

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA BEJAIA  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de biologie physico-chimique

## *Mémoire*

*Présenté par* : METROUH HASSIBA épouse AMIR

En vue de l'obtention du Diplôme de magister  
en Biologie  
Option : Biologie Moléculaire

## *Thème*

*Etude du pouvoir antioxydant de Ceratonia  
siliqua : Effets de la température et du  
solvant d'extraction*

**Devant le jury :**

<b>Président :</b>	M <sup>r</sup> IGUER-OUADA M.	M. Conférences (UAMB)
<b>Rapporteur :</b>	M <sup>elle</sup> LOUAILECHE H.	Professeur (UAMB)
<b>Examineurs :</b>	M <sup>me</sup> ZEBBOUDJ A.	M. Conférences (UAMB)
	M <sup>r</sup> SOUALAH A.	M. Conférences (UAMB).

Année universitaire : 2008 /2009

## ***Remerciements***

*Nous commençons par remercier dieu de nous avoir donné la force et la patience pour pouvoir mener ce travail.*

*Je remercie en premier lieu madame le professeur LOUAILECHE H. pour avoir accepté d'être ma directrice de mémoire, pour sa disponibilité, ses nombreux conseils et encouragements. Je la remercie aussi en tant que mon enseignante de la graduation, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*Je remercie Mr IGUER-OUADA M, Maitre de conférences, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Mes remerciements vont aussi aux docteurs ZEBBOUDJ A. et SOUALAH A pour avoir accepté de donner de leur temps pour évaluer ce travail.*

*Je voudrais également remercier tous les membres du laboratoire de biochimie alimentaire en particulier Mr BACHIR BEY M.*

*Je suis particulièrement reconnaissante à Mme et Mr ATMANI et à toute l'équipe du laboratoire de biochimie appliquée pour leur aide.*

## *Dédicaces*

*A mon mari Nadir et ma petite fille Asma*

*A la mémoire de mon père*

*A ma mère*

*A ma belle mère et beau père*

*A mon grand frère Mohamed*

*A ma très chère belle sœur Akila*

*A ma sœur Fouzia et son mari Hocine*

*A mes frères Nacer, Samir, Lyes, Soufiane et Abd El Karim*

*A ma grand-mère et ma tante Houria*

*A mes belles sœurs*

*A mes neveux et nièces*

*A mes beaux frères*

*A mes amies Nacira et Alia*

*Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*Hassiba*

## *Liste des figures*

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Structure des acides hydroxybenzoïques identifiés dans la caroube	<b>7</b>
<b>2</b>	Structure des acides hydroxycinnamiques identifiés dans la caroube	<b>8</b>
<b>3</b>	Structure de base des flavonoïdes (flavone)	<b>10</b>
<b>4</b>	Structure des flavonoïdes sous forme libre identifiés dans la caroube	<b>11</b>
<b>5</b>	Structure des flavonoïdes glycosylés identifiés dans la caroube	<b>12</b>
<b>6</b>	Structure des acides gallique (A) et ellagique (B) d'un tannin hydrolysable (C)	<b>13</b>
<b>7</b>	Structure des tannins hydrolysables identifiés dans la caroube	<b>14</b>
<b>8</b>	Structure de flavan-3-ol (A), flavan-3,4-ol (B) et d'un tannin condensé (C)	<b>15</b>
<b>9</b>	Sites de Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes	<b>16</b>
<b>10</b>	Les groupements fonctionnels des flavonoïdes intervenant dans leur activité anti-radicalaire	<b>17</b>
<b>11</b>	Structure du lycopène	<b>18</b>
<b>12</b>	Morphologie des échantillons de la caroube étudiés.	<b>21</b>
<b>13</b>	Teneurs en composés phénoliques des extraits aqueux et acétoniques de la caroube à 25°C.	<b>26</b>
<b>14</b>	Teneurs en composés phénoliques des extraits aqueux et acétoniques de la caroube à 90°C.	<b>26</b>

<b>15</b>	Effet de la température sur la teneur en composés phénoliques des extraits aqueux de la caroube.	<b>27</b>
<b>16</b>	Effet de la température sur la teneur en composés phénoliques des extraits acétoniques (acétone 50%) de la caroube.	<b>27</b>
<b>17</b>	Effet du solvant sur l'extraction des flavonoïdes des échantillons de la caroube à 25°C.	<b>31</b>
<b>18</b>	Effet du solvant sur l'extraction des flavonoïdes des échantillons de la caroube à 90°C.	<b>31</b>
<b>19</b>	Effet de la température sur la teneur en flavonoïdes des extraits aqueux des échantillons de la caroube.	<b>32</b>
<b>20</b>	Effet de la température sur la teneur en flavonoïdes des extraits acétoniques (acétone 50%) des échantillons de la caroube.	<b>32</b>
<b>21</b>	Effet du solvant sur l'extraction des tannins des échantillons de la caroube à 25°C.	<b>34</b>
<b>22</b>	Effet du solvant sur l'extraction des tannins des échantillons de la caroube à 90°C.	<b>34</b>
<b>23</b>	Effet de la température sur la teneur en tannins des extraits aqueux des échantillons de la caroube.	<b>35</b>
<b>24</b>	Effet de la température sur la teneur en tannins des extraits acétoniques (acétone 50%) des échantillons de la caroube.	<b>35</b>
<b>25</b>	Corrélation entre la teneur en composés phénoliques et la teneur en flavonoïdes des extraits de la caroube.	<b>38</b>
<b>26</b>	Corrélation entre la teneur en composés phénoliques et la teneur en tannins des extraits de la caroube.	<b>38</b>
<b>27</b>	Teneur en caroténoïdes des échantillons de la caroube.	<b>39</b>
<b>28</b>	Effet du solvant sur le pouvoir réducteur des échantillons de la caroube à 25°C.	<b>41</b>
<b>29</b>	Effet du solvant sur le pouvoir réducteur des échantillons de la caroube à 90°C.	<b>41</b>
<b>30</b>	Effet de la température sur le pouvoir réducteur des extraits aqueux des échantillons de la caroube.	<b>42</b>

<b>31</b>	Effet de la température sur le pouvoir réducteur des extraits acétoniques (acétone 50%) des échantillons de la caroube	<b>42</b>
<b>32</b>	Corrélation entre la teneur en composés phénoliques (a), flavonoïdes(b) et en tannins (c) et le pouvoir réducteur des extraits de la caroube.	<b>43</b>
<b>33</b>	Effet du solvant sur l'activité antiradicalaire des extraits de la caroube à 25°C.	<b>45</b>
<b>34</b>	Effet du solvant sur l'activité antiradicalaire des extraits de la caroube à 90°C.	<b>45</b>
<b>35</b>	Effet de la température sur l'activité antiradicalaire des extraits aqueux des échantillons de la caroube	<b>46</b>
<b>36</b>	Effet de la température sur l'activité antiradicalaire des extraits acétoniques (acétone 50%) des échantillons de la caroube	<b>46</b>
<b>37</b>	Corrélation entre la teneur en composés phénoliques (a), flavonoïdes (b) et en tannins (c) et l'activité antiradicalaire des extraits de la caroube	<b>47</b>
<b>38</b>	Corrélation entre l'activité antiradicalaire et le pouvoir réducteur des extraits de la caroube.	<b>48</b>

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Composition de la caroube et de cacao en g /100 g de matière comestible	<b>4</b>
<b>II</b>	Composition de la caroube en acides amines	<b>5</b>
<b>III</b>	Composition de la caroube en minéraux	<b>5</b>
<b>VI</b>	Composition en antioxydants phénoliques de la caroube	<b>9</b>
<b>V</b>	Caractéristiques morphologiques des échantillons de la caroube	<b>21</b>

# *Sommaire*

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Synthèse bibliographique</b>	
I. Classification et description de la caroube .....	3
II. Utilisations de la caroube.....	3
III. Composition et valeur nutritive de la caroube.....	4
IV. Les antioxydants de la caroube.....	6
IV.1. Les composés phénoliques.....	6
IV.1.1. Les acides phénoliques et leurs dérivés.....	7
IV.1.2. Les flavonoïdes.....	8
IV.1.3. Les tannins.....	12
IV.1.3.1. Tannins hydrolysables.....	13
IV.1.3.2. Tannins condensés.....	13
IV.1.4. Propriétés antioxydantes des composés phénoliques.....	14
IV.1.4.1. Chélation des métaux.....	15
IV.1.4.2. Neutralisation des radicaux libres .....	16
IV.1.4.3. Inhibition d'enzymes .....	17
IV.2. Les caroténoïdes.....	18
IV.2.1. Propriétés antioxydantes des caroténoïdes .....	18
IV.2.1.1. Piégeage de l'oxygène singulet.....	18
IV.2.1.2. Neutralisation des radicaux libres .....	19

## **Matériel et méthodes**

I. Préparation des échantillons.....	20
II. Dosage des antioxydants.....	22
II. 1. Les composés phénoliques.....	22
II.1.1. Préparation des extraits.....	22
II. 1. 2. Les composés phénoliques totaux.....	22
II.1.3. Les flavonoïdes.....	22
II.1.4. Les tannins.....	23
II.2. Les caroténoïdes.....	23
III. Détermination de l'activité antioxydante.....	23
III.1. Pouvoir réducteur.....	23
III.2. Pouvoir antiradicalaire.....	24
VI. Etude statistique.....	24

## **Résultats et discussions**

I. Les antioxydants.....	25
I.1. Les composés phénoliques.....	25
I.2. Les flavonoïdes.....	30
I.3. Les tannins.....	33
I.4. Les caroténoïdes.....	39
II. Activité antioxydante.....	40
II.1. Pouvoir réducteur.....	40
II.2. Activité antiradicalaire.....	44
<b>Conclusion</b> .....	49
<b>Références bibliographique</b> .....	51
<b>Annexes</b>	

# *Introduction*

## Introduction

Au cours de l'évolution, les organismes aérobies se sont adaptés à l'oxygène atmosphérique par la mise en place de systèmes métabolisant la molécule d'oxygène. Cette molécule présente la particularité d'être à la fois un élément indispensable et toxique pour l'homme. La toxicité de l'oxygène est liée à sa structure moléculaire biradicalaire, chimiquement instable, permettant des réarrangements électroniques sur la couche orbitale externe le rendant plus actif. Ainsi, l'oxygène moléculaire peut se transformer dans l'organisme en oxygène singulet et en anion superoxyde. Ces substances hautement réactives engendrent à leur tour d'autres espèces réactives oxygénées (ERO) de nature radicalaire ou non radicalaire (Rock, 2003).

Une fois formées, les ERO peuvent induire des dommages oxydatifs souvent irréversibles au niveau d'un grand nombre de molécules biologiques comme les enzymes, les protéines, l'ADN, ... (Berger, 2006).

Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression due aux espèces oxygénées réactives, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Afin d'empêcher les ERO d'exercer de façon incontrôlée leurs effets délétères, l'organisme dispose d'un vaste réseau de défense : les antioxydants (Moffarts *et al.*, 2005). Il existe deux sources de défenses antioxydantes : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits, de légumes et de boissons riches en vitamines C et E, caroténoïdes, polyphénols, tandis que l'autre est d'origine endogène (glutathion peroxydase, catalase, ...) (Pincemail *et al.*, 2004).

La caroube est le fruit de *Ceratonia siliqua*, se développant dans les régions méditerranéennes et appartenant à la famille des légumineuses. Plusieurs études ont montré que la caroube présente de nombreuses propriétés biologiques dont les activités anti-microbienne (Henis *et al.*, 1964), antidiurétique (Würsch 1979 ; Bremness, 1996 ; Santos *et al.*, 2005), antioxydante et hypocholestérolémiant (Gruendel *et al.*, 2006 ; Klenow *et al.*, 2007).

Selon Naczki et Shahidi (2004) ; Druynska *et al.* (2007), les conditions d'extraction dont la température et la nature chimique du solvant, ont un effet sur l'activité antioxydante et les teneurs des extraits en substances antioxydantes.

La présente étude comprend deux parties principales; la première est une synthèse bibliographique comportant une description de la caroube et des antioxydants.

La deuxième partie de ce travail est une étude expérimentale où sont présentés :

- Les extractions des antioxydants à partir de 5 échantillons de la caroube, en utilisant plusieurs solvants (eau, acétone 30 %, 50 % et 70 %) et à différentes températures ;
- Le dosage de quelques substances antioxydantes dont les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins et les caroténoïdes ;
- La détermination de l'activité antioxydante des extraits de la caroube, en utilisant deux méthodes (pouvoir réducteur et activité anti-radicalaire).

*Synthèse  
bibliographiques*

## **I. Classification et description de la caroube**

Le nom scientifique du caroubier, *Ceratonia siliqua* L. dérive du grec Keras (corne) et du latin *siliqua* désignant une silique ou gousse, faisant allusion à la dureté et à la forme du fruit. Le nom commun serait d'origine hébraïque : karuv. Le nom arabe kharroub en dérive (Battle et Tous, 1997).

Le genre *Ceratonia* appartient à la famille des légumineuses (Fabacées) de l'ordre des Rosales, de la sous-famille des césalpiniacées (Crété, 1965). Deux espèces du genre *Ceratonia* sont connues, *Ceratonia oreothauma* et *Ceratonia siliqua* (Barracosa *et al.*, 2007).

Les fruits du caroubier, appelés « caroubes », sont des gousses pendantes de 10-30 cm de longueur sur 1,5-3,5 cm de largeur et environ 1 cm d'épaisseur. D'abord vertes, elles deviennent brunes à maturité. La gousse de caroube a une odeur caractéristique due à l'acide isobutyrique dont la teneur est de 1,3% (Morton, 1987 ; Ayaz *et al.*, 2007). Une gousse de caroube pèse une quinzaine de grammes et est constituée de la pulpe (90%) et de graines (10%) (Turhan *et al.*, 2006 ; Klenow *et al.*, 2007).

La production mondiale de gousses de la caroube est estimée à 310 000 tonnes par an, concentrée principalement en Espagne, Italie, Portugal, Maroc, Grèce, Chypre, Turquie et Algérie (Konaté *et al.*, 2007).

## **II. Utilisations de la caroube**

Deux produits différents tirés du caroubier sont utilisés dans l'industrie alimentaire: la farine et la gomme.

La farine de caroube est obtenue en séchant, torréfiant et moulant les gousses débarrassées de leurs graines (Yousif et Alghzawi, 2000). Elle est utilisée dans l'industrie agro-alimentaire comme additif (E410) pour les glaces, les pâtisseries, les aliments diététiques, notamment comme remplaçant de cacao (Bengoechea *et al.*, 2008). La caroube, contrairement à son homologue le cacao, ne contient ni théobromine, ni caféine, deux alcaloïdes à l'action excitante sur l'organisme. Elle est naturellement sucrée (Bengoechea *et al.*, 2008).

La gomme de caroube provient, quant à elle, de la mince enveloppe brune qui recouvre les graines. Elle contient un endosperme blanc et translucide qui agit comme épaississant E411 (Dakia *et al.*, 2007). Elle est utilisée surtout dans l'industrie alimentaire, mais aussi dans d'autres industries (textile, pharmacie, cosmétique) (Santos *et al.*, 2005 ; Bouzouita *et al.*, 2007).

Les caroubes sont également utilisées dans l'alimentation des animaux (Lizardo *et al.*, 2002 ; Silanikove *et al.*, 2006).

### **III. Composition et valeur nutritive de la caroube**

La caroube est riche en glucides (40-60%) en particulier, le saccharose (27-40%), le fructose (3-8%) et le glucose (3-5%) (Avalone *et al.*, 1997 ; Lizardo *et al.*, 2002). Un taux élevé de fibres et de polyphénols caractérise la caroube (Silanikove *et al.*, 2006 ; Klenow *et al.*, 2007).

Les principaux polyphénols identifiés dans la cosse de la caroube sont les tannins condensés insolubles (fortement polymérisés), présents avec des quantités considérables (Klenow *et al.*, 2007).

Elle est également riche en acides aminés (tableau II) et minéraux (tableau III), ce qui lui confère une valeur nutritive importante.

**Tableau I:** Composition de la caroube et de cacao en g /100 g de matière comestible (Yousif et Alghzawi, 2000).

Composant	Poudre de caroube	Poudre de cacao
Humidité	9,03	2,51
Glucides	38,7	2,16
Glucides réducteurs	11,6	ND
Glucides non réducteurs	27,1	2,16
Fibres	7,24	4,93
Tannins	3,75	4,91
Protéines	5,82	22,9
Lipides	0,74	22,88
Cendres	2,48	6,40

**Tableau II:** Composition de la caroube en acides aminés (Ayaz *et al.*, 2007).

composant	Teneur (g/100g protéine)
Acide aspartique + Asparagine	18,25
Acide glutamique + Glutamine	9,65
Serine	6,80
Histidine	2,80
Glycine	3,55
Thréonine	5,10
Arginine	3,20
Alanine	10,55
Proline	5,80
Tyrosine	1,70
Valine	9,05
Méthionine	1,40
Cystéine	0,80
Isoleucine	3,80
Leucine	9,30
Phénylalanine	3,10
Lysine	4,20
Tryptophane	0,95

**Tableau III:** Composition de la caroube en minéraux (Ayaz *et al.*, 2007).

Composant	Teneur (mg/100g MS)
Potassium	970
phosphore	71
Calcium	300
Magnésium	60
Fer	1,88
Manganese	1,29
Zinc	0,75
Cuivre	0,85

## **IV. Les antioxydants de la caroube**

### **IV.1. Les composés phénoliques**

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites secondaires, le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation (Naczki et Shahidi, 2004 ; Gülcin, 2006). Plus de 8000 structures phénoliques, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire, dont les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tannins ont été identifiés (Vercauteren, 1996 ; Lugasi *et al.*, 2003; Rahman *et al.*, 2006). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique, auquel est directement lié un ou plusieurs groupements hydroxyles, libre ou engagé (Bennick, 2002 ; Hennebelle *et al.*, 2004). Les polyphénols peuvent être conjugués, avec un ou plusieurs résidu(s) glucidique(s), ou être liés à d'autres composés chimiques tels que des acides carboxyliques, des amines, des lipides ou avec d'autres phénols (Robards *et al.*, 1999 ; Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Cette définition purement chimique des composés phénoliques peut inclure d'autres métabolites secondaires tels que les alcaloïdes et les huiles essentielles. Il est donc nécessaire de faire intervenir le critère biosynthétique pour mieux cerner les limites de ce groupe de composés (Bruneton, 1993). Les polyphénols sont synthétisés à partir de deux voies:

- Celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination aux acides cinnamiques, précurseurs de la majorité des acides phénoliques (Richter, 1993 ; Croteau *et al.*, 2002).

- Celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly  $\beta$ -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (Richter, 1993 ; Martin et Andriantsitohaina, 2002).

De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques, due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte : les flavonoïdes (Bruneton, 1999 ; Martin et Andriantsitohaina, 2002).

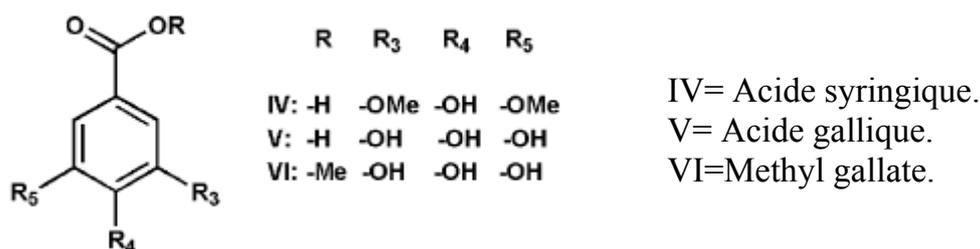
La caroube présente plusieurs classes d'antioxydants de nature phénolique (acides phénoliques, flavonoïdes, lignanes, anthocyanes et tanins) (Owen *et al.*, 2003).

#### IV.1.1. Les acides phénoliques et leurs dérivés

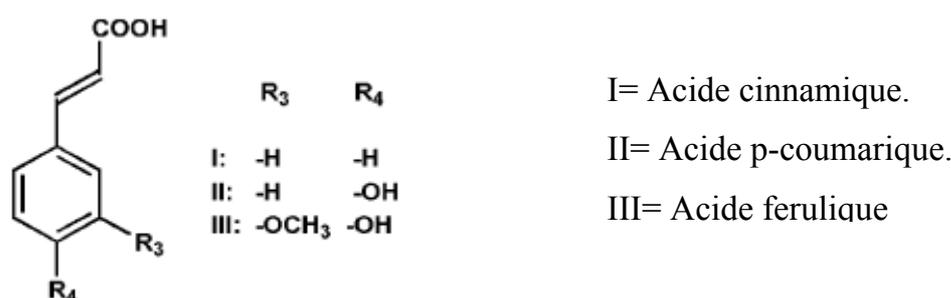
Cette classe de composés englobe les dérivés des acides hydroxybenzoïques, les dérivés des acides hydroxycinnamiques et les coumarines (Ribéreau-Gayon, 1968). Les acides hydroxybenzoïques sont des dérivés de l'acide benzoïque avec la structure de base C6-C1 (figure 1). Ces composés peuvent provenir directement de l'acide 3-déshydroshikimique (cas de l'acide gallique) ou de l'acide chorismique (cas de l'acide salicylique) ; ils résultent, en général, de la dégradation de la chaîne latérale des acides cinnamiques (Bruneton, 1999).

Les dérivés d'acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base est le motif C6-C3 (figure 2) dérive de l'acide cinnamique (Guinard, 1996) ; leur présence dans le règne végétal est généralement à l'état d'ester avec d'autres molécules organiques comme les glucides (Richter, 1993).

Les coumarines sont des composés phénoliques qui dérivent aussi des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de leur chaîne latérale (Guignard, 1979 ; Heller *et al.*, 1998). Les coumarines sont principalement présentes sous forme glycosylée (Guignard, 1979 ; Bruneton, 1999).



