



جامعة بجاية
Tasdawit n'Bgayet
Université de Béjaïa

République Algérienne Démocratique et Populaire.
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique.
Université Abderrahmane Mira de Bejaia.
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires

Mémoire

Présenté par **ARAB Radia épouse Mouloud**

En vu de l'obtention du diplôme

Magister

Filière : Sciences Alimentaire

Option : Alimentation et Technologie Alimentaire

Thème

*Teneur en métabolites secondaires et potentiel prébiotique
d'une ressource alimentaire (Ceratonia siliqua L.)*

Soutenue le 02 Juillet 2015 devant le jury composé de :

Melle LOUAILECHE H.	Professeur (UAM Béjaïa)	Présidente
Mr ZAIDI F.	Professeur (UAM Béjaïa)	Directeur de mémoire
Mr KATI D.E.	M.C.A (UAM Béjaïa)	Examineur
Mr OUCHEMOUKH S.	M.C.A (UAM Béjaïa)	Examineur

Année universitaire : 2014-2015

Remerciements

*Je remercie « Dieu » le tout puissant qui ma donné santé, foie, volonté et
Courage*

Aux êtres les plus chères au monde :

Mes parents pour leur aide soutien et protection

*Je tiens à présenter mes profonds remerciements à tous ceux qui ont collaboré
pour la réalisation de ce travail et notamment : mon encadreur, le Professeur
ZAIDI Farid pour son entière disponibilité et aide*

*L'honorable jury composé du Professeur Melle LOUAILECHE H. Présidente,
de Mr KATI D.E. et Mr OUCHEMOUKH S., examinateurs*

Je les remercie d'avoir accepté d'examiner ce travail

A toute les filles du laboratoire Nutrition et Alimentation.

Dédicace

Aux êtres les plus chères à mes yeux “mes très chers parent”,

La raison de mon existence,

À qui je doit la grande reconnaissance

Pour leur aide, soutien, amour tendresse et sacrifice

A mon chère marie et la lumière de mes jours mon fils ‘Willas’

A ma très cher sœur Sabah ; pour son aide, soutien et encouragement,

A son marie et sa petite fille Amina

Qu’elle trouve ici l’expression de ma plus grande affection

A mes très chères sœurs Chahra, Faiza, Nadia et Madjda

A mon très cher frère Youyou

A ma tante Zoulikha et tous mes oncles

A toutes la famille ARAB

A mes beaux-parents et toute ma belle famille

A mes collègues du service labo de la polyclinique d’Amridj

A toutes les filles du labo nutrition en particulier Linda ,rosa , Souhila,

Hassina,Celia et Souad

A ces personnes, je leur dédie cet humble travail

Sommaire

<i>Introduction</i>	1
---------------------------	----------

Synthèse bibliographique

<i>I. Métabolites secondaires des végétaux</i>	3
I.1. Définition.	3
I.2. Différents types de métabolites secondaires.	3
I.2.1. Les terpénoïdes.	3
I.2. 2. Les alcaloïdes.	5
I.2. 3. Les composés phénoliques.....	6
I.2. 3.1. Définition.	6
I.2. 3.2. Classification des composés phénoliques.	6
I.2. 3.3. Rôle et intérêt des polyphénols.	11
<i>II. Les radicaux libres et les antioxydants</i>	13
I .1. Les radicaux libres.	13
II.2. Nature des radicaux libres.	13
I .3. Rôle biologique des radicaux libres.	14
II.4. Effets négatifs associés aux radicaux libres.....	15
II.5. Le stress oxydant.....	15
II.6. Systèmes de défense contre le stress oxydatif.	16
II.7. Activité antioxydante des composés phénoliques.	17
I.7. 1. Piégeage des radicaux libres.	17
II.7. 2. Chélation de certains ions métalliques.	18
II.7. 3. Inhibition d'enzymes.	18
<i>III. Les probiotiques et les prébiotiques</i>	20
III.1. Les probiotiques.	20
III.1.1. Définition d'un probiotique.....	20
III.1.2. Les différents types de probiotiques.....	20
III.1.3. Forme de commercialisation des probiotiques.	23

III.1.5. Critères de Sélection d'un probiotique.	23
III.1. 6. Survie des probiotiques dans le tube digestif.	24
III.1.7. Mécanismes d'action des probiotiques.....	25
III.1.7.1. Effet sur le tube digestif.	25
III.1.7.2. Effet sur le métabolisme de l'hôte.....	26
III.1.7. 3. Effet sur le système Immunitaire.....	27
III.1.8 Quelques effets positifs prouvés par quelques souches à potentiel probiotiques.....	28
III.2. Les prébiotiques.	29
III.2.1. Définition.....	29
III.2. 2. Nature des prébiotiques.	30
III.2. 3. Effet bénéfiques des Prébiotique.....	33
<i>IV. Données générales sur le caroubier.</i>	34
IV.1. Description botanique.	34
IV.2. Dénomination et classification botanique.	34
IV. 3. Origine et répartition du caroubier.....	35
IV. 4. Production mondiale.	36
IV. 5. Composition chimique et principes actifs.	36
IV. 6. Domaines d'utilisation.	37
IV. 6.1. En alimentation humaine.....	38
IV. 6.2. En alimentation animale.....	38
IV. 6.4. Autres utilisations.....	38
IV. 6.3. Action pharmacologique.	39

Partie expérimentale

<i>I. Matériel et méthodes.</i>	40
I.1. Préparation des échantillons.....	40
I. 2. Composition chimique.	41
I. 2. 1. Teneur en matière minérale.....	41
I. 2. 2. Teneur en matière grasse.....	41
I. 2. 3. Teneur en sucres solubles.	41
I. 2. 4. Teneur en protéines.....	42

I. 2. 5. Teneur en cellulose brute.	43
I.3. Extraction et dosage des composés phénolique.	43
I.3.1. Extraction.	44
I.3.2. Dosage.	44
I.3.2.1. Dosage des phénols totaux solubles.	44
I.3.2.2. Dosage des flavonoïdes.	45
I.3.2.3. Dosage des tanins condensés.	46
I.3.2.4. Dosage des tanins hydrolysables.	46
I.3.2.5. Dosage des phénols solubles non attachés la BSA	46
I.4. Mise en évidence de la présence d'autres métabolites secondaires dans les extraits.	47
I.5. Etude de l'activité antioxydante des extraits bruts.	48
I.5. 1. Pouvoir antiradicalaire du DPPH.	48
I.5.2. Pouvoir réducteur du fer.	49
I.5.3. Chélation du fer ferreux (Fe ⁺²).	50
II. Effet de la poudre de caroube sur la viabilité de probiotique et sur l'activité antioxydante du yaourt.	50
II. 1. Les cultures microbiennes.	50
II. 2. Préparation du yaourt expérimental.	51
II.3. Analyses microbiologiques.	51
II.4. Analyses du pH et de l'acidité titrable.	52
II.4.1. Mesure du Ph.	52
II.4. 2. Mesure de l'acidité titrable.	52
II.5. Mesure de la synérèse.	53
II.6. Quantification des phénols totaux solubles du yaourt au cour du stockage	53
II.7. Activité antioxydante du yaourt.	54
III. Analyses statistiques.	54
IV. Résultats.	55
IV.1. Composition chimique.	55
IV.2. Teneur en composés phénoliques.	55
IV.2.1. Teneur en phénols totaux solubles (PTS).	55
IV.2.2. Teneur en flavonoïdes.	56

IV.2.3. Teneur en tanins hydrolysables.....	57
IV.2.4. Teneur en tanins condensés.....	57
IV.2.5. Teneur en phénols totaux solubles non attachés à la BSA.....	58
IV.3. Résultats du screening chimique.....	60
IV.4. Activité antioxydante.....	61
IV.4.1. Activité antiradicalaire du DPPH.....	61
IV.4. 2. Pouvoir réducteur.....	62
IV.4.3.Chélation du fer.....	62
IV.5. Effet de poudre de caroube sur la viabilité de probiotique et sur l'activité antioxydante du yaourt.....	63
IV.5.1. Analyse physico-chimique.....	63
IV.5. 1.1. Evolution du Ph.....	63
IV.5. 1. 2. Evolution de l'acidité titrable.....	65
IV.5. 2. Evolution de la synérèse.....	66
IV.5. 3. Evolution du nombre de colonies.....	67
IV.5.3.1. Evolution du nombre de colonies de probiotique.....	67
IV.5 2.2. Evolution des colonies des ferments.....	69
IV.5. 3. Evolution des teneurs en phénols totaux solubles.....	70
IV.5. 4. Activité antioxydante.....	72
IV.5. 4.1. Activité antiradicalaire.....	72
IV.5. 4.2. Pouvoir réducteur.....	73
IV.5. 4.3. Chélation du fer.....	74
V. Corrélations.....	77
VI. Discussion générale.....	80
Conclusion.....	89

Références bibliographiques

Annexes

A: absorbance

AFSSA: agence française de la sécurité sanitaire des aliments

A TT: acidité titrable Totale

BSA : bovine sérum albumine

B: Bifidobacterium

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle

EqAG: équivalent acide galique

EqAT: équivalent acide tannique

EqCAT: équivalent catéchine

EqQ: équivalent Quercitrine

ERO : espèces réactives de l'oxygène

FAO: Food and Agriculture Organisation

FOS: Fructo-oligosaccharides

Fru: Fructose

Gal: Galactose

Glu: Glucose

GOS: Gluco-oligosaccharides

HDL : High-density lipoprotein

LDL : low-density lipoprotein

MS : matière sèche

MRS: Man Rogosa Sharpe

OMS : organisation mondiale de la santé

PTS : phénols totaux solubles

UFC: unité formant colonies

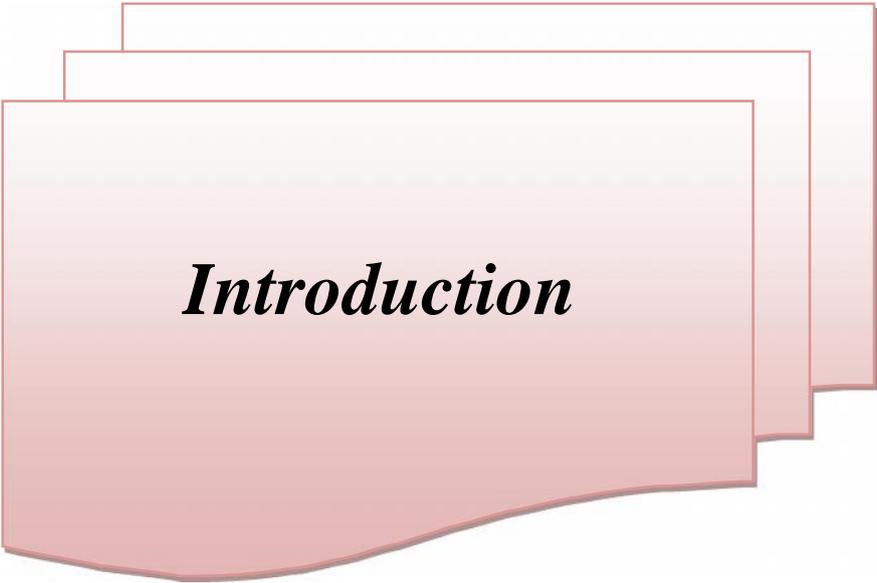
Liste des figures

Figure 1 : Structure de l'isoprène.....	4
Figure 2 : Structure de la morphine.....	5
Figure 3. Principales structures d'acides hydroxybenzoïques.....	7
Figure 4: Principales structures d'acides hydroxycinnamiques	7
Figure 5 : Structure chimique du resvératrol.....	8
Figure 6 : structure de base des flavonoïdes.	9
Figure 7 : structure de base des différentes classes de flavonoïdes.	9
Figure 8 : Exemple d'un tannin hydrolysable (pentagalloyglucose).....	11
Figure 9: Structure chimique de tannin condensé.	11
Figure 10 : propriétés biologiques attribué aux composés phénoliques.....	12
Figure 11 : les différentes voies de formation des ERO.	14
Figure 12: Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les ERO.....	15
Figure 13 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.....	17
Figure 14 : Piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes.....	18
Figure 15 : Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes.....	18
Figure 16 : Les différents types de liaison des polyphénols-protéines.....	35
Figure 17: Modulation de l'effet barrière par les probiotiques.	26
Figure 18: Structure de galacto-oligosaccharides (GOS) de type- 1,4.....	31
Figure 19: Structure de l'inuline.	32
Figure 20 : Photographie des feuilles, fleurs et fruit du caroubier	34
Figure 21 : Répartition du caroubier dans le monde.	35
Figure 22 : Réaction du Chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes.....	45
Figure 23 : Réaction de la vanilline avec la catéchine.....	46
Figure 24 : Réactions de réduction du radical DPPH• en DPPH-H par un antioxydant.	48
Figure 25: Composition chimique globale de la pulpe de caroube.	55
Figure 26 : Teneurs en phénols totaux solubles.	56
Figure 27: Teneurs en flavonoïdes.	56
Figure 28 : Teneur en tanins hydrolysables.....	57
Figure 29: Teneur en tanins condensé.....	58
Figure 30 : Teneur PTS non attachés à la BSA.....	59
Figure 31 : Teneurs en phénols attachés et non attachés à la BSA en % des PTS.....	59

Figure 32 : Photos de mise en évidence des métabolites secondaire dans les extraits.....	60
Figure 33 : Activité antiradicalaire du DPPH des extraits bruts.	61
Figure 34 : Pouvoir réducteurs des extraits bruts	62
Figure 35 : Pouvoir chélateur du fer des extraits brut.	63
Figure 36: Résultats de l'analyse statistique de l'évolution du Ph.....	64
Figure 37: Evolution du Ph.	64
Figure 38: Résultats de l'analyse statistique de l'évolution de l'acidité.	65
Figure 39 : Evolution de l'acidité titrable.	65
Figure 40: Résultats de l'analyse statistique de l'évolution de la synérèse.....	66
Figure 41: Evolution de la synérèse.	67
Figure 42: Résultats de l'analyse statistique de l'Evolution des colonies de probiotique.	68
Figure 43 : Evolution des colonies de <i>Bifidobacterium animalis ssp.Lactis (Bb12)</i>	68
Figure 44: Résultats de l'analyse statistique de l'Evolution des colonies des ferments.	69
Figure 45 : Evolution des colonies de <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i>	70
Figure 46: Résultats de l'analyse statistique de l'Evolution des teneurs en phénols totaux solubles.....	71
Figure 47: Evolution des teneurs en phénols totaux solubles.	71
Figure 48: Résultats de l'analyse statistique de l'Evolution de Activité antiradicalaire.....	72
Figure 49 : Evolution Activité antiradicalaire.....	73
Figure 50: Résultats de l'analyse statistique de l'Evolution du Pouvoir réducteur.....	73
Figure 51 : Evolution du pouvoir réducteurs.....	74
Figure 52: Résultats de l'analyse statistique de l'Evolution du Pouvoir réducteur.....	75
Figure 53 : Evolution du pouvoir Chélateur du fer.	75

Liste des tableaux

Tableau I : Principales espèces oxygénées réactives générées dans le système biologiques.	13
Tableau II : Micro-organismes reconnues d'être probiotiques.	21
Tableau III : Les principaux critères de sélection des probiotiques.	24
Tableau IV : effets positifs prouvés par quelques souches à potentiel probiotiques.....	28
Tableau V : Exemples de composés prébiotiques commercialisés.	31
Tableau VI : Quelques effets positifs prouvés par les prebiotiques.	34
Tableau VII : Exemple d'effets positives prouvés par quelques symbiotiques.	40
Tableau VIII: Composition moyenne de la pulpe de caroube.....	37
Tableau IX : propriétés pharmacologiques du fruit du caroubier.	39
Tableau X: Dispositif expérimental.	53
Tableau XI : Résultats du screening phytochimique des extraits.....	62
Tableau XII : matrice des corrélations.	80
Tableau XIII : matrice des corrélations pour les yaourts.	81



Introduction

Introduction

Ces dernières années, la consommation d'aliments d'origine végétale suscite un intérêt toujours croissant auprès des consommateurs. Ce phénomène social est certainement lié à la prise de conscience quant à la relation de cause à effet entre la qualité des aliments et la santé (**Allane et Benamara., 2010**). A la suite des données d'observation, notamment de ce qu'il est convenu d'appeler le régime méditerranéen et le paradoxe français, la notion d'éléments nutritionnels protecteurs est apparue (**Maataoui et al., 2006**).

La perception des propriétés prophylactiques et thérapeutiques des probiotiques est à l'origine de la consommation accrue des produits laitiers fermentés notamment le yogourt (**Mercenier et al., 2002**).

Les prébiotiques et les probiotiques ont connus durant la dernière décennie un regain d'intérêt, matérialisé par une explosion des publications scientifiques et sous-tendu par le partenariat avec l'industrie agroalimentaire. Leur utilisation, initialement fondée sur des observations empiriques, est aujourd'hui plus rationnelle.

Les probiotiques sont souvent des bactéries lactiques (lactobacilles, bifidobactéries) qui exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale (**Fuller, 1991**). Les probiotiques sont des substances non digestibles qui induisent un effet physiologique bénéfique sur l'hôte en stimulant de façon spécifique la croissance et/ou l'activité d'un nombre limité de populations bactériennes déjà établies dans le côlon comme les bifidobactéries (**Gibson et Roberfroid, 1995**). Cependant, l'effet probiotique des bifidobactéries dépend de leur taux de survie non seulement dans les aliments mais également dans le tractus gastro-intestinal (**Shah 2000; Marteau et al., 2003; Gagnon et al., 2004**).

Les légumineuses, y compris le caroubier sont de bonnes sources de nutriments ayant un potentiel bénéfique pour la santé de l'Homme tel que les oligosaccharides et les polysaccharides incluant quelques fibres alimentaires. Elles contiennent des protéines, des vitamines et des minéraux ainsi que des antioxydants importants au plan nutritionnel, et des quantités minimales de graisses insaturées (**Miller, 2000**),

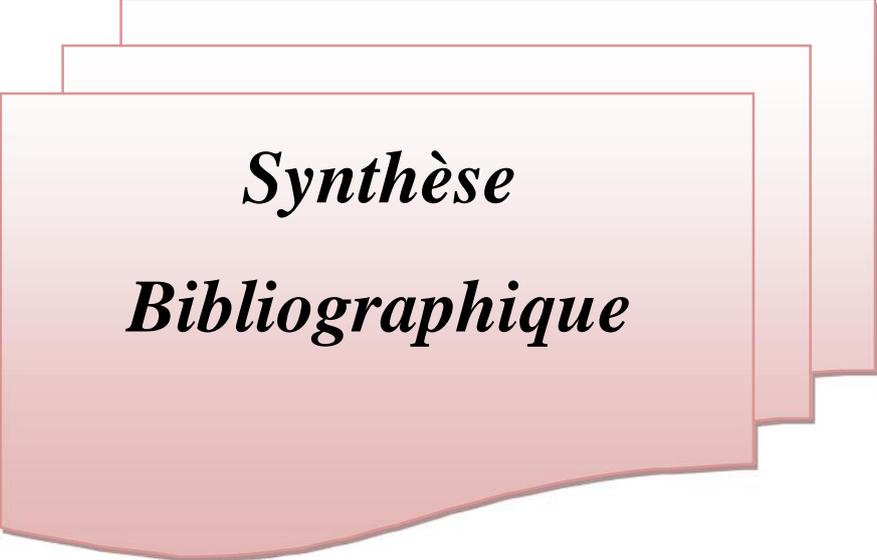
Les légumineuses pourraient donc constituer une très bonne source de facteurs de croissance et de composants prébiotiques pour le yaourt et autres aliments contenant des

probiotiques on offrant la possibilité d'améliorer la formulation des laits fermentés d'un point de vue nutritionnel.

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L., Fabacae Césalpinoïdae) dont l'origine semble être l'Est de la méditerranée est domestiqué depuis 4000 ans avant J.C. ; sa culture extensive date au moins de 2000 ans avant J.C.) et sa longévité est considérable (jusqu'à 200 ans). La caroube suscite actuellement beaucoup d'intérêt en Algérie. Ses gousses abondantes, plus riches en sucre que la canne à sucre et la betterave sucrière, sont utilisées en industrie agroalimentaire et pharmaceutique, notamment comme antidiarrhéque. Les composés phénoliques qu'elles contiennent sont à l'origine de leur propriété antioxydante (**Hariri et al., 2009**).

Notre travail est réparti en deux grandes parties :

- Une première partie relative à l'étude bibliographique contenant des données générales sur les métabolites secondaires, sur la plante étudiée, sur les probiotiques et les prébiotiques.
- Une deuxième partie expérimentale qui a porté sur deux aspects :
 - ☞ Extraction et dosage des composés phénoliques de la pulpe de caroube et activité antioxydante des extraits obtenus au moyen de trois tests :
 1. Test de l'activité anti radicalaire du DPPH.
 2. Pouvoir réducteur du fer.
 3. Chélation du fer ferreux
 - ☞ Effet de la poudre de caroube sur la viabilité de probiotique et sur l'activité antioxydante du yaourt au cours du stockage à froid.



Synthèse
Bibliographique

I. Métabolites secondaires des végétaux

I.1. Définition

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions même de vie de la plante : la plante doit en effet faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit comme les micro-organismes pathogènes. De ce fait, la plante développe un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre : les métabolites secondaires (**Wuyts, 2006**). Ces derniers ne représentent que 10% du métabolisme total des végétaux (**Kintzios et Barberaki., 2004**). Ce sont des molécules d'un poids moléculaire faible qui, présentent une énorme variabilité structurale. Plus de 200 000 structures de métabolites secondaires sont définies à ce jour. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures (**Patra et Saxena, 2010**).

Etant donné le grand nombre de structures existantes, la diversité de leurs propriétés chimiques et les faibles concentrations rencontrées, leur étude présente des difficultés spécifiques, d'identifications préalables des structures, d'extraction et d'analyse quantitative, de mise en évidence des voies de biosynthèse et de régulation.

I.2. Différents types de métabolites secondaires

En fonction de la nature chimique des composés, les métabolites secondaires peuvent se classer selon la présence d'azote dans leur structure en : les métabolites secondaires azotés, les alcaloïdes étant les plus abondants et les métabolites secondaires non azotés, les phénols et les terpènes, étant les plus remarquables (**Lafuente, 2006**).

I.2.1. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes constituant un groupe de molécules très différentes tant d'un point de vue structurel que fonctionnel. Ils constituent probablement la classe la plus vaste et la plus diversifiée de composés organiques. Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers modes d'assemblage. La formation de structures cycliques, l'addition de fonction comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes (**Hopkins, 2003**).

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels et majoritairement d'origine végétale, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100(le caoutchouc). La molécule de base est l'**isoprène** de formule C_5H_8 (**Figure 1**) (**Benchaar et al., 2006**).

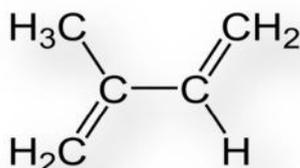


Figure 1: Structure de l'isoprène (Raven *et al.*, 2003).

Cette famille comprend des hormones (gibbérellines et acides abscissique), des pigments caroténoïdes, des stérols, le latex ainsi que les huiles essentielles qui jouent des rôles écologiques importants, notamment en contribuant aux phénomènes de communication et de défense (**Hopkins, 2003**).

On peut classer tous les terpénoïdes en fonction du nombre de leurs unités isoprène. Les hémiterpènes (C_5), les monoterpènes, avec deux unités isoprène (C_{10}), les sesquiterpènes (trois unités : C_{15}), les diterpènes (quatre unités terpène : C_{20}), les sesterpènes (cinq unités : C_{25}), les triterpènes (six unités : C_{30}), les tetraterpènes (C_{40} , exemple des caroténoïdes) (**Cowan, 1999**).

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées (comme antiseptiques) contre les maladies infectieuses d'origines bactérienne et fongique. Cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (**Billerbeck et al., 2002**).

Elles possèdent également des propriétés anti-inflammatoires, antivirales, anti-tumorales, stimulantes, toniques et même irritantes/anesthésiantes. Ces propriétés sont étroitement liées à la nature de leurs constituants et des groupements ou fonctions chimiques qu'ils possèdent (**Kaloustian et al., 2008**).

I.2. 2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances naturelles organiques qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, l'atome d'azote accepte souvent un proton, ce qui leur confère un caractère légèrement basique en solution d'où leur nom « alcaloïdes » (**William et al., 2003**). Depuis l'identification du premier alcaloïde - à savoir la morphine (**Figure 2**) - à partir de l'opium en 1806, puis on découvrit la strychnine en 1818, plus de 10 000 alcaloïdes ont été isolés des plantes. Ils sont principalement extraits des plantes fleurissantes, mais on les trouve également chez quelques champignons et animaux comme les fourmis, les grenouilles et les coccinelles. (**Harborne et Herbert, 1995**).

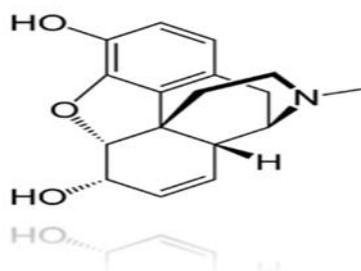


Figure 2: Structure de la morphine (Badiaga, 2011 ; Raven *et al.*, 2003).

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie, ils affectent chez l'Homme le système nerveux, particulièrement les transmetteurs chimiques. Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour plusieurs fins : anesthésiques ; dépresseurs ; stimulants ; antitumoraux ; antipaludique ; vasodilatateur cérébral et analgésique (**Stöckigt et al., 2002**).

Le rôle des alcaloïdes dans les plantes est souvent inconnu, et leur importance dans le métabolisme de la plante n'est pas très bien définie (**Bhat et al., 2005**). Une plante peut contenir plus de cent alcaloïdes différents, mais en général leur concentration ne représente pas plus de 10% du poids sec. L'existence de plantes ne contenant pas d'alcaloïdes démontre que ces composés ne sont apparemment pas essentiels à leur reproduction. Pourtant, plusieurs alcaloïdes sont très toxiques et offrent, par conséquent, un arsenal chimique de défense des plantes contre l'attaque des herbivores et des micro-organismes (**Mann et al., 1994**). La nicotine empêche la croissance des larves du tabac. En outre, des alcaloïdes protègent les plantes contre les dommages provoqués par la lumière UV (**Harborne et Herbert, 1995**). Ils constituent aussi une réserve de substances capables de fournir l'azote ou d'autres fragments nécessaires au développement de la plante (**Bhat et al., 2005 ; Harborne et Herbert, 1995**).

I.2. 3. Les composés phénoliques

I.2. 3.1. Définition

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » désigne un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules (Martin et Andriantsitohaina, 2002) divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à six atomes de carbone, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (Hennebelle *et al.*, 2004; Orzechowski *et al.*, 2002)

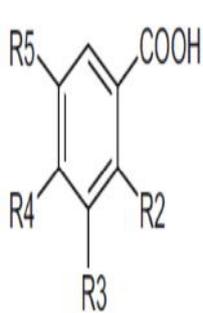
Les polyphénols sont probablement les métabolites secondaires les plus répandue dans le règne végétale (Bahorun , 1997) et ce sont les antioxydants les plus abondant dans notre alimentation (Orzechowski *et al.*, 2002). Ce sont généralement des pigments, responsable des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruit (jaune, orange, rouge). Ils sont présent partout dans les racines, les tiges, les fleurs et les feuilles de tous les végétaux (Middleton *et al.*, 2000) .

I.2. 3.2. Classification des composés phénoliques

Ils peuvent être réparties en plusieurs classes qui se différencient par le nombre des atomes et leur arrangement, la nature du squelette de base, la complexité de ce squelette de base allant d'un simple C6 à des formes très polymérisés, par le degré de modification de ce squelette : degré d'oxydation ; d'hydroxylation et de méthylation, par les liaisons possibles de ses molécules de base avec d'autre molécules (glucides, lipides et protéines) (Macheix *et al.*, 2006).

a) Les acides phénoliques

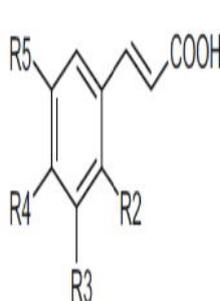
- **Acides hydroxybenzoïques** : ils dérivent de l'acide benzoïque ayant une formule de base de type C6-C1. Ils existent fréquemment sous forme d'ester ou de glucosides et peuvent également être des constituants de base des structures complexes comme les tannins hydrolysables. Parmi Les acides hydroxybenzoïques nous citons : l'acide gallique, l'acide salicylique, l'acide gentistique, l'acide vanillique et autres (Figure 3) (Dietrich et Nikfarjam, 2008).



Acide hydroxybenzoïques	R2	R3	R4	R5
Acide p-hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
Acide protocatéchique	H	OH	OH	H
Acide gallique	H	OH	OH	OH
Acide salicylique	OH	H	H	H
Acide gentistique	OH	H	H	OH
Acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H

Figure 3: Principales structures d'acides hydroxybenzoïques (Laguerre *et al.*, 2007)

- **Acides hydroxycinnamiques** : ils présentent une classe très importante à neuf atomes de carbones (C₆-C₃) et dérivent de l'acide cinnamique (Figure 4). Ces acides sont rarement présents à l'état libre et existent généralement sous formes d'esters ou de glycosides. Parmi ces acides nous citons l'acide caféique qui a une répartition quasi-universelle chez les végétaux, l'acide coumarique, l'acide ferulique et sinapique (Bruneton, 1999 ; Ribéreau-Gayon, 1968).



Acides hydroxycinnamiques	R2	R3	R4	R5
Acide coumarique	H	H	OH	H
acide caféique	H	OH	OH	H
acide ferulique	H	OCH ₃	OH	H
acide sinapique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

Figure 4: Principales structures d'acides hydroxycinnamiques (Nacz et Shahidi, 2004)

b) les stilbènes

Les stilbènes dérivent des acides hydroxycinnamiques ayant une structure en C₆-C₂-C₆ : deux noyaux benzéniques reliés par un pont méthylène (Jang *et al.*, 1997). Ils existent sous forme de monomères ou d'oligomères et sont produits par les plantes en réponse à des attaques fongiques, bactériennes ou virales (Guignard, 2000)

Ils sont présents dans notre alimentation en quantité faible et le composé le plus connu dans cette classe est le **resvératrol** (Figure 5) (Han, 2007). Il est synthétisé par la condensation du 4-coumaryl, avec 3 malonyl CoA donnant chacun 2 atomes de carbone. La réaction est catalysée par la stilbène synthase, les produits impliqués étant les mêmes que pour

la synthèse des flavonoïdes, la seule différence concernant l'enzyme catalysant la réaction (Chira *et al.*, 2008).

Le resvératrol se trouve sous forme *cis* et *trans*, et est présent dans les tissus végétaux principalement sous forme de *trans*-resveratrol-3-O-glucosides. C'est la forme *trans* qui confère des propriétés biologiques importantes. Cette molécule attire beaucoup de chercheurs et promettes divers applications en industrie pharmaceutique et alimentaire car plusieurs propriétés on lui été attribué : anticancéreuse, cardioprotectrice et anti-inflammatoire (Pando *et al.*,2015)

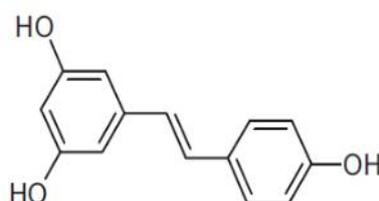


Figure 5 : Structure chimique du resvératrol (Mulvihill et Huff , 2010 ; Cheynier, 2005)

c) Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus* : jaune) constituent un groupe de plus de 6000 molécules naturelles qui sont quasiment universelles chez les plantes (Basli *et al.*, 2012 ; Hennebelle *et al.*, 2004). Ce sont des pigments responsables des colorations jaunes, oranges et rouges des fruits, feuilles, fleurs et autres organes végétaux (Atanasova et Ribarova, 2009).

Les flavonoïdes furent découverts en 1936 par le Hongrois Swent-Gyorgyi dans le zeste du citron (Brad, 2006) et figurent parmi les composés les plus exploités en phytothérapie. Des travaux relatifs à ces composés se sont multipliés ces dernières années depuis la découverte du « french paradoxe », correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les populations méditerranéennes associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées (Rodrigo *et al.*, 2011)

Ils comprenant 15 atomes de carbone et forment une structure de base C6-C3-C6, cette structure comprend : deux noyaux aromatiques (A) et (B) liés par trois atomes de carbones qui forment un composé hétérocyclique oxygéné (C) (figure 6). Le noyau B et le pont carboné constituant une unité phénylpropanoïde synthétisée à partir de la phénylalanine provenant de la voie de l'acide shikimique, alors que le noyau A vient de la condensation de 3 motifs acétate via la voie de l'acide malonique (Haliwell, 2007).

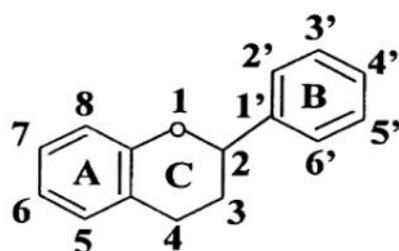


Figure 6: structure de base des flavonoïdes (El Kabouss *et al.* , 2001)

Cette grande classe contiens plusieurs types de molécules qui différent dans leur structure chimique par le mode d'hydroxylation ou de méthylation, le type du sucre substitué sur le noyau (C), la présence ou non de la double liaison C2-C3 et le positionnement du noyau (B). Ces facteurs constituant le principe de base de la classification des flavonoïdes dont les principaux sont les flavones, les flavonols, les anthocyanidines, les flavans, les flavan-3-ols (catéchine) et flavan-3-4-diols (Figure 7).

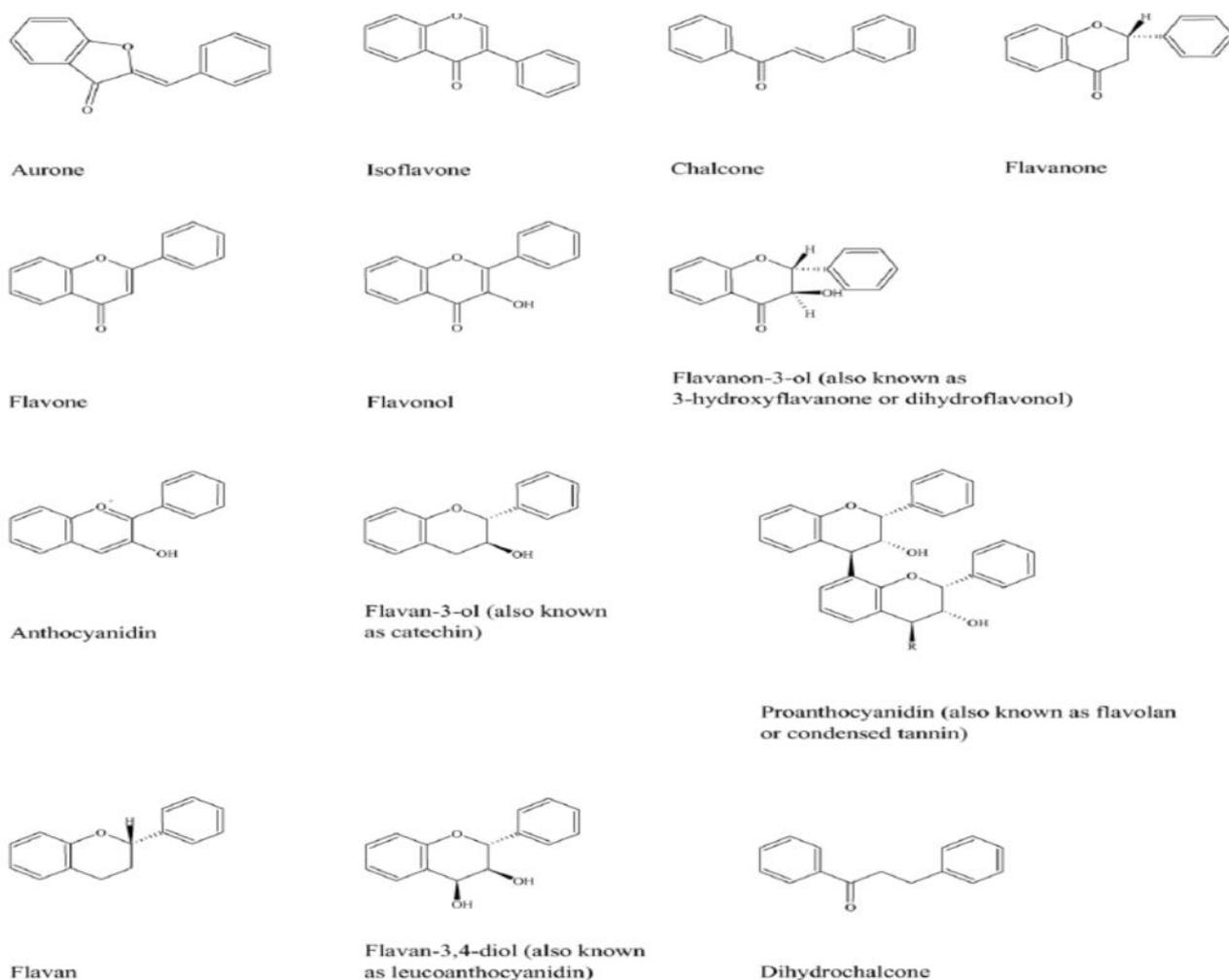


Figure 7 : structure de base des différentes classes de flavonoïdes (Cushnie et Lamb, 2005)

d) Les tannins

Les tannins sont des composés phénoliques de structure large et variée ayant en commun la capacité de former des complexes avec les protéines et avec d'autres polymères organiques tels que les glucides, les acides nucléiques, les stéroïdes et les alcaloïdes (**Zhu et al., 1997**). Ils sont souvent polymérisés avec un poids moléculaire allant de 500 à 3000 Da (**Cai et al., 2004**)

Le goût astringent des fruits et légumes est dû en grande partie à la présence des tannins (**Haslam, 1974**) ; la sensation tactile de sécheresse se manifeste par la complexation de ces derniers avec les protéines salivaires et les glycoprotéines produisant un dessèchement de la bouche (**Peronny, 2005**). La capacité à se lier et à précipiter les protéines est à l'origine des effets antinutritionnels des tannins. En effet plusieurs études ont rapportés que les tannins ont des activités inhibitrices sur les α -amylase, la pepsine, la trypsine et quelques lipases (**He et al., 2006**). Cette propriété physique des tannins est à l'origine de leurs importances économiques et écologiques : ils sont utilisés pour transformer la peau fraîche en matériaux imputrescibles : le cuir (**Bruneton, 1999**).

