à tous les enseignants qui nous ont accompagnés durant ce cursus Universitaire.

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

Dédicaces

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

À mes très chers parents,

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

A Mon père, qui doit être fier de moi

A ma deuxième maman,

Ma chère tante qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie

A mes frères Baraa, Anes et ça femme

pour leur assistance et leur amour fraternel et leur chaleur

A mes adorables nièces Rahil et Ayan

A la mémoire de mes grands-parents

Puisse Dieu vous avoir en sa sainte miséricorde et que ce travail soit une prière pour votre âmes

A toute la Famille Belfodil et Bouchena

Chacun et chacune a apporté sa touche d'encouragement et de soutien.

A une personne qui ma aider le plus Yazid

A mon binôme Kenza

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 Asmaa et Djihad pour les moments que vous avez vécu ensembles et les souvenirs

A Innovation club

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

Chaimaa

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à mes chers parents qui m'ont doté d'une éducation digne;

A ma mère

Pour son affection, ses encouragements et ses sacrifices; Pour son grand amour, sa tendresse et ses Longues prières qui m'ont été le meilleur gage de réussite, je t'offre ce travail

A mon père

Pour son soutien et la confiance qu'il m'accordé. L'amour qu'ils m'ont donné a fait de moi la personne que je suis aujourd'hui.

A MA honorable sœur Amel,

A qui, je porte le plus grand amour pour la collaboration et l'aide qu'elle n'a pas cessée de m'apporter. Que dieu vous protège et vous offre tout le bonheur que vous méritez pour Votre avenir

A mes frères

Pour leur assistance et leur amour fraternel et leur chaleur

A mes adorables neveux

Abd El Wadoud et Oumnia et leur père

A mon binôme

Je vous remercie pour ton encouragement tes efforts dans ce modeste travail pour ton amour ton soutien et ta présence dans ma vie

A mes amies, Asmaa et Djihad pour leur disponibilité, leur aide, leur encouragement et pour les moments que vous avez vécu ensembles et les souvenirs

Ma famille

Mes proches et mon entourage, qui n'ont pas arrêté de me pousser et de me soutenir. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma plus sincère gratitude. J'espère que j'étais à la hauteur de ce que vous attendez de moi.

LISTE DES ABREVIATIONS

RPD : Relizane pulpe décocté

RGD : Relizane gousse décocté

TPD : Tissemsilet pulpe décocté

TGM : Tissemsilet gousse macéré

BPM : Boumerdes pulpe macéré

BGM : Boumerdes gousse macéré

MH : Muller Hinton

GN : Gélose nutritif

CAND : Candida Albicans

PPR : Poudre pulpe Ghilizene

PGR : poudre gousse Ghilizene

PPT : poudre pulpe Tissemsilt

PGT : poudre gousse Tissemsilt

PPB : poudre pulpe Boumerdes

PGB : poudre gousse Boumerdes

EA : Extrait aqueux

cm :Centimètre

g : Gramme

ml : millilitre

h : Heure

ms : milli siemens

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Arbre du caroubier	3
Figure 02: Feuille de caroubier.....	4
Figure 03 : <i>Ceratonia siliqua</i> (Fleurs en grappe du caroubier)	5
Figure 04 : Fruit du caroubier	6
Figure 05 : Graine de la caroube	6
Figure 06 : Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde.....	8
Figure07: Distribution du caroubier en Algérie suivant les domaines bioclimatiques	9
Figure 08 : Protocole expérimental	15
Figure 09 : Gousses des différentes régions	16
Figure 10 : Protocole expérimentale de l'activité antifongique	28
Figure 11 : Repiquage par méthode d'épuisement en stries.....	29
Figure 12: Principe de la méthode de diffusion par disque.....	31
Figure 13: Caractérisation morpho biométrique des gousses de la caroube	33
Figure 14 : Morphologie de la caroube	33
Figure 15: Valeurs moyennes du pH.....	34
Figure 16: Valeurs moyennes de la conductivité électrique.....	35
Figure 17: Valeurs moyennes de la densité.....	36
Figure 18: Absence de la zone d'inhibition de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) en fonction des différentes concentrations des extraits aqueux de caroube	43-44
Figure 19 : Effet inhibiteur d'extraits aqueux de la caroube en fonction de leurs concentrations sur la croissance de <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231).....	45-46

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Classification classique et phylogénétique de <i>Ceratonia siliqua</i> L.	2
Tableau 02 : Différentes variétés du caroubier	7
Tableau 03 : Domaines d'application du caroubier.....	9
Tableau 04: Composition chimique de la caroube	10
Tableau 05 : Effets biologiques du caroubier	11
Tableau 06 : Matériel et produits chimiques utilisés.....	13
Tableau 07 : criblage phytochimique des extraits aqueux des farines des caroubiers étudiés	21
Tableau 08 : Phytocomposants de la caroube.	37
Tableau 09 : Résultats d'analyse de l'activité antifongique des extraits aqueux de caroube en fonction de leurs concentrations (réponse négative).	43
Tableau10 : Résultats d'analyse de l'activité antifongique des extraits aqueux de caroube en fonction de leurs concentrations (réponse positive).	44

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Caractères morphologique

Annexe II : Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PGB)

Annexe III : Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PPB)

Annexe IV : Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PGR)

Annexe V : Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PPR)

Annexe VI : Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PGT)

Annexe VII : Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PPT)

AnnexeVIII: La sélection des extraits

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ANNEXE

INTRODUCTION

SOMMAIRE

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Taxonomie	2
I .2. Classification systématique	2
I .3 Description botanique	3
I .3.1. Les racines	3
I .3.2. Le tronc	4
I .3.3. Les feuilles	4
I .3.4. Les fleurs	4
I .3.5. Le fruit	5
I .3.6. Les graines	6
I .4. Les variétés	7
I .5. Origine	7
I .6. Distribution géographique	8
I .6.1. Dans le monde	8
I .6.2. En Algérie	8
I .7. Utilisation du caroubier	9
I .8. Composition chimique.....	10
I .9. Pouvoir Biologique.....	11
II.10. <i>Candida Albicans</i>	12
II.10.1. Pouvoir pathogène	12

II. ETUDE EXPERIMENTAL

II. Matériel et méthodes	13
II.1. Objectif	13

II.2. Lieu et durée du travail	13
II.3. Matériel et produits chimiques.....	13
II.4. Matériel végétal	14
II .5. Protocole expérimental	15
II.5.1. Préparation de matériel végétal.....	16
II.5.2. Caractéristiques morphologiques	16
II .5.2.1. Longueurs	16
II .5.2.2. Largeur et épaisseur	17
II .5.2.1. Volumes	17
II.6. Préparation des extraits	17
II.6.1. Technique d'extraction par macération	17
II.6.1.1. Principe.....	17
II.6.1.2. Mode opératoire.....	17
II .6.2. Technique d'extraction par décoction	17
II.6.2.1. Principe	17
II.6.2.2. Mode opératoire.....	17
II.6.3. Sélection d'extraits aqueux	18
II.7. ANALYSES PHYSIQUE	18
II.7.1. Indice de réfraction et degré de Brix.....	18
II.7.1.1. Principe.....	18
II.7.1.2. Mode opératoire	19
II.7.1.3. Expression des résultats	19
II.7.2. LE PH	19
II.7.2.1. Principe.....	19
II.7.2.2. Mode opératoire	19
II.7.3. Conductivité électrique :	20
II.7.3.1. Principe.....	20
II.7.3.2. Mode opératoire	20
II.7.3.3. Expression des résultats	20
II.7.4. Densité	20

II.7.4.1.Principe.....	20
II.7.4.2.mode opératoire.....	20
II.7.4.3.Expression des résultats	20
II.8. criblage photochimique	21
II.9.Matériel Fongique.....	27
II.9.1.L'activité Antifongique.....	28
II.10.Préparation des milieux.....	29
II.10.1. Préparation de gélose nutritive.....	29
II.10.2. Préparation de Muller Hinton Agar	29
II.11.Repiquage des souches fongiques.....	29
II.12.Préparation de la suspension fongique.....	30
II.13.Détermination de l'effet antifongique	30
II.13.1.Description de la méthode	30
II.13.1.1.Méthode de diffusion sur gélose (méthode de disque).....	30
II.13.1.2.Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits)	31

III. Résultats et discussions

III.1.Caractérisations morfo biométriques des gousse.....	33
III.2.Paramètre physique	33
III.2.1.Le degré de Brix	34
III.2.2. Le ph	34
III.2.3. La conductivité	35
III.2.4. La densité.....	36
III.3. Criblage photochimique	37
III.4. Evaluation de l'activité antifongique.....	42

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIE

ANNEXES

Introduction

Introduction

L'utilisation des plantes pour la guérison remonte à la préhistoire et est une tradition ancienne partagée par tous les peuples de tous les continents ; malgré les efforts des chimistes pour synthétiser de nouvelles molécules, plus de 25% médicaments prescrits dans les pays développés sont directement ou indirectement issus de plantes **(Benaïssa et Boukhari .,2018)**.

De nos jours la phytochimie, fait souvent appel à la culture in vitro pour l'étude des voies de biosynthèse des métabolites secondaires dans des conditions expérimentales plus favorables que celles de la plante entière et également pour l'obtention de molécules à activité pharmacologique **(Marouf et Reynaud., 2007)**.

Le caroubier est un arbre originaire des zones arides et semi-arides de la méditerranée et de la péninsule arabique **(Challal et al .,2017)**, il est apprécié depuis des milliers d'années par les habitants des pays méditerranéens pour sa chaire farineuse et sucrée. En Algérie, on le trouve un peu partout dans le nord du pays, et même au nord du Sahara dans des altitudes de moins de 1700 m **(Arbane., 2015)**.

Selon **Sbay(2008)** Le caroubier est cultivé pour ces divers usages, ses fruits sont comestibles et sucrés, on tire de la gousse de la caroube deux principaux produits., la farine et la gomme qui sont utilisées dans l'industrie agroalimentaire, cosmétique, textile et pharmaceutique vis-à-vis des maladies fongiques cutanées ,unguéales, génitales, muqueuses, invasives, dues aux genres Candida **(Anepc.,2018)**.Les larges utilisations potentielles des extraits de gousses de caroube ont été largement rapportées dans la littérature et sont étroitement liées à la présence de différentes classes de composés phytochimiques bioactifs **(Ben othmen et al .,2021)**.

Dans ce contexte ;la présente étude s'est axée sur la phytochimie et évaluation de l'activité antifongique des extraits aqueux des farines des gousses entières et des pulpes des caroubiers issus de trois sites biogéographiques différents à savoir wilaya de Relizane,Tissemsilt et Boumerdes .

Chapitre I

Partie bibliographique

I.1. Taxonomie

Le caroubier est un arbre à feuilles persistantes, de cinq à sept mètres de haut, particulièrement grand, et peut vivre des centaines d'années. Son tronc est généralement tordu avec une écorce brune et rugueuse. *Ceratonia siliqua* est le nom scientifique du caroubier, dérivé du grec Keras (corne) et du latin siliqua, signifiant "dioxyde de silicium" ou "gousse", impliquant la fermeté et la forme du fruit, c'est-à-dire caroube, semblable à "« corne de bouc »" (Bolonos, 1955). Il est également connu sous le nom de pain Saint Jean-Baptiste (Batlle et Tous, 1997). Le genre *Ceratonia* appartient à la légumineuse Rosaceae (Fabaceae), qui appartient à la sous-famille Caesalpinioïdae. De plus, certains auteurs ont désigné *Ceratonia* comme l'une des plus anciennes légumineuses (Tucker, 1992) et sera complètement séparée des autres genres de sa famille. Le fruit, appelé "caroube" ("Kharroub" en arabe, "algarrobo" en espagnol, "carroubo" en italien), est une gousse de 10 à 30 cm de long, 1 à 3 cm de large et 1 cm d'épaisseur. Mature. Les graines contenues dans ces gousses ont longtemps été utilisées comme unité de poids pour peser les diamants en raison de leur uniformité quasi parfaite, d'où le nom de « carat », c'est-à-dire que 1 carat équivaut à 205,3 milligrammes (Rejeb, 1995).

I.2. Classification systématique

Selon les systèmes de Cronquist(1981) et APG II(2003), la classification classique et la phylogénie de *Ceratonia siliqua* L. a été établie selon le tableau 1.

Tableau 1: Classification classique et phylogénétique de *Ceratonia siliqua* L.

Classification pré- phylogénétique (Cronquist, 1981)		Classification phylogénétique (APGII, 2003)	
Règne	Plantae	Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta	Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	spermaphyte	Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliophyta (Angiosperme)	Sous-embranchement	Eu-Angiospermes
Classe	Magnoliopsida (dicotylédones)	Classe	Eudicotyledones
Sous-classe	Rosidae	Ordre	Triaperturées
Ordre	Fabales	Sous-ordre	Rosidés
Famille	Caesalpinaceae	Famille	Rosidés I (hypogyne dialycarpique)
Sous-famille	Caesalpinioideae	Sous-famille	Fabaceae
Genre	<i>Ceratonia</i>	Genre	Caesalpinioideae
Espèce	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Espèce	<i>Ceratonia siliqua</i> L.

I.3.Description botanique

Le caroubier est un arbuste ou un arbre sclérophylle à feuilles persistantes dioïque(figure01), parfois hermaphrodite, rarement monoïque, atteignant 10 m de haut et 85 cm de diamètre, avec une large cime hémisphérique, un tronc robuste, une écorce d'arbre brun rugueux, des branches épaisses, la durée de vie est de 200 ans. Selon **Goldblatt(1981)**, il a un nombre de chromosomes haploïdes de $n=12$, contrairement aux autres Cassies ($n = 14$ bases), suggérant qu'il pourrait être aneuploïde. Le caroubier est le seul arbre méditerranéen qui fleurit en aout à octobre (**Aafi, 1996**) ou automne (septembre à novembre)(**Fournier,1977**), semblable à de nombreuses vraies plantes tropicales. Cependant, le moment et la durée de la période de floraison dépendent des conditions climatiques locales, comme c'est le cas pour la plupart des arbres fruitiers et à noix.



Figure 01 : Arbre du caroubier

I.3.1. Racines

Les racines du caroubier sont très ramifiées en surface, Ces structures caractérisent une grande partie du système racinaire du caroubier et forment une base assez large. Il se caractérise par une croissance lente, mais un développement important, la racine principale se ramifiant en plusieurs racines latérales ou secondaires de grande longueur et ayant tendance à être superficielle, surtout sur des sols denses ou peu profonds (**Tous, 1984**).

I.3.2. Tronc

Le tronc est épais, fissuré et tordu comme un olivier, car le caroubier pousse aussi lentement et a une longue durée de vie, avec une écorce lisse grise lorsqu'elle est jeune et brune rugueuse lorsqu'elle est adulte. Son bois est blanc jaunâtre lorsqu'il est jeune, devenant rose veiné avec l'âge, puis rouge foncé et dur (**Benamar et al .,2011**).

I.3.3. Feuilles

Les feuilles du caroubier mesurent 12 à 30 cm de large (figure02), alternes, persistantes, avec 3 à 5 paires de folioles. Elles sont coriaces, entières, ovales à elliptique, paire-pennées, légèrement échancrée (**Ait chitt et al.,2007**), vert vif sur la face supérieure et vert pâle sur la face inférieure. Les caroubiers perdent leurs feuilles en juillet tous les deux ans (**AAFI, 1996**).



Figure 02: Feuille de caroubier (**Benmahiouletal, 2011**).