**Figure 1:** Structure des acides hydroxybenzoïques identifiés dans la caroube  
(Owen *et al.*, 2003)



**Figure 2:** Structure des acides hydroxycinnamiques identifiés dans la caroube  
(Owen *et al.*, 2003)

#### IV.1.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Hollman *et al.*, 1996). Ils sont considérés comme des pigments quasi-universels des végétaux ; ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Sakihama *et al.*, 2002). Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés (Lugasi *et al.*, 2003). Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone (figure 3), constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C<sub>6</sub> (A et B), reliés par une chaîne en C<sub>3</sub> (Bruneton, 1999 ; Gebhardt *et al.*, 2005).

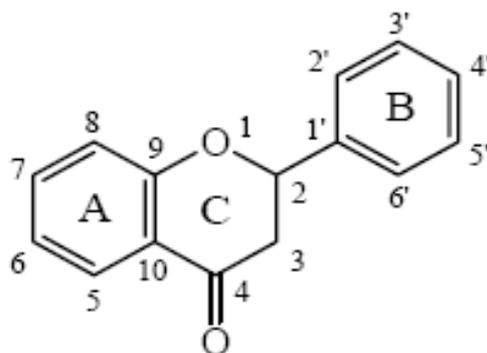
Les flavonoïdes sont classés selon plusieurs critères : présence ou non d'une double liaison en position 2, et présence ou non d'un groupement hydroxyle en position 3 (Tsimogiannis et Oreopoulou, 2006). Des groupements hydroxyles et méthoxyles peuvent le plus souvent se situer en position 2', 3', 4' et 5' ainsi qu'en position 5 et 7.

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les flavanols et les anthocyanidines (Pietta, 2000 ; Gramza et Korczak, 2005).

Il est important de noter que les flavonoïdes se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme glycosylée (Sakihama *et al.*, 2002 ; Ghedira, 2005).

**Tableau VI:** Composition en antioxydants phénoliques de la caroube  
(Owen *et al.*, 2003).

Antioxydants phénoliques		Rendement (mg/kg)	Total (%)
I	Acide cinnamique	49,3	1,25
II	p- acide coumarique	11,3	0,29
III	Acide férulique	16,3	0,41
IV	Acide syringique	2,4	0,06
V	Acide gallique	1647,5	41,76
VI	Gallate de méthyle	40,6	1,03
VII	Apigénine	12,8	0,32
VIII	Chrysoeriol	29,9	0,76
IX	Tricétine 3', 5' éthers diméthyliques	3,1	0,08
X	Lutéoline	37,8	0,96
XI	Quercétine	12,1	0,31
XII	Isorhamnetine	20,1	0,51
XIII	Myricétine	14,4	0,37
XIV	Kaempferol	1,4	0,04
XV	Rhamnoside de kaempferol	19,1	0,48
XVI	Rhamnoside de quercétine	403,4	10,23
XVII	Arabinoside de quercétine	27,8	0,70
XVIII	Rhamnoside de myricétine	366,1	9,28
XIX	Glucoside de myricétine	62,2	1,58
XX	Narigénine	18,9	0,48
XXI	Genisteine	0,5	0,01
XXII	1,6-Di- <i>O</i> - galloyl- $\beta$ -D- glucose	157,4	3,99
XXIII	1,2,6-Tri- <i>O</i> - galloyl- $\beta$ - D glucose	418,9	10,62
XXIV	1,2,3,6-Tetra- <i>O</i> -galloyl- $\beta$ -D- glucose	571,4	14,49
	Total	3944,7	100

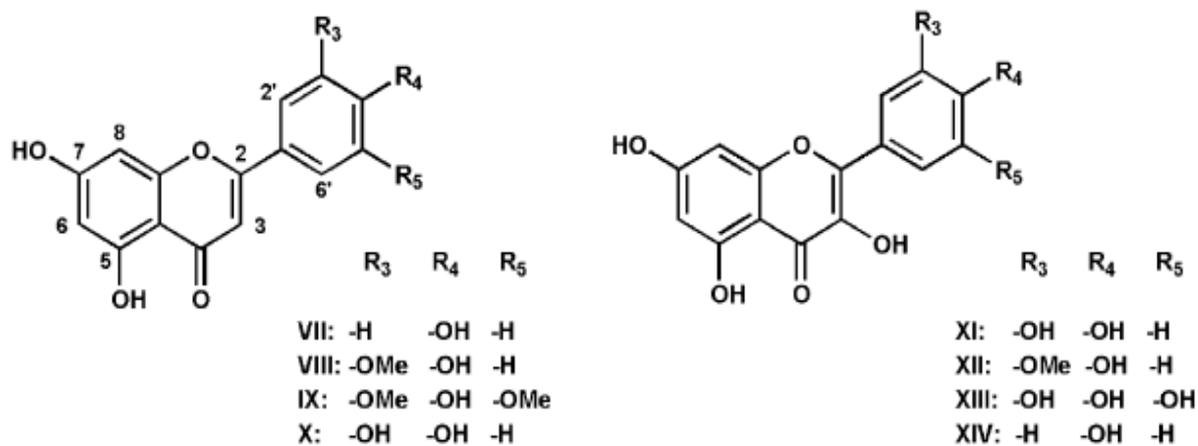


**Figure 3:** Structure de base des flavonoïdes (flavone)  
(Pietta, 2000)

Les flavonoïdes aglycones de la caroube (figure 4) sont représentés par les flavones (apigénine, chrysoeriol ou luteoline-3'-méthyl éther, tricétine 3',5'-diméthyl éther, luteoline), les flavonols (quercétine, isorhamnétine ou quercétine-3'-méthyl éther, myricétine, kaempferol), les flavanones (naringénine) et les isoflavones (génistéine) (Owen *et al.*, 2003).

Les flavonoïdes se rencontrent également sous formes O- et C-hétérosides. Il s'agit généralement des motifs flavonol et flavone qui sont substitués par un glucide en position 3 et 5, respectivement. La partie osidique consiste en un résidu de D-glucose, D-galactose, D-allose ou pentose (L-arabinose, L-rhamnose, D-xylose) (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes glycosylés identifiés dans la caroube (figure 5) sont représentés par le kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside, la quercétine-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside, la quercétine arabinoside, la myricétine-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside et la myricétine glucoside (Owen *et al.*, 2003).



Flavones:

VII=Apigénine.

VIII=Chrysoériol(lutéoline 3'-méthyl éther).

IX=Tricétine 3',5'-diméthyl éther.

X=Lutéoline.

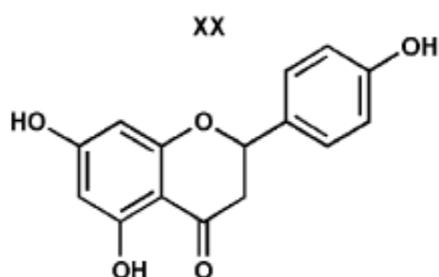
Flavonols:

XI=Quercétine.

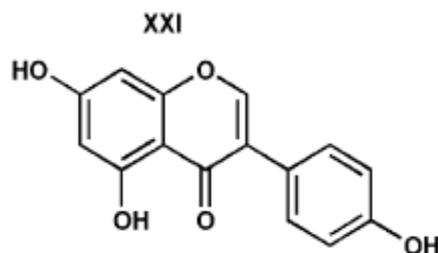
XII=Isorhamnétine(quercétine 3'-méthyl éther)

XIII=Myricétine.

XIV=kaempferol.



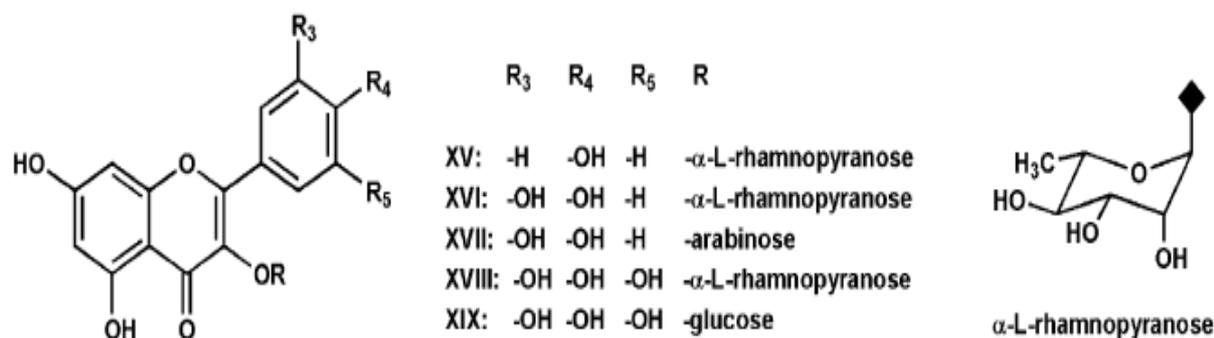
Flavanone: X=Naringine;



Isoflavone: XXI=Genisteine.

**Figure 4:** Structure des flavonoïdes libres identifiés dans la caroube

(Owen *et al.*, 2003).



Flavonols glycosylés :

- XV=Kaempferol-3-O-α-L-rhamnoside.
- XVI=Quercetine-3-O-α-L-rhamnoside.
- XVII=Quercetine arabinoside.
- XVIII=Myricetine-3-O-α-L-rhamnoside.
- XIX=Myricetine glucoside.

**Figure 5:** Structure des flavonoïdes glycosylés identifiés dans la caroube (Owen *et al.*, 2003).

### IV.1.3. Les tannins

Les tannins sont des composés polyphénoliques d'un poids moléculaire de 500-3500 Daltons (Lambraki, 1994).

Les polyphénols de la caroube ont une masse moléculaire très élevée rarement rencontrée chez d'autres plantes. Près de 50% des tannins sont de masse moléculaire comprise entre 3200 et 3600 Daltons (Tamir *et al.*, 1971) ; l'autre moitié se rencontre sous forme de granules de plus haut poids moléculaire, avoisinant 32 000 Daltons (Makris et Kefalas, 2004).

La caractéristique la plus déterminante des tannins est leur capacité à former des complexes (par précipitation) avec les polymères naturels comme les protéines, les polysaccharides et les minéraux (Garro-Galvez *et al.*, 1997 ; Rubanza *et al.*, 2005).

Les tannins sont classés selon leur structure en deux groupes majeurs : les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Silanikove *et al.*, 2001 ; Landau *et al.*, 2004).

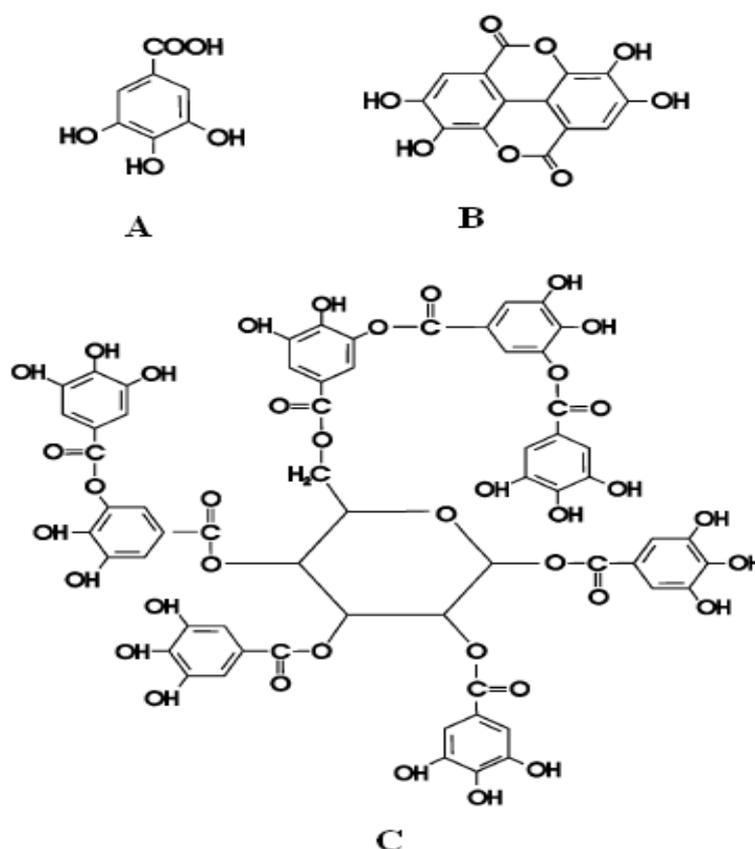
### IV.1.3.1. Tannins hydrolysables

Ce sont des esters de glucose (figures 6 et 7), c'est-à-dire un noyau central de glucose sur lequel se fixent, au moyen d'une liaison ester, des acides : l'acide gallique pour le groupe des gallotannins, l'acide hexahydroxydiphénique ou ellagique pour le groupe des ellagitannins (Guignard, 1979 ; Derbel et Ghedira, 2005). Leur hydrolyse, par des acides, des bases ou certaines enzymes, libère le glucose ainsi que les acides gallique ou phénoliques liés (Khanababae et Ree, 2001 ; Bennick, 2002).

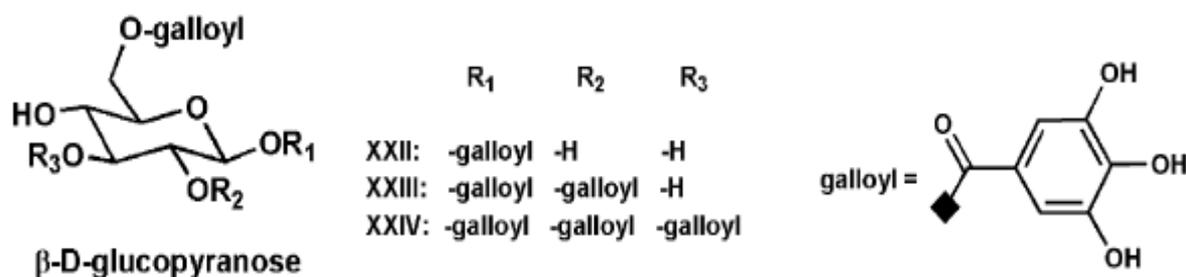
### IV.1.3.2. Tannins condensés

Les tannins condensés ou proanthocyanidines, produisent des anthocyanidines quand ils sont chauffés en milieu acide (Reed, 1995 ; Cheynier, 2005).

Les tannins condensés présents dans la caroube sont des polymères de haut poids moléculaire (figure 8) de flavan-3-ol (catéchines) et de flavan-3,4-diol (leucoanthocyanidines), ou un mélange des deux (Tamir *et al.*, 1971 ; Lambraki, 1994 ; Labieniec *et al.*, 2003).



**Figure 6:** Structure des acides gallique (A) et ellagique (B) et d'un tannin hydrolysable (C) (Labieniec *et al.*, 2003)



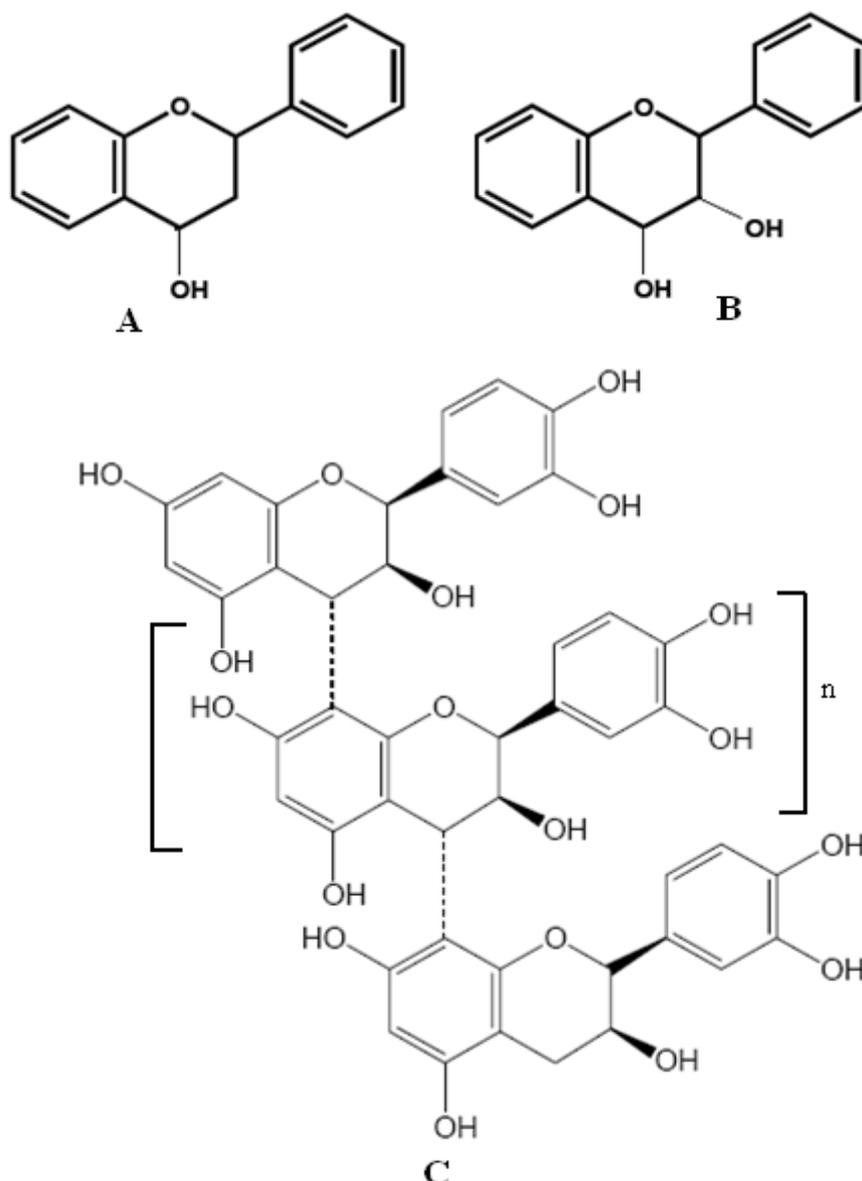
Gallotannins: XXII=1,6-di-*O*-galloyl- $\beta$ -D-glucose.  
 XXIII=1,2,6-tri-*O*-galloyl- $\beta$ -D-glucose.  
 XXIV=1,2,3,6-tetra-*O*-galloyl- $\beta$ -D-glucose.

**Figure 7:** Structure des tannins hydrolysables identifiés dans la caroube  
 (Owen *et al.*, 2003).

#### IV.1.4 Propriétés antioxydantes des composés phénoliques

Grâce à leur diversité structurale, les composés phénoliques exercent une activité antioxydante *via* plusieurs mécanismes et agissent à différents niveaux des réactions radicalaires par la chélation des métaux de transition, la neutralisation des radicaux libres, l'inhibition d'enzymes génératrices de radicaux libres, et l'induction de la synthèse d'enzymes antioxydantes (Cotelle *et al.*, 1995 ; Bors *et al.*, 1997; Grassmann *et al.*, 2002 ; Su *et al.*, 2007). Cette activité est étroitement liée à leur structure, à savoir le nombre et la position des groupements hydroxyles et le degré de méthylation, de glycosylation et de polymérisation (Heim *et al.*, 2002). 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 (Robards *et al.*, 2005).

Les phénols, les polyphénols simples et les tanins condensés insolubles présents dans la caroube sont des piègeurs efficaces des espèces réactives de l'oxygène ; les flavonoïdes, inhibent des enzymes comme la xanthine oxydase, la cyclooxygénase et la production des cytokines (Owen *et al.*, 2003).



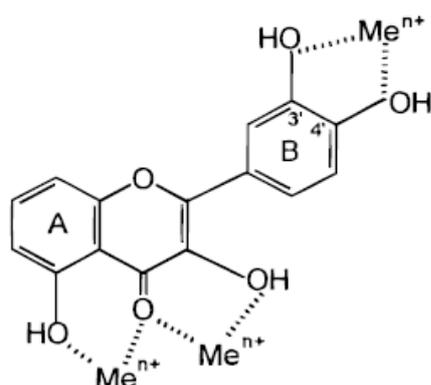
**Figure 8:** Structure de flavan-3-ol (A), flavan-3,4-ol (B) et d'un tannin condensé (C) (Bennick, 2002).

#### IV.1.4.1. Chélation des métaux

Les ions  $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Cu}^+$  sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques. Ils peuvent être, soit des constituants des hémoprotéines, soit des cofacteurs des différentes enzymes du système de défense antioxydant : Fe pour la catalase (Goudable et Favier, 1997), et Cu et Zn pour la superoxyde dismutase (Afonso *et al.*, 2007)). Mais ces métaux sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante:



Cette réaction peut être inhibée par les composés phénoliques notamment les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs de ces ions métalliques (Halliwell, 2007). Ils sont connus pour leur capacité à former des complexes stables avec les ions métalliques grâce à leurs fonctions catéchols 3'-hydroxyl, 4'-hydroxyl sur le cycle B, 3-hydroxyl et 4-oxo de l'hétérocycle C et 4-oxo et 5-hydroxy de l'hétérocycle C et du cycle A, respectivement (figure 9) (Pietta, 2000 ; Heim *et al.*, 2002).