En général, les tannins sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique qui les compose et du type de liaisons (**Cai et al., 2004**). On distingue **les tannins hydrolysables** (groupe principalement responsable des effets toxiques pouvant apparaître lors de la consommation de certaines plantes) et les **tannins condensés** ou **proanthocyanidines** (ils ne traversent pas la barrière intestinale, ils sont donc beaucoup moins toxiques).

➤ Les tannins hydrolysables

Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie phénolique qui peut être un acide gallique, c'est le cas des gallotannins (**Figure 8**) ou un dimère de ce même acide, l'acide ellagique, c'est le cas de tannins ellagiques et une partie non phénolique souvent du glucose ou de l'acide quinique (**Macheix et al., 2006**).

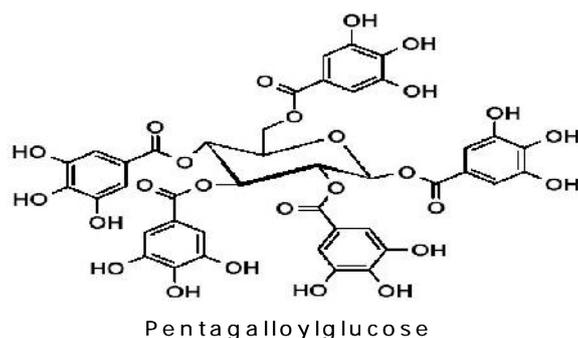


Figure 8: Exemple d'un tannin hydrolysable (pentagalloylglucose) (Cheynier, 2005)

➤ Les tannins condensés (proanthocyanidines)

Ils résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavan-3-ols ou de flavan-3,4-diols (**Figure 9**). Ils résistent à l'hydrolyse et seules les attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Ainsi, par traitement acide à chaud ils se transforment en pigments rouges et, pour cette raison, ils sont dénommés proanthocyanidines (Macheix *et al.*, 2006)

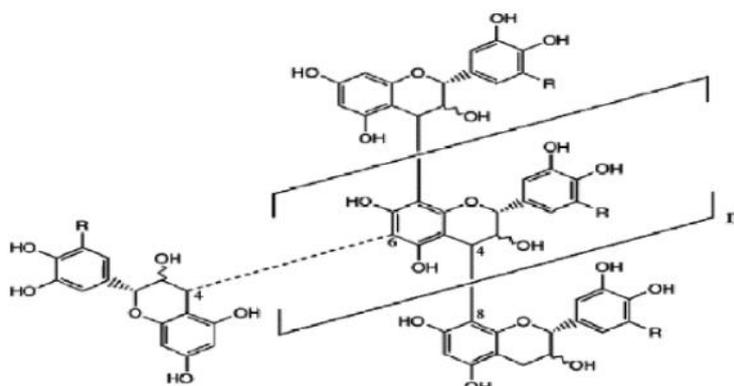


Figure 9: Structure chimique de tannin condensé (Smith *et al.*, 2007).

I.2. 3.3. Rôle et intérêt des polyphénols

a) Dans le végétal

On attribue aux polyphénols plusieurs rôles dans le végétale :

- **Rôle physiologique** : ils sont impliqués dans le contrôle de la croissance cellulaire, la floraison, la pigmentation et la stimulation des nodules de fixation de l'azote (legrand, 1977). Une des propriétés majeure des polyphénols précisément les flavonoïdes est d'exercer un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de la reproduction (Kaiserova *et al.*, 2007).

- **Rôle dans la défense** : ils sont synthétisés en réponse aux agressions et aux conditions de stress biotique et abiotique tels que les infections, les blessures et les radiations UV. En effet la capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et microorganisme est souvent corrélée à la quantité en composés phénoliques qu'elle synthétise (**Bahorun, 1996**).
- **Rôle structurale** : la lignine on relation avec la rigidité des parois cellulaires, permet la conduction de la sève brute et participe au port dressé des végétaux ligneux (**Dietrich et pour-Nikfardjam, 2009**)

b) Chez l'Homme

Actuellement, les études portant sur les polyphénols connaissent un grand essor et un intérêt explosif. Leur bienfaits suggèrent un rôle protecteur à l'encontre de plusieurs pathologies dégénératives incluant les maladies cardiovasculaire ; l'athérosclérose et le cancer (**Scalbert et Mazur , 2000**). Les effets bénéfiques sur la santé de l'Homme sont illustrés dans la figure suivante :

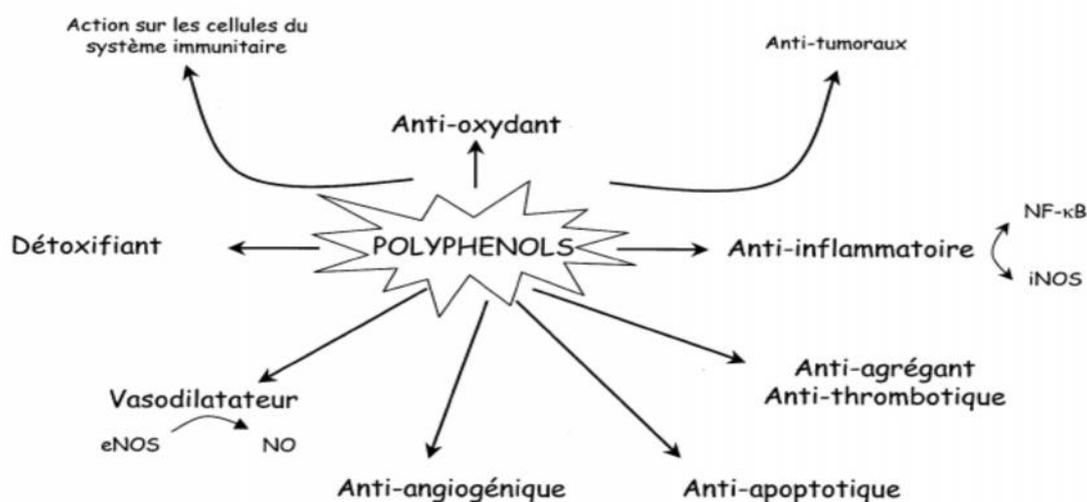


Figure 10: propriétés biologiques attribuées aux composés phénoliques (**Alén-Ruiz et al., 2009**)

II. Les radicaux libres et les antioxydants

I.1. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (molécule ou atome) qui possède un électron ou plus non apparié dit “célibataire” sur son orbitale externe (**Judde, 2004**). Cela lui confère une grande réactivité et une instabilité énergétique et cinétique et donc une demi-vie très courte. En effet ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron d’une autre espèce chimique pour devenir plus stable (**Davasagayam et al., 2004**). L’espèce agressée devient à son tour radicalaire initiant de cette façon un processus de réaction en chaîne qui se caractérise par trois étapes ; initiation, propagation et terminaison provoquant enfin une perturbation de la cellule vivante (**Kocchilin-Ramonatxo, 2006 ; Van Antwerpen et Neve, 2004**). Les différentes voies de formation des ERO sont illustrées dans la figure 11.

II.2. Nature des radicaux libres

Les espèces radicalaires sont produites en permanence par les systèmes biologiques. L’appellation espèces oxygénées réactives (ERO) inclut les radicaux libres de l’oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d’azote, etc...) mais aussi certains dérivés réactifs non radicalaires dont la toxicité est plus importante tels que le peroxyde d’hydrogène et le peroxydinitrite (**Halliwell et Whiteman, 2004**) (Tableau 1).

Tableau 1 : Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques (**Bartosz, 2003**).

Les espèces oxygénées réactives (EOR)	
Espèces radicalaires	Espèces non radicalaires
Anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$)	Peroxyde d’hydrogène (H_2O_2)
Radical hydroxyle (OH^{\bullet})	Acide hypochlorique ($HOCl$)
Monoxyde d’azote (NO^{\bullet})	Oxygène singulet (1O_2)
	Peroxydinitrite ($ONOO^-$)

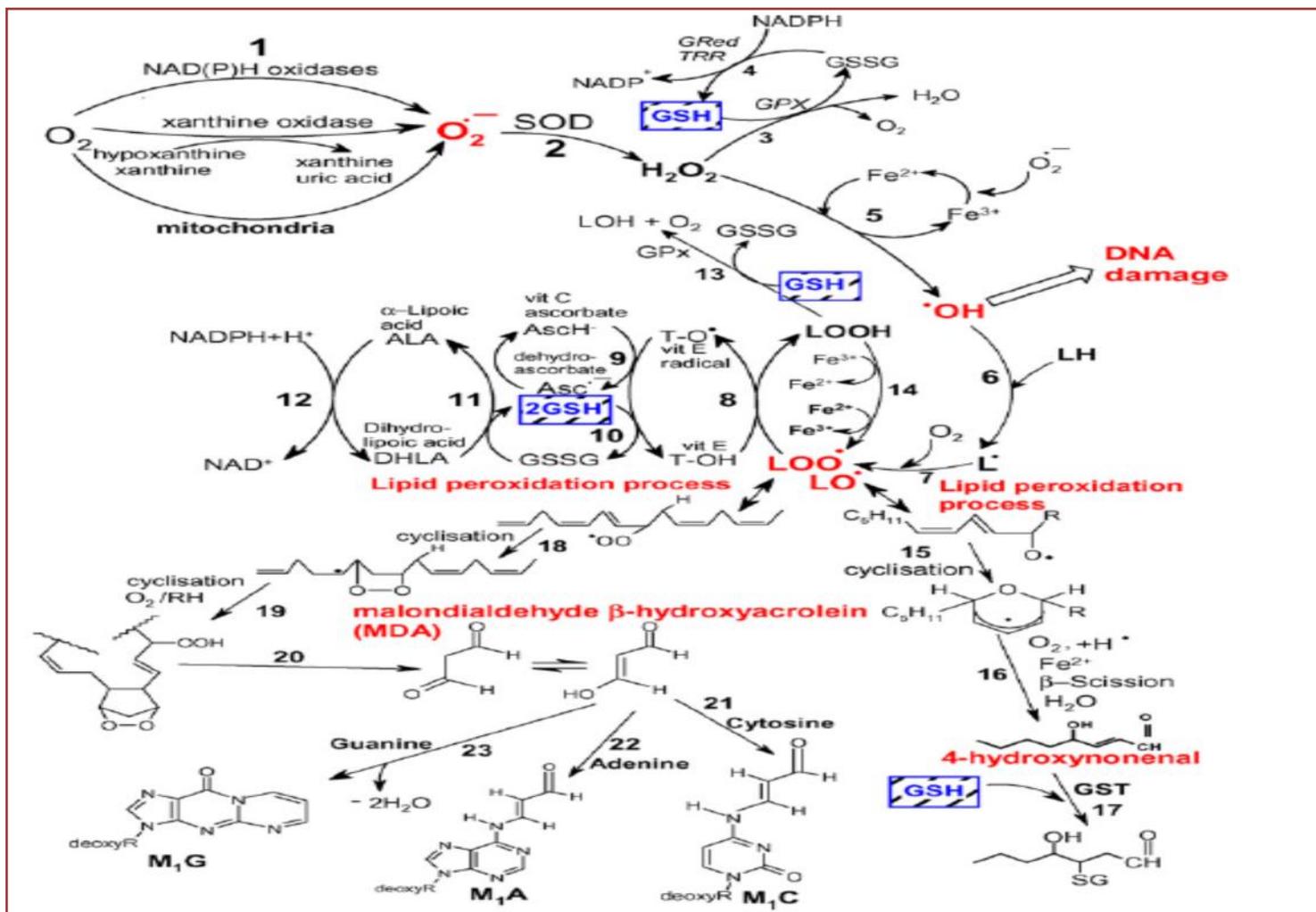


Figure 11 : les différentes voies de formation des ERO (Valko *et al.*, 2007).

I.3. Rôle biologique des radicaux libres

Le rôle des radicaux libres est complexe et mal connu, ce sont des produits normaux du métabolisme des cellules vivantes. Ils sont reconnus d'avoir un double rôle ; un bénéfique quand ils sont présents en quantités modérées et le néfaste quand ils sont abondants (Sarmiento *et al.*, 2015). Les espèces réactives d'oxygène (ERO) sont impliquées dans les défenses naturelles contre les agents pathogènes et leur toxicité, et la régulation de la dilatation des capillaires (Pincemill *et al.*, 2002).

Le NO par exemple a des rôles physiologiques importants. Il joue le rôle d'un neurotransmetteur ; régulateur de la pression artérielle et vasodilatateur. Dans l'endothélium vasculaire, il est produit à partir de la L-arginine par l'enzyme nitrique oxyde synthase (NOS) pour provoquer la relaxation des muscles lisses. Le NO est aussi produit par les macrophages et les granulocytes où il réagit avec l'anion superoxyde pour former le radical hydroxyle.

Les cellules phagocytaires synthétisent aussi l'acide hypochlorique (HOCl) par l'oxydation de l'ion chlorure par l'hydrogène peroxyde et la réaction est catalysé par la myeloperoxydase (Ceconi *et al.*, 2003).

II.4. Effets négatifs associés aux radicaux libres

Les ERO sont impliqués dans plusieurs pathologies les effets négatifs qui leur sont associés varient en fonction de leur concentration (Nishikawa, 2008). Leur présence en excès provoque des dommages cellulaires, soit par oxydation des lipides membranaires et les acides gras essentiels mono ou polyinsaturé ; soit l'oxydation des protéines et des enzymes ou oxydation de l'ADN et l'ARN (Figure 12). Ces effets sont impliqués dans l'apparition de plusieurs pathologies chroniques tel que le cancer, l'athérosclérose et les maladies cardiovasculaires (Hussin *et al.*, 2007 ; Ceconi *et al.*, 2003).

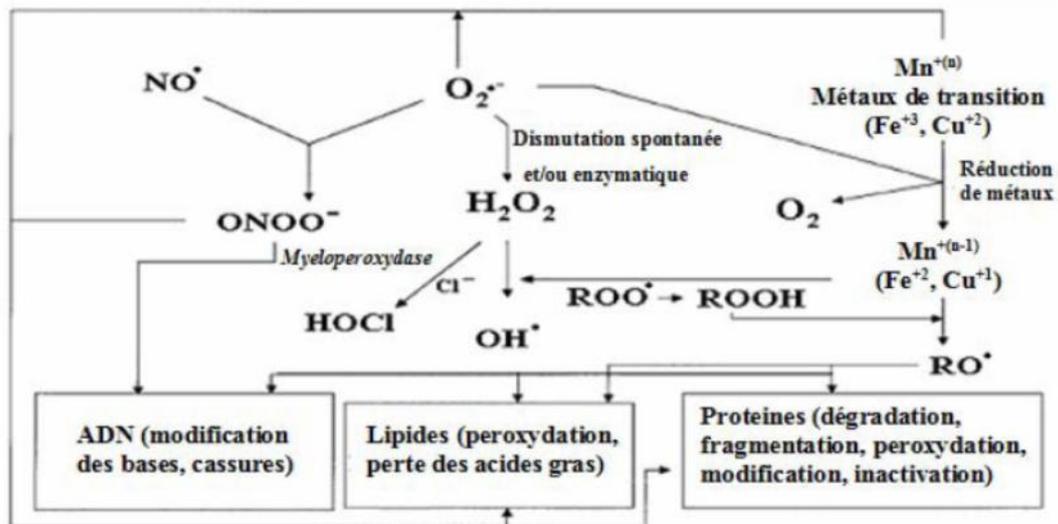


Figure 12 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les ERO (Kohen et Nyska, 2002).

II.5. Le stress oxydant

Dans un système biologique normal, les radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité par les organismes aérobiques comme sous produit de leur métabolisme énergétique normale, ou ils exercent leurs rôles physiologiques (Nishikawa *et al.*, 2008 ; Ceconi *et al.*, 2003). Cette production est parfaitement métrisée par les systèmes de défenses incluant les enzymes tel que le superoxyde dismutase, la catalase, le glutathion peroxydase et les non enzymes tel que le glutathion, l'ascorbate, le tocophérol ou rétinol (Antwerpen et Neve, 2004).

Dans des circonstances normales ont dit que la balance antioxydant/pro oxydants est en équilibre, cet équilibre est très important pour la survie des cellules (**Valko et al., 2007**). Dans certaines situation cet équilibre est rompu que ce soit par surproduction de radicaux libres ou par déficit on antioxydants on parle alors de "stresse oxydant", ce qui a pour conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pou les cellules (**Aravodis, 2005**)

Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme. A long terme, ces facteurs contribuent à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires. Dans un souci de prévention, il conviendra donc de disposer d'outils performants permettant d'évaluer correctement le statut de stress oxydant chez un individu afin d'apporter les corrections nécessaires pour optimaliser nos défenses antioxydantes et diminuer les dommages oxydatifs induits par les EOA au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides (**Haleng et al., 2007**).

II.6. Systèmes de défense contre le stresse oxydatif

L'exposition des cellules aux radicaux libres provenant de plusieurs sources oblige l'organisme à développer une stratégie de défense antioxydante que se soit par les antioxydants enzymatiques incluant le superoxyde dismutase (SOD), le glutathion peroxydase (GPx), le glutathion réductase (GR) et la catalase (CAT) ou les antioxydants non enzymatiques qui sont représentés par la vitamine C, la vitamine E et les tocophérols (, , et), les caroténoïdes et les flavonoïdes (**Morales, 2012**)

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Berger, 2006**). Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (**Figure 13**). La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (**Goudable et Favier, 1997**).

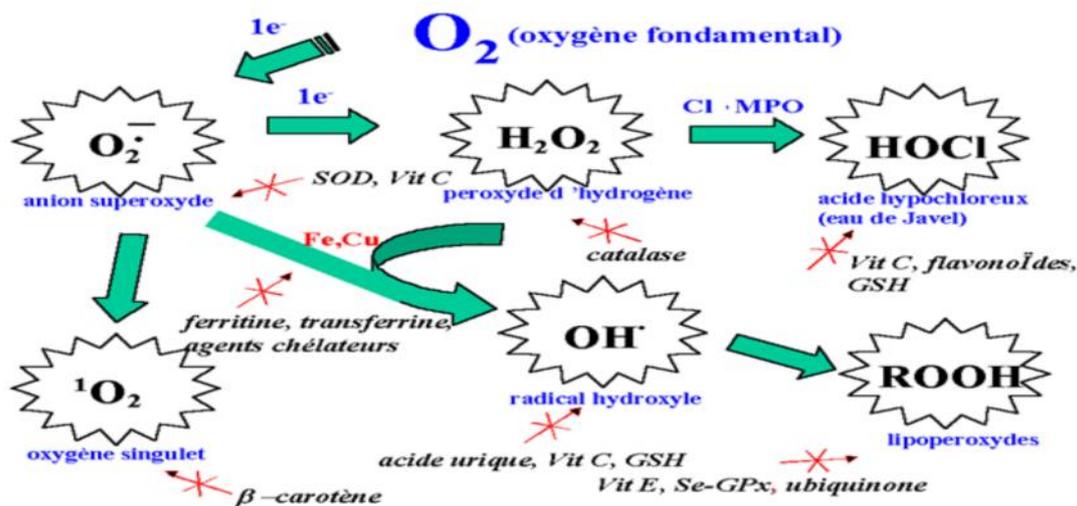


Figure 13 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Pincemail *et al.*, 2002).

II.7. Activité antioxydante des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation (Orzechowski *et al.*, 2002). De nombreux composés dont les flavonoïdes (flavonols, flavanols,...), les isoflavonoïdes (génistéine...), les acides phénoliques, en particulier les dérivés de l'acide caféique, (Derbel et Ghedira 2005 ; Marcheix *et al.*, 2005), les tanins (Zhu *et al.*, 1997 ; Hagerman *et al.*, 1999) présentent une activité antioxydante marquée. L'effet protecteur dépend de leurs concentrations et de leurs structures chimiques. L'activité antioxydante des composés phénoliques augmente avec le degré de polymérisation et diminue avec le degré de méthylation et de glycosylation au niveau des groupements hydroxyles (Marcheix *et al.*, 2005).

Ils peuvent piéger les radicaux libres, inhiber les enzymes responsables de leur formation ou participer à la chélation de certains ions métalliques (El-Haci *et al.*, 2012).

I.7.1. Piégeage des radicaux libres

Les flavonoïdes réagissent avec de nombreux radicaux libres tels que le radical superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), peroxyde (ROO^{\bullet}), alkoxyde (RO^{\bullet}) et hydroxyle (OH^{\bullet}), par transfert d'hydrogène de la fonction alcool (Figure 14).

- L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) est neutralisé par les flavonol par la double liaison du cycle C quand celle-ci est substituée par un groupe hydroxyle (Toumaire *et al.*, 1994).

- la lutéoline qui est un flavone est un piègeur puissant du radical DPPH et un inhibiteur de la xanthine oxydase (Kaiserová *et al.*, 2007). les anthocyanines ont un pouvoir antioxydant très élevé (20 fois plus important que la vitamine E et 50 fois plus élevé que la vitamine C) Cela permet d'économiser les antioxydants exogènes (vitamine E, vitamine C, β -carotène...) et endogènes (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase) (Rodrigo *et al.*, 2011).

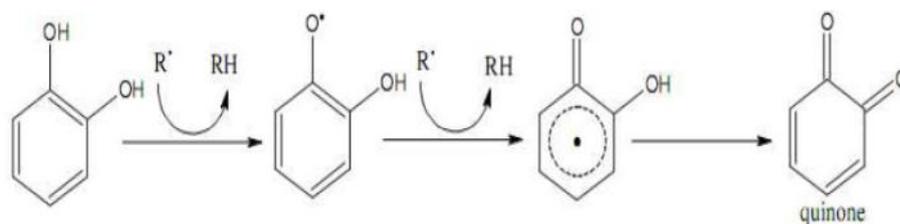


Figure 14 : Piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes (Marfak, 2003)

II.7. 2. Chélation de certains ions métalliques

Le cuivre et le fer libre sont des promoteurs importants qui génèrent des radicaux hydroxyles à partir du peroxyde d'hydrogène par la réaction de Fenton. Les flavonoïdes inhibent la formation des radicaux libres par la chélation de ces métaux de transition (Figure 15) (Milane, 2004).

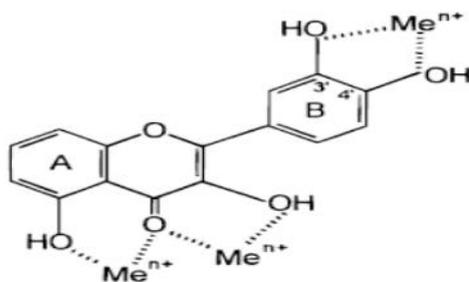


Figure 15: Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes (Pietta, 2000).

II.7. 3. Inhibition d'enzymes

Les polyphénols en particulier les tanins ont une affinité significative pour les protéines et pour les peptides (figure 16). Cette propriété est exploitée dans l'industrie du cuir qu'on appelle le tannage qui est la conséquence de la formation d'une liaison entre les tanins et le collagène de la peau (Ribéaux-Gayon *et al.*, 1982 ; Marcheix *et al.*, 2005).

Ces liaisons affectent l'activité de nombreuses enzymes impliquée dans le stress oxydant. En effet certains flavonoïdes comme l'apigénine, la quercétine et la myricétine inhibent la xanthine oxydase par formation de liaison avec elle, celle-ci est considérée comme source importante du radical superoxyde lors de l'oxydation de l'hypoxanthine en acide urique (Nijveldt *et al.*, 2001).

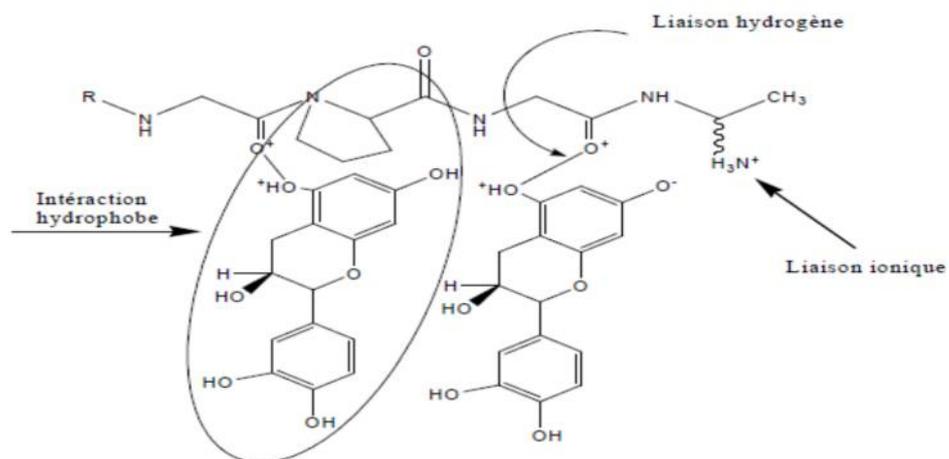


Figure 16 : Les différents types de liaison des polyphénols-protéines (Simon, 2003).

III. Les probiotiques et les prebiotiques

III.1. Les probiotiques

III.1.1. Définition d'un probiotique

Le mot probiotique dérive du langage grecque qui signifie 'pour la vie'. Ce terme a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques (**Lourens-Hattingh et Viljoen, 2001, Vasiljevic et Shah, 2008**).

La notion de probiotiques s'est développée principalement grâce aux travaux de Metchnikoff, chercheur à l'Institut Pasteur et Prix Nobel en 1908 (**Dridger et Prévost, 2009**).

Le terme « probiotique » fut introduit pour la première fois en 1954 par Vergio qui a comparé dans son manuscrit "Anti- und Probiotika" les effets des antibiotiques et les autres substances antimicrobienne sur la flore intestinale (**Holzappel et Schillinger, 2002**). En 1965 Lilly et Stillwell les ont définies comme des facteurs microbiologiques capables de stimuler la croissance d'autres organismes comme ceux composant la flore intestinale. Ensuite, Parker (1974) élargit cette définition à des « organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore ». Cette définition inclut potentiellement des produits métaboliques microbiens y compris les antibiotiques (**Kipnis et al., 2012**).

Plus tard, Roy Fuller en 1989 propose une définition très proche du sens actuel : « supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale » (**Agrawal, 2005**).

Par opposition aux précédentes définitions, la définition suivante introduit la notion de souche définie bien caractérisée d'un point de vue taxonomique ainsi que la notion de quantité apporté à l'Homme. Il s'agit de la définition universelle établie par l'OMS/FAO : « micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère »

III.1.2. Les différents types de probiotiques

Les microorganismes reconnues d'être probiotiques sont généralement des bactéries lactiques appartiennent au genre *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* mais certaines bactéries appartenant à d'autres genres et quelques levures et moisissures présentent également des fonctions probiotiques (**Rivera-Espinoza et Gallardo-Navarro, 2010 ; Kruger, 2009**).

Ces bactéries peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé en contribuant à la protection contre certaines maladies ou à prévenir certaines carences nutritionnelles. C'est pourquoi ils sont très étudiés et recherchés. (Rouhi *et al.*, 2013).

Les types microorganismes reconnus d'être probiotiques sont illustrés dans le **Tableau II**

Tableau II : Micro-organismes reconnues d'être probiotiques (Tripathi et Giri., 2014; Saad *et al.*, 2013).

Lactobacillus	Bifidobacterium	Autres bactéries lactiques	Autres micro-organismes
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus</i> spp,
<i>L. amylovirus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> strain Nissle
<i>L. brevis</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconstoc mesenteroides</i>	<i>freudenreichii</i>
<i>L. cellobius</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Clostridium butyricum</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. curvatus</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>B. thermophilum</i>	<i>Streptococcus diacetylactis</i>	
<i>L. farciminis</i>		<i>Streptococcus intermedius</i>	
<i>L. fermentum</i>		<i>Streptococcus salivarius</i>	
<i>L. gallinarum</i>			
<i>L. gasseri</i>			
<i>L. johnsonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

a) Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des hétérotrophes dont les caractéristiques sont les suivantes: bacilles ou coques Gram positif, généralement immobiles, asporulées, aérotolérantes, chimiotrophes et ne possèdent ni catalase, ni nitrate-réductase et ni cytochrome oxydase (Drider et Prévost, 2009). Elles sont classées selon deux critères leur morphologie et leur voie de fermentation (Rivera-Espinoza et Gallardo-Navarro, 2010).

Elles représentent 1% de la flore fécale d'un adulte (Buddington *et al.*, 2002). Elles forment un groupe de bactéries extrêmement important et intéressant du fait de leurs

nombreuses activités métaboliques qui contribuent aux caractéristiques organoleptiques très appréciées des produits fermentés, notamment la flaveur, la saveur, la texture ainsi que les attributs nutritionnels et technologiques (Nout, 2009).

Elles sont désignées par le statut de GRAS (Generally Recognized As Safe) et largement exploité dans la conservation des aliments pour leur aptitude à produire des substances antimicrobiennes provenant de leur activité fermentaire (Stoyanova *et al.*, 2012). Elles ont la capacité de dégrader une large gamme de sucres comme le lactose et le galactose pour les produits laitiers, mais aussi le saccharose, le maltose, le glucose, le fructose et des α -galactosides pour les produits d'origine végétale (Goulet 2009).

Les genres les plus importants en alimentation humaine sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* et *Bifidobacterium* (Rivera-Espinoza et Gallardo-Navarro, 2010 ; Vasiljevic et Shah., 2008).

➤ Le *Lactobacillus*

Lactobacillus a fort probablement la plus longue histoire en matière de bienfaits santé associés aux microorganismes. C'est d'ailleurs ce genre qui fut à l'origine des premières théories probiotiques énoncées par Metchnikoff (Sharma et Mridula., 2013).

Ce genre comprend au moins 145 espèces reconnues pour -contrairement aux bifidobactéries - présenter une diversité phylogénétique, phénotypique et écologique extrêmement variés. *Lactobacillus rhamnosus* GG est la souche probiotique la plus étudiée, environ 200 références (AFSA, 2005).

Lactobacillus acidophilus est le genre le plus dominant du tractus intestinal de l'Homme sain. Il résiste aux enzymes digestifs et aux sels biliaires et tolère l'acidité jusqu'à un pH de 3,6 (soit 0.3% à 1.9% d'acidité titrable) ; c'est pour quoi il est considéré comme probiotique. Sa température optimale de croissance est comprise entre 35 et 40°C (Rivera-Espinoza et Gallardo-Navarro, 2010).

➤ Le *Bifidobacterium*

Le *Bifidobacterium* est un composant normal du tractus gastro-intestinal de l'Homme et des animaux . C'est un gram positif non sporulé à une morphologie particulière, en forme de Y, immobile, catalase négatif et anaérobie (Chitapanarux *et al.*, 2015 ; Martinez *et al.*, 2013). Son pH optimum est compris entre 6 et 7 et sa croissance est faible au pH inférieur à

4,4. Sa température optimum de croissance est comprise entre 37 et 42 (**Rivera-Espinoza et Gallardo-Navarro, 2010**)

Cette bactérie serait notamment prédominante chez les enfants nourris au lait maternel (**Agrawal., 2005**). Lors d'un épisode infectieux tel que la diarrhée, le nombre de ces bactéries diminue dans les selles (**Colarelli., 2010**)

L'espèce *Bifidobacterium animalis* initialement nommée *Bifidobacterium bifidum* avant d'être reclassée, est l'une des souches probiotiques ayant reçu le plus d'attention; elle est bien caractérisée et a récemment été séquencé, ce qui en facilite l'étude (**Leivers et al., 2011**).

III.1.3. Forme de commercialisation des probiotiques

Les probiotiques sont consommés sous deux principales formes : les suppléments en capsules et les aliments (**Champagne et Gardner, 2005**).

L'encapsulation (ou microencapsulation) qui est une nouvelle technologie, permet d'augmenter la survie des probiotiques en leur offrant un maximum de protection contre les agents physico-chimiques et les macrophages (**Martine et al., 2008**). Cependant, les bénéfices apportés par les probiotiques sous cette forme n'égalent pas ceux d'un aliment probiotique. En effet, le peu de temps passé dans l'intestin pourrait s'avérer insuffisant pour l'activation métabolique des souches lyophilisées (encapsulés) (**Ejtahed et al., 2011**).

En outre, les aliments constituent la forme la plus appréciée et la plus répandue pour la consommation de probiotiques. Pour ces aliments, dont la quantité et la variété explosent sur les marchés, le défi réside principalement dans le maintien de la survie des microorganismes (**Saran et al., 2012**). En effet pour qu'un aliment confère des effets thérapeutiques, il doit contenir plus de 10^6 UFC/ml de probiotiques et doivent être vivantes jusqu'à sa date limite de consommation (**Colombo et al., 2014**).

III.1.5. Critères de Sélection d'un probiotique

Le choix d'un microorganisme comme probiotique est délicat puisque celui-ci devra démontrer certaines caractéristiques pour être considéré comme tel. Les critères les plus abordés en littérature sont résumés dans le tableau suivant :

Innocuité et sécurité	<ul style="list-style-type: none"> • souche non pathogène et identifié par des méthodes appropriées caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques. • pas de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques.
Critères technologiques	<ul style="list-style-type: none"> • Stabilité au cours des procédés de production par résistance aux conditions de fabrication du produit (Température, pression, oxygène). • Survie dans l'aliment jusqu'au délai de sa consommation. • Posséder des caractéristiques organoleptiques intéressantes et ne devra pas altérer le produit.
Critères fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> • Tolérance à l'acidité gastrique (pH aussi bas que 1,5 à jeun). • Résistance à la bile et aux enzymes digestives. • Capacité d'adhésion aux cellules épithéliales et au mucus • Affronter le microbiote autochtone par production de substances antimicrobiennes et antagonisme vis-à-vis des pathogènes (bactériocines ; H₂O₂).
Critères physiologiques désirables	<ul style="list-style-type: none"> • Production de vitamines et acides gras essentiels • Effet positif sur le système immunitaire et réduction des réponses inflammatoires digestives • Réduction des diarrhées et constipation et métabolisme du cholestérol. • Diminution du risque du cancer du colon • Atténuation des symptômes dus à l'intolérance au lactose.

Tableau III : Les principaux critères de sélection des probiotiques (Tripathi et Giri., 2014 ; Gaggia *et al.*, 2010 ; Vasiljevic et Shah, 2008).

III.1. 6. Survie des probiotiques dans le tube digestif

La quantité de probiotiques vivants dans l'intestin dépend de la souche, de la dose ingérée, des facteurs liés à l'hôte et de l'aliment vecteur. De nombreuses souches de bifidobactéries et de lactobacilles survivent bien pendant le transit intestinal pour arriver en grande quantité dans les selles. L'acidité gastrique et les sécrétions bilio-pancréatiques

constituent les principaux mécanismes endogènes d'inactivation des bactéries ingérées (AFSA, 2005).

La protection contre l'acidité gastrique peut se faire par un passage rapide dans l'estomac ou en protégeant les bactéries par le pouvoir tampon de l'aliment vecteur ou par des systèmes galéniques de protection tels que la micro-encapsulation (Dridier et Prévost, 2009).

La dose ingérée de probiotiques est un facteur important pour obtenir les effets désirés. On recommande que le produit doive contenir au moins 10^7 UFC/ml de probiotiques vivants au moment de sa consommation (Lamsal et Faubion, 2009). A titre d'exemple, cette quantité devait être consommée pour que *Lactobacillus rhamnosus* GG soit détecté dans les fèces. Il est aussi souvent cité que les concentrations de probiotiques doivent être supérieures ou égales à 10^6 UFC/mL dans l'intestin grêle (iléon) et à 10^8 UFC/g dans le côlon (AFSA, 2005).

III.1.7. Mécanismes d'action des probiotiques

Les effets les plus documentés sont sur le tube digestif ; le système immunitaire et sur le métabolisme de l'hôte (Piquet *et al.*, 2007).

III.1.7.1. Effet sur le tube digestif

Les bienfaits des probiotiques pour la santé digestive peuvent comprendre :

- La réduction de l'incidence de la sévérité des diarrhées (diarrhées infantiles, diarrhées associées aux antibiotiques, diarrhées des voyageurs), pathologie la plus universellement reconnue bénéficier de l'usage des probiotiques (Ducrotté, 2010 ; Agrawal., 2005).
- Le traitement de la constipation, des ballonnements et du Syndrome de l'intestin irritable en participant à ramollir les selles et à faciliter leur passage à travers le côlon. Les probiotiques peuvent favoriser la régularité et le contrôle du temps de transit intestinal, et peuvent aider à augmenter la fréquence des selles (Waikar, 2013 ; Ducrotté, 2007).
- La prévention et le traitement de la pouchite qui est une inflammation du réservoir iléal chez les patients ayant subi une ablation du côlon (Dridier et Prévost, 2009).
- Réduction du risque du cancer du colon dans le modèle animal, probablement parce qu'ils réduisent l'activité de certaines enzymes bactériennes qui pourraient augmenter les niveaux de procarcinogènes (Goulet, 2009).
- On parle de réel « effet barrière » : le probiotique empêche la fixation de l'agent pathogène, par sa fixation au niveau des récepteurs ou de molécules d'adhésion, par conséquent il

renforce la sécrétion de mucus des cellules intestinales afin de fortifier la barrière naturelle de la paroi vis-à-vis des agressions (**Dridier et Prévost, 2009**).