I.3.4. Fleurs

Les fleurs de caroubier (figure03) sont unisexuées (elles sont initialement bisexuées, une des fonctions sexuelles mâle ou femelle est supprimée au cours du développement), nombreuses et très petites, de 6 à 12 mm de long. ; Se compose d'un calice violet sans corolle (calice en forme de disque, rouge-vert, à nectaires, uni en touffes axillaires cylindriques, généralement dressées ou ascendantes, à pétioles courts, disposés le long de rachis ou d'axes, de couleur vert jaunâtre ou rougeâtre, de 4 à 10 cm de long, avec 10 à 30 fleurs insérées (**Battel et Tous,1997**). Les grains de pollen libérés par les anthères sont sphériques sous forme de tétracobaltate (**Ferguson 1980**). Le diamètre du pollen est de 28-29 m aux pôles et de 25-28 m à l'équateur (**Ferguson 1980; Linskens et Scholten 1980**)



Figure 03 : *Ceratonia siliqua* (Fleurs en grappe du caroubier)
(<https://www.bio-enligne.com/produits/136-caroubier.html>)

I.3.5.Fruit

Les fruits (figure 04) sont des gousses indéhiscentes, allongées, aplaties, droites ou courbes, épaissies au niveau des sutures, de 10-30 cm de long, 1,5-3,5 cm de large, environ 1 cm d'épaisseur, apex obtus ou sub-acuminé. Les gousses sont brunes avec une surface ridée et sont coriaces à maturité. La pulpe se compose d'une couche externe dure (le péricarpe) et d'une région interne plus molle (le mésocarpe). Les graines sont présentes latéralement dans la gousse, séparées par le mésocarpe. Ce sont des comprimés oblongs ovales très durs et nombreux, de 8-10 mm de long, 7-8 mm de large et 3-5 mm d'épaisseur ; le tégument est dur et lisse, brun brillant, divisé par le hile. La couleur des caroubes est d'abord verte puis brun foncé à maturité. La caroube met généralement 9 à 10 mois pour atteindre cette maturité, correspondant à trois stades de développement :

- La première étape est caractérisée par une croissance lente en automne et en hiver.
- La seconde correspond au développement actif et à la croissance rapide des gousses printanières ;
- Au stade final, les gousses mûrissent et durcissent en juin-juillet (**Berghida et al., 2017**).



Figure 04 : Fruit du caroubier

I.3.6. Graines

Les graines de caroube (figure05) sont petites, ovales aplaties et biconvexes. Le tégument est généralement lisse, dur, brun rougeâtre et brillant (Albanell,1999). Ils mesurent 8 à 10 mm de long, 6 à 8 mm de large et 3 à 5 mm d'épaisseur. Les graines sont très dures et très résistantes. Ils sont séparés par des séparateurs en forme de pulpe. Il y en a quinze à vingt par gousse. La pulpe jaune pâle des gousses est poudreuse et riche en sucre. Il peut être broyé en une poudre fine ou utilisé comme extrait. Ces graines sont également une source de chewing-gum. Les graines de caroube sont constituées de trois parties (Melgarejo et Salazar, 2003) :

- écorce ou tégument
- endosperme ou albumen
- germe ou embryon

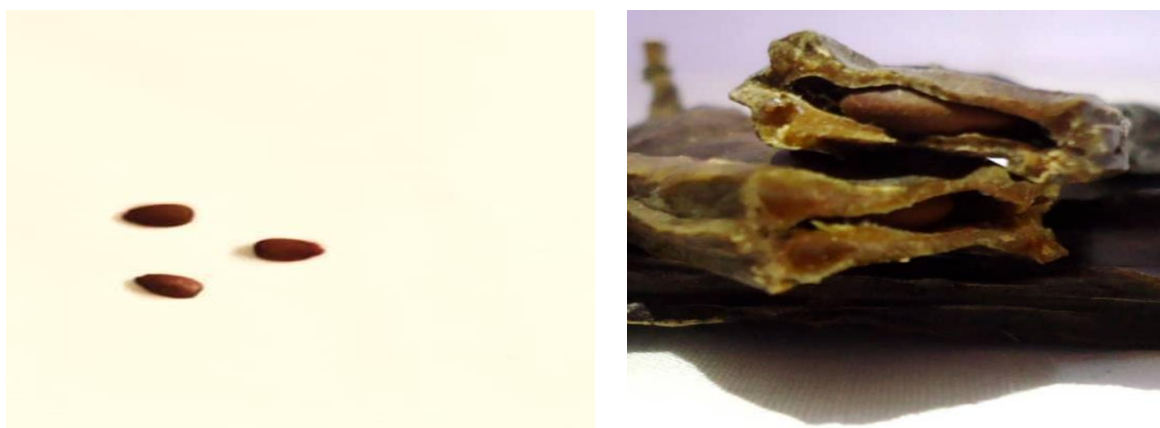


Figure 05 : Graine de la caroube

I.4. Variétés

Le caroubier existe en plus de 80 clones. Coit a pu en sélectionner sept, puis les exposer pour conservation au Centre de recherche sur les agrumes de l'UC. Le tableau02 résume les sept variantes (**Battel et tous ,1997**).

Tableau 02 : Différentes variétés du caroubier

Variétés	Propriétés
Amele (ancienne variété commerciale de l'Italie)	Les gousses sont brun clair, droites ou légèrement incurvées (14-16 cm) de long et (2-2,5 cm) de large ; teneur en sucre 53,8 %. Bon goût
Casuda (cultivar très ancien de l'Espagne)	Les gousses sont brunes, généralement sèches ; (12 cm) de long ; (1,5 cm) de large, avec une teneur en sucre de 51,7 %.
Arbre de la rue Clifford	Gousses brun clair, légèrement recourbées, longueur (13 cm), largeur (2 cm); teneur en sucre 52,9%.
Sfax (de Menzel-bouZelfa, Tunisie)	Gousses brun rougeâtre, droites ou légèrement recourbées ; longueur (15 cm), largeur (2 cm), teneur en sucre 56,6 %
Santa Fe-semis (de Santa Fe Springs, en Californie)	Gousses brun rougeâtre, droites ou légèrement recourbées ; longueur (15 cm), largeur (2 cm), teneur en sucre 56,6 %
Tantillo (de Sicile, Italie)	Gousses brun foncé, généralement sèches ; (13-15 cm) de long (2-2 cm) de large
Tylliria (de Chypre)	Les gousses sont brun acajou foncé, légèrement incurvées, longues (15 cm) de long (2-2,5 cm) de large, et contiennent 48,8% de sucre. délicieux. La pulpe contient 51% de sucre et les graines 49% de gomme.

I.5. Origine

L'origine du caroubier est encore incertaine. Selon les recherches de Schweinfurt en 1894, il a laissé entendre qu'il était originaire du sud de l'Arabie (Yémen). Cependant, **Zohary (1973)** considère que la caroube est originaire de la flore d'Indochine, en Malaisie, et qu'elle est regroupée avec l'oleifera, le laurier et le myrte. D'autres auteurs, comme **Vavilov (1951)** et de **candolle (1983)**, rapportent qu'il serait originaire de la région de la Méditerranée orientale (Turquie et Syrie). Les caroubiers sont bien connus au Proche-Orient et dans les îles méditerranéennes (**Benmahioul et al., 2011**).

I.6. Distribution géographique

I.6.1. Dans le monde

A l'état sauvage, les caroubiers semblent apparaître au Moyen-Orient et dans le bassin oriental de la Méditerranée, notamment en Turquie, à Chypre, en Syrie, au Liban, en Israël, dans le sud de la Jordanie et dans la péninsule arabique, puis se sont répandus en Égypte, en Libye et en Tunisie avant d'atteindre l'ouest de bassin Méditerranéen (figure 06). Il a été répandu en Grèce et en Italie par les Grecs puis par les Arabes le long de la côte de l'Afrique du Nord, et enfin au sud et à l'est de l'Espagne. caroubier aussi Introduction réussie dans plusieurs autres pays à climat méditerranéen (**Hillcoat et al., 1980**), par exemple en Australie, en Afrique du Sud, aux États-Unis (Arizona, Californie du Sud), Philippines et Iran.



Figure 06 : Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde

(**Battle et al., 1997**) .

I.6.2. En Algérie

Le caroubier est souvent planté dans l'Atlas saharien (figure 07) et est commun dans le tell (**Quezel et Santa, 1962**) ; il est associé à l'état naturel aux amandiers, *Olea-Europea* et pistachiers *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; avec une température de 5°C jusqu'à 20°C et une pluviométrie de 80mm à 600mm/an (**Rebour, 1968**).

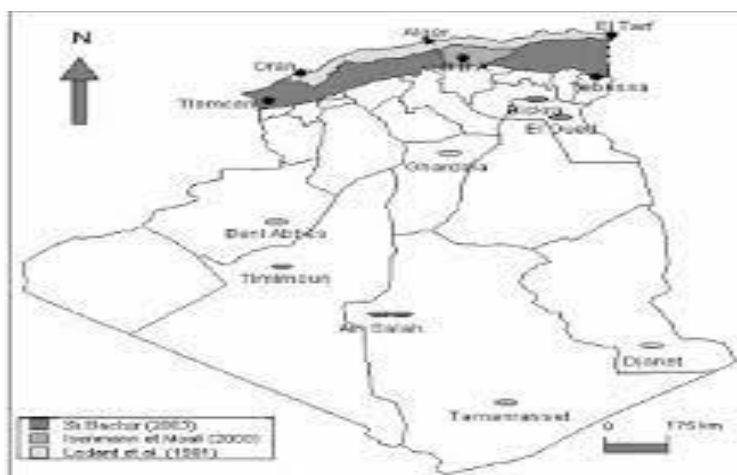


Figure07:Distribution du caroubier en Algérie suivant les domaines bioclimatiques(A.N.R.H,2004)

I.7. Utilisation du caroubier

Le tableau 03 donne les domaines d’utilisation du caroubier.

Tableau 03 : Domaines d’application du caroubier

Domaine d’utilisation	Usages
Alimentation	<ul style="list-style-type: none"> -un excellent aliment énergétique pour le bétail -la farine de la caroube utilisée comme additif pour les glaces, pâtisseries, confiseries et les aliments diététique comme le cacao -La farine est utilisée dans le lait en poudre pour bébé comme épaississant en remplacement de la traditionnelle farine de blé.(Sallouh et Nouioui,2019)
Médicale	<ul style="list-style-type: none"> - la gomme de la caroube utilisée dans plusieurs produits commerciaux comme agent stabilisateur, épaississant, agglomérant et gélifiant(Sallouh et Nouioui,2019) -Traitement de l'hypercholestérolémie -Traitement de la diarrhée -Traitement du reflux gastro-œsophagien (Tabet,2017) -Traitement du l’entérite, angines, rhumes etle cancer (Khouas et Hmamou, 2020)
Cosmétique	<ul style="list-style-type: none"> -dans l’une des applications industrielles, la gomme de la caroube est utilisée en cosmétique (crème, dentifrices...) pour sa capacité à former une solution très visqueuse (Khouas et Hmamou, 2020)

Chimique	<p>la farine de caroube utilisée pour :</p> <ul style="list-style-type: none"> - l'extraction du sucre - la fermentation de l'éthanol - la production d'acide citrique - le bois du caroubier est utilisé en ébénisterie et pour la fabrication du charbon - l'écorce et les racines sont employées dans le tannage. (Haddarah ,2013)
Ecologie	<ul style="list-style-type: none"> - utilisé pour le reboisement des zones affectées par l'érosion et la désertification. - Il est également utilisé comme plante ornementale en bordure des routes et dans les jardins (Maameri et Said ,2018)
Industriel	<ul style="list-style-type: none"> - 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 (Gaouar, 2011)

I.8. Composition chimique

La composition de la caroube s'est résumée dans la tableau 04.

Tableau 04: Composition chimique de la caroube **(Biner et al., 2007)**

La pulpe 90%	La graine 10%
Glucides 48 à 72 %	L'enveloppe tégumentaire (cuticule) 30-33%
Protéines 1-2%	
Matières grasses 0.5-0.7%	
Cellulose et hémicellulose 18 %	L'endosperme (albumen) 42-46 %
Minéraux (Ca, Mg, K, P)	
Pectines et fibres 4.2 à 9.6%	L'embryon (germe) 23-25%
Cendres 1.5-2.4%	
Polyphénols 16 – 20 %	

I.9. Pouvoir biologique

Le tableau 05 indique quelques activités biologiques du caroubier.

Tableau 05 : Effets biologiques du caroubier

Activité biologique	Action	Références bibliographiques
Activité Antifongique	L'extrait de feuilles au méthanol a complètement inhibé la croissance mycélienne à 25 mg/ml. Cette inhibition était supérieure à 59 % à partir d'une dose de 3,125 mg/ml.	Fadel et al., (2011)
Activité Antimicrobienne	Les principaux polyphénols décrits dans les gousses de caroube sont des substances insolubles hautement polymérisées appartenant aux tanins condensés contenant un noyau flavane Les polyphénols de caroube ont un poids moléculaire très élevé et sont rares dans les autres plantes Près de 50% des tanins ont un poids moléculaire compris entre 3200 et 3600 Daltons	Wursch et al.,(1984) Tanire et al.,(1971)
Activité Antioxydant	L'activité antioxydant de l'extrait de poudre de caroube a été Passé le test de décoloration des radicaux libres ABTS (acide 2.20 -azinobis-(acide 3-éthyl-benzothiazoline-6-sulfonique). Le cation radical ABTS (ABTS•+) est formé par Oxydation au persulfate de potassium (K ₂ O ₈ S ₂). Pour étudier l'extrait de farine de caroube, la solution ABTS ^{o+} a été diluée avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) jusqu'à une absorbance de 0,700 ± 0,02 à 734 nm.	Re R et al.,(1999) Benjakul et al.,(2005)

II.10. *Candida albicans*

Candida albicans, est une levure polymorphe opportuniste, est le pathogène fongique le plus commun chez l'humain. Il est responsable, entre autres, de diverses candidioses orales et de vaginites, deux infections très répandues. Elle a une forme variable ronde à allongée. Commensale dans le tube digestif de l'homme, des mammifères et des oiseaux, elle est opportuniste, devient pathogène en condition favorable (**Segal, 2005**).

II.10.1. Pouvoir pathogène

Candida albicans est un saprophyte, se dérive à un pathogène après sa grande multiplication dans un environnement. elle provoque un érythème cuisant recouvert par fois de dépôts blanchâtre crémeux (**Bovenotetal., 1996**).

Chapitre II

Matériel et Méthode

II. Matériel et méthodes

II.1. Objectifs

Les objectifs de l'étude sont résumés comme suit :

-Caractérisation morphobiométrique des gousses des caroubes issus de trois sites biogéographiques différents à savoir wilaya de Relizane, Tissemsilt et Boumerdes ;

-Criblage phytochimique et analyse physicochimique des extraits aqueux des farines des caroubes étudiés ;

- Evaluation de l'activité antifongique des extraits aqueux des farines des caroubes étudiés.

II.2. Lieu et durée du travail

L'étude expérimentale de ce travail, a été menée au sein des laboratoires de recherche: 1. Physiologie végétale appliquée aux cultures hors sol, 2. Hygiène et pathologie animale de l'institut des sciences vétérinaires à l'Université Ibn Khaldoun Tiaret ; durant la période allant du 13 Février au 28 Avril 2022 .

II.3. Matériel et produits chimiques

Le tableau 06 regroupe le matériel et les produits chimiques requis pour l'exécution de ce travail.

Tableau 06 : Matériel et produits chimiques utilisés

Matériel et appareillage	Produits chimiques et réactifs
Balance (KERN)	Réactif de Molish
Broyeur (BOMANN)	Reactif de Mayer
Micropipettes	Réactif de Wagner
Pied à coulisse (BERENT)	Réactif de Bouchard
Réfractomètre	Réactif de Cobalt chloride
Thermomètre (TRACEABLE)	Acétone (CH ₃ COOCH ₃)
Plaque chauffante (STUART)	Gélatine
Ph mètre(BANTE)	Hydrochloric acid HCl
Conductivité mètre (BANTE)	Hydroxyde de sodium NaOH

Bain de marie	d'hydroxyde de potassium KOH
Etuve	d'hydroxyde d'ammonium NH ₄ OH
Incubateur	Ethanol C ₂ H ₆ O
Densité	Réactif de Bradford
Agitateur	chlorure ferrique FeCl ₃
Vortex	Acide nitrique HNO ₃
Tube à essai	Chloroforme
Boite de pétri	Acide sulfurique H ₂ SO ₄
Bec Bunsen	Acétate de plomb
	Sulfuric acid H ₂ SO ₄
	Ninhydrine C ₉ H ₆ O ₄
	Ninhydrin
	Sulfate de cuivre CuSO ₄
	Fehling
	Gelose nutritif
	Muler Hinton agar
	Muler Hinton bouillon

II.4. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude provient de trois régions différentes d'Algérie (Tissemsilt, Boumerdas, Relizane), les gousses de caroubier ont été récoltées en fin juillet et durant le mois du septembre 2021.

II.5. Protocole expérimental

La figure 09 illustre le protocole expérimental de l'étude.