**Figure 9:** Sites de Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes (Pietta, 2000).

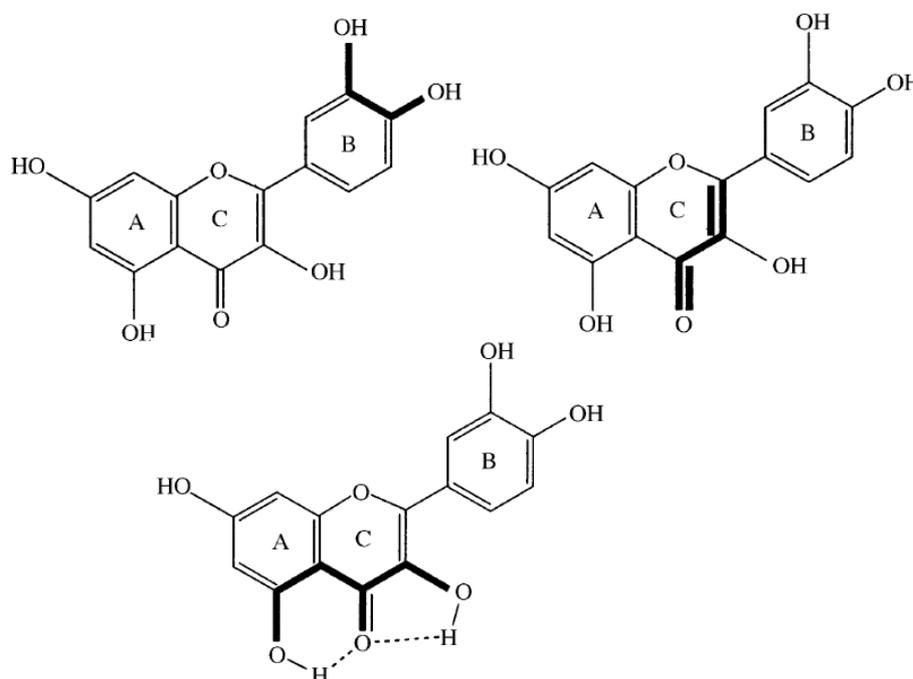
#### IV.1.4.2. Neutralisation des radicaux libres

Les composés phénoliques sont des piègeurs efficaces de radicaux libres en les réduisant par transfert direct d'un électron sur leur dernière couche électronique (Sokol-Letowska *et al.*, 2007 ; Ghedira, 2005).

Les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, sont susceptibles de réagir avec la plupart des radicaux libres : radicaux hydroxyles ( $\text{OH}\cdot$ ), anions superoxydes ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) et radicaux peroxylipidiques (Pietta, 2000). Leur activité anti-radicalaire nécessite:

- La structure 3',4'-dihydroxy du cycle B, qui est essentielle à l'activité des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé.
- La double liaison 2-3 conjuguée avec la fonction 4-oxo-, qui est responsable de la délocalisation d'électrons stabilisant le radical aroxy.

- Les hydroxyles en positions 3 et 5 qui permettent une activité antiradicalaire maximale (figure 10) (Wang *et al.*, 2004 ; Soobrattee, 2005 ; Valko *et al.*, 2006 ; Sokol-Letowska *et al.*, 2007).



**Figure 10** : Les groupements fonctionnels des flavonoïdes intervenant dans leur activité anti-radicalaire (Soobrattee, 2005).

Les flavonoïdes préviennent la peroxydation lipidique en réagissant avec les radicaux libres, qui sont susceptibles d'arracher un proton sur le groupement CH<sub>2</sub> situé entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (Harborne et Williams, 2000) et protègent ainsi les membranes cellulaires (Havsteen, 2002).

Les tannins hydrolysables et les tannins condensés présentent des propriétés antioxydantes significatives ; ils agissent comme donneurs de protons face aux radicaux libres lipidiques produits lors de la peroxydation (Okuda, 2005).

#### **IV.1.4.3. Inhibition d'enzymes**

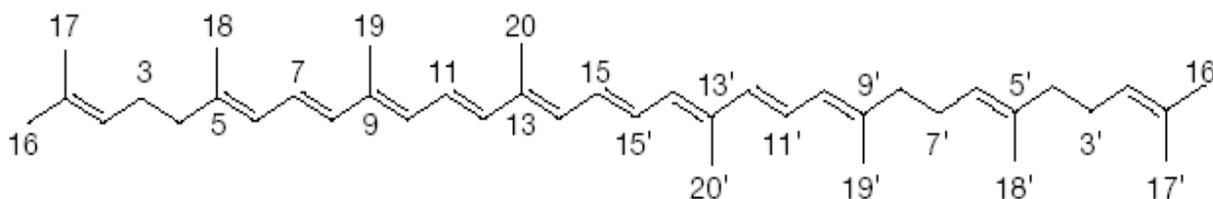
Les composés phénoliques affectent l'activité de nombreux systèmes enzymatiques (Olszanecki *et al.*, 2002). Les flavonoïdes ont la capacité d'inhiber les réactions enzymatiques impliquées dans le stress oxydant. Il a été démontré que

certaines flavonoïdes comme l'apigénine, la quercétine et la myricétine inhibent fortement la xanthine oxydase qui catalyse la réaction de transformation de l'hypoxanthine en acide urique (Da Saliva *et al.*, 2004).

## IV.2. Les caroténoïdes

Le groupe des caroténoïdes comprend des molécules tétraterpéniques formées par l'enchaînement de huit unités isopréniques. Les caroténoïdes dérivent par cyclisation, déshydrogénation et oxydation de la même molécule ( $C_{40}H_{56}$ ) : le lycopène (figure 11) (Derbel et Ghedira, 2005). Ce sont de longues molécules à caractère lipophile qui possèdent dans leur structure chimique, de très nombreuses doubles liaisons conjuguées qui leur confèrent la capacité d'absorber la lumière dans le visible (Rodriguez-Amaya, 1997). Ils peuvent comporter une structure cyclique à chaque extrémité (Rodriguez-Amaya, 2001).

La structure des caroténoïdes détermine leurs caractéristiques, leurs propriétés physicochimiques et leur activité biologique.



**Figure11** : Structure du lycopène (Derbel et Ghedira, 2005).

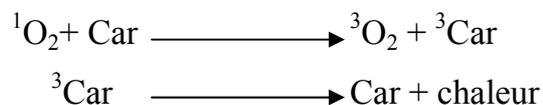
### IV.2.1. Propriétés antioxydantes des caroténoïdes

Grâce à leur longue chaîne carbonée polyinsaturée, les caroténoïdes présentent une activité anti-radicalaire (Rock, 2003). Ils sont particulièrement efficaces contre l'oxygène singulet, un état excité de l'oxygène (Tian *et al.*, 2007).

#### IV.2.1.1. Piégeage de l'oxygène singulet

Les caroténoïdes piègent l'oxygène singulet ; le mécanisme impliqué est le transfert de l'énergie de l'oxygène singulet vers une molécule de caroténoïdes avec

formation de l'oxygène moléculaire triplet et d'une molécule de caroténoïde excité (Krinsky, 1989 ; Polyakov *et al.*, 2001) qui revient à son état initial par perte de son énergie sous forme de chaleur :



Car : Caroténoïde ;  $\text{Car}^3$  : Caroténoïde sous forme triplet.

#### **IV.2.1.2. Neutralisation des radicaux libres**

Les caroténoïdes peuvent céder un électron aux radicaux libres pour donner un radical caroténoïde stable (Beutner *et al.*, 2001).



Car : caroténoïde ;  $\text{Car}^{\cdot+}$  : radical caroténoïde ;  $\text{ROO}\cdot$  : radical peroxyde lipidique.

Les caroténoïdes peuvent inhiber les radicaux libres par transfert d'hydrogène (McGarvey *et al.*, 2001).



Car-H : caroténoïde ;  $\text{Car}\cdot$  ; radical caroténoïde ;  $\text{ROO}\cdot$  : radical peroxyde lipidique ; ROOH : hydroperoxyde lipidique.

*Partie*  
*expérimentale*

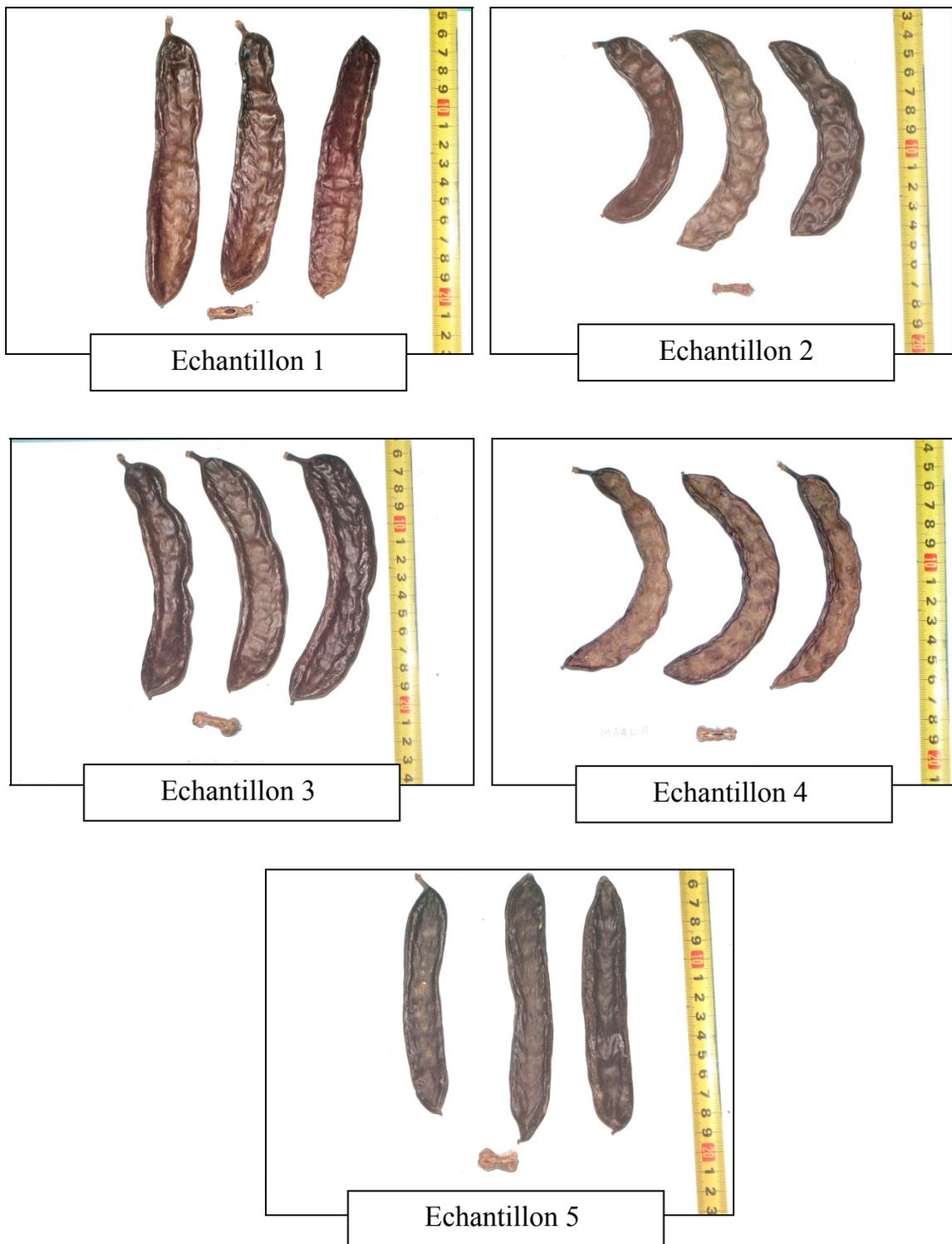
## I. Préparation des échantillons

Cinq échantillons de caroube ont été récoltés de manière aléatoire, durant le mois d'aout 2007 ; 2 Kg de chaque échantillon ont été choisis sur la base de critères bien définis : des fruits sains, maturation complète, taille et couleur uniforme, ne présentant aucune blessure ou infection (tableau V et figure 12).

Après la récolte, les échantillons ont été séchés à l'étuve à 40°C. La matière sèche obtenue est réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisée en utilisant deux tamiseurs de granulométries différentes (500µm et 250 µm) ; les fractions dont le diamètre est inférieur à 250 µm ont été utilisées pour l'extraction.

**Tableau V** : Caractéristiques morphologiques des échantillons de la caroube.

Echantillon	Couleur	Longueur (cm)	Largeur (cm)	Epaisseur (cm)	Nombre de graines	Origine
E1	Marron	12 - 13	2,3- 2,5	0,6-0,7	8 – 10	Bordj-Mira
E2		16 - 18	1,9-2,1	0,4-0,5	11 - 12	Sedouk
E3		15 - 16,5	2,5	0,5-0,6	10	Oued-Ghir
E4	Marron clair	16 - 18	1,8-1,9	0,4-0,5	9 – 11	Maâla (Bouira)
E5	Marron	12 - 14	1,8	0,9-1	8 – 10	Draa El Mizane (Tizi-Ouzou)



**Figure 12 :** Morphologie des échantillons de la caroube étudiés.

## **II. Dosage des antioxydants**

### **II. 1. Les composés phénoliques**

#### **II.1.1. Préparation des extraits**

Les composés phénoliques de la caroube sont extraits à quatre températures (25°C, 50°C, 75°C et 90°C), en utilisant comme solvants l'eau, l'acétone 30% , l'acétone 50% et l'acétone 70% (v/v). Une prise d'essai de la poudre (0,2g) est mise en contact avec 40ml de solvant d'extraction. Le mélange est soumis à une agitation à différentes températures dans un bain marie. Après deux heures d'agitation à l'abri de la lumière, les mélanges sont centrifugés à 3000g pendant 20 min puis filtrés. Les extraits obtenus sont conservés à -18°C.

#### **II. 1. 2. Les composés phénoliques totaux**

La teneur en composés phénoliques est estimée selon la méthode de Goli *et al.* (2005). Deux cent microlitres d'extrait de caroube sont mélangés avec 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 min, 0,8 ml de la solution de carbonate de sodium (7,5%) sont ajoutés. Au bout de 30min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 720nm. La concentration en composés phénoliques des extraits, exprimée en gramme par 100g de matière sèche, est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique.

#### **II.1.3. Les flavonoïdes**

La teneur en flavonoïdes des extraits de la caroube est évaluée par la méthode décrite par Bahorun *et al.* (2004). Une partie aliquote de chaque extrait a été ajouté à un volume égal de chlorure d'aluminium (2 %). L'absorbance a été lue à 410 nm après 10min. Les résultats sont exprimés en gramme équivalent quercétine par 100g de matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage.

#### **II.1.4. Les tannins**

La teneur en tannins des extraits de la caroube est estimée selon la méthode de Hagerman et Buttlar (1978).

La BSA (bovine sérum albumine) est solubilisée dans le tampon A (annexe) à raison de 1mg/ml. 2,5ml de cette solution sont mélangés avec 1ml d'extrait ; après 24h d'incubation à 4°C, les solutions ont été centrifugées à 3000g pendant 15min. Le précipité est solubilisé avec 4ml de SDS/TEA (sodium dodecyl sulfate, triethanolamine) (annexe) et le mélange est agité vigoureusement ; 1ml de chlorure de fer est ajouté pour manifester avec les tannins une couleur pourpre. L'absorbance est lue à 510nm et les résultats sont exprimés en grammes équivalent acide tannique par 100g de matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage.

#### **II.2. Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes ont été extraits selon la méthode de Sass-Kiss (2005) : 0,5 g de la poudre de caroube agités pendant 30 minutes avec un mélange hexane : acétone : éthanol (2:1:1), puis la phase supérieure est récupérée et l'absorbance est mesurée à 430 nm. La concentration en caroténoïdes est exprimée en mg de  $\beta$ -carotène par 100 g de matière sèche en se référant à la courbe d'étalonnage (Annexe).

### **III. Détermination de l'activité antioxydante**

#### **III.1. Pouvoir réducteur**

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferreux du complexe ferricyanure-Fe<sup>3+</sup> en fer ferrique. Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode de Arabshahi-Delouee et Urooj (2007) ; 1ml d'extrait est additionné à 2,5ml de tampon phosphate (0,2M, 6,6) et 2,5ml de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C pendant 20min, 2,5ml d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés au mélange. Après centrifugation à 3000g pendant 10 min., 2,5ml du surnageant sont mélangés avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml du chlorure ferrique (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700nm.

Les résultats sont exprimés en grammes équivalent acide ascorbique par 100g de matière sèche à partir d'une courbe d'étalonnage.

### **III.2. Pouvoir antiradicalaire**

Le radical libre stable 2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl (DPPH•) est réduit par un transfert d'hydrogène des antioxydants. 300µl d'extrait sont ajoutés à 2700µl de DPPH (60µM). L'absorbance a été lue à 517nm après 30min d'incubation (Kroyer et Hegedus, 2001). Le pourcentage de neutralisation du radical de DPPH est :

$$\% = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$$

A témoin : absorbance du témoin ; A échantillon : absorbance de l'extrait.

### **VI. Etude statistique**

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais. L'analyse statistique des résultats est effectuée avec l'application ANOVA (STATISTICA 5.5) et la comparaison des données est prise à la probabilité  $P < 0,05$ .

*Résultats et  
discussions*

## **I. Les antioxydants**

### **I.1. Les composés phénoliques**

Les conditions d'extraction (type de solvant, taille des particules, état du matériel végétal et température) peuvent influencer significativement le taux et la nature des composés extraits (Nack et Shahidi, 2006).

Dans la présente étude, l'acétone est utilisée comme solvant plutôt que le méthanol ou l'éthanol pour extraire les polyphénols, car il a l'avantage de précipiter les protéines et d'extraire faiblement les sucres (Boizot et Charpentier, 2006).

Pour étudier l'effet du solvant sur l'extraction des polyphénols des échantillons de la caroube, quatre solvants ont été utilisés : l'eau, l'acétone 30%, l'acétone 50% et l'acétone 70%.

Les extraits acétoniques présentent les teneurs en composés phénoliques les plus élevées par rapport aux extraits aqueux avec des différences significatives ( $p < 0,05$ ).

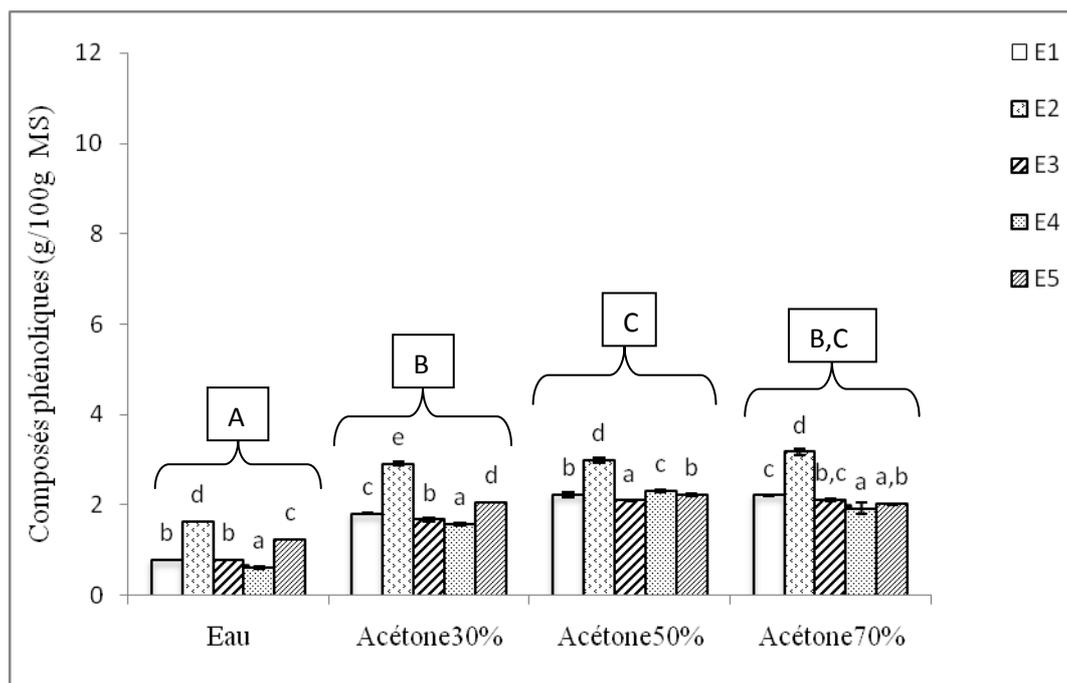
A 25°C (figure 13), la teneur moyenne en composés phénoliques la plus élevée est (2,37 g/100g) obtenue avec l'acétone 50%, suivi par l'acétone 70%, puis l'acétone 30%, alors que la plus faible teneur (1,01 g/100g) est obtenue avec l'eau ( $p < 0,05$ ).

A 90°C (figure 14), les extraits aqueux présentent une teneur moyenne en composés phénoliques de 2,74 g/100g. Les teneurs moyennes obtenues pour les extraits à l'acétone 30%, l'acétone 50% et l'acétone 70%, ne présentent pas de différence significative ( $p < 0,05$ ); elles sont comprises entre 7,26 et 7,79 g/100g.

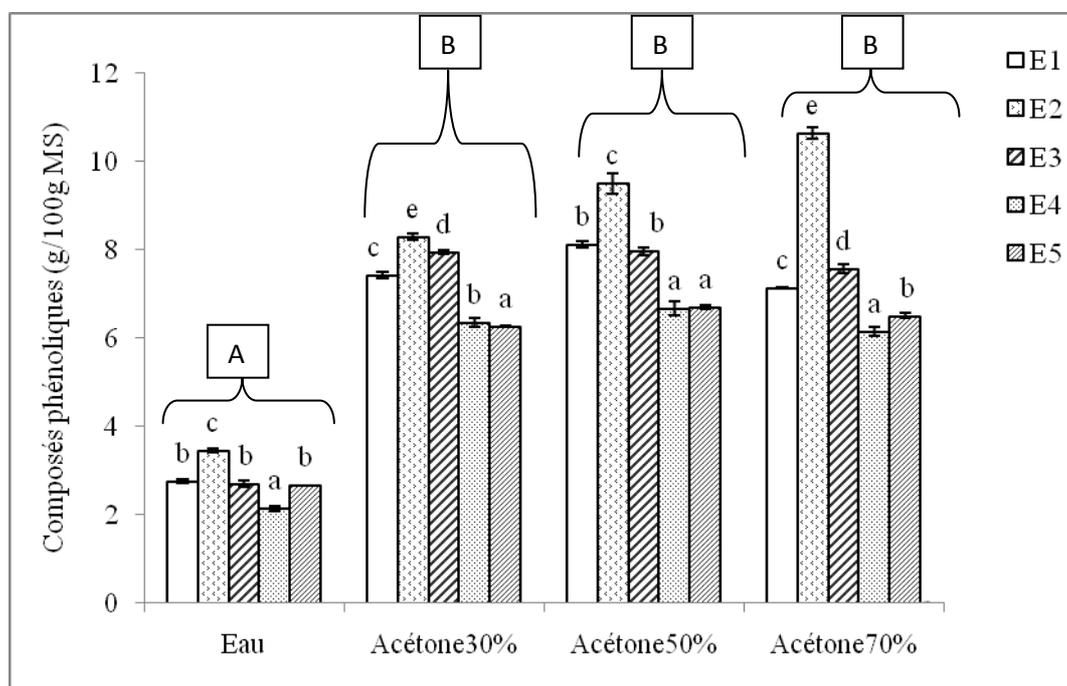
Pour étudier l'effet de la température, l'extraction des polyphénols des échantillons de la caroube a été réalisée à quatre températures : 25°C, 50°C, 75°C et 90°C.