Les mécanismes impliqués dans la modulation de l'effet barrière sont illustré dans la figure suivante :

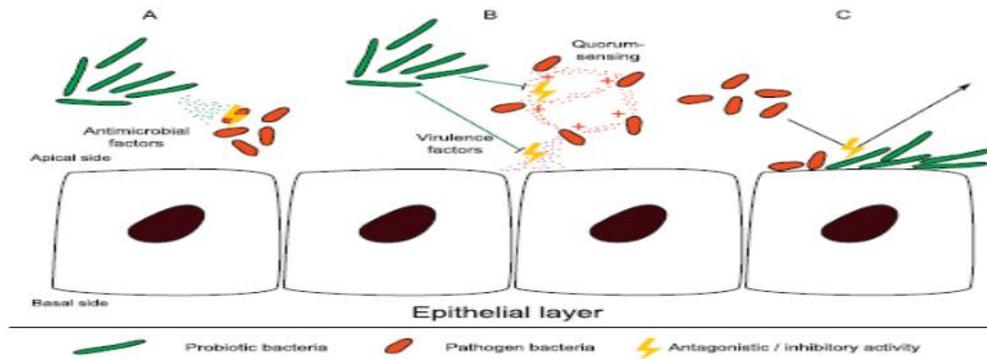


Figure 17 : Modulation de l'effet barrière par les probiotiques (**Alexandre et al., 2014**)

A. Production de molécules antibactériennes. B. Inhibition du quorum-sensing et des facteurs de virulence. C. Compétition à l'adhésion cellulaire.

III.1.7.2. Effet sur le métabolisme de l'hôte

Les effets métaboliques les plus remarquables sont :

- Favoriser la solubilisation des différents constituants de l'aliment qui les contient, améliorant ainsi leur biodisponibilité. A cet égard, les yoghourts présentent des taux de Ca, Mg et K supérieurs d'environ 30% à ceux des laits d'origine (**Ngounou et al., 2003**). L'amélioration de l'absorption de ces minéraux est favorisée par la production accrue d'acides dans le colon. Cet effet peut influencer de manière positive sur le risque d'ostéoporose et augmenter la résistance des os (**Kruger, 2009 ; Delzenne et Cani, 2008**)
- Réduction des effets de l'intolérance au lactose car la digestibilité du lactose du yaourt peut aller jusqu'à 90%. La lactase du yaourt serait protégée de l'acidité gastrique et libérée dans le duodénum sous l'action des acides biliaires (**Sharma et Mridula, 2013**).
- L'amélioration de la digestibilité de l'amidon, grâce à l'activité amylolytique de certaines bactéries lactiques amylolytiques (BLA) (**Ouattara et al., 2008**)
- Apporter des vitamines du groupe B, notamment en riboflavine, niacine et thiamine (**Holzappel et Schillinger, 2002**).

•Métabolisme du cholestérol et par conséquent réduction du taux ce dernier dans le sang **(Rivera-Espinoza et Gallardo-Navarro, 2010)**.

•La réduction des facteurs antinutritionnels tels que :

- ☞ les -galactosides (stachyose et raffinose responsables du phénomène de flatulences),
- ☞ les phytates
- ☞ les composés phénoliques qui diminuent la biodisponibilité des minéraux (fer, zinc et calcium) en particulier les tanins
- ☞ les inhibiteurs de protéases (facteur inhibiteur de la trypsine), **(Lestienne et al., 2005)**.

•La réduction de composés toxiques comme les amines biogènes et les composés cyanogéniques (linamarine) **(Corsetti et Settanni, 2007)**.

III.1.7. 3. Effets sur le système immunitaire

Leurs effets positifs sont attribués au fait qu'ils modulent la composition de la microflore naturelle de l'intestin. Ces effets immunomodulateurs sont variés :

- ☞ activation des macrophages locaux et augmentation de la présentation des antigènes aux lymphocytes B **(Moreau, 2001)**,
- ☞ production accrue d'immunoglobulines A sécrétoires et diminution de réponse immune aux antigènes alimentaires **(Kipnis et al., 2012)** .
- ☞ production de Cytokines anti-inflammatoires (IL-10, TGF-B) **(Ribeiro et al., 2011)**
- ☞ Réduction de la perméabilité intestinale **(Goulet, 2009)**

La capacité d'inhibition des souches pathogènes sont l'un des critères fréquemment utilisés pour sélectionner des souches probiotiques. La méthode la plus utilisée est la co-incubation sur un milieu gélosé ou liquide permettant la croissance du probiotique et de l'agent pathogène appartenant le plus souvent aux genres *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Escherischia coli*, *Listeria*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Staphylococcus* et *Yersinia* **(Dunne et al., 2001)**. Les probiotiques peuvent inhiber le développement de ces bactéries pathogènes en produisant des facteurs antibactériens comme le H₂O₂ et le NO, en les agglutinant ou par compétition envers les nutriments **(Rivera-Espinoza et Gallardo-Navarro, 2010)**.

Plusieurs bactéries lactiques peuvent aussi détoxifier efficacement les mycotoxines contenues dans des aliments d'origine végétale, généralement synthétisées par les moisissures

comme *Aspergillus*, *Byssochamys* ou *Penicillium*. Les mycotoxines sont reconnues comme mutagènes, carcinogènes, et immunosuppresseurs. La patuline (PAT) et l'ochratoxine (OTA) sont dégradées par quelques bactéries lactiques (Speijers, 2003).

III.1.8 Quelques effets positifs prouvés par quelques souches à potentiel probiotique

Les effets bénéfiques attribués au probiotiques sont nombreux. La plus part ont été établies suite à des études cliniques ou à des testes in vitro. Quelques effets prouvés sont illustré dans le **tableau V**

Tableau IV : effets positifs prouvés par quelques souches à potentiel probiotiques (Saad *et al.*, 2013)

Souche	Effet observé
<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v	<ul style="list-style-type: none"> • Réduction du syndrome de l'intestin irritable • Réduction du LDL-cholestérol • Réduction de la diarrhée induite par <i>Clostridium difficile</i>
<i>L. rhamnosus</i> GG	<ul style="list-style-type: none"> • Traitement de l'infection dus au rotavirus et la diarrhée associé au antibiotiques • Modulation du système immunitaire • Prévention de la pochite poste-chirurgicale • Traitement des allergies
<i>L. acidophilus</i> La5	<ul style="list-style-type: none"> • Traitement de l'infection dus au rotavirus et la diarrhée associé au antibiotiques
<i>L. acidophilus</i> M92	<ul style="list-style-type: none"> • Réduction du taux de cholestérol sanguin • Activation du système immunitaire chez les patients atteints du syndrome de l'intestin irritable • Réduction du LDL-cholestérol
<i>L. salivarius</i> UCC118	<ul style="list-style-type: none"> • Réduit l'inflammation du colon • Modulation de la microflore intestinale
<i>L. reuteri</i> DSM 12246	<ul style="list-style-type: none"> • Réduction de la diarrhée dus au rotavirus
<i>Bifidobacterium breve</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Stimulation du système immunitaire • Traitement du syndrome de l'intestin irritable

<i>B. longum</i> BB536	<ul style="list-style-type: none"> • Traitement de l'allergie • Traitement de l'infection du au rotavirus
<i>B. lactis</i> Bb12	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition d' <i>Helicobacter pylori</i> • Traitement de l'infection du au rotavirus
<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917	<ul style="list-style-type: none"> • Modulation du système immunitaire • Exclusion de l'agent pathogène <i>E. coli</i> • Réduction de l'ulcère colique
<i>B. animalis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Augmente la sécrétion des IgA
<i>Saccharomyces boulardii</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Réduction de la diarrhée induite par <i>Clostridium difficile</i> • Réduction de la diarrhée du aux antibiotiques

III.2. Les prébiotiques

III.2.1. Définition

Le concept prébiotique est lié au développement des aliments fonctionnels depuis les années 1990 (**Dupont, 2000**). C'est à **Gibson et Roberfroid (1995)** que revient la première définition de cette nouvelle catégorie d'aliments dont la caractéristique est d'être « des substances non digestibles qui induisent un effet physiologique bénéfique sur l'hôte en stimulant de façon spécifique la croissance et/ou l'activité d'un nombre limité de populations bactériennes déjà établies dans le côlon comme les bifidobactéries et les lactobacilles »

Ainsi, le principe des prébiotiques repose sur la stimulation sélective de ces micro-organismes coliques capables de dégrader ces prébiotiques en monomères d'hydrates de carbone qu'ils utilisent pour leur croissance (**Kruger, 2009**).

Pour qu'un ingrédient alimentaire soit classé comme prébiotique, il doit à la fois :

1. Résister à l'acidité gastrique et à l'hydrolyse enzymatique et ne pas être absorbé dans la partie haute du tube digestif ;
2. être un substrat sélectif de fermentation d'une ou plusieurs bactéries bénéfiques, commensales du côlon ;
3. stimuler sélectivement la croissance et / ou l'activité des micro-organismes intestinaux qui procurent des effets bénéfiques sur la santé, en conséquence, induire une composition plus saine de la flore colique (**Gibson et al., 2004**) ;

4. Etre stables pendant le processus de traitement de l'aliment qui le contient (**Wang et al., 2009**).

Un probiotique peut être associé à un substrat, qui lui est spécifique, appartenant à la classe des prébiotiques. Le mélange ainsi constitué est alors appelé **symbiotique** : un fructo-oligosaccharide peut être associé de cette manière à une souche de bifidobactéries ou bien du lactitol à un lactobacille (**Rodrigues et al., 2011; Gibson et Roberfroid, 1995**).

III.2. 2. Nature des prébiotiques

Les prébiotiques sont des hydrates de carbone et spécifiquement des oligosaccharides ou des polysaccharides incluant quelques fibres alimentaires (**Lamsal et Faubion, 2009 ; Gibson et al., 2004**). On distingue les fructooligosaccharides, les galacto-oligosaccharides, les arabinogalactooligosaccharides, les gluco-oligosaccharides et l'inuline (**Boual et al., 2011**).

De nombreux autres glucides peuvent intégrer le groupe des prébiotiques tel que les xylo-oligosaccharides, les isomalto-oligosaccharides, les manno-oligosaccharides, les oligosaccharides du soja, les oligosaccharides pectiques, les sucres alcools, le lactulose, voir même le lactose chez les déficitaires en lactase (**Wang et al., 2009 ; Zeanandin et al., 2011**). Quelques exemples de prébiotiques commercialisés sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau V : Exemples de composés prébiotiques commercialisés (**Grizard et Barthomeuf, 1999 ; Franck, 2002**).

Prébiotiques	Nom	Structure
Oligofructoses	Raftilose [®]	Fru-Fru _n + Glc-Fru _n
Fructo-oligosaccharides	Actilight [®]	Glc-Fru _n
Galactooligosaccharides	Oligomate [®]	Glc-Gal _n
Lactulose	MLS-50 [®]	Gal-Fru
oligosaccharides de soja	Soya-Oligo	Gal _n -Glc-Fru
Isomaltooligosaccharides	IMO 900	Glc _n
Glucooligosaccharides	Bioecolia [®]	Glc _n
Mannooligosaccharides	Bio-MOS [®]	Man _n
Xylooligosaccharides	Xylo-oligo	Xyl _n

Les recherches menés sur les prébiotiques sont focalisées principalement sur l'inuline, les fructo-oligosaccharides (FOS) et les galacto-oligosaccharides / transgalacto-oligosaccharides (GOS/TOS) (Macfarlane *et al.*, 2008).

➤ Les Galacto-oligosaccharides (GOS)

Ils sont produits par trans-glycosylation du lactose par les β -galactosidase prévenant des levures, moisissures et bactéries (Figure 18). Il résulte un complexe d'oligosaccharides avec différentes degré de polymérisation (DP). Le DP varie entre 2 et 8 et les liaisons possibles sont de type (1-1), (1-2), (1-3), (1-4) et (1-6) (Figure 18). Du a cette variation de liaison, plusieurs types d'isomères peuvent se présenter. Cette liaison est hydrolysée dans le colon par les bifidobactéries et les lactobacilles.

La diversité dans les types de liaison et dans le degré de polymérisation fait en compte que les bactéries ont des préférences pour quelques molécules pour leur fermentation. En effet il a été prouvé que la souche *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* ATCC 15697 préfère le GOS avec un DP=4 par contre la souche *Bifidobacterium adolescentis* ATCC 15703 utilise de préférence le GOS avec un DP=3 (Ladirat *et al.*, 2014)

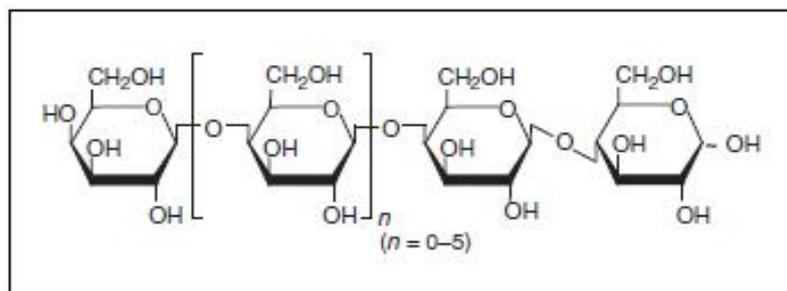


Figure 18 : Structure de galacto-oligosaccharides (GOS) de type- 1,4 (Sako *et al.*, 2011).

➤ L'inuline

C'est un polymère de fructose qui se trouve à l'état naturel. Il n'est pas hydrolysé par les enzymes digestives de l'homme mais par la β -fructosidase des bifidobactéries (Aryana et McGrew, 2007). Les radicaux fructosyl sont unis entre eux avec des liaisons (1-2) (Figure 19).

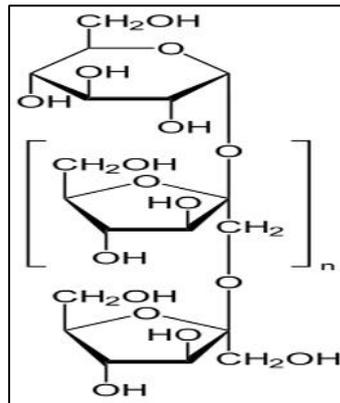


Figure 19: Structure de l'inuline (Sako *et al.*, 2011).

➤ les fructo-oligosaccharides (FOS)

Les FOS Actilight et FOS Raftilose appartiennent à la famille des fructanes. Ce sont des polymères de fructose de longueur variable qui peuvent être dérivés de simples polymères de fructose ou d'éléments de fructose attachés à une molécule de saccharose par liaison $\alpha(2 \rightarrow 1)$. Ils existent à l'état naturel dans un certain nombre de plantes dont l'oignon, la chicorée, l'artichaut, l'ail, le topinambour et l'endive (Grizard et Bartheuf., 1999).

III.2. 3. Effets bénéfiques des prébiotiques

Des données expérimentales montrent que l'administration de prébiotiques de type fructanes, arabinoxylanes, glucanes, caractérisés par leur fermentation bactérienne *in vivo*, permet de diminuer l'adiposité, la stéatose, la glycémie, et l'endotoxémie chez plusieurs sujets. L'administration de prébiotiques révèle une augmentation pratiquement systématique du nombre de bifidobactéries, qui apparaissent comme la « signature bactérienne » de leur effet sur le microbiote (Delzenne *et al.*, 2012). Les résultats de quelques études montrent les effets bénéfiques des prébiotique sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau VI : Quelques effets positifs prouvés par les prebiotiques

Prébiotique	Résultats	Références
FOS (Raftilose)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Augmentation de la masse fécale totale, ➤ Amélioration de l'absorption des minéraux tels que le ca, Mg, Fe et Zn ➤ Augmentation de l'absorption de l'énergie totale et réduction de l'excrétion de l'azote par l'organisme 	(Delzenne et al., 1995)
fructooligosaccharide à courtes chaîne (SC-FOS)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Augmentation du nombre de bifidobactéries ➤ Réduction du pH colique 	(Bouhnik et al. 1998)
glucosyloligosaccharide (GOS -1,6)/transoligosaccharides (TOS)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Augmentation du nombre de bifidobactéries dans le colon et les selles 	(Qing et al. en 2003 ; Dupon 2002)
FOS (Actilight)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Réduction de l'agent pathogène <i>Candida albicans</i> dans l'intestin ➤ Réduction des activités fécales de deux enzymes impliquées dans la cancérogenèse (-glucuronidase et de l'acide glycocholique hydroxylase) de 75 et 90 %, respectivement 	(Buddington et al., 2002)
Arabino-xylooligosaccharide (AXOS, Opti'Flor®).	<p>améliorer les paramètres métaboliques ; la dyslipidémie et les anomalies métaboliques dans un modèle expérimental de souris qui souffrant d'une IRC (insuffisance rénale chronique) ;</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Réduction du taux d'urée plasmatique ➤ Diminution du taux du cholestérol total plasmatique et de triglycérides ➤ Réduction du tau de glycémie 	(Koppe et al., 2011)

IV. Données générales sur le caroubier

IV.1. Description botanique

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est une légumineuse pérenne, à feuillage abondant et persistant et pouvant croître en tant qu'arbrisseau ou arbre (El Hajaji *et al.*, 2010). Il peut atteindre dans des conditions propices une hauteur de 6 à 12 mètres et parfois dépasse les 20 mètres (Ben hsouna *et al.*, 2011a). Sa longévité est considérable (jusqu'à 200 ans), il donne des fruits 5 ou 6 ans après son implantation (Kolyva *et al.*, 2012 ; El Hajaji *et al.*, 2011).

Les feuilles sont alternées et mesurent 3 à 7 cm de long (Figure 20) ; contiennent 4 à 6 paires de folioles. Ces feuilles sont luisantes sur la face dorsale, plus claire et mate sur la face ventrale (Bruneton, 1999).

Le fruit se développe très lentement nécessitant 9 à 10 mois pour atteindre la maturité (Batlle et Tous, 1997). Il est sous forme de gousse. Chaque gousse peut contenir entre 8 à 16 haricots (Lizardo, 2002). Elles sont réunies en grappes simples et sont de grande taille avec une longueur variable de 10 à 18 cm, l'épaisseur étant de 0,3 à 0,9 cm. Le poids du fruit entier varie entre 5 et 20 g, alors que le poids de sa pulpe seul varie entre 4 à 16 g. Le nombre de graines contenue dans chaque fruit varie entre 7 et 13 avec un poids compris entre 1 et 3g chacune (Konaté *et al.*, 2007).

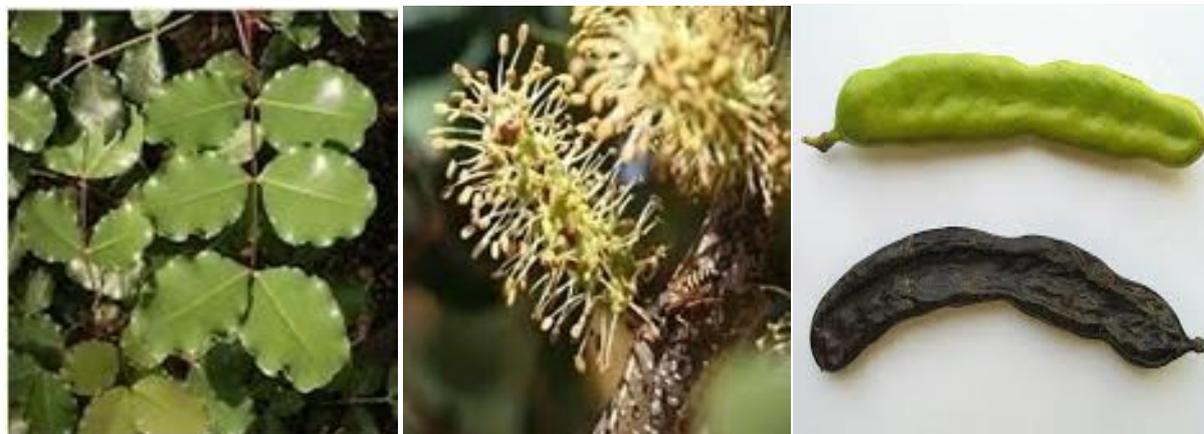


Figure 20 : Photographie des feuilles, fleur et fruit du caroubier

IV.2. Dénomination et classification botanique

Ceratonia siliqua L. dérive du grec Keras, qui désigne corne et du latin siliqua, désignant une siliqua ou gousse, et faisant allusion à la dureté et à la forme du fruit (Karababaa *et*

Coskuner, 2013 ; Battle et Tous, 1997). Il est connu aussi sous le nom de pain de St. Jean-Baptiste (**Debuigne et Couplan, 2009**).

Selon **Tuker (1992)**, la classification botanique de *Ceratonia siliqua* L. est donnée comme suit :

Règne : végétal

Embranchement : Spermaphytes

S /embranchement : Angiospermes

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Rosales

Famille : Fabacées

S/ famille : Césalpiniciacées

Genre : *Ceratonia*

Nom binominal : *Ceratonia siliqua*

IV. 3. Origine et répartition du caroubier

Le caroubier est une espèce typique du bassin méditerranéen qui pousse en basse altitude (0-300m et parfois 500m) (**Cavdarova et Makris, 2014**) et ayant d'énormes intérêts socio-économiques et écologiques grâce à son aptitude à développer différentes stratégies d'adaptation aux sols pauvres ou marginaux, à la sécheresse, au calcaire et à la salinité (**Sidina et al., 2009**). Son origine semble être la péninsule arabique (**Barracosa et al., 2007 ; Talhouk et al., 2005**). Ce sont les Arabes qui l'ont introduit en Afrique du nord et dans la péninsule ibérique (Espagne et Portugal). On le rencontre à l'état naturel principalement en Espagne, Portugal, Maroc, Grèce, Italie, Turquie, Algérie, Tunisie, Égypte, et Chypre. (**Figure 21**). Il a été introduit aussi en Australie, en Afrique du Sud, aux États-Unis et en Amérique du Sud (**Kolyva et al., 2012 ; El Hajaji et al., 2010**)

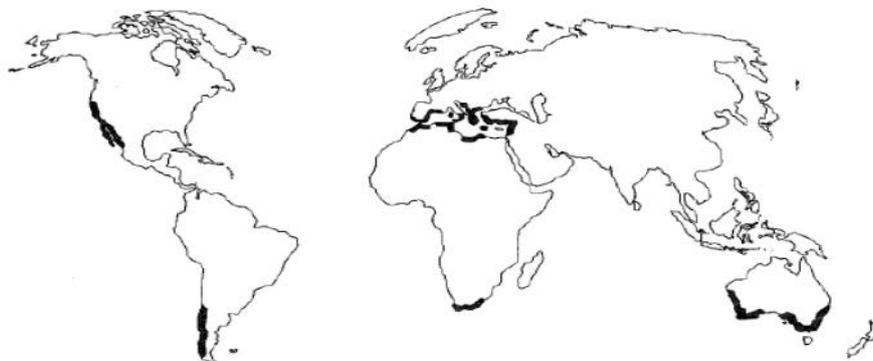


Figure 21 : Répartition du caroubier dans le monde (**Battle et Tous, 1997**)

IV. 4. Production mondiale

La Production mondiale de la caroube est estimée à environ 400 000 tonnes par année (Ayaz *et al.*, 2009). Cette quantité est produite dans une surface de 200 000 hectares (Makris et Kefalas, 2004).

Les principaux producteurs sont l'Espagne, avec 135 000 tonnes par an soit 28 à 36% de la production mondiale, le Maroc (24%, 38%), l'Italie, le Portugal, la Grèce, la Turquie et l'Algérie (El Batal *et al.*, 2013).

IV. 5. Composition chimique et principes actifs

Les deux constituants principaux de la gousse de caroube sont la pulpe, composée de l'épicarpe et du mésocarpe (90%) et la graine (10%) (Bernardo-Gil *et al.*, 2011).

➤ La pulpe

La composition chimique de la pulpe dépend en général, du cultivar, de l'origine et parfois de la période de récolte. En effet une gousse verte immature contient jusqu'à 75% d'eau et environ 20 % de sucres, après sa maturité la teneur en eau est réduite à moins de 20% et celle des sucres est augmentée au-delà de 50% (Macleod et Forcen, 1992).

La pulpe est très riche en sucres solubles (48 à 57% du poids sec) notamment en saccharose, fructose et glucose (Bernardo-Gil *et al.*, 2011). Cette pulpe est en parallèle pauvre en lipides ainsi qu'en protéines (Roseiro *et al.*, 2013 ; Lizardo, 2002).

Elle constitue une ressource importante en minéraux, en particulier le calcium, le fer et le potassium (El Hajaji *et al.*, 2013). Cette pulpe présente aussi une teneur élevée en fibres qui varie de 27 à 40 % du poids sec (Lizardo, 2002). Ces fibres sont représentées par la lignine, la cellulose et l'hémicellulose (El Batal *et al.*, 2013).

(Bernardo-Gil *et al.*, 2011), ont établie la composition moyenne de 100g de poudre de caroube qui est illustrée dans le tableau suivant :

Tableau VIII: Composition moyenne de la pulpe de caroube (Bernardo-Gil *et al.*, 2011)

Composé	Teneur en g/100 g de matière sèche
Saccharose	42,68
Glucose	8,54
Fructose	5,97
Pinitol	5,22
Lignine	18,86
Cellulose	7,64
Hémicelluloses	0,26
Protéines	4,70
Lipides	0,61
Minéraux	3,11
Autres composés	2,41

➤ Les composés phénoliques

Les composés phénoliques de la pulpe de caroube sont variables. On retrouve des acides phénoliques (acide gallique ; acide cinnamique, acide *p*-coumarique, acide ferulique, acide syringique et méthyle gallate), des flavones (apigénine), des flavanones, des flavonols glycosilés, des isoflavones, des flavonones et des gallotannins (Owen *et al.* , 2003).

IV. 6. Domaines d'utilisation

Le caroubier est cultivé depuis très longtemps en méditerranée pour l'alimentation humaine et animale ; il connaît actuellement un regain d'intérêt très large (El Hajaji *et al.*, 2013). La présence de grande quantité de sucres, fibres et polyphénols dans le fruit du caroubier sont à l'origine de cet intérêt (Barracosa *et al.*, 2007)

IV. 6.1. En alimentation humaine

La poudre de caroube est utilisée comme un substitut au cacao dans plusieurs produits alimentaires comme les boissons, le chocolat et les biscuits (**Carrieri et al., 2013**). Contrairement au cacao, la pulpe de caroube ne contient ni théobromine, ni caféine, deux alcaloïdes à l'action excitante sur l'organisme (**Macleod et Forcen, 1992**).

Les gousses de caroube sont utilisées pour extraire la mélasse ou débés. Un traitement mécanique (broyage) puis plusieurs séries de décantation permettent d'obtenir un jus sucré. Ce jus subit une ébullition pour obtenir la mélasse de caroube. Le tourteau de caroube broyé ou hache, un sous-produit de l'industrie du débés, fut testé comme substitut de la tourbe pour les plantes en pépinière (**Rishani et Rice, 1988**).

La graine, qui initialement fut un résidu difficile à éliminer, renferme une gomme qui est un galactomanane exploité pour produire un additif alimentaire, connu sous le code normalisé **E 410 (Barak et Mudgil, 2014)**. Cette gomme à propriété épaississante, émulsifiante et stabilisante est utilisé pour produire les crèmes glacées (car il prévient la cristallisation du sucre), les boissons sucrés, les biscuits et les soupes, (**Ben hsouna et al., 2011; Bernardo-Gil et al., 2011**).

Les cotylédones de la graine contiennent une protéine « la caroubine », avec des propriétés similaires au gluten, il est utilisé alors comme un alternatif aux protéines des céréales pour les individus atteints de la maladie céliaque (**Custódio et al., 2011**).

IV. 6.2. En alimentation animale

Le remplacement du dextrose, de la poudre de lait ou des céréales par de la poudre de caroube permet d'obtenir des performances de croissance similaires chez le porcelet aussi bien que chez le porc en croissance-finition. Les sucres apportés par la caroube contribuent à la palatabilité des régimes et aucun effet antinutritionnel des tanins sur les paramètres mesurés n'est observé (**Lizardo et al., 2002**).

IV. 6.4. Autres utilisation

- Substrat pour la production du bioéthanol (160g d'éthanol/Kg de poudre sèche) et de l'acide citrique (**Karababaa et Coskuner, 2013 ; Naghmouchi et al., 2009 ; Makris et Kefalas, 2004**).
- En cosmétique,

- Dans l'industrie du papier et textile (**Talhouk et al., 2005**)

IV. 6.3. Action pharmacologique

Le fruit est d'une importance économique considérable. Les gousses sont plus riches en sucre que la canne à sucre et la betterave sucrière, leur richesse en fibres et en polyphénols leur confère plusieurs vertus thérapeutiques (**Hariri et al., 2009**). Quelques unes sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau IX : propriétés pharmacologiques du fruit du caroubier

Propriété	Référence
Antioxydante	(Bastida et al., 2009)
Antibactérienne	(Cavdarova et Makris, 2014).
Antifongique	(Fadel et al., 2011).
Laxatif	(Karababaa et Coskuner, 2013).
Diurétique	(Ben hsouna et al., 2011)
Antidiarrhéique	(Owen et al., 2003)
hypocholestérolémiantes	(Corsi et al., 2002)
Anticancéreuse	(Owen et al., 2003)
Traitement des gastroentérites des nourrissons	(Ben hsouna et al., 2011)
Hypoglycémiant	(Mokhtari et al., 2011)
Traitement de la tuberculose pulmonaire et les affections des bronches	(Rejeb, 1995)



Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes

I.1. Préparation de l'échantillon

a) Récolte

Le fruit de *Ceratonia siliqua* L est utilisé comme matériel végétal ; il est récolté dans la région d'Ait Idriss commune de Taskriout (Bejaia) à fin du mois d'Aout, la période qui correspond à la maturation totale des gousses.

Les gousses sont nettoyées puis décortiqués manuellement (séparation de la pulpe et la graine) et séché.

b) Séchage

Les gousses décortiquées sont séchées à l'air libre, dans un endroit sec, ventilé et ombragé pendant 1 mois. Le suivi du séchage est réalisé par la mesure du taux de matière sèche à différents temps.

▪ Détermination de la matière sèche

1 g d'échantillon frais broyé est introduit dans des creusets : c'est le poids P ; ces creusets seront ensuite placé dans une étuve réglée à 105 C°; jusqu'à ce que la masse de l'échantillon demeure constante. La teneur en eau est donnée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = \frac{P - P1}{P} \times 100$$

P1 : poids de l'échantillon après séchage (g)

P : poids de l'échantillon avant séchage (g)

Le taux de matière sèche est déduit selon la formule suivant :

$$\text{Teneur en matière sèche (\% du poids frais)} = 100 - \text{teneur en eau (\%)}$$

c) Broyage, tamisage et conservation

Après séchage, la pulpe a été broyée à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue a été en suite tamisé (0,5 mm de diamètre des mailles du tamis) à l'aide d'un tamiseur électrique « Relesch-AS200 ». Les poudres ainsi obtenues sont conservées dans des sacs en plastique et gardés au réfrigérateur.

I. 2. Composition chimique

I. 2. 1. Teneur en matière minérale

La teneur en matière minérale est déterminée selon la méthode AOAC (1990) par incinération de 1g de poudre dans un four à moufle à 550 °C pendant 5 heures. La teneur en cendres est exprimée en g / 100g de matière sèche et calculé selon la relation suivante :

$$C (\%) = \frac{P2 - P1}{P} \times 100$$

C : teneur en cendres

P1 : poids du creuset vide (g)

P2 : poids du creuset avec l'échantillon après incinération(g)

P : poids de la prise d'essai (g)

I. 2. 2. Teneur en matière grasse

L'extraction des lipides a été réalisée par la méthode de Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction. 3 g d'échantillon sont introduites dans la cartouche d'extraction de l'appareil contenant 100 ml d'hexane. L'extraction dure 6 heures. Le solvant est récupéré par distillation et l'extraction est arrêtée lorsque le solvant entourant la cartouche devient clair. Le ballon contenant la matière grasse et le résidu de solvant est traité au rotavapor pour éliminer le solvant puis mis dans l'étuve à 105°C pendant 3 heures pour enlever le résidu de l'hexane et pesé afin de déterminer la teneur en lipides (**Boudhioua et al., 2008**)

La teneur en lipides est exprimé en g / 100g de matière sèche et déterminée à partir de la relation suivante :

$$MG (\%) = \frac{\text{Poids d'extract lipidique}}{\text{Poids d'echantillon}} \times 100$$

I. 2. 3. Teneur en sucres solubles

Le dosage des sucres totaux est effectué par la méthode de **Dubois et al (1956)**. Cette dernière nécessite une hydrolyse acide qui permet la rupture de toutes les liaisons glucidiques dans le polyside.

Le principe du dosage se base sur la condensation des produits de déshydratation des oses avec un chromogène qui est le phénol. A ce moment- là, il se forme des chromophores de couleur jaune-orange mesuré au spectrophotomètre à 490nm.

a) Extraction

0,5 g de poudre végétale est extraite trois fois avec 5 ml d'éthanol 80 %, en faisant bouillir les tubes fermés dans un bain marie à 95°C pendant 10 minutes. Après chaque extraction les tubes sont centrifugés à 2500 tours/10 mn. Les surnagants des trois extractions sont filtrés à l'aide d'un papier Wattman et les filtrats sont combinés (**Chow et Landhausser, 2004**)

b) Dosage

1ml d'extrait est introduit dans un tube auquel sont ajoutés 1ml de solution phénol 5% et 5 ml d'acide sulfurique à 95 %. Les tubes sont agités puis introduits dans un bain marie à 100°C pendant 5 minutes. Les tubes sont ensuite incubés à température ambiante pendant 30 minutes à l'obscurité. Les absorbances sont lues à 490 nm et la teneur en sucres est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage réalisée avec une solution de glucose à différentes concentration.

Les résultats sont exprimés en g équivalent de glucose par 100g de matière sèche.

I. 2. 4. Teneur en protéines**a) Extraction**

L'extraction des protéines est obtenue selon la méthode rapportée par **Lepengue et al (2012)**. 1g d'échantillon est mis en contact de 10 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6,5) en présence de 0,5 g de PEG. Après agitation et centrifugation pendant 15 min à 15 000 rpm, le surnageant est récupéré, précipité avec 5 ml de sulfate d'ammonium 80% et centrifugé à nouveau. Le culot protéique obtenu a été repris dans 5 ml de tampon d'extraction, homogénéisé et dosé au spectrophotomètre par réaction au bleu de coomassie selon la méthode de **Bradford (1976)**.

Dans la méthode Bradford, le bleu de coomassie cationique forme avec les protéines un complexe coloré présentant un maximum d'absorption à 595 nm. Le changement d'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant lié, indiquant donc la concentration en protéine dans l'échantillon.

b) Dosage

10 µl d'extrait de protéines sont prélevés, on leur ajoute 90 µl de tampon d'extraction et 5 ml de réactif de bleu de coomassie. Le mélange est bien agité puis incubé pendant 2 min à l'obscurité. L'absorbance est mesuré à 595nm.

Une courbe d'étalonnage est tracée, en utilisant la BSA (Bovin Sérum Albumin), dont la concentration varie de 0 à 1500 µg/ml, préparée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. La teneur en protéines est rapportée à une gamme étalon (annexe I) et exprimée en mg Eq BSA/ g MS

I. 2. 5. Teneur en cellulose brute

Cette méthode consiste à traiter l'échantillon deux fois : une hydrolyse acide puis basique pour pouvoir solubiliser la quasi-totalité du contenu cellulaire à l'exception des fibres alimentaires et des sels minéraux.

1g (P) de poudre est introduit dans un ballon contenant 100 ml d'acide sulfurique à 0,225N. Le contenu est chauffé sous reflux pendant 30 minutes à partir du début de l'ébullition. Après filtration sur creuset (éviter le papier filtre pour ne pas contaminer l'échantillon avec la cellulose du papier), le résidu est rincé 3 fois avec l'eau distillée chaude. Puis ce résidu est introduit dans un autre ballon contenant 100 ml du NaOH à 0,313 N et bouilli, après 30 minutes d'ébullition le contenu du ballon est filtré sur creuset et rincé 3 fois avec l'eau distillée chaude puis avec l'eau distillée froide.

Le résidu est ensuite lavé 3 fois avec 25ml d'acétone et séché à l'étuve à 100°C jusqu'à un poids constant. Le résidu sec est pesé, c'est le poids (P1) puis incinéré à 550°C pendant 5h et repesé après refroidissement dans un dessiccateur (P2)

$$\% \text{ Cellulose brute} = \frac{P1 - P2}{P} \times 100$$

P : poids de l'échantillon (g)

P1 : poids du résidu sec avant incinération (g)

P2 : poids du résidu sec après incinération (g)

I.3. Extraction et dosage des composés phénoliques

I.3.1. Extraction

L'extraction des composés phénoliques est réalisée par macération selon la méthode d'Oomah et al. (2010) en utilisant l'eau et le méthanol (100%, 80 % et 60%) comme solvants d'extraction.