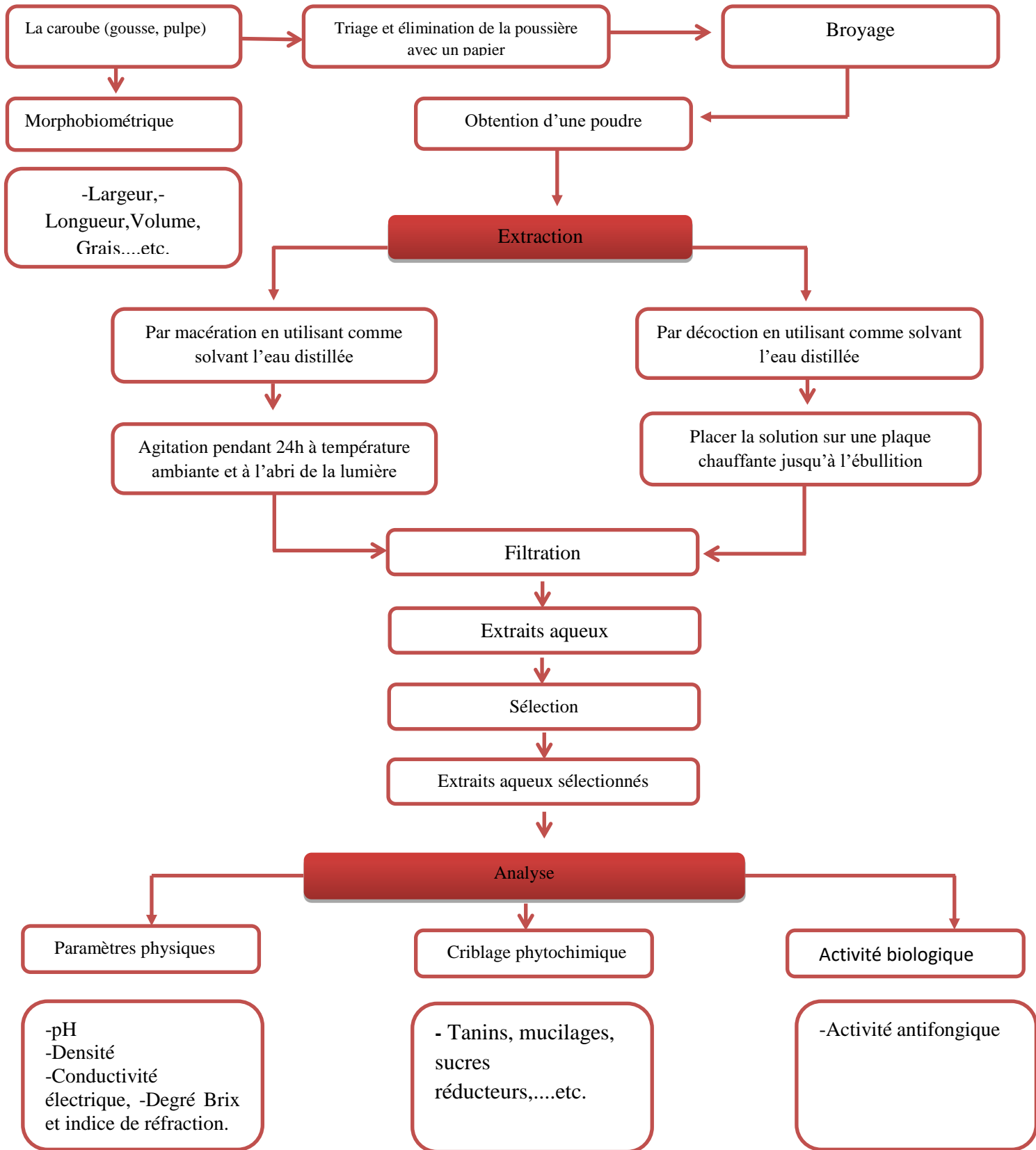


Figure 08 : Protocole expérimental

II.5.1. Préparation de matériel végétal

Après avoir récolté les gousses de caroube, nous les essuyons avec un papier hygiénique absorbant, puis nous trions les gousses entières des gousses cassées et nous les séparons manuellement des gousses cassées des graines pour obtenir la pulpe. Les gousses et les pulpes obtenues ont été broyées à l'aide d'un broyeur et stockées dans des boites en plastique à l'abri de la lumière en utilisant le papier aluminium pour une analyse ultérieure.

II.5.2. Analyse caractéristiques et morphologiques

Dix gousses de caroube ont été sélectionnées au hasard pour mesurer différents paramètres (Figure 10) : longueur, largeur, épaisseur, poids, volume, ainsi que le nombre de graines et le poids par graine.



Figure 09 : Gousses des différentes régions

II.5.2.1. Longueurs

La longueur de chaque gousse est déterminée en centimètres avec un fil. Mesurez ensuite cette dernière avec un pied à coulisse.

II.5.2.2. Largeur et épaisseur

Utilisez pieds à coulisse pour mesurer la largeur et l'épaisseur (en centimètres) de ces gousses (aux deux extrémités et au centre). Trois mesures ont été prises, dont la moyenne a été prise en largeur et en épaisseur.

II.5.2.3. Volumes

Estimer le volume en cm³ (ml) en immergeant les gousses irrégulières de caroube dans un volume d'eau connu dans une éprouvette graduée (1000cm³). Par conséquent, le volume est la quantité d'eau déplacée.

II.6. Préparation des extraits

Plusieurs méthodes d'extraction sont disponibles pour obtenir des extraits de composés naturels. Dans notre étude, nous avons choisi deux méthodes ; la macération et la décoction, toutes deux caractérisées par leur simplicité et leur facilité d'utilisation.

II.6.1. Technique d'extraction par macération

II.6.1.1. Principe

Le but de cette méthode est d'extraire les composés actifs d'un solide en le laissant séjourner dans un liquide. Pour cette raison, le solvant (son volume dépend de sa capacité d'absorption) doit traverser la barrière de l'interface solide/liquide, ensuite dissoudre le composé actif présent à l'intérieur et le diriger vers l'extérieur. L'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté se fait par dialyse ou par diffusion (**Lumbuet al. 2005**).

II.6.1.2. Mode opératoire

Les extraits ont été obtenus par macération à température ambiante pendant 24 heures, chaque suspension a été recouverte d'une feuille d'aluminium

Une série de préparations (masse de poudre/eau distillée) ont été réalisées selon les essais suivants : (25/100, 5/100, 25/50, 5/50) et filtrer ensuite la solution d'imprégnation sur papier filtre ; la porte d'extraction d'eau qui en résulte est recouverte d'une feuille d'aluminium.

I.6.2. Technique d'extraction par décoction

II.6.2.1. Principe

La décoction est une technique basée sur la mise en contact directe du matériel végétal avec le solvant et le tout ils sont soumis à un chauffage et une durée bien définis.

II.6.2.2. Mode opératoire

Une série de préparations (masse de poudre/eau distillée) ont été réalisées selon les essais suivants : (25/100, 5/100, 25/50, 5/50) ; chaque suspension a été chauffée sur une plaque chauffante pendant 5 minutes à partir de l'ébullition ; après filtration à froid, le filtrat a été recouvert d'une feuille d'aluminium.

II.6.3. Sélection d'extraits aqueux

L'extrait aqueux obtenu par macération et décoction est sélectionné en fonction de son indice de Brix et de réfraction

II.7. Analyses physiques

II.7.1. Indice de réfraction et degré de Brix

Le degré de Brix et l'indice de réfraction sont mesurés en laboratoire à l'aide d'un réfractomètre (**Brenard et al., 2012**).

II.7.1.1. Principe

Le degré de Brix (%) représente le pourcentage de concentration en solides solubles contenus dans l'échantillon, et la teneur en solides solubles représente la somme de tous les solides dissous dans l'eau, y compris les sucres, les protéines, les acides (**Cendres, 2011**).

L'indice de réfraction caractérise la capacité d'un produit chimique à dévier le trajet lumineux (**Lydie et Grégory, 2013**), il permet de connaître la pureté d'un liquide ou de connaître la dose d'un solide dissous dans une solution, il se mesure à l'aide d'un réfractomètre équipé d'un thermomètre (**Velsseyre, 1975**).

II.7.1.2 Mode opératoire

Selon la méthode AFNOR « NF ISO-279 ; (1999) », l'indice de réfraction est mesuré comme suit :

- Calibrer le réfractomètre avec de l'eau distillée avec un indice de réfraction égal à 1,333 et 0% degré de Brix ;
- Nettoyer le prisme du réfractomètre avec de l'acétone et sécher avec du papier absorbant.
- Ajouter 2 à 3 gouttes de solution entre les prismes ;
- changer alors la lunette de visée pour que la ligne de séparation de plage claire et de plage sombre se situe à la croisée des fils de réticule ;
- Lire l'indice de réfraction de l'objet à l'étude ;

II.7.1.3 Expression des résultats

L'indice de réfraction et le degré de Brix sont enregistrés directement sur deux échelles à l'intersection de la limite entre les franges claires et sombres (AOAC., 2000)

II.7.2 pH

II.7.2.1 Principe

La valeur du pH est mesurée par un pH-mètre et sa valeur dépend de la concentration en ions hydronium présents dans la solution (Geoffrey, 2011).

II.7.2.2 Mode opératoire

Mesure par immersion de l'électrode d'un pH-mètre dans une solution (AOAC 2002).

La procédure est la suivante :

- Rincer l'électrode avec de l'acétone et nettoyer avec du papier absorbant
- Calibrer le pH-mètre avec une solution tampon (pH= 7,12 : pH=4,4)
- enfoncer l'électrode du pH-mètre dans un volume d'échantillon suffisant et notez le pH de la solution à 20°C.

II.7.3 Conductivité électrique

II.7.3.1 Principe

La conductimétrie est une technique d'analyse quantitative, permettant d'accéder aux concentrations des ions en solution, cette technique est basée sur la connaissance de la conductivité σ de la solution, grandeur directement liée à la conductance G (l'inverse de la résistance R), mesurée avec un appareil appelé conductimètre (**Bernard et al ., 2012**).

II.7.3.2 Mode opératoire

- Rincer la cellule avec de l'eau distillée ;
- Plonger la cellule de conductivité dans la solution à analyser et laisser reposer sans agitation ;
- Une fois la valeur affichée par le conductimètre stabilisée, notez-la, puis retirez la cellule de la solution et rincez-la à l'eau distillée ;

II.7.3.3 Expression des résultats

Les lectures de conductivité sont prises directement sur l'écran du conductimètre (**Amellal, 2008**).

II.7.4. Densité

II.7.4.1. Principe

La densité D est le rapport de la masse volumique de l'espèce chimique par la masse volumique de l'eau, c'est un grandeur sans unité (**Lydie et Grégory. 2013**).

II.7.4.2. mode opératoire

- Peser le pycnomètre vide et parfaitement sec (P_0) en g.
- Peser le pycnomètre rempli d'eau distillée (P_1) en g.
- Vider le pycnomètre et sécher à l'aide d'une étuve.
- Peser le pycnomètre rempli de l'échantillon (P_2) (les 6 extraits aqueux de la caroube) en g.

II.7.4.3. Expression des résultats

La densité p est donnée par la formule suivante :

$$D = \frac{P_2 - P_0}{P_1 - P_0}$$

II.8.Criblage phytochimique

Le tableau 07 indique les modes opératoires appliqués pour le criblage phytochimique des extraits aqueux des farines des caroubes étudiés.

Tableau 07 : criblage phytochimique des extraits aqueux des farines des caroubiers étudiés

Phytoconstituant	Réactif	Méthode	Observation lors de la révélation	Référence
Tanins	chlorure ferrique FeCl ₃	La recherche des tanins en ajoutant à 2ml de chaque extrait 1à2 gouttes de solution de chlorure ferrique FeCl ₃ dilué à 0.1%	Le virement de couleur vers le vert foncé indique la présence de tanins catéchiques alors que le bleu-vert signifié la présence des tanins gallique	<i>Harborne (1998)</i>
Glycosides Cardiaque	Chloroforme Acide sulfurique	2ml de chaque extrait sont dissous avec 2ml de chloroforme ensuite 3ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés avec précaution	La formation d'une couche rouge foncée à brunâtre à l'interface de l'anneau indique la présence de glycosides cardiaque	Soni et sosa (2013)
Flavonoides	Acétate de plomb	A 3ml d'extrait on a ajouté quelques gouttes de solution	La formation de précipité jaune indique la présence de flavonoides	Tiwari et al., (2011)

		d'acétate de plomb		
Mucilages	Ethanol	1ml d'extrait est ajouté à 5ml d'éthanol absolu	L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence des mucilages	Noudogbessi et al.,(2013)
Anthocyanes		1ml de chaque extrait est additionné à 3ml H ₂ SO ₄ à 10% et 1ml de NH ₄ OH à 10%	Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu en milieu basique le résultat est jugé positif	Swapnali et al., (2012)
Saponines		Introduire 10ml de chaque des extraits dans un tube à essai le tube est agité pendant 15s puis laissé au repos 15min	Une hauteur de mousse persistante supérieur à 1cm indique la présence de saponosides (réaction positive)	Bidie et al., (2011)
Acide amine	Ninhydrine	3ml de filtrat et 3 gouttes de solution de ninhydrine à 5% ont été chauffés dans un bain-marie bouillant pendant 10min.	Observation de la couleur violette ou bleutée.	Swapnali et al., (2012)
Protéines	NaOH CuSO ₄	A 3ml d'extrait, on a ajouté du NaOH 4% et	Observation de la couleur violette ou rose	Swapnali et al., (2012)

(biuret general test)		quelques gouttes de solution de CuSO_4 1%.		
Proteines (contenant du soufre)	NaOH Acétate de plomb	5ml d'extrait ont été mélangés avec 2ml de NaOH 40% et 2 gouttes de solution d'acétate de plomb 10%, la solution a été bouillie	Elle est devenue noire ou brunâtre en raison de la formation de PbS .	Swapnali et al., (2012)
Proteine (tyrosine , tryptophan , xanthoprotéine)	H_2SO_4	Trois ml d'extrait ont été mélangés avec 1ml de H_2SO_4 concentré.	Observez le précipité blanc.	Swapnali et al., (2012)
Xanthoprotéine	HNO_3	Dans 2ml d'extrait, ajouter 2ml de HNO_3 concentré.	L'observation de la couleur orange indique la présence de protéines.	Swapnali et al., (2012)
Triterpénoïdes	Chloroforme H_2SO_4	Dans 2ml d'extrait, ajouter 1ml de chloroforme suivi de quelques gouttes de H_2SO_4 concentré sur le côté du tube à essai, bien agité.	La formation d'une couleur jaune dans la couche inférieure indique la présence de triterpénoïdes.	Swapnali et al., (2012)

Sucre reducteur (fehling'stest)	Fehling	1ml de solutions de Fehling A et 1ml de solutions de Fehling B ont été mélangées et portées à ébullition pendant une minute. Un volume égal de solution de test a été ajouté, chauffé dans un bain-marie bouillant pendant 5-10min	observé pour un précipité jaune puis rouge.	Swapnali et al., (2012)
Tests pour les sucres non réducteurs	Fehling	L'extrait ne donne pas de réponse au test de Fehling et de Benedict.		Swapnali et al., (2012)
Sucre d'hexose (test au chlorure de cobalt)	Ethanol Chlorure de chlore FeCl ₃ NaOH	3ml d'extrait d'éthanol ont été mélangés avec 2ml de chlorure de chlore bouilli et refroidi, des gouttes de FeCl ₃ et une solution de NaOH ont été ajoutées.	La solution a été observée pour un bleu verdâtre (glucose), violacé (fructose) ou une couche supérieure bleue verdâtre et une couche inférieure violacée (mélange de glucose et de fructose).	Swapnali et al., (2012)

Monosacharide (test de barfoed)	Barfoeds Ethanol	Ajouter un volume aqual de réactif de Barfoeds et d'extrait d'éthanol, chauffer pendant 1 à 2 minutes dans un bain-marie bouillant et refroidir.	Observation du précipité rouge	Swapnali et al., (2012)
Alkalouide (bouchardat)	Bouchard	2ml des différents extraits sont additionnés à 2 gouttes de réactif de BOUCHARDAT	Le résultat positif est révélé par une précipitation de couleur brun rougeâtre	Soni et sosa (2013) et bagreet al., (2007)
Alkaloides (mayer)	Mayer	2ml d'extrait ont été mélangés avec quelques gouttes de réactif de Mayer	observés pour le précipité.	Swapnali et al., (2012)
Alkaloides (wanger)	Wanger	2ml des différents extraits sont additionnés à 2 gouttes de réactif de WANGER	Le résultat positif est révélé par une précipitation de couleur brun rougeâtre	Soni et sosa (2013) et bagreet al., (2007)
	Hydroxyde d'ammonium HCL	2gouttes d'HCL concentré et 500µl d'hydroxyde	Apparition de couleur rouge ou précipité violette ou bleu	Dohou et al., (2003)

Quinons libres		d'ammonium dilué deux fois sont mélangés avec 1ml de chaque extrait puis agités		
Coumarine	Hydroxyde de sodium Hydroxyde de potassium HCL	Méthode 1 : 2ml de chaque extrait sont ajoutés avec 3ml d'hydroxyde de sodium 10% avec agitation Méthode 2 : 2ml de chaque extrait sont ajouté avec 10 gouttes d'hydroxyde de potassium à 10% et 5 gouttes d'HCL à 10%	1- Apparition de couleur jaune 2- Apparition de couleur rouge	El Yahyaoui et al.,(2007)
Huiles essentielles	NaOH HCL	2ml de chaque extrait sont ajouté à 100ul de NaOH 10% et 100 µl d'HCL 10%	Formation d'une précipitation blanche	Cahyono (2015)
Gelatine test	Gélatine NaCL	L'extrait 50mg est dissous dans 5ml d'eau distillée et 2ml de 1% solution de gélatine	Un précipité blanc indique la présence de composés phénoliques	Cahyono (2015)

		contenant 10%NaCL est ajouté à l'extrait.		
Carbohydrates (molish)	Molish	2 gouttes de réactif de Molish (préparé en dissolvant 0,1g de naphtol dans 2 ml d'éthanol) à 2ml de la solution de sucre à tester et mélanger, incliner le tube et ajouter DOUCEMENT 2ml d'acide sulfurique concentré sur le côté du tube à essai.	Une couleur violette à l'interface entre le sucre et l'acide indique un résultat positif.	Wikimedia 2017

II.9.Matériel Fongique

La souche fongique *Candidas albicans* (ATCC 10231) utilisée ; elle a été procurée du laboratoire de recherche d'hygiène et pathologie animale de l'institut des sciences vétérinaires.