Les extraits aqueux obtenus à 25°C, 50°C, 75°C et 90°C (figure 15), ont des teneurs moyennes en composés phénoliques de 1,01, 1,21, 1,67 et 2,74 g/100g, respectivement.

L'extraction à l'acétone 50% (figure 16) a permis d'obtenir des teneurs moyennes en composés phénoliques égales à 2,36, 2,74 et 3,72 g/100g à 25°C, 50°C et 75°C, respectivement. La teneur moyenne la plus importante (7,79 g/100g) a été obtenue à 90°C.

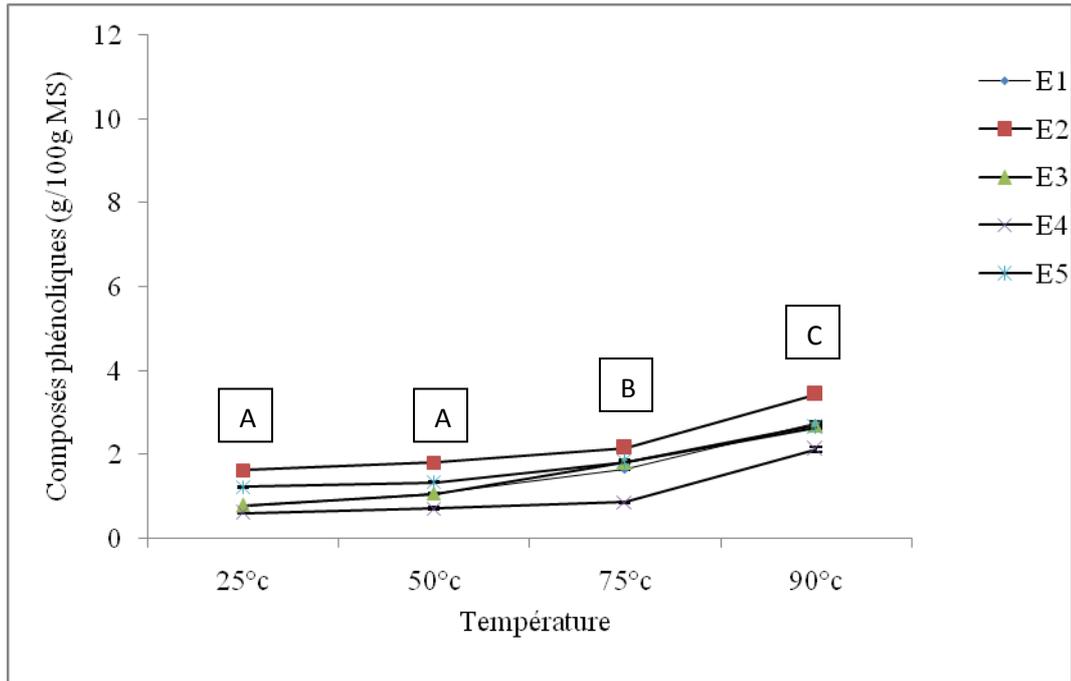


**Figure 13 :** Teneurs en composés phénoliques des extraits aqueux et acétoniques de la caroube à 25°C.

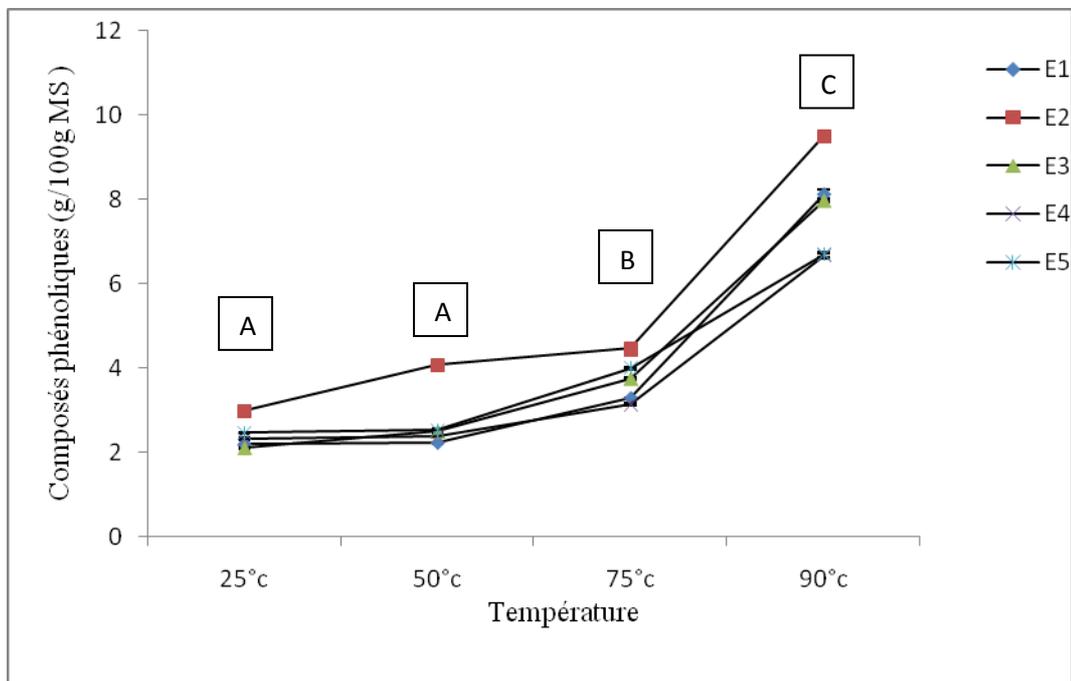


**Figure 14 :** Teneurs en composés phénoliques des extraits aqueux et acétoniques de la caroube à 90°C.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.  
 (Lettres majuscules : effet du solvant ; Lettres minuscules : effet de l'échantillon).



**Figure 15:** Effet de la température sur la teneur en composés phénoliques des extraits aqueux de la caroube.



**Figure 16:** Effet de la température sur la teneur en composés phénoliques des extraits acétoniques (acétone 50%) de la caroube.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Ces résultats indiquent que la teneur en composés phénoliques des extraits aqueux et acétoniques des échantillons de la caroube augmente avec la température d'une façon significative ( $p < 0,05$ ). Cependant, il n'y a pas de différence significative entre l'extraction à 25°C et l'extraction à 50°C.

Pour les mêmes conditions d'extraction (température et solvant), les teneurs en composés phénoliques varient de façon significative selon l'échantillon ( $p < 0,05$ ) ; les teneurs les plus importantes ont été obtenues avec l'acétone 70% à 90 °C. L'échantillon E2 présente la teneur la plus élevée (10,65g/100g). Les teneurs les plus faibles (6,50 et 7,59g/100g) ont été obtenues pour les échantillons E4 et E5, respectivement.

Dans des études réalisées sur la caroube, l'extraction au méthanol acidifié a permis d'obtenir une concentration de 42 g/100g (équivalent catéchine) (Shahkhalili *et al.*, 1990). Selon l'étude effectuée par Avallone *et al.* (1997), l'acétone pure est inefficace pour l'extraction des polyphénols (0,2 g/100g) tandis que l'acétone 70% (1,92 g/100g) s'avère meilleur que le méthanol 70% (1,25g/100g). L'extraction à l'eau a permis d'obtenir des concentrations en composés phénoliques de 1,76 g/100g (Aharoni *et al.*, 1998), 1,75g/100g (Turhan *et al.*, 2006) et 4,50 g/100g (Sebecic *et al.*, 2007).

Suite à une extraction à l'eau bouillante après l'élimination des oses présents dans la caroube, Kumazawa *et al.* (2002) ont indiqué une teneur en composés phénoliques de 19,2 g/100g.

Les résultats de dosage des polyphénols de la caroube montrent un rendement supérieur avec une extraction à l'hexane puis au méthanol 0,39 g/100g, qu'avec une extraction à l'eau distillée (Owen *et al.*, 2003).

Des teneurs en composés phénoliques de la caroube de 0,22 ; 0,32 ; 0,34 et 0,93g/100g ont été rapportées par Makris et Kefalas (2004), en utilisant comme solvant d'extraction le méthanol 80%, l'acétonitrile 80 %, le méthanol et l'acétone 80 %, respectivement. Ayaz *et al.* 2007 ont rapporté une teneur de 1,35 g/100g.

La teneur en composés phénoliques de la caroube augmente avec la température suite à une extraction par l'eau à 20°C, 50°C et 85°C (Turhan *et al.*, 2006).

L'extraction des composés phénoliques des pépins de raisin par l'eau à 25°C, 50°C et 80°C, a permis d'obtenir la teneur la plus élevée à 80°C et la plus faible à 25°C (Bucic'-Kojic'*et al.*, 2007). Dans une autre étude une augmentation significative de la concentration de polyphénol est obtenue avec une température d'extraction égale ou supérieure à 50°C (Youssef et El-Adawi., 2006).

La teneur en composés phénoliques du péricarpe du litchi augmente avec la température de 30°C à 80°C (Ruenroengklin *et al.*, 2008).

Les teneurs et la composition en polyphénols de la caroube diffèrent d'un auteur à un autre. Les fluctuations obtenues pourraient être dues à différents facteurs comme la variété du caroube, l'origine géographique, les conditions de culture, le degré de la maturation (Ayaz *et al.*, 2007), la partie analysée, les méthodes utilisées pour l'extraction des polyphénols ou leur détermination.

L'utilisation de l'eau en combinaison avec des solvants organiques contribue à la création d'un milieu modérément polaire qui assure l'extraction des composés phénoliques (Lapronik *et al.*, 2005 ; Liyana-Pathirana et Shahidi, 2005).

La faible teneur des extraits aqueux en composés phénoliques pourrait être due à la présence d'impuretés (acides organiques, glucides, protéines solubles) qui peuvent interférer dans le dosage des composés phénoliques (Chirinos *et al.*, 2007).

Les acides phénoliques très polaires (acides benzoïques et cinnamiques) ne peuvent pas être extraits complètement avec des solvants organiques purs ; les mélanges alcool-eau ou acétone-eau sont recommandés, et les substances moins polaires (dérivés d'acides phénoliques) ne sont pas isolés quantitativement en utilisant l'eau pure comme solvant d'extraction (Cazes, 2005).

Les mélanges acétone-eau sont les meilleurs solvants pour l'extraction des antioxydants polaires ; ils sont très utilisés pour l'extraction des matrices protéiques, car ils permettent la dissolution des complexes polyphénols-protéines (Al-Farasi et Lee, 2008).

Le chauffage lors de l'extraction pourrait ramollir le tissu végétal et affaiblir les interactions phénols-protéines et phénols-polysaccharides, ainsi plus de polyphénols migreraient vers le solvant (Youssef et El-Adawi., 2006)

L'augmentation de la température d'extraction pourrait favoriser une libération des polyphénols associés aux parois, ce qui induirait l'apparition de nouveaux groupements hydroxyles qui réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

## **I.2. Les flavonoïdes**

Les teneurs en flavonoïdes présentent des différences significatives selon l'échantillon et le solvant d'extraction utilisé (figures 17 et 18).

A 25°C (figure 17), les extraits aqueux contiennent une teneur moyenne en flavonoïdes égale à 0,08 g/100g. L'extraction à l'acétone 30%, l'acétone 50% et l'acétone 70% a donné des teneurs moyennes de 0,10 ; 0,12 ; 0,11 g/100g, respectivement.

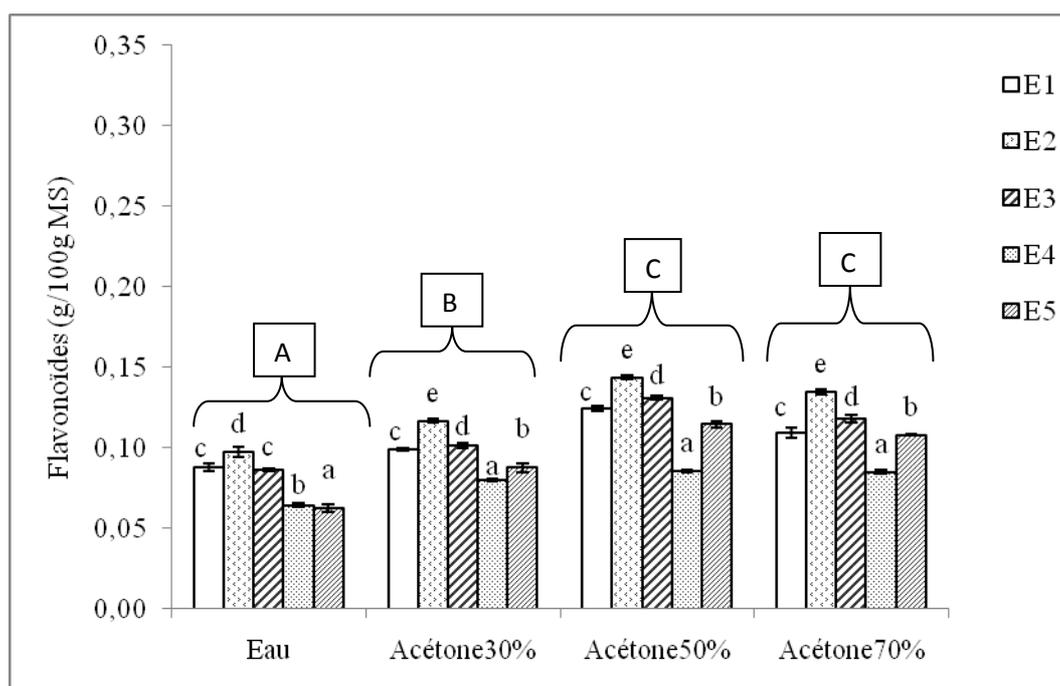
A 90°C (figure 18), la teneur moyenne en flavonoïdes des extraits aqueux est 0,17 g/100g. Les extraits acétoniques 30% et 70% contiennent une teneur moyenne similaire (0,25g/100g). Les extraits à l'acétone 50% sont les plus riches en flavonoïdes (0,29g/100g).

Les teneurs en flavonoïdes des extraits acétoniques et aqueux sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ). A 90°C, l'acétone 50% représente le meilleur solvant suivi par l'acétone 70% et l'acétone 30% et enfin l'eau, alors qu'à 25°C les teneurs en flavonoïdes dans l'acétone 70% et l'acétone 50% ne présentent pas de différence significative.

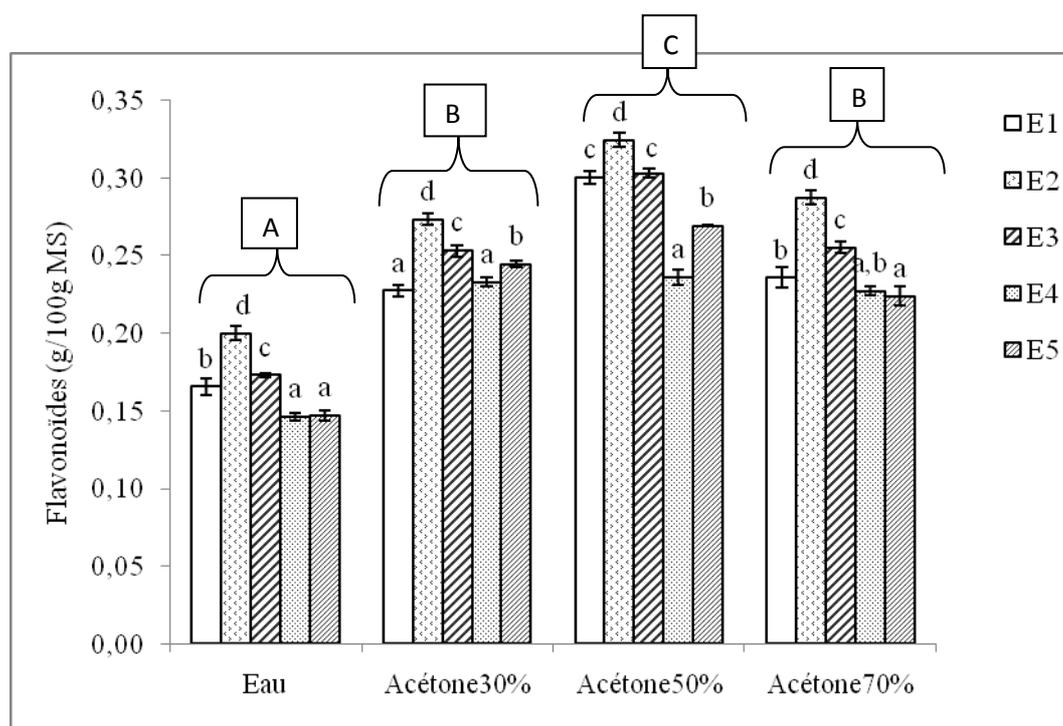
Les teneurs en flavonoïdes des extraits varient selon la température d'extraction. Pour l'intervalle 25 à 90°C, les teneurs en flavonoïdes augmentent de manière significative ( $P < 0,05$ ).

Les extraits aqueux présentent des teneurs moyennes allant de 0,08 à 0,17g/100g à 25°C, 50°C, 75°C et 90°C (figure 19).

L'extraction à l'acétone 50%, a donné des teneurs moyennes en flavonoïdes comprises entre 0,12 et 0,29 g/100g, à 25°C, 50°C, 75°C et 90°C (figure 20).

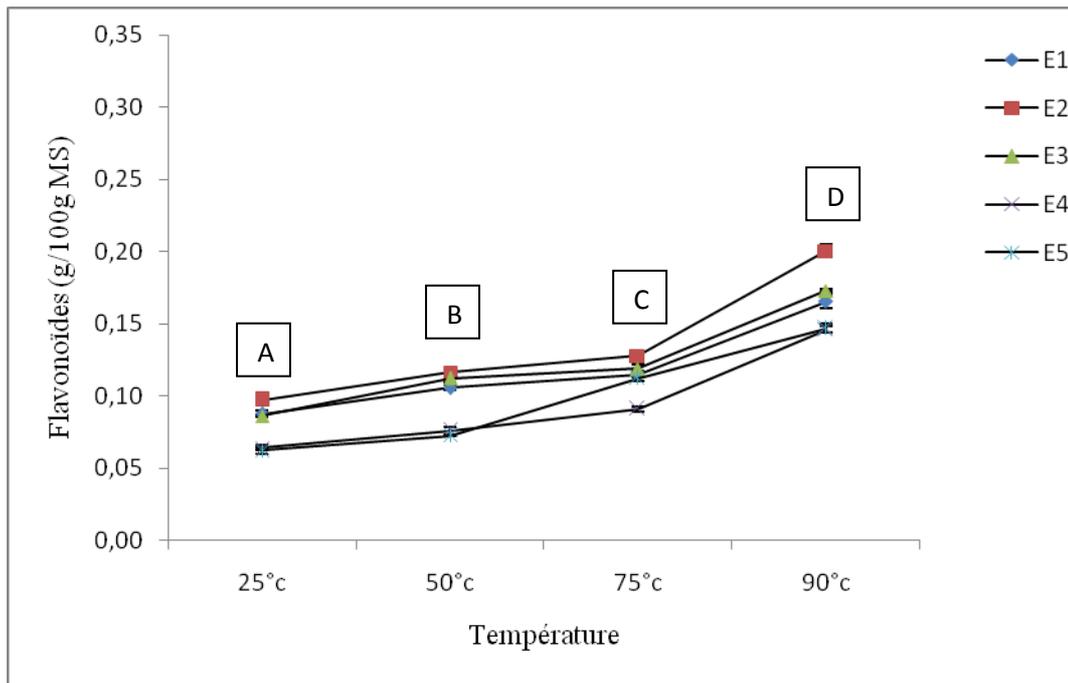


**Figure 17:** Effet du solvant sur l'extraction des flavonoïdes des échantillons de la caroube à 25°C.

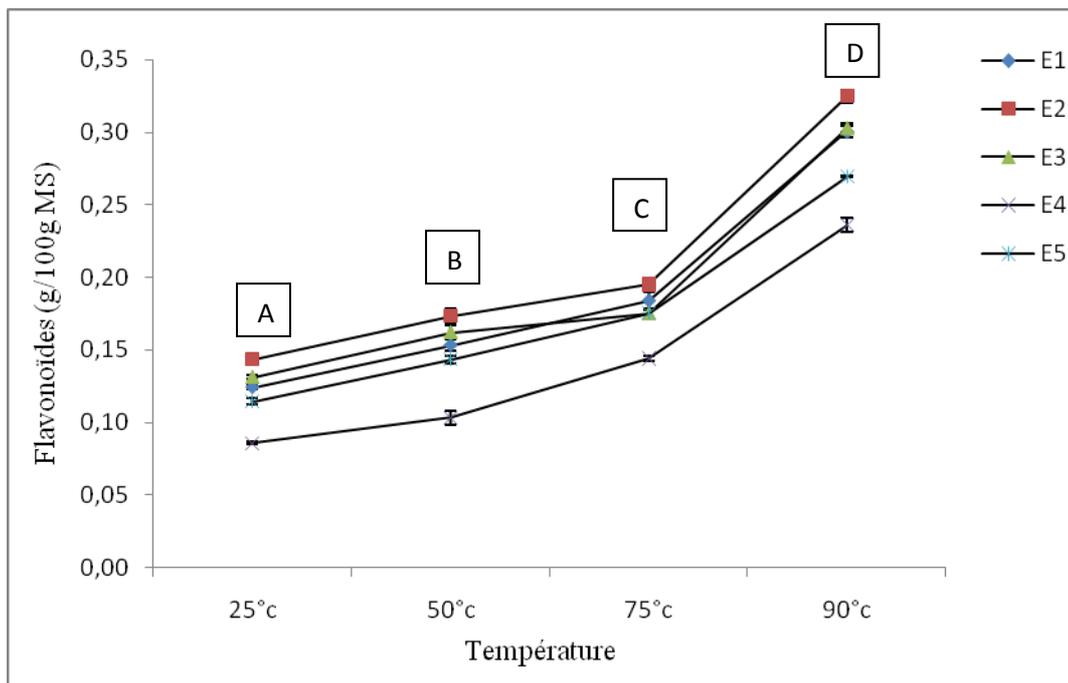


**Figure 18 :** Effet du solvant sur l'extraction des flavonoïdes des échantillons de la caroube à 90°C.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.  
(Lettres majuscules : effet du solvant ; Lettres minuscules : effet de l'échantillon).



