

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Bejaia

Faculté des sciences de la nature et de la vie.

Département de Biologie Physico-chimique.

Filière : Sciences Biologiques.

Spécialité : Biochimie Appliquée.



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du Diplôme
Master
Thème

Dosage des pigments photosynthétiques et du phosphore
dans les extraits du caroubier

Présenté par :

LARIBI Meriem et MAOUCHE Nihad

Soutenu le : **19 juin 2023**

Devant le jury :

Président	M. TACHERFIOUT Mustapha	MCA
Promotrice	Mme BOUADAM-FARHI B	MCB
Examinatrice	Mme BAZIZI née CHAHER Nassima	MCA

Année universitaire :2022-2023

DEDICACE

Au nom de Dieu, le Très Miséricordieux, le Tout Miséricordieux Louange à **Allah, Seigneur** des univers de nous avoir donné le courage, la patience, la volonté, la puissance pour accomplir ce travail.

Je dédie ce travail à :

Aux deux êtres qui me sont plus précieux, mes parents **MOURAD** et **DOUNIA** pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance, DIEU vous protège et vous procure bonne santé, longue vie et votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mes sœurs et frère : **ZAHRA FERYAL LYDIA TAHAR**

A mon amie **NIHAD** et sa famille **MAOUCHE**

Merci à tous les moments inoubliables que tu m'as donné tout au long de mon parcours, à l'amitié que tu m'as confiée "Ce travail n'a été réalisé grâce à toi"

A mamie chérie **TAOUS** et mes trois tantes **Rachida Souhila et Nadia** et leurs enfants **Imane Aksel Sofia et Aksel** ainsi mon unique oncle **Mourad**.

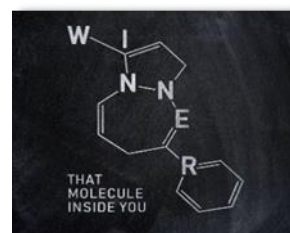
A mes amies : **THIZIRI FADILA KATIA CICI NABIL MENAD** et toutes les personnes qui me connaissent de près et de loin.

‘ Merci pour tous les moments que vous m’avez marqués ‘

A tous ceux qui nous ont quittés, que dieu les accueille dans son vaste paradis et leur accorde sa miséricorde.

A la promotion M2 biochimie appliquée (2018-2023).

Meriem



DEDICACE

Je dédie ce travail :

A mon très cher PAPA :

Pour son soutien, son amour, et ses efforts imbattable à me rendre toujours la meilleure version de moi-même. Merci pour m'avoir donné milles raison pour viser la lune. J'ai de la chance d'avoir un père aussi exceptionnel.

A ma très chère MERE :

La prunelle de mes yeux, ma meilleure amie, ma confidente et mon âme sœur. Merci pour être la source inépuisable de sacrifice et de patience. Ta prière et tes Bénédictions m'ont été d'un grand réconfort et on fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A mes chères sœurs, **Fadila** et **Hiba** ma source de bonheur. Merci pour votre soutiens et encouragements dans les différentes situations de ma vie.

A mon cher fiancé **Rachid** et toutes sa famille, merci pour tout ce que tu fais pour moi.

A ma chère copine et ma jumelle de cœur **Meriem** que je partage ce moment si précieux et toutes sa famille.

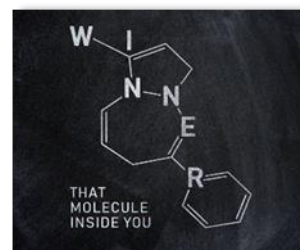
A tous mes encadreurs et professeurs du primaire à l'université, merci de fond de cœur.

A toutes ma famille, tantes, oncles, cousins et cousines, petites et grand sans exception.

A mes amies, pour leurs présences, leurs soutiens et encouragements.

A toutes la promotion biochimie appliqué.

Nihad



REMERCIEMENT

Tout d'abord, nous exprimons nos remerciements au bon Dieu – **ALLAH** – de nous avoir donné le courage et la force d'aller au bout de nos fins pour terminer notre travail et pour sa bienveillance.

Nous voudrions commencer par remercier très chaleureusement notre encadreur **Mme FARHI Baya** Epouse **BOUADAM** d'avoir accepté de diriger ce travail. Un grand merci pour ces conseils, ses orientations et sa disponibilité qui nous ont été d'une aide inestimable et très précieuse, qu'elle retrouve ici toutes nos gratitude.

On tient également à exprimer nos sincères remerciements aux membres de jurys pour l'intérêt qu'ils ont porté en acceptant de présider et d'examiner notre travail

- **M. TACHERFIOUT Mustapha en sa qualité du président du jury**
- **Mme BAZIZI née CHAHER Nassima en sa qualité de l'examinatrice**

A cette même occasion, nous tenons à remercier l'organisme d'accueil **C.O.G.B LABELLE Bejaia** de nous avoir bien accueillie ainsi que **Mrs DJAFRI. K** chef de laboratoire et tout le personnel pour leur entière disponibilité, coopération ainsi pour l'ambiance et les bonnes conditions.

Nous devons chaque bribe de notre connaissance à nos **Enseignants** qui ont si bien mené leur noble quête d'enseigner les bases du savoir. Nous les remercions pour la fierté et l'ambition que leurs personnes nous aspirent.

Et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de ce travail, qu'elles voient en ces mots l'expression de notre gratitude pour leur présence, pour leur dévouement et pour l'aide inestimable qu'elles nous ont apportée tout au long de ce parcours.

A tous ceux qui comptent pour nous et tous ceux qui nous ont encouragés

Table des matières

Dédicaces	
Remerciements	
Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Synthèse bibliographique	3
I- Généralités sur les fabacées	4
I.1. Description botanique de <i>Ceratonia siliqua</i> L.	4
I.1.1. Taxonomie	4
I.1.2. Description morphologique	4
I.2. Origine et distribution	6
I.3. Composition chimique	7
I.4. Intérêt et utilisations	8
II. Pigments photosynthétiques	8
II.1. Différents pigments synthétiques	9
II.1.1. Chlorophylles	9
II.1.2. Caroténoïdes	9
II.1.3. Anthocyanes	10
II.2. Études réalisées sur les pigments synthétiques dans le caroubier	10
Matériels et méthodes	11
I. Préparation de l'extrait végétal	12
I.1. Matériel végétal	12
❖ <u>Échantillonnage</u>	12
❖ <u>Séchage</u>	13
❖ <u>Broyage</u>	13
❖ <u>Tamisage</u> et conservation	13
I.2. Extraction	13
II. Dosage des pigments photosynthétiques du caroubier	14
II.1. Dosage des Chlorophylles a, b et des caroténoïdes	14
II.2. Dosage des anthocyanes	14
II.4. Dosage du β -carotène	15
III. Dosage des éléments minéraux : Phosphore	16
<u>Etude statistique</u>	17

Résultats et discussion	18
I. Résultats du dosage des pigments photosynthétiques.....	19
I.1 Dosage de la chlorophylle.....	19
I.1.1 Chlorophylle a.....	19
I.1.2 Chlorophylle b.....	21
I.2 Dosage des caroténoïdes.....	22
I.3 Dosage des anthocyanes.....	24
I.4 Dosage de β -carotène.....	26
I.5 Résultats du dosage de phosphore.....	28
Conclusion et perspectives	31
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste de tableaux

Tableau I. Classification botanique de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	6
---	---

Liste de figures

Figure n°01. Morphologie externe de l'arbre du caroubier (<i>Ceratonia siliqua</i> L.)	6
Figure n°02. Feuilles avec gousses du caroubier.....	7
Figure n°03. Graines et pulpes de caroubier.....	7
Figure n°04. Carte de répartition du caroubier dans le monde.....	8
Figure n°05. Localisation des stations d'échantillonnage dans les deux régions.....	13
Figure n°06. Gousses, pulpes et graines de <i>Ceratonia siliqua</i> L.	14
Figure n° 07. Résultats du dosage de la chlorophylle « a » dans les extraits des différentes feuilles...20	
Figure n°08. Résultats du dosage de la chlorophylle « b » dans les extraits des différentes feuilles...21	
Figure n° 09. Résultats du dosage des caroténoïdes dans les extraits des différentes feuilles.....23	
Figure n° 10. Résultats du dosage des anthocyanes dans les extraits les différents extraits.....24	
Figure n° 11. Résultats du dosage de la β -carotène dans les extraits les différents extraits.....26	
Figure n° 12. Résultats du dosage de phosphore dans les extraits les différents extraits.....28	

Liste des abréviations

Abréviations	Significations
BC	β-carotène
CHL	Chlorophylle
PHOS	Phosphore
<i>C. siliqua</i>	<i>Cerantonina siliqua</i>
UI	Unité internationale
PS	Poids sec
EP	Equivalent Phosphore
ms	Matière sèche
COGB	Corps Gras Bejaia
CHLA	Chlorophylle A
CHLB	Chlorophylle B
CHLAB	Chlorophylle A et B
EBC	Equivalent β-carotène
mn	Minute
nm	Nanomètre
C	Celsius
Abs	Absorbance
AMT	Anthocyanes monomères totaux
cm	Centimètre
HCL	Hydrogen chloride
ml	Millilitre
mg	Milligramme
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Zn	Zinc
Mg	Magnésium
m	Mètre
pH	Potentiel hydrogène
mm	Millimètre
Ca	Calcium
Fe	Fer
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>A.versicolor</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>

<i>T. viride</i>	<i>Trichoderma viride</i>
UV-B	Ultraviolet B
ANOVA	Analyse of variance
HSD	High Significant Difference
PF	Poids frais
ppm	Partie par million
Kg	Kilogramme
g	Gramme

Introduction

Les pigments photosynthétiques sont des substances dont la structure chimique est très différente ; ils sont présents sous la forme de pigments de porphyrine (chlorophylle a, b et c), de caroténoïdes, d'anthocyanes et de flavones¹⁻³ (Sumanta et al., 2014). Ils jouent un rôle très important dans la croissance des plantes (Zeng et al., 2021). La chlorophylle est le principal de ces pigments, elle est l'un des plus puissants antioxydants qui aide à protéger les cellules du corps contre les dommages cellulaires causés par les radicaux libres (Féret, 2009). Les anthocyanes peuvent agir comme des ajusteurs osmotiques offrant aux plantes une résistance face à la sécheresse. Ils ont des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anti-cancérigènes (Bouakkaz, 2013). Les caroténoïdes remplissent des fonctions importantes dans les interactions plante-environnement (Esteban et al., 2015). Ils ont doté aussi des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et neuroprotectrices largement documentées (Novidzro et al., 2019). Le β -carotène ou « provitamine A » peut partiellement servir de pigment absorbant la lumière ; sa fonction principale semble être la protection de la chlorophylle contre la photooxydation (Lichtenthaler, 1983).

A côté des pigments, les minéraux, entre autre le phosphore, sont des substances de soutien essentielles au bon fonctionnement de tout organisme vivant (Oumlouki et al., 2021). Et ils sont intimement impliqués dans un large éventail de processus physiologiques et biochimiques des plantes (Fankem et al., 2015).

La famille des Fabacées est la troisième des plus grandes familles de plantes après les Asteracées et les Orchidacées en termes du nombre d'espèces végétales (Maroyi, 2023). De nombreuses espèces de cette famille ont été largement étudiées pour leurs constituants chimiques bioactifs tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les caroténoïdes (Usman et al., 2022). *Ceratonia siliqua* L. (le caroubier) est l'une de ces espèces reconnues par son importance économique (Papadopoulou et al., 2023).

Le caroubier a fait l'objet d'une attention considérable au cours des dernières années en raison de sa composition chimique (Christou et al., 2022). Ces molécules naturelles qualifiées d'antioxydantes sont d'un intérêt considérable en pharmacologie (El Hajaji et al., 2013).

De point de vue pigments, Ben Ayache et al. (2020) ont mis en évidence pour la première fois les anthocyanes dans les extraits de la pulpe et des graines du caroubier de Tunisie. Amessis-Ouchemoukhet al. (2017) ont quantifié la chlorophylle « b » et la β -carotène dans les extraits des feuilles du caroubier de Tichy (Bejaia). Par ailleurs, la composition minéralogique du caroubier, notamment le phosphore, a été investiguée dans

plusieurs travaux dans le monde à savoir le travail d'**El-hejaji et al. (2013)** et celui d'**Oumloukiet al. (2021)** qui ont déterminé le phosphore dans la pulpe de caroube du Maroc ainsi que ceux de **Ayaz et al. (2007)** et **Khelifa et al. (2013)** qui ont quantifié le phosphore dans les gousses de *Ceratonia siliqua* L. du Turquie et du Maroc respectivement. De plus, la teneur en phosphore dans les graines de *Ceratonia siliqua* L. du Jordanie a été mise en évidence par **El-shatnawi et Ereifej (2001)**.