II.9.1. Activité Antifongique

La figure 11 récapitule le protocole expérimental de l'activité antifongique recherchée.

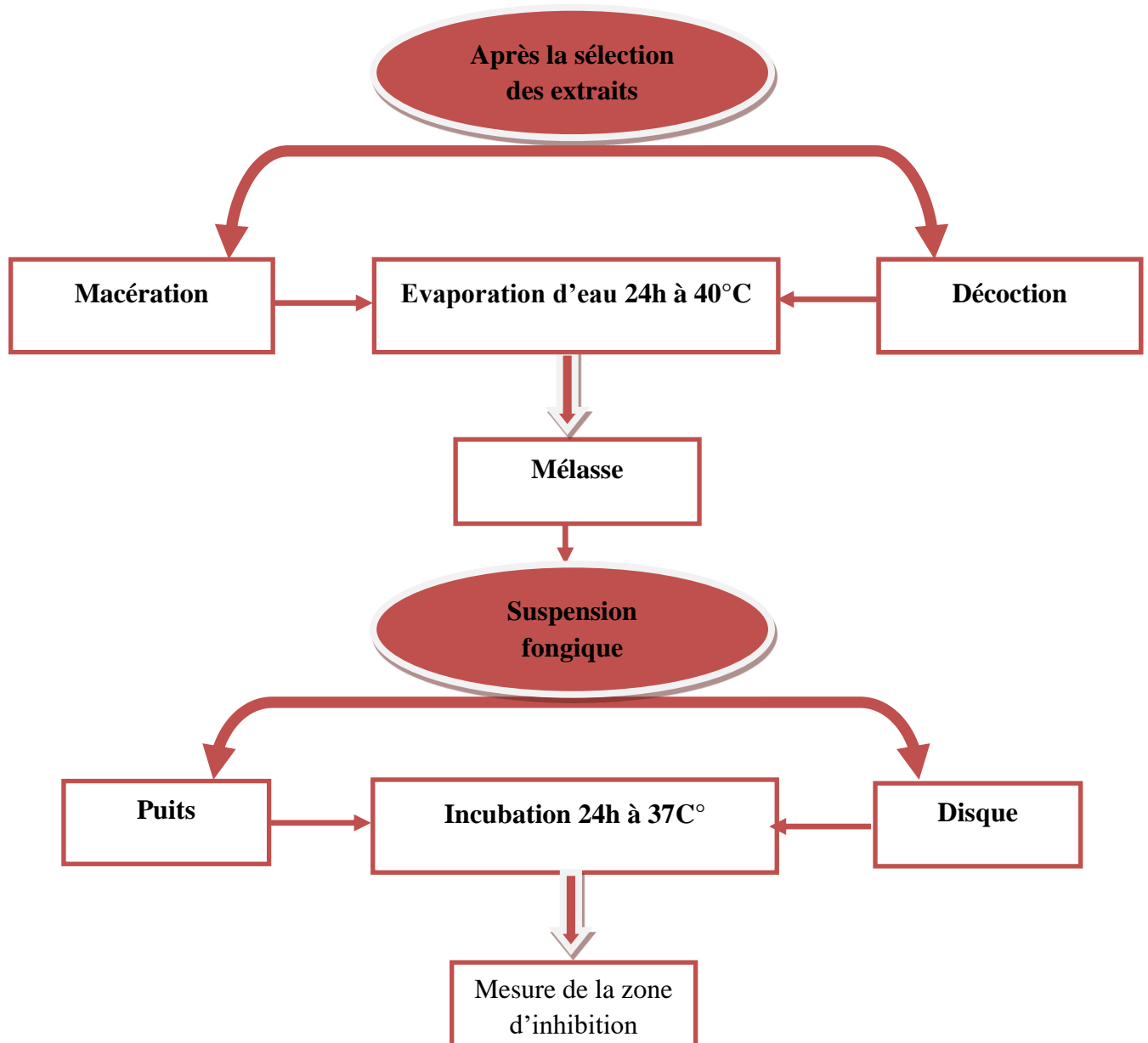


Figure 10 : Protocole expérimentale de l'activité antifongique

II.10. Préparation des milieux

Milieu de gélose nutritive déshydratée et Muller Hinton du laboratoire de microbiologie ; a confirmé que la qualité du milieu ne présente aucun aspect inhabituel (tel que des changements de couleur et de texture).

II.10.1. Préparation de gélose nutritive

- La première étape était la dissolution, peser 23g de la poudre et la reconstituer dans un 1 litre d'eau distillée ;
- Chauffer jusqu'à dissolution complète en agitant lentement et régulièrement pour répartir les composants dans la gélose de façon homogène ;
- Répartir la gélose dans des flacons de 200 ml ;
- Autoclave à 115°C pendant 20 minutes.

II.10.2. Préparation de Muller Hinton Agar

- Dissoudre 38g de poudre Muller Hinton dans 1 litre d'eau distillée ;
- Chauffer jusqu'à dissolution complète et agiter lentement et régulièrement immédiatement après l'ébullition et observer un assombrissement de la couleur ;
- Répartir la gélose dans des flacons de 200 ml ;
- Autoclave à 115°C pendant 20 minutes.

II.11. Repiquage de la souche fongique

Les différentes souches ont été sous-cultivées par la méthode de stries, puis incubées dans une étuve à 37°C pendant 18-24 heures pour obtenir une culture jeune et des colonies isolées pour la préparation des souches (figure12).

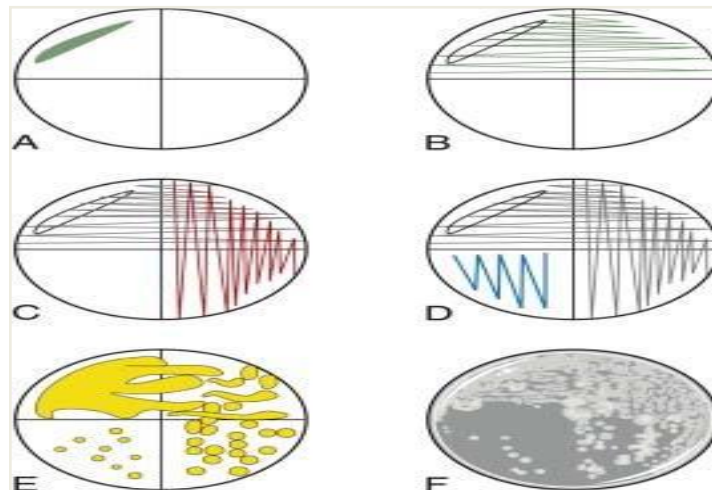


Figure 11 : Repiquage par méthode d'épuisement en stries.

II.12.Préparation de la suspension fongique

- A l'aide d'une pipette Pasteur, quelques colonies des souches cibles, bien isolées ont été prélevées à partir d'une culture fraîche de 18 à 24 h sur milieu gélosé Mueller Hinton (MH);
- Puis déchargées dans de l'eau physiologique et homogénéisées à l'aide d'un vortex ; la suspension fongique est standardisée à 10^6 UFC/mL (**Baouiri et al 2016**) a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre de type BIOCHROM, LIBRAS6 (Abs = 0,10 ; $\lambda=625$ nm) ; 0,5macfarlane ;
- Cet inoculum sert à ensemercer par écouvillonnage des boites de Pétri stériles préalablement coulées par la gélose MH , sur une épaisseur de 4 mm et séchées 30 min à température ambiante avant emploi.

II.13.Détermination de l'effet antifongique

Ce test : pour prédire la sensibilité d'une souche à plusieurs ATB, de même pour l'antifongigramme, il consiste à déterminer la sensibilité des champignons à différents agents antifongiques

Le principe de la méthode repose sur la diffusion de composés antifongique en milieu solide, dans une boîte de Pétri, à partir d'un point précis, créant un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme. Évaluer l'effet des substances antifongique sur la cible en mesurant la zone d'inhibition avec un pied à coulisse

II.13.1.Description de la méthode

II.13.1.1.Méthode de diffusion sur gélose (méthode de disque)

La gélose Mueller-Hinton (MH), surfondue dans des boîtes de Pétri à une épaisseur de 4mm. Après solidification, écouvillon stérile préalablement imbibé de cette suspension fongique de concentration standardisée est utilisé pour ensemercer la suspension fongique et drainer en stries serrées sur toute la surface de la gélose. Cette opération est répétée 3 fois, en tournant la boîte à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'inoculation se fait en passant un écouvillon à la périphérie de la gélose. Disques de 6 mm de diamètre (figure13), découpés du papier Wattman n° 01, stérilisés et imprégnés d'extrait pour obtenir des concentrations de 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500. mg Après 24 heures

d'incubation à 37°C, la lecture des résultats est faite par la mesure de la zone d'inhibition avec un pied à coulisse (**Bakli ,2010 ;Guessoum et Mokeddem,2019**).

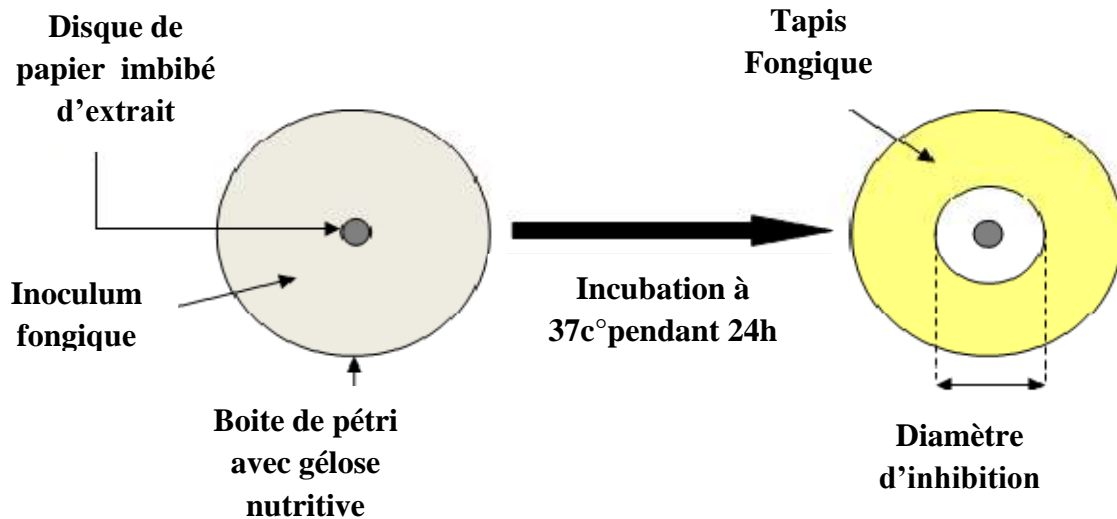


Figure 12: Principe de la méthode de diffusion par disque.

II.13.1.2.Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits)

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien, elle est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs. Des boîtes de Pétri contenant du milieu Mueller Hinton agar sontensemencées par une suspension qui provient d'une culture jeune de levures. L'ensemencement se fait par écouvillonnage. Après le séchage des boîtes, la gélose est perforée au centre à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur. Les cavités ainsi formées sont remplies de la solution aqueuse de la caroube. Les boîtes sont mises à incubées dans une étuve à 37°C pendant 24h pour les levures. L'inhibition se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits ; les résultats ont été lus en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (**Khebichat A.,2013**).

Chapitre III

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Caractérisation morpho biométriques des gousses

Les paramètres morpho biométriques: largeur, épaisseur, longueur, poids, volume et le nombre, poids des graines des gousses de chaque échantillon sont rassemblés dans les figures 14 et 15.

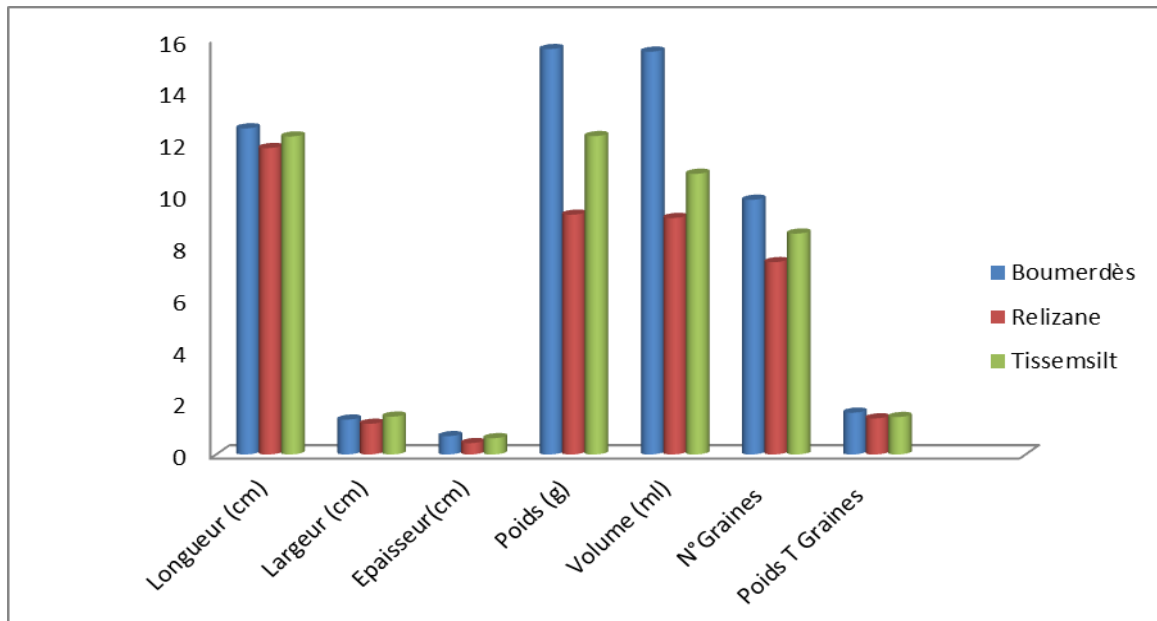


Figure 13: Caractérisation morpho biométrique des gousses de la caroube

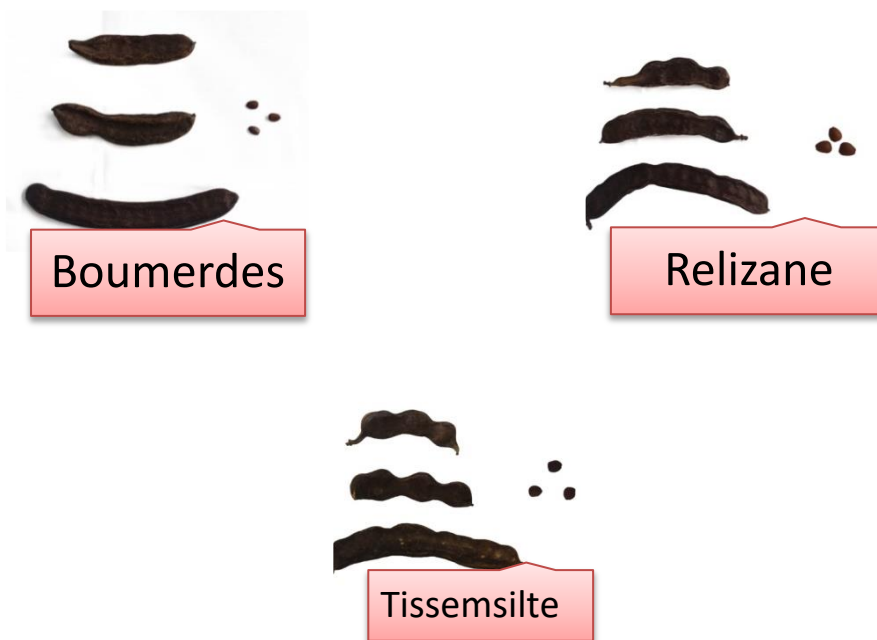


Figure 14 : Morphologie de la caroube

D'après les figures ;les gousses provenant de la région de Tissemsilt ,Relizane, Boumerdes sont comparables dans les mesures de longueur , largeur, épaisseur, nombre et poids des graines par contre les gousses de Boumerdes ont une importante valeur de poids et de volume par rapport aux autres gousses des deux régions .