**Figure 19 :** Effet de la température sur la teneur en flavonoïdes des extraits aqueux des échantillons de la caroube.



**Figure 20:** Effet de la température sur la teneur en flavonoïdes des extraits acétoniques (acétone 50 %) des échantillons de la caroube.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

A 90°C dans l'extrait à l'acétone 50 %, la teneur en flavonoïdes la plus élevée (0,32 g/100g) est obtenue dans l'échantillon E2 tandis que la plus faible teneur (0,24g/100g) est celle de l'échantillon E4.

Selon Owen *et al.* (2003), la caroube présente une teneur en flavonoïdes de 0,10 g/100g, dont les composés dominants sont la quercétine rhamnoside (0,04g/100g) et la myricétine rhamnoside (0,037 g/100g). Selon Makris *et al.* (2007), les teneurs en flavonoïdes sont de 0,92 g équivalent catéchine/100g. Des teneurs comprises entre 0,04 et 0,05 g (CE)/100g ont été obtenues par Ayaz *et al.* (2007).

La solubilité des flavonoïdes dépend du nombre, du type et de la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes (Lapronik *et al.*, 2005).

### **I.3. Les tannins**

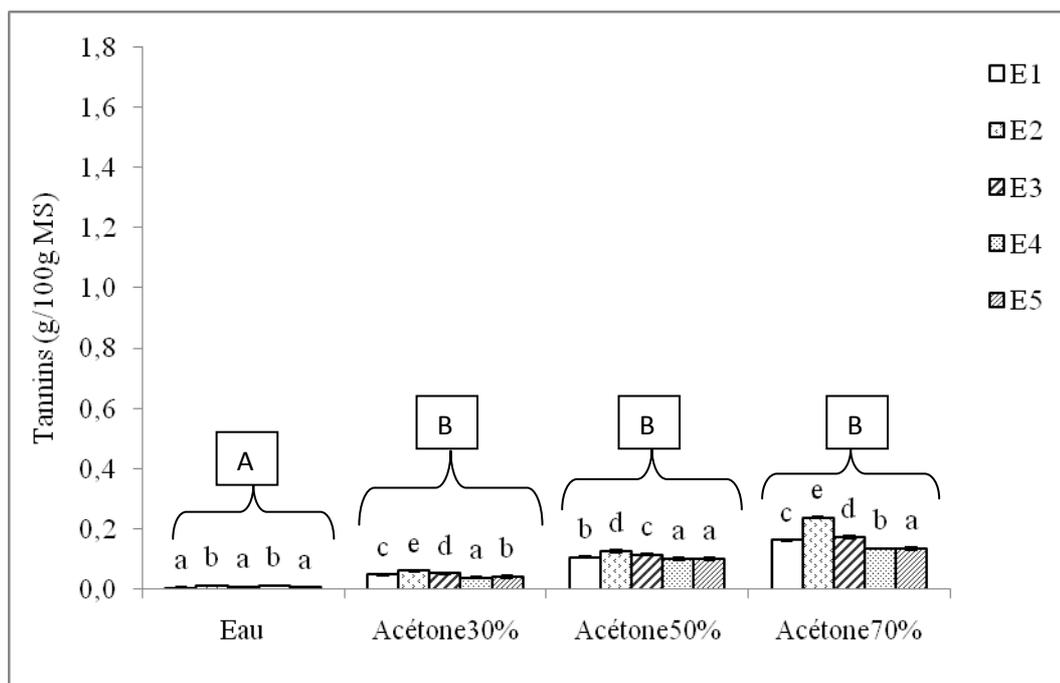
Les extraits acétoniques présentent des teneurs en tannins supérieures à celles des extraits aqueux avec différences significatives ( $P < 0,05$ ).

La teneur moyenne en tannins à 25°C des extraits aqueux est de 0,01 g/100g. L'extraction à l'acétone 30%, l'acétone 50% et l'acétone 70% a donné des valeurs moyennes similaires sans différence significative ; ces teneurs varient entre 0,05 et 0,17g/100g (figure 21).

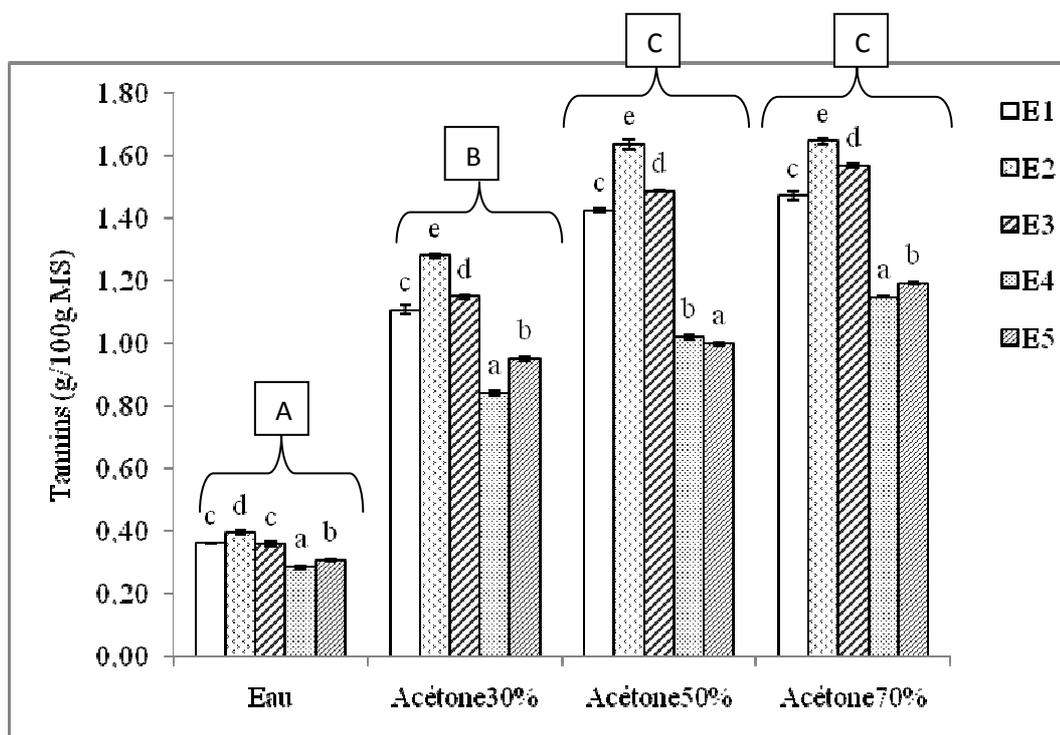
A 90°C, les extraits aqueux contiennent une teneur moyenne en tannins de 0,34g/100g (figure 22). L'extrait préparé par l'acétone 30% contient une teneur moyenne de 1,06 g/100g ; les teneurs moyennes obtenues dans l'acétone 50% et l'acétone 70% ne présentent pas de différence significative ; elles sont égales à 1,31 et 1,40 g/100g, respectivement.

Pour des températures comprises entre 25°C et 90°C, les extraits aqueux contiennent des teneurs moyennes en tannins allant de 0,01 à 0,34 g/100g (figure 23).

L'extraction par l'acétone 50% a permis d'obtenir des valeurs moyennes allant de 0,11 à 0,39 g/100g à 25°C, 50°C et 75°C. La teneur moyenne en tannins la plus élevée (1,31 g/100g) détectée à 90°C (figure 24).

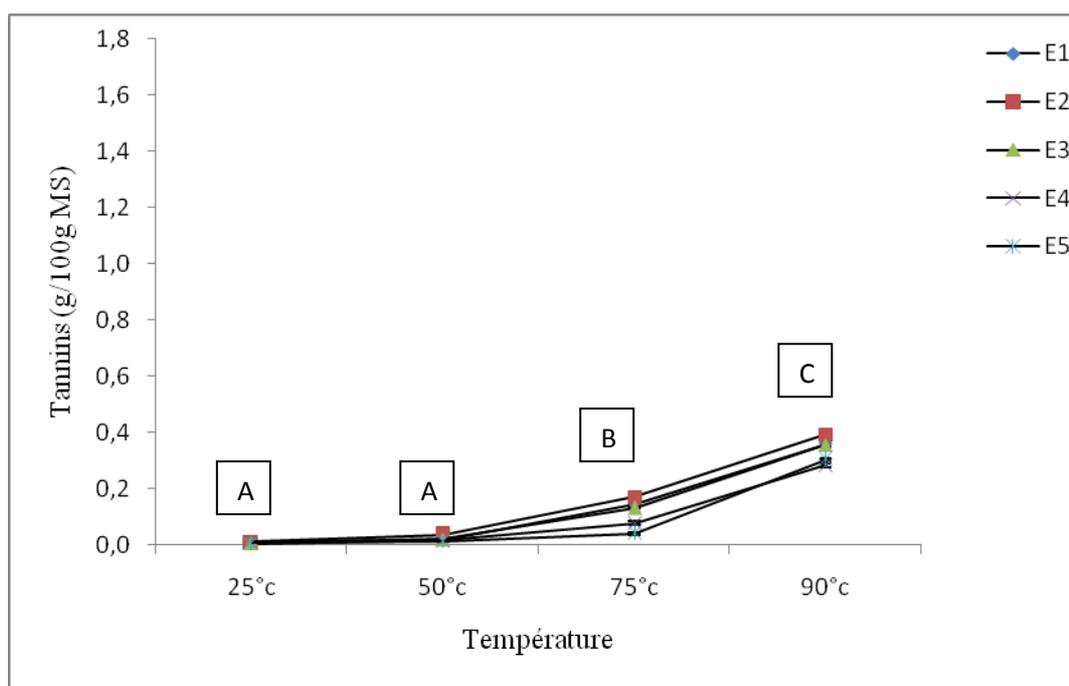


**Figure 21 :** Effet du solvant sur l'extraction des tannins des échantillons de la caroube à 25°C.

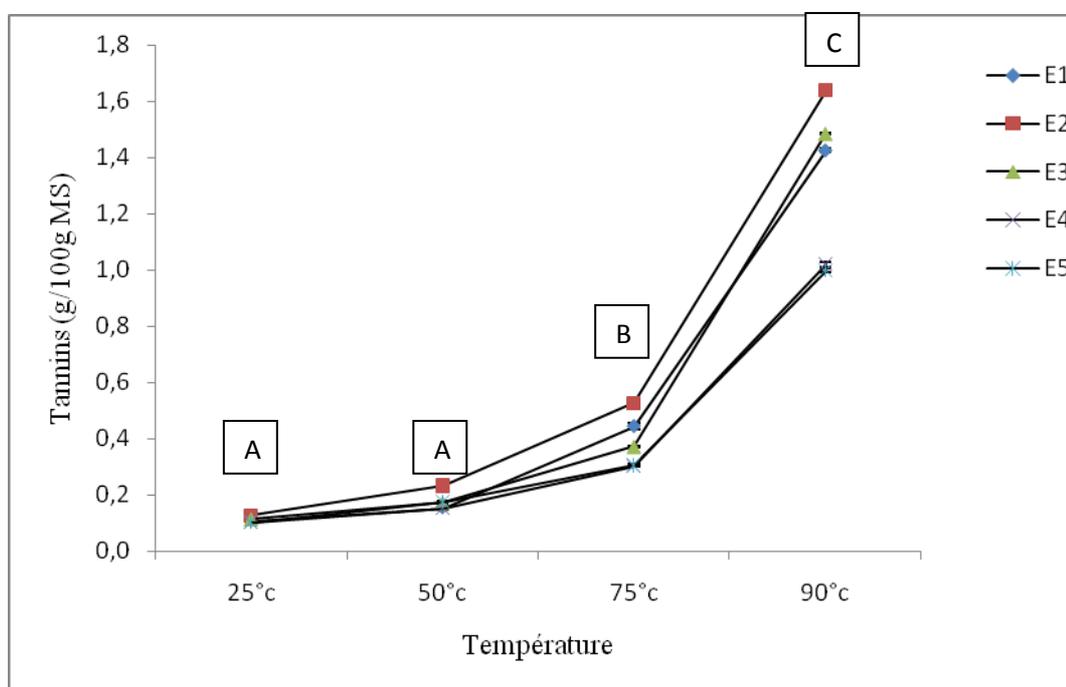


**Figure 22 :** Effet du solvant sur l'extraction des tannins des échantillons de la caroube à 90°C.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.  
(Lettres majuscules : effet du solvant ; Lettres minuscules : effet de l'échantillon).



**Figure 23:** Effet de la température sur la teneur en tannins des extraits aqueux des échantillons de la caroube.



**Figure 24:** Effet de la température sur la teneur en tannins des extraits acétoniques des échantillons de la caroube.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les teneurs en tannins augmentent de manière significative ( $p < 0,05$ ) pour les températures supérieures à 50°C. Pour les extractions réalisées à 25°C et à 50°C, aucune différence significative n'est constatée.

Les teneurs en tannins des extraits de la caroube présentent de différences significatives ( $p < 0,05$ ) selon l'échantillon. Pour l'extrait préparé par l'acétone 50 % à 90°C, l'échantillon E2 possède la teneur en tannins la plus élevée (1,64g/100g), tandis que l'échantillon E5 possède la teneur la plus faible (1,00g/100g).

Les teneurs importantes en tannins obtenues dans les extraits acétoniques, peuvent être expliquées par le poids moléculaire élevé des tannins de la caroube. Cependant, ils sont très solubles dans les solvants organiques moins polaires.

Les teneurs faibles obtenues dans les extraits aqueux peuvent être expliquées par le fait que les tannins à poids moléculaire élevé diffusent plus faiblement que les oligomères dans l'eau (Bennick, 2002 ; Cheynier *et al.*, 2005).

Les teneurs en tannins des échantillons de la caroube de la présente étude sont comparables à plusieurs résultats de la littérature. Des teneurs de 4, 3,75 et 2,35 g/100g ont été rapportées par Tamir *et al.* (1971), Yousif et Alghzawi (2000) et Lizardo *et al.* (2002), respectivement. Dongowski (2007) a obtenu des teneurs comprises entre 3 et 7 g/100g. Les teneurs en tannins de la caroube murs et verte extraits par l'eau chaude, sont respectivement de 6 et 4 g/100g (Tamir et Alumot, 1969). Würsch (1979) a obtenu, dans la fraction fibreuse de la caroube, une teneur en tannins condensés de 44,4 g/100g. Aharoni *et al.* (1998) ont rapporté une teneur de 4g/100g.

Dans une étude effectuée par Kumazawa *et al.* (2002) ; les teneurs en tannins condensés obtenues en utilisant la méthode de vanilline et la méthode de proanthocyanidines sont de 4,37 et 1,36 g/100g, respectivement. Des teneurs comprises entre 16 et 20 g/100g ont été rapportées par Makris et Kefalas (2004).

Ayaz *et al.* (2007) ont rapporté des teneurs de 0,036 g/100g et 0,041 g/100g en proanthocyanidines et gallotannins, respectivement.

Avallone *et al.* (1997) indiquent une teneur plus élevée en tannins condensés (proanthocyanidines) en comparaison avec les tannins hydrolysables représentés par les éllagitannins et les gallotannins. En effet, la caroube contient 0.275 g/100g de

tannins condensés et 0.095 g/100g de tannins hydrolysables (0.051g/100g d'ellagitanins et 0.044 g/100g de gallotannins).

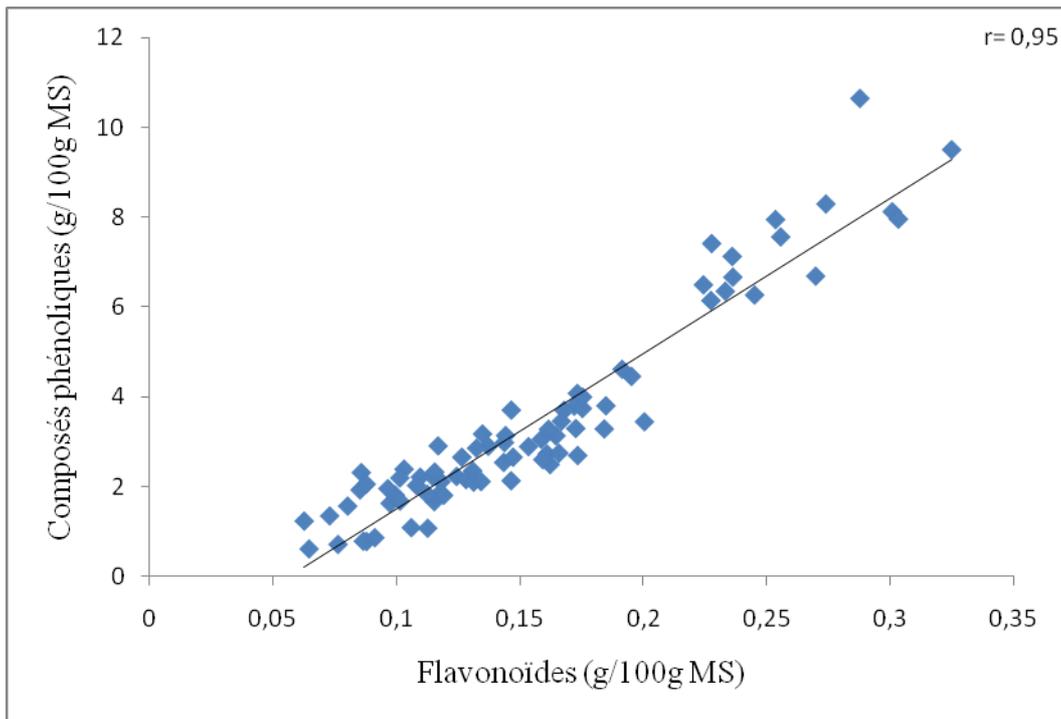
Les principaux polyphénols décrits dans les gousses de la caroube sont insolubles, hautement polymérisés, appartenant aux tannins condensés contenant un noyau flavane (Tamir *et al.*, 1971). Le degré de polymérisation des flavanols, estimé par Kumazawa *et al.* (2002) est de 31,1%.

Les polyphénols extraits par l'eau se composent de (-)- epigallocatechine, (+)- catechine, (-)-epicatechine gallate, (-)-epigallocatechine gallate, avec l'acide gallique comme composant le plus abondant (Avallone *et al.*, 1997).

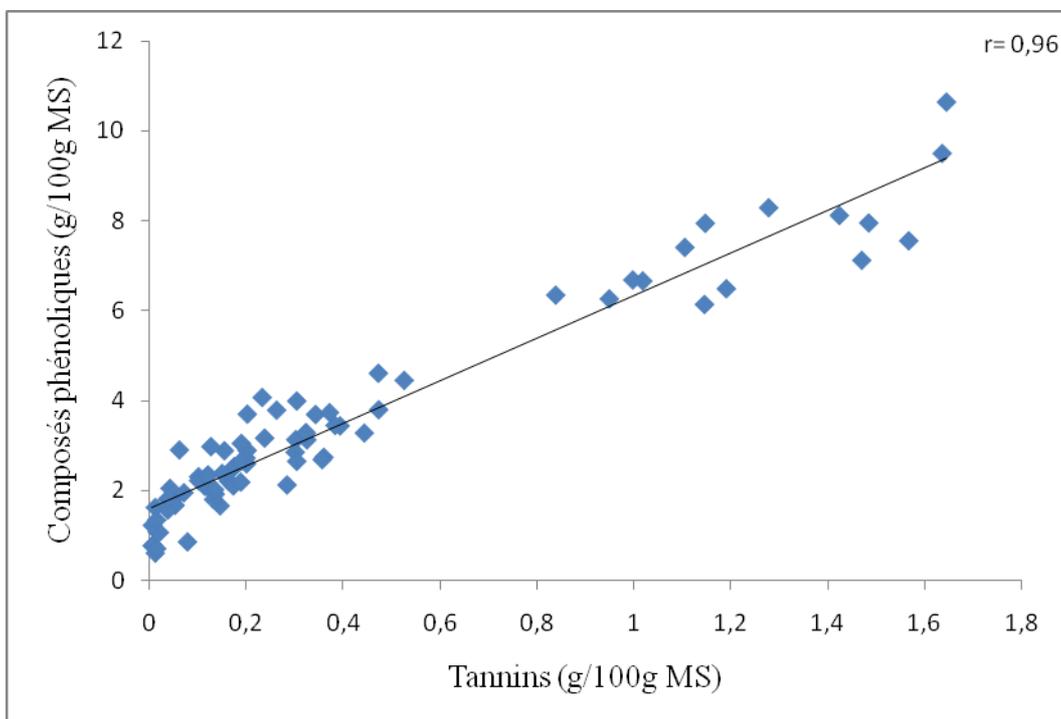
Les gousses mures sont riches en acide gallique (Nishira et Joslyn, 1968). Nishira et Joslyn (1968) et Tamir *et al.* (1971) ont identifié plusieurs catéchines et leuco-anthocyanines dans les gousses vertes. Ces molécules sont considérées comme les précurseurs possibles des tannins condensés retrouvés dans les gousses mûres.