Principe

Quand une matrice est au contact avec un solvant, les composants solubles dans le matériel migrent vers le solvant ; Ainsi, l'extraction est un transfert du principe actif de la matrice vers le solvant, selon un gradient de concentration (**Handa et al., 2008**).

Mode opératoire

1g de poudre et 40 ml de chacun des quatre solvants sont macérés pendant deux heures à température ambiante sur une plaque chauffante agitatrice à l'abri de la lumière. Les extraits sont filtrés sous vide puis centrifugés à 2500 trm/10mn. Le surnageant obtenue est filtré sur papier filtre puis conservés à 4°C pour des analyses ultérieurs.

I.3.2. Dosage

Pour quantifier les différentes classes de composés phénoliques dans la pulpe de caroube, la méthode de **Shetty et al., (2005)** est utilisée pour évaluer le contenu en phénols totaux solubles et la méthode de **Lamaison et Carnet (1990)** est utilisée pour doser les flavonoïdes. Les tanins précipités par la BSA sont déterminés par la méthode décrite par **Hagerman et Butler (1978)**. Le dosage des tanins condensés est réalisé par la méthode décrite par **Desphande et al., (1986)** et les tanins hydrolysables par la méthode de **Mole et Waterman, (1987)**.

I.3.2.1. Dosage des phénols totaux solubles

Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleu produite dépend des groupements hydroxyles, dont l'absorption maximum lue à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les échantillons (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

Mode opératoire

1ml d'extrait dilué est mélangé avec 5ml d'eau distillée. A ce mélange sont ajouté 500 μ l de folin-ciocalteu dilué avec de l'eau distillée (1 :1). Le tous est agité puis incubé à température ambiante pendant 5 minutes. 1ml de Na_2CO_3 à 5% fraîchement préparée est ajouté au mélange,

les tubes sont incubés pendant 1 heure à température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance est mesuré au spectrophotomètre à 760 nm.

Les teneurs en phénols totaux solubles sont déterminés par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec de l'acide gallique utilisé comme standard (annexes).

Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par g de matière sèche (mg Eq AG/ g MS).

I.3.2.2. Dosage des flavonoïdes

Principe

Les flavonoïdes possèdent des groupements hydroxyles libres, en position 5 et 3 dans la mesure où il n'est pas engagé dans une liaison hétérosidique. Ces groupements sont susceptibles de former des complexes avec le chlorure d'aluminium AlCl_3 (l'aluminium perd deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénoliques agissent comme donneur d'électron) (**Figure 24**). Cette réaction s'accompagne d'une coloration jaunâtre qui à son maximum d'absorbance à 430 nm (**Naczk et Shahidi, 2004 ; Ribéreau- Gayon, 1968**).

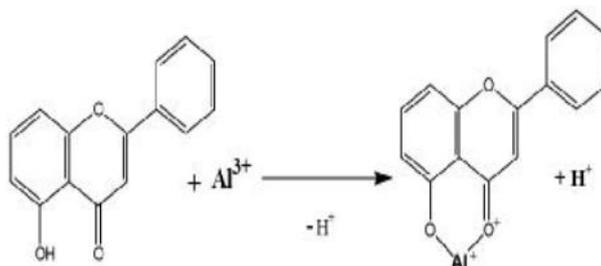


Figure 22 : Réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (**Ribéreau- Gayon,1968**).

Mode opératoire

A 2ml de chlorure d'aluminium ($\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$) à 2% sont ajouté 2 ml d'extrait. Le mélange est homogénéisé au vortex puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 10 minutes. L'absorbance est lu au spectrophotomètre à 430 nm.

La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisé de la même manière avec la Quercétine utilisée comme standard (Annexes). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent en Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/gMS).

I.3.2.3. Dosage des tanins condensés

Principe

Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés dans un milieu acide pour produire un complexe rouge (**figure 26**) mesuré à 500 nm (**Hagerman, 2002**).

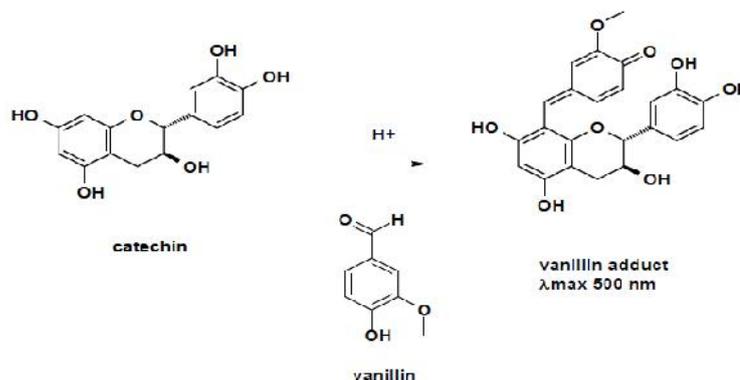


Figure 23 : Réaction de la vanilline avec la catéchine (**Hegerman, 2002**).

Mode opératoire

1ml d'extrait sont mélangé avec 5ml de vanilline-Hcl. Les tubes sont ensuite incubés à 30°C pendant 20 minutes. L'absorbance est lue à 500 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

Les teneurs en tanins condensés sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec de la Catéchine utilisée comme standard (annexe). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de Catéchine par gramme de matière sèche (mg Eq Cat/g MS).

I.3.2.4. Dosage des tanins hydrolysables

Principe

Les tanins hydrolysables réagissent avec le chlorure ferrique et donnent une coloration bleue mesurée par spectrophotomètre (**Mamadou, 2002**).

Mode opératoire

3,5 ml du chlorure ferrique (FeCl₃ à 0,01M dans Hcl à 0,01M) sont ajouté à 1ml d'extrait. Après homogénéisation, l'absorbance est mesuré à 660 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

La teneur en tanins hydrolysables est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec de l'acide tannique (annexe).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide tannique /g de matière sèche (mg EqAT/g MS).

I.3.2.5. Dosage des phénols solubles non attachés la BSA

Principe

Une des caractéristiques des tanins est leur capacité à précipiter les protéines en solution dans un milieu acide. Cette méthode permet ainsi la séparation des tanins des autres polyphénols présents dans l'extrait, leur quantité peut alors être estimée.

Mode opératoire

1ml d'extrait est mélangé avec 2ml de BSA (2mg/ml dans un tampon acétate pH=4,9 ; 0,2M). Les tubes sont incubés à 4°C pendant 24H puis centrifugé à 14000tr/mn pendant 15 minutes.

Le dosage des phénols solubles non attachés la BSA du surnageant est réalisé par la méthode du folin.

La teneur en phénols non attachés à la BSA est déterminé en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec de l'acide gallique (Annexes). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide galique /g de matière sèche (mg EqAG/g MS). La différence entre les PTS et les phénols non attaché à la BSA donne les valeurs des phénols attachés à la BSA.

I.4. Mise en évidence de la présence d'autres métabolites secondaires dans les extraits

- La détection des saponines est réalisée au moyen du test de **Yadav et Agarwala (2011)**. A 1ml d'extrait, sont ajoutés 3ml d'eau distillée. Le tube est bien agité pendant 2 minutes. La formation d'une mousse persistante à la surface indique la présence de saponines
- La détection des Alcaloïdes est effectuée selon la méthode d'**Amana (2007)**. A 2ml d'extrait sont ajoutées quelques gouttes du réactif de Bouchardat. La formation d'un précipité de couleur brun-noir, brun-terne ou jaune- brun indique la présence des alcaloïdes dans les extraits.
- La mise en évidence des terpénoïdes est réalisée par la méthode d'**Aziman et al. (2012)**. A 2,5 ml d'extrait sont ajoutées 1ml du chloroforme. Après homogénéisation, 1,5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré sont ajoutés au mélange. La formation d'une couleur brun-rouge à l'interface indique la présence des terpénoïdes dans les extraits.

I.5. Etude de l'activité antioxydante des extraits bruts

Elle est réalisée au moyen de trois tests. Le pouvoir antiradicalaire du DPPH, est mesuré selon la méthode de **Behrad et al (2009)** et le test de chélation du fer ferreux selon la méthode d'**Ersoy et al (2011)**. Le test du pouvoir réducteur du fer est évalué selon la méthode d'**Oyazu et al (1986)**.

I.5. 1. Pouvoir antiradicalaire du DPPH

Principe

Le composé chimique 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome d'azote (**Figure 30**). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères. Le DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ambiante. La délocalisation provoque aussi la couleur bleu violette bien caractéristique de la solution. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de cette coloration pour donner une couleur jaunâtre, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm (**Popovici et al., 2009**). Plus la décoloration est importante plus le donneur d'hydrogène est considéré comme antioxydant puissant.

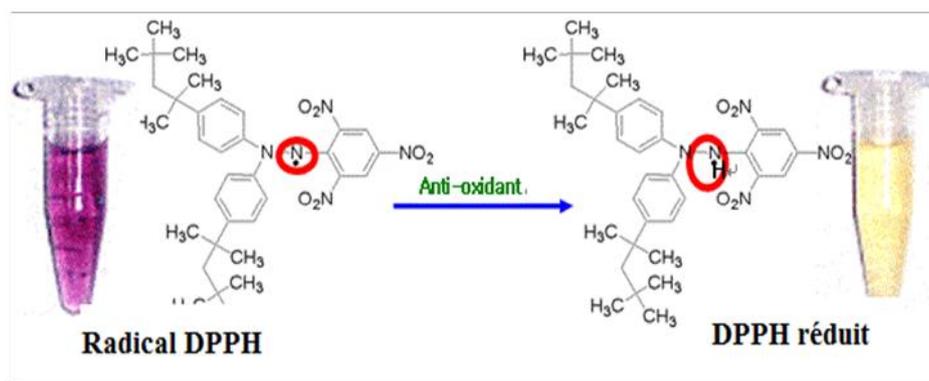


Figure 24 : Réactions de réduction du radical DPPH• en DPPH-H par un antioxydant

Mode opératoire

Un volume de 250µl d'extrait est mélangé avec 3 ml de la solution éthanolique du DPPH (60µM) fraîchement préparée. Le mélange est bien homogénéisé au vortex puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 20 minutes. L'absorbance est lue à 517 nm. Un témoin positif est réalisé dans les mêmes conditions avec le BHT et l'acide ascorbique.

La pouvoir antioxydant est exprimé en pourcentage d'inhibition du radicale DPPH selon la relation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Abs controle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs controle}} \times 100$$

Abs : Absorbance

I.5.2. Pouvoir réducteur du fer

Principe

Le Principe repose sur la présence d'un composé réducteur dans les extraits d'échantillons qui entraîne la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}). Cette réduction se traduit par le virage de la couleur jaune de ferricyanure de potassium vers la couleur bleu verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur (**Li et al., 2009**).

Mode opératoire

200µl d'extrait sont mélangés avec 500µl de tampon phosphate (0.2 M, pH6.6) et 500µl d'une solution aqueuse de ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] à 1%. Le mélange est incubé à 50°C pendant 20min. A ce mélange, 500µl d'une solution aqueuse d'acide trichloracétique (TCA à 10 %) sont rajoutés. Après centrifugation à 500tpm pendant 10 min. 1 ml de surnageant est mélangé avec 1 ml de l'eau distillée et 200µl de chlorure ferrique FeCl_3 (0.1%, P/V).L'absorbance est lue à 700nm. Un témoin positif est réalisé de la même manière avec le BHT. Une augmentation de l'absorbance se traduit par une augmentation du pouvoir réducteur du fer.

I.5.3. Chélation du fer ferreux (Fe⁺²)

Principe

Le principe de cette réaction repose sur la complexation des ions ferreux (Fe⁺²) avec un composé ligand : 3-(2-pyridyl)-5, 6-diphényl-1, 2, 4 triazine-4', 4''-disulfonate de sodium (ferrozine). Le complexe ferrozine-Fe⁺² se caractérise par sa couleur violette présentant un maximum d'absorption à 562 nm. Plus la réduction de cette couleur est importante plus l'échantillon a un pouvoir de chélation de Fe⁺² plus fort.

Mode opératoire

50 µl de FeCl₂ (2mM) sont ajoutés à 1ml d'extrait. 200µl de ferrozine (5 mmol/L) sont ajoutés au mélange et le tout est bien homogénéisé puis incubé à température ambiante pendant 20 minutes et l'absorbance est lue à 562nm.

Un témoin positif avec l'EDTA est réalisé de la même manière. Le pourcentage de chélation du fer est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de chélation du fer} = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs Echantillon}}{\text{Abs Control}} \times 100$$

Abs : Absorbance

II. Effet de la poudre de caroube sur la viabilité de probiotique et sur l'activité antioxydante du yaourt

II. 1. Les cultures microbiennes

Les cultures microbiennes utilisées sont sous forme de poudres lyophilisées comprenant deux ferments lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) et une souche de probiotique *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* (Bb12) : (Chr. Hansen).

Les ferments lactiques sont ajoutés au lait comme indiqué par le fournisseur à raison de 2g/l et le probiotique à 0,1g/l.

II. 2. Préparation du yaourt

Mode opératoire

Dans un erlenmeyer du lait à 12% de matière sèche est préparé avec 1000ml d'eau distillée est 120g de poudre de lait écrémé. Le lait est pasteurisé à 90°C pendant 15 minutes sur une plaque chauffante puis refroidie à 42°C dans un bain marie. 2g de poudre de yaourt contenant nos ferments lactiques sont ajoutés et l'ensemble est agité puis versé dans des flacons de 100 ml (**Pasephol et Sherkat, 2009**).

La poudre de caroube est incorporée à 4% (m/v) au même temps que le probiotique (le contrôle doit être à 16% de MS) et les flacons sont bien agité pour homogénéiser et dissoudre les poudres. Le dispositif expérimental suivi est résumé dans le **Tableau X**.

Tableau X : Dispositif expérimental

Code	Composition
Y	Yaourt simple
Y+C	Yaourt avec poudre de caroube
Y+pro	Yaourt avec probiotique
Y+C+pro	Yaourt avec probiotique et poudre de caroube

Les lots du yaourt ont été préparés en triples et incubés à 40 °C pendant 24h. Après incubation les yaourts sont conservés au réfrigérateur à 4°C pendant 28 jours pour des analyses ultérieurs.

II.3. Analyses microbiologiques

Le dénombrement des colonies est déterminé en triple et effectué au 1^{er}, 7^{ème}, 14^{ème}, 21^{ème} et 28^{ème} jour pour chaque lot à différentes dilutions (quatre à cinq séries de dilutions stériles de 1/10). 100µl de chacune des trois dernières dilutions ont été étalées par la méthode des stries sur des boîtes de pétri.

Pour le dénombrement des ferments on utilise la gélose MRS (pH=6,2) et en incube à 40°C pendant 24 h. Pour le dénombrement des probiotiques on utilise la gélose MRS au chlorohydrate de cystéine (Cy-Hcl) à 0,5g/l qui est un agent réducteur qui inhibe la croissance

des ferments du yaourt mais offre une meilleure croissance pour les bifidobactéries. L'incubation se fait à 40°C pendant 72 heures dans une jarre d'anaérobie (**Rodrigues et al., 2012**). Le nombre de colonie UFC/ml est calculé puis converti en log UFC/ml

II.4. Analyses du pH et de l'acidité titrable

II.4.1. Mesure du pH

Le pH par définition est une mesure de l'activité des ions H⁺ contenus dans une solution. Les valeurs du pH ont été mesurées avec un pH mètre (211 HANNA) chaque semaine jusqu'au 28^{ème} jour.

II.4. 2. Mesure de l'acidité titrable

Principe

L'acidité titrable représente la somme des acides minéraux et organiques présents dans le produit. Elle est exprimée en fonction de l'acide dominant et titrée avec une solution d'hydroxyde de sodium (0.1N) en présence de la phénolphtaléine comme indicateur coloré.

Mode opératoire

Dans un bécher, nous avons versé le contenu du tube (10⁻¹), puis ajouté quelques gouttes de phénolphtaléine. Nous avons titré ensuite avec une solution de NaOH (0,1N) jusqu'à la persistance de la couleur rose et noté le volume du NaOH.

L'acidité titrable (TTA%) est calculée chaque semaine jusqu'au 28^{ème} jour, elle est exprimée en pourcentage, et calculée selon la formule suivante :

$$\text{TTA}(\%) = V_{\text{NaOH}} \times 0,1 \times 100 \times 0,009 \times 10$$

Où :

V_{NaOH} : Volume de NaOH en ml utilisé pour la titration.

0,1 : représente la concentration du NaOH (0,1N).

10 : est le facteur de dilution (10⁻¹).

100 : le pourcentage.

0.0090 : Coefficient correspondant à l'acide lactique

II.5. Mesure de la synérèse

La synérèse est un phénomène physique fréquent au cours du stockage du yaourt qui affecte l'acceptabilité de celui-ci par le consommateur. Il est défini comme étant la séparation de petit lait (lactosérum) du gel ou du caillé (Tseng et Zhao., 2013). Quand le phénomène de la synérèse est important cela implique que la capacité de rétention de l'eau du gel est faible. Elle est mesurée selon la méthode de Purwandari et al (2007)

Mode opératoire

5g du yaourt sont introduites dans un tube à centrifuger. Ce tube est ensuite centrifugé à 5000 tours pendant 20mn et à 5°C. Le surnageant est collecté puis son poids est mesuré. La synérèse est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

$$(S \%) = \frac{\text{poids du lactosérum collecté}}{\text{poids du yaourt}} \times 100$$

II.6. Quantification des phénols totaux solubles du yaourt au cours du stockage

Les composés phénoliques des yaourts sont d'abord extraits avec l'eau puis dosés par la méthode de Shetty et al., (2005) , décrite précédemment.

10 g de yaourt sont ajoutés à 2,5 ml d'eau distillée. Le mélange est bien agité puis son pH est ajusté à 4 avec du HCl (0,1 M). Les tubes sont ensuite mis dans un bain marie agitateur à 45°C pendant 10 mn et centrifugé à 5000 tours pendant 10 mn. Après récupération du surnageant, son pH est ajusté à 7 avec du NaOH à 0,1 M. Le surnageant est centrifugé de nouveau à 5000 trp pendant 10 mn puis conservé à -4°C pour l'utiliser ultérieurement (Amirdivani et Baba., 2011).

Tous les dosages sont réalisés chaque semaine pendant 28 jours du stockage du yaourt à 4°C.

II.7. Activité antioxydante du yaourt

L'activité antioxydante des extraits aqueux du yaourt est mesurée au moyen des mêmes tests cités précédemment et utilisés pour les extraits de poudre de caroube. Ces activités sont mesurées aux jours 1, 7, 14, 21 et 28.

III. Analyses statistiques

Toutes les déterminations sont menées en triple et les résultats sont exprimés par la moyenne \pm écart type.

Le traitement statistique des résultats est réalisé par l'analyse de la variance : ANOVA et comparaison multiple des moyennes à l'aide du logiciel statistica. Ces résultats sont considérés significatif à $p < 0,05$.

IV. Résultats

IV.1. Composition chimique

Notre échantillon frais montre un taux d'humidité faible (12,17%) et en parallèle un taux de matière sèche très élevé (87,83%). La composition chimique globale de la pulpe de caroube est illustrée dans la figure 25.

Notre pulpe se caractérise par sa richesse en sucres solubles (65,64g/100 MS) et sa pauvreté en lipides (0,84 g/100 MS). Les cendres représentent 3,66% du poids sec et la cellulose 8,57%, les protéines sont aussi présentes en faible quantité (4,45g/100g MS).

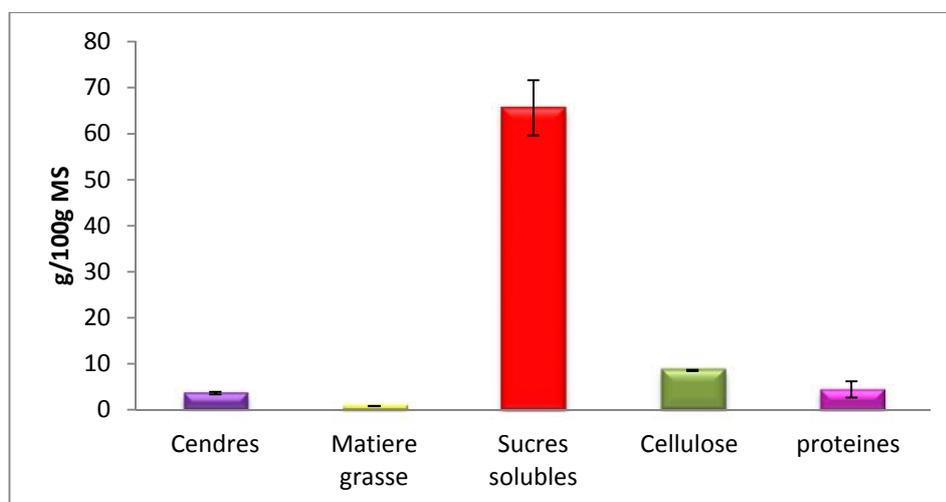


Figure 25: Composition chimique globale de la pulpe de caroube

IV.2. Teneur en composés phénoliques

L'expérimentation a mis en jeu un seul facteur : solvant d'extraction (eau distillée, méthanol 60%, méthanol 80%, méthanol 100%).

IV.2.1. Teneur en phénols totaux solubles (PTS)

Les résultats du dosage des phénols totaux solubles obtenus sont illustrés par la figure 26. Ces résultats montrent une variabilité de teneur entre les différents extraits bruts.

L'analyse de la variance révèle un effet significatif ($p < 0,05$) du facteur solvant. La plus grande teneur en PTS est obtenue avec le méthanol 60% (8,90 mg EqAG/g MS) et la plus faible est obtenue avec l'eau distillée (6,1 mg EqAG/g MS).

La substitution partielle ou totale de l'eau s'accompagne d'une meilleure solubilisation des phénols totaux solubles. Nous enregistrons des augmentations de 3,67 à 45,85%.

Les solvants binaires permettent une solubilisation plus marquée ($p < 0,05$) des PTS (29,6 à 45,85%). Le méthanol absolu améliore faiblement ($p > 0,05$) cette solubilisation (3,67%).

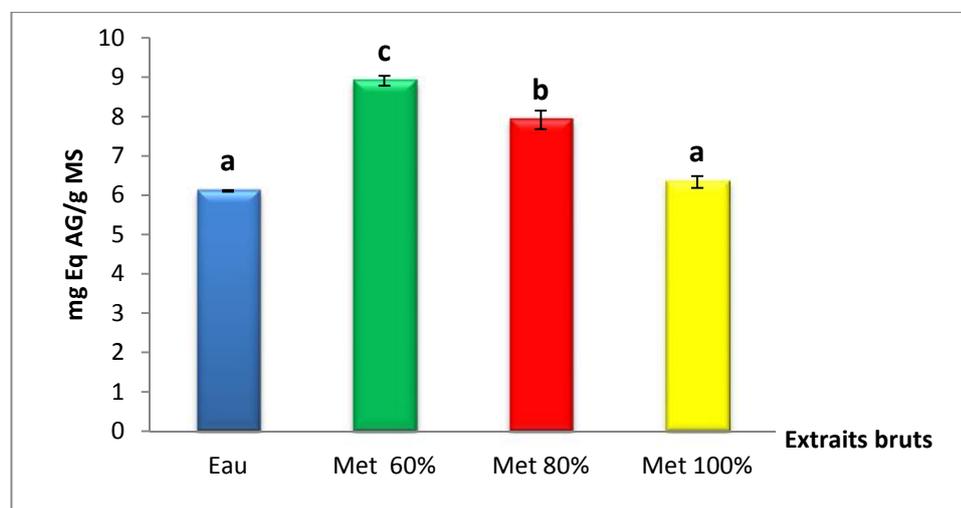


Figure 26 : Teneurs en phénols totaux solubles

Met : méthanol. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

IV.2.2. Teneur en flavonoïdes

Les résultats de dosage des flavonoïdes (**Figure 27**) montrent une variabilité de teneur entre les extraits et un effet significatif ($p < 0,05$) du facteur solvant.

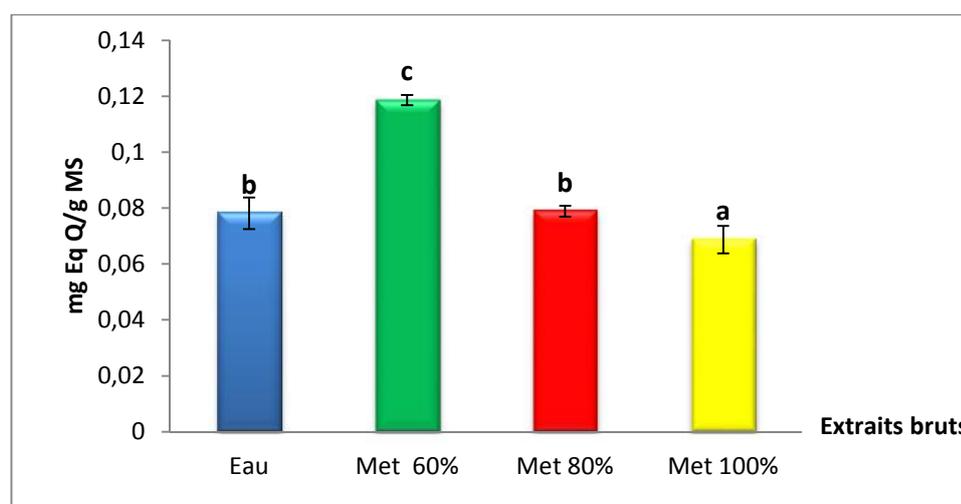


Figure 27: Teneurs en flavonoïdes

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$)

L'effet de l'incorporation du méthanol dans le solvant dépend de son taux d'incorporation. L'optimum d'extraction des flavonoïdes (0,11 mg Eq Q/g MS) est observé ($p < 0,05$) avec le méthanol 60% alors que l'usage du méthanol absolue réduit significativement ($p < 0,05$) de 12,1% l'extraction de ces constituants. Le méthanol 80% donne une valeur similaire ($p > 0,05$) à celle de l'extrait aqueux (0,0788 contre 0,0781 mg Eq Q/g MS respectivement).

IV.2.3. Teneur en tanins hydrolysables

Les résultats de dosage des tanins hydrolysables (**Figure 28**) révèlent une variabilité de teneur entre les différents extraits. L'analyse de la variance montre un effet significatif ($p < 0,05$) du facteur solvant. Le contenu en tanins hydrolysables des extraits varie de 1,58 à 3,1 mg Eq AT/g MS avec un optimum obtenue avec le méthanol 60%.

La substitution partielle de l'eau par le méthanol (60% et 80%) améliore significativement ($p < 0,05$) l'extraction des tanins hydrolysables de 37,29 et 50,61 % respectivement. La substitution de l'eau par le méthanol absolue réduit significativement ($p < 0,05$) la solubilisation de tanins hydrolysables de 23,11 %.

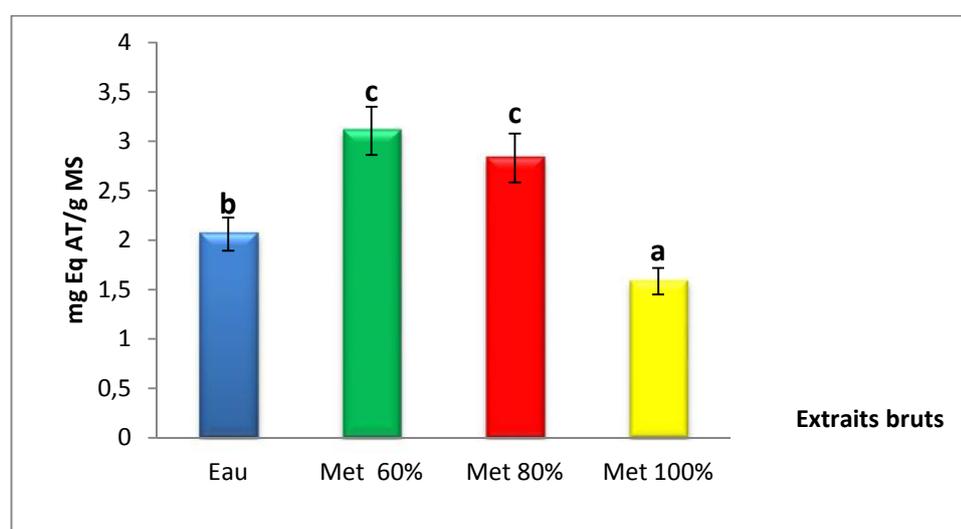


Figure 28 : Teneur en tanins hydrolysables

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$)

IV.2.4. Teneur en tanins condensés

Les résultats de dosage des tanins condensés (**Figure 29**) révèlent une variabilité de teneur entre les différents extraits. L'analyse de la variance de la teneur montre un effet significative ($p < 0,05$) du facteur solvant.

La teneur en tanins condensés varie de 1,06 à 2,26 mg Eq CAT/ g MS. C'est l'extrait aqueux qui affiche la teneur la plus faible (1,06 mg Eq CAT/ g MS). L'utilisation du méthanol s'accompagne d'une amélioration significative ($p < 0,05$) de la solubilisation des tanins condensés, l'amplitude de ces augmentations dépend de son taux d'incorporation, soit 112,9% pour le méthanol 60% contre 81,44 et 37,88 % respectivement pour le méthanol 80% et 100%.

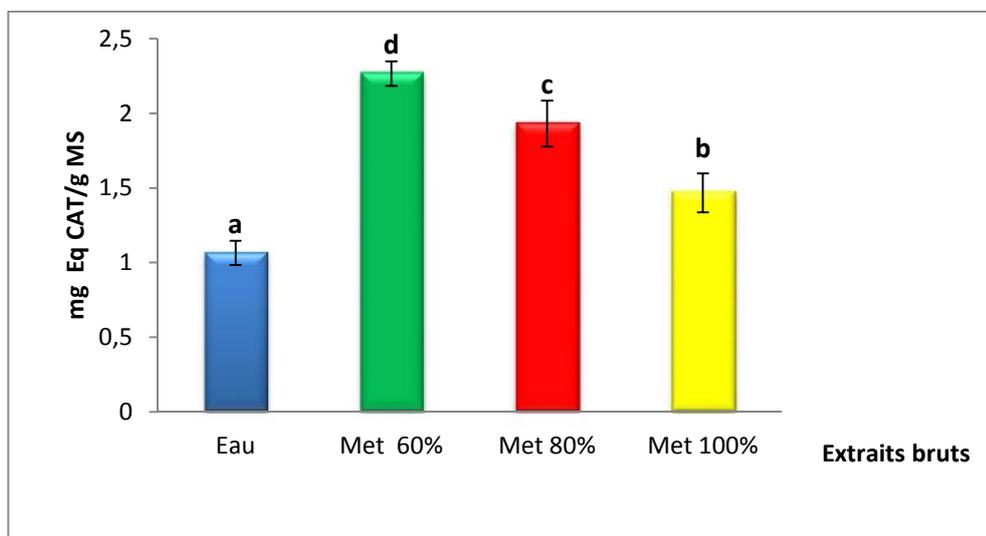


Figure 29 : Teneur en tanins condensés

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

IV.2.5. Teneur en phénols totaux solubles non liés à la BSA

Les résultats des dosages des phénols totaux solubles non attachés à la BSA sont illustrés par la figure 30. L'analyse de la variance révèle qu'il n'y a pas d'effet significatif ($p > 0,05$) du facteur solvant.

La substitution partielle de l'eau par le méthanol s'accompagne d'une augmentation significative ($p < 0,05$) de la solubilisation des PTS non attachés à la BSA. Cette augmentation est de 18,97% pour le méthanol 60% et de 20,43% pour le méthanol 80%. La substitution totale s'accompagne d'une augmentation de 9,16%.

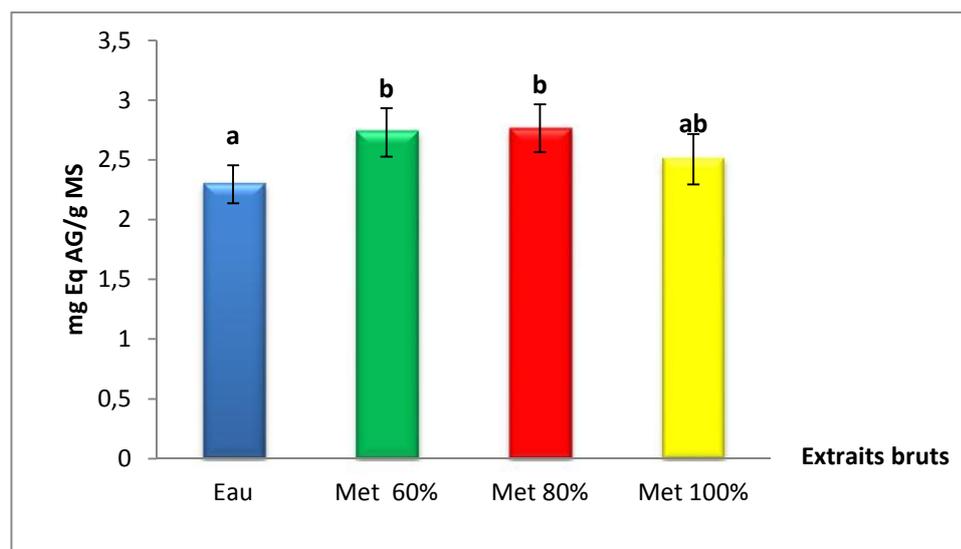


Figure 30 : Teneur PTS non liés à la BSA

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$)

Les teneurs en phénols non attachés à la BSA sont faibles dans tous les extraits, elles varient de 2,29 à 2,76 mg Eq AG/g MS. Ces teneurs représentent 30,65 à 39,57% des phénols totaux solubles (**Figure 31**).

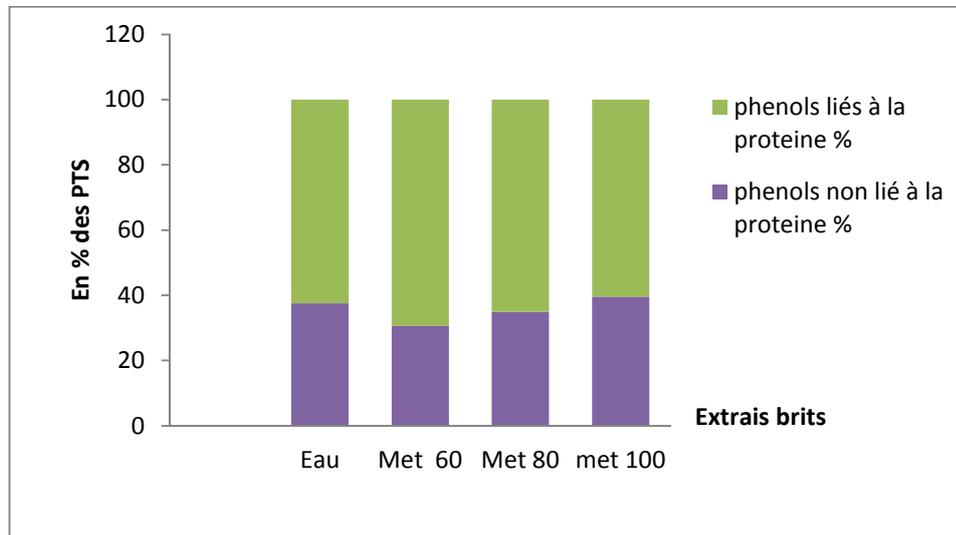
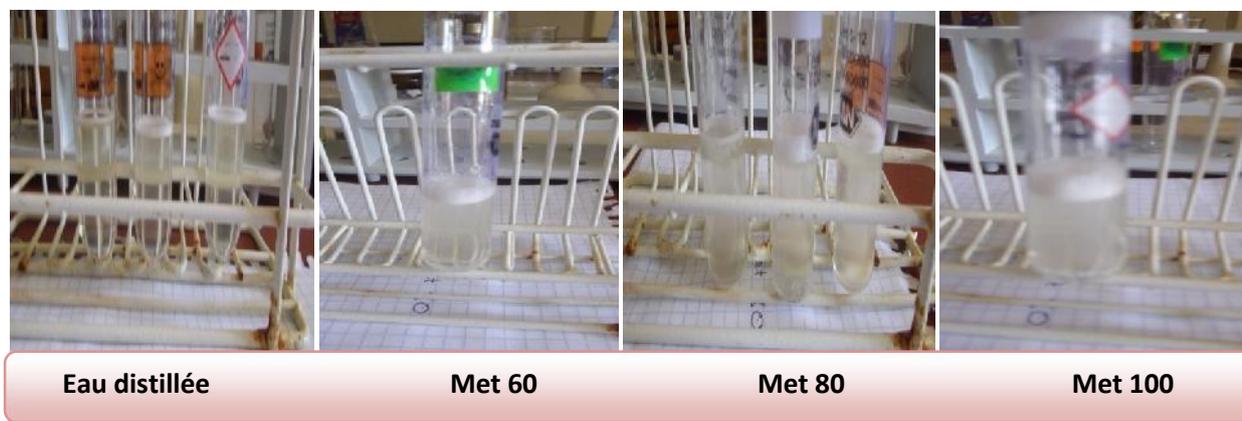


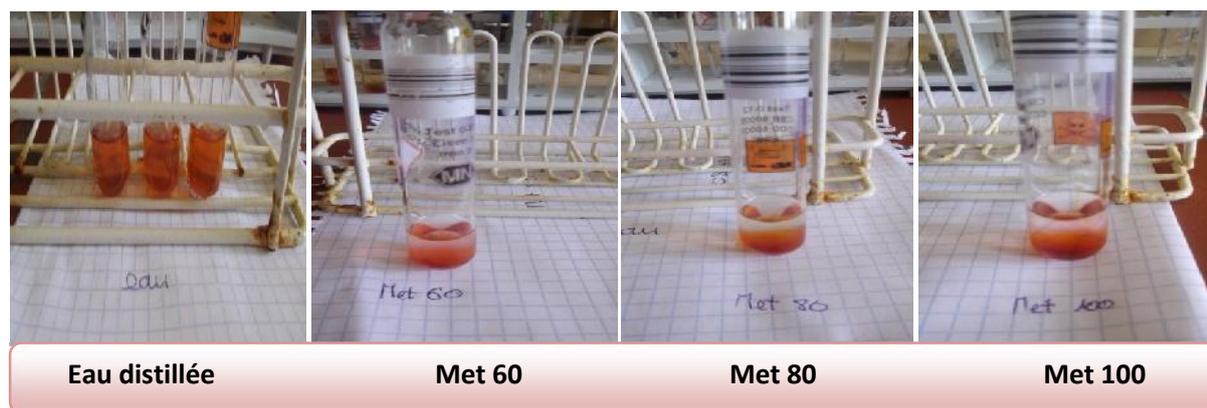
Figure 31 : Teneurs en phénols attachés et non liés à la BSA en % des PTS

IV.3. Résultats du screening chimique

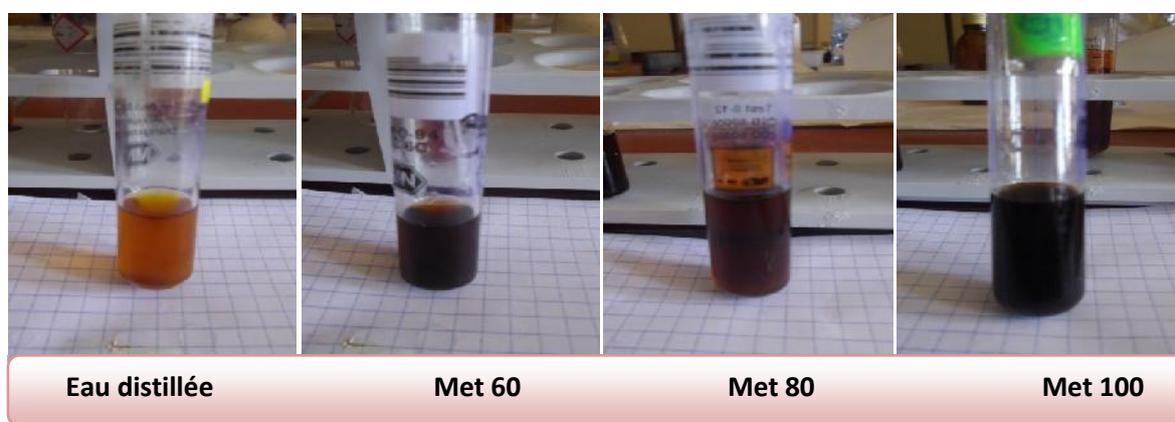
Alors que la présence des saponines est révélée dans tous les extraits, les alcaloïdes et les terpénoïdes ne semblent pas solubilisés par l'eau. Ils ne sont révélés que dans les extraits méthanoliques (**figure 32**).



a : Mise en évidence des saponines dans les extraits



b : Mise en évidence des alcaloïdes dans les extraits



c : Mise en évidence des terpénoïdes dans les extraits

Figure 32 : Photos de mise en évidence des métabolites secondaire dans les extraits.