Selon les variétés, les gousses de caroube se diffèrent morphologiquement dans leur taille, leur forme, leur qualité, leur couleur et dans leur rendement en graines ; ces variations peuvent être attribuées au génotype de la plante, l'origine géographique, les conditions climatiques et les méthodes de récolte et de stockage (Batlle et Tous, 1997 ; Owen et al., 2003; Biner et al., 2007 ; Naghmouchi et al., 2009; Sidina et al., 2009).

III.2.Paramètres physiques

III.2.1. Degré de Brix

La sélection des extraits aqueux est faite à base de degré de Brix et l'indice de réfraction pour obtenir le meilleur taux de la matière sèche soluble dans notre solution qui est exprimé par les valeurs marquée dans l'annexe08.

III.2.2. pH

La figure 16 présente les valeurs moyennes du pH.

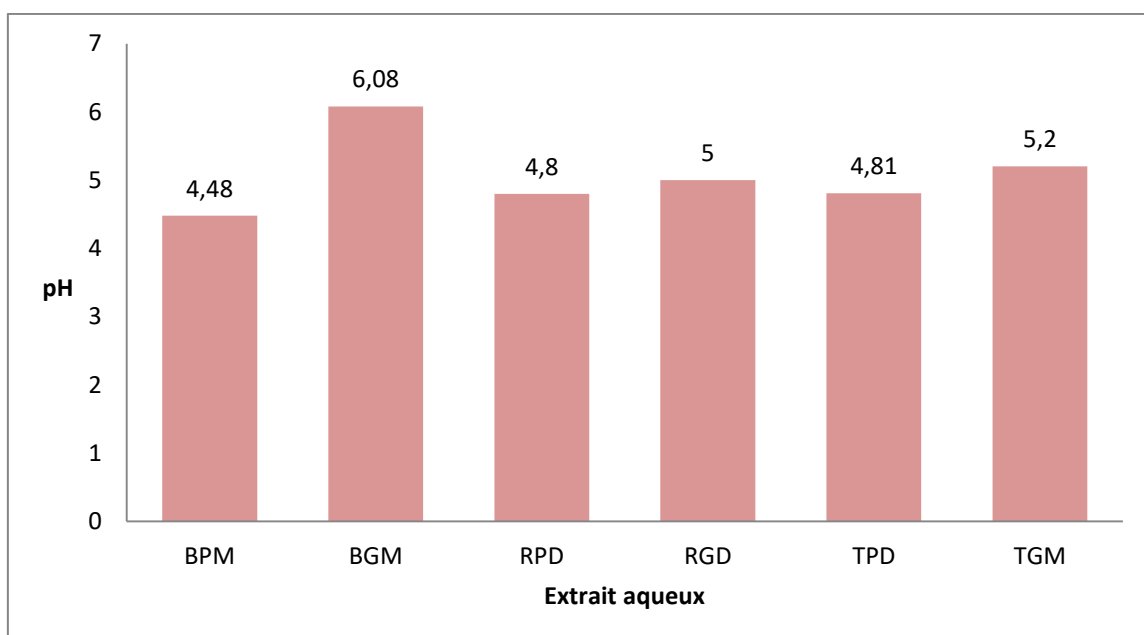


Figure 15: Valeurs moyennes du pH.

Les résultats de l'analyse de la détermination de pH réalisée sur les différents extraits montre que l'échantillon de Boumerdes gousse a marqué un pH élevé estimé à 6,08 que l'autre extrait de la pulpe de la même région (4,48) même dans la région de Relizane ; le pH d'extrait de la gousse est toujours élevé par rapport à la pulpe. Les mêmes variations de pH sont enregistrées dans les extraits des gousses et des pulpes de Tissemsilt .

Selon les mesures réalisées on note que l'extrait macéré des farine des gousses de Boumerdes est légèrement neutre que les autres valeurs du pH mesurées dans les autres extraits.

Le pH est un paramètre fortement lié à la concentration de la solution en proton H^+ , de la température et de la nature des solutés solubles dans le solvant.

III.2.3. Conductivité électrique

La figure 17 donne les valeurs moyennes de la conductivité électrique.

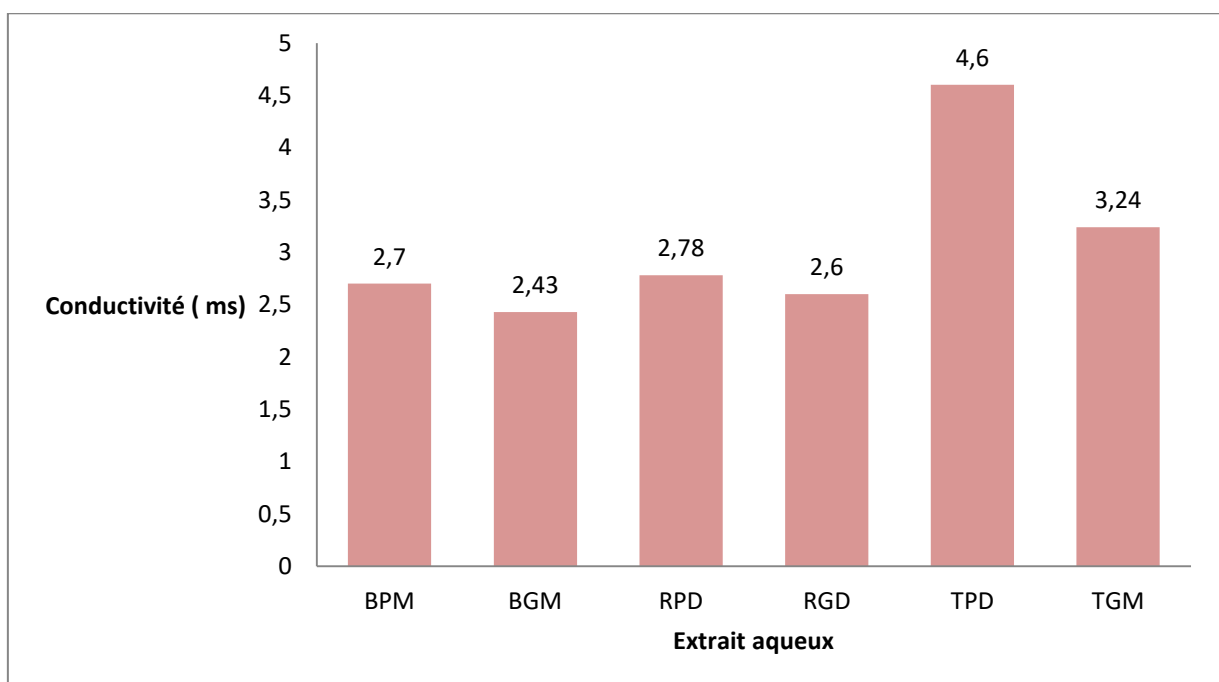


Figure 16: Valeurs moyennes de la conductivité électrique.

La figure 17 illustre reflète la charge minérale dissoute en ions mesurée pour chaque extrait aqueux de la caroube (pulpe et gousse) de différentes régions, conformément aux résultats trouvés on observe que la conductivité électrique des extraits de (BPM, BGM, RPD, RGD) sont très proche se varie entre 2,4 à 2,8 sauf que l'échantillon de Tissemsilt (gousse et pulpe) a des valeurs de conductivité électrique supérieures (TPD :4.6

ms/cm ;TGM :3.24mS/cm) cela signifie que ces échantillons sont plus riches en ions (cations et anions).

La conductivité électrique est un paramètre fortement lié à la concentration en ions des substances dissoutes dans le solvant et à la température.

III.2.4. Densité

La densité des extraits aqueux est groupée dans la figure 18.

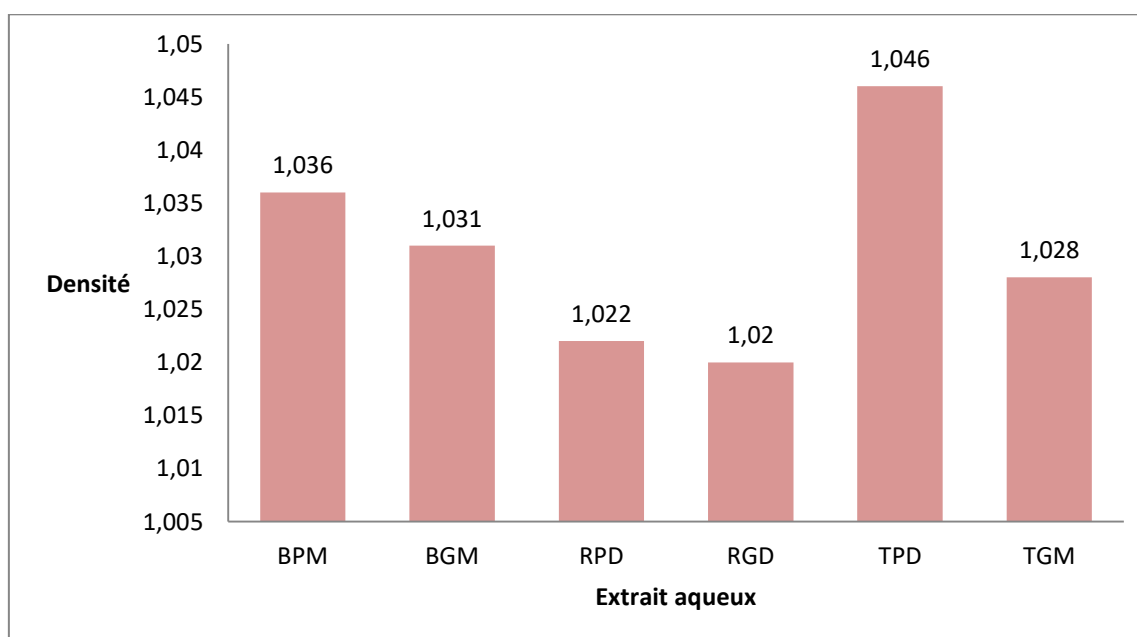


Figure 17: Valeurs moyennes de la densité.


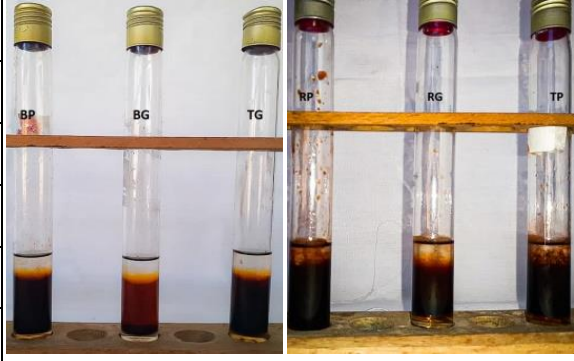
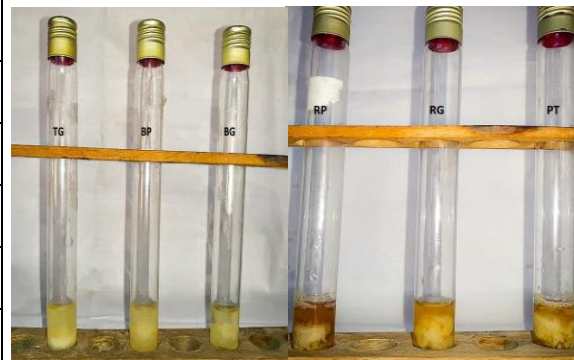

D'après la figure 18 ;on observe que les extraits aqueux (RGM ; RPD ; TGM ;BGM ;BPM) ont des valeurs très proches qui sont respectivement [1,02 ; 1,022 ; 1,028 ;1,031 ;1,036] sauf que l'extrait aqueux décocté des farines des pulpes de la région de Tissemesilt a une densité élevée [1,046] .



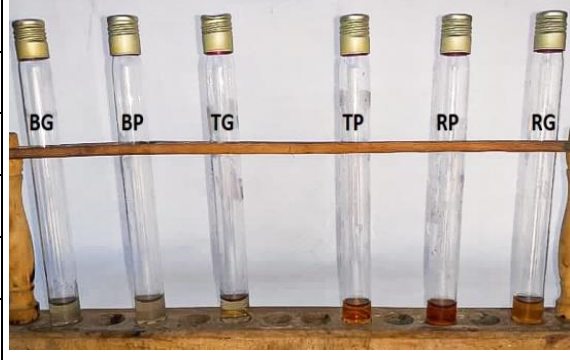


La densité est un paramètre fortement lié à la teneur des molécules phytochimiques dissoutes, aux propriétés physiques du solvant et à la température.

III.3.Criblage phytochimique




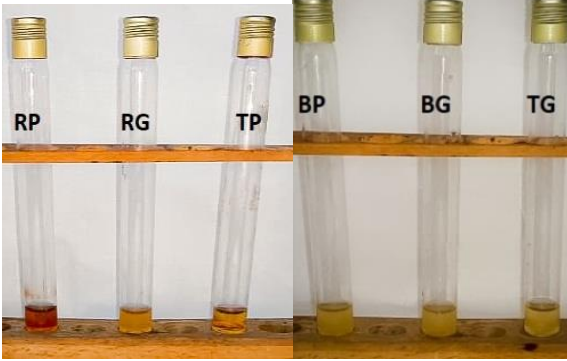
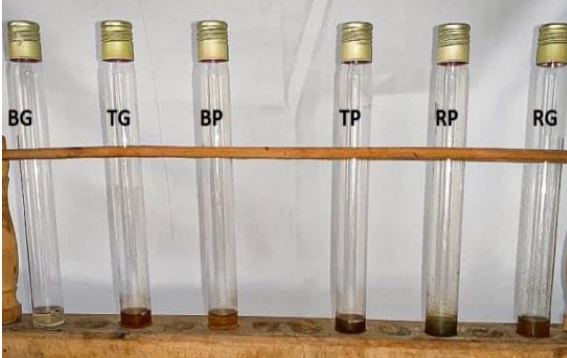
Le tableau 08 illustre les résultats de la mise en évidence des molécules phytochimiques.


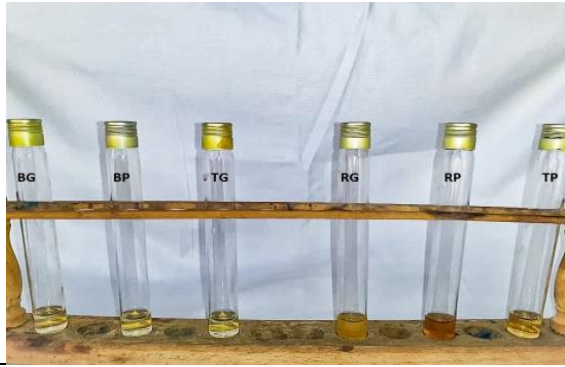


Tableau 08 : Phytocomposants de la caroube.