De très bonnes corrélations linéaires sont constatées entre les teneurs en polyphénols totaux et les teneurs en flavonoïdes (figure 25) et en tannins (figure 26) des extraits des échantillons de la caroube

L'extraction à 25°C, 50°C, 75°C et 90°C, par l'eau, l'acétone 30%, l'acétone 50% et l'acétone 70% a permis d'obtenir des teneurs en flavonoïdes et en tannins proportionnelles avec celles des composés phénoliques totaux, avec des coefficients de corrélation de 0,95 et 0,96, respectivement.



**Figure 25:** Corrélation entre la teneur en composés phénoliques et la teneur en flavonoïdes des extraits de la caroube.



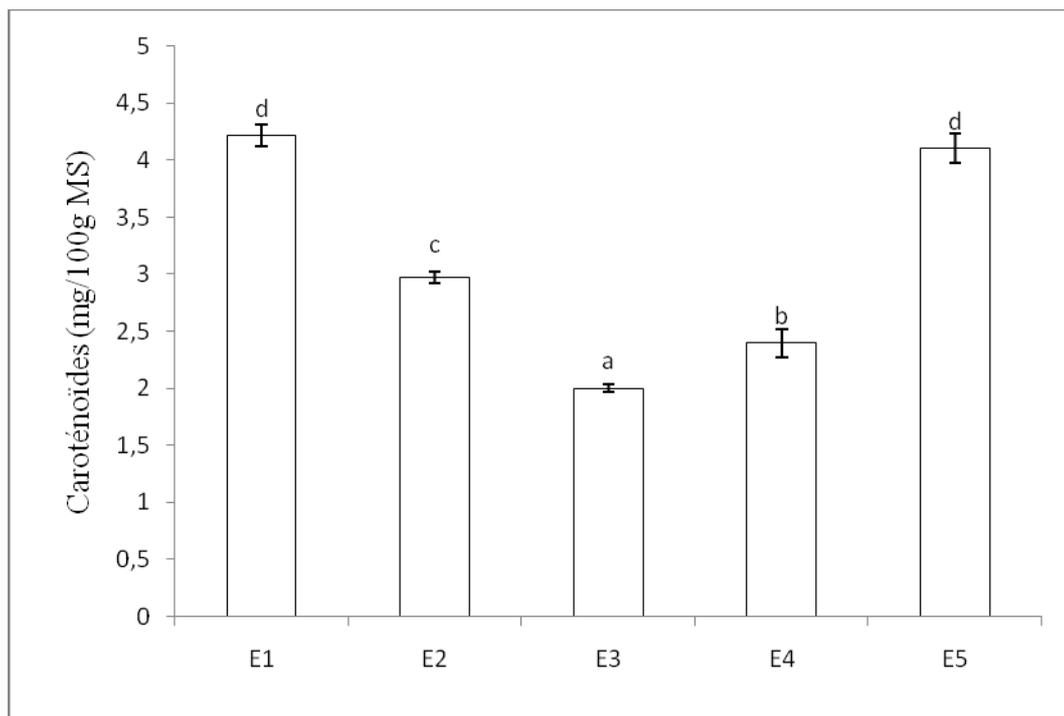
**Figure 26:** Corrélation entre la teneur en composés phénoliques et la teneur en tannins des extraits de la caroube.

#### I.4. Les caroténoïdes

Pour l'extraction des caroténoïdes deux phases ont été utilisées ; une phase apolaire qui permet de récupérer les caroténoïdes et une phase polaire pour éliminer les molécules hydrophiles dont les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes, car certains peuvent interférer dans le dosage des caroténoïdes.

Les teneurs en caroténoïdes des échantillons de la caroube analysés (figure 27) présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ). Les échantillons E2, E3 et E4 contiennent 2,97 ; 2,00 et 2,40 mg/100g, respectivement ; les teneurs des échantillons E1 et E5 ne présentent pas de différence significative ( $p < 0,05$ ) ; ce sont les échantillons les plus riches en caroténoïdes : 4,2 et 4,1 mg/100g, respectivement.

Les différences constatées entre les échantillons seraient dues à la variété et aux conditions de culture, notamment la lumière, la température et l'azote disponible.



**Figure 27** : Teneur en caroténoïdes des échantillons de la caroube.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

## **II. Activité antioxydante**

### **II.1. Pouvoir réducteur**

Le pouvoir réducteur est la capacité qu'a un extrait à donner un électron et à réduire le fer. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (Tepe *et al.*, 2005).

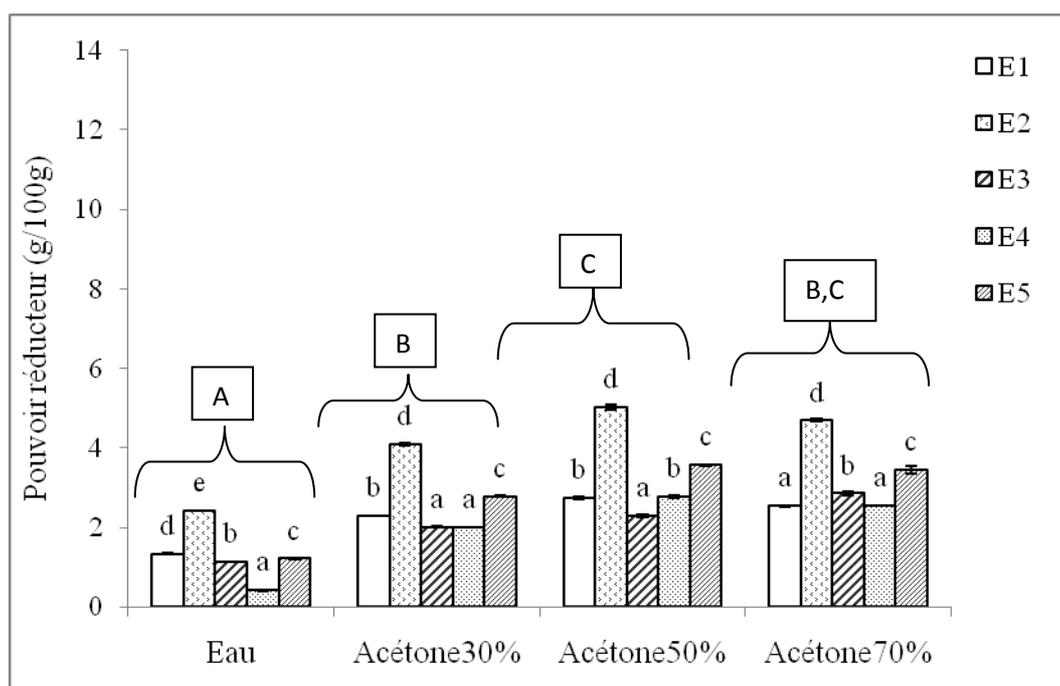
Les extraits aqueux obtenus à 25°C (figure 28) présentent un pouvoir réducteur moyen de 1,30 g d'acide ascorbique/100g. Les pouvoirs réducteurs des extraits acétoniques sont significativement différents. Les valeurs moyennes sont égales à 2,6 ; 3,3 et 3,2 g d'acide ascorbique/100g, pour les extraits à l'acétone 30%, 50% et 70% respectivement. Les résultats montrent que l'activité des extraits acétoniques est nettement supérieure à celle des extraits aqueux.

A 90°C, le pouvoir réducteur moyen des extraits aqueux (figure 29) est de 4,86g d'acide ascorbique/100g ; pour les extraits à l'acétone 30% et 50%, le pouvoir réducteur est de 6,67 et 9,75 g d'acide ascorbique/100g, respectivement. La meilleure activité est constatée dans les extraits préparés avec l'acétone 50%. Le plus faible est obtenu avec les extraits aqueux avec une différence significative ( $p < 0,05$ ).

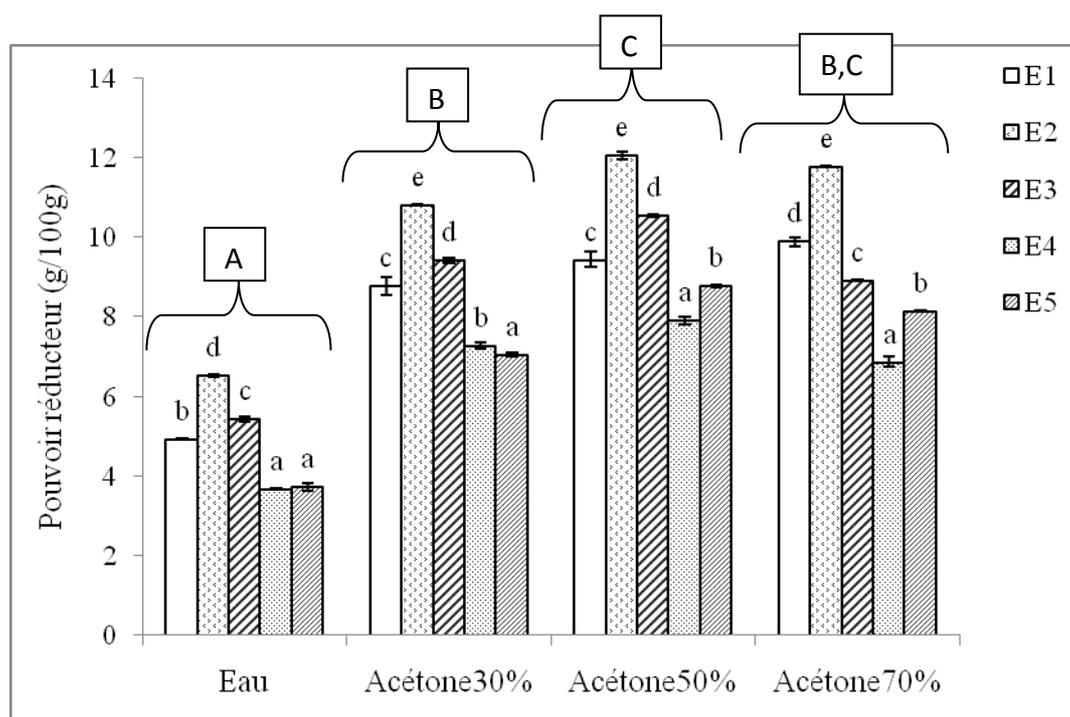
L'analyse statistique montre que le pouvoir réducteur pour l'ensemble des extraits augmente avec la température (température supérieure ou égale à 75 °C).

A 25°C, 50°C et 75° C (figure 30), le pouvoir réducteur des extraits aqueux ne présente pas de différence significative ; les valeurs moyennes varient de 1,30 à 4,86g d'acide ascorbique/100g. Les extraits préparé avec l'acétone 50% montrent un pouvoir réducteur moyenne allant de 3,28 à 4,25 g d'acide ascorbique/100g ; un fort pouvoir réducteur (9,75g/100g/100g) est obtenu à 90°C (figure 31).

Les pouvoirs réducteurs des extraits des échantillons de la caroube, présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ). A 90 °C, l'extrait à l'acétone 50% de l'échantillon E2 présente le meilleur pouvoir réducteur (12,06 g/100g) ; l'échantillon E4 présente le plus faible pouvoir réducteur (7,91g/100g).

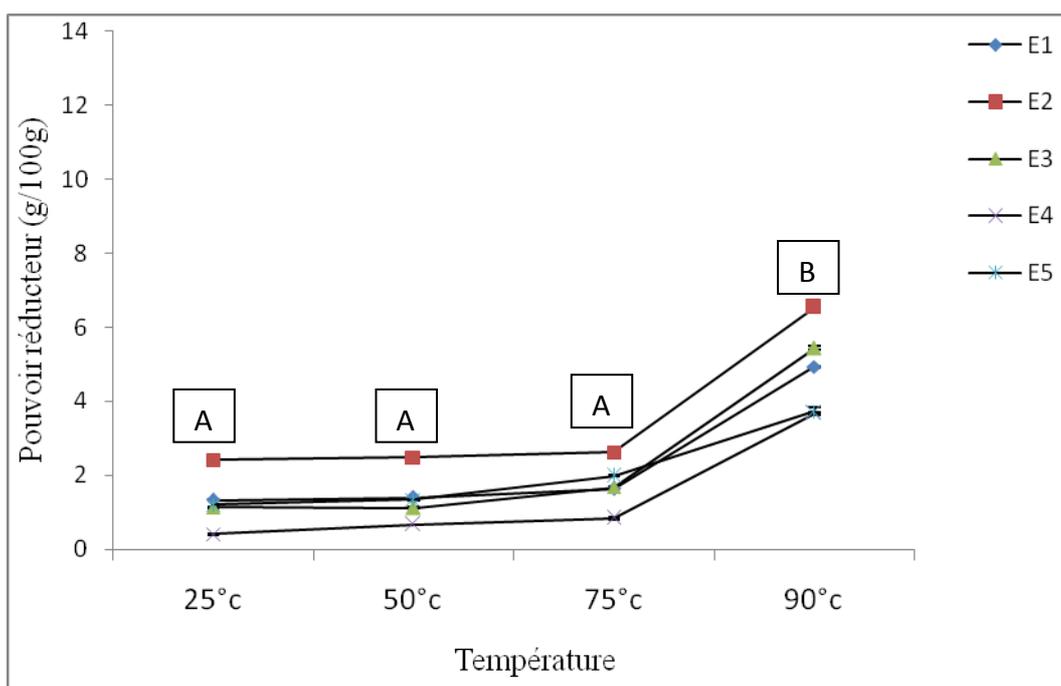


**Figure 28:** Effet du solvant sur le pouvoir réducteur des échantillons de la caroube à 25°C.

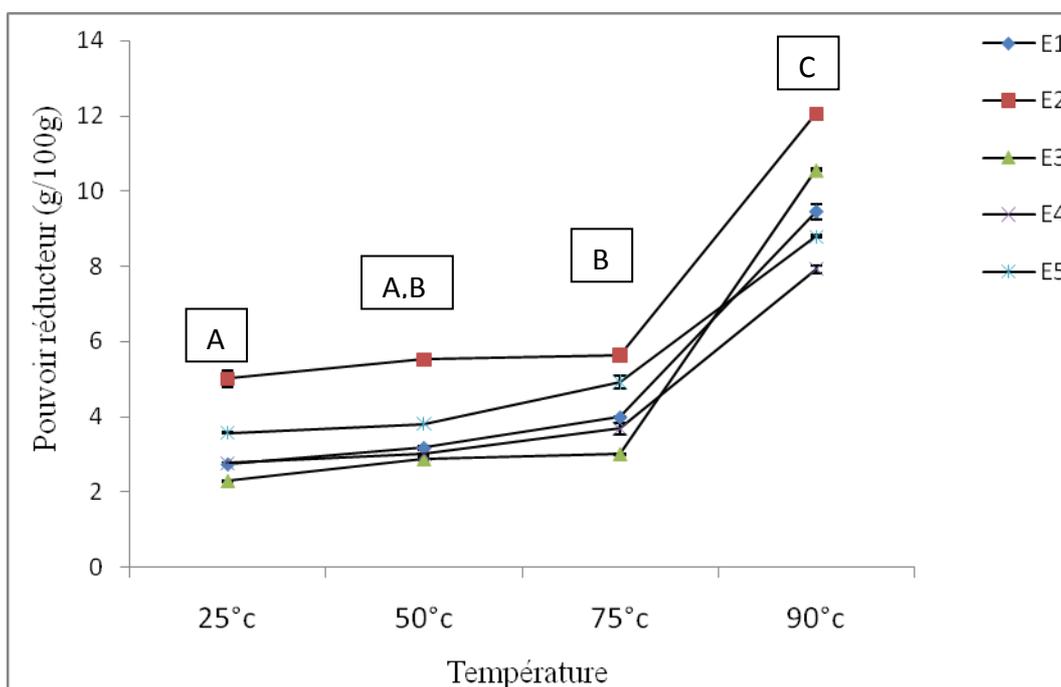


**Figure 29 :** Effet du solvant sur le pouvoir réducteur des échantillons de la caroube à 90°C.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.  
 (Lettres majuscules : effet du solvant ; Lettres minuscules : effet de l'échantillon).



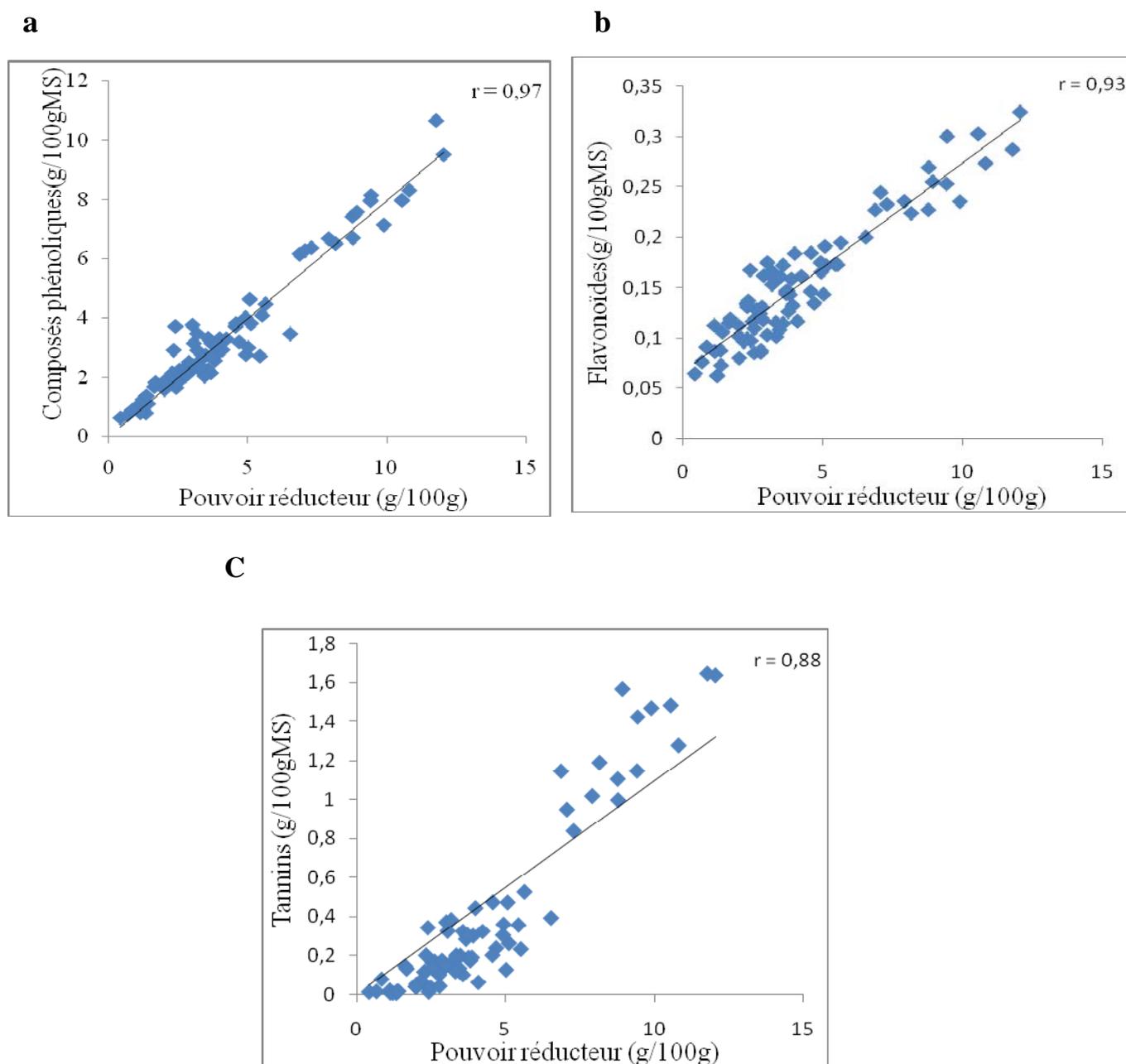
**Figure 30 :** Effet de la température sur le pouvoir réducteur des extraits aqueux des échantillons de la caroube.



**Figure 31 :** Effet de la température sur le pouvoir réducteur des extraits acétoniques des échantillons de la caroube.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les résultats de la présente étude révèlent l'existence d'une bonne corrélation linéaire entre le pouvoir réducteur et les teneurs en composés phénoliques ( $r=0,97$ ), flavonoïdes ( $r=0,93$ ) et en tannins ( $r=0,88$ ) des échantillons de la caroube (figure 32), confirmant ainsi les résultats de Makris *et al.* (2007). Ceci indique que les composés phénoliques et leurs classes individuelles dosées dans la caroube ont des bonnes capacités réductrices.



**Figure 32:** Corrélation entre la teneur en composés phénoliques (a), flavonoïdes(b) et en tannins (c) et le pouvoir réducteur des extraits de la caroube.

## **II.2. Le pouvoir antiradicalaire**

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante. La méthode est basée sur la capacité des antioxydants à agir en tant que piègeurs de radical en réduisant le DPPH par un transfert d'hydrogène (Milardovic' *et al.*, 2006).

L'activité antiradicalaire des extraits de la caroube varie significativement selon le solvant ; l'activité des extraits acétoniques est supérieure à celle des extraits aqueux (figures 33 et 34).