En Algérie, mis à part le travail d'**Amessis-Ouchemoukhet al. (2017)**, cité précédemment, à notre connaissance pas d'autres recherches qui ont été menées soit sur l'identification et la quantification des pigments photosynthétiques ou bien sur le dosage du phosphore dans les différentes parties de *Ceratonia siliqua* L. C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail qui vise à quantifier les pigments (chlorophylle a et b ; caroténoïdes) dans les extraits des feuilles du caroubier et doser la β -carotène, les anthocyanes et le phosphore dans les extraits des différentes parties (feuilles, chaires et graines) de ladite espèce afin d'enrichir les données bibliographiques.

La présente introduction est suivie :

- ❖ D'une synthèse bibliographique qui comportera les généralités sur la plante *Ceratonia siliqua* L., sur les pigments photosynthétiques et sur les éléments minéraux ;
- ❖ D'une méthodologie qui résumera la démarche expérimentale tout en précisant les différentes méthodes utilisées, lors de ce travail, pour aboutir aux résultats qui seront bien illustrés dans la partie résultats et discussions ;
- ❖ En fin, une conclusion qui synthétisera les résultats les plus marquants de notre travail ; des perspectives seront proposées à la fin de cette partie.

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les Fabacées

La famille des ‘*Légumineuses*’ ou ‘*Fabacées*’ est parmi les plus grandes familles des plantes à fleurs, avec environ 19400 espèces réparties dans 730 genres (Ahmad et al., 2016). Des données moléculaires et morphologiques récentes confirment le fait que les Fabacées constituent une seule famille monophylétique (Wojciechowski, 2003). Cette famille est capable de convertir l’azote atmosphérique en composés azotés utiles pour la croissance des plantes, cette opération est réalisée par les bactéries du genre *Rhizobium* présentes dans les nodules racinaires (Patel et al., 2014). Selon les mêmes auteurs, les légumineuses sont également utilisées pour synthétiser une large gamme de produits naturels y compris des arômes, des poisons, des colorants, et elles ont également une grande importance à des fins médicinales, aussi largement utilisées comme sources du bois et de fibres, de gommes, de résines, de tanins et de matières colorantes (Bisby, 1994). *Ceratonia* est l’un des genres de ladite famille *Ceratonia siliqua* L., l’espèce qui a fait l’objet de notre travail.

I.1. Description botanique de *Ceratonia siliqua* L.

I.1.1. Taxonomie

Ceratonia siliqua L. est le nom scientifique de la caroube, il provient du mot grec « Kera », qui correspond à la forme kératomorphe du fruit, et du mot latin « siliqua », qui se rapporte à la fermeté et à la forme des gousses (Basharat et al., 2023). En raison de leur uniformité, les graines du caroubier sont appelées ‘carat’ et elles sont, pendant longtemps, servies comme unité de poids pour la pesée des diamants, des perles et d’autres pierres précieuses (1karat=205,3mg) (Rejeb, 1995 ; Albanell, 1990). La classification botanique de l’espèce est présentée dans le tableau n°I.

I.1.2. Description morphologique

Le caroubier est un arbre ou arbuste sclérophylle, persistant, pouvant atteindre 7 à 20 m de hauteur et une circonférence à la base du tronc 2 à 3m (Figure n°01) (El Kahkahiet al., 2016). C’est un arbre xérophile avec une longévité considérable (jusqu’à 200 ans), il s’adapte à plusieurs types du sol notamment dans les sols pauvres, sablonneux, limoneux lourds, rocaillieux et calcaires, schisteux, gréseux. Il présente de puissantes racines qui pénètrent dans le sol à une profondeur de 18 mètres ou plus (Ait Chittet al., 2007).



Figure n°01. Morphologie externe de l'arbre du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) (Capcanari et al., 2022).

Tableau I. Classification botanique de *Ceratonia siliqua* L. selon Cronquist. (1881).

Règne	Plante
Sous classe	Rosidés
Ordre	Fabales
Famille	Fabacées
Sous famille	Caesalpiniodae
Genre	<i>Ceratonia</i>
Espèce	<i>Ceratoniasiliqua</i> L.

Les feuilles du caroubier sont persistantes, de longueur de 10 à 20 cm, elles se caractérisent par un pétiole sillonné sur la face interne et un rachis portant de 8 à 15 folioles, opposées, de 3 à 7 cm, elles sont coriaces, entières, ovales à elliptiques avec une couleur vert sombre brillante à la face supérieure et vert pâle à la face inférieure (Ait Chitt et al., 2007). Selon les auteurs, le caroubier ne perd pas ses feuilles en automne mais sauf en juillet chaque deux ans, lesquelles sont renouvelées au printemps (avril et mai) de la même année.

Les fruits du caroubier sont des gousses indéhiscentes, aux bords irréguliers, de formes allongées, rectilignes ou courbées, 10 à 20 cm de langueurs, 1,5 à 2 cm de largeur (Figure n°02). La gousse est composée de l'épicarpe, le mésocarpe constituant la pulpe et les

graines (Figure n°03), elle est séparée à l'intérieur par des cloisons pulpeuses transversales et renferme de 4 à 16 graines, soit 10 à 20% du poids de la gousse et cela est en fonction de la variété, des conditions environnementales et de l'efficacité de la pollinisation (**Ait Chitt et al., 2007**). Le fruit du caroubier croît très lentement à ces débuts durant l'Automne, sa croissance s'accélère au Printemps d'une manière visible jusqu'au début de l'Eté où il atteint sa taille maximale (**Mahdad et Gaouar, 2016**).

Les graines se trouvent dans la gousse de manière transversale, elles sont très dures, comprimées, ovales-oblongues, dont la longueur et la largeur sont respectivement de 7-10 mm avec une épaisseur de 3-5 mm (**Battle et Tous, 1997**). Son tégument lisse, dur, de couleur brun rougeâtre et brillant à maturité (**Albanell, 1990**).



Figure n°02. Feuilles avec gousses du caroubier (Rtibi et al., 2017).



Figure n°03. Graines et pulpes de caroubier (Basharat et al., 2023).

I.2. Origine et distribution

L'origine de *Ceratonia siliqua* L. n'est pas claire. L'espèce a été placée par **Decandolle (1883)** et **Vavilov (1951)** dans la région de la Méditerranée orientale (Turquie et Syrie). Cependant, **Schweinfurth et al. (1894)** ont supposé qu'elle soit originaire des pays montagneux du Sud d'Arabie (Yémen). Alors que **Zohary (1973)**, l'a considéré comme

provenant d'une flore indo-malaisienne xérotropicale, le regroupant avec *Oléa*, *Laurus*, *Myrtus*, *Chamaerops*.

Hillcoat et al. (1980) ont suggéré que l'aire de répartition du caroubier à l'état sauvage incluait la Turquie, Chypre, la Syrie, le Liban, Israël, le sud de la Jordanie, l'Égypte, l'Arabie, la Tunisie et la Libye. Les auteurs ont supposé que la caroube a été propagée par les Grecs en Grèce et en France, puis par les Arabes le long de la côte de l'Afrique du Nord jusqu'au sud et à l'est de l'France, d'où elle a migré vers le sud du France et le sud-est de la France (Figure n° 04).

En général, la distribution des espèces arboricoles telles que *Ceratonia siliqua* L. est limitée par le stress lié au froid (**Mitrakos, 1981**). Le caroubier est considéré comme une essence dominante et caractéristique des zones Inférieures (0-500 m, atteint rarement les 900 m d'altitude) du maquis méditerranéen (**Zohary et Orshan, 1959 ; Folch, 1981**).



Figure n°04. Carte de répartition du caroubier dans le monde (Batlle et Tous, 1997).

I.3. Composition chimique

Les deux principaux composants de la gousse de caroube sont (en termes de poids) : la pulpe (90 %) et la graine (10 %). La composition chimique de la pulpe dépend du cultivar, de l'origine et du moment de la récolte (**Oumlouki et al., 2021**). La pulpe de caroube a une teneur élevée (48-56%) en sucres totaux (principalement saccharose, glucose, acide gras) et elle contient environ 18% de cellulose et d'hémicellulose (**Batlle et Tous, 1997**).

Des chercheurs ont rapporté dans leurs travaux que les gousses de caroube présentent une moyenne de 40-60% de glucides, essentiellement composés de saccharose (32-38%), de fructose (5-7%) et de glucose (5-6%), ils contiennent également un pourcentage considérable en composés phénoliques, en particulier des tanins (18-20%), des fibres alimentaires (27-50%) et des minéraux (potassium, sodium, fer, cuivre, manganèse et zinc), en revanche elles sont pauvres en protéines (3-4 %) et en lipides (0,4-0,8 %) (**Rtibi et al., 2017**).

Selon **Ayache et al. (2021)**, cette espèce est une source de tocophérols, principalement de γ -tocophérol, ainsi que d'acides organiques, principalement les acides malique et citrique. De plus, des acides aminés ont été identifiés dans les extraits des gousses du caroubier (**Charalamabous et Papaconstantinou, 1966 ; Vardar et al., 1972**).

Les feuilles du caroubier contiennent différentes classes de composés bioactifs, tels que des phénols simples, les polyphénols, les flavonoïdes libres, les flavonoïdes glycosylés et les tanins (**Spizzirri et al., 2022**).

I.4. Intérêt et utilisations

Plusieurs études ont démontré l'efficacité des produits du caroubier dans le traitement de plusieurs maladies. *Ceratonia siliqua* L. a été utilisée en médecine populaire (**Li et Chemat, 2019**). Étant riche en antioxydants (composés phénoliques), en sucres, en protéines, en fibres, en potassium et en calcium, cette plante est connue dans le domaine thérapeutique pour son effet hypocholestérolémiant, antiprolifératif, antidiarrhéique et contre les troubles digestifs (**Berrougui, 2007**).

Les extraits de caroube ont fait l'objet de plusieurs études pour leur influence sur les récepteurs centraux et périphériques des benzodiazépines (**Avallone et al., 2002**). Ses feuilles ont été utilisées en Turquie, dans la médecine « traditionnelle » pour traiter la diarrhée (**Baytop, 1984**) ; elles ont été également désignées comme étant porteuses d'activités cytotoxiques et antimicrobiennes (**Kivçak et Mert, 2002**). L'huile essentielle de caroubier possède des propriétés antimicrobiennes, cytotoxiques et pharmaceutiques (**Ben Hsouna et al., 2011**) principalement contre *B. cereus*, *E. coli*, *A. versicolor* et *T. viride* (**Ayache et al., 2021**). Les extraits des graines de caroube sont particulièrement efficaces contre les troubles de l'humeur et l'anxiété, ouvrant de nouvelles approches mécanistiques pour le développement de médicaments antidépresseurs et anxiolytiques (**Brassesco et al., 2021**).

II. Pigments photosynthétiques

Les pigments photosynthétiques sont des substances dont la structure chimique est très différente ; ils sont présents sous forme de porphyrine (chlorophylle a, b et c), caroténoïdes, anthocyanes et flavones¹⁻³ (**Sumanta et al., 2014**). Ils participent à l'absorption, à la transformation et au transfert de l'énergie lumineuse (**Zeng et al., 2021**). Selon ce dernier, les pigments photosynthétiques, y compris la chlorophylle a (CHLA), la chlorophylle b (CHLB) et les caroténoïdes totaux jouent un rôle très important dans la croissance des plantes, leurs

distributions spatiales est un indicateur important du stress environnemental, tel que les ravageurs, les maladies et les métaux lourds.

La détermination de la teneur en pigments dans les feuilles est un outil analytique dans le domaine de la physiologie végétale, que ce soit pour la caractérisation du matériel végétal ou pour établir des traitements et de comprendre les interactions entre les plantes et les facteurs environnementaux (**Tanan et al., 2017**).

Chaque famille de pigments est soumise à ses propres mécanismes de régulation, souvent complexes et elles permettent de cibler leurs actions en fonction des besoins de la plante et des contraintes environnementales (**Féret, 2009**).

II.1. Différents pigments synthétiques

II.1.1. Chlorophylles

La chlorophylle est un pigment naturel de couleur vert vif, il est présent dans toutes les plantes photosynthétiques, qui leur permet d'absorber l'énergie de la lumière. Les formes « a » et « b » sont les principaux types de chlorophylle qui prédominent dans les chloroplastes de toutes les plantes supérieures (**Filimon et al., 2016**). Les autres formes chlorophylles « c » et « d » sont présentes chez certaines Algues ou Bactéries (**Féret, 2009**). Les chlorophylles sont basées sur une structure porphyrinique, comprenant quatre anneaux pyrroles (C_4H_4NH) qui sont coordonnés par un ion magnésium en position centrale avec une longue chaîne alkyle hydrophobe qui lui est attachée (**Ebrahimi et al., 2023**). Les principaux produits de dégradation des chlorophylles sont la phéophytine, la phéophorbide et la chlorophyllide. La phéophytine et la phéophorbide sont regroupées sous le nom de phéopigments (**Boismal, 2016**).