Les résultats du criblage phytochimique qualitatif sont résumés dans le tableau IX

Tableau XI : Résultats du screening phytochimique des extraits.

Extrait	Saponines	Alcaloïdes	Terpénoïdes
Eau distillée	+	–	–
Met 60%	++	+	+
Met 80%	++	+	+
Met 100%	+	+	++

- : absence de composé + : présence de composé ; ++ : présence en abondance,

IV.4. Activité antioxydante

IV.4.1. Activité antiradicalaire du DPPH

Nos données expérimentales (**figure 33**) montrent que tous les extraits testés manifestent un pouvoir antiradicalaire du DPPH. Les valeurs de ce pouvoir antiradicalaire sont toutes inférieures à celle retrouvée par le BHT (77,45%) et de l'acide ascorbique (89,92%) utilisée à une concentration de 25 µg/ml. Ce pouvoir varie de 57,23% à 71,26% et dépend ($p < 0,05$) du solvant d'extraction utilisé.

Nous notons que la substitution partielle ou totale de l'eau par le méthanol induit une augmentation du pouvoir antiradicalaire de 5,02% à 24,51%. En effet l'optimum de cette activité (71,26%) est observé avec un taux d'incorporation de l'éthanol de 60%. Au delà de ce seuil d'incorporation, l'activité diminue mais reste significativement ($p < 0,05$) supérieure à celle de l'extrait aqueux.

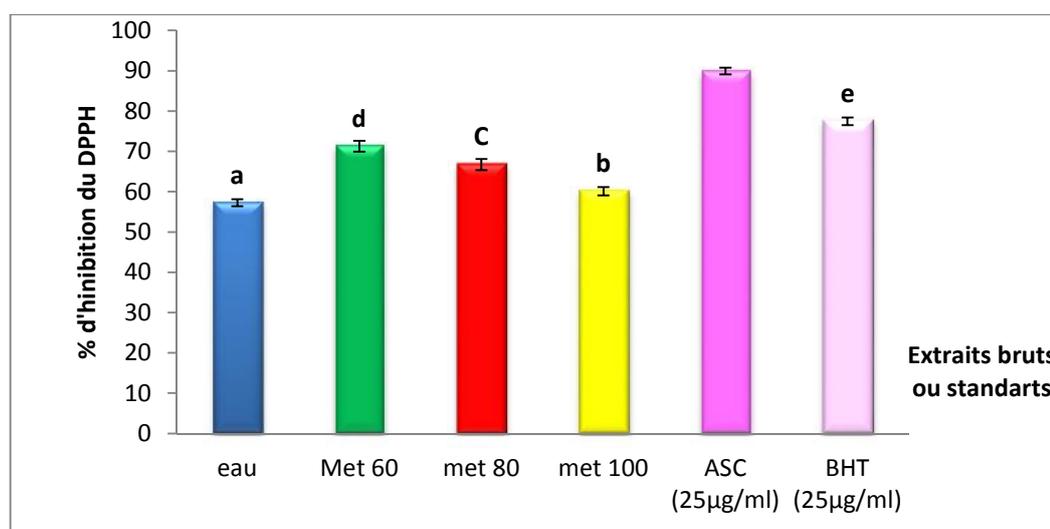


Figure 33 : Activité antiradicalaire du DPPH des extraits bruts

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$)

IV.4. 2. Pouvoir réducteur

L'analyse statistique de nos données a mis en évidence un effet significatif ($p < 0,05$) du solvant d'extraction. Le pouvoir réducteur de nos extraits (mesuré par l'absorbance à 700nm) est inférieur à celui du BHT (100 μ g/ml) utilisé comme standard (**figure 34**). Nous notons que la présence du méthanol dans le solvant s'accompagne d'une variation de l'activité de l'extrait.

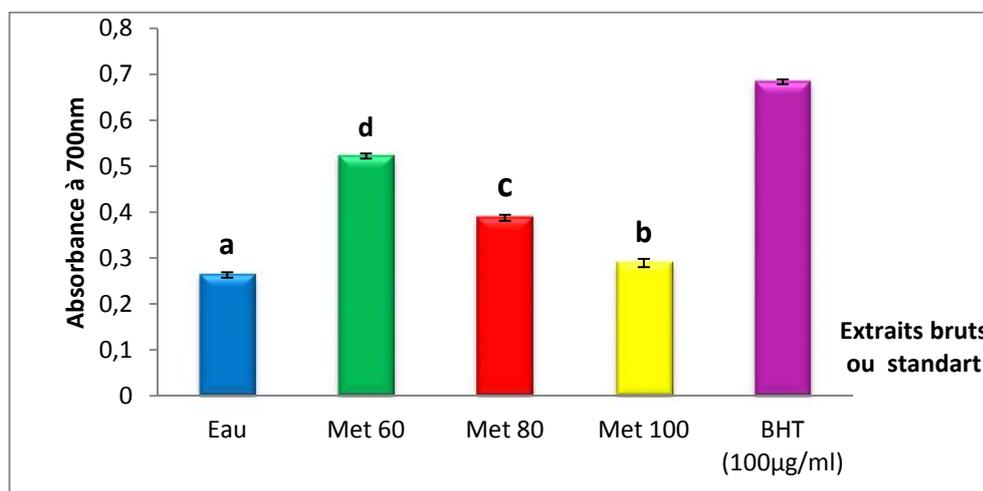


Figure 34: Pouvoir réducteur des extraits bruts

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$)

La substitution partielle ou totale de l'eau par le méthanol s'accompagne d'une augmentation du pouvoir réducteur des extraits de 10,01% à 98,47%, nous notons une augmentation de l'absorbance de 98,47% pour le méthanol 60%, 47,27% pour le méthanol 80% et 10% pour le méthanol 100%.

IV.4.3. Chélation du fer

L'analyse de la variance révèle un effet significatif du facteur solvant ($p < 0,05$), les résultats obtenus sont représentés dans la figure 35.

Le pouvoir chélateur du fer des extraits varie de 43,88 % à 58,40%. Le % de chélation du fer par l'EDTA (20 μ g/ml) est supérieur à celui de tous les extraits. L'extrait au méthanol absolu affiche le plus faible pouvoir. La substitution partielle de l'eau par le méthanol s'accompagne d'une nette augmentation ($p < 0,05$) du pouvoir chélateur du fer avec le méthanol 60% : 25,84 contre 1,64% pour le méthanol 80%. La substitution totale s'accompagne d'une réduction de 5,44% du pouvoir chélateur de l'extrait.

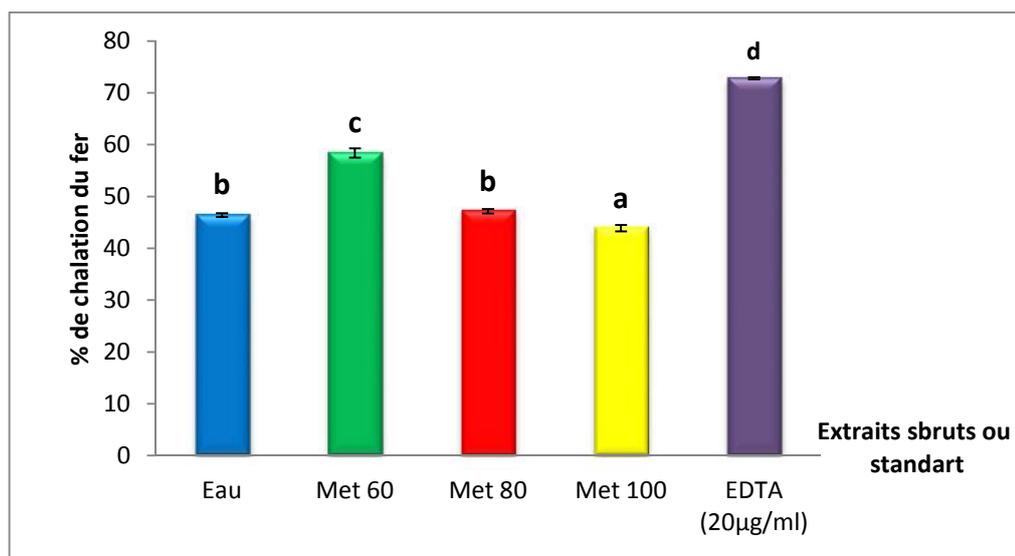


Figure 35 : Pouvoir chélateur du fer des extraits bruts

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$)

IV.5. Effet de poudre de caroube sur la viabilité de probiotique et sur l'activité antioxydante du yaourt

IV.5.1. Evolution du pH et de l'acidité titrable

IV.5. 1.1. Evolution du pH

Les valeurs du pH des yaourts au cours du stockage à 4°C sont représentées dans la figure 37. L'analyse statistique des résultats montre un effet significatif ($p < 0,05$) de chacun des facteurs : présence ou absence de poudre, présence ou absence de probiotique et le facteur durée de conservation (**figure 36**) avec une interaction ($p < 0,05$) entre eux.

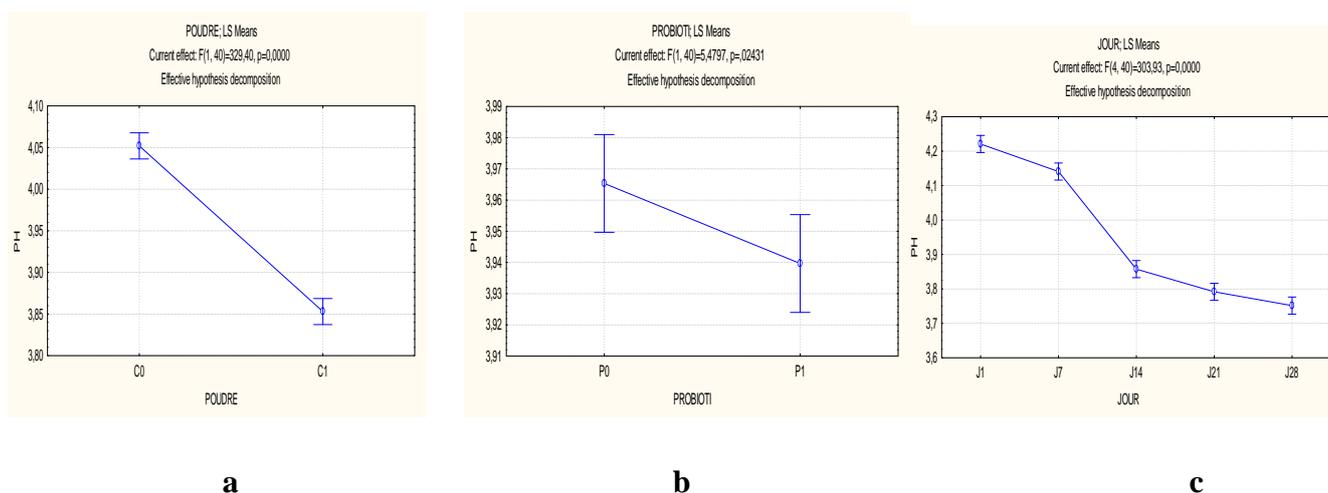


Figure 36: Résultats de l'analyse statistique de l'évolution du pH en fonction de la présence ou l'absence de poudre (a), présence ou absence de probiotique (b) et en fonction de la durée de conservation (c). C0 : sans poudre, C1 : avec poudre, P0 : sans probiotique ; P1 : avec probiotique

L'addition de la poudre de caroube s'accompagne d'une diminution du pH dès le premier jour. Les valeurs du pH diminuent progressivement d'une semaine à une autre, cette diminution varie de 9,77% à 11,77%. Les courbes de diminution du pH décrivent deux phases :

- Une première phase au cours de laquelle nous enregistrons des fortes baisses de pH (7,82 à 9,33%) et qui s'étale sur les deux premières semaines.
- La deuxième phase se caractérise par une baisse du pH moins importante variant de 0,33 à 4,28 % et s'étend entre les deux dernières semaines.

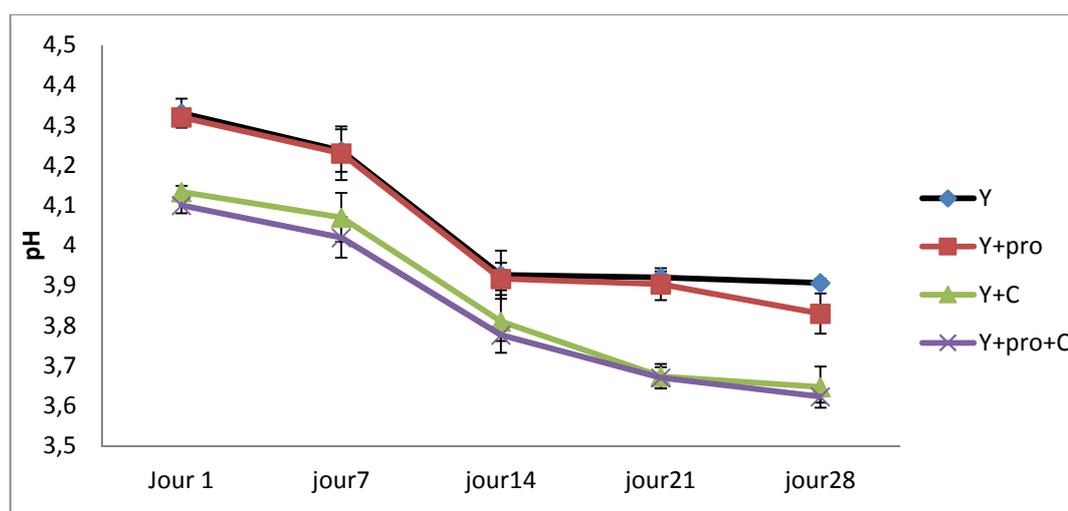


Figure 37: Evolution du pH des yaourts

Y : yaourt contrôle ; **Y+pro** : yaourt au probiotique ; **Y+C** yaourt avec poudre de caroube ; **Y+pro+C** : yaourt avec poudre de caroube et probiotique

IV.5. 1. 2. Evolution de l'acidité titrable

L'évolution de l'acidité des yaourts au cour du stockage à 4°C est représenté dans la figure 39. L'analyse de la variance montre un effet significatif des facteurs mis en jeu (**figure 38**) et une interaction entre eux ($p < 0,05$).

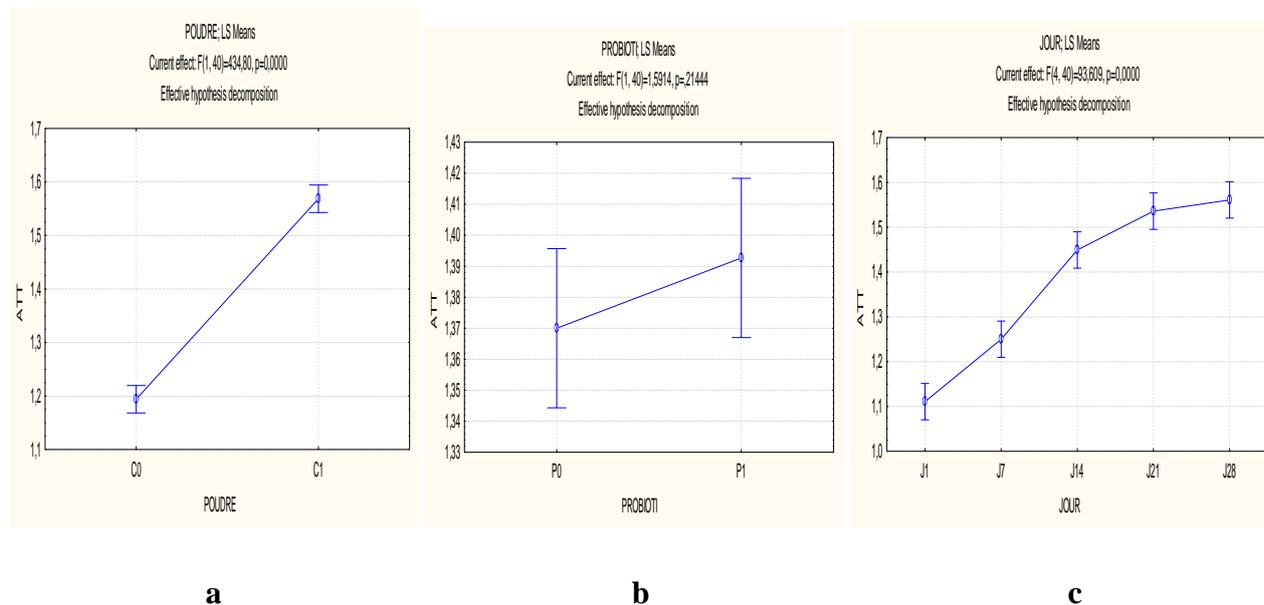


Figure 38: Résultats de l'analyse statistique de l'évolution de l'acidité en fonction de la présence ou l'absence de poudre (a), présence ou absence de probiotique (b) et en fonction de la durée de conservation (c). C0 : sans poudre, C1 : avec poudre, P0 : sans probiotique ; P1 : avec probiotique

Quel que soit le temps considéré, nous notons que les yaourts renferment de la poudre de caroube affichent des valeurs en acidité nettement supérieures à celles retrouvées dans les yaourts sans caroube.

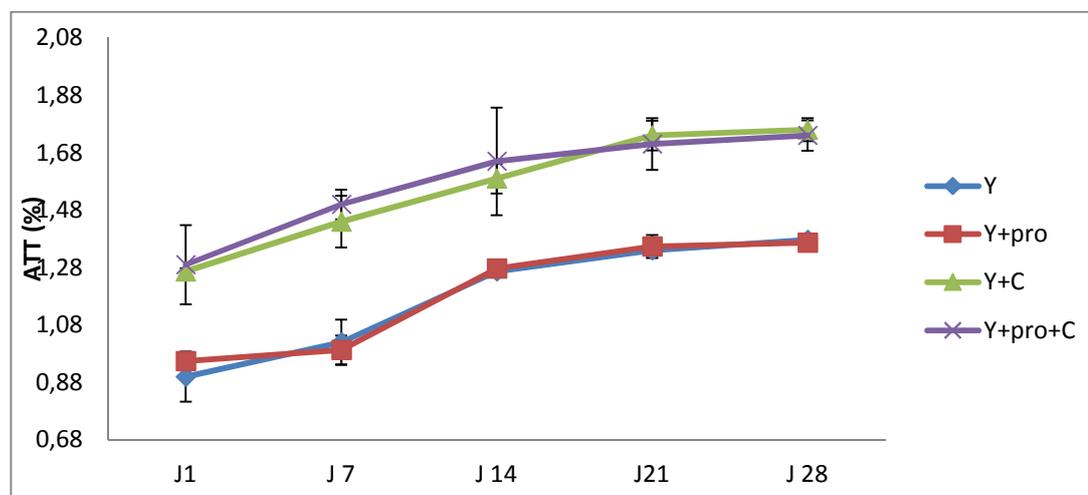


Figure 39 : Evolution de l'acidité titrable des yaourts

Au cours du stockage, nos données analytiques révèlent une augmentation de l'acidité pour chacun des quatre yaourts préparés (5,45% à 40,75). L'amplitude des variations de l'acidité révélée au cours du stockage permet de distinguer deux phases :

- Une première phase qui s'établit du 1^{er} jour au 14^{em} jour avec de fortes augmentations de l'acidité pour tous les échantillons.
- Une deuxième phase allant du 14^{em} au 28^{em} jour avec de faibles augmentations de l'acidité titrable.

IV.5. 2. Evolution de la synérèse

La synérèse des yaourts dépend ($p < 0,05$) des trois facteurs mis en jeu avec une interaction entre eux (**figure 40**). Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 41.

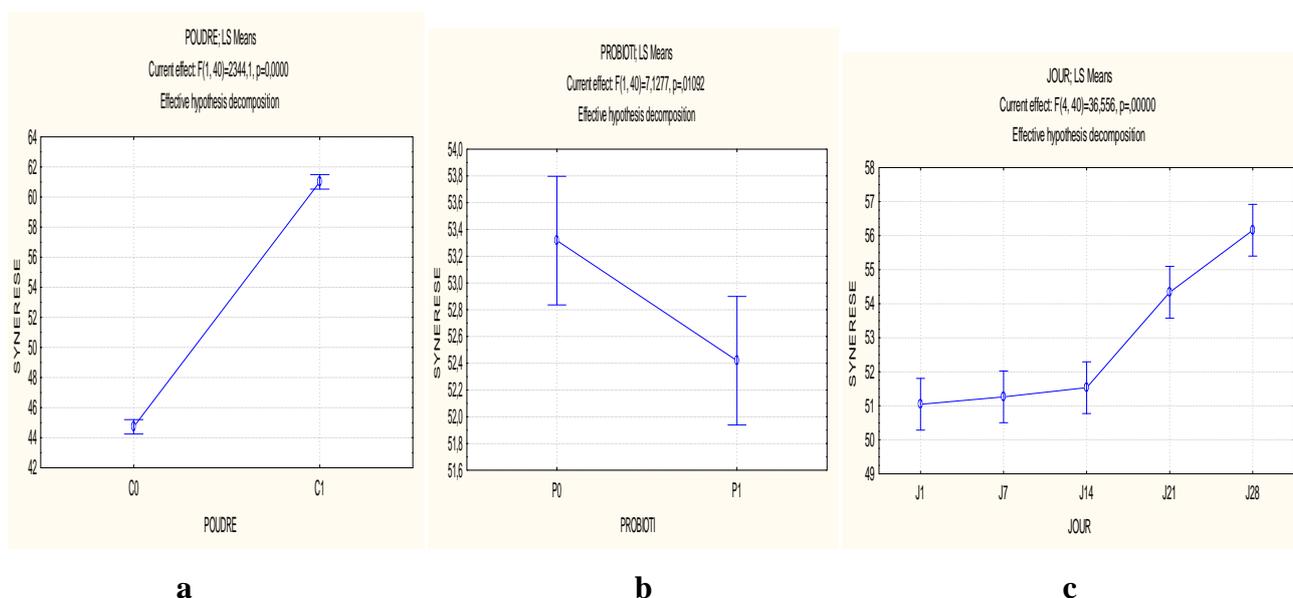


Figure 40: Résultats de l'analyse statistique de l'évolution de la synérèse en fonction de la présence ou l'absence de poudre (a), présence ou absence de probiotique (b) et en fonction de la durée de conservation (c). C0 : sans poudre, C1 : avec poudre, P0 : sans probiotique ; P1 : avec probiotique

Nos résultats montrent pour tous les yaourts une augmentation progressive de synérèse quelque soit le temps de stockage considéré. Les yaourts renfermant de la poudre de caroube affichent des valeurs de synérèse nettement supérieure ($p < 0,05$) à celle des yaourts sans caroube.

Nous notons que l'augmentation de la synérèse est plus importante dans les deux dernières semaines du stockage dans tous les échantillons. Les valeurs les plus élevées sont atteintes au 28^{em} jour.

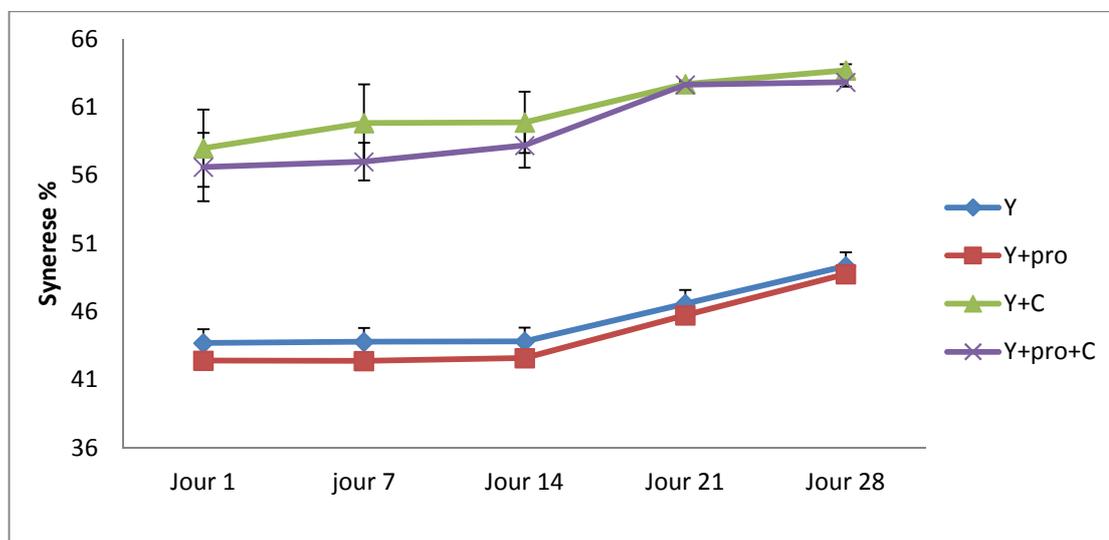


Figure 41: Evolution de la synérèse des yaourts

IV.5. 3. Evolution du nombre des colonies

IV.5.3.1. Evolution du nombre des colonies de probiotique (*Bifidobacterium animalis ssp.lactis* (Bb12))

Le nombre de colonies viables de *Bifidobacterium animalis ssp.lactis* (Bb12) exprimé en log UFC/ml est représenté dans la figure 43. L'analyse statistique des résultats montre que chacun des facteurs absence ou présence de poudre (**figure 42a**) et durée de conservation (**figure 42c**) affecte significativement ($p < 0,05$) la viabilité de probiotique ne interaction entre eux ($p < 0,05$)

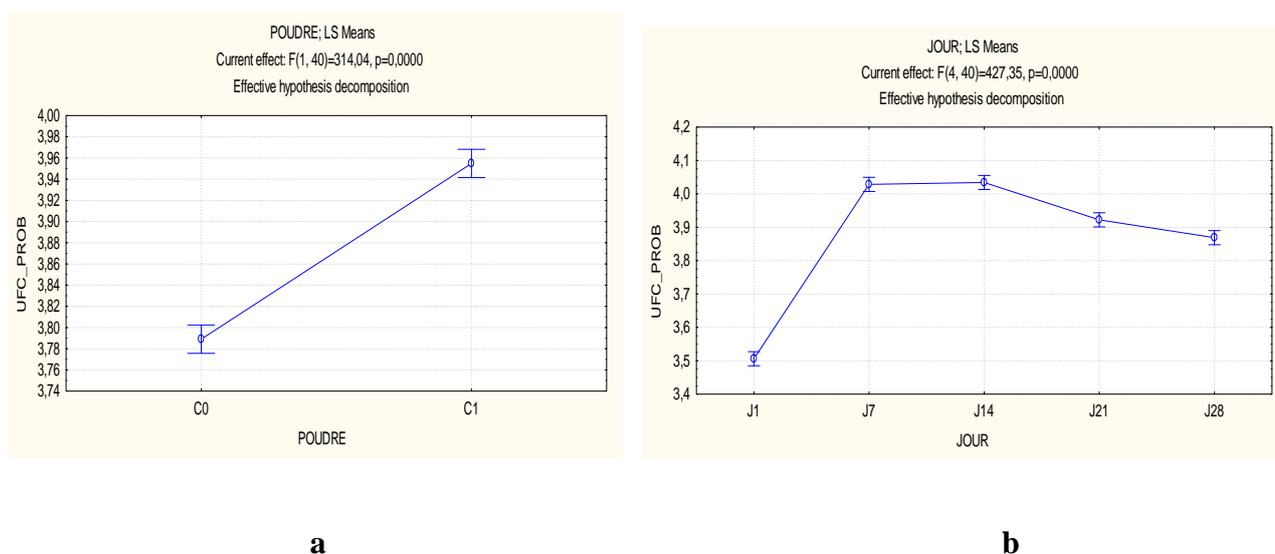


Figure 42: Résultats de l'analyse statistique de l'évolution des colonies de probiotique en fonction de la présence ou l'absence de poudre (a) et en fonction de la durée de conservation (c). C0 : sans poudre, C1 : avec poudre

Pour le yaourt contenant seulement le probiotique le nombre de colonies augmente progressivement avec un maximum atteint au jour 14 (7,98 log UFC/ml). Au jour 7 on enregistre un taux d'augmentation de 15,96% et au jour 14 un taux de 1,73%. Au delà du 14^{ém} jour on enregistre des diminutions progressives du nombre de colonies, pour atteindre 7,59 UFC/ml au 28^{ém} jour.

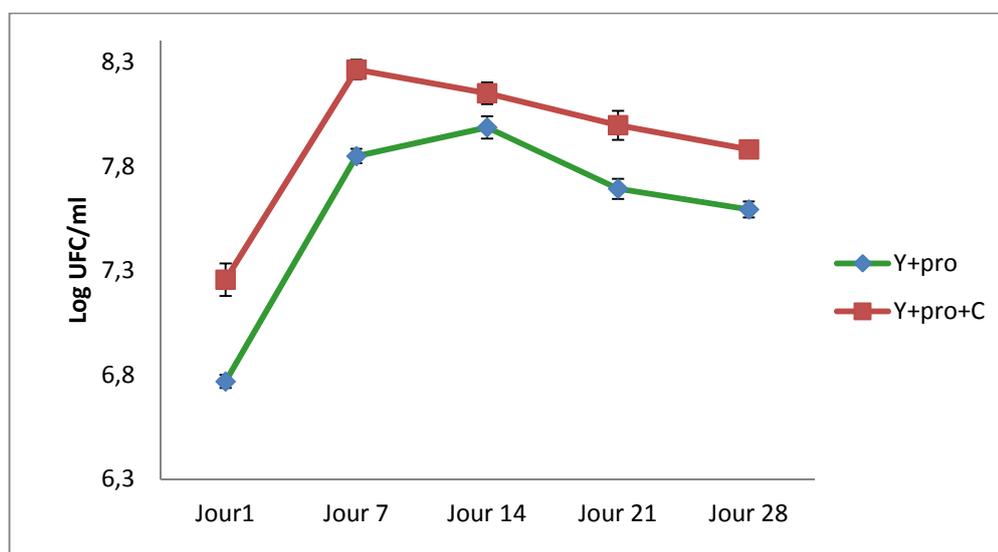


Figure 43 : Evolution du nombre des colonies de *Bifidobacterium animalis* ssp.lactis (Bb12) dans les yaourts

Pour le yaourt contenant la poudre de caroube, le nombre de colonies augmente progressivement avec un maximum atteint au jour 7 avec un taux d'augmentation du nombre de colonies de 13,88%, en suite, le nombre de colonies diminue pour atteindre 8,26 UFC/ml au 28^{ém} jour.

IV.5 2.2. Evolution du nombre des colonies des ferments (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)

Les résultats du dénombrement des colonies des ferments du yaourt au cours du stockage à 4°C sont illustrés dans la figure 45. L'analyse de la variance révèle que les facteurs poudre et durée de conservation (**figure 44**) affectent la viabilité des ferments ($p < 0,05$) du yaourt avec une interaction entre eux ($p < 0,05$).

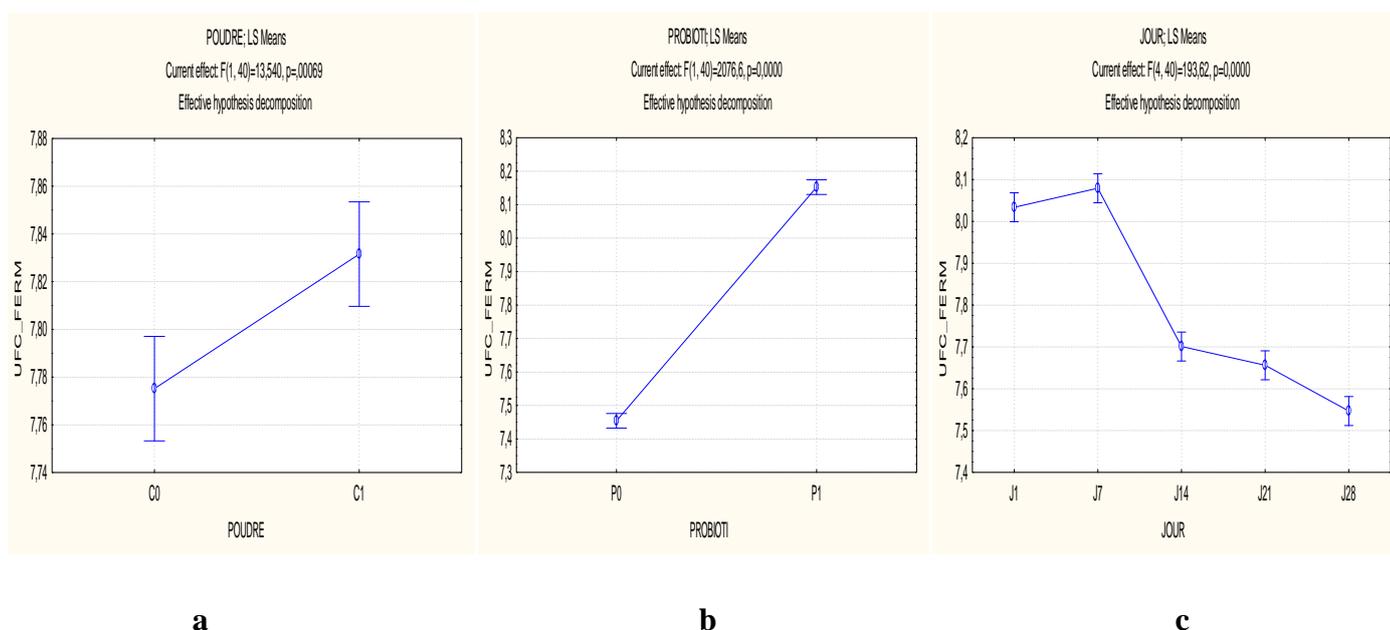


Figure 44: Résultats de l'analyse statistique de l'Evolution des colonies des ferments en en fonction de la présence ou l'absence de poudre (a), présence ou absence de probiotique (b) et en fonction de la durée de conservation (c). C0 : sans poudre, C1 : avec poudre, P0 : sans probiotique ; P1 : avec probiotique

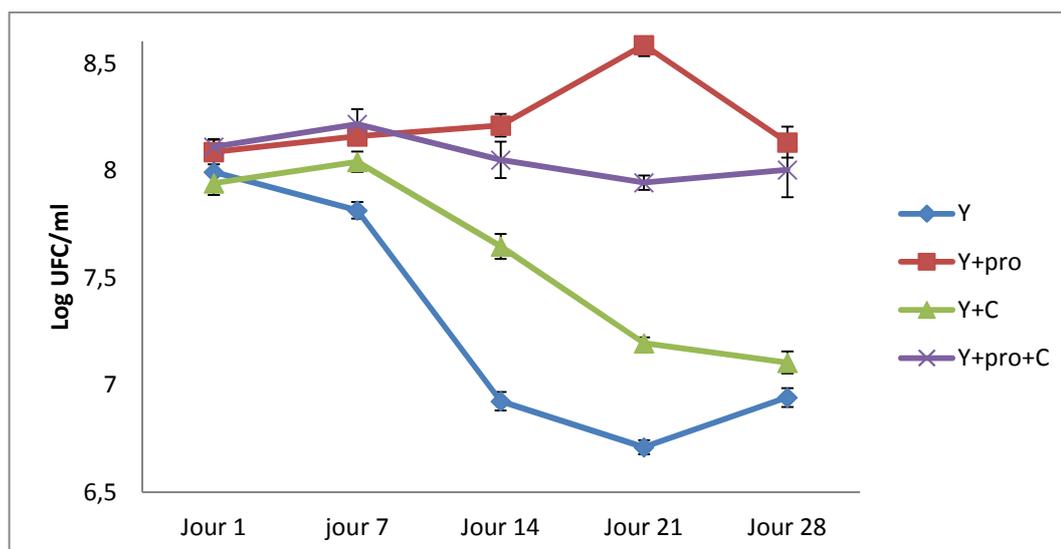


Figure 45 : Evolution du nombre des colonies de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* dans les yaourts

Au cours des 28 jours de stockage, le plus faible nombre de colonies est enregistré dans le yaourt simple. Le maximum de cellules viables est observé au jour 1 et 7. Pour le yaourt contenant la poudre de caroube et le probiotique (Y+pro+C) le maximum de cellules viables est observé aux jours J1 et J7. Dans le yaourt contenant seulement le probiotique (Y+pro) l'optimum est observé aux jours J14, J21 et J28.