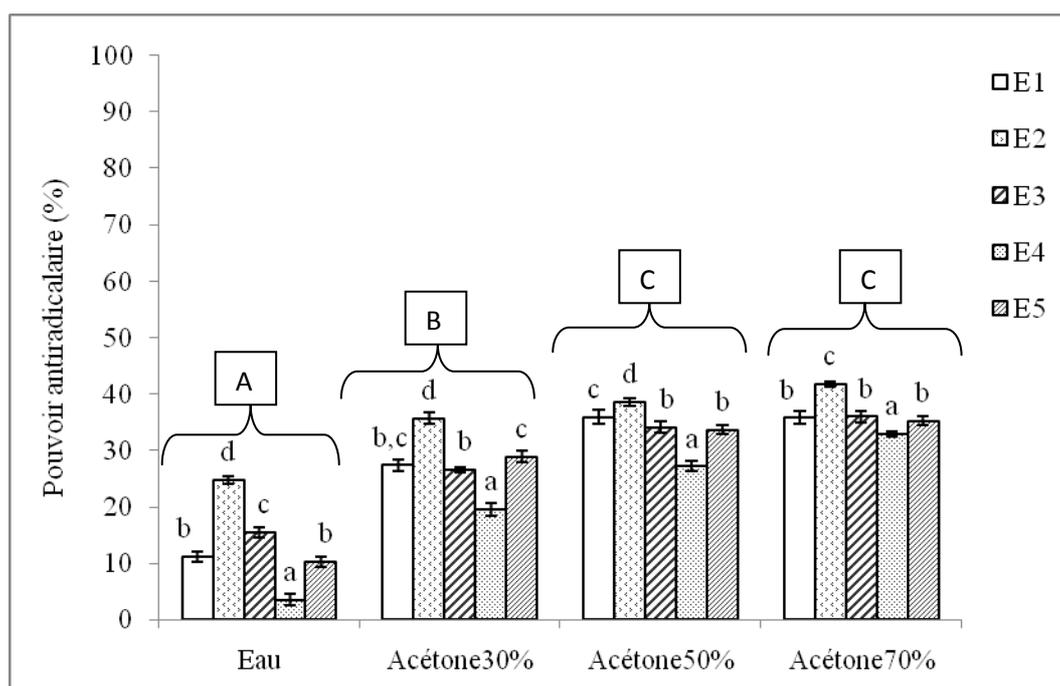
L'extraction à 25°C (figure 33), avec l'eau, l'acétone 30%, 50% et 70% montre des activités antiradicalaires moyennes égales à 10,18 ; 28,83 ; 33,62 et 34,25%, respectivement.

A 90°C (figure 34), les extraits préparés avec l'eau, l'acétone 30%, 50% et 70% présentent des activités antiradicalaires moyennes de 39,01 ; 75,11 ; 86,17 et 83,79%, respectivement.

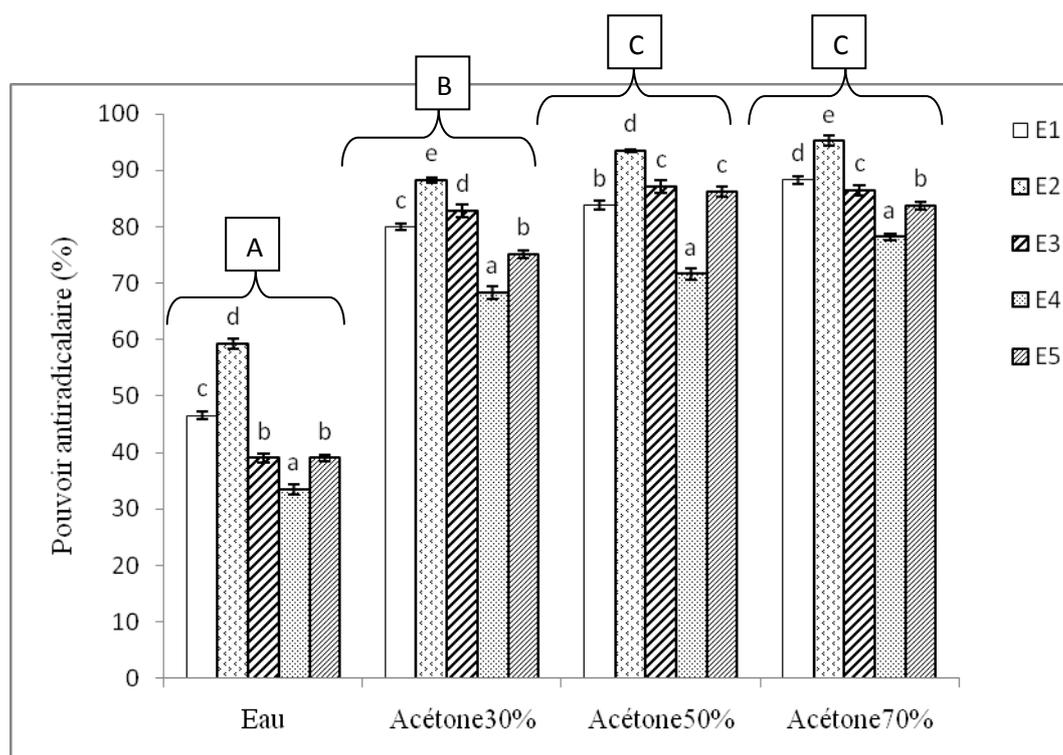
L'analyse statistique montre que la meilleure activité antiradicalaire est obtenue avec l'acétone 70% et l'acétone 50%.

Les activités antiradicalaires moyennes des extraits varient selon la température, entre 13,02 (25 °C) et 43,46% (90°C) (figure 35). Quant aux extraits à l'acétone 50%, les activités antiradicalaires sont comprises entre 33,86 (25°C) et 82,05 % (90°C) (figure 36). L'extraction à 90 °C a permis d'obtenir la meilleure activité antiradicalaire.

L'étude statistique montre aussi qu'il existe des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les échantillons de la caroube. Pour l'extraction à l'acétone 50 % à 90°C, l'échantillon E2 présente l'activité antiradicalaire la plus élevée (93,43%) ; l'activité de l'échantillon E4 est la plus faible (71,62%), c'est-à-dire le profil de l'activité antiradicalaire des échantillons analysés est analogue à celui du pouvoir réducteur.

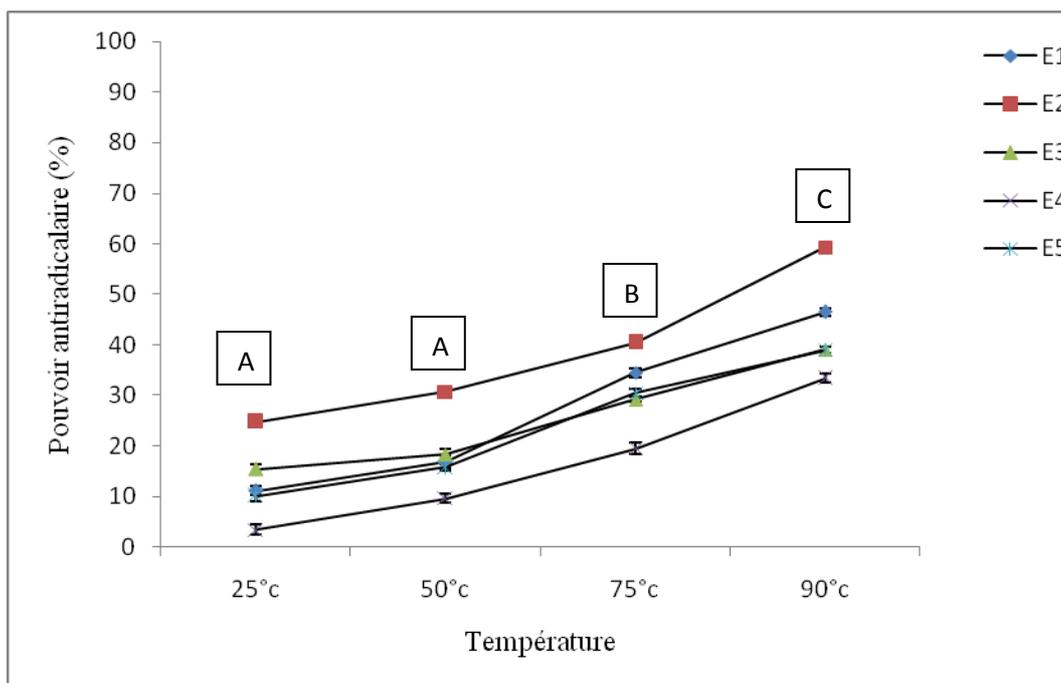


**Figure 33:** Effet du solvant sur l'activité antiradicalaire des extraits de la caroube à 25°C.

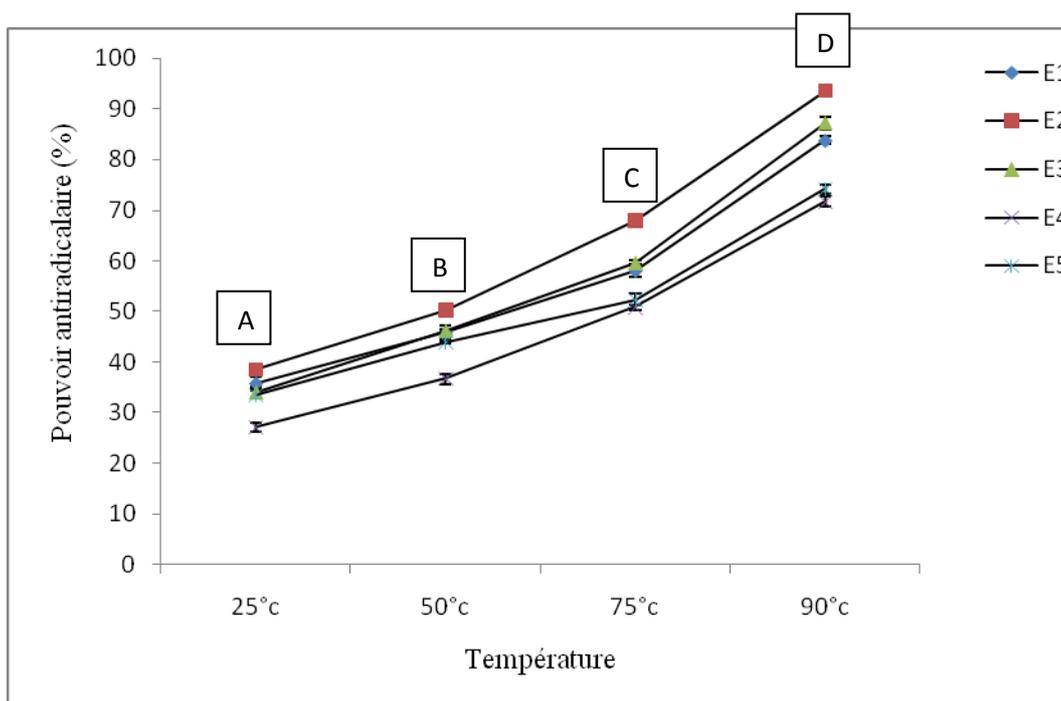


**Figure 34 :** Effet du solvant sur l'activité antiradicalaire des extraits de la caroube à 90°C.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.  
(Lettres majuscules : effet du solvant ; Lettres minuscules : effet de l'échantillon).



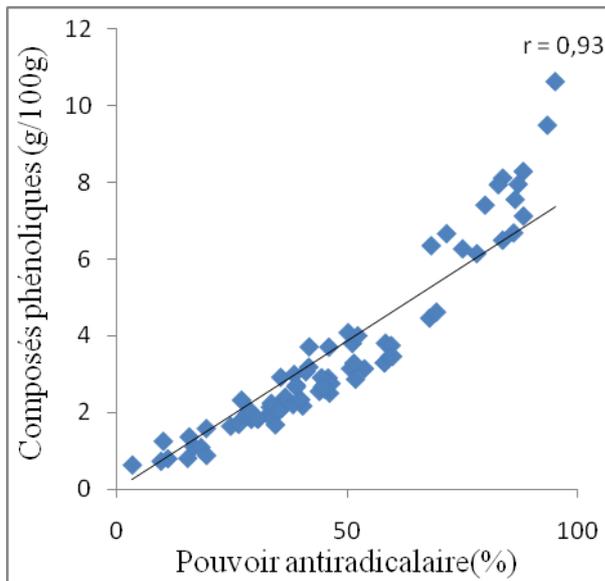
**Figure 35:** Effet de la température sur l'activité antiradicalaire des extraits aqueux des échantillons de la caroube.



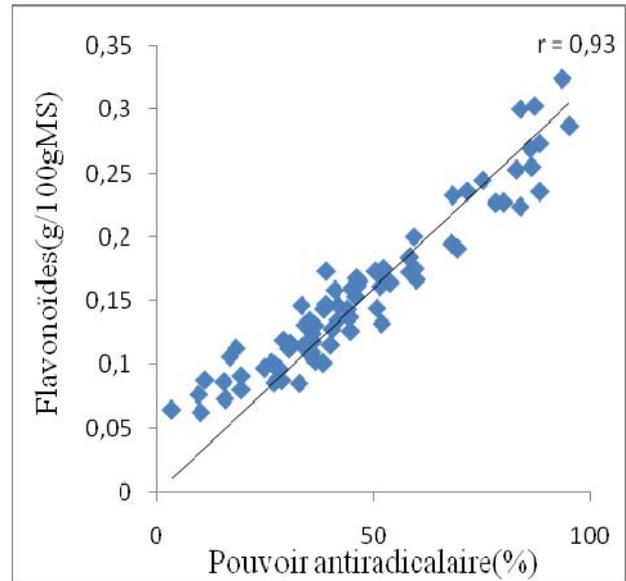
**Figure 36:** Effet de la température sur l'activité antiradicalaire des extraits acétoniques (acétone 50%) des échantillons de la caroube.

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

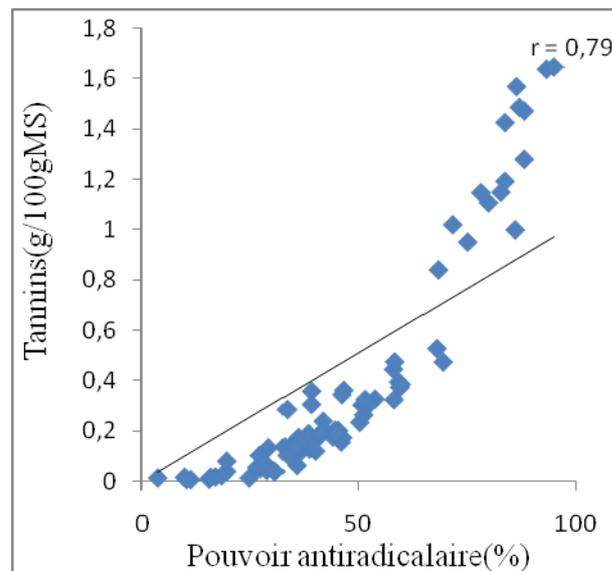
**a**



**b**



**c**



**Figure 37 :** Corrélation entre la teneur en composés phénoliques (a), flavonoïdes (b) et en tannins (c) et l'activité antiradicalaire des extraits de la caroube

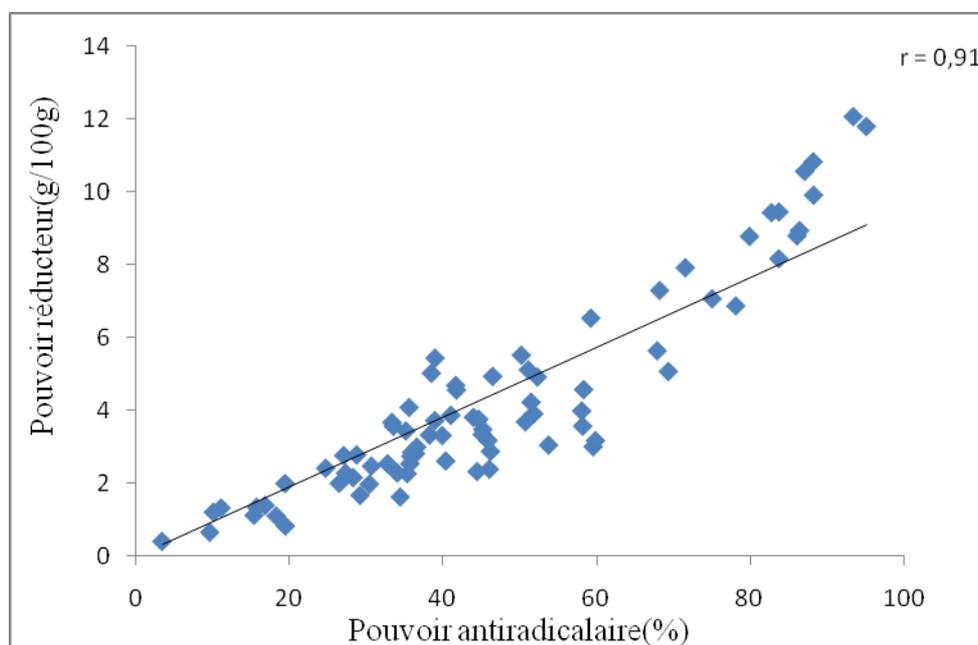
La variation dans l'activité antioxydante est due à la quantité et /ou à la nature des substances antioxydantes présentes dans les extraits des échantillons la caroube.

Kumazawa *et al.* (2002) ont montré que l'extrait aqueux de la caroube manifeste une activité antiradicalaire importante.

Les études menées par Gulçin *et al.* (2003) et Tepe *et al.* (2005) indiquent que le solvant d'extraction a une influence sur l'activité antioxydante des extraits.

Les teneurs des extraits de caroube en composés phénoliques, flavonoïdes et en tannins présentent des corrélations linéaires significatives avec le pouvoir antiradicalaire ; les coefficients de corrélation sont de 0,93 ; 0,93 et 0,79, respectivement (figure 37). Ces corrélations sont similaires à celles obtenues par Makris *et al.* (2007).

En outre, les résultats obtenus révèlent l'existence d'une bonne corrélation entre le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire ( $r = 0,91$ ) des extraits de la caroube (figure 38). Ceci indique que les composés phénoliques et leurs classes individuelles de la caroube ont une bonne capacité de réduire les oxydants et de piéger les radicaux libres.



**Figure 38:** Corrélation entre le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire des extraits de la caroube.

*Conclusion et  
perspectives*

## ***Conclusion***

Notre étude a été consacrée aux dosages de quelques antioxydants (polyphénols totaux, tannins, flavonoïdes et caroténoïdes totaux) de cinq échantillons de caroube, après leur extraction en utilisant plusieurs solvants à différentes températures, ainsi qu'à la détermination de l'activité antioxydante des extraits obtenus.

Les teneurs en composés phénoliques totaux de la caroube diffèrent selon l'échantillon, le solvant et la température d'extraction. Les extraits acétoniques (acétone 70%) à 90°C sont les plus riches (10,65 g/100g, pour l'échantillon E2); les plus faibles teneurs sont obtenues à 25°C dans les extraits aqueux (1,23 g/100g, pour l'échantillon E2).

Les teneurs des extraits en polyphénols, flavonoïdes et en tannins augmentent avec la température d'extraction et sont plus élevées dans les extraits acétoniques que dans les extraits aqueux.

Pour les caroténoïdes, les échantillons E1 et E5 sont les plus riches (4,21 et 4,11 mg/100g). L'échantillon E3 présente la teneur la plus faible 2,00 mg/100g.

Les extraits acétoniques présentent un pouvoir réducteur supérieur à celui des extraits aqueux. L'extraction à 90°C a permis d'obtenir le plus fort pouvoir réducteur pour l'ensemble des extraits.

Les résultats obtenus indiquent l'existence d'une bonne corrélation linéaire entre le pouvoir réducteur des extraits des échantillons de la caroube et leurs teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et en tannins.

La meilleure activité antiradicalaire est obtenue avec l'acétone 70% et l'acétone 50%. L'extraction à 90°C a permis d'obtenir une forte activité antiradicalaire.

Les teneurs des extraits de caroube en composés phénoliques, flavonoïdes et en tannins présentent des corrélations linéaires importantes avec le pouvoir antiradicalaire.

Les résultats montrent également l'existence d'une bonne corrélation entre le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire des extraits de caroube.

L'échantillon E 2 se caractérise par la meilleure activité antioxydante.

Les résultats de la présente étude méritent d'être complétés, il serait intéressant :

- d'augmenter le nombre d'échantillons.
- d'évaluer l'effet de l'origine géographique
- d'étudier d'autres paramètres d'extraction (la granulométrie de la poudre de caroube, le pH du solvant et la durée de l'extraction, ...).
- et d'identifier les principes actifs responsables de l'activité antioxydante.

*Références  
bibliographiques*

## *Références bibliographiques*

### **A**

Afonso V., R Champy R., Mitrovic D., Collin P. et Lomri A. 2007. Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales . *Revue du Rhumatisme* .74: 636–643.

Aharoni Y., Gilboa N. et Silanikove N. 1998. Models of suppressive effect of tannins. Analysis of the suppressive effect of tannins on ruminal degradation by compartmental models. *Animal Feed Science and Technology*. 71 :251–267.

Al-Farasi M.A et Lee C.Y. 2008. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*. 108 : 977-985.

Arabshahi-Delouee S. et Urooj A . 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves .*Food Chemistry* 102 : 1233–1240.

Avallone R., Plessi M., Baraldi M. et 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., Ayaz S., Correia P-J., Alaiz M ., Sanz C., Grúz J. and Strnad M . 2007. Determination of chemical composition of anatolian carob pod (*Ceratonia siliqua* L.): sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. *Journal of Food Quality*. 30 : 1040–1055.

### **B**

Bahorun T., Luximon-Ramma A., Crozier A and Aruoma O. 2004. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* .84:1553–1561.

Barracosa P., Osorio J. et 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.

Batlle I. et Tous J. 1997. Carob Tree (*Ceratonia siliqua* L.) Promoting the Conservation and Use of Underutilized and Neglected Crops. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetics Resources Institute, Rome. P : 6-26.