II.1.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont un grand groupe de pigments accessoires lipophiles de couleur jaune ou rouge foncé (**Filimon et al., 2016**) qui participent activement au bon fonctionnement de la plante par des mécanismes qui leur sont propres comme le cycle des xanthophylles qui protège les végétaux d'un excès de lumière et de chaleur, et ils renseignent aussi sur les conditions de développement des végétaux (**Pompelli et al., 2017**).

La composition en caroténoïdes des plantes supérieures est remarquablement constante avec seulement six caroténoïdes omniprésents : la néoxanthine, la lutéine, la β -carotène, la violaxanthine, l'anthéroxanthine et la zéaxanthine (**Esteban et al., 2015**). La β -carotène peut partiellement servir de pigment absorbant la lumière ; cependant, sa fonction

principale semble être la protection de la chlorophylle « a » contre la photo-oxydation à l'intérieur ou à proximité du centre de réaction (Lichtenthaler, 1987). La présence des caroténoïdes en quantité considérable est un atout important sur le plan pharmaco-nutritionnel (Novidzroet *al.*, 2019).

II.1.4. Anthocyanes

Le mot anthocyane est une combinaison de deux mots grecs 'Anthos' et 'Kyanos', (Anthos-fleur et Kyanos-bleu) (Pervaiz *et al.*, 2017). Par ailleurs, les anthocyanes sont des pigments, de la classe des flavonoïdes, produits par la plupart des plantes à graines, ce sont des dérivés glycosylés des anthocyanidines et ils confèrent aux fleurs, aux fruits et aux organes végétatifs de la couleur rouge foncé et pourpre (Chanoca *et al.*, 2015), leur couleur vives attire les insectes et les oiseaux qui jouent un rôle majeur dans la pollinisation des fleurs et dans la dispersion des graines (Nguinambaye *et al.*, 2020).

II.2. Etudes réalisées sur les pigments photosynthétiques dans le caroubier

Peu de recherches ont été menées jusqu'à présent sur l'identification et la quantification des pigments photosynthétiques dans les différentes parties de *Ceratonia siliqua* L. Les anthocyanes ont été identifiés pour la première fois dans les extraits de la pulpe et des graines du caroubier de Tunisie par Ben Ayache *et al.* (2020).

Amessis-Ouchemoukhet *al.* (2017) ont quantifié la composition chimique de la chlorophylle « b » et la β -carotène dans le feuillage du caroubier de Tichy (Bejaia). A côté des pigments, des chercheurs ont rapporté dans leurs travaux la composition en minéraux de caroubier notamment le phosphore. On mentionne aussi les travaux d'El-hejaji *et al.* (2013) et ceux d'Oumlouki *et al.* (2021) qui ont déterminé le phosphore dans la pulpe de caroube au Maroc. De plus, les gousses de *Ceratonia siliqua* L. ont été traitées par Ayaz *et al.* (2007) et Khelifa *et al.* (2013) afin d'analyser le phosphore, en Turquie et au Maroc respectivement. Aussi le travail d'El-shatnawi et Ereifej (2001) montre que les graines extraites à partir de *Ceratonia siliqua* L. du Jordanie sont riches en phosphore.

Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de la société des corps gras de Bejaia « **COGB La Belle** », il a pour objectif de doser les pigments photosynthétiques dans les extraits des feuilles. Ainsi, la β -carotène, les anthocyanes et le phosphore dans les extraits des feuilles, de la chaire et des graines.

I. Préparation de l'extrait végétal

I. 1. Matériel végétal

❖ Echantillonnage

Dans ce travail nous avons travaillé sur la partie aérienne du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), nous nous sommes intéressés aux feuilles et aux gousses matures (Figure n°05).

Les échantillons ont été collectés aléatoirement dans trois stations de la Wilaya de Bejaia (Oued ghir, Boudjellil, Kherrata) et trois stations au niveau de la côte de Jijel (Figure n°05). Des stations de Jijel nous avons récolté uniquement des feuilles et nous n'avons pas pu avoir les gousses car c'était hors saison, alors que pour les stations de Bejaia nous avons échantillonné les feuilles et les gousses. Seules les graines des gousses d'Oued ghir qui ont été traité dans ce travail.

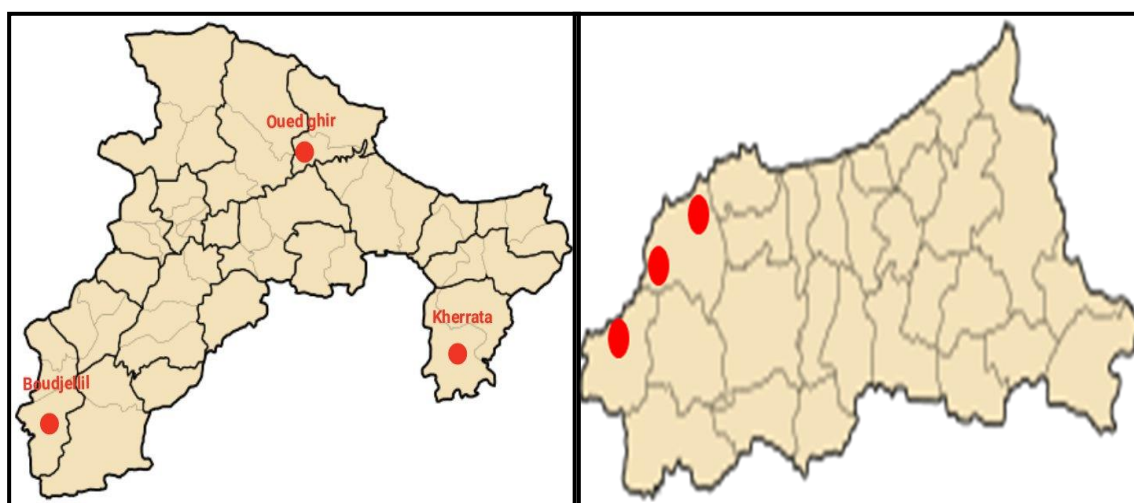


Figure n°05. Localisation des stations d'échantillonnage dans les deux régions d'étude (à Gauche : Bejaia ; à Droite : Jijel).

❖ Séchage

Au laboratoire, les échantillons ont été nettoyés, séchés à l'air libre et à l'abri de la lumière jusqu'à la stabilisation de leurs poids.

Les gousses sont décortiquées manuellement (séparation de la chaire et de la graine) à l'aide d'un mortier et un pilon.



Figure n°06. Gousses, pulpes et graines de *Ceratonia siliqua* L. (Photo originale Farhi Bouadam, 2022).

❖ Broyage

Après séchage, le matériel végétal (chaires, feuilles, graines) est broyé à l'aide d'un broyeur électrique après avec un moulin à café pour obtenir une poudre très fine.

❖ Tamisage et conservation

Les broyats (poudre) obtenue sont tamisés à l'aide d'un tamis granulométrique de 250 μ m, ensuite sont conservés dans des flacons en verre et opaques. Les broyats vont constituer la matière sèche qui servira à l'extraction des pigments photosynthétique y compris chlorophylle, caroténoïdes, β -carotène, anthocyane et du phosphore.

I.2. Extraction

La méthode d'extraction utilisée dans ce travail est celle d'Oomah (2011), qui consiste à dissoudre 0,8 g du broyat végétal (poudre fine) dans 32 ml d'éthanol. Le mélange est agité pendant deux heures à température ambiante suivi d'une centrifugation pendant 10 mn à 3000 tours/mn. Le surnageant est récupéré dans des flacons en verre opaques puis conservé au frais.

II. Dosage des pigments photosynthétiques du caroubier

II.1. Dosage des Chlorophylles a, b et des caroténoïdes

❖ Principe

L'extraction de la chlorophylle (a et b) et les caroténoïdes des végétaux permet d'obtenir une solution chlorophyllienne qui va servir à réaliser la lecture par spectrophotomètre dont une mesure de l'absorbance maximale est effectuée à 470, 664 et 648 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre à transmittances « LOVIBOND » (**Lichtenthaler 1987**).

❖ Expression des résultats

Les teneurs en pigments sont exprimées en µg/g de matière sèche et elles sont calculées selon les équations suivante :

$$\text{Chlorophylle A } (\mu\text{g/ml}) = 13.36 \text{ Abs}_{664} - 5.19 \text{ Abs}_{648}$$

$$\text{Chlorophylle B } (\mu\text{g/ml}) = 27.43 \text{ Abs}_{648} - 8.12 \text{ Abs}_{664}$$

$$\text{Caroténoïdes } (\mu\text{g/ml}) = (1000 \text{ Abs}_{470} - 2.13 [\text{CHLA}] - 97.64 [\text{CHLB}]) / 209$$

Avec :

Abs : Absorbance maximale.

[CHLA] : Concentration en chlorophylle a (µg/ml).

[CHLB] : Concentration en chlorophylle b (µg/ml).

II.2. Dosage des anthocyanes

❖ Principe

Les anthocyanes subissent des transformations structurelles réversibles avec le changement de pH, manifestées par des spectres d'absorption différents. La forme colorée (oxonium) prédomine à pH 1,0 et la forme incolore (hémiacétal) à pH 4,5. La méthode différentielle de pH est basée sur cette réaction, et elle permet une mesure rapide et précise des anthocyanes totaux, même en présence de pigments polymérisés dégradés et d'autres composés interférents (**Giusti et Wrolstad, 2001**).

❖ Mode opératoire

Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par **Giusti et al. (2001)**. L'échantillon est dilué avec tampon pH 1 et pH 4,5. Les tubes sont ensuite placés à l'abri de la lumière durant 15 minutes, puis les absorbances sont lues à 520 nm et à 700 nm.

❖ Expression des résultats

Il s'agit ici d'un test différentiel. Ainsi l'absorbance finale elle est obtenue par différence de l'absorbance mesurée aux différentes longueurs d'onde :

$$\text{Abs} = (\text{Abs}_{520} - \text{Abs}_{700})_{\text{pH1}} - (\text{Abs}_{520} - \text{Abs}_{700})_{\text{pH4.5}}$$

$$\text{AMT} = (\text{Abs} \times \text{M} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times \text{L})$$

Avec :

M = 449,2 g/mol, masse molaire de la cyanidine-3-glycosylée

DF = le facteur de dilution de l'échantillon analysé

L = la longueur de la cellule de mesure en cm (1cm)

ε = 26900 l/mol/cm : le coefficient d'extinction molaire de la cyanidine-3-glycosylée

Les anthocyanes monomères totaux (AMT) sont exprimés en mg/g de matière sèche (ms).

II.4. Dosage du Bêta-carotène (β-carotène)

❖ Principe

Cette méthode a pour objet la détermination de la concentration de la β-carotène, associée à la mesure spectrophotométrique du β-carotène à 455 nm à l'aide d'un spectrophotomètre à transmittances « LOVIBOND ».

❖ Mode opératoire

La solution standard est préparée en pesant 0,025g de β-carotène et en le dissolvant dans 250 ml de cyclohexane, le mélange est agité jusqu'à obtention d'une solution transparente. La préparation de la gamme étalon nécessite une série de dilution de la solution standard avec le cyclohexane. Une fois la gamme est réalisée, on mesure les absorbances de chaque étalon à 455 nm en utilisant le cyclohexane comme blanc.

❖ Expression des résultats

La concentration en β-carotène est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage (Annexe 01). Cette dernière est établie avec le standard β-carotène comme étalon à différentes concentrations (0,001 ; 0,003 ; 0,006 ; 0,009 ; 0,012 ; 0,015 ;

0,020) g/ml. Les résultats sont exprimés en gramme d'équivalent de β -carotène par gramme de matière sèche (g EBC/g).

III. Dosage des éléments minéraux : Phosphore

Nous avons effectué uniquement le dosage du phosphore dont le choix de l'élément minéral est fait selon la disponibilité des réactifs et des standards au niveau de l'organisme d'accueil.

❖ **Principe**

Cette méthode détermine le phosphore en incinérant l'échantillon en présence de l'oxyde de zinc, suivie de la mesure spectrophotométrique du phosphore sous forme de complexe d'acide phospho-molybdique bleu (**AOCS Official Method Ca 12-55 corrigée 1992**).

❖ **Mode opératoire**

La détermination de la teneur en phosphore est déterminée selon le protocole ci-dessous :

- 3,17 g d'échantillon ont été pesé dans un creuset Vycor, 0,5 g d'oxyde de zinc ont été ajouté.
- Placement de creuset sur une plaque chauffante jusqu'à carbonisation entière de l'échantillon puis dans un four a moufle porté à 550-600°C jusqu'à obtention des cendres blanches.
- L'ajout de 5 ml de HCL concentré. Couverture de creuset avec un verre de montre et chauffage jusqu'à ébullition pendant 5 min.
- Filtration de la solution dans une fiole jaugée de 100 ml et rinçage (verre de montre, paroi de creuset, papier filtre) avec 10 ml de l'eau distillé chaude.
- L'ajout d'HCl gouttes à gouttes pour que le précipité d'oxydes de zinc soit dissous, puis dilution du volume avec l'eau distillé.
- Prélèvement de 10 ml de la solution précédente.
- L'ajout respectivement 8 ml de solution de sulfate d'hydrazine et 2 ml de solution de molybdate de sodium déjà préparées suivi d'une bonne agitation.
- Chauffage du contenu pendant 10 min dans un bain marie à ébullition.
- Après refroidissement, mesure spectrophotométrique à 650 nm.