Composé chimique	Régions	Présence / Absence	Résultat
Tannins	B.P	+++	
	B.G	+++	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	+++	
	T.G	+++	
Glycosides cardiaque	B.P	+++	
	B.G	+++	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	+++	
	T.G	+++	
Flavonoïdes	B.P	+++	
	B.G	+++	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	+++	
	T.G	+++	
Mucilages	B.P	+++	
	B.G	+++	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	+++	
	T.G	+++	

Anthocyanes	B.P	-	
	B.G	-	
	R.P	-	
	R.G	-	
	T.P	-	
	T.G	-	
Saponines	B.P	+	
	B.G	+	
	R.P	+	
	R.G	+	
	T.P	+	
	T.G	+	
Acide amine	B.P	-	
	B.G	-	
	R.P	-	
	R.G	-	
	T.P	-	
	T.G	-	
Proteines (general test)	B.P	-	
	B.G	-	
	R.P	-	
	R.G	-	
	T.P	-	
	T.G	-	
Proteines (contenant du soufre)	B.P	+++	
	B.G	+++	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	+++	
	T.G	+++	

Protéine (tyrosine, tryptophane, xanthoprotéine)	B.P	-	
	B.G	-	
	R.P	-	
	R.G	-	
	T.P	-	
	T.G	-	
Xanthoprotéine	B.P	+	
	B.G	+	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	+++	
	T.G	+	
Triterpénoïdes	B.P	+++	
	B.G	+++	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	+++	
	T.G	+++	
Sucre réducteur (Fehling's test)	B.P	+++	
	B.G	+++	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	+++	
	T.G	+++	
Sucre d'hexose (test au chlorure de cobalt)	B.P	+	
	B.G	+	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	+++	
	T.G	+	

Monosacharide (test de barfoed)	B.P	-	
	B.G	-	
	R.P	-	
	R.G	-	
	T.P	-	
	T.G	-	
Alkalouide (bouchardat)	B.P	-	
	B.G	+++	
	R.P	+++	
	R.G	-	
	T.P	+++	
	T.G	+	
Alkaloides (mayer)	B.P	-	
	B.G	-	
	R.P	-	
	R.G	-	
	T.P	-	
	T.G	-	
Alkaloides (wanger)	B.P	-	
	B.G	-	
	R.P	-	
	R.G	-	
	T.P	-	
	T.G	-	
Quinons libres	B.P	-	
	B.G	-	
	R.P	-	
	R.G	-	
	T.P	-	
	T.G	-	

Coumarine	B.P	-	
	B.G	-	
	R.P	-	
	R.G	-	
	T.P	-	
	T.G	-	
Huilesessentielles	B.P	-	
	B.G	-	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	-	
	T.G	-	
Gelatine test	B.P	-	
	B.G	-	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	+++	
	T.G	-	
Carbohydrates (molish)	B.P	+++	
	B.G	+++	
	R.P	+++	
	R.G	+++	
	T.P	+++	
	T.G	+++	

+++ : Positif

- : Négatif

+ : Faiblement positif

Le criblage phytochimique des extraits aqueux de *Ceratonia siliqua* L. a permis de mettre en évidence des tanins, des saponosides, des flavonoides, des comarines, Glycosides cardiaques, mucilages, protéines(contenant du soufre) , xanthoprotéine, triterpenoides, sucres réducteurs, sucre d'hexose, carbohydrates (molish)par contre , les anthocyanes, acide aminé, protéins generale test,protéine(tyrosine, tryptophane, xanthoprotéine) , monosaccharid, alkaloids(mayer, wanger), quinons libre, sont pas présent.

Hormis ces trois molécules phytochimiques (alkaloids (bouchardat),huiles essentielles, gélatine test) sont présente dans un seul extrait et absentes sur un autre .

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 la plante *Ceratonia 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. Evaluation de l'activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique des extrait aqueux de la caroube (gousse et pulpe) des trois régions (Boumerdes ,Relizene et Tissemsilt) qui sont obtenus par les deux méthodes d'extraction (décoction et macération);cette évaluation est faite à partir des faibles concentrations respectivement mentionnés dans le tableau 09 et la figure 19 ; ces essais ont montré qu'il n' y a aucun effet contre le champignon utilisé dans cette étude (*Candidas albicans*).

Tableau 09 : Résultats d'analyse de l'activité antifongique des extraits aqueux de caroube en fonction de leurs concentrations (réponse négative).

Décoction				
Concentration (mg/ml)	25	50	100	200
Extrait aqueux	Zone d'inhibition(mm)	Zone d'inhibition(mm)	Zone d'inhibition(mm)	Zone d'inhibition(mm)
RG	00	00	00	00
RP	00	00	00	00
TP	00	00	00	00
Macération				
Concentration (mg/ml)	25	50	100	
Extrait aqueux	Zone d'inhibition (mm)	Zone d'inhibition (mm)	Zone d'inhibition (mm)	
BG	00	00	00	
BP	00	00	00	
TG	00	00	00	



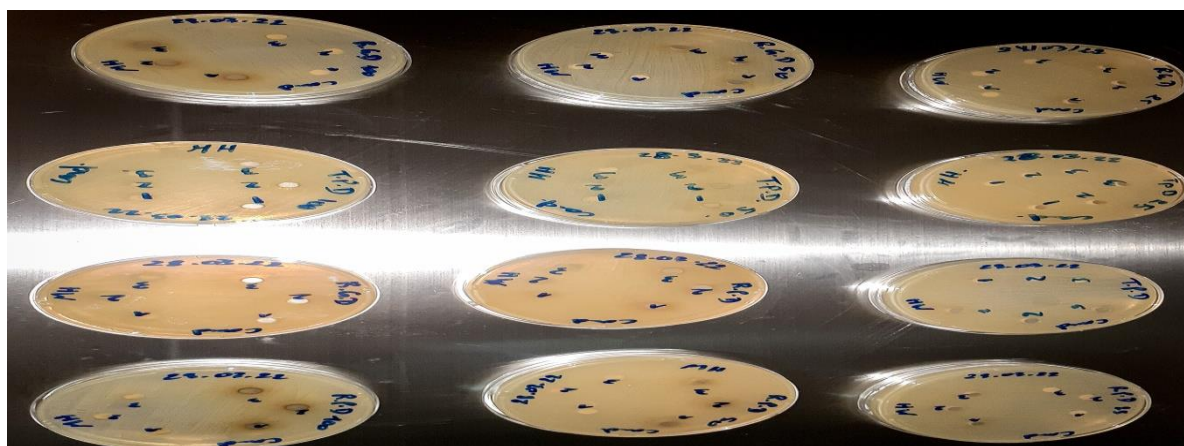


Figure 18: Absence de la zone d'inhibition de *Candida albicans* (ATCC 10231) en fonction des différentes concentrations des extraits aqueux de caroube

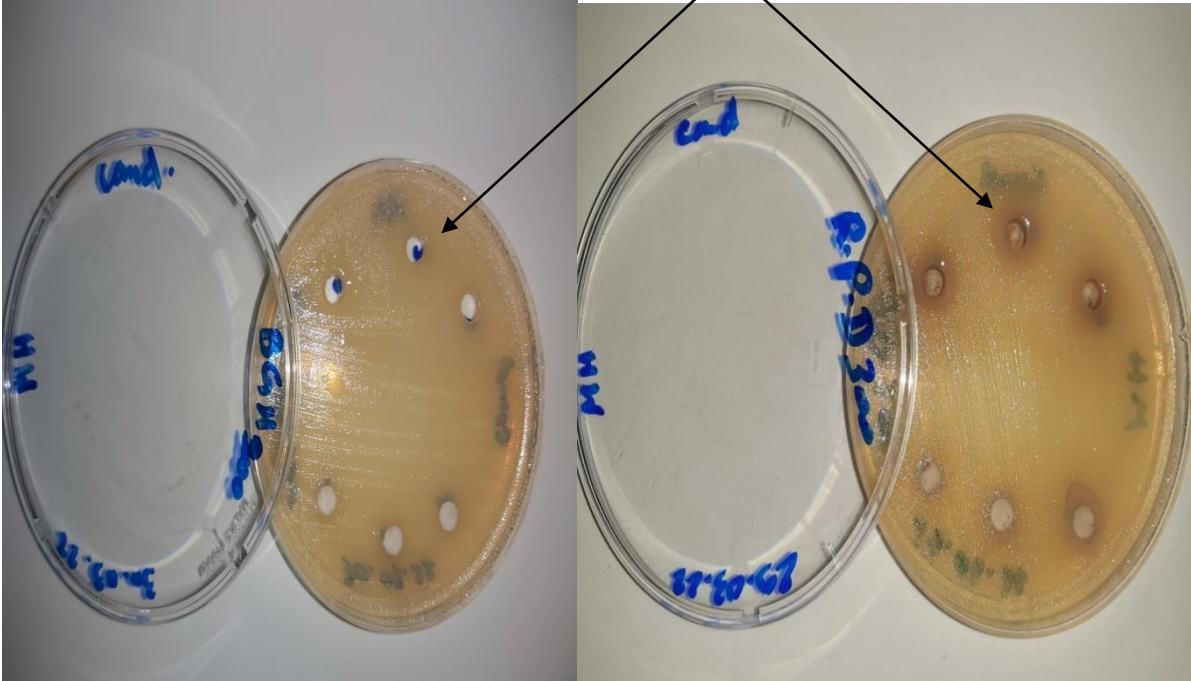
Tandis que avec des concentrations plus élevées ; les résultats d'analyse de l'activité antifongique sont déclarés comme positifs (tableau10 et figure 20).

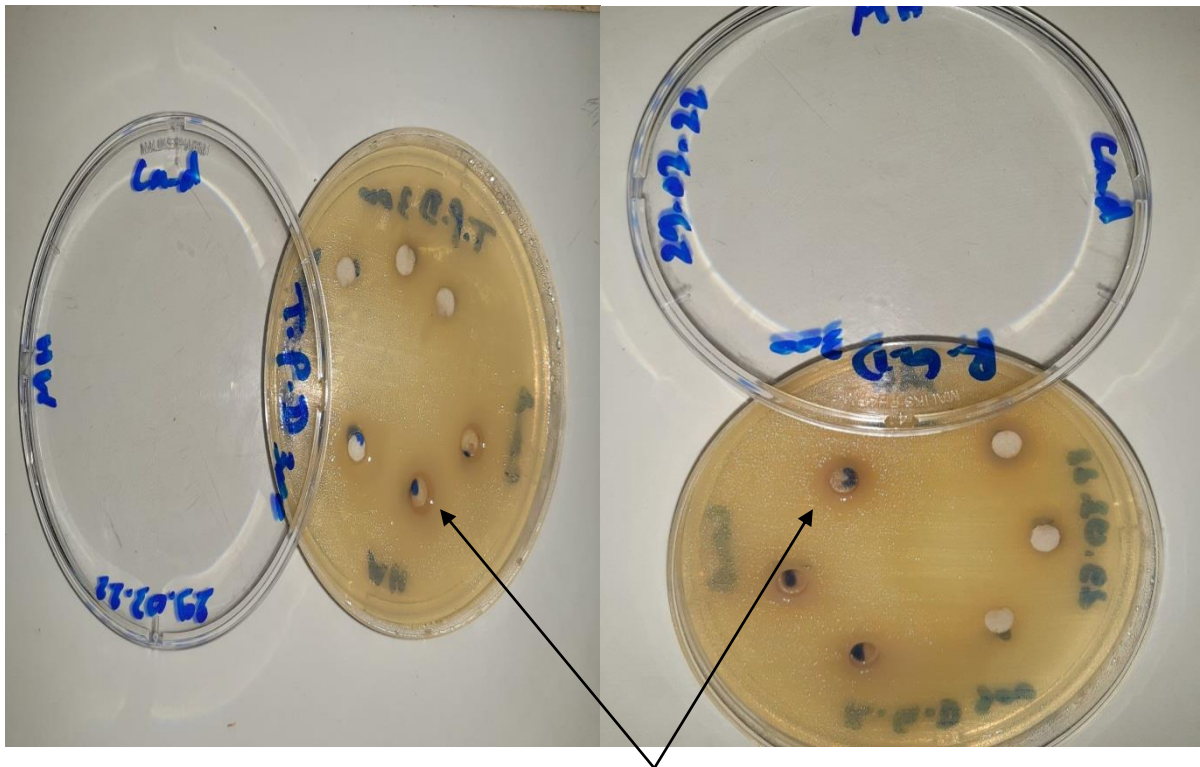
Tableau10 : Résultats d'analyse de l'activité antifongique des extraits aqueux de caroube en fonction de leurs concentrations (réponse positive).

Décoction			
Extrait aqueux	RG	RP	TP
Concentration	300mg/ml		
Zone d'inhibition (mm)	9,6±1,45	10,8±0,80	10,8±2,07
Macération			
Extrait aqueux	BG	BP	TG
Concentration	200mg/ml		
Zone d'inhibition (mm)	11,1±0,34	10,6±1,23	9,4±1,55



Zone d'inhibition





Zones d'inhibition

Figure 19 : Effet inhibiteur d'extraits aqueux de la caroube en fonction de leurs concentrations sur la croissance de *Candida albicans* (ATCC 10231).

Selon les valeurs obtenues on constate que l'extrait aqueux décocté de la gousse de Relizane a donné une zone d'inhibition de 9,6 dans la concentration de 300 mg/ml comparativement aux 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* par une zone de diamètre de 10,8mm pour une concentration de 300mg /ml

Il apparue que les extraits aqueux obtenues par la méthode de macération avec une concentration de 200mg/ml ont des valeurs élevées (11,1 , 10,6 et9,4mm) par rapport aux autres concentrations (tableau09).

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

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

Selon ces recommandations ; la souche utilisée est dite sensible car le diamètre des zones d'inhibition mesurées sont comprises entre 9 à 14 mm.

Les constituants phytochimiques tels que les tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, saponines, glycosides cardiaques et plusieurs autres composés aromatiques sont des métabolites secondaires des plantes qui servent de mécanismes de défense contre nombreux micro-organismes(Doughari ,2006) ; de plus, les composés bioactifs provoquent une inhibition de la construction de la paroi cellulaire, de la réplication du matériel génétique microbien, de la formation de biofilm, de la mobilité d'attachement et de la communication cellulaire(Bouteldja et al., 2021).Ces résultats se concordent avec ceux de (Chiang et al, 2002) qui ont démontré que l'activité antimicrobienne de *Ceratonia siliqua* est due aux polysaccharides et principalement aux composés bioactifs des polyphénols. Cette activité est due précisément aux flavonoïdes qui se trouvent en quantité considérable dans la caroube.

Ceci peut donc expliquer la démonstration de l'activité antimicrobienne des extraits des pulpes et des gousses des différentes régions :.Boumerdes,Tissemsilt et Relizane.

Les fruits de la caroube contiennent une grande quantité de molécules bioactives qui ont montré diverses valeurs nutritionnelles et fonctionnelles associées à leurs structures et propriétés physicochimiques ; les changements qualitatifs et quantitatifs des pulpes et gousses des trois régions sont principalement influencées par divers facteurs, y compris les variations génétiques et environnementales (Ben Othmen et al .,2021)

Il est également possible que le solvant utilisé lors de l'extraction, soit à l'origine de l'absence d'activité de l'extrait de la plantes. Indubitablement, le solvant utilisé n'a peut-être pas pu retenir les molécules recherchées à cause de sa polarité. Les travaux de Traoré et al., (2012), sur l'activité antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annonas enegalensi* sont suggéré que l'éthanol était un meilleur solvant que l'eau (Traoré et al.,2012).Tandis que, ceux de Bagre et al.(2006), sur l'évaluation et l'amélioration in vitro de l'activité antifongique de *Morindamorindoides* ont montré que l'acétate d'éthyle était meilleur solvant que l'eau et l'éthanol (Bagre et al. 2006). De plus, Il a été montré que le solvant utilisé dans l'extraction affecte considérablement l'activité antimicrobienne (Adejare et al., 2013). L'analyse de nombreux travaux, a suggéré que l'activité antimicrobienne des extraits de plantes nécessitait dans la plus part de cas des fortes concentrations (Biyiti et al. 2004 ;Bagre

et al. 2006; Adejare et al. 2013) ; ce qui laisse supposer probablement que les concentrations de 25mg/ml, 50mg/ml et 100mg/ml utilisées étaient certainement trop faibles et expliqueraient l'absence d'activité.

Conclusion

Conclusion

La présente étude a donné des résultats satisfaisants sur l'extraction, le criblage phytochimique des extraits aqueux des farines de caroube issus de trois sites biogéographiques différents (Boumerdes, Relizane, Tissemsilt) et évaluation de leur activité antifongique vis-à-vis la souche *Candida albicans* qui est un agent responsable des infections urogénitales.

Les résultats ont montré que le criblage phytochimique des extraits aqueux de caroube a mis en évidence une richesse en métabolites secondaires tels que les saponosides, les tanins, les flavonoïdes, les coumarines, les glycosides cardiaques, les protéines, les triterpénoïdes, les alcaloïdes ; ces indicateurs varient fortement de la technique appliquée et de la richesse ou non des extraits aqueux en molécules phytochimiques.