A la fin de la période de stockage nous notons que le nombre de colonies est plus important dans les yaourts contenant le probiotique : 8,13 UFC/ml pour Y+pro et 8 UFC/ml pour Y+pro+C contre 7,10 UFC/ml pour Y+C et 6,94 pour Y.

IV.5. 3. Evolution des teneurs en phénols totaux solubles

L'analyse statistique des résultats montre que les facteurs poudre (**figure 46a**) et durée de conservation (**figure 46b**) affectent significativement ($p < 0,05$) la teneur en phénols totaux solubles des yaourts.

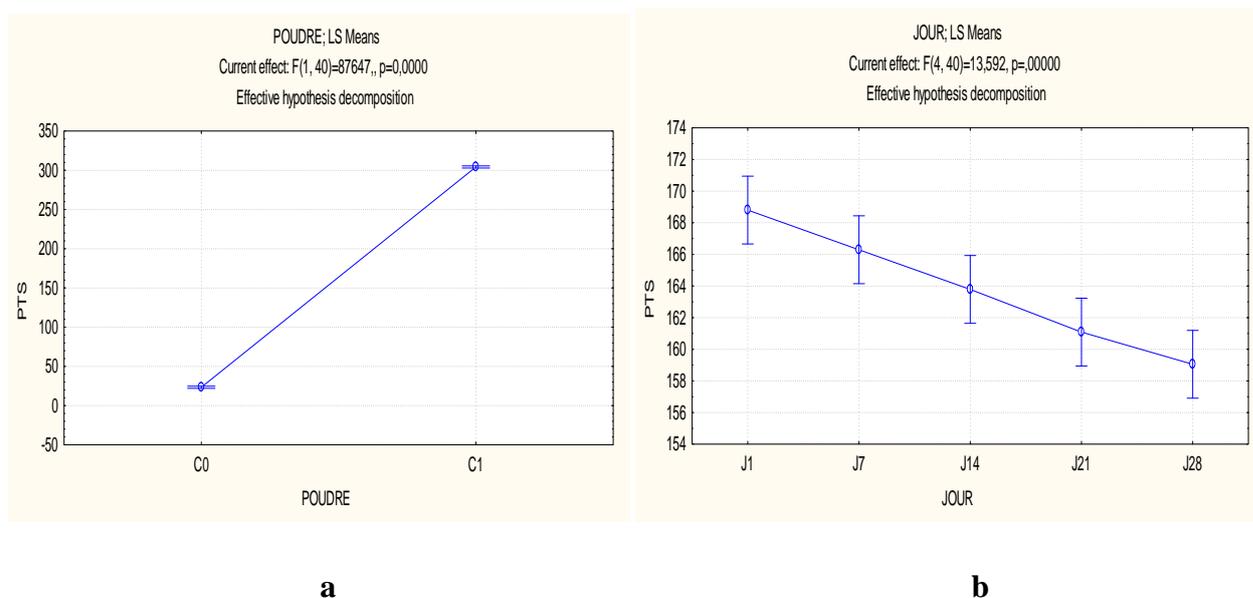


Figure 46: Résultats de l'analyse statistique de l'évolution des teneurs en phénols totaux solubles en fonction de la présence ou l'absence de poudre (a) et en fonction de la durée de conservation (b).

C0 : avec poudre, C1 : sans poudre

La figure 47 montre que les quatre yaourts renferment chacun des phénols totaux solubles. Au cours du stockage la teneur en PTS diminue progressivement et les pertes varient de 4 à 29,32 %. La valeur maximale des PTS (0,31 mg Eq AG/g MS) est enregistrée dans le yaourt contenant la poudre et le probiotique (Y+pro+C) au 1^{er} jour et la valeur minimale (0,019 mg Eq AG/g MS) est enregistré au 28^{em} jour dans le yaourt au probiotique (Y+pro).

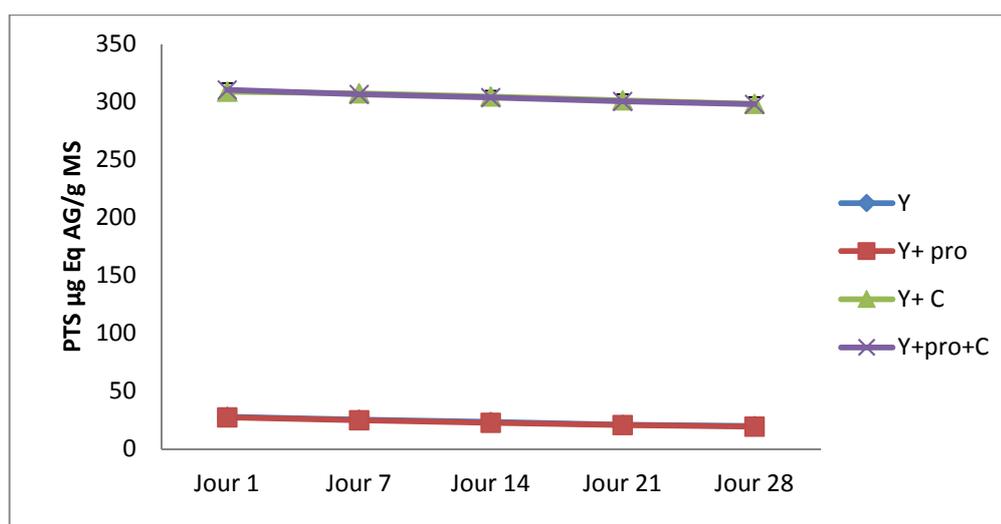


Figure 47: Evolution des teneurs en phénols totaux solubles dans les yaourts

IV.5. 4. Activité antioxydante

IV.5. 4.1. Activité antiradicalaire

L'analyse statistique des résultats révèle un effet significatif de chacun des facteurs poudre, probiotique et jour (**figure 48**) avec une interaction entre eux ($p < 0,05$).

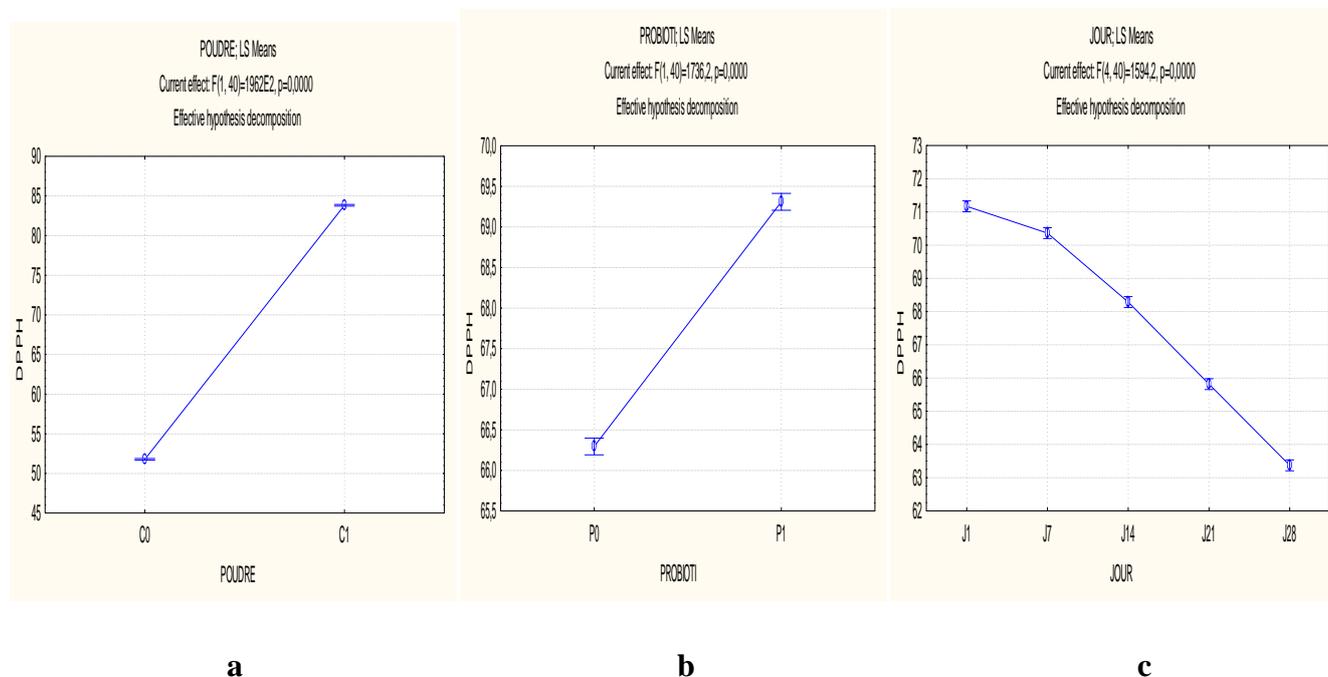


Figure 48 : Résultats de l'analyse statistique de l'Evolution de Activité antiradicalaire en fonction de la présence ou l'absence de poudre (a), présence ou absence de probiotique (b) et en fonction de la durée de conservation (c). C0 : sans poudre, C1 : avec poudre, P0 : sans probiotique ; P1 : avec probiotique

Tous les extraits des yaourts manifestent un pouvoir antiradicalaire variable au cours du stockage. Quelque soit le temps de stockage considéré, l'analyse de nos données expérimentales (**figure 49**) montre que l'incorporation de la caroube dans les yaourts s'accompagne d'une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité antioxydante des extraits testés (62,8 à 74,96%). Cet effet est observé dans le premier jour.

Au cours du stockage, nous relevons des baisses plus marquées de l'activité antiradicalaire en absence de poudre de caroube. Cette diminution varie de 10,94 à 15,96 %

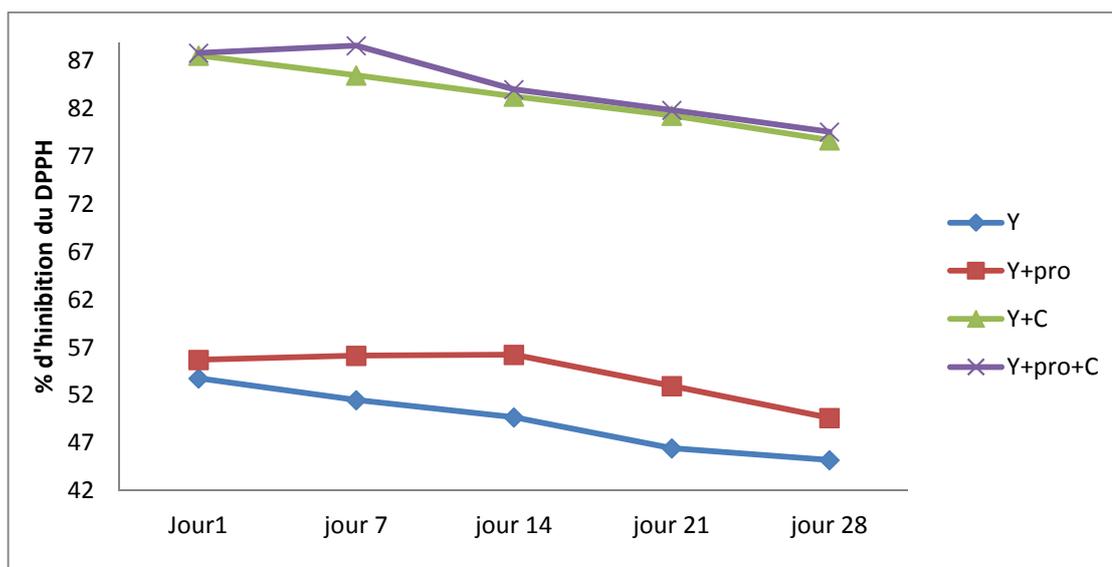


Figure 49 : Evolution de l'activité antiradicalaire des yaourts

IV.5. 4.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits des yaourts varie au cours des 28 jours du stockage et dépend de la présence ou non de la poudre, présence ou non du probiotique et varie en fonction des jours ($p < 0,05$). Les résultats de l'analyse de la variance sont représentés par la figure 50.

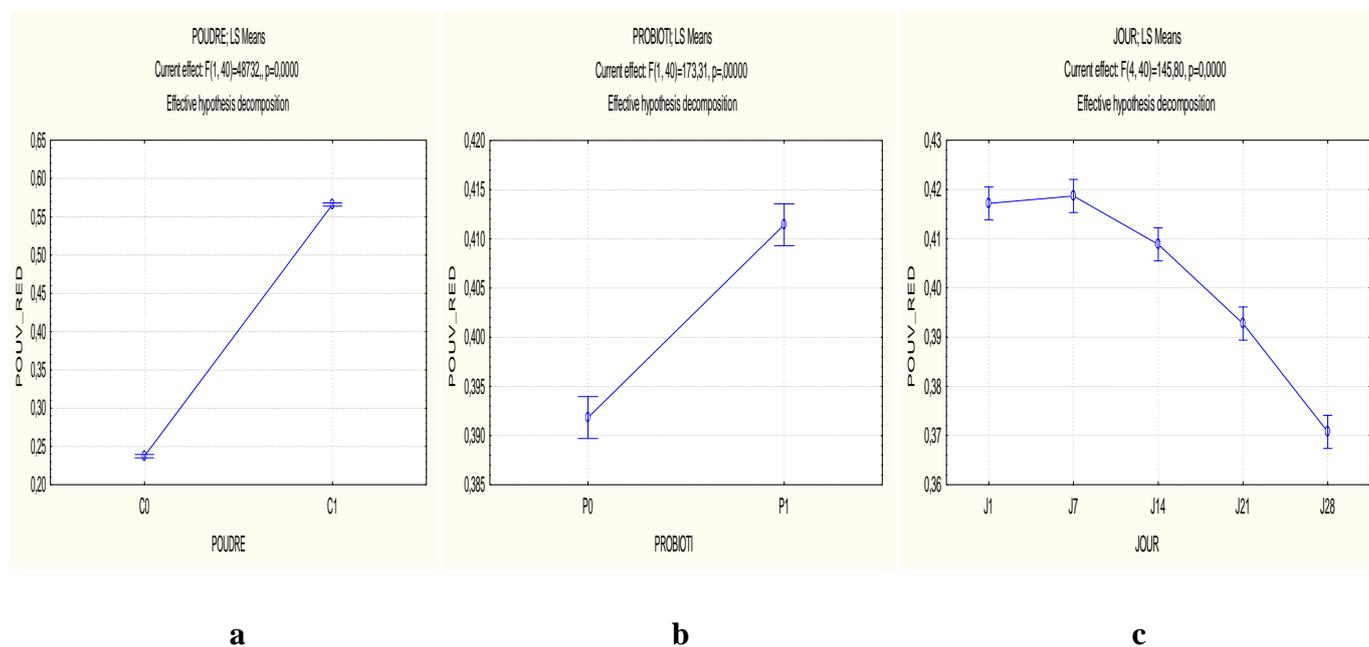


Figure 50: Résultats de l'analyse statistique de l'Evolution du Pouvoir réducteur en fonction de la présence ou l'absence de poudre (a), présence ou absence de probiotique (b) et en fonction de la durée de conservation (c). C0 : sans poudre, C1 : avec poudre, P0 : sans probiotique ; P1 : avec probiotique

Pendant toute la période de stockage, nos données analytiques (**figure 51**) montrent que le pouvoir réducteur de tous les yaourts est supérieur à celui du yaourt simple.

Nous notons que l'incorporation de la poudre de caroube et la souche du probiotique dans le yaourt améliore son potentiel réducteur. Au premier jour le pouvoir réducteur du yaourt à la caroube est augmenté de 136,8% et de 139,26% pour le yaourt contenant la poudre et le probiotique.

L'optimum d'activité est révélé au premier jour pour le yaourt à la caroube (0,245), au 7^{ém} jour pour le yaourt à la caroube et le yaourt symbiotique (0,586 et 0,593 respectivement) et au 14^{ém} jour pour le yaourt renfermant seulement le probiotique.

A la fin de la période de stockage le pouvoir réducteur des yaourts renfermant la poudre (0,528 à 0,543) est nettement supérieur aux yaourts sans poudre (0,198 à 0,212).

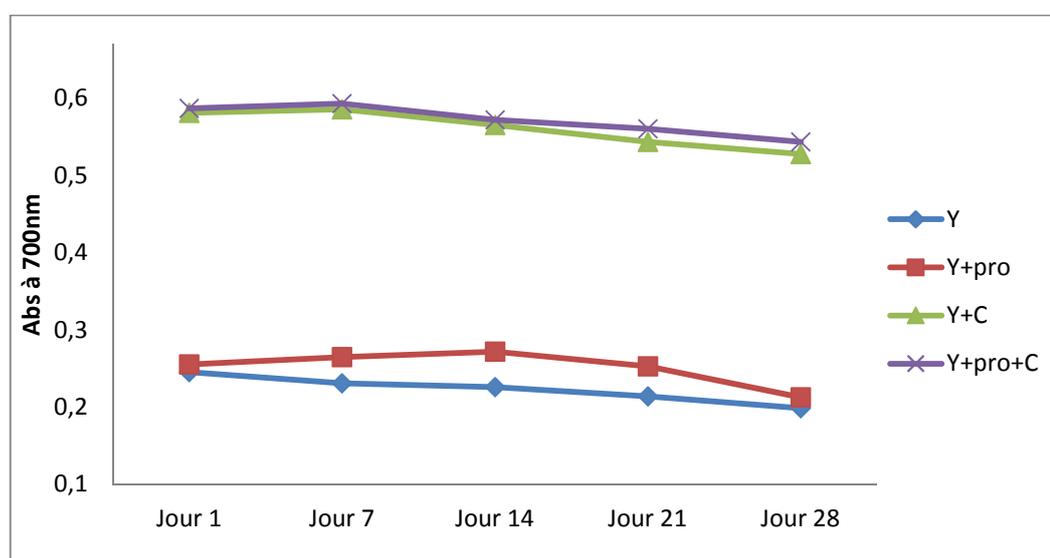


Figure 51 : Evolution du pouvoir réducteur des yaourts

IV.5. 4.3. Chélation du fer

Tous les extraits manifestent un pouvoir chélateur du fer. Ce dernier varie de 32,61% à 54,25 % et dépend ($p < 0,05$) des facteurs poudre, probiotique et durée de conservation (**figure 52**) avec une interaction entre eux. Les résultats obtenus sont représentés par la figure 53.

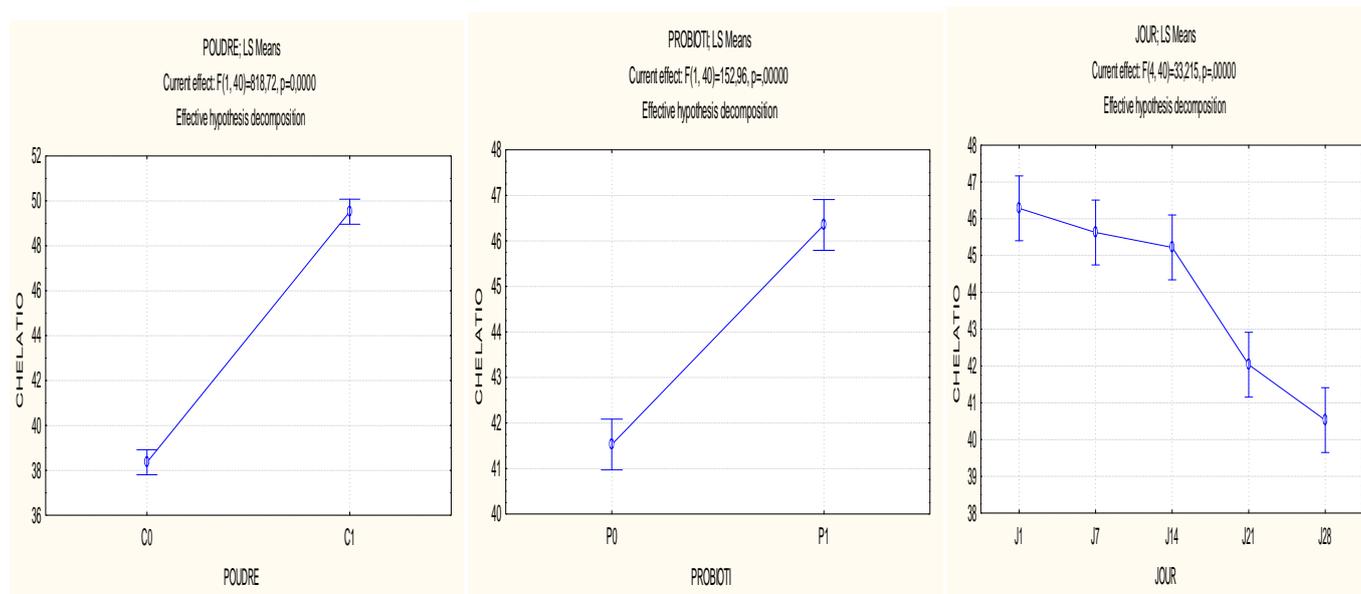


Figure 52: Résultats de l'analyse statistique de l'Evolution du Pouvoir réducteur en fonction de la présence ou l'absence de poudre (a), présence ou absence de probiotique (b) et en fonction de la durée de conservation (c). C0 : sans poudre, C1 : avec poudre, P0 : sans probiotique ; P1 : avec probiotique

Pendant les quatre semaines du stockage, le yaourt symbiotique enregistre le plus grand pouvoir chélateur du fer, par contre le yaourt contrôle affiche le plus faible pouvoir pendant cette période.

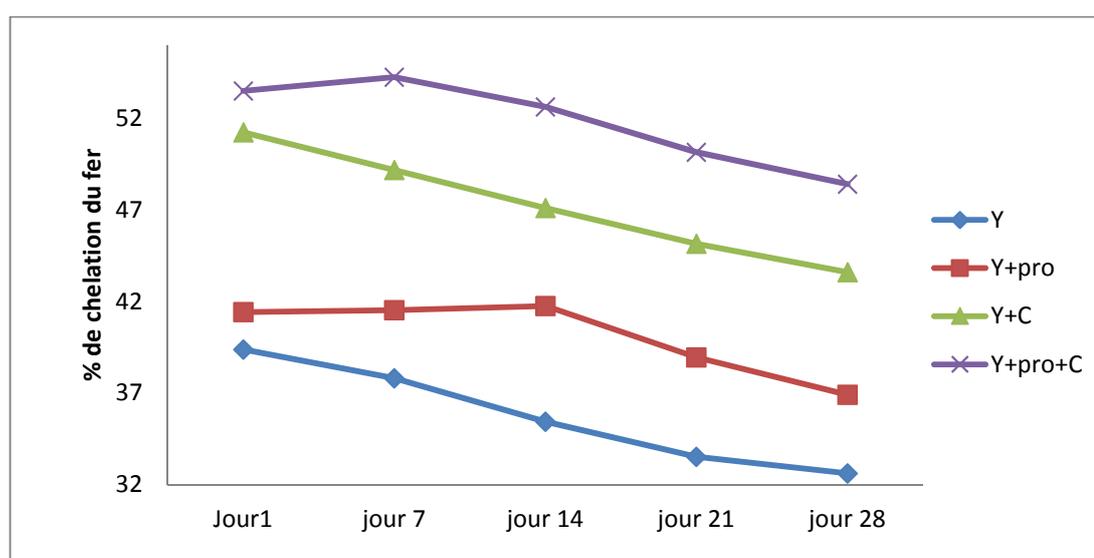


Figure 53 : Evolution du pouvoir chélateur du fer des yaourts

Au premier jour l'augmentation de la chélation du fer induite par la présence de la caroube s'élève à 30% (Y+C) et 35,8% pour le yaourt symbiotique (Y+pro+C).

Au cours du stockage les différents extraits manifestent une baisse d'activité ; cette dernière est plus marquée pour les yaourts sans poudre de caroube, particulièrement pour le yaourt simple.

Pour le yaourt simple (Y) et le yaourt avec poudre (Y+C) le maximum de chélation du fer est atteint au 1^{er} jour (39,4 et 51,24% respectivement). Pour le yaourt au probiotique il est atteint au 14^{eme} jour (41,76%) et pour le yaourt contenant la poudre et le probiotique au 7^{em} jour (54,25%).

V. Corrélations

Dans le but de déterminer les éventuels corrélations entre les différents constituants de la pulpe de caroube et afin d'évaluer la contribution des différentes classes de composés phénoliques à l'efficacité antioxydante, une matrice de corrélations est réalisé.

Des corrélations positives significatives ($p < 0,05$) sont observés entre le pouvoir antiradicalaire du DPPH et la teneur en phénols totaux solubles ($r=0,984$), en flavonoïdes ($r=0,781$), en tanins condensés ($r=0,974$) et en tanins précipité par la BSA ($r=0,896$).

Nous notons aussi une corrélation hautement significatif entre le pouvoir réducteur et les phénols totaux solubles ($r=0,975$), les flavonoïdes ($r=0,895$), les tanins condensés ($r=0,925$) et les tanins attaché à la protéine ($r=0,964$). Une corrélation hautement significative est en parallèle observée entre le pouvoir chélateur du fer et la teneur en polyphénols totaux solubles, les flavonoïdes ainsi que les tanins précipités par la BSA, les coefficients de corrélations sont de 0,850 ; 0,978 et 0,873 respectivement.

Des corrélations positives très hautement significatif existent entre les différentes activités antioxydantes. Le pouvoir antiradicalaire et le pouvoir réducteur avec un coefficient $r=0,964$; le pouvoir chélateur du fer et le pouvoir réducteur avec un coefficient $r=0,913$.

Pour les yaourts, des corrélations positives très hautement significatif ($p < 0,001$) sont observés entre la teneur en phénols totaux solubles et le pouvoir antiradicalaire du DPPH ($r=0,980$), le pouvoir réducteur ($r=0,992$) et la chélation du fer ($r=0,838$).

L'analyse statistique des données montre une corrélation hautement significatif négative entre le pH et l'acidité titrable ($r=-0,898$; $p < 0,001$). Nous avons notés aussi des corrélations positives significatives ($p < 0,05$) entre les colonies des ferments et le pouvoir chélateur du fer ($r=0,455$, $p < 0,001$) et aussi entre les colonies du probiotique et le pouvoir chélateur du fer ($r=0,379$, $p=0,03$).

Il existe des corrélations positives très hautement significatif entre les différentes activités antioxydantes des yaourts. Le pouvoir antiradicalaire et le pouvoir réducteur avec $r=0,995$, le pouvoir chélateur du fer et le pouvoir réducteur avec $r=0,885$. Le pouvoir antiradicalaire et la chélation du fer $r=0,911$.

Tableau XII : matrice des corrélations

Variables	PTS	FLAV	T/Hydrolysables	T/Condensés	PTS non lié à la BSA	Tanins attachés à la BSA	DPPH Pouvoir antiradicalaire	Pouvoir réducteur	Chélation Fer
PTS	1								
FLAV	0,816**	1							
T/Hydrolysables	0,892**	0,750	1						
T/Condensés	0,958***	0,703*	0,770*	1					
PTS non attache à la BSA	0,654*	0,425	0,527	0,719*	1				
DPPH Pouvoir antiradicalaire	0,984***	0,781*	0,836*	0,974***	0,689*	0,896***	1		
Pouvoir réducteur	0,976***	0,895***	0,842*	0,925***	0,620*	0,939***	0,964***	1	
Chélation Fer	0,850***	0,978***	0,776*	0,752	0,404	0,873***	0,803*	0,913***	1

(*) : La corrélation est significative ($p < 0,05$).

(**) : La corrélation est hautement significative ($p < 0,01$).

(***) : La corrélation est très hautement significative ($p < 0,001$).

Tableau XIII : matrice des corrélations pour les yaourts

Variable	PH	ATT	SYNERESE	Colonies de ferments	Colonies de probiotique	PTS	Pouvoir antiradicalaire du DPPH	Pouvoir réducteur	Chélation du fer
PH	1								
ATT	-0,898***	1							
SYNERESE	-0,598***	0,800***	1						
Colonies des ferments	0,307*	-0,218	-0,058	1					
Colonies de probiotique	-0,089	0,076	-0,030	0,7***	1				
PTS	-0,431*	0,694	0,952***	0,065	0,0194*	1			
Pouvoir antiradicalaire du DPPH	-0,306	0,592***	0,891***	0,211	0,110	0,980***	1		
Pouvoir réducteur	-0,373*	0,647***	0,922***	0,152	0,079	0,992***	0,995***	1	
Chélation du fer	-0,155	0,418*	0,698***	0,455***	0,379**	0,838***	0,911***	0,885***	1

(*): La corrélation est significative ($p < 0,05$).

(**): La corrélation est hautement significative ($p < 0,01$).

(***): La corrélation est très hautement significative ($p < 0,001$).

VI. Discussion générale

La pulpe de caroube se caractérise par sa richesse en sucres solubles (65,64g/100 MS) qui dépasse les valeurs retrouvées dans la littérature : **Avallone et al.(1997)**(45 g/100 MS), **Ayaz et al., (2009)** (24,5 g/100 MS), **Bernardo-Gil et al. (2011)** (51 g/100 MS) ; par contre la teneur en lipides est faible (0,84%), elle est inférieure à celle notée par **Ayaz et al.(2009)** (4,44%) et supérieure à celle de **Bernardo-Gil et al. (2011)** (0,61%) et **Avallone et al. (1997)** (0,6%). Les cendres représentent 3,66% du poids sec et la cellulose 8,57%, ces valeurs rejoignent celles retrouvées par **Bernardo-Gil et al. (2011)** : cendres (4,44%), cellulose (7,64%). Les protéines sont aussi présentes en faible quantité (4,45g/100g MS) et rejoint la valeur retrouvée par **Bernardo-Gil et al. (2011)** (4,7g/100gMS) et **Avallone et al. (1997)** (3 g/100g MS).

L'extraction a pour but de faire diffuser dans la phase liquide les composés phénoliques présents dans la matrice végétale (**Escribano-Baillon et Santos-Buelga, 2003**). Cette extraction des composés phénoliques de leur matrice naturelle est compliquée du fait de leur grande diversité structurale et leur sensibilité à l'oxydation et à l'hydrolyse (**Bruneton et al., 1996**). Dans nos conditions expérimentales, l'eau n'est pas le solvant idéal pour l'extraction des composés phénoliques de la pulpe de caroube. L'utilisation d'un solvant binaire s'accompagne d'une augmentation globale du taux des phénols totaux soluble de 3,67% à 45,85%. Pour les flavonoïdes cette amélioration varie de 0,92% à 51,75%. Pour toutes les classes de composés phénoliques dosées le méthanol 60 % s'est avéré plus efficace pour solubiliser ces constituants. En revanche la substitution totale de l'eau par le méthanol s'accompagne d'une diminution des teneurs en flavonoïdes de 12,1%, des tanins hydrolysables de 23,11% et des tanins précipités par la BSA de 15,84%.

Les différents dosages réalisés confirment la présence de plusieurs classes de composés phénoliques (phénols totaux solubles, flavonoïdes, tanins condensés, tanins hydrolysables,...).

Globalement, les teneurs en phénols totaux solubles s'intègrent dans l'intervalle des valeurs retrouvées dans la littérature : **Cavdarova et Makris. (2014)** (3,67 à 11,31 mg Eq AG/g MS) ; **Corsi et al. (2002)** (1.36 mg Eq AT/g MS) **Roseiro et al. (2013)** (5,8 à mg Eq AG/g MS), **Makris et Kefalas (2004)** (0.19 à 9.28 mg Eq AG/g MS) et **Avallone et al. (1997)** (2 à 19,5 mg Eq AG/g MS). Les teneurs en flavonoïdes aussi s'intègrent dans l'intervalle des valeurs retrouvées par **Benchikh et al. (2014)** (0,105 à 0,175 mg Eq Q/g MS).

Notre caroube s'avère plus riche en tanins hydrolysable (1,58 à 3,1 mg Eq AT/g MS) comparé aux données d'**Avallone et al.(1997)**. Les teneurs en tanins condensés (1,06 à 2,26 mg Eq CAT/g MS) se rapprochent de celles du même auteur (2,75 à 2,26 mg Eq CAT/g MS).

La comparaison des teneurs en composés phénoliques avec les données de la littérature demeure difficile. Les différences peuvent être attribués à plusieurs paramètres qui interviennent (origine géographique de l'échantillons et condition d'extraction) **Benchikh et al .,(2014)**.

Nos données suggèrent que les systèmes de solvants binaires sont plus performants et favorables que les systèmes de solvants purs et s'accordent avec les résultats de **Wang et al.(2009)** travaillant sur les algues islandais, **Turkmen et al. (2006)** sur le thé et **Cavdarova et Makris (2014)** sur la caroube. Des améliorations avec du méthanol aqueux peuvent être dues à l'augmentation de sa polarité avec l'eau sachant qu'il est le solvant le plus polaire.

L'activité antiradicalaire des extraits de caroube est inférieure à celle retrouvée par **Roseiro et al. (2013)**. Des corrélations positives très hautement significatives ($p < 0,05$) sont observés entre le pouvoir antiradicalaire du DPPH et la teneur en phénols totaux solubles ($r=0,984$), en flavonoïdes ($r=0,781$) et en tanins condensés ($r=0,974$). Une corrélation linéaire positive très hautement significatif est observée par plusieurs auteurs entre la teneur en phénols totaux solubles et pouvoir antiradicalaire du DPPH (**Wang et al., 2009; Tawaha et al., 2007; Turkmen et al., 2006; Djeridane et al., 2006**).

En accord avec les résultats de **Benchikh et al. (2014)** (ayant travaillé sur les changements phytochimiques et activités antioxydantes de la caroube au cours de sa maturation), nous avons noté une corrélation hautement significative entre le pouvoir réducteur et les phénols totaux solubles ($r=0,975$) et les flavonoïdes ($r=0,895$); et une entre le pouvoir chélateur du fer et la teneur en polyphénols totaux solubles et les flavonoïdes, les coefficients de corrélations sont de 0,850 ; 0,978 respectivement.

Des corrélations positives très hautement significatif existent entre les activités antioxydantes. Le pouvoir antiradicalaire et le pouvoir réducteur avec un coefficient $r=0,964$; le pouvoir antiradicalaire et la chélation du fer ($r=0,803$); le pouvoir chélateur du fer et le pouvoir réducteur avec un coefficient $r=0,913$. **Benchikh et al., (2014)** rapportent aussi une corrélation très hautement significative entre le pouvoir réducteur et le pouvoir antiradicalaire du DPPH ($r=0,996$); la chélation du fer et le pouvoir antiradicalaire ($r=0,739$); la chélation du

fer et le pouvoir réducteur ($r=0,739$). Cela implique qu'il y a une similitude entre les mécanismes antioxydants étudiés dans les extraits bruts et que les molécules responsables de ces effets antioxydants peuvent être les mêmes.

Des yaourts probiotiques aux fruits tels que la fraise, la banane et l'acai ont été préparés par plusieurs auteurs. Des yaourts probiotiques sont aussi préparés avec des légumineuses (**Agil et al., 2012 ; Zare et al., 2012**), par contre un yaourt probiotique avec de la poudre de caroube n'as jamais été précédemment étudié.