❖ Expression des résultats

La teneur en phosphore de l'échantillon est calculée en fonction de la courbe d'étalonnage (Annexe 01) réalisée par le standard de phosphore à différentes concentrations (0 ; 0,01 ; 0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 ; 0,10) mg. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de phosphore par gramme de matière sèche (mg EP/g ms).

Etude statistique

Les traitements statistiques des données ont été effectués à l'aide du logiciel XLSTAT (Addinsoft, 2023). Suite à l'ANOVA, un test de comparaison des moyennes a permis de classer les moyennes des différents traitements, utilisant des tests de comparaisons multiples de Tukey HSD à un seuil de signification $\alpha = 0,05$. Toutes les manipulations ont été réalisées en trois répétitions et les résultats sont exprimés en Moyennes \pm Ecart type.

Résultats et discussions

I. Résultats du dosage des pigments photosynthétiques

Les pigments photosynthétiques dosés dans notre travail sont : la chlorophylle « a » ; chlorophylle « b » ; caroténoïdes ; anthocyanes. Concernant les minéraux, nous avons opté pour le dosage du phosphore. Le choix des pigments et des minéraux est fait par rapport d'abord à la disponibilité des réactifs ensuite ce sont les paramètres les plus dosés dans l'entreprise d'accueil (COGB LABELLE Bejaia).

I.1. Dosage de la chlorophylle

La chlorophylle, est le principal pigment foliaire, souvent utilisée comme indicateur d'abord pour évaluer le rendement potentiel d'une culture, la biomasse d'une forêt, pour détecter des carences nutritionnelles ou encore comme témoin pour divers types de pollution, puis pour fournir une indication précoce du stress physiologique (**Rahma et al., 2014**).

Les feuilles sont les parties les plus sensibles à la pollution de l'air (**Papadopoulou et al., 2020**). Il existe deux types de chlorophylle dans les plantes, la chlorophylle « a » et la chlorophylle « b », qui jouent toutes les deux le rôle de photorécepteur dans la photosynthèse (**Khaleghi et al., 2012**).

Les résultats du dosage de chlorophylle « a » et « b » dans les extraits des feuilles de *Ceratonia siliqua* L. sont exprimés en $\mu\text{g/g}$ de matière sèche.

I.1.1. Chlorophylle « a »

Les résultats de la chlorophylle « a » évalués dans les extraits des feuilles des deux régions sont résumés dans la figure n°07 qui indique que la concentration la plus élevée ($30,18 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$) est enregistrée dans les extraits des feuilles du caroubier d'Oued ghir (F1), suivis par ceux des feuilles de Kherrata (F3) avec une concentration moyenne ($23,60 \pm 1,74 \mu\text{g/ml}$), la concentration la plus faible ($17,53 \pm 0,65 \mu\text{g/ml}$) est notée dans les extraits des feuilles de Boudjellil (F2). Concernant les extraits des feuilles de Jijel, les concentrations varient de $31,53 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ (extraits FS2) à $16,63 \pm 1,34 \mu\text{g/ml}$ (extraits FS3), les extraits FS1 ($20,50 \pm 1,06 \mu\text{g/ml}$) ont fourni une concentration intermédiaire (Figure n°07).

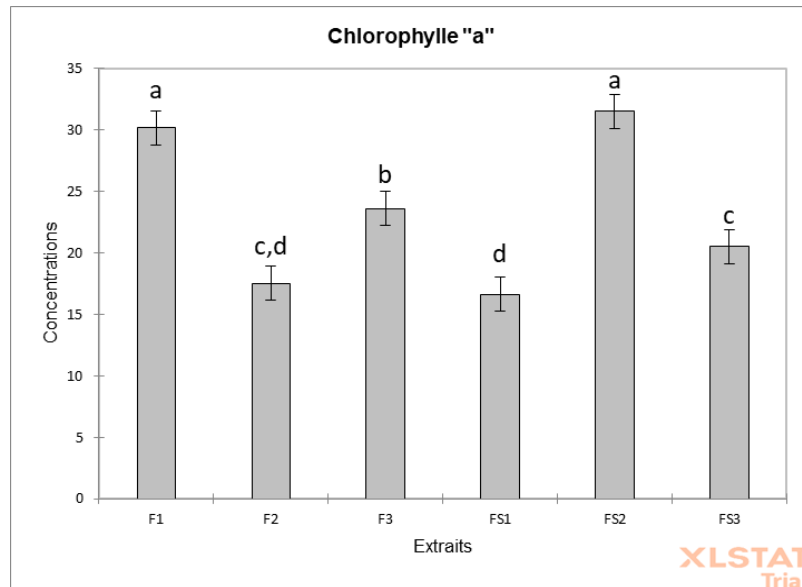


Figure n° 07. Résultats du dosage de la chlorophylle « a » dans les extraits des différentes feuilles (F1, F2, F3 : extraits de feuilles provenant de Bejaia ; FS1, FS2, FS3 : extraits des feuilles provenant de Jijel). Les valeurs moyennes avec différents alphabets en exposant dans chaque barre sont significativement différentes les unes des autres par Tukey (HSD).

L'absence des études réalisées sur la quantification des concentrations de chlorophylle « a » dans les feuilles de *Ceratonia siliqua* L. rend difficile la comparaison de nos résultats avec celles de la bibliographie. Dans notre comparaison, nous avons fait référence à des plantes qui font partie de la famille des Fabacées et des Oléacées.

En se rapportant à **Pompelli et al. (2013)**, la teneur de la chlorophylle « a » dans les feuilles de *Prosopis juliflora* ($0,02 \pm 0,00$ g/kg PS) et *Anadenanthera colubrina* ($0,62 \pm 0,41$ g/kg PS) collectées dans les forêts brésiliennes est plus élevée par rapport à celle de chlorophylle mesurée dans nos extraits de feuilles de *Ceratonia siliqua* L.

D'après Brahmi et al. (2012), la teneur en chlorophylle « a » dans les feuilles d'olivier récoltées à Mahdia (Tunisie) est estimée de ($4,48 \pm 0,49$ µg/ml). Cette dernière est inférieure à celle évaluée dans nos extraits de feuilles de *Ceratonia siliqua* L. De plus, la quantité en chlorophylle « a » rapportée dans nos résultats est aussi supérieure à celle de **Tekaya et al., (2016)** qui est estimée à 1,35 mg/kg dans les feuilles d'olivier cultivées à Enfidha (Tunisie).

Néanmoins, nos résultats sont inférieure ; en comparaison à ceux de **Bahloul et al. (2014)** qui ont mesuré le taux de chlorophylle « a » dans les feuilles d'olivier (281,69-854,59 ppm) récoltées dans la ferme de l'Institut de l'olivier de Sfax, en Tunisie.

I.1.2. Chlorophylle « b »

La chlorophylle « b » s'est révélée dans les extraits des feuilles avec les quantités qui sont résumées dans la figure n° 08.

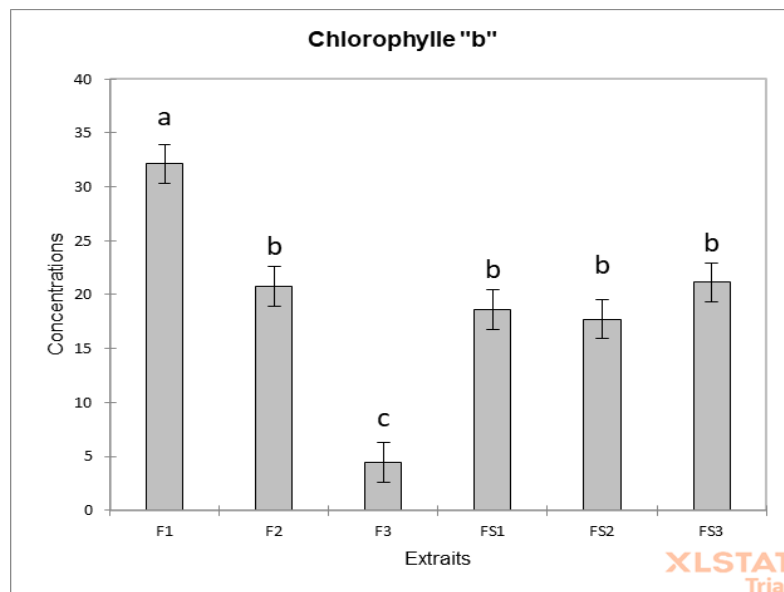


Figure n° 08. Résultats du dosage de la chlorophylle « b » dans les extraits des différentes feuilles (F1, F2, F3 : extraits de feuilles provenant de Bejaia ; FS1, FS2, FS3 : extraits des feuilles provenant de Jijel). Les valeurs moyennes avec différents alphabets en exposant dans chaque barre sont significativement différentes les unes des autres par Tukey (HSD).

Dans les résultats du dosage de la chlorophylle « b » nous avons constaté que la concentration la plus importante ($32,13 \pm 1,45 \mu\text{g/ml}$) est observée dans les extraits des feuilles d'Oued ghir (F1), suivi de celle enregistrée dans les extraits de Boudjellil ($20,76 \pm 1,90 \mu\text{g/ml}$), tandis que les extraits des échantillons issus de la station de Kherrata (F3) ont indiqué la concentration la plus basse ($4,46 \pm 0,60 \mu\text{g/ml}$). Concernant les extraits des feuilles de Jijel, une concentration élevée est estimée dans ceux de FS3 ($21,13 \pm 1,95 \mu\text{g/ml}$). Les extraits de FS1 et de FS2 semblent enregistrer des concentrations proches avec ($17,73 \pm 1,19 \mu\text{g/ml}$), ($18,60 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$) respectivement.

D'après **Amessis-Ouchemoukh et al. (2017)**, une concentration en chlorophylle « b » de $4,53 \pm 2,18 \mu\text{g}/100 \text{ g PS}$ a été estimée dans les extraits de feuilles de *Ceratonia siliqua* L. issues de Tichy (Bejaia).

Dans notre comparaison, nous avons eu recours à des plantes qui font partie de la famille des Fabacées et des Oléacées, qui appartiennent au même cortège floristique, à cause de manque des recherches menées sur la détermination des concentrations de la chlorophylle « b » dans les feuilles de *Ceratonia siliqua* L.

D'un côté, au Brésil **Pompelli et al. (2013)** ont identifié des teneurs considérables en chlorophylle « b » de $0,01 \pm 0,00\text{g/kg PS}$ dans les extraits des feuilles de *Prosopis juliflora*, et de $0,41 \pm 0,26\text{g/kg PS}$ dans ceux d'*Anadenanthera colubrinae* n comparant avec nos propres résultats.

De l'autre côté, en Tunisie, nos résultats sont inférieurs à ceux de **Bahloul et al. (2014)**, ces derniers ont déterminé la teneur en chlorophylle « b » dans les feuilles de l'olivier récoltées dans la ferme de l'Institut de l'olivier de Sfax qui varie entre (851,83 à 1114,23 ppm).

Par ailleurs, **Brahmi et al. (2012)** et **Tekaya et al. (2016)** ont dosé la chlorophylle « b » dans les feuilles de l'olivier issues de deux régions en Tunisie ; 'Mahdia' avec $5,37 \pm 0,65 \mu\text{g/ml}$ c'est une teneur inférieure à nos extraits de feuilles de *Ceratonia siliqua* L., contrairement à ceux de 'Enfidha' qui présentent une valeur de $0,5 \text{ mg/kg PF}$ qui est supérieur aux nôtres.

Ces variations dans les teneurs en chlorophylle « a » et « b » peuvent être attribuées à divers facteurs environnementaux et le degré de maturité (**Bahloul et al., 2014**).

D'après **Şevik et al. (2015)**, la teneur en chlorophylle du feuillage peut varier en fonction de l'espèce végétale, de la forme du feuillage, des éléments présents dans le sol (du magnésium, du fer, de l'acide humique, de l'azote, du mercure, du cuivre, du cadmium et du plomb), du stress dû à la sécheresse, du stress salin, de la pollution de l'air, ainsi elle dépend de la quantité de lumière (**Şevik et al., 2015**). Par conséquent, il a été particulièrement intéressant pour les phytologues de quantifier la teneur en chlorophylle des feuilles (**Palta, 1990**).

I.2. Dosage des caroténoïdes

Les caroténoïdes jouent le rôle de pigments accessoires chez les plantes supérieures, et ils protègent la chlorophylle de la destruction photo-oxydante (**Seyyednejad et al., 2013**).

Le résultat du dosage des caroténoïdes dans les extraits des feuilles de *Ceratonia siliqua* L. est exprimé en $\mu\text{g/ml}$ (Figure n°09).