Les paramètres physiques (pH et conductivité électrique) des extraits aqueux dépendent de leur composition ionique et de la température dont celui extrait par macération de gousses de Boumerdes est légèrement neutre (pH=6,08) et celui extrait par décoction de pulpes de Tissemsilt est fortement minéralisé (conductivité électrique=4,8mS/cm) par rapport aux autres extraits.

Sur le plan biologique ; l'étude de l'activité antifongique des extraits aqueux obtenus par macération (200mg/ml) et décoction (300mg/ml) a donné des résultats encourageants par rapport aux autres concentrations dont la souche utilisée (*Candida albicans*) est classée comme une espèce sensible.

En perspective ; ce présent travail mérite d'être poursuivi par une autre étude qui porte sur les effets des techniques d'extraction alcooliques sur le rendement, le criblage phytochimique et l'activité antifongique des extraits alcooliques obtenus vis-à-vis la souche *Candida albicans*.

Référence

Bibliographique

Références bibliographiques

1. **A.N.R.H. (2004).** L'atlas pratique de l'Algérie. Populaire de l'armée (EPA).
2. **Aafi A., (1996),** Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), Centre Nationale de la Recherche Forestière, Rabat (Maroc).
3. **Adejare OY, Oduyebo OO, Oladele RO, Nwaokorie FO, Ogunsola FT (2013)** In-vitro antifungal effect of *Garcinia Lola* and Garlic (*Allium sativum*) on vaginal isolates of *Candida*. African journal of clinical and experimental microbiology 14 (3):140-145
4. **AFNOR nf ISO 279 (T75-111).mars 1999 :** Huiles essentielles-Détermination de la densité Journal officiel du 23 février 1999, Num.146p
5. **Ait Chitt M., Belmir M. et Lazrek A., (2007).** « Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier ». Transfert de technologie en Agriculture. N° 153. IAV Rabat, pp. 1-4.
6. **Albanell E., (1990).** Caracterización morfológica, composición química y valor nutritivo de distintas variedades de garrofa (*Ceratonia siliqua* L.) cultivadas en España. Tesis doctoral. Barcelona. España, pp. 209.
7. **Amellal.H.2008.** Aptitudes technologique de quelques variétés communes de dattes ; Formation d'un yaourt naturellement, sucré et aromatisé. Thèse de doctorat en Technologie alimentaire. Université M'hamed bougara. Boumerdes. 127p.
8. **ANEPC.2018.** Pharmacie clinique et thérapeutique , Elsevier Masson SAS.P896
9. **AOAC.2000.** Official Methods of Analytics. 17th ED. Gaithersburg. USA.
10. **AOAC.2022.** Official Methods of Analytics. 17th ED. Gaithersburg. USA.
11. **APG. II. (2003).** Angiosperm Phylogeny Group II. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Bot. J. Linn. Soc. 141: 99–436p.
12. **Bagre I, Bahi C, Meite S, Djaman A J, Guede G F (2006)** Evaluation et amélioration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh (Rubiaceae) sur *Cryptococcus neoformans*, un champignon responsable de mycose humaine. J sci pharmbiol 7 (1)
13. **Bakli S.,2010.** Activité antibactérienne des fractions chromatographiques des extraits phénoliques de *Pistacia lentiscus*. Mémoire de magister : Microbiologie Appliquée. Université Abderahmane Mira de Bejai, 163p
14. **Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK.** Methods for in vitro

Références bibliographiques

evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal.* **2016**; 6: 71-79.

15. **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/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 1-92.

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

17. **Battle I. et Tous J., 1997.** Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops ». 17. Institute of plant Genetic and crops Plant Research. Gatersleben/International Plant Resources Institute. Rome. Italy. 97 ,347p.

18. **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) 2013

19. **Ben Othmen.K., Garcia-Beltrán.J., Elfalleh.W., Haddad.M. Ángeles Esteban.M., 2021.** Phytochemical Compounds and Biological Properties of Carob Pods (*Ceratonia siliqua* L.) Extracts at Different Ripening Stages. *Waste and Biomass Valorization* (2021) 12:4975–4990

20. **Benaissa R et Boukhari L., 2018,** Etude antibactérienne des extraits phénoliques de la farine de la pulpe de caroube *Ceratonia Siliqua* ., Master 2 : Science de la nature et de la vie., Université, Saad Dahleb Blida , 1p

21. **Benamar.B et al., 2011.** Le caroubier une espèce méditerranéenne à usages multiples. *Forêt méditerranéenne* t.XXX, n1, 58 :52p

22. **Benjakul S, Lertittikul W, Bauer F (2005) Food Chem** 93:189–196

23. **Benmahioul, B., Kaid-Harche, M., & Daguin, F. (2011).** Le caroubier, une espèce méditerranéenne à usages multiples. *Forêt méditerranéenne*, 32(1), 51-58.

24. **Benmahioul, et al. (2011).** Le caroubier, une espèce méditerranéenne à usages multiples. Dans KAÏD-HARCHE, & DAGUIN, forêt méditerranéenne (pp. 51-57).

25. **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 2 : Contrôle de Qualité des Produits Alimentaires. Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel, 28p

26. **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

Références bibliographiques

- 2 :Contrôle de Qualité des ProduitsAlimentaires. Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel,7,8p
27. **Bernard.A-S et al ., 2012.** Technique expérimentales en chimie. DUNOD.Paris. 166p.
28. **BIDIE1.A, Banga B. N'GUESSAN2, Adou F. YAPO1, Jean David N'GUESSAN1 & Allico Joseph DJAMAN1.2011.** Activités antioxydantes de dix plantes medicinales de la pharmacopée ivoirienne. Sciences & Nature Vol. 8 N°1: 1 - 11 (2011)
29. **Biner B., Gubbuk H., Karhan M., Aksu M. et Pekmezci M. (2007).** Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carobbean (*Ceratoniasiliqua* L.) in Turkey, Food Chemistry. 100: 1453-1455.
30. **Biyiti LF, Meko'o DL, Tamze v., AmvamZollo PH (2004)** Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. PharmMédTradAfr 13:11- 20
31. **Bolonos, M. (1955).** Rapport sur le caroubier. Institutoforestal de Investigaciones y experiencias Madrid (Espagne), 9p.
32. **Bouteldja.R., Doucene.R., Aggad.H., Abdi.F., Belkhodja.H., Abdali.M., Zidane.K., Abaid.S.,2021.** Phytochemicalcharacterization, antioxidant and antibacterialactivity of *Salviaofficinalis* (L.) extractsfrom the Tiaret region. European Journal of BiologicalResearch 2021; 11(3): 356-366
33. **Bovenot G., Devulder B., Guillevin L et Queneau P, 1996.** Pathologie médicale, dermatologie, rhumatologie, endocrinologie, toxicologie. Masson, p 122.
34. **Cahyono, B. (2015).** Optimization of eugenol extraction from clove oil using response surface methodology. Modern Applied Science, 9, 11: 68.
35. **Cendres.A.2011.**Procédé novateur d'extraction de jus de fruit par micro-onde : viabilité de fabrication et qualité nutritionnel des jus. Thèse doctorat. Spécialité : Biochimie,Université d'Avignon et des pays de Vaucluse.137p.
36. **Challal.H Et al (2017).** Etude de l'effet des extraits phénoliques de la gousse de *Ceratoniasiliqua* sur l'oxydation de la pomme .page 12
37. **Chiang, L.C., Chiang, W., Chang, M.Y., Ng, L.T., Lin, C.C., (2002),** Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds in vitro.Antivir.Res.,2002;55:53–62
38. **Cronquist. A. (1981).** An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia UniversityPress.

Références bibliographiques

39. **Doughari JH.,2006.** Antimicrobial Activity of Tamarindusindica Linn. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, December 2006; 5 (2): 597-603
40. **Fadel, F., Chebli, B., Tahrouch, S., Benddou, A., & Hatimi, A. (2011).** Activité antifongique d'extraits de Ceratonia siliqua sur la croissance in vitro de penicillium digitatum. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux, 150, 19-30.
41. **Fournier P.,1997,** les quatre Flores de la France (générale, alpin, méditerranéenne, littorale) Le chevalier , Paris
42. **Gaouar N.,2011,** Etude de la valeur nutritive de la caroube de différents variétés Algériennes,.Magister en agronomie, :Nutrition,.Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen,23p.
43. **Geoffrey.C-P.2011.** Food Science and technology. ED. John Wiley and Son. USA.520p.
44. **Guessoum F, Mokeddem H.,2019.** Effet inhibiteur de certaines huiles essentielles vis-à-vis des entérocoques responsables des infections dentaires. Mémoire de Master 2 :Microbiologie Appliquée .Université Mohamed Khider de Biskra,59p
45. **Haddarah.A,2013.** L'influence des cultivars sur les propriétés fonctionnelles de la caroube libanaise. Thèse de Doctorat : Procédés Biotechnologiques et alimentaires. Université de Lorraine et université libanaise,31p
46. **Harborne, J.B. (1998)** Textbook of Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 5th Edition, Chapman and Hall Ltd, London, 21-72.
47. **Hassen Sbay. 2008.** Le caroubier au MAROC un arbre d'avenir .édité par centre de recherche forestière du MAROC. RIBAT .P20
48. **Hillcoat, D., Lewis, G., & Verdcourt, B. (1980).** A new species of Ceratonia (Leguminosae-Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. Kew Bulletin, 35(2), 261-271.
49. <https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/356/caroubier>
50. <https://www.bio-enligne.com/produits/136-caroubier.html>
51. **J. P. A. Noudogbessi,¹ A. K. Natta,² F. P. Tchobo,¹ G. S. Bogninou,¹ F. T. D. Bothon,¹ A. D. Bossou,¹ G. Figueredo,³ P. Chalard,⁴ J. C. Chalchat,⁵ and D. C. K. Sohounhloué.**2013. Phytochemical Screening of *Pentadesma butyracea* Sabine (Clusiaceae) Acclimated in Benin by GC/MS. Hindawi Publishing Corporation ISRN Analytical Chemistry Volume 2013, Article ID 172397
52. **Jean-Philippe Combier, Tatiana Vernié, Françoise de Billy, Fikri El Yahyaoui, René Mathis, Pascal Gamas .2007.** The MtMMPL1 Early Nodulin Is a Novel Member of the

Références bibliographiques

Matrix Metalloendoproteinase Family with a Role in *Medicago truncatula* Infection by *Sinorhizobium meliloti*. *Plant Physiology*, Volume 144, Issue 2, June 2007

53. **Khebichat A.,2013**,.Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des cendres de bois du chene vert « Kourriche ou Ballot » (*Quercus ilex*).mémoire de master 2 : BIOCHIMIE Appliquée.Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen,32p

54. **Khouas.A et Hmamou.M, 2020**.Caractérisation morphologique, anatomique et biochimique de l'espèce *ceratonia siliqua* L. (caroubier) provenant des régions Blida et Tipaza. Mémoire de Master 2 en biologie : Biodiversité et physiologie végétale .Université Blida 1 ,27p

55.**Lumbu S., Kahumba B., Kahambwe T., Mbayo T., Kalonda M., Mwamba M., Penge O., (2005)**. Contribution à l'étude de quelques plantes médicinales anti diarrhéiques en usage dans la ville de Lubumbashi et ses environs. *Annales de Pharmacie*, 3 (1), p 75-86.

56. **Lydie.C, Grégory.L.2013**. Method seconde physique-chimie.376p.

57. **Maameri.T et Said.F,2018**.Effet de l'incorporation de la farine de caroube sur les paramètres organoleptique, physico-chimique et microbiologiques d'un lait fermenté type yaourt. Master 2 en agronomie : contrôle de qualité des aliments .Université Abdelhamid ibenbadis Mostaganem, 21p

58. **Marouf A. et Reynaud J., 2007**. La botanique de A à Z. Dunod, paris, 342 p

59. **Melgarejo P. & Salazar D.M., (2003)**. Tratado de fruticultura para zonas áridas y semiáridas. Vol. II. Mundi-Prensa. España, pp. 19-162.

60. **N. DOHOU, K. YAMNI ,S. TAHROUCH, L.M. IDRISSE HASSANI,A. BADOUC, N. GMIRA.2003**. SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE ENDEMIQUE IBÉRO-MAROCAINE, *THYMELAEA LYTHROIDES*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 2003, 142, 61-78

61. **Naghmouchi S., Khouja M.L., Romero A., Tous J., Boussaid M. (2009)**. Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.) populations: morphological variability of pods and kernel. *Scientia Horticulturae*. 121: 125–130.

62. **Omar ARBANE.2015**.Le caroubier arbre aux multiples vertus, sous exploité.Publié dans ELWATAN. Consulté le 05\12\2021

Références bibliographiques

63. **Owen R. W., Haubner R., Hull W.R., Erben G., Spiegelhalder B., Bartsch H., Haber B., (2003).** Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre, *Food and Chemical Toxicology*. 41 (12): 1727-1738.
64. **Quezel P. et Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (tome 1), Editions du centre national de la recherche scientifique, pp.557.
65. **Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice Evans C (1999)** *Free Radic Bio Med* 26:1231–1237
66. **Rebour H. (1968).** Fruits Méditerranéen, la maison rustique Paris, pp: 330.
67. **Rejeb, M. N. (1995).** Le caroubier en Tunisie : Situations et perspectives d'amélioration (pp. 79-85). Quel avenir pour l'amélioration des plantes ?, Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Végétales de l'UREF (Namur, Belgique). John Libbey Eurotext, Paris.
68. **Sallouh.M et Nouioui.I,2019.** Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques de la caroube algériennes. Mémoire de master 2: chimie pharmaceutique. Université Mohamed khider de biskra, 37 ,38p
69. **Segal E.2005.** Candida , still number one – what do we know and where are going from there . *Mycoses* 48 Suppl 1, 3-11.
70. **Sidina M.M., El Hansali M., Wahid N., Ouattmane A., Boulli A., Haddioui A. (2009).** Fruit and seed diversity of domesticated carob. *Scientia Horticulturae*. 123: 110-116.
71. **Soni.A, Sosa. S., 2013** Phytochemical Analysis and Free Radical Scavenging Potential of Herbal and Medicinal Plant Extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2013; 2 (4): 22-29
72. **Swapnali.M, Gajare .I, Madhuri.V, Patil.I, Raghunath.T, Mahajan.2012** Phytochemical screening and antimicrobial activity of ethanol extract of *Calotropis procera* root . *Phytochem. Pharmacol.*, 2(3), 143-146
73. **Tabet.F, 2017.** Activité antimicrobienne des extraits phénoliques de caroube *Ceratonia siliqua* (L.). Mémoire de Magister en sciences agronomiques : Hygiène et Sécurité Alimentaire. Université Abadelhamid ibn badis Mostaganem, 42,42p
74. **Tamir M., Nachtomi E. et Alumot E., (1971),** Degradation of tannins from carob pods by thioglycolic acid. *Phytochem.*, 10, 2769-2774
75. **Tiwari.P, Kumar.B, Kaur.M, Kaur.G, Kaur.H.,2011.** Phytochemical screening and Extraction: A Review. *INTERNATIONALE PHARMACEUTIC SCIENCIA* | Jan-March 2011 | Vol. 1 | Issue 1

Références bibliographiques

76. **Tous J.,1984.**CultivodelAlgarrobo. HojaDivulgativa N2 :10. Ministeriode Agricultura.Madrid.16p.
77. **Traoré Y, Ouattara K, Yéo D, Doumbia I, Coulibaly A (2012)** Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'Annonasenegalensis Pers. (Annonaceae). Journal of Applied Biosciences 58:4234– 4242
78. **Tucker, S. C. (1992).** The developmental basis for sexual expression in Ceratoniasiliqua (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cassieae). American Journal of Botany, 79(3), 318-327.
79. **Velsseyre.R.1975.**Technologie de lait. 3éme édition. La maison Rustique.Paris.698p
80. **Wikimedia :** Molish test with glucose by alex N.B. http://en.Wikipedia.org/Wiki/File:MOLISH_TEST.png (Accessed Nov.22,2017).2
81. **Wursch P.,Vedovo S., Rosset J. et al Smiley M.,(1984),** The tannins granules from ripe carobpod. Lebensm.wiss.u-Technol.,17,351-354.