Le pH du yaourt est un facteur important qui renseigne sur l'activité acidifiante des bactéries lactiques. L'acidité produite permet d'assurer la qualité hygiénique et organoleptique du produit et réduire le développement des contaminants tel que les bactéries pathogènes et les moisissures. Dans nos conditions expérimentales, l'incorporation de la poudre de caroube s'accompagne d'une réduction du pH et d'une augmentation de l'acidité. La production d'acides organiques (lactique, acétique, butyrique, formique, citrique) est en relation linéaire avec l'augmentation de l'ATT. La production d'acide lactique est supérieure à celle rapportée par **Almeida et al. (2008)** pour la pulpe d'açaï et **Ilupapalayam et al. (2014)** pour le yaourt aux herbes fines. En présence de poudre les bactéries sont potentiellement plus actives et produisent plus d'acide lactique. D'autre métabolites (lactate et éthanol) sont des produits de fermentation du glucose qui n'affectent pas le pH mais exercent un effet positif sur la viabilité des cellules, en plus la production de composés volatils augmente la viabilité de ces cellules sans affecter le pH (**Agil et Hosseinein, 2012**).

La synérèse ou la séparation du lactosérum du gel protéique est un phénomène physique visible qui affecte l'acceptabilité du yaourt par le consommateur. La synérèse d'un yaourt au lait de vache entier est comprise entre 43 to 47% (**Zanhi et Jideani., 2012**). En accord avec **Aryana et McGrew (2007)** la synérèse augmente dans nos échantillons au cour du stockage du yaourt. Dans nos conditions expérimentales, l'incorporation de la poudre de caroube augmente ce phénomène de 32,67 %. **Srisuvor et al., (20013)** ont justifié sa par l'activité protéolytique des bactéries lactiques qui hydrolysent les micelles de caséines au cour du temps.

Pour réduire le phénomène de synérèse des yaourts supplémentés, les industries utilisent les concentrés de protéines lactosériques ou les caséines (**Ramírez-Sucre et al., 2013**) ; d'autres utilisent des stabilisants et des agents de textures qui augmentent la viscosité en augmentent la rétention de l'eau du gel comme les polydextroses (**Ye et al., 2013 ; Srisuvor et al., 2013**).

Nous avons noté aussi que notre souche de probiotique diminue la synérèse de 2,97 %. En effet quelques souches de bifidobactéries sont connues par leur capacité à produire des exopolysaccharides (EPS) molécules à caractère épaississant capables de retenir l'eau (**Liu et al., 2014**)

Le dénombrement des probiotiques et des ferments est légèrement difficile. Ces bactéries ont des exigences similaires pour leur croissance et elles ont des caractéristiques biochimiques proches, mais l'anaérobiose permet de sélectionner les bifidobactéries (**Tabasco et al., 2007**). Le codex alimentaire, relatif aux laits fermentés établit que le nombre des ferments du yaourt doit être au moins 10^7 UFC /g. Le nombre de colonies des ferments (*S. thermophilus* et *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*) de nos yaourt a dépassé cette valeur et elle est maintenue pendant toute la période de stockage.

La présence de la caroube et le probiotique ont affecté la viabilité des ferments. Nous avons observé que le nombre maximum de colonies est obtenu avec le yaourt contenant le probiotique. **Vasiljevic et Shah (2006)** ont rapporté, aussi que la viabilité de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* est augmentée significativement en présence d'un mélange de souches de probiotique : *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* et *Lactobacillus paracasei*. Cela peut être exprimé par une compétition entre les ferments et les probiotiques en augmentant le nombre de cellules bactériennes.

Nous notons que c'est en présence de poudre de caroube que le nombre de colonies du probiotique est plus important. La croissance bactérienne s'établit dans une gamme comprise entre 6,76 à 7,59 Log UFC/ml dans le yaourt simple (témoin) et 7,25 à 7,88 Log UFC/ml dans le yaourt contenant la poudre. Des observations similaires sont rapportées par **Esperito Santo et al. (2010)** travaillent sur les poudres d'açaï et **Agil et Hosseinein (2012)** pour les lentilles et **Boudjou et al. (2014)** pour la fève.

Cette meilleure croissance des microorganismes en présence de poudre s'explique par un apport élevé en hydrates de carbone et en micronutriments contenus dans la poudre. **Bomba et al. (2002)** rapportent que certains éléments chimiques tels que le fer et le magnésium permettent l'augmentation de la viabilité des probiotiques. Les produits finaux du métabolisme des glucides (acide gras à courte chaîne) confèrent un effet positif sur les probiotiques en leur servant de source d'énergie (**Koplan et Hutkins, 2000**).

Ce résultat indique que la caroube peut avoir un effet sélectif sur la stimulation de la croissance des probiotique ; cet effet peut être du aux éléments apporté par la caroube qui fournit un milieu sélectif favorisant la production d'acide lactique.

Le nombre de probiotique exigé dans un produit finie varie d'un pays à un autre. Selon **Saran et al., (2012)**, il doit être supérieur à 10^6 CFU/g pour qu'il puisse conférer des effets de santé bénéfiques pour le consommateur . Pour nos yaourts ce nombre est maintenu pendant toute la période du stockage. Le nombre initial de bactéries commence à baisser a partir du 21 jour. La réduction de la quantité de prébiotiques et de micronutriments dans le yaourt serait à l'origine de ce phénomène.

Les bienfaits des composés phénoliques suggèrent des effet bénéfique et varié sur la santé de l'Homme : activité antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne, effet cardio-protecteur et neuro-protecteur (**Selma et al., 2009**). Ces effets ont été corrélés avec une réduction de pathologies dégénératives ou chroniques tel que les maladies cardiovasculaires et le cancer (**Karaaslan et al., 2011**). Il est important de suivre et de comprendre l'évolution des composés phytochimiques du yaourt pendant sa durée de vie afin de prédire les effets bénéfiques réel de sa consommation sur la santé de l'Homme (**Oliveira et al., 2015**).

Les teneurs en composés phénoliques des yaourts à la caroube sont plus élevées que celle du yaourt contrôle. La présence de composés phénoliques dans le yaourt non supplémenté et du aux polyphénols liés aux protéines du lait de vache (**Amirdivani et Baba, 2011**). A la fin de la période de stockage nous avons noté des diminutions quantitative en PTS dans les quatre yaourts (Y, Y+pro, Y+C, Y+pro+C) varient de 3,43% à 29,32%. Selon **Oliveira et al. (2015)** (ayant travaillé sur le yaourt à la fraise) les diminutions en composés phénoliques dans le yaourt pendant son stockage sont du à leur complexassions avec les protéines sériques tel que la -lactoglobuline (-LG) et l' -lactalbumine. Ces protéines sont dotés d'une grande affinité aux polyphénols ; les interactions sont des liaisons d'hydrogène entre le OH du noyau aromatique et le groupement carboxyle de la chaine latérale de l'acide aminé. La formation du complexe protéines-polyphénols est influencée par la nature de la protéine (nombre de résidu proline) et la structure des polyphénols.

Nos résultats permettent de prévoir des possibilités dans l'avenir, dans le but de réduire le phénomène de complexassions des protéines avec les différentes classes de composés phénoliques et par conséquences augmenter leur biodisponibilité dans le yaourt. Cette possibilité suggère l'addition de substances hydro-colloïdale neutre tel que les xanthanes

(**Oliveira et al., 2015**). En effet plusieurs études ont démontré l'habilité de quelque polysaccharides tels que la pectine, les xanthanes et les cyclodextrines à interagir avec les polyphénols (**Marcheix et al., 2005**). Ces carbohydrates, ont la capacité de développer la structure en gel dans la solution, qui est capable d'encapsuler les polyphénols et d'empêcher leur interaction avec les protéines (**De Freitas et al., 2003**).

Pendant toute la période du stockage, l'activité antioxydante des yaourts est supérieure à leur contrôle. Nos résultats de l'activité antiradicalaire sont supérieur à ceux d' **Ilupapalayam et al., (2014)**. L'incorporation de la poudre permet d'augmenter le pouvoir antiradicalaire de 62,8% ; ces résultats sont en accord avec **Najgebauer-Lejko et al., (2011)** qui ont rapportés que l'incorporation des extrait de feuille de thé vert dans le yaourt augment son pouvoir antiradicalaire de 31%. La présence de la poudre à aussi augmenté le pouvoir réducteur de 136,82% et le pouvoir chélateur du fer de 30%.

En parallèle ; nous avons observé que notre souche de probiotique augmente aussi le pouvoir antioxydant du yaourt. Dans le test du DPPH, il est augmenté de 3,58% et de 4,07% pour le pouvoir réducteur et de 5,15 % pour la chélation du fer. **Li et al., (2014)** ont rapporté que *Bifidobacterium animalis* ssp.*Lactis* (*Bb12*) a un potentiel antioxydant important. Cet effet à été attribué aux exopolysaccharides (EPS) qu'elle produit et quelques peptides bioactifs qui proviennent de son activité protéolytique.

Les grandes capacités antioxydantes des yaourts ont été enregistrés la ou on a eu le maximum de colonies bactériennes, ces résultats suggèrent que cet effet antioxydant est du à l'effet combiné de la caroube et les métabolites actives des bactéries lactiques vivantes. Cette constatation est aussi rapporté par **Ilupapalayam et al. (2014)** pour le yaourt probiotique aux épices. La diminution du pouvoir antioxydant dans les yaourts au cour du stockage est peut être du à la dégradation des composés phénoliques par les bactéries ou à l'augmentation des interactions protéines-polyphénols (**Amirdivani et Baba, 2011**).

L'analyse statistique des donnés montre une corrélation significative négative entre le pH et l'acidité ($r=-0,8985$; $p < 0.01$). La même observation est constaté par Boudjou et al 2014 ($r = -0.77$ à -0.99 , $p < 0.01$) pour le kéfir à la fève.

Des corrélations positives très hautement significatives ($p < 0,001$) sont observés entre la teneur en phénols totaux solubles et le pouvoir antiradicalaire du DPPH ($r=0,980$). Ce résultat est en contraste avec celui de **McCue et Shetty (2005)** qui ont rapporté une corrélation

significative mais négatif ($r = -0.79$) ; ils ont expliqués cela par le fait que les bactéries lactique dégradent les polymères de composés phénoliques et libèrent en parallèle d'autres composés solubles à potentiel antioxydant.

La corrélation positive très hautement significative ($p < 0,001$) entre les teneurs en PTS et le pouvoir réducteur ($r = 0,992$) ainsi que la chélation du fer ($r = 0,838$) suggère que les composés phénoliques apportés par la poudre de caroube participent activement au potentiel antioxydant du yaourt supplémenté. Nous avons noté des corrélations positives significatives entre le pouvoir chélateur du fer et les colonies des ferments ($r = 0,455$, $p < 0,001$) ainsi que les colonies de probiotique ($r = 0,379$, $p < 0,01$), cela implique que nos bactéries lactiques participent au pouvoir antioxydant du yaourt par leur métabolites actifs qu'elles produisent.

Il existe des corrélations positives très hautement significatives entre les différentes activités antioxydantes des yaourts. Le pouvoir antiradicalaire et le pouvoir réducteur ($r = 0,995$), le pouvoir chélateur du fer ($r = 0,911$). Cela indique qu'il ya une similitude entre les mécanismes antioxydants étudiés.

Notre yaourt à la caroube se caractérise par son pH faible et son acidité élevée et sa charge microbienne élevée pendant la période de stockage. Ces conditions permettent d'augmenter l'effet bifidogénique tel que la résistance à l'acidité gastrique, l'amélioration de la digestion des protéines et la résistance aux infections par les agents pathogènes. Les résultats de ce travail offrent une alternative importante pour l'utilisation de la caroube dans la formulation d'aliments fonctionnels avec des effets bénéfiques sur la santé de l'Homme.



Conclusion

Conclusion

Les différents dosages réalisés sur la pulpe ont révélé la présence de plusieurs classes de composés phénoliques : Phénols totaux solubles (6,10 à 8,9 mg EqAG/g MS) ; flavonoïdes (0,06 à 0,11 mg EqQ/gMS) ; tanins hydrolysables (1,58 à 3,1mgEq AT/g MS) et tanins condensés (1,06 à 2,26 mg Eq CAT/g MS). Les teneurs en ces composés dépendent bien du solvant d'extraction utilisé. Les extraits hydro-alcooliques sont plus riches en composés phénoliques que les extraits aqueux et alcooliques.

Les différents extraits testés ont manifestés une activité anti oxydante mesurée *in vitro* par le test du DPPH, le pouvoir réducteur et le pouvoir chélateur du fer. Le pouvoir antiradicalaire varie de 57,2 à 71,26% et le pouvoir réducteur (mesuré par l'absorbance à 700nm) varie de 0,26 à 0,52 ; le pouvoir chélateur du fer est compris entre 43,88 à 58,4 %. L'extrait méthanolique 60% a manifesté la plus forte activité antioxydante pour tous les tests.

Nos résultats statistiques ont montré l'implication des mêmes composés phénoliques aussi bien dans l'activité antiradicalaire que le pouvoir réducteur et le pouvoir chélateur du fer. Les phénols totaux solubles et les flavonoïdes semblent les participants majeurs dans l'activité anti oxydante des extraits bruts.

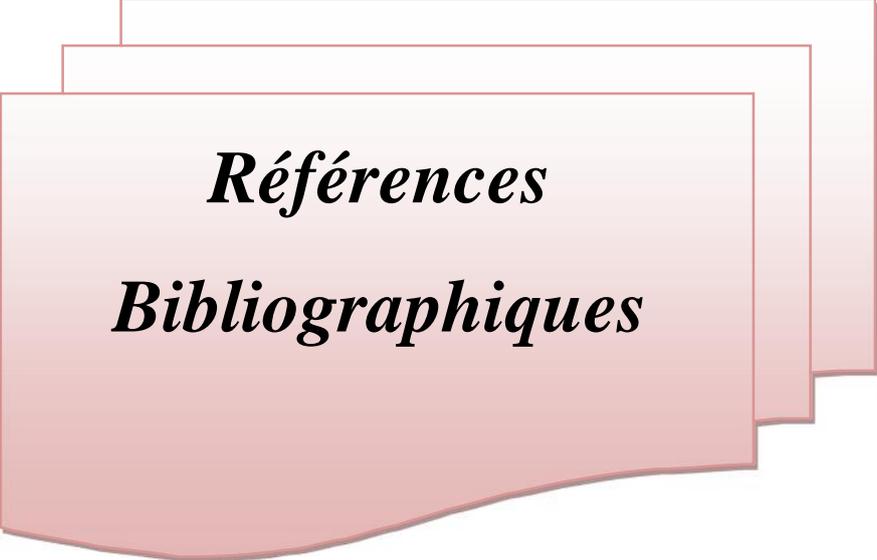
Une concentration de 4% de poudre de caroube est incorporé dans le yaourt contenant des ferments lactiques, avec ou sans probiotique. L'incorporation de cette poudre a permit d'augmenter son acidité de 42,5% et de diminuer son pH de 11,77%, les bactéries sont potentiellement plus actives et produisent plus d'acide lactique. Le nombre de colonies de probiotiques est aussi augmenté de 7,2%.

L'activité antioxydante du yaourt est augmentée en présence de poudre, cette augmentation varie de 30,6% à 136,82% en fonction du test effectué.

Les teneurs en composés phénoliques des yaourts diminuant au cours du stockage. La complexations de ces composés avec les protéines du lait serait responsable de cette diminution. Le phénomène de la synérèse est plus important dans le yaourt contenant la caroube ; la présence du probiotique a permis de réduire ce phénomène de 3%.

Les résultats de cette étude montrent que la poudre de caroube (riche en sucre et composés phénoliques) peut servir de nouveau prébiotique dans la formulation d'aliments fonctionnels sachant qu'elle offre un milieu favorable ou sélectif au développement de probiotique. Nos résultats méritent d'être complétés et il serait alors intéressant de :

- Identifier et quantifier les différents constituants phénoliques de la pulpe de caroube
- Evaluer le potentiel antimicrobien des extraits bruts
- approfondir l'étude des polysaccharides autant que facteur de croissance des probiotiques et d'évaluer leur activité antioxydante.
- Faire une évaluation sensorielle pour les échantillons de yaourt
- Evaluation de l'activité antibactérienne des échantillons des yaourts.



Références

Bibliographiques

-A-

AFSA (2005). Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte : 19-22.

Agil R., Hosseini F. (2012). Dual Functionality of triticale as a novel Dietary Source of Prebiotics with Antioxidant Activity in Fermented Dairy Products .*Plant Foods Human Nutrition*. 67:88-93.

Agil R., Gaget A., Gliwa J., Avis T.J., Willmore W.G., Hosseini F. (2013). Lentils enhance probiotic growth in yogurt and provide added benefit of antioxidant protection. *Food Science and Technology*. 50:45-49.

Agrawal R. (2005). Probiotics: An emerging food supplement with health benefits. *Food Biotechnology*. 19:227–246.

Allane. T, Benamara.S. (2010). Activités antioxydantes de quelques fruits communs et sauvages d'Algérie. *Phytothérapie*, 8: 171–5.

Alexandre Y., Le Blay G., Boisramé-Gastrin S., Le Gall F., Héry-Arnaud G., Gouriou S., Vallet S., Le Berre R. (2014). Probiotics: A new way to fight bacterial pulmonary infections. *Médecine et Maladies Infectieuses* .44: 9–17.

Almeida, M. H. B., Szoellner, S. S., Cruz, A. G., Moura, M. R. L., Carvalho, L. M. J., Freitas, Anderson D.A. (2008). Potentially probiotic açai yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* .61(2) :178-182.

Amana K. (2007). Les anacardiaceae du togo: tudes botaniques, cologiques et propriétés antifongiques. Thèse de Doctorat de l'Université de Reims Champagne-Ardenne. 182.

Amirdivani S., Baba A.S. (2011). Changes in yogurt fermentation characteristics, and antioxidant potential and in vitro inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. *Food Science and Technology*. 44: 1458e1464.

Anderson N. (2004). Probiotics market face EU challenge. *Breaking News on Supplements, Nutrition & Healthy Foods*. 08:1.

AOAC. (1990): Official Methods of Analysis, 14th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.

Aravodis E. (2005). Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* .4 (2): 128-133.

Arora T., Satvinder S., Kumar Sharma R. (2013). Probiotics: Interaction with gut microbiome and antiobesity potential. *Nutrition*. 29: 591–596.

Aryana K.J., McGrew P. (2007). Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *Swiss Society of Food Science and Technology*. 40: 1808–1814.

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

Ayaz F.A., Torun H., Robert H., Bak Z. D., Luther T., Presley C.M., Andrews R. (2009). Nutrient Content of Carob Pod (*Ceratonia siliqua L.*) Flour Prepared Commercially and Domestically. *Plant Foods Human Nutrition*. 64:286–292.

Aziman N., Abdullah N.,Noor Z.M., Zulkifli K. S., et Kamarudin W. S. S. W. (2012). Phytochemical constituents and *in vitro* bioactivity of ethanolic aromatic herb extracts.Sains *Malaysiana*. 41(11): 1437–1444.

-B-

Badiaga M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia smith* une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse Doctorat en chimie organique de l'Université de Bamako. 132.

Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luycky, M., Gazin, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*. 46: 1086-1089.

Barak S., Mudgil D . (2014). Locust bean gum: Processing, properties and food applications—A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 66: 74–80.

Barracosa P., Osorio J., Cravador A. (2007). Evaluation of fruit and seed diversity and characterization of carob (*Ceratonia siliqua L.*) cultivars in Algarve region. *Scientia Horticulturae* 114: 250–257.

Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*. 9: 5-21.

Basli A. , Chibane M., Madani K., Oukil N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*.10:2–9.

Bastida S., Francisco J. Sánchez-Muniz a, Raul Olivero a,c, Lourdes Pérez-Olleros a, Baltasar Ruiz-Roso a, Francisco Jiménez-Colmenero. (2009). Antioxidant activity of Carob fruit extracts in cooked pork meat systems during chilled and frozen storage. *Food Chemistry* .116 (2009) 748–754.

Battle I., Tous J.(1997). Promoting the Conservation and Use of Underutilised and Neglected Crops 17 Carob Tree *Ceratonia Siliqua L.* *Institute of plant genetics and crop plant research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy: 92.*

Behrad S., Yusof M., Goh K., Baba, A. (2009). Manipulation of probiotics fermentation of yogurt by cinnamon and licorice: effects on yogurt formation and inhibition of *Helicobacter Pylori* growth in vitro. *World Academy of Science, Engineering and Technology*. 60: 2.

Benchikh Y., Louaileche H., George B., Merlin A. (2014). Changes in bioactive phytochemical content and in vitro antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua L.*) as influenced by fruit ripening. *Industrial Crops and Products* 60 : 298–303.

Ben Hsouna A., Trigui T., Ben Mansour R., Jarraya R., Damak M, Jaoua S. (2011). Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Ceratonia siliqua* essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology* 16: 1–3.

Ben Hsouna A., Saoudi M., Trigui M., Jamoussi K., Boudawara T., Jaoua S., El Feki A. (2011). Characterization of bioactive compounds and ameliorative effects of *Ceratonia siliqua* leaf extract against CCl₄ induced hepatic oxidative damage and renal failure in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 49: 3183–3191.

Bernardo-Gil M. G., Roquea R., Roseiro L.B, Duarte L. C., Giriob F, Esteves P. (2011). Supercritical extraction of carob kibbles (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal of Supercritical Fluids*. 59: 36–42.

Billerbeck VG, Roques C, Vanière P, Marquier P (2002) Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d’huiles essentielles. *Hygiènes*. 3(10): 248–51.

Blum S., Delneste Y., Alvarez S., Haller D., Perez P. F., Bode Ch. Hammes W. P., Pfeir A.M. A., Schiffrin E. J.(1999). Interactions between commensal bacteria and mucosal immunocompetent cells. *International Dairy Journal*.9: 63-68.

Bomba A, Nemcovà R, Mudronovà D, Guba P (2002). The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends Food Science Technology*. 13:121-126

Boual Z., Kemassi A., Michaud P., Ould el hadj M.D. (2011). Caracterisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d’ d’*asphodelus tenuifolius* cavan (Liliaceae): effet prébiotique des oligosaccharides issus de l’hydrolyse des polysaccharides. *Algerian Journal of Aarid Environment*.1 (2): 52-60.

Boudhioua N, Ben Slimen I, Bahloul N et Kechaou N. (2008). Etude du séchage par infrarouge de feuilles d’olivier d’origine tunisienne, Partie 2: Influence du séchage et du blanchiment sur les composés phénoliques totaux. *Revue des Energies Renouvelables SMSTS’08 Alger : 111 – 116*.

Boudjou S., Dave Oomah B., Hosseinian F., Zaidi F.(2012). Phenolics content and antioxidant and anti-inflammatory activities of legume fractions. *Food Chemistry*.138:1543-1550.

BoudjouS., ZaidiF., Hosseinian F., Oomah B. D.. (2014). Effects of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Flour on Viability of Probiotic Bacteria During Kefir Storage. *Journal of Food Research*. 3(6).

Bouhnik Y., Flourié B., D’Agay-Abensour L., Pochart P., Gramet G., Durand M., Rambaud J.C. (1997). Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *Journal of Nutrition*. 127: 444-448.

Bradford M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* . 72: 248-254 .

Bruneton J (1999). Flavonoïdes. In : Pharmacognosie, Phytochimie: Plantes médicinales, 3^{ème} édition, *Technique et Documentation* (Paris): 310-353.

Buddington K.K., Donahoo J.B., Buddington R.K. (2002). Dietary Oligofructose and Inulin Protect Mice from Enteric and Systemic Pathogens and Tumor Inducers. *American Society for Nutritional Sciences*.02 : 1-3.

Buddington R., Williams C., Chen S. and Whiterly S. (1996) Dietary supplement of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects. *American Journal of Clinical Nutrition* .63(5):709-716.

-C-

Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*.74 : 2157–2184.

Carrieri R., Carotenuto G., Lahoz E.. (2013). Characterization and pathogenicity of *Pestalotiopsis uvicola* causing black leaf spot on carob (*Ceratonia siliqua L.*) in Italy. *Eurepeen Journal of Plant Pathology*: 137:655–661.

Cavdarova M., Makris D.P.. (2014). Extraction Kinetics of Phenolics from Carob (*Ceratonia siliqua L.*) Kibbles Using Environmentally Benign Solvents. *Waste Biomass Valor*.10: 1-7.

Ceconi C., Boraso A, Cargnoni A., Ferrari R. (2003). Oxidative stress in cardiovascular disease: myth or fact? *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 420 : 217–221.

Cheyrier V. (2005). Polyphenols in food are more complex than offent thought. *American Journal of clinical nutrition*.81:223-330.

Chira K., Suh J.H., Saucier C., Teissedre P.L. (2008).Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*. 6 :75–82 .

- Chitapanarux T., Thongsawat S., Pisesongsa P. , Leerapun A., Kijdamrongthum P.(2015).** Effect of *Bifidobacterium longum* on PPI-based triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*: A randomized, double-blind placebo controlled study. *Journal of Functional Foods*. 13 : 289–294.
- Chow P. S., Landhäusser S. M. (2004).** A method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues. *Tree Physiology*. 24: 1129 –1136.
- Colarelli. (2010).** Les probiotiques, du conseil officinal à la prise en charge micronutritiomelle. Thèse de Doctorat.
- Colombo M , Zimmermann de Oliveira A. E. , Carvalho A. .F , Augusto Nero L. (2014).** Development of an alternative culture medium for the selective enumeration of *Lactobacillus casei* in fermented milk. *Food Microbiology* 39 : 89-95.
- Corsi L.,, Avallone R., Cosenza F., Farina F., Baraldi C., Baraldi M. (2002).** Antiproliferative effects of *Ceratonia siliqua* L. on mouse hepatocellular carcinoma cell line. *Fitoterapia* : 674–684.
- Corsetti A. et Settanni L (2007).** Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Research International*.40: 539-558.
- Corthier G. (2007).** Les probiotiques dans l’industrie alimentaire : que conseiller à nos patients ?. *Acta Endoscopica* 37 :367.
- Cowan Murphy M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *American Society for Microbiology*. Vol. 12, No. 4: 564-572.
- Cushnie. T.P. T, Andrew J. Lamb (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26, 343–356.
- Custódio L., Luísa Escapa A., Fernandes E., Fajardo A., Aligué R., Fernando A., Neng N., Nogueira F., Romano A. (2011).** Phytochemical Profile, Antioxidant and Cytotoxic Activities of the Carob Tree (*Ceratonia siliqua* L.) Germ Flour Extracts. *Plant Foods Human Nutrition*. 66:78–84.

-D-

Dacosta Y. (2001). Probiotiques et prébiotiques en alimentation humaine, *Lavoisier*, Paris : 21-25.

Dave R. I., Shah, N. P. (1996). Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruekii* spp *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*. 79: 1529–1536.

Delzenne N.M., Neyrinck A.M., Cani P.D. (2012). Implication du microbiote intestinal dans l'obésité et les pathologies associées : quelles perspectives thérapeutiques et nutritionnelles. *Obésité*. 7:234-239.

Delzenne N.-M., Cani P.-D. (2008). Les 10^{es} Entretiens de nutrition, institut Pasteur de Lille L'obésité, une maladie nutritionnelle ? La flore intestinale : un outsider imprévu. *Obésité* 3: 141–145.

Delzenne M., Kok N. (1999). Biochemical basis of oligofructose-induced hypolipidemia in animal models. *Journal of Nutrition* 129:1467-1470.

Derbel S., Ghedira K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*.1: 28-34.

Deshpande S. S., Cheryan M., Salunkhe D. K. (1986). Tannin analysis of food products. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 24(4), 401–449.

Dietrich H., Pour-Nikfardjam M.S. (2009). Influencee of phenolic compounds and tannins on wine-related micro-organismes in “Biology of micro-organismes on grapes, in must and in wine”. *Springer-verlag. Berlin* : 307-335.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J. F., Stocker, P. (2006). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*. 224: 801–809.

Drider D., Prévost H. (2009). Bactéries Lactiques : Physiologie, Métabolisme, Génomique et applications industrielles. *Edition : Economica Anthropos* : 2-19.

Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., et Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28(3): 350-356.

Ducrotté P. (2010). Diarrhée fonctionnelle. *Colon Rectum*. 4:100-105.

Ducrotté P. (2007). Syndrome de l'intestin irritable : rôle de la flore et intérêt potentiel des probiotiques. *Colon Rectum*. 1: 237–241.

Dunne C., O'Mahony L., Murphy L., Thornton G., Morrissey D., O'Halloran S., Feeney M., Flynn S., Fitzgerald G., Daly C., Kiely B., O'Sullivan GC., Shanahan F., Collins JK (2001). In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *American Journal of Clinical Nutrition* 73.386S-392.

Dupont C.(2000). Flore du nourrisson et immunité intestinale : implications et perspectives en alimentation infantile pour les probiotiques. *Revue de pédiatrie*.7.252-255.

-E-

Ejtahed, H. S., Mohtadi-Nia, J., Homayaouni-Rad, A., Naifar, M., Asghari- Jafarabadi, M., Mofid, V., et al. (2011). Effect of probiotics yoghurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* on lipid profile in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Dairy Science*, 94(7): 3288- 3294.

El Batal H. , Hasib A., Ouatmane A., Boulli A., Dehbi F., Jaouad A. (2013). Yield and composition of carob bean gum produced from different Moroccan populations of carob (*Ceratonia siliqua L.*). *Journal of Environement Science*.4 (2) : 309-314.

El-Haci I.A., Atik-Bekkara F., Didi A., Gherib M., Didi M.A.. (2012). Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*.10:280–285

El Hajaji H., Lachkar N., Alaoui K, Cherrah Y., Farah F., Abdesslam E 3, El Bali B., Lachkar M. (2010). Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of Three Varieties of Carob Tree Leaves from Morocco. *Natural. Product*. 4(4): 193-204.

El kabouss A., Charouf Z, Oumzil H., Faid M., Lamnaour D., Miata Y.,Miyaharak. (2001). Caractérisation des flavonoïdes des feuilles d'Arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels, Sapotaceae) et étude de leur activité antimicrobienne. *Agronomie et Vétérinaire*. 21 (3): 157-162.

Ersoy, N., Bagci, Y., & Gok, V. (2011). Antioxidant properties of 12 cornelian cherry fruit types (*Cornus mas* L.) selected from Turkey. *Scientific Research and Essays*. 6: 98-102.

Espirito Santo AP, Silva RC, Soares FASM, Anjos D, Gioielli LA, Oliveira MN. (2010). Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. *International Dairy Journal*. 20:415-422.

Escribano-Bailon M T., et Santos-Buegla C. (2003). Polyphenol extraction from foods. In: "method in polyphenols analysis". *Royal Society of Chemistry*. 1-16.

-F-

Fadel F., Chebli F.,Tahrouche S., Benddou A), Hatimi A. (2011). Activité antifongique d'extraits de *Ceratonia Sliqua* sur la croissance in vitro de *penicillium digitatum* . *Bulletin socioeconomique et Pharmacologique. Bordeaux*. 150(1-4): 19-30.

Femia A.P., Luceri C., Dolara P., Giannini A., Biggeri A., Salvadori M., Clune Y., Collins K.J., Paglierani M., Caderni G. (2002).Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus*and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane induced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis*.23: 1953-1960.

Fooks L.J., Gibson G. R. (2002). Probiotics as modulators of the gut flora. *British Journal of Nutrition*. 88: 39-49.

Franck A. (2002) Prébiotiques. In : Aliments Fonctionnels. *Ed Tec & Doc*. Londres-Paris-NewYork, 104-123.

Fuller R. (1991). probiotics in humanmedicineGut.32: 439-442.In: Bactéries lactiques et probiotiques de (Corrieu G, Luquet F.M). *TEC & Doc. Lavoisier*. Paris. 256.

-G-

Gaggia F., Mattarelli P., Biavati B. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology*. 141: 15–28.

Gibson G. R., Roberfroid M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*. 125:1401–1412.

Gibson G. R., Fuller R. (2000). Aspects of *in vitro* and *in vivo* research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. *Journal of Nutrition*. 130:391-395.

Gibson G. R. (2004). Prebiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. (18) 2: 287–298.

Gibson G. R., Probert H. M., Van Loo J., Rastall R. A., Roberfroid M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*. 17: 259–275.

Goulet O. (2009). Un probiotique pas comme les autres : d’une histoire tropicale à des propriétés biologiques et des effets cliniques prouvés. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*. 22 : 269—272.

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

Guignard J.L. (2001) .In *Botanique systématique moléculaire*. 12^{ème} Edition Masson (Paris), P: 304.

-H-

Hagerman A. E. (2002). Tannin chemistry. *Tannin Handbook*. 86: 104 -105.

Hagerman A. E., Butler L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 26 (4): 809 - 812.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J-O., Charlier C., et Chapelle J-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*. 62 (10): 628-638.

Halliwell B. (2007). Dietary polyphenols: Good, bad, or indifferent for your health?. *Cardiovascular Research* .73 : 341–347

Han X., Shen T., Lou H. (2007). Dietary polyphénols and their biological significance. *International Journal of Molecular Science*.8: 950-988.

Handa S. S. 2008. An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. In: “Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants”. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology Trieste Italy. 21-54.

Harborne J. B., Herbert B. (1995). Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants. *Bristol: Taylor & Francis*.

Hariri A, Ouis N., Sahnouni F, Bouhadi D. (2009), mise en œuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux à base des extraits de caroube, *review of microbiology and environn* : 37-55.

Haslam E.(1994). Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic acid metabolism. *Journal of Natural Products*. 11: 41-66.

Hennebelle T. (2004). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de la lamiles productrices d'antioxydants: *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées).Thèse de Doctorat en Chimie organique de l'Université des Sciences et Technologies de Lille. 304.

Holzappel W. et Schillinger. (2002). Introduction to pre- and probiotics. *Food Research International*. 35: 109–116.

Holzappel W.H., Haberer J., Snel U., Schillinger. (2001). Overview and probiotics. *International Journal of Food and Microbiology*. 41:85-101.

Hopkins G. (2003). Physiologie végétale. Deuxième édition: *boech et larcier*. ISBN:2-7445-0089-5 :267-268.

-I-

Illupapalayam V.V., Smith SC., Gamlath S. (2014). Consumer acceptability and antioxidant potential of probiotic-yogurt with spices. *LWT - Food Science and Technology*. 55: 255.

-J-

Jang M., Cai L., Udeani G.O., Slowing K.V., Thomas C.F., Beecher C.W.W., Fong H.H.S., Farnsworth N.R., Kinghorn A.D., Mehta R.G., Moon R.C., Pezzuto J.M.(1997). Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*. 275: 218-220.

Judde A. (2004). Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique: mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications?. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. 11(6): 414 -418.

-K-

Kailasapathy K. (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria : technology and potential applications. *Current Issues of Intestinal Microbioly*.3: 39-48.

Kaiserová H., Šim nek T., Wim J.F., Aalt B., Kvasni ková E. (2007). Flavonoids as protectors against doxorubicin cardiotoxicity: Role of iron chelation, antioxidant activity and inhibition of carbonyl reductase. *Biochimica et Biophysica Acta* .1772:1065–1074.

Kaloustian J., Chevalier J., Mikail1 C., Martino M., Abou L., Vergnes M.-F. (2008). Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*. 6: 160–164.

Kaplan H,Hutkins RW. (2000) Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Zppl Environ Microbiol* 66:2682-2684.

Karababaa, E., Coskunerb, Y. (2013). Physical properties of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.): An industrial gum yielding crop. *Industrial Crops and Products*. 42: 440– 446.

Karaaslan, M., Ozden, M., Vardin, H., & Turkoglu, H. (2011). Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *Food Science and Technology*. 44(4): 1065–1072.

Khalid N.M., Marth E.H.(1990). Lactobacilli, their enzymes and role. *In: Ripening and spoilage of cheese. Review of Dairy Science*. 73 : 158-167.

Kintzios S. E., et Barberaki M. G. (2004). Plant that fight cancer. *CRC Press* (Washington, Etats Units). pp: 16-18.

Kipnis É, Dessein R., Faure K., Guery B. (2012). Les thérapeutiques anti-infectieuses non antibiotiques. *Réanimation*. 21: 303-316.

Klemashevich1 C., Wu C, Howsmon1 D, Alaniz R. C., Lee K., Jayaraman A. (2014). Rational identification of diet-derived postbiotics for improving intestinal microbiota function. *Current Opinion in Biotechnology*. 2014 : 26:85–90.

Knol J., Scholtens P., Kafka C., Steenbakkers J., Gro S., Helm K., Klarczyk M. Schopfer H., Bockler H-M., Wells J.(2004). Colon Microflora in Infants Fed Formula with Galacto- and Fructo-Oligosaccharides: More Like Breast-Fed Infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 40:36–42

Kohen, R., Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*. 30: 620-650.

Konate I., Filali-Malfofi A., Berraho E-B. (2007). Diversity analysis of Moroccan carob (*Ceratonia Siliqua* L.) accessions using phenotypique traits and rapd markers. *Acta botanica*. 32:79-90.

Kolyva F, Emmanuel S., Rhizopoulou S., Chimona C., Costas F. (2012). Leaf surface characteristics and wetting in *Ceratonia siliqua* L. *Flora* .207: 551– 556.

Kontogianni V.G, Tomic G., Nikolic I., Nerantzaki A.A., Sayyad N., Stosic-Grujicic S., Stojanovic I., Gerothanassis I.P., Tzako A.G.(2013). Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti proliferative activity. *Food Chemistry*. 136 ,120–129.

Kaplan H, Hutkins RW. (2000) Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Environement Microbiology* 66:2682-2684

Koppea L., Fouquea D., Dugenetb Y., Soulagec C. (2011). Les prébiotiques améliorent les paramètres métaboliques chez la souris urémique. *Communications affichées / Néphrologie & Thérapeutique*.7: 407–410.

Kruger M.C., Fear A., Chua W., Plimmer G.G., Schollum L. (2009). The effect of *Lactobacillus rhamnosus* H N001 on mineral absorption and bone health in growing male and ovariectomised female rats. *Dairy Science and Technology*. 89: 219–231.