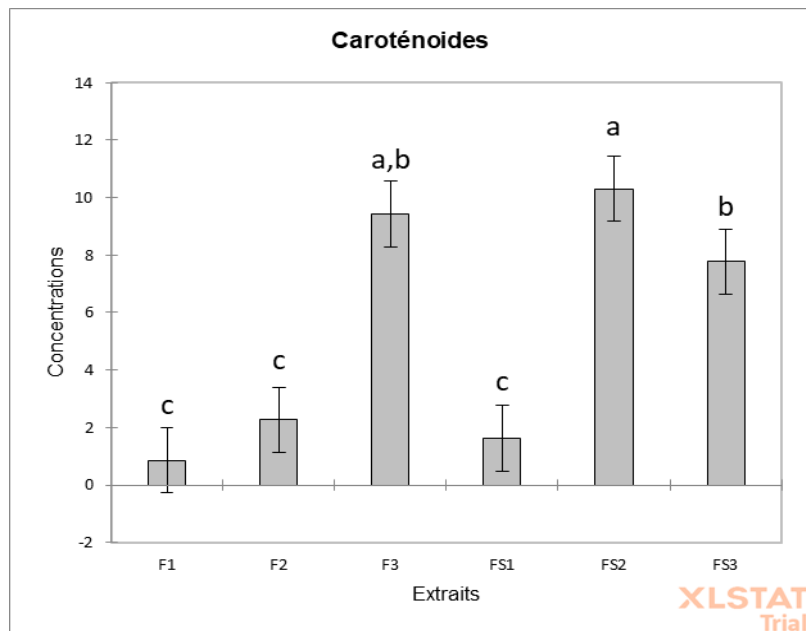


Figure n°09. Résultats du dosage des caroténoïdes dans les extraits des différentes feuilles (F1, F2, F3 : extraits de feuilles provenant de Bejaia ; FS1, FS2, FS3: extraits des feuilles provenant de Jijel). Les valeurs moyennes avec différents alphabets en exposant dans chaque barre sont significativement différentes les unes des autres par Tukey (HSD).

La figure n°09, dans laquelle les résultats du dosage des caroténoïdes sont schématisés, indique que les molécules en question sont concentrées ($9,43 \pm 0,22 \mu\text{g/ml}$) dans les extraits des feuilles issues de Kherrata, puis dans les extraits des feuilles provenant de Boudjellil avec une teneur de $2,27 \pm 1,52 \mu\text{g/ml}$. La concentration la plus faible est observée dans les extraits des feuilles échantillonnées à Oued ghir ($0,86 \pm 0,78 \mu\text{g/ml}$).

Avec des valeurs considérables, les extraits des échantillons FS2 issus de Jijel enregistrent des valeurs en caroténoïdes élevées ($10,30 \pm 0,23 \mu\text{g/ml}$) par rapport à ceux de Bejaia. Pour la région de Jijel, ce sont les extraits de FS1 qui ont fourni les concentrations les plus faibles ($1,62 \pm 0,19 \mu\text{g/ml}$). Enfin, $7,76 \pm 1,35 \mu\text{g/ml}$ de caroténoïdes ont été quantifiés dans les extraits de FS3.

Nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés dans l'étude réalisée par **Pompelli et al. (2013)** sur les feuilles de *Prosopis juliflora* ($0,01 \pm 0,00\text{g/kg PS}$) et *Anadenanthera colubrina* ($0,52 \pm 0,07 \text{g/kg PS}$).

Selon **Tarchoune et al. (2019)**, les concentrations en caroténoïdes dans les feuilles de deux variétés d'oliviers récoltées en Tunisie ; 'NebJmel' ($26,90 \pm 4,45 \mu\text{g/g PS}$), 'Oueslati' ($44,33 \pm 4,38 \mu\text{g/g PS}$) sont supérieures à celles indiquées dans nos extraits des feuilles de *Ceratonia siliqua* L., tandis que **Brahmi et al. (2012)** ont estimé une valeur de $0,90 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$ dans les feuilles de l'olivier de 'NebJmel' prélevées à Mahdia (Tunisie) en mois d'octobre

et une valeur de $3,52 \pm 0,09$ $\mu\text{g/ml}$ en mois de février. Ces derniers résultats sont inférieurs à nos résultats.

Ces différences de résultats pourraient être expliquées par l'influence de divers facteurs endogènes (type de cultivar, la variété, la maturité de l'échantillon et la partie de la plante utilisée) ou bien d'autres qui sont exogènes d'ordre abiotique (le climat, la saison, le site géographique de production et le type de sol) et d'ordre technique (conditions de traitement et de stockage) (Amessis-Ouchemoukh *et al.*, 2017) et aussi l'influence de stress environnementaux (Wang et Frei, 2011).

D'après Maxime *et al.* (2019), une forte pollution de l'aire joue un rôle dans la réduction de la teneur en caroténoïdes chez certaines espèces de plante.

I.3. Dosage des anthocyanes

Les anthocyanines sont des pigments résultants de la condensation de plusieurs flavonoïdes. Les teneurs en anthocyanines obtenues dans les échantillons étudiés sont exprimées en mg/g ms d'équivalent de cyanidines-3-glucoside. Le résultat du dosage des anthocyanes est représenté dans la figure n°10. Pour ce pigment, nous avons rajouté d'autres extraits : 03 extraits de chaires (pulpes) et 01 extrait de graines.

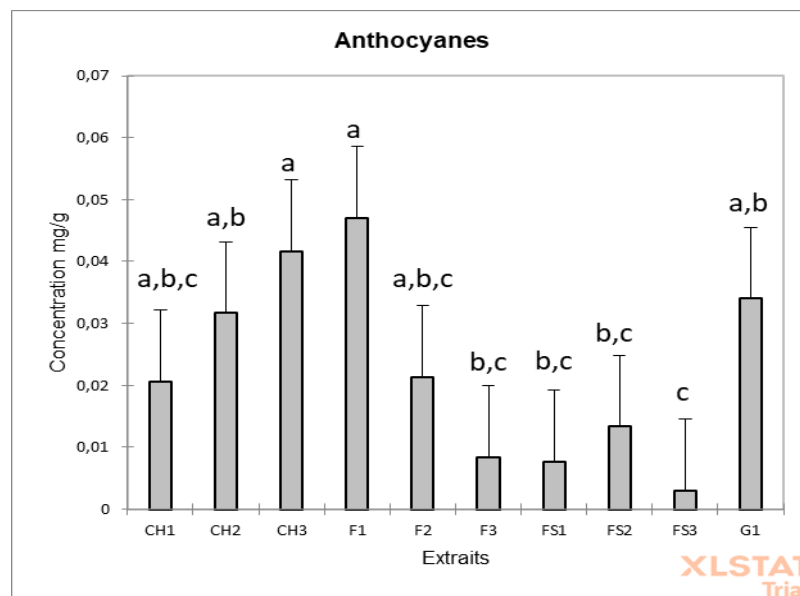


Figure n°10 : Résultats du dosage des anthocyanes dans les extraits des différents extraits (F1, F2, F3 : extraits de feuilles provenant de Bejaia ; FS1, FS2, FS3 : extraits des feuilles provenant de Jijel ; CH1, CH2, CH3 : extraits des chaires provenant de Bejaia ; G1 : extrait de graine provenant de Bejaia).

Les valeurs moyennes avec différents alphabets en exposant dans chaque barre sont significativement différentes les unes des autres par Tukey (HSD).

Comme il apparaît dans la figure au-dessus, la plus grande quantité en anthocyanes a été révélée dans les extraits des chaires (CH1/CH2/CH3) avec ($0,021 \pm 0,002$; $0,032 \pm 0,001$; $0,042 \pm 0,002$ mg/g ms respectivement), suivie de celle enregistrée dans les extraits des graines (G1) avec ($0,034 \pm 0,009$ mg/g ms). Tandis que la teneur en anthocyanes est très faible pour la majorité des extraits des feuilles (F2/F3/FS1/FS2/FS3) avec ($0,021 \pm 0,004$; $0,008 \pm 0,00$; $0,007 \pm 0,003$; $0,013 \pm 0,00$; $0,003 \pm 0,001$ mg/g ms successivement), sauf que pour l'extrait des feuilles d'Oued ghir (F1) qui a signalé la plus forte teneur en anthocyanes avec ($0,047 \pm 0,028$ mg/g ms) par rapport à l'ensemble des extraits.

Les anthocyanes dans les tissus des végétaux fonctionnent comme un écran lumineux protégeant les tissus photosynthétiques des dommages causés par l'excès de lumière avant leur établissement fonctionnel complet et, plus tard, lorsqu'ils deviennent sénescents (**Vinterhalter et al., 2007**).

Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Ben Ayache et al. (2020)** qui ont déterminé une teneur en anthocyanes de $158,1 \pm 0,7$ mg/100 g ms dans les extraits de la pulpe et de $51,2 \pm 0,1$ mg/100 g ms dans ceux des graines du caroubier de Téboulba en Tunisie.

La rareté des études faites sur la détermination des teneurs en anthocyanes dans les différentes parties de *Ceratonia siliqua* L. (feuilles, chaires, graines) a orienté notre comparaison vers d'autres espèces appartenant au même cortège floristique afin de situer nos résultats.

Si on considère les résultats des gousses (pulpes + graines), Nos résultats sont supérieurs à ceux menés par **Benhabyles-Bouttaba et al. (2021)** qui ont noté la valeur de $0,085 \pm 0,037$ mg/g ms dans les extraits des gousses de *Sophora japonica* L. (Fabacées) à Boumerdes (Algérie).

On se référant à **Ali-Rachedi et al. (2018)**, les extraits méthanoliques de feuilles de *Scabiosa atropurpurea sub. maritima* L. (dipsacacées) récoltées à Annaba (Algérie) présentent des teneurs proches à notre résultat ($3,105$ mg/g ms), tandis que les extraits hexaniques présentent une teneur largement inférieure à celle de nos extraits ($0,40$ mg/g ms).

La teneur en anthocyanes dans les feuilles de l'olivier (*Olea europaea* L.) récoltées à Mahdia (Tunisie) et qui est estimée à $0,14 \pm 0,01$ mg/100 g est inférieure à celle de nos extraits de feuilles de *Ceratonia siliqua* L. (**Brahmi et al., 2012**).

Cette différence pourrait être expliquée par les états de carence ou d'excès des minéraux qui peuvent jouer un rôle sur les teneurs en anthocyanes (**Nguinambaye et al., 2020**), ainsi que **Awika et al. (2005)** ont constaté que le méthanol acidifié préserve mieux les

anthocyanes extraits dans leur forme originale, donc il devrait être le solvant de choix pour la quantification et l'analyse des anthocyanes.

D'après **Saidi (2019)**, la teneur phénolique d'une plante dépend aussi d'un certain nombre de facteurs tels que, les conditions climatiques, le moment de la récolte, le solvant d'extraction, les conditions de stockage. Par ailleurs, les anthocyanes ou anthocyanosides ont des couleurs qui dépendent aussi du pH, de la présence de copigments, d'ions métalliques (fer, aluminium), d'alcool (**Nguinambaye et al., 2020**).

Plusieurs paramètres affectent le rendement en anthocyanes, tels que le type d'échantillon, le temps d'incubation, la température, le type de solvant et le rapport solvant/masse (**Taghavi et al., 2022**).

I.4. Dosage de β -carotène

Les caroténoïdes, y compris la β -carotène appartiennent à la catégorie des composants bioactifs fonctionnels pour la santé. Selon **Bandalac, (2020)**, la β -carotène en plus de sa fonction de précurseur de la vitamine A (qui fournit au corps une activité antioxydante), elle constitue aussi un élément clé du système de défense antioxydant des plantes (**Mibei et al., 2017**).

La figure n°11 résume les résultats du dosage de β -carotène dans les extraits des chaires (pulpes), des graines et des feuilles, qui sont exprimés en gramme d'équivalent de β -carotène par gramme de matière sèche (g EBC/g ms).

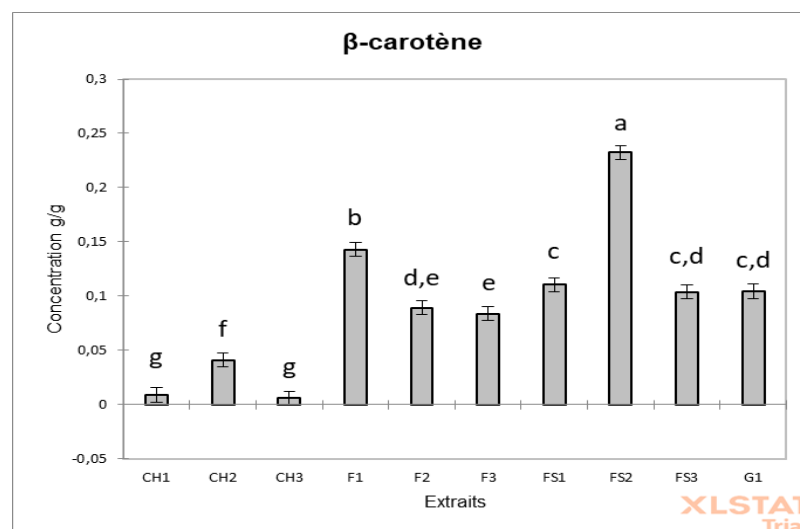


Figure n°11. Résultats du dosage de β -carotène dans des différents extraits (F1, F2, F3 : extraits de feuilles provenant de Bejaia ; FS1, FS2, FS3: extraits des feuilles provenant de Jijel ; CH1,CH2, CH3 : extraits des chaires provenant de Bejaïa ; G1 : extrait de graine provenant de Bejaïa).