Annexe

Annexe I : Caractères morphologique



Gousse et poudre de la caroube

Annexe

Boumerdès

Gousse	Langueur (cm)		Largeur (cm)		Epaisseur (cm)		Poids (g)	Volume (ml)	N° Graines	Poids T Graines
G 01	$\frac{68.67+61.69}{2}$	065.180 → 06.52	$\frac{6.21+18.38+9.68}{3}$	11.42 → 1.14	$\frac{3.04+7.10+7.47}{3}$	05.87 → 0.59	08.9807	08	06	0.8434
G 02	$\frac{186.85+171.05}{2}$	178.950 → 17.90	$\frac{9.71+21.45+12.40}{3}$	14.52 → 1.45	$\frac{6.06+7.87+5.02}{3}$	06.32 → 0.63	21.8683	20	17	2.9536
G 03	$\frac{193.06+172.57}{2}$	182.815 → 18.28	$\frac{10.52+21.11+9}{3}$	13.54 → 1.35	$\frac{3.75+9.48+6.97}{3}$	06.73 → 0.67	19.4577	19	17	2.6276
G 04	$\frac{153.61+161.31}{2}$	157.460 → 15.75	$\frac{10.69+22.67+13.5}{3}$	15.62 → 1.56	$\frac{8.87+7.42+4.05}{3}$	06.78 → 0.69	17.5424	20	14	2.4947
G 05	$\frac{144.24+119.20}{2}$	131.720 → 13.17	$\frac{11.69+22.85+6.69}{3}$	13.74 → 1.37	$\frac{4.68+11.6+8.56}{3}$	08.28 → 0.83	18.4885	20	08	1.2216
G 06	$\frac{113.25+137.10}{2}$	125.175 → 12.52	$\frac{6.15+23.40+9.08}{3}$	12.88 → 1.29	$\frac{5.11+10.48+6.8}{3}$	07.46 → 0.75	16.4527	15	09	1.5251
G 07	$\frac{116.15+123.04}{2}$	119.595 → 11.96	$\frac{9.21+21.45+10}{3}$	13.55 → 1.36	$\frac{5.88+8.89+5.78}{3}$	06.85 → 0.69	14.9795	15	08	1.3296
G 08	$\frac{101.01+102.10}{2}$	101.555 → 10.16	$\frac{9.60+20.56+8.19}{3}$	12.78 → 1.28	$\frac{6.01+8.13+5.96}{3}$	06.70 → 0.67	12.0520	12	05	0.6178
G 09	$\frac{105.39+113.35}{2}$	109.370 → 10.94	$\frac{8.77+22.77+6.72}{3}$	12.75 → 1.28	$\frac{5.4+11.29+6.93}{3}$	07.87 → 0.79	15.9200	16	08	1.5168
G 10	$\frac{82.80+83.08}{2}$	082.940 → 08.29	$\frac{8.65+22.02+9.16}{3}$	13.28 → 1.33	$\frac{4.3+11.06+6.53}{3}$	07.30 → 0.73	10.2484	10	06	0.9452

Annexe

Relizane

Gousse	Langueur (cm)		Largeur (cm)		Epaisseur (cm)		Poids (g)	Volume (ml)	N° Graines	Poids T Graines
G 01	$\frac{120.19+155}{2}$	137.590 → 13.76	$\frac{6.11+18.49+9.6}{3}$	11.40 → 1.14	$\frac{4.68+5.03+4.91}{3}$	04.87 → 0.49	14.1936	11	09	1.8987
G 02	$\frac{110.09+131}{2}$	120.520 → 12.05	$\frac{8.67+18.5+11.61}{3}$	12.92 → 1.29	$\frac{3.42+8.93+7.35}{3}$	06.56 → 0.66	08.4803	09	06	0.7644
G 03	$\frac{138.94+168.69}{2}$	153.810 → 15.38	$\frac{7.87+21.28+13}{3}$	14.05 → 1.41	$\frac{4.62+6.16+3.49}{3}$	04.75 → 0.48	12.6151	13	13	2.2809
G 04	$\frac{118.88+101.83}{2}$	110.350 → 11.04	$\frac{10.13+20.19+11.86}{3}$	14.06 → 1.41	$\frac{4.13+6.30+3.97}{3}$	04.81 → 0.48	08.7281	08	08	1.7017
G 05	$\frac{132.35+133.34}{2}$	132.845 → 12.28	$\frac{8.18+8.84+9.64}{3}$	08.88 → 0.89	$\frac{3.19+6.49+4.56}{3}$	04.74 → 0.47	10.0332	10	11	2.1015
G 06	$\frac{110.43+108.75}{2}$	109.590 → 10.96	$\frac{6.87+20.12+9.66}{3}$	12.21 → 1.22	$\frac{3.46+5.8+2.39}{3}$	03.88 → 0.39	06.4707	06	//	//
G 07	$\frac{114.21+118.72}{2}$	116.465 → 11.65	$\frac{12.13+16.81+12.9}{3}$	13.94 → 1.39	$\frac{4.17+5.29+3.76}{3}$	04.40 → 0.44	08.9467	10	09	1.9132
G 08	$\frac{108.65+99.97}{2}$	104.310 → 10.43	$\frac{6.07+18.53+7.55}{3}$	10.72 → 1.07	$\frac{1.10+4.39+2.54}{3}$	02.68 → 0.27	08.5501	10	07	1.0553
G 09	$\frac{95.01+103.79}{2}$	099.400 → 09.94	$\frac{6.65+13.3+7.57}{3}$	09.17 → 0.92	$\frac{2.08+3.60+1.89}{3}$	02.52 → 0.25	06.5428	05	05	0.9803
G 10	$\frac{85.85+119.02}{2}$	102.435 → 10.42	$\frac{8.96+14.28+8.69}{3}$	10.64 → 1.06	$\frac{3.26+6.22+3.80}{3}$	04.43 → 0.44	07.7041	09	06	1.1795

Annexe

Tissemsilt

Gousse	Langueur (cm)		Largeur (cm)		Epaisseur (cm)		Poids (g)	Volume (ml)	N° Graines	Poids T Graines
G 01	$\frac{110.18+118.10}{2}$	114.140 → 11.41	$\frac{6.91+18.35+7}{3}$	10.75 → 1.06	$\frac{3.68+7.30+3.17}{3}$	04.71 → 0.47	09.8785	10	07	1.2174
G 02	$\frac{147.50+128.17}{2}$	137.835 → 13.79	$\frac{12.19+20.5+4.85}{3}$	12.51 → 1.25	$\frac{5.32+5.26+3.88}{3}$	04.82 → 0.48	13.9994	11	09	1.6016
G 03	$\frac{112.19+140.37}{2}$	126.280 → 12.63	$\frac{6.67+19.3+9.03}{3}$	11.66 → 1.17	$\frac{3.36+4.99+6.31}{3}$	04.88 → 0.49	10.3406	15	05	0.8599
G 04	$\frac{92.78+130.47}{2}$	111.620 → 11.16	$\frac{12.47+22.04+10.7}{3}$	15.07 → 1.51	$\frac{4.41+5.51+8.10}{3}$	6.006 → 0.60	10.0064	09	08	1.5249
G 05	$\frac{107.76+107.66}{2}$	107.710 → 10.77	$\frac{14.43+23.35+13.61}{3}$	17.13 → 1.71	$\frac{6.76+7.28+7.24}{3}$	07.09 → 0.71	11.9460	10	10	1.4826
G 06	$\frac{134.23+133.45}{2}$	133.840 → 13.38	$\frac{12.65+21.17+15.21}{3}$	16.34 → 1.63	$\frac{6.86+8.09+9.57}{3}$	08.17 → 0.82	14.6668	12	11	1.9853
G 07	$\frac{137.45+115.53}{2}$	126.490 → 12.65	$\frac{14.69+22.84+10.54}{3}$	16.02 → 1.60	$\frac{6.86+4.76+5.64}{3}$	05.75 → 0.58	11.9771	10	09	1.5465
G 08	$\frac{128.86+121.46}{2}$	125.160 → 12.52	$\frac{14.05+23.11+7.59}{3}$	14.91 → 1.49	$\frac{7.5+8.73+8.98}{3}$	08.40 → 0.84	13.9653	11	09	1.3987
G 09	$\frac{123.27+133.51}{2}$	128.390 → 12.84	$\frac{12.11+21.52+14.01}{3}$	15.88 → 1.59	$\frac{5.91+5.66+6.10}{3}$	05.89 → 0.59	14.3790	10	09	1.5453
G 10	$\frac{106.81+117.24}{2}$	112.025 → 11.20	$\frac{9.57+24.16+12.04}{3}$	15.25 → 1.53	$\frac{8.91+6.44+4.69}{3}$	06.68 → 0.67	11.3402	10	08	1.2312

Annexe

La moyenne							
Région	Longueur	Largueur	Epaisseur	Poids	Volume	N° Grains	Poids T Grain
R	11,791	1,28	0,437	9,226	9,1	7,4	1,387
B	12,549	1,341	0,704	15,599	15,5	9,8	1,607
T	12,235	1,455	0,625	12,249	10,8	8,5	1,439
Ecartype							
R	1,683	0,283	0,116	2,477	2,330	3,565	0,713
B	3,876	0,111	0,072	4,117	4,377	4,516	0,808
T	1,030	0,217	0,133	1,876	1,686	1,649	0,295

Annexe

Annexe II : Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PGB)

Techniques Valeurs Extrait aqueux [PG(g)/eau distillée (ml)]	Macération		Décoction	
	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction
EA 01 [5/50]	6 %	1.3420	/	/
EA 02 [5/100]	2.75 %	1.3370	4.25 %	1.3392
EA 03 [25/50]	/	/	/	/
EA 04 [25/100]	8.60 %	1.3458	/	/

Annexe III: Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PPB)

Techniques Valeurs Extrait aqueux [PP(g)/eau distillée (ml)]	Macération		Décoction	
	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction
EA 01 [5/50]	5 %	1.3415	8.25 %	1.3452
EA 02 [5/100]	3.24 %	1.3376	3.60 %	1.3384
EA 03 [25/50]	/	/	/	/
EA 04 [25/100]	11.25 %	1.3499	/	/

Annexe IV : Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PGR)

Techniques Valeurs Extrait aqueux [PG(g)/eau distillée (ml)]	Macération		Décoction	
	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction
EA 01 [5/50]	3.75%	1.3385	5.25 %	1.3407
EA 02 [5/100]	2 %	1.3360	3.10 %	1.3375
EA 03 [25/50]	/	/	/	/
EA 04 [25/100]	/	/	/	/

Annexe

Annexe V : Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PPR)

Techniques Valeurs Extrait aqueux [PP(g)/eau distillée (ml)]	Macération		Décoction	
	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction
EA 01 [5/50]	4 %	1.3388	5.97 %	1.3416
EA 02 [5/100]	2.25 %	1.3364	3.40 %	1.3379
EA 03 [25/50]	/	/	/	/
EA 04 [25/100]	4.25 %	1.3392	/	/

Annexe VI : Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PGT)

Techniques Valeurs Extrait aqueux [PG(g)/eau distillée (ml)]	Macération		Décoction	
	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction
EA 01 [5/50]	4.25 %	1.3393	/	/
EA 02 [5/100]	2.60 %	1.3368	3 %	1.3375
EA 03 [25/50]	/	/	/	/
EA 04 [25/100]	4.75 %	1.3395	/	/

Annexe VII : Variation du degré Brix et l'indice de réfraction d'extraits aqueux obtenu par macération et par décoction en fonction des masses de (PPT)

Techniques Valeurs Extrait aqueux [PP(g)/eau distillée (ml)]	Macération		Décoction	
	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction	Degré de Brix (%)	Indice de réfraction
EA 01 [5/50]	6.25 %	1.3422	/	/
EA 02 [5/100]	2.50 %	1.3367	4 %	1.3389
EA 03 [25/50]	/	/	/	/
EA 04 [25/100]	10.25 %	1.3482	10.49 %	1.3485

Annexe

Annexe VIII : La sélection des extraits

Technique	Macération											
Poudre	GB	PB	GR	PR	GT	PT	GB	PB	GR	PR	GT	PT
Valeur P(g)/ Eau Distillé (ml)	Degré de Brix						Indice de réfraction					
EA 1 - 10	6	5	3.75	4	4.25	6.25	1.3420	1.3415	1.3385	1.3388	1.3393	1.3422
EA 1 - 20	2.75	3.24	2	2.25	2.60	2.50	1.3370	1.3376	1.3360	1.3364	1.3368	1.3367
EA 5 - 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
EA 6.25-25	8.60	11.25	/	4.25	4.75	10.25	1.3458	1.3499	/	1.3392	1.3395	1.3482

Technique	Décoction											
Poudre	GB	PB	GR	PR	GT	PT	GB	PB	GR	PR	GT	PT
Valeur P(g)/ Eau Distillé (ml)	Degré de Brix						Indice de réfraction					
EA 1 - 10	/	8.25	5.25	5.97	/	/	/	1.3452	1.3407	1.3416	/	/
EA 1 - 20	4.25	3.60	3.10	3.40	3	4	1.3392	1.3384	1.3375	1.3379	1.3375	1.3389
EA 5 - 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
EA 6.25-25	/	/	/	/	/	10.49	/	/	/	/	/	1.3485

Résumé

Résumé

Ce travail s'intéresse à l'extraction des molécules phytochimiques de caroube du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), analyse de leur criblage phytochimique et l'évaluation de leur activité antifongique vis à vis *Candida albicans*. Les résultats ont montré que le criblage phytochimique des extraits aqueux de caroube a mis en évidence une richesse en métabolites secondaires tels que les saponosides, les tanins, les flavonoïdes, les coumarines, les glycosides cardiaques, les protéines, les triterpénoïdes, les alcaloïdes ; en outre les paramètres physiques (pH et conductivité électrique) des extraits aqueux dépendent de leur composition ionique et de la température dont celui extrait par macération de gousses de Boumerdes est légèrement neutre et celui extrait par décoction de pulpes de Tissemsilt est fortement minéralisé par rapport aux autres extraits. L'étude de l'activité antifongique des extraits aqueux obtenus par macération (200mg/ml) et décoction (300mg/ml) a donné des résultats satisfaisants par rapport aux autres concentrations dont la souche utilisée (*Candida albicans*) est classée comme une espèce sensible.

Mots clés : Caroube, extrait aqueux, phytochimie, activité antifongique, *Candida albicans*.

Abstract

This work focuses on the extraction of carob phytochemical molecules (*Ceratonia siliqua* L.), analysis of their phytochemical screening and evaluation of their antifungal activity against *Candida albicans*. The results showed that the phytochemical screening aqueous extracts of carob revealed a richness in secondary metabolites such as saponins, tannins, flavonoids, coumarins, cardiac glycosides, proteins, triterpenoids, alkaloids; in addition the physical parameters (pH and conductivity electricity) of the aqueous extracts depend on their ionic composition and the temperature, of which that extracted by maceration of Boumerdes pods is slightly neutral and that extracted by decoction of Tissemsilt pulp is highly mineralized compared to the other extracts. The study of the antifungal activity of the aqueous extracts obtained by maceration (200mg/ml) and decoction (300mg/ml) gave satisfactory results compared to the other concentrations of which the strain used (*Candida albicans*) is classified as a sensitive species. .

Keywords: Carob, aqueous extract, phytochemistry, antifungal activity, *Candida albicans*.

ملخص

يركز هذا العمل على استخلاص الجزيئات الكيميائية النباتية للخروب (*Ceratonia siliqua* L.) ، وتحليل الفرز الكيميائي النباتي وتقييم نشاطها المضاد للفطريات ضد *Candida albicans* ، وأظهرت النتائج أن الفرز الكيميائي النباتي لمستخلصات الخروب أظهر ثراءً في المستقبلات الثانوية. مثل الصابونين ، التنين ، الفلافونويد ، الكومارين ، جليكوسيد كريدريك ، البروتينات ، ترايتيربينويدات ، الكلويد ؛ بالإضافة إلى الخصائص الفيزيائية (درجة الحموضة والكهرباء الموصلية) للمستخلصات المائية تعتمد على تركيبها الأيوني ودرجة الحرارة ، والتي يتم استخلاصها عن طريق نقع قوس لمنطقة بومرداس حيث تظهر بأنها محايدة نوعاً ما مقارنةً بالتي يتم استخلاصها عن طريق décoction لبيلب تيسمسيلت الذي يتميز بأنه شديد التمدن مقارنةً بالمستخلصات الأخرى. أعطت دراسة الفعالية المضادة للفطريات للمستخلصات المائية التي تم الحصول عليها عن طريق النقع (200 مج / مل) و décoction (300 مج / مل) نتائج مرضية مقارنةً بالتركيزات الأخرى التي صنفت منها السلالة المستخدمة (*Candida albicans*) على أنها من الأنواع الحساسة.