Kumbhare M.R., Sivakumar G. (2012). Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*.144-150.

-L-

Ladirata S.E., Scholsa, H.A., Nautab A., Schotermanb, M.H.C., . Schuren H.J., Gruppen H. (2014). In vitro fermentation of galacto-oligosaccharides and its specific size-fractions using non-treated and amoxicillin-treated human inoculum. *Bioactive Carbohydrate and dietary fibre*.3:59-70.

Lafuente E. O. (2006) : Stratégies d'émission de composés organiques volatils (COV) par quatre espèces végétales méditerranéennes : Effet de plusieurs facteurs écologiques sur l'émission et le stockage de terpènes : Docteur en biosciences de l'environnement option : Milieux Continentaux : Université de Provence Marseille, 234 p.

Laguerre M., Lecomte J., Villeneuve P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation : existing methods, new trends and challenges. *Programme Lipid Recherche* . 46, 244-82.

Lamaison J. L., Carnet A. (1990). Teneur en principaux flavonoïdes des fleurs et des feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq. et de *Crataegus laevigata* (Poiret) DC en fonction de la végétation. *Plant Médicinal Phytothérapie*. 25, 12-16.

Lamsal B.P., Faubion J.M. (2009). The Beneficial Use of Cereal and Cereal Components in Probiotic Foods. *Food Reviews International*. 25:103–114.

Leclerc H., Gaillard F.L., Simonet M.(1994). Les grands groupes de bactéries. *Dans: Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. DOIN. Paris. 445.*

Legrand B. (1977). Action de la lumière sur les peroxydases et sur la teneur en composés phénoliques de tissus de feuilles de *Cichurium intibus L.* cultivé in vitro. *Biologia plantarum*. 19(1) : 27-33.

Leivers S., Hidalgo-Cantabrana C., Robinson G, Margolles A , Ruas-Madiedo P, Laws A.P.(2011). Structure of the high molecular weight exopolysaccharide produced by *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis IPLA-R1 and sequence analysis of its putative eps cluster. *Carbohydrate Research*.346 : 2710–2717.

Lepengue A.N., Isaac Mouaragadja I., AKE S., M’batchi B. (2012). Quelques aspects biochimiques de la réaction de la roselle (*Hibiscus sabdariffa L. var. sabdariffa*) au stress salin. *Journal of Applied Biosciences*. 49, 3452– 3458.

Lestienne I., Icard-Verniere C., Mouquet C., Picq C., Treche S.(2005). Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. *Food Chemistry*. 89: 421–425.

Li S, Huang R, Shah N. P., Tao X, Xiong Y, Wei H. (2014). Antioxidant and antibacterial activities of exopolysaccharides from *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 and *Lactobacillus plantarum* R315. *Journal of Dairy Science*. 97 :7334-7343.

Li H., Wang X., Li Y., Li P., et Wang H. (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant properties selected Chinese wines. *Food Chemistry*. 112: 454-460.

Lilly D.M et Stillwell R.H.(1965). Probiotiques: Growth-promoting factors produced by microorganisms.*Science*.147: 747–748.

Liu X., Champagne C. P., Lee B. H., Boye J. I., Casgrain M. (2014). Thermostability of Probiotics and Their α -Galactosidases and the Potential for Bean Products. *Biotechnology Research International*. 2014 : 1-7

Lizardo R., Caellas J., Mas F., Torrallardona D. et Brufau J. (2002). L'utilisation de la farine de caroube dans les aliments de sevrage et son influence sur les performances et la santé des porcelets. *Journées de la Recherche Porcine*. 34:97-101.

-M-

Maataoui B.S, Hmyene A. et Hilali S. (2006). Activité antiradicalaire des extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*).. *Lebanese Science Journal*, 1(7) :1-6.

Macheix J. J., Fleuriot A., et Sarni-Manchado P. (2006). Composés phénoliques dans la plante-structure, biosynthèse, répartition et rôles. In: « Les polyphénols en agroalimentaire ». *Ed. Tec &Doc. Lavoisier* : 1-26.

Macleod G. et Forcen M.(1992). Analysis of volatile components derived from the carob bean *Ceratonia siliqua*. *Phytochemistry*. 31(9) : 3113-3119.

Makris D., Kefalas P. (2004). Carob Pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a Source of Polyphenolic Antioxidants. *Food Technology and Biotechnology*. 42 (2) : 105–108.

Mamadou B.(2002). Actions pharmacologiques des tanins. Thèse de Doctorat en Pharmacie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 57.

Mann, J. ; Davidson, R. S. ; Hobbs, J. B.; Banthorpe, D. V. ; Harborne, J. B. (1994). Natural Products. *Longman*. Ch. 7: 389.

Marfak A. 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. Thèse de Doctorat de l'université de Limoges. 186.

Martin. S., Andriantsitohaina.R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51: 304–315.

Martin F. P. , Wang Y., Sprenger N., Lundstedt T., Lek P., Rezzi S., Ramadan Z., van Bladeren P., Fay L.B., Kochhar S., Lindon J.C., Holmes E., Nicholson. J. K. (2008). Probiotic modulation of symbiotic gut microbial-host metabolic interactions in a humanized microbiome mouse model. *Molecular Biology*. 4:157.

Martinez FC., Balciunas E.M, Converti A., Cotter P.D., Oliveira R.P. (2013). Bacteriocin production by *Bifidobacterium* spp. *Biotechnology Advances*. 31: 482–488.

Martinez-Villaluenga C., Frias J., Vidal-Valverde C. (2008). Alpha-Galactosides: Antinutritional Factors or Functional Ingredients?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 48:301–316.

McCue P. P., Shetty K. (2005). Phenolic antioxidant mobilization during yogurt production from soymilk using Kefir cultures. *Process Biochemistry*. 40: 1791–1797.

Mercenier, A., Pavan, S., and Pot, B., 2002. Probiotics as Biotherapeutic Agents: Present Knowledge and Future Prospects. *Current Pharm and Design*. 8: 99-110.

Metchnikoff E.(1907). The prolongation of life. In *Optimistic Studies* (Heinemann W., Ed.), pp. 1-100. G. P. Putnam and Sons, London, UK.

Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharidies, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells : implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological reviews*. 52: 673-751.

Milane H.A., Ubeaud G., Thierry F., Jung L. (2004). Isolation of quercetin's salts and studies of their physicochemical properties and antioxidant relationships. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 12. 3627–3635.

Miller H. E., Rigelhof F., Marquart L., Prakash A., Kanter M. (2000). Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *Journal of American College Nutrition*. 19: 312-319.

Mokhtari M, Sharifi S., Tabatabaee M. (2011). The Effect of Hydro-alcoholic Seeds Extract of *Ceratonia siliqua* on the Blood Glucose and Lipids Concentration in Diabetic Male Rats. *International Conference on Life Science and Technology*. 3: 82-87.

Mole S., et Waterman P. G. (1987). A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies II. Techniques for biochemically defining tannins. *Oecologia*. 72: 148-156.

Morales P., Ramírez-Moreno E., Sanchez-Mata M., Carvalho A.M., Ferreira I. (2012). Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia*

joconostle F.A.C. Weber ex Diguet and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International*. 46: 279–285.

Mulvihill E.E, Huff M. W. (2010). Antiatherogenic properties of flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Cancer Journal and Cardiology*. 26: 17-22.

Mussamatto S. I., MancilhaI. M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: a review. *Carbohydrate Polymers*. 68:587-597.

-N-

Najgebauer-Lejko D., Sady M., Grega T., Walczycka M.(2011). The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt. *International Dairy Journal*. 21:568-574.

Nacz M et Shahidi F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054: 95-111.

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.

Ngounou C. J, Ndjouenkeu R., Mbofung C.M.F. , Noubi L. (2003). Mise en évidence de la biodisponibilité du calcium et du magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé de zébu. *Journal of Food Engineering*. 57: 301–304.

Nijveldt R.J., Nood E., Hoorn D., Boelens P.G., Norren K., et Leeuwen P. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*.74: 418-425.

Nishikawa M. (2008). Reactive oxygen species in tumor metastasis. *Cancer Letters*. 266: 53–59.

Nout M.J. (2009). Rich nutrition from the poorest – Cereal fermentations in Africa and Asia. *Food Microbiology*. 26: 685–692.

Nugent M. A. (2000). Heparin sequencing brings structure to the function of complex oligosaccharides. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 97:10301-10303.

-O-

Oliveira A., Alexandre M.C., Coelho M., Lopes C., Almeida D., Pintado M. (2015). Incorporation of strawberries preparation in yoghurt: Impact on phytochemicals and milk proteins. *Food Chemistry*. 171 : 370–378.

OMS (2008) .Rapports de situation sur les questions techniques et sanitaires. 61^{ème} assemblée mondiale de la santé.

Oomah, B. D., Corbé, A., & Balasubramanian, P. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58 : 8225–8230.

Orzechowski A., Ostaszewski., Jank M, Berwid S.J.(2002). Bioactive substances of plant origin in food – impact on genomics. *Reprod. Nutrition. Dev.* 42: 461–477

Ouattara S., Rivier L.T. , Icard Verniere C., Humblot C., Diawara, B., Guyot, J.P.(2008). Enzyme activities of lactic acid bacteria from a pearl millet fermented gruel (bensaalga) of functional interest in nutrition. *International Journal of Food Microbiology*. 128: 395–400.

Owen R.W., Haubner R., Hullb W.E., Erbenb G., Spiegelhaldera B., Bartscha H., Haberc B.. (2003). Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre. *Food and Chemical Toxicology*.41:1727–1738.

Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reactions-antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*. 44: 307–315.

-P-

Parker R.B.(1974). Probiotics, the other half of the antibiotic story.*Anim Nutrhealth.* 29:4-8.

Paseephol T., Sherkat F. (2009). Probiotic stability of yoghurts containing Jerusalem artichoke inulins during refrigerated storage. *Journal of functional food.1* : 311-318.

Patra, A. K., Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 164(3): 135–146.

Patterson C.A.(2008). Probiotiques : bienfaits au-delà des fonctions nutritionnelles de base. *Poultry Science.* 82, 627–631.

Pietta P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products.* 63:1035-1042.

Pilet M.F., Magras C., Federigh M.(2005). Bactéries lactiques. *In* : bactériologie alimentaire (Federighi M.).2^e Ed., *Economica.* Paris. 219-240.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., et Defraigne J-O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences.*Nutrition Clinique et Métabolisme* 16: 233-239.

Piquet M.-A., Gloro R., Justum A.-M., Reimund J.-M. (2007). Les probiotiques, des outils thérapeutiques pour moduler les effets biologiques de la flore intestinale : une introduction. *Obésité . 2:* 227–233.

Pochart P., Dewit O., Desjeux JF.,Bourlioux P.(1990). Viable starter culture, -galactosidase activity and lactose in duodenum after yogurt ingestion in lactase-deficient humans. *American Journal of Clinical Nutrition.*49:828-831.

Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. (2009) : Evaluation de l'activité anti oxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel.* 4 : 25-39.

Purwandari, U., Shah, N. P., & Vasiljevic, T. (2007). Effects of exopolysaccharide producing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological and rheological properties of set-type yoghurt. *International Dairy Journal,* 17(11): 1344–1352.

-Q-

Qing G., Yi Y., Guohong J. and Gai C. (2003). Study on the regulative effect of isomaltooligosaccharides on human intestinal flora. *Wei Sheng Yan Jiu.*32(1):54-55.

-R-

Ramírez-Sucre M.O, Vélez-Ruiz J. F. (2013). Physicochemical, rheological and stability characterization of a caramel flavored Yogurt. *LWT - Food Science and Technology.*51: 233-241.

Raven P. H., Evert R. F., Eichhorn. (2003) : Biologie Végétale. Boeck Université (1^{ère} édition). *Paris* : 968.

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

Ribeiro C.M., Costaa V . M., Vasconcelos Gomes M.I, Golimc M. A., Modoloa J. R, Langonia H.(2011). Effects of synbiotic-based Bifidobacterium animalis in female rats experimentally infected with Toxoplasma gondii. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.*34: 111–114.

Ribéreau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Edition : Dunod.* Paris.: 225.

Rishani N., Rice R.P.(1988). Use of carob as potting medium component. *Horticultural Science* .23 : 334-336.

Rivera-Espinoza Y. et Gallardo-Navarro Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology* 27: 1–11.

Rodrigo R, Miranda A, Vergara L. (2011). Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clinica Chimica Acta* (412) : 410–424.

Rodrigues D. , Rocha-Santos A.P., Gomes A.M. , Goodfellow B. J. , Freitas A. C. (2012). Lipolysis in probiotic and synbiotic cheese: The influence of probiotic bacteria, prebiotic compounds and ripening time on free fatty acid profiles. *Food Chemistry*. 131: 1414–1421.

Roseiro L.B., Duarte L.C., Diana L. O, Ricardo R., M. Bernardo-Gil G., Martin A. I., Sepúlveda C., Almeida J., Margarida M., Francisco M. G., Amélia P. (2013). Supercritical, ultrasound and conventional extracts from carob (*Ceratonia siliqua* L.) biomass: Effect on the phenolic profile and antiproliferative activity. *Industrial Crops and Products*. 47 :132– 138

Rousseau V.,Paul F. (2004). Anhydrofuctose and oligosaccharides derivatives as Prebiotic. 5th NEPSA meeting, march, Braunschweig, Germany.

-S-

Saad N.; Delattre C. M., Urdacic, Schmitter J.M., Bressollier P.(2013).An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *Food Science and Technology*. 50: 1-16.

Sagar S. , Arjan P. V. ,Morgana M. E., Garssen J., Georgioub N.A., Boon L., Kraneveld A.D., Folkerts G.(2014). The combination of *Bifidobacterium breve* with non-digestible oligosaccharides suppresses airway inflammation in a murine model for chronic asthma. *Biochimica et Biophysica Acta* 1842 : 573–583.

Sako T., Tanaka R.(2011).prebiotics.Yakult Europe B.V., Almere, The Netherlands and Yakult Central Institute for Microbiological Research .Tokyo, Japan.

Sanders M. E.(2000). Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *Journal of Nutrition*130:384-390.

Saran S., Bisht MS., Singh K, Teotia U. S.. (2012). Analyzing Probiotic Attributes to Assess Comparatively Two Isolates of *Lactobacillus acidophilus* in Prebiotics, Honey and Inulin. *International Journal Of Biomedical and Life Sciences*. 2(1):26-32.

Sarmiento D., Montorfano I., Cerda O., Cáceres M., Becerra A., Cabello-Verrugio C., Elorza A., Riedel C. , Tapia P., Velásquez L.A. et Simon F.(2015). Increases in reactive oxygen species enhance vascular endothelial cell migration through a mechanism dependent

on the transient receptor potential melastatin 4 ion channel. *Microvascular Research*. 98: 187–196.

Schaafsma G. (1997). The Western Diet with a Special Focus on Dairy Products, Bruxelles :Institut Danone.

Selma M., J. C. Espin, F. A. Tomas-Barbera. (2009). Interaction between Phenolics and Gut Microbiota: Role in Human Health. *Food Chemistry*.57 : 6485–6501.

Shah N. P.(2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Sciences*. 83: 894-907.

Sharma M. et Mridula D. (2013). Probiotics: A Comprehensive Approach towards Health Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 54: 537–552.

Sharma A., Yadav.B. S, Ritika A. (2008). Resistant Starch: Physiological Roles and Food Applications. *Food Reviews International*, 24:193–234, 2008.

Shetty K., Clydesdale F., Vatter D. (2005). Clonal screening and sprout based bioprocessing of phenolic phytochemicals for functional foods. In K. Shetty, G. Paliyath, A. Pometto, & R. E. Levin (Eds.). *Food Biotechnology*. New York: 603.

Shori A.B., Baba A.S. (2013). Antioxidant activity and inhibition of key enzymes linked to type-2 diabetes and hypertension by Azadirachta indica-yogurt. *Journal of Saudi Chemical Society*.17, 295–301.

Sidina M.M, El Hansali M, Wahid N, Ouattmane A. Boulli A., Abdelmajid H.(2009). Fruit and seed diversity of domesticated carob (*Ceratonia siliqua* L.) in Morocco. *Scientia Horticulturae*. 123:110–116.

Simon C. (2003). Structure et dynamique de protéines de la salive humaine en interaction avec les tanins du vin de Bordeaux. *Thèse doctorat en sciences chimiques*: 20-34. Cameroun

Smith A.H., Zoetendal E. et Mackie R.I. (2005). Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microbial Ecology*. 50:197-205.

Speijers D.G. (2003). Mycotoxins and Food Safety. *Trends in Food Science & Technology* 14: 111-115.

Srisuvor N., Chinprahast N., Prakitchaiwattana C., S. Subhimaros. (2013). Effects of inulin and polydextrose on physicochemical and sensory properties of low-fat set yoghurt with probiotic-cultured banana purée. *LWT - Food Science and Technology* 51: 30-36

Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., et Stöckigt D. (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic –electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Review Journal of Chromatography A*. 967: 85–113.

Stoyanova L. G., Ustyugova E. A., Netrusov A. I. (2012). Antibacterial Metabolites of Lactic Acid Bacteria: Their Diversity and Properties. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 3(48): 229–243.

Sun-Waterhouse D., Zhou J., Wadhwa S. (2013). Drinking yoghurts with berry polyphenols added before and after fermentation. *Food Control*. 32: 450-460.

Swennen K., Courtin C.M., Delcour J.A. (2006). Non-digestible Oligosaccharides with Prebiotic Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 46:459–471.

-T-

Tabasco R., Paarup T., Janer C., Pelaez C, Requena T.. (2007). Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented International. *Dairy Journal* .17: 1107–1114.

Talhouka S.N., Van Breugel P., Zurayka R., Al-Khatiba A., Estephanc J., A. Ghalayinia, N. Debiana, D. Lychara. (2005). Status and prospects for the conservation of remnant semi-natural carob *Ceratonia siliqua* L. populations in Lebanon. *Forest Ecology and Management* .206: 49–59.

Tawaha K ., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammad M., El-Elimat T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species . *Food Chemistry*. 104 : 1372–1378.

Toumaire C, Hocquaux M. , Reckb I., Oliveros E., Maurette M.T. (1994).Activité antioxydante des flavonoides : reactivite avec le superoxyde de potassium en phase heterogene. *Tetrahedron* .50(31): 9303-9314.

Tripathi M.K. et Giri S.K.. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *journal of functional foods* 9: 225–241.

Tseng A., Zhao A. (2013). Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. *Food Chemistry*.138: 356–365.

Tucker S. (1992). The developmental basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cassieae). *American Journal of Botanica*. 79: 318-327.

Turkmen N., Sari F., et Velioglu Y. S. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food Chemistry*. 99(4): 835-841.

-V-

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T. D., Mazur M., et Telser J. (2007).Free radicals and antioxydants in normal physiological functions and human diseases. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 39: 44-84.

Van Antwerpen P., Néve J.(2004). Invitro comparative assessment of the scavenging activity against three reactive oxygen species of non-steroidal anti-inflammatory drugs from the oxicam and sulfoanilide families. *European Journal of Pharmacology*. 496: 55– 61

Varcoe J. J., Krejcarek G., Busta F., Brady L.(2003). Prophylactic feeding of *Lactobacillus acidophilus* NCFM to mice attenuates overt colonic hyperplasia. *Journal of Food Protectio*.66:457-465.

Vasiljevic T et Shah N.P. (2008). Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*. 18: 714– 728.

-W-

Wang Y (2009). Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International*. 42 :8-12.

Wang X., Gibson G. R. (1993). Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *Journal of Applied Bacteriology*. 75: 373-380.

Weijers C. A., Franssen M. C., Visser G. M. (2008). Glycosyltransferase-catalyzed synthesis of bioactive oligosaccharides. *Biotechnology Advances*. 26:436-456.

Waikar Y. (2013). Review of probiotics in children. *pediatric infectious disease*.5: 9-2.

William G., Hpkins C. M et Evrard M. (2003) : Physiologie végétale. Molécules et métabolisme : 532-539.

Wuyts N. (2006) : Interactions entre les nématodes parasites des plantes et le métabolisme secondaire des plantes, avec une emphase sur les phénylpropanoïdes dans les racines, *Belgium*. 15 (1-2à) : 43-44.

-Y-

Yadav R., Agarwala M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*. 3(12): 10-14.

Ye M., Ren L., Wu Y., Wang Y., Liu Y.. (2013). Quality characteristics and antioxidant activity of hickory-black soybean yogurt. *LWT - Food Science and Technology* 51 : 314-318.

-Z-

Zanhi N. K. et I. A. Jideani. (2012). Physico-chemical and sensory qualities of soy and milk solids fortified low fat yoghurt. *African Journal of Agricultural Research*. 7(38): 5336-5343.

Zare F., Champagne C.P., Simpson B.K., Orsat V., Boye J.I. (2012). Effect of the addition of pulse ingredients to milk on acid production by probiotic and yoghurt starter cultures. *Food Science and Technology* 45:155-160.

Zeanandin G., Schneider S.-M., Hébuterne X. (2012). Intérêt des fibres en nutrition entérale en réanimation : de la théorie à la pratique. *Réanimation*. 20:312-318.

Zhu M., Phillipson J.D., Greengrass P.M., Bowery N.E. et Cai Y. (1997). Plant polyphenols : Biologically active compounds or non-selective binders to protein? *Phytochemistry*. 44 (3): 441- 447.



Annexes

Aneexes I : préparation des solutions

Solution	Réactifs
Solution NaOH (0,1N)	4 g de soude dans 1000 ml d'eau distillée
Phénolphtaléine à 0,5%	0,5g de phénolphtaléine dissoute dans 100 ml d'éthanol
Solution DPPH (60 μ M)	0,00023g de DPPH dans 100 ml d'éthanol à 95%
Ferrozine à 5mm	0,123 g de ferrozine dans 50 ml d'eau distillée
FeCl ₂ (2mM)	0,025 g de FeCl ₂ 2H ₂ O dans 100 ml d'eau distillée
Na ₂ CO ₃ (5%)	5g de Na ₂ CO ₃ dans 100 ml d'eau distillée
Solution phénol 5% (p/v)	5g de phénol sont dissoute dans 100 ml d'eau distillée jusqu'à la dissolution totale (solution incolore)
Folin ciocalteu dilué (1 :1)	10ml de Folin ciocalteu +10ml d'eau distillée
Chlorure d'aluminium (AlCl ₃ 2%)	2 g d'AlCl ₃ , 6H ₂ O dans 100 ml du méthanol, agitez jusqu'à la dissolution totale
HCl 24%	24 ml d'HCl concentré ajusté à 100 ml avec du méthanol
Vanilline à 5,8%	5,8 g de vanilline dans 100 ml de méthanol
Réactif Vanilline-HCl	Il se répare juste avant son utilisation en mélangeant deux volumes équivalents de HCl à 24% et de Vanilline à 5,8%
HCl (0,01M)	0,085 ml d'HCl à 36% est ajusté à 1 litre avec l'eau Distillée

FeCl ₃ (0,01M dans HCl 0,01M)	Dissoudre 1,62g de FeCl ₃ dans 1 litre de la solution préparé d'HCl à 0,01M
Tampon phosphate (0,2M, ph6,6)	0,68 g de KH ₂ PO ₂ dans 100ml d'eau distillée 0,87 g de K ₂ HPO ₂ dans 100ml d'eau distillée La solution acide est ajusté avec la solution basique jusqu'au ph 6,6
Ferricyanure de potassium K ₃ Fe(CN) ₆ à 1%	1g de K ₃ Fe(CN) ₆ est dissoute dans 100 ml d'eau distillée
Acide trichloracétique (TCA) 10 %	10 g de TCA dans 100 ml d'eau distillée
FeCl ₃ (0,1 %)	0,1 g de FeCl ₃ dans 100ml d'eau distillée
BSA	1mg de BSA dans 1ml du tampon acétate
SDS/TEA	50 ml de TEA (Triéthanolamine+ 10 g de SDS ajusté à 1l avec l'eau distillée
Tampon acétate (ph 4,9 à 0,2M)	11,4 ml d'acide acétique + 9,86 g NaCl + 880 ml d'eau distillée Le Ph est ajusté à 4,9 avec du NaOH (4N) Le volume est ajusté à 1l avec l'eau distillée
NaOH (4N)	160 g de NaOH dans 1 litre d'eau distillée
Sulfate d'ammonium 80%	80 g de (NH ₄) ₂ SO ₄ dans 100 ml d'eau distillée
Réactif bleu de BRADFORD	2,5 g de bleu de Coomassie 455 ml d'éthanol 455 ml d'eau distillée 90 ml d'acide acétique glacial

Préparation des milieux de cultures

MRS agar	Dissoudre 6,2 g de MRS agar dans 1000 ml d'eau distillée, agitez sur une plaque chauffante, stérilisez a l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes
MRS agar au chlorhydrate de cystéine	Dissoudre 6,2 g de MRS agar dans 1000 ml d'eau distillée, ajoutez 0,5 gde chlorhydrate de cystéine agiter sur une plaque chauffante, stérilisez a l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes

Composition du milieu (gélose MRS)

Pour 1 litre de milieu :

- Polypeptone.....10,00 g
- Extrait de viande10,00 g
- Extrait autolytique de levure5,00 g
- Glucose.....20,00 g
- Tween 801,08 g
- Phosphate dipotassique2,00 g
- Acétate de sodium5,00 g
- Citrate d'ammonium.....2,00 g
- Sulfate de magnésium0,20 g
- Sulfate de manganèse.....0,05 g
- Agar agar bactériologique.....15,00 g

pH du milieu ajusté à $6,2 \pm 0,1$

Annexes 2: Courbes d'étalonnages

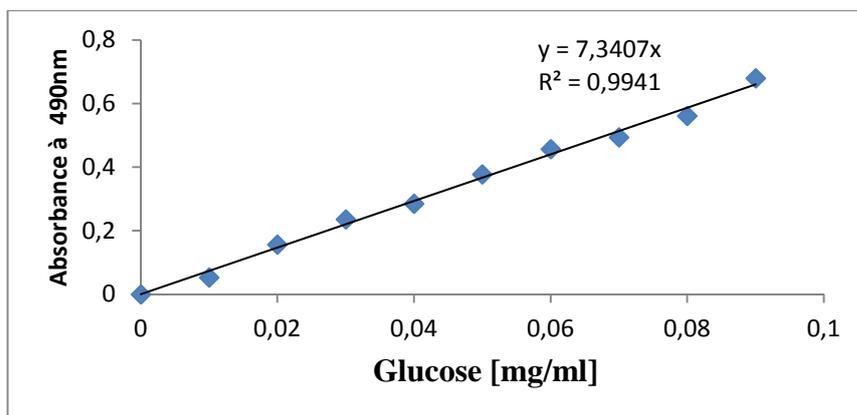


Figure 1 : Dosage des sucres solubles

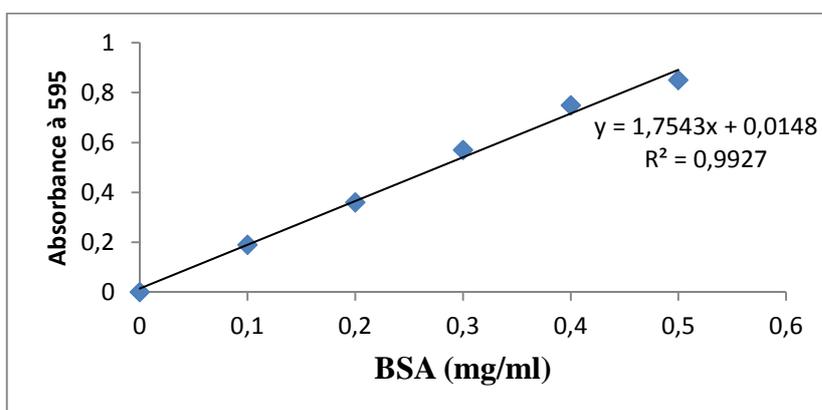


Figure 2 : Dosage des protéines

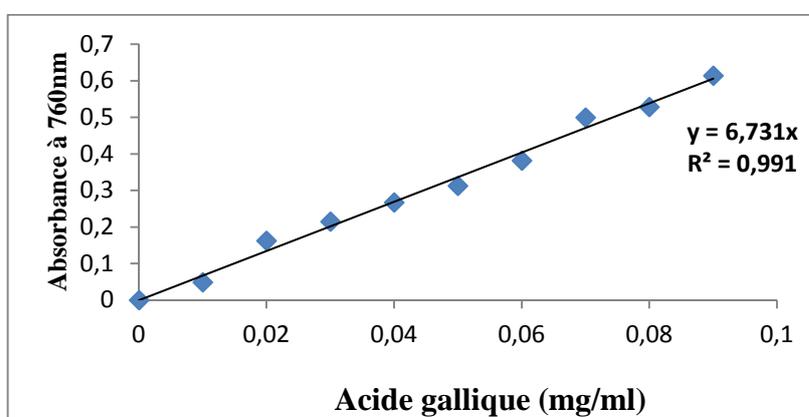


Figure 2 : Dosage des phénols totaux solubles

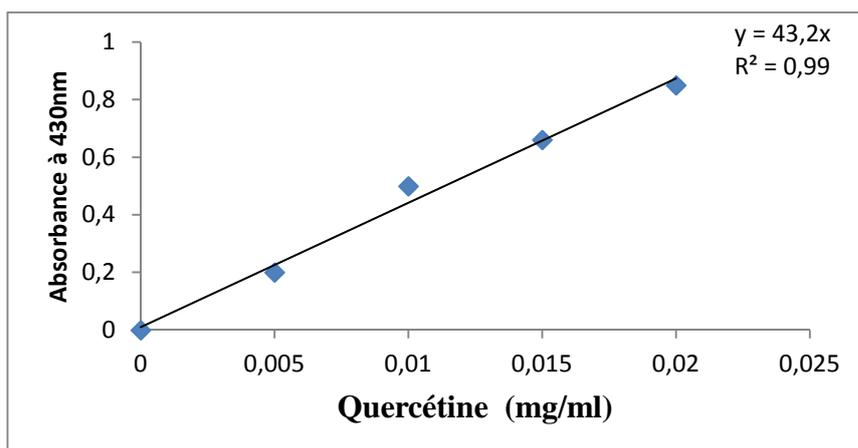


Figure 3 : Dosage des Flavonoïdes

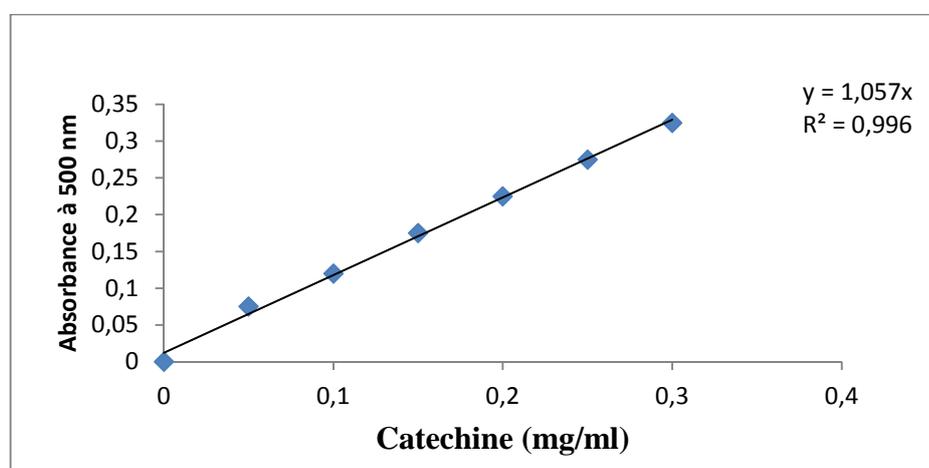


Figure 4 : Dosage des Tanins condensés

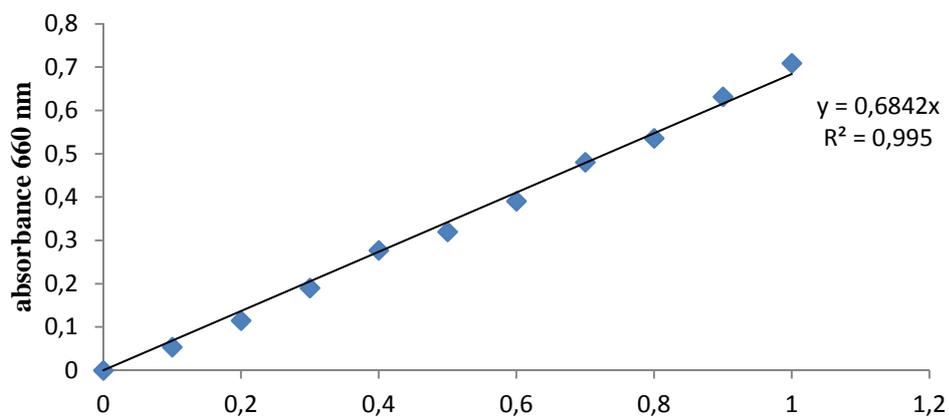


Figure 4 : Dosage des Tanins hydrolysables

Résumé

Le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) est un arbre typique du climat méditerranéen, ayant d'énormes intérêts économiques et écologiques. Cultivé pour ses gousses, abondantes et riches en sucre à maturité, elles sont utilisées en industrie agroalimentaire et pharmaceutique, notamment comme antidiarrhéque.

Les dosages réalisés sur la pulpe montrent la présence de plusieurs classes de composés phénoliques. Les teneurs en ces composés dépendent bien du solvant d'extraction. Les extraits hydro-alcooliques ont révélé des teneurs plus élevées que les autres extraits. Les différents extraits testés ont manifestés une activité anti oxydante mesurée *in vitro* par le test du DPPH, le pouvoir réducteur et le pouvoir chélateur du fer. L'activité antioxydante dépend aussi bien du solvant d'extraction utilisé.

Une concentration de 4% de poudre est incorporé dans le yaourt contenant des ferments lactiques avec ou sans probiotiques. L'incorporation de la poudre a permis d'augmenter son acidité de 42,5%; diminuer son pH de 11,77% et augmenter le nombre de colonie de probiotiques de 7,2%. L'activité antioxydante du yaourt est aussi augmenté, cette augmentation varie de 62,8% à 136,82% en fonction du teste.

Les résultats de cette étude montrent que la poudre de caroube (riche en sucre et en composés phénoliques) peut servir de nouveau prébiotique dans la formulation d'aliments fonctionnels sachant qu'elle offre un milieu favorable ou sélectif au développement de probiotique.

Mots clé : Composés phénoliques, activité antioxydante ; *Ceratonia siliqua L.*, ferments lactiques, probiotiques

Abstract

The carob tree (*Ceratonia siliqua L.*) is a typical tree of the Mediterranean climate, with enormous economic and ecological interests. Cultivated for its pods, abundant and rich in sugar at maturity, they are used in food and pharmaceutical industry, notably as antidiarrhéque.

The determinations carried out on the pulp show the presence of several classes of phenolic compounds. The levels of these compounds depend of the extraction solvent. The hydro- alcoholic extracts revealed higher levels than the other. The various extracts tested have exhibited an antioxidant activity measured *in vitro* by the test of DPPH, reducing power and power iron chélateur. The antioxidant activity depends on both the extraction solvent used.

A concentration of 4% of powder is incorporated in the yoghurt containing starter culture with or without probiotics. The incorporation of the powder was allowed to increase its acidity of 42.5 % ; reduce its pH of 11.77 % and increase the number of probiotic colony of 7.2%. The antioxidant activity of the yoghurt is also increased , this increase ranged from 62.8% to 136.82 % depending on the test .

The results of this study show that carob powder (rich in sugar and phenolic compounds) can be used again in the prebiotic formulation of functional foods knowing that it offers a favorable selective medium or probiotic development .

Key words: phenolic compounds, antioxidant activity, *Ceratonia siliqua L.*, Starter culture, probiotics.

المخلص

تعتبر شجرة الخروب من بين الأشجار التي تتعايش مع مناخ البحر الأبيض المتوسط، وهي ذات أهمية اقتصادية لما تتوفر عليها من إنتاج وفير يستخدم في الصناعات الغذائية و الصيدلانية ، تحتوي ثمارها على نسبة كبيرة من السكريات ، إن الفحوصات التي أجريتها على اللب أظهرت وجود عدة مركبات فنيولية ، نسبة هذه المركبات تعتمد على المحلول المستخلص ، إن المستخلصات المائية الكحولية أظهرت نسبة عالية من هذه المركبات . المستخلصات التي حصلنا عليها أظهرت نشاط فعالا ضد الأكسدة (ضد الجذر ، القدرة الارجاعية و قدرة خصب الحديد)

إضافة نسبة 4 بالمائة من بودرة لب الخروب إلى الياغوت يحتوي على خمائر لبنية مع وجود أو غياب بروبيوتيك أدى إلى رفع نسبة الحموضة إلى 42 بالمائة وخفض نسبة ال PH إلى 11,77 بالمائة ورفع عدد المستعمرات البيكترياء إلى 7,2 بالمائة ، تم أيضا رفع نشاط مضاد الأكسدة بنسبة تتراوح بين 62,8 و 136,8 بالمائة . نتائج هذه الدراسات تثبت أن الخروب يمكن أن يستعمل كبروبيوتيك جديد في تحضير الأغذية الصحية علما بأنه يهبي الظروف لتكاثر البروبيوتيك .

الكلمات الرئيسية

المركبات الفينولية ، النشاط المضاد للأكسدة ، *Ceratonia silicas* ، الخمائر اللبنية ، البروبيوتيك .