Les valeurs moyennes avec différents alphabets en exposant dans chaque barre sont significativement différentes les unes des autres par Tukey (HSD).

Nos résultats montrent que la plus grande concentration en β -carotène est estimée de $(0,232 \pm 0,007 \text{ g/g ms})$. Cette dernière est enregistrée au sein des extraits des feuilles de la station 2 de Jijel (FS2). Tandis que l'extrait des graines présente une teneur intermédiaire $(0,104 \pm 0,002 \text{ g/g})$ assez proche de celle des extraits de feuilles (F1/F2/F3/FS1/FS3) avec $0,143 \pm 0,005$; $0,089 \pm 0,003$; $0,084 \pm 0,01$; $0,111 \pm 0,003$ et $0,104 \pm 0,008 \text{ g/g}$ respectivement.

La faible concentration en β -carotène est évaluée dans les extraits de chaires (CH1/CH2/CH3) avec $0,009 \pm 0,001$, $0,041 \pm 0,001$, $0,006 \pm 0,001 \text{ g/g}$ successivement.

En considérant les résultats des gousses (pulpes + graines), nos résultats sont énormément supérieurs à ceux trouvés par **Amessis-Ouchemoukh et al. (2017)** ($2,08 \pm 0,08$ - $4,32 \pm 0,14 \mu\text{g}/100 \text{ g}$) dans les gousses de *Ceratonia siliqua* L. récoltées à Tichy (Bejaia).

Le manque d'études établies sur l'évaluation des teneurs en β -carotènes dans les différentes parties de *Ceratonia siliqua* L. (feuilles, chaires, graines) a compliqué la comparaison de nos résultats avec celles de la bibliographie. Par conséquent, nous avons fait appel à d'autres genre appartenant à la famille des Fabacées afin d'approfondir nos comparaisons.

Nos résultats sont supérieurs à ceux menés sur des plantes à fleurs arbustives poussées au Portugal ; *Cytisus multiflorus* ($0,21 \pm 0,00 \text{ mg}/100 \text{ g}$), *Cytisus scoparius* ($1,82 \pm 0,05 \text{ mg}/100 \text{ g}$) *Cytisus striatus* ($2,15 \pm 0,04 \text{ mg}/100 \text{ g}$) et *Pterospartum tri dentatum* ($0,92 \pm 0,02 \text{ mg}/100 \text{ g}$) (**Pinela et al., 2011**). De même, ils sont supérieurs à ceux révélés par **Shannad, (2020)** dans certaines variétés de *Clitoria ternatea* collectées en Inde ; 'double pink' ($45,0 \text{ mg}$), 'single violet' ($8,0 \text{ mg}$), 'double blue' ($8,1 \text{ mg}$).

D'après **Guettaf et al. (2016)**, le taux de β -carotène dans l'extrait aqueux d'*Ononis angustissima* est estimé à $0,009836 \pm 0,0006 \text{ mg/g}$. Cette dernière est inférieure à la nôtre.

Par ailleurs, les graines brutes d'*Adenantha pavonina* L. (Nigeria) présentent une teneur basse en β -carotène de $1458,33 \pm 0,01 \text{ mg}/100 \text{ g}$ (**Nwafor et al., 2017**) par rapport à notre extrait de graines de *Ceratonia siliqua* L.

D'après **Amessis-Ouchemoukh et al. (2017)**, la teneur en caroténoïdes des légumes est influencée par le cultivar, la variété, la maturité de l'échantillon, le climat, la saison et le site géographique de production, la partie de la plante utilisée, les conditions de transformation et de stockage et le type de sol.

Selon **Mibeï et al. (2017)**, les feuilles matures peuvent fournir de grandes quantités de caroténoïdes qui sont importantes pour la santé humaine, c'est ce qu'il a été démontré sur les feuilles d'aubergines africaines. Selon les auteurs, certains changements observés dans la

composition des caroténoïdes pourraient directement liés à des phénomènes connus associés au développement des plantes, au stress et à l'activité photosynthétique.

I.5. Résultats du dosage du phosphore

Les minéraux, tels que le phosphore, sont des substances de soutien essentielles au bon fonctionnement des organismes vivants (Oumlouki et al., 2021).

Le résultat du dosage du phosphore, dans les extraits de chaires (pulpes), des graines et ceux des feuilles, est synthétisés dans la figure n°12, ils sont exprimés en milligramme d'équivalent de phosphore par gramme de matière sèche (mg EP/g).

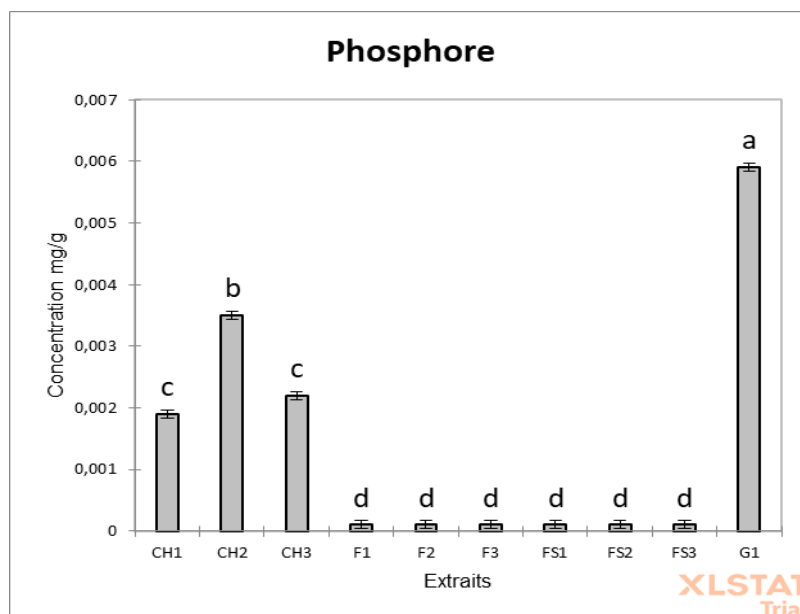


Figure n°12. Résultats de dosage du phosphore dans des différents extraits (F1, F2, F3 : extraits de feuilles provenant de Bejaia ; FS1, FS2, FS3 : extraits des feuilles provenant de Jijel ; CH1, CH2, CH3 : extraits des chaires provenant de Bejaïa ; G1 : extrait de graine provenant de Bejaïa). Les valeurs moyennes avec différents alphabets en exposant dans chaque barre sont significativement différentes les unes des autres par Tukey (HSD).

En examinant la figure n°12, nous avons constaté que la teneur la plus élevée du phosphore n'a pas dépassé le 0,006 mg, cette dernière est notée dans l'extrait des graines, suivie par les extraits des chaires (CH1/CH2/CH3) avec $0,0019 \pm 0,00$; $0,0035 \pm 0,00$; $0,0022 \pm 0,00$ mg/g ms respectivement. Particulièrement, les extraits des feuilles quant à eux, ont fourni des teneurs trop basses sous forme de traces ($0,0001 \pm 0,00$ mg/g ms).

Nos résultats trouvés dans les extraits des graines sont inférieurs à ceux rapportés par **El-Shatnawi et Ereifej (2001)** dans les extraits des graines de *Ceratonia siliqua* L. (125 mg/100g ms) issus des forêts d'Ajloun (Jordanie). De plus, ils sont aussi inférieurs à ceux

estimés dans les extraits des graines ($674,00 \pm 6,93$ mg/100g) d'*Acacia nilotica* L. (Fabacées) (Ndamitso et al., 2017).

D'autre part, la pulpe du caroubier des deux régions (Bejaia et Jijel) rapporte des concentrations très faibles en phosphore en les comparant à celles trouvées par Oumlouki et al. (2021) qui ont évalué la teneur de 41,9-57,2 mg/100g dans les extraits de la pulpe du caroubier de Maroc et aussi elles sont trop inférieures à celles indiquées par El Hajaji et al. (2013) dans les extraits de la pulpe du caroubier spontanée (17430000 mg/kg) ou dans la pulpe du caroubier greffée (21050,00 mg/kg) issu du Maroc. De plus, ces derniers auteurs, ont quantifié la teneur de 8288,887mg/kg ; de 9036,849 mg/kg et de 8887,762 mg/kg respectivement dans les extraits des feuilles du caroubier femelle spontanée, ceux des feuilles du caroubier mâle spontané et ceux des feuilles du caroubier femelle greffée. Leurs résultats sont beaucoup élevés aux résultats trouvés dans nos extraits de feuilles.

Si on considère les résultats des gousses (pulpe + graines), nos résultats sont toujours inférieurs à ceux obtenus par Khelifa et al. (2013) (76 mg/g dans les extraits de gousses du caroubier provenant du Maroc) et à ceux rapportés par Ayaz et al. (2007) (71 mg/100 g) dans les extraits de gousses du caroubier poussant en Anatolie (Turquie).

Selon El Hajaji et al. (2013), des variations observées dans la composition en éléments minéraux pourraient être induite par plusieurs facteurs à savoir l'année de collecte et de l'organe analysés (racines, écorce, fleurs, fruits et feuilles). Pour les feuilles, par exemple, la composition minérale peut varier sensiblement suivant la position de la branche le long du tronc et celle de la feuille sur la branche, comme il a été mis en évidence dans les extraits des feuilles de l'espèce *Alba xurophylla* qui pousse au Congo tel qu'il a été rapporté par Ndamitso et al. (2017). Toutefois, le même organe, au sein de la même espèce, peut enregistrer des teneurs différentes en minéraux, ceci est lié sensiblement au génotype de l'espèce ou même au type de sol dans lequel l'espèce pousse Oumlouki et al. (2021).

Conclusion et perspectives

Ceratonia siliqua L. est cultivée dans la région méditerranéenne, elle a fait l'objet d'une attention considérable au cours des dernières années en raison de sa composition chimique unique, de ses effets bénéfiques sur la santé et sur l'environnement ainsi que de son application dans différents domaines.

Ce travail est focalisé sur la quantification des pigments (chlorophylles, caroténoïdes) dans les extraits des feuilles de *Ceratonia siliqua* L., ainsi que le dosage du phosphore, des anthocyanes et de la β -carotène dans les extraits de différentes parties aériennes (feuilles, chaires, graines) de ladite espèce, collectée dans différentes stations situées à Bejaïa et à Jijel.

Les résultats obtenus des dosages de β -carotène et des caroténoïdes ont révélé que les fortes concentrations en pigments sont enregistrées dans les extraits des feuilles de la station 2 de Jijel (FS2) et dans ceux des graines d'Oued ghir (CH1). En ce qui concerne les pigments chlorophylliens, nous avons remarqué que la chlorophylle « a » et « b » sont les pigments majoritairement produits par les feuilles d'Oued ghir et par celles de la station 2 de Jijel. L'identification de la teneur en anthocyanes a rapporté que les extraits éthanoliques des parties aériennes (feuilles, chaires, graines) de la plante *Ceratonia siliqua* L. présentent des valeurs assez proches en anthocyanes qui sont de l'ordre de 0.047g/g (feuilles), 0.047g/g (graines) et de 0.042 g/g dans les chaires. Les résultats obtenus dans ce travail indiquent aussi que la concentration du phosphore la plus élevée est quantifiée dans les extraits des graines.

L'analyse statistique de la composition en pigments et en minéraux, par le test de Tukey, a permis de révéler des différences significatives inter et intra régions. Ce qui permet de dire que toutes les teneurs en pigments et en minéraux sont influencées par les conditions environnementales.

Nous avons constaté que chaque critère analysé peut être considéré comme un moyen explicatif des différences qui ont été observées à l'échelle de l'inter et l'intra régions.

En termes de perspectives et dans le but de compléter notre travail dans l'avenir, il serait souhaitable de :

- Quantifier d'autres pigments photosynthétiques et d'autres caroténoïdes.
- Etudes des paramètres physico-chimiques de l'huile de graines de *Ceratonia siliqua* L.
- Analyse des autres minéraux mis en évidence dans la gousse de Caroube et d'autres composés bioactifs (Fibres, Acide aminés, Vitamine C).
- Etude de l'effet de la pollution atmosphérique sur la teneur en chlorophylle des feuilles de caroubier, en utilisant cette espèce végétale comme bio-moniteur.

Références bibliographiques

- Ahmed F, Anwar F, Hira S. Review on medicinal importance of Fabaceae family. *Pharmacology online* 2016;3:151-157.
- Ait Chitt M, Belmir H, Lazrak A. Production de plants sélectionnés et greffés de caroubier. *Bulletin mensuel d'information et de liaison du pnnta mapm/derd* 2007;153:1-4.
- Albanell E. Caracterización morfológica, composición química y valor nutritivo de distintas variedades de garrofa (*Ceratonía siliqua* L.) cultivadas en España. Barcelona, España, 1990.
- Ali-Rachedi F, Meragni S, Touabia N et Sabrina M. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la société royale des sciences de liège* 2018 ;87:13-21.
- Amessis-Ouchemoukh N, Ouchemoukh S, Meziant N, Idiri Y, Hernanz D, Stinco C M, Rodriguez-Pulido F J, Heredia FJ, Madani K et Luis J. Bioactive metabolites involved in the antioxidant, anticancer and anticalpainactivities of *Ficus carica* L., *Ceratonía siliqua* L. and *Quercus ilex* L. extracts. *Industrial Crops and Products* 2017;95:6-17.
- Avallone R, Plessi M, Baraldi M et Monzani A. Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonía siliqua*): Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins, *Journal of Food Composition and Analysis* 1997;10(2):166-172.
- Awika J M, Rooney L W et Waniska R D. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry* 2005;90(1-2): 293-301.
- Ayache S B, Reis F S, Dias M I, Pereira C, Glamočlija J, Soković M et Achour L. Chemical characterization of carob seeds (*Ceratonía siliqua*) and use of different extraction techniques to promote its bioactivity. *Food Chemistry* 2021;351:129-263.
- Ayaz F A, Torun H, Ayaz S, Correia PJ, Alaiz M, Sanz C, Gruz J et Strnad M. Determination of chemical composition of Anatolian carob pod (*Ceratonía siliqua* L.): sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. *Journal of food quality* 2007;30(6):1040-1055.
- Bahloul N, Kechaou N et Mihoubi N B. Comparative investigation of minerals, chlorophylls contents, fatty acid composition and thermal profiles of olive leaves (*Olea europaea* L.) as by-product. *Grasas y Aceites* 2014 ;65(3):35.
- Bandalac V. Produits fonctionnels à base d'extraits de caroténoïde. Université Technique de Moldavie 2020:443-445.
- Basharat Z, Afzaal M, Saeed F, Islam F, Hussain M, Ikram A, Pervaiz M U et Awuchi G C. Nutritional and functional profile of carob bean (*Ceratonía siliqua*): a comprehensive review. *International Journal of Food Properties* 2023;26(1):389-413
- Battle I, Tous J. Carob tree *Ceratonía siliqua* L. Italy: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, International Plant Genetic Resources Institute, 1997:91.
- Baytop T. Therapy with medicinal plant in Turkey (Past and Present). Istanbul: Publication of the Istanbul University, 1984:520.
- Ben Ayache S, Behija S E, Eemhemmed F, Flamini G, Achour et Muller C D. Biological activities of aqueous extracts from carob plant (*Ceratonía siliqua* L.) by antioxidant, analgesic and proapoptotic properties evaluation. *Molecules* 2020;25(14):3120.
- Ben Hsouna A, Trigui M et Ben Mansour R. Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Ceratonía siliqua* essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiologie* 2011;148:66–72.
- Benhabyles-Bouttaba N, Bouchenak O, Boumaza S, Laoufi R, Yahiaoui K, Sadaoui N, Toubal S et Arab K. Phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of *sophora japonica* l. (Fabaceae) of the region of Boumerdes (Algeria). *Revue Agrobiologia* 2021; 11(1):2305-2315.
- Berrougui H, Le caroubier (*Ceratonía siliqua* L.) une richesse nationale aux vertus médicinales. *Maghreb Canada Express*, 2007:38.
- Bisby F A, Buckingham J, Harborne J B. Phytochemical dictionary of the Leguminosae. London : Chapman & Halls, 1994 : xx-xxxiii.

Boismal K. Evaluation des performances de la méthode de dosage de la chlorophylle a en milieu marin par fluorimétrie. Thèse de doctorat, Université de Montpellier 2016.

Brahmi F, Mechri B, Dabbou S, Dhibi M et Hammami M. The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations. *Industrial Crops and Products* 2012; 38:146-152.

Brassesso M E, Brandão T R S, Silva C L M et Pintado M. Carob bean (*Ceratonia siliqua* L.): A new perspective for functional food. *Trends in Food Science & Technology* 2021 ;114 :310-322.

Chanoca A, Kovinich N, Burkel B, Stecha S, Bohorquez-Restrepo A, Ueda T et Otegui M S. Anthocyanin vacuolar inclusions form by a microautophagy mechanism. *The plant cell* 2015;27(9): 2545-2559.

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

Christou A, Martinez-Piernas A B, Stavrou I J, Garcia-Reyes J F et Kapnissi-Christodoulou C P. HPLC-ESI-HRMS and chemometric analysis of carobs polyphenols technological and geographical parameters affecting their phenolic composition. *Journal of Food Composition and Analysis* 2022:104744.

De Candolle A. L'origine des plantes cultivées (ed.1). Paris : Germer Baillière,1883: 379.

Ebrahimi P, Shkramraji Z, Tavakkoli S, Mihaylova D et Lante A. Chlorophylls as natural bioactive compounds existing in food by-products: A critical review. *Plants* 2023;12(7):1533.

El Hajaji H, Farah A, Ennabili A, Bousta D, Greche H, El Bali B et Lachkar M. Etude comparative de la composition minérale des constituants de trois catégories de *Ceratonia siliqua* L. *Journal of Materials and Environmental Science* 2013;4(2):65-170.

El Kahkahi R, Moustaine M, Mouhajir A, Bachir S, Lemrhari A, Zouhair R, Ait chitt M et Errakhi R. Technical sheet on the culture carob tree (*Ceratonia Siliqua* L.) in Morocco. Thèse de doctorat 2016.

El Shatnawi M K J et Ereifej K I. Chemical composition and livestock ingestion of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seeds. *Rangeland Ecology & Management/Journal of Range Management Archives* 2001;54(6):669-673.

Esteban R, Moran J F, Becerril J M et García-Plazaola J I. Versatility of carotenoids: An integrated view on diversity, evolution, functional roles and environmental interactions. *Environmental and Experimental Botany* 2015;119:63-75.

Féret M J B. Apport de la modélisation pour l'estimation de la teneur en pigments foliaires par télédétection. Thèse de doctorat, Université Pierre et marie curie 2009.

Filimon R V, Roratu L et Filimon R M. Quantitative investigation of leaf photosynthetic pigments during annual biological cycle of *Vitis vinifera* L. table grape cultivars. *South African Journal of Enology and Viticulture* 2016; 37(1):1-14.

Folch G R. Vegetation of Catalan country. Barcelona Ed. Spain,1981:513.

Giusti M M et Wrolstad R E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current protocols in food Analytical Chemistry* 2001;0(1):F1.2.1-F1.2.13.

Guettaf S, Abidli N, Kariche S, Bellebcir L et Bouriche H. Evaluation of antioxidant potential and phytochemical studies of *Ononis angustissima* L (Fabaceae). *World Journal of Pharmaceutical Research* 2016;5(3):1793-1815.

Hillcoat D, Lewis G et Verdcourt B. A new species of *Ceratonia* (Leguminosae-Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. *Kew Bulletin* 1980;35(2):261-271.

Khaleghi, E, Arzani K, Moallemi N et Barzegar M. Evaluation of chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters and relationships between chlorophyll a, b and chlorophyll content index under water stress in *Olea europaea* cv. Dezful. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering* 2012;6(8):636-639.

Khelifa M, Bahloul A, et Kitane S. Determination of chemical composition of carob pod (*Ceratonia siliqua* L) and its morphological study. *Journal of Materials and Environmental Science* 2013;4(3):348-353.

Kivçak B, Mert T. Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* Leaf extracts. *Fitoterapia* 2002;73(3):242-243.

LI Y et CHEMAT F. Plant Based “Green Chemistry 2.0”. Singapore : Moving From Evolutionary to Revolutionary. Singapore : Springer, 2019.

Lichtenthaler H K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology* 1987:350-382.

Mahdad M Y. Situation et perspectives d'amélioration du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) dans le Nord-ouest de l'Algérie 2013. Thèse de doctorat, Université de Tlemcen 2016.

Maxime A D, Koutoua A, Serge E A G et Dreyfus K K G. Evaluation des paramètres anatomiques et biochimiques des laitues (*Lactuca sativa*) indiquant l'état de pollution des sites de cultures dans la ville de Daloa (Centre-Ouest, Côte d'Ivoire). *International Journal of Innovation and Applied Studies* 2019;27(2):519-528.

Mibei E K, Ambuko J, Giovannoni J J, Onyango A N et Owino W O. Carotenoid profiling of the leaves of selected African eggplant accessions subjected to drought stress. *Food Science & Nutrition* 2017; 5(1):113–122.

Mitrakos K. Temperature germination responses in three Mediterranean evergreen sclerophylls. Components of productivity of Mediterranean-climate Regions: Proceedings of the International Symposium on Photosynthesis. Greece: Springer Netherlands,1981:277-279.

Ndamitso M M, Mustapha S, Etsuyankpa M B, Ajai I A I et Mathew J T. Evaluation of chemical composition of *Acacia nilotica* seeds. *Science & Technology Journal* 2017;2(2):927-93.

Nguinambaye M M, Nadjindoroum N A et Brahim O B. Composés minéraux et teneur en anthocyane d'*Ampelocissus multistriata* du Tchad. *Afrique Science* 2020;17(2):11-24.

Novidzro K M, Wokpor K, Fagla B A, Koudouvo K, Dotse K, Osseyi E et Koumaglo K H. Etude de quelques paramètres physicochimiques et analyse des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graines de *Griffonia simplicifolia*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 2019;13(4):2360-2373.

Nwafor F I, Egonu S N, Nweze N O et Ohabuenyi S N. Effect of processing methods on the nutritional values and anti-nutritive factors of *Adenantha pavonine* L. (Fabaceae) seeds. *African Journal of Biotechnology* 2017;16(3):106-112.

Oomah B D, Corbé A et Balasubramanian P. Antioxydant and Anti-inflammatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2011;58:8225-8230.

Oumlouki K EL, Salih G, Jilal A, Dakak H, EL Amrani M et Zouahri A. Comparative study of the mineral composition of carob pulp (*Ceratonia siliqua* L.) from various regions in Morocco. *Moroccan Journal of Chemistry* 2021; 9(4):742-753.

Palta J P. Leaf chlorophyll content. *Remote sensing reviews* 1990;5(1):207-213.

Papadopoulou S, Rhizopoulou S et Meletiou-Christou M-S. Biomonitoring Air Pollution in Carob Leaves. *Biology & Life Sciences* 2020;4:50.

Papadopoulou S, Stefi A L, Meletiou-Christou, M S, Christodoulakis N S, Gkikas D et Rhizopoulou S. Structural and physiological traits of compound leaves of *Ceratonia siliqua* trees grown in urban and suburban ambient conditions. *Plants* 2023;12(3):514.

Patel S S et Shah D B. Phylogeny in few species of Leguminosae family based on matK sequence. *Computational Molecular Biology* 2014;4(6):1-5.

Pervaiz T, Songtao J, Faghihi F, Haider M S et Fang J. Naturally occurring anthocyanin, structure, functions and biosynthetic pathway in fruit plants. *Journal of Plant Biochemistry & Physiology* 2017;5(2):1-9.

Pinela J, Barros L, Carvalho A M et Ferreira I. Influence of the drying method in the antioxidant potential and chemical composition of four shrubby flowering plants from the tribe Genisteae (Fabaceae). *Food and Chemical Toxicology* 2011; 49(11):2983-2989.

Pompelli M F, França S C, Tigre C R, Teixeira de Oliveira M, Sacilot M et Pereira E C. Spectrophotometric determinations of chloroplastidic pigments in acetone, ethanol and dimethylsulphoxide. *Revista Brasileira de Biociências* 2013 ;11(1) :52-58.

Rahma K, Aminata O E H, Belkeir D, Francisco C-H et Marie-Andrée E. Effet de la pollution atmosphérique par les hydrocarbures sur le lichen *Xanthoria parietina* (L.) th (Teloschistaceae) dans la zone de Hassi Messaoud (Sahara septentrional est algerien). *Algerian journal of arid environment* 2014;4(2):98-106.

Rejeb, M N. Le Caroubier en Tunisie : Situations et Perspectives d'Amélioration-Quel Avenir pour l'Amélioration des Plantes, *John Libbey Eurotext* 1995:79-85.

Rtibi K, Selmi S, Grami D, Amri M, Eto B, El-benna J, Sebai H et Marzouki L. Chemical constituents and pharmacological actions of carob pods and leaves (*Ceratonia siliqua* L.) on the gastrointestinal tract: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017;93:522-528.

Saidi I. Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives. Thèse de doctorat, Université de Sidi Bel Abbès 2019.

Schweinfurth G. Sammlung Arabisch-aethiopischer Pflanzen : Ergebnisse von Reisen in den Jahren 1881, 1888-89, 1891-92. *Bulletin de l'Herbier Boissier* 1894;2:1-114.

Şevik H, Sakici Ç, Ayane. The change of chlorophyll content in *Syringa vulgaris* L. depending on shadow and duration. *Scholars Academic Journal of Biosciences* 2015; 3(4):392-396.

Seyyednejad S M, Koochak H et Vaezi J. Some biochemical responses due to industrial air pollution in *Prosopis juliflora* plant. *African Journal of Agricultural Research* 2013;2(10):471-481.

Shamnad J. Mineral and nutritional potential of *Clitoria ternatea* L. variants as forage. *Journal of Tropical Agriculture* 2020; 57(2): 163-166.

Spizzirri U G, Abduvakhidov A, Caputo P, Crupi P, Muraglia M, Rossi C O, Clodoveo M L, Aiello F et Restuccia D. Kefir enriched with carob (*Ceratonia siliqua* L.) leaves extract as a new ingredient during a gluten-free bread-making process. *Fermentation* 2022;8(7):305.

Sumanta N, Haque C I, Nishika J et Suprakash R. Spectrophotometric analysis of chlorophylls and carotenoids from commonly grown fern species by using various extracting solvents. *Research Journal of Chemical Sciences* 2014;4(9), 63-69.

Taghavi T, Patel H et Rafie R. Comparing pH differential and methanol-based methods for anthocyanin assessments of strawberries. *Food Science & Nutrition* 2022;10(7):2123-2131.

Tanan T T, Nascimento M N D, Leite R D L et Guimarães D S, Spectrophotometric determinations of chloroplastidic pigments in *Physalis angulata* L. leaves using different methodologies. *Journal of Agricultural Science* 2017;9(1):117.

Tarchoune I, Sgherri C, Eddouzi J, Zinnai A, Quartacci MF et Zarrouk M. Olive leaf addition increases olive oil nutraceutical properties. *Molecules* 2019;24(3):545.

Tekaya M, El-gharbi S, Mechri B, Chehab H, Bchir A, Chraief I, Ayachi M, Boujnah D, Attia F et Hammami M. Improving performance of olive trees by the enhancement of key physiological parameters of olive leaves in response to foliar fertilization. *Acta Physiologiae Plantarum* 2016;38:1-12.

Usman M, Khan W R, Yousaf N, Akram S, Murtaza G, Abdul Kudus K, Ditta A, Rosli Z, Rajpar M N et Nazre M. Exploring the phytochemicals and anti-cancer potential of the members of Fabaceae family: A comprehensive review. *Molecules* 2022;27(12):3863.

Vardar Y, Seçmen Ö et Ahmed M. Preliminary results on the chemical composition of the Turkish carob beans. *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles* 1972;21: 367-379.

Références bibliographiques

Vavilov N I. The Origin, variation, immunity, and breeding of cultivated plants. New York : LWW,1951:482.

Vinterhalter B, Ninkovic S, Kozomaka B et Vinterhalter D. Carbohydrate nutrition and anthocyanin accumulation in light grown and etiolated shoot cultures of carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Archives of Biological Sciences* 2007;59(1):51-56.

Wang Y et Frei M. Stressed food the impact of abiotic environmental stresses on crop quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 2011;141(3-4):271-286.

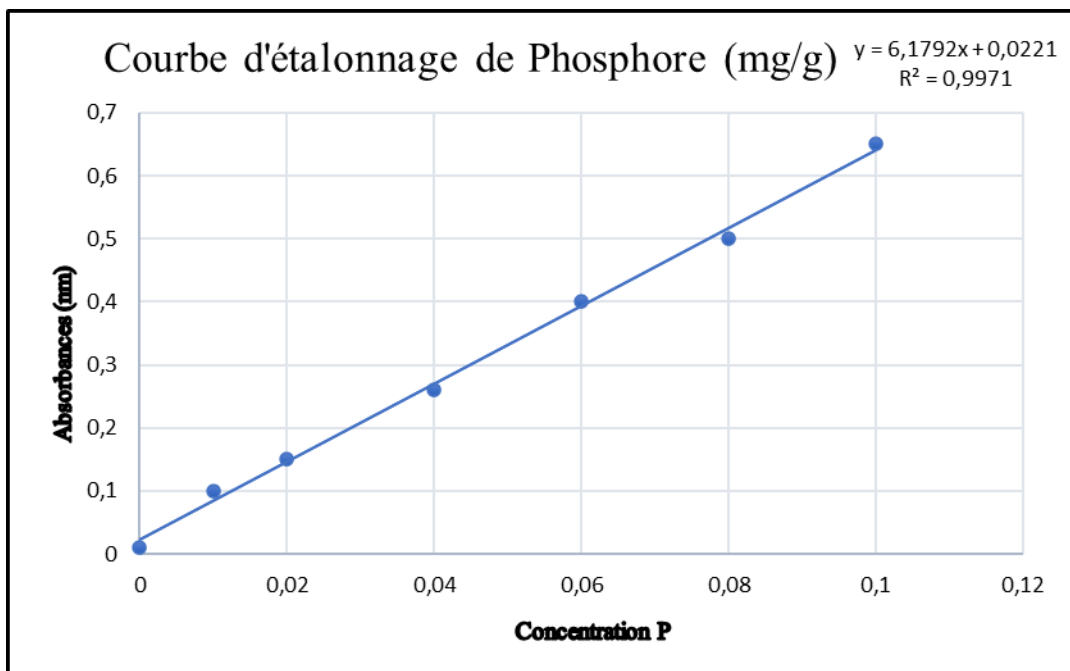
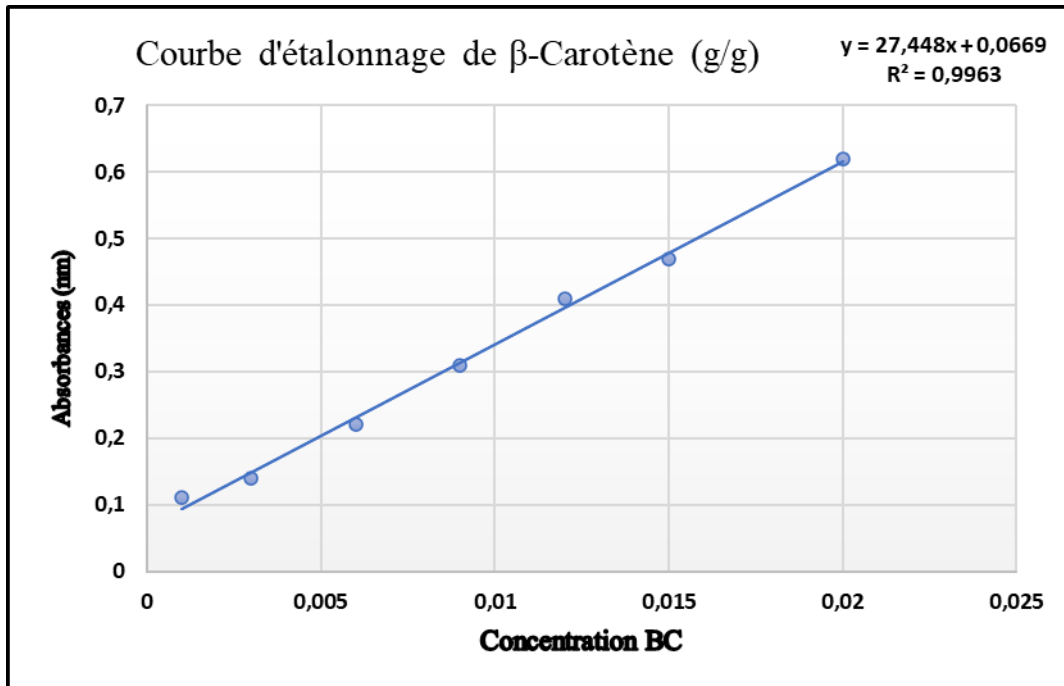
Wojciechowski M F. Reconstructing the phylogeny of legumes (Leguminosae): an early 21st century perspective. *Advances in legume systematics, part* 2003;10:5-35.

Zeng J, Ping W, Sanaeifar A, Xu X, Luo W, Sha J, Huang Z, Huang Y, Liu X, Zhang B et Li X. Quantitative visualization of photosynthetic pigments in tea leaves based on Raman spectroscopy and calibration model transfer. *Plant methods* 2021;17(1):1-13.

Zohary M et Orshan G. The maquis of *Ceratonia siliqua* in Israel. Palestine journal of botany Jerusalem series. Jerusalem,1959 :385-397.

Zohary, M. Geobotanical Foundations of the Middle East. Stuttgart,1973.

Annexe 1 : Courbes d'étalonnages



Résumé

Le Caroube (*Ceratonia siliqua* L.) est une essence cultivée essentiellement dans le bassin méditerranéen, elle est l'objet de plusieurs études grâce à son importance socio-économique et environnementale. Notre travail consiste à quantifier et à comparer les pigments photosynthétiques et le phosphore dans différentes parties extraites de caroubier issues de différentes stations de Bejaïa et Jijel. Les résultats obtenus montrent que les graines de caroube sont riches en β -carotène, anthocyanes, phosphore. L'analyse de la teneur en pigments effectuée sur les feuilles des deux régions montrent la richesse des feuilles de caroubier en chlorophylle « a » et « b » et en caroténoïdes, contrairement au phosphore qui se trouve sous forme de trace. Les chaires de caroube présentent une teneur de 0.041 g/g en β -carotène et une teneur de 0.003mg/g en phosphore, par contre elles s'avèrent riches en anthocyanes (0.042mg/g). L'analyse de signification de Tukey a montré que la teneur en pigments chlorophylliens et en caroténoïdes dans les extraits de feuilles récoltées des deux régions présentent des différences significatives pour l'ensemble des extraits. La même analyse, pour le dosage des anthocyanes, phosphore et β -carotène a indiqué la présence des différences significatives, ces différences observées pourraient être liées à l'influence de divers facteurs.

Mots Clés : *Ceratonia siliqua* L., Pigments photosynthétiques, Phosphore, Spectrophotométrie, Phytochimie.

Abstract

Carob (*Ceratonia siliqua* L.) is a species cultivated mainly in the Mediterranean basin, and is the subject of several studies thanks to its socio-economic and environmental importance. Our work consists in quantifying and comparing photosynthetic pigments and phosphorus in different parts extracted from carob trees from different stations in Bejaïa and Jijel. The results show that carob seeds are rich in β -carotene, anthocyanins and phosphorus. Pigment content analyses carried out on leaves from both regions show that carob leaves are rich in chlorophyll "a" and "b" and carotenoids, unlike phosphorus, which is found in trace form. Carob pulp has a β -carotene content of (0.041 g/g) and a phosphorus content of (0.003mg/g), but is rich in anthocyanins (0.042mg/g). Tukey's significance analysis showed that chlorophyll pigment and carotenoid content in leaf extracts harvested from the two regions showed significant differences for all extracts. The same analysis for anthocyanins, phosphorus and β -carotene showed significant differences. These observed differences could be linked to the influence of various factors.

Key words : *Ceratonia siliqua* L., Photosynthetic pigments, Phosphorus, Spectrophotometry, Phytochemistry.

ملخص

الخروب (*Ceratonia siliqua* L.) هو نوع يزرع بشكل رئيسي في حوض البحر الأبيض المتوسط، وهو موضوع العديد من الدراسات بفضل أهميته الاجتماعية والاقتصادية والبيئية. يتمثل عملنا في تحديد ومقارنة أصباغ التمثيل الضوئي والفسفور في أجزاء مختلفة مستخرجة من أشجار الخروب من محطات مختلفة في بجاية وجيجل. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن بذور الخروب غنية بالكاروتين β والأنثوسيانين والفسفور. يظهر تحليل محتوى الصباغ الذي تم إجراؤه على أوراق كلتا المنطقتين ثراء أوراق الخروب بالكلوروفيل "أ" و "ب" والكاروتينات، على عكس الفسفور الذي يتواجد بشكل ضئيل. يحتوي لب الخروب على (0.041 غ/غ) من الكاروتين β و (0.003 ملغ/غ) من الفسفور، من ناحية أخرى تبين أنه غني بالأنثوسيانين (0.042 ملغ/غ). أظهر تحليل الأهمية (Tukey) أن صبغة الكلوروفيل ومحتوى الكاروتينات في مستخلصات الأوراق التي تم حصادها من المنطقتين أظهرت اختلافات كبيرة. كما أشار نفس التحليل، لتحديد الأنثوسيانين، الفسفور والكاروتين β ، إلى وجود اختلافات كبيرة، هذه الاختلافات الملحوظة يمكن أن تكون مرتبطة بتأثير عوامل مختلفة.

الكلمات المفتاحية: *Ceratonia siliqua* L.، أصباغ التمثيل الضوئي، الفسفور، قياس الطيف الضوئي، الكيمياء النباتية.