- Bengoechea C., Romero A., Villanueva A., Moreno G., Alaiz M., Milla'n F., Guerrero A. et Puppo M.C. 2008. Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua L.*) germ proteins. *Food Chemistry*. 107 : 675–683.
- Bennick A. 2002. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews Oral Biologie and Medicine*. 13 (2):184-196.
- Berger M.M. 2006. Manipulations Nutritionnelles du stress oxydant : état de connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 20:48-53.
- Beutner S., Bleodom B., Fuscil S., Blanco I.H., Hoffman T., Martin H.D., Mayer B., Noak P., Ruck C., Ruck C., Schmidt M., Schulke I., Sell S., Enest H., Haremza S., Seybold G., Sies H., Stahl W. et Walsh R. 2001. Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorant and phytochemicals: carotenoïds, flavonoïds, phenols and indigoids. The role of  $\beta$ -carotene in antioxidant function. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81: 559-568.
- Boizot N. et Charpentier J-P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques. Le Cahier des Techniques de l'Inra. PP :79-82.
- Bonolia M., Marconib E. et Cabonia M.F. 2004. Evaluation of the extraction capability of different solvent mixtures and pressurized liquid methods by micellar electrokinetic chromatography and spectrophotometry. *Journal of Chromatography A* : 1057 : 1–12.
- Bors W., Michel C. et Stettmaier K. 1997. Antioxidant effets of flavonoïdes. *British Library*. 6: 399-402.
- Bouzouita N., Khaldi A., Zgoulli S., Chebil L., Chekki R., Chaabouni M.M. et Thonart P. 2007. The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia. *Food Chemistry* 101 :1508–1515.
- Bremness L. 1996. Arbre. In « les plantes aromatiques et médicinales : le guides visuel de plus de 700 espèce végétal à travers le monde ».Edition Bordas. p45.
- Bruneton J. 1993.Composés : shikimate-acétates. In *Pharmacognosie « physiochimie, Plante medicinales »*. Édition Technique et Documentations. PP : 199-383.
- Bruneton J. 1999. *Pharmacognosie phytochimie plantes medicinales*. Édition Technique et Documentations. PP : 227-445.

Bucic'-Kojic' A., Planinic' M., Tomas S., Bilic 'M. et Velic' D .2007. Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering*. 81 : 236-242.

## C

Cazes D-J. 2005. *Encyclopedia of Chromatography* In « Phenolic Acids in Naturel Plants : Analysis by HPLC ».P1806.

Cheyrier V. 2005. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *American Journal of Clinical Nutrition* .81:223-229.

Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedrschi R., et Larondelle Y. 2007. Optimization of extraction condition of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz &nPavon) tubers. *Separation and Purification Technology*. 55 :217-225.

Cotelle N., Benier J.H., Catteau J.P., Gaydou E. et Wallet J.C. 1995. Activité biologique de 24 flavones : inhibition de la xanthine oxydase et capture de radicaux libres. Edition INRA. PP : 359-396.

Crété P. 1965. *Systématique des angiospermes. Précis de botanique*. Edition MASSON. PP : 292-309.

Croteau R., Kutchan M.T., Lewis N.G., Buchanan B., Gruissem W. et Jones R. 2002. Natural products (secondary metabolites). in. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, edited by American Society of Plant Physiologists. PP : 1250-1318.

## D

Da Silva S. L., Da Silva A., Honório K. M., Marangoni S., Toyama M. H. et Da Silva A. B. F. 2004. The influence of electronic, steric and hydrophobic properties of flavonoid compounds in the inhibition of the xanthine oxidase. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*. 684:1-7.

Dakia P.A . Wathelet B. et Paquot M. 2007. Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ. *Food Chemistry*. 102 :1368-1374

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

Dongowski g. 2007. Interactions between dietary fibre-rich preparations and glycoconjugated bile acids in vitro. *Food Chemistry*. 104 :390–397.

Druynska B., Stepniewska A., et Wolosiak R., 2007. The influence of time and type of solvent on Efficiency of the extraction of polyphenols From green tea and antioxidant properties Obtained extracts. *ACTA Scientiarum Polonorum Technology Alimentation*. 6(1) : 27-36.

## G

Garro Galvez J.M., Riedl B. et Conner A. H. 1997. Analytical Studies on Tara Tannins. *Holzforschung* .51 :235-243

Gebhardt Y., Witte S., Forkmann G., Lukacin R., Matern U., Martens S. 2005. Molecular evolution of flavonoid dioxygenases in the family Apiaceae. *Phytochemistry* .66 : 1273–1284

Ghedira K. 2005. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 4: 162-169.

Goli A.H., Barzeger M., and sahari M.A. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts .*Food Chemistry*. 92 : 521-525.

Goudable J, Favier A., 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme* .11 :115-120.

Gramza et Korczak J . 2005. Tea constituents (Camellia sinensis L.) as antioxidants in lipid systems . *Trends in Food Science and Technology* .16 : 351–358.

Gruendel S. Garcia A. L. Otto B . Mueller y .C. Steiniger J Weickert M. O. Speth M . Katz N. and Koebnick C . 2006. Carob Pulp Preparation Rich in Insoluble Dietary Fiber and Polyphenols Enhances Lipid Oxidation and Lowers Postprandial Acylated Ghrelin in Humans . *The Journal of Nutrition*. 136: 1533–1538.

Guignard J.L. 1979. les composés aromatiques. In: « Abrégé de biochimie végétale ». Ed Masson. PP. 171-214.

Guinard J. L. 1996. Métabolisme secondaire. In: « Biochimie végétale ». Ed Masson Paris. PP: 169-192.

Gülçin I., 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid) . Toxicology .217 : 213–220

Gülçin I., Oktay M., Kireççi E. et Küfrevioğlu Ö.I. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. Food Chemistry. 83(3): 371-382.

## **H**

Hagerman A.E et Buttler L.G., 1978. Protein precipitation for quantitative determination of tannins. Journal of Agriculture and Food Chemistry .26 : 809-812.

Halliwel B. 2007. Dietary polyphenols: Good, bad, or indifferent for your health? Cardiovascular Research .73: 341-347.

Harborne J. B. et Williams C. A. 2000. Advances in flavonoïd research since 1992. Phytochemistry. 55: 481-504

Havsteen B. H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology and Therapeutics. 96: 67-202.

Heim K.E., Anthony R., Tagliafeno., Dennis J., Bobilya. 2002. Flavonoïd antioxidants: chemistry, Metabolism and structure –activity relationships. Journal of Nutrition Biochemistry. 13: 572-584.

Heller R., Esnault R et Lance C. 1998. Métabolisme associé. In Physiologie végétale : Nutrition. Edition Dunod. PP : 285-305.

Henis Y., Tagari H and Volcani r. 1964. Effect of Water Extracts of Carob Pods, Tannic Acid, and Their Derivatives on the Morphology and Growth of Microorganisms. Applied Microbiology. 12 (3) : 204-209.

Hennebelle T, Sarpaz S, Bailleul F., 2004. Polyphénols végétaux, sources, nutriments, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie. № 1: 3-6.

## **K**

Khanababae K. Et Ree T.V., 2001. Tannins: classification and definition. Natural Product Reports. 18: 641-649.

Klenow S., Gleib M., Haber B., Owen R et Pool-Zobel B.L . 2007. Carob fibre compounds modulate parameters of cell growth differently in human HT29 colon adenocarcinoma cells than in LT97 colon adenoma cells. Food and Chemical Toxicology.

Koechlin-Ramonatxo C. 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 20: 165-177.

Konaté I. Filali-Maltouf A et Berraho E-B. 2007. Diversity analysis of moroccan carob (*Ceratonia siliqua L.*) accessions using phenotypic traits and rapid markers. *Acta Botanica Malacitana* .32 : 79-90.

Krinsky N. I. 1989 .Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biology and Medicine*. 7: 617-635

Kumazawa S. Taniguchi M, Suzuki Y. Shimura M. Kwon M-S. and Nakayama T . 2002. Antioxidant Activity of Polyphenols in Carob Pods. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50 : 373-377.

## **L**

Labieniec M., Gabryelak T ., Falcioni G. 2003. Antioxidant and pro-oxidant effects of tannins in digestive cells of the freshwater mussel *Unio tumidus*. *Mutation Research* : 19–28.

Lambrakî M. Marakrsl S. and Roussos S. 1994. Effect of temperature and aeration flow on carob tannin degradation by *Aspergillus carbonarius* in solid state fermentation system. *MICOL. NEOTROP. APL*. 7 : 23-34.

Landau S., Dvash L., Decandia M., Cabiddu A., Shapiro F., Molle G and Silanikove N. 2004. Determination of Poly(ethylene glycol)-Binding to Browse Foliage, as an Assay of Tannin, by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy . *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 52 : 638 : 642.

Laprobik B., Prosek M., et Wondra A.G. 2005. Comparaison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*. 71 : 214-222.

Liyana-Pathirana C., et Shahidi . 2005. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry*. 93.47-56.

Lizardo R . Cañellas J (2), Mas F .Torrallardona D . 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.

Lugasi A., Hóvári J., Sági K.V., Bíró L. 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of Diseases. *Acta Biologica Szegediensis* . 47 : 119-125.

## **M**

Makris D. P. et Kefalas P. 2004. Carob Pods (*Ceratonia siliqua L.*) as a Source of Polyphenolic Antioxidants. *Food Technol Biotechnol.* 42 (2) :105–108.

Makris D. P., Boskoub G. et Andrikopoulos N. K. 2007 .Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts . *Journal of Food Composition and Analysis.* 20 :125-132.

Martin S. et Andriantsitohaina R., 2002. Mécanisme de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et Angiologie* .51: 304-315.

McGarvey D.J., El-Agamey A. et Cantrell A., 2001. Nanosecond laser photolysis and time resolved resonance raman spectroscopy of carotinoïd neutral radicals . *Central Laser Facility Annual Report.* 93 : 641-649.

Milardovic ´ S., Ivekovic D. et Grabaric ´ B.S., 2006. A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry* 68 :175 – 180

Morton, J. F. 1987. Carob. In *Fruits of Warm Climates.* (C.F. Dowling, ed.). Morton, Miami, FL. p. 65–69

## **N**

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

Naczk M. et Shahidi F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* .41:1523–1542.

Nishira H. and Joslyn M. A. 1968. The galloyl glucose compounds in green carob pods (*Ceratonia siliqua*) .*Phytedxmistry.* 7 : 2147- 2156.

## **O**

Okuda T., 2005. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal .*Plant Phytochemistry.* 66: 2012-2030.

Owen R.W. Haubner R. Hull W.E. Erben G. Spiegelhalder B. Bartsch H. Haber B. 2003. Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre. *Food and Chemical Toxicology*. 41 :1727–1738.

## **P**

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

Pincemail J et Defraigne J.O., 2004. Les antioxydants : un vaste réseau de défense pour lutter contre les effets toxiques de l’oxygène. Institut Danone.

Polyakov N .E ., Kruppa A. I., Leshina T V., Konovalova T A. et Kispert L. D. 2001. Carotenoids as antioxidants: Spin trapping EPR and optical study. *Free Radical Biology and Medicine*. 31(1): 43–52.

## **R**

Rahman I., Biswas S. K. et Kirkham P. A. 2006. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols . *Biochemical Pharmacology*. 72 :1439–1452

Reed J. D. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Jornal of Animal Science*. 73:1516-1528

Ribéreau-Gayon P. 1968. Notions générales sur les composés phénoliques. In : les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod. PP : 1-27.

Richter G. 1993. Composés phénoliques. In « Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie ». Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes. PP : 317-339.

Robards K., Prenzler D. P., Tucker G., Swatsitang P. et Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*. 66: 401- 436.

Rock E., 2003. Stress oxydant, micronutriments et santé. Université d’été de Nutrition –Clermant-Ferrand : 37-42.

Rodriguez-Amaya D.B. 1997. Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed and stored food. USAID, OMNI Project, John Snow, Inc, Arlington, VA. 1– 63.

Rodriguez-Amaya B. D. 2001. A guide to carotenoid analysis in foods. International Life Sciences Institute Press. 1-71.

Rubanza D.K., Shemb M.N., Otsyina R., Bakengesac S.S., Ichinohed T., Fujiharad T. 2005. Polyphenolics and tannins effect on in vitro digestibility of selected Acacia species leaves. *Animal Feed Science and Technology* . 119 : 129–142

Ruenroengklin N., Zhong Jia., Duan X., Yang B., Li J. et Jiang Y. 2008. Effects of Various Temperatures and pH Values on the Extraction Yield of Phenolics from Litchi Fruit Pericarp Tissue and the Antioxidant Activity of the Extracted Anthocyanins. *International Journal of Molecular Sciences*. 9. 1333-1341.

## S

Sakihama Y., Cohen M. F., Grace S. C. et Yamasaki H . 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants . *Toxicology* .177 :67–80

Santos M., Rodrigues A. et Teixeira J.A .2005. Production of dextran and fructose from carob pod extract and cheese whey by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512(f). *Biochemical*.

Sarni-Manchado P. et Cheynier V. 2006. Composés phénoliques dans la plante-Structure, biosynthèse, répartition et rôles. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Éditions Technique et Documentations. PP : 1-26.

Sass-Kess A., Kiss J., Milotay P., Kerek M.M. and Toth-Markus M. 2005. Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*. 38: 1023-1029.

Šebečić B ., Vedrinar-Dragojević I ., Vitali d ., Hečimović M. et Dragičević I. 2007. Raw Materials in Fibre Enriched Biscuits Production as Source of Total Phenols . *Agriculturae Conspectus Scientificus* . 72(3) :265-270.

Shahkhalili T., Finot P.A. et Richard H.F.1990. Effects of Foods Rich in Polyphenols on Nitrogen Excretion in Rats. *Journal of Nutrition*.120:346-352.

Silanikove N., Landau S., Or D., Kababya D., Bruckental I. et Nitsan Z. 2006. Analytical approach and effects of condensed tannins in carob pods (*Ceratonia siliqua*) on feed intake, digestive and metabolic responses of kids . *Livestock Science* .99 : 29 – 38.

Silanikove N., Gilboa N., et Nitsan Z. 2001. Effect of polyethylene glycol on rumen volume and retention time of liquid and particulate matter along the digestive tract in goats fed tannin-rich carob leaves (*Ceratonia siliqua*). *Small Ruminant Research* .40 : 95-99

Sokol-Letowska A , Oszmian J . et Wojdyło A. 2007. Antioxidant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. *Food Chemistry*. 103 : 853–859

Soobrattee M. A., Neergheen V. S., Luximon-Ramma A., Aruomab O. I. et Bahorun T. 2005. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutation Research*. 579: 200-213.

Stahl W., Berg H., Arthur J., Bast A., Dainty J., Faulks R. M., Geartner C., Haenen G., Hollman P., Holst B., Kelly F. J., Polidori M. C., Rice-Evans C., Southon S., Vliet T., Vřina-Ribes J., Williamson G. et Astley S. B. 2002. Bioavailability and metabolism. *Molecular Aspects of Medicine*. 23: 39-100.

Su L., Yin J-J., Charles D., Zhou K., Moore J. et Yu L . 2007. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chemistry* 100 : 990–997.

## T

Tamir M. et Alumot A. 1971. Carob Tannins -Growth Depression and Levels of Insoluble. *Engineering Journal* 25 :1–6.

Tamir M. Nachtomi E and Alumot E. 1979. Degradation of tannins from carob pods (*Ceratonia siliqua*) by thioglycolic acid .*Phytochemistry*.10 : 2769-2774.

Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M. Et Polissiou M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*. 90 :333–340.

Tian B., Xu Z ., Sun Z, Lin J. et Hua Y., 2007. Evaluation of the antioxidant effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* through targeted mutagenesis, chemiluminescence, and DNA damage analyses. *Biochimica et Biophysica Acta* 1770 :902–911

Tsimogiannis D. I. et Oreopoulou Innovative V. 2006. The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3',4'-hydroxy substituted members. *Food Science and Emerging Technologies* .7 : 140 – 146

Turhan I., Tetik N., Aksu M., Karhan M and Certel M . 2006. Liquid–Solid extraction of soluble solids and total phenolic compounds of carob bean (*Ceratonia siliqua l.*). Journal of Food Process Engineering. 29 :498–507.

Turkmen N., Sari F., et Velioglu Y.S. 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxydant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and folin ciocalteu methods. Food Chemistry.99 : 835-841.

## V

Valko M., Rhodes C.J., Moncola J., Izakovic M. , Mazura M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions 160 : 1–40.

Vercauteren J. Chez C. et Triaud J. 1998. Polyphenols 96, 18<sup>th</sup> international conference on polyphénols. INRA. PP: 32-33.

## W

Wang S., Dusting G.J., May C.N. et Woodman O.L .2004. 3',4' Dihydroxyflavonol reduces infarct size and injury associated with myocardial ischaemia and reperfusion in sheep . British Journal of Pharmacology .142 : 443–452

Würsch P. 1979. Influence of Tannin-Rich Carob Pod Fiber on the Cholesterol Metabolism in the Rat Journal of Nutrition. 109: 685-692.

## Y

Yoo K. M., Lee C. H., Lee H., Moon B. et Lee. C Y. 2008. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. Food Chemistry. 106: 929-936.

Yousif A.K et Alghzawi H.M. 2000.Processing and characterization of carob powder. Food Chemistry .69 : 283-287.

Youssef D. et El-Adawi H. 2006. Study on grape seeds extraction and optimisation : An approach. Journal of Applied Sciences.6 (14) : 2944-2947.

# *Annexes*

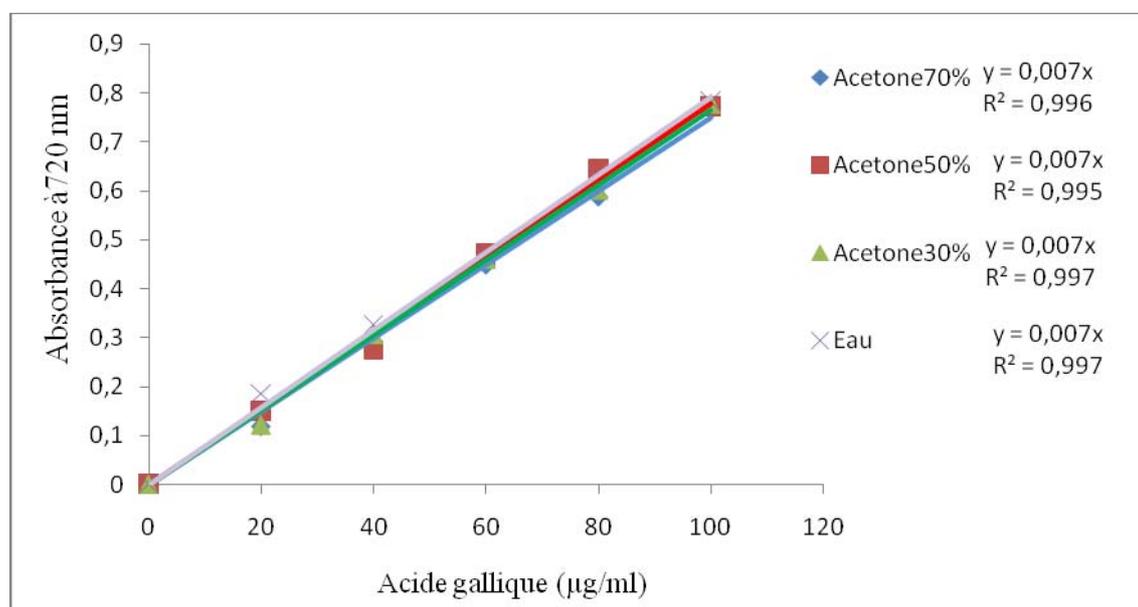
## Préparation des solutions

A : le tampon A est préparé par une solution de 0,2M d'acide acétique - 0,17M de NaCl ; le pH est ajusté à pH 4,9.

SDS/TEA : 5% (v/v) triéthanolamine avec 1% (P/V) SDS (50ml triéthanolamine, 10g SDS ajuster le volume avec 1,0 litre d'eau distillée).

FeCl<sub>3</sub> : 1,62g est dissout dans 0,01M de HCl. La solution est filtrée.

## Courbes d'étalonnage



**Figure 1 :** Courbes d'étalonnage des composés phénoliques.

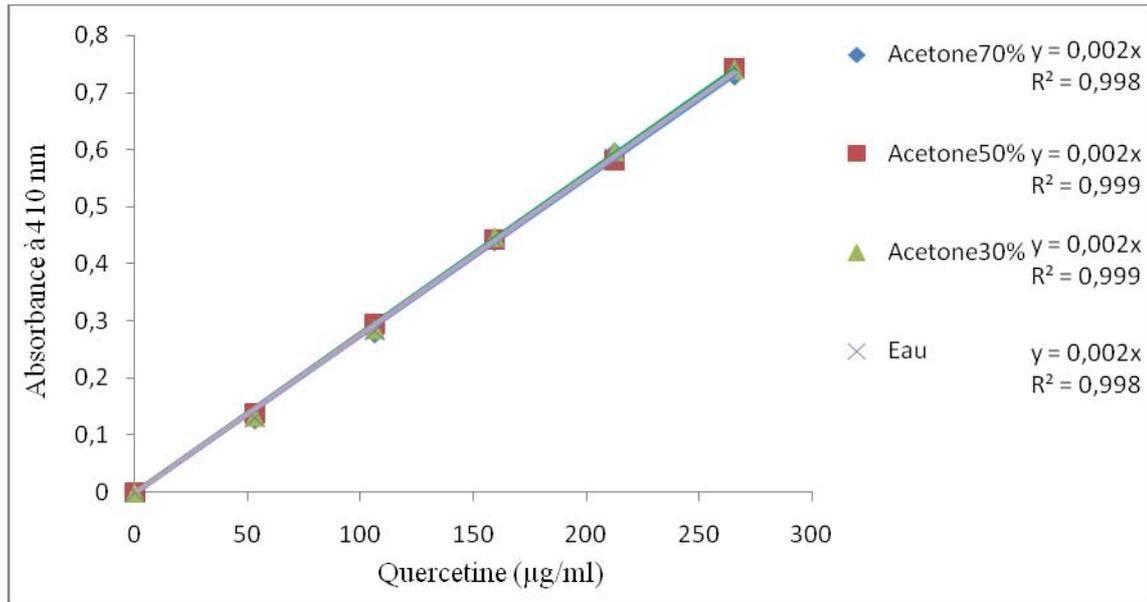


Figure 2 : Courbes d'étalonnage des flavonoïdes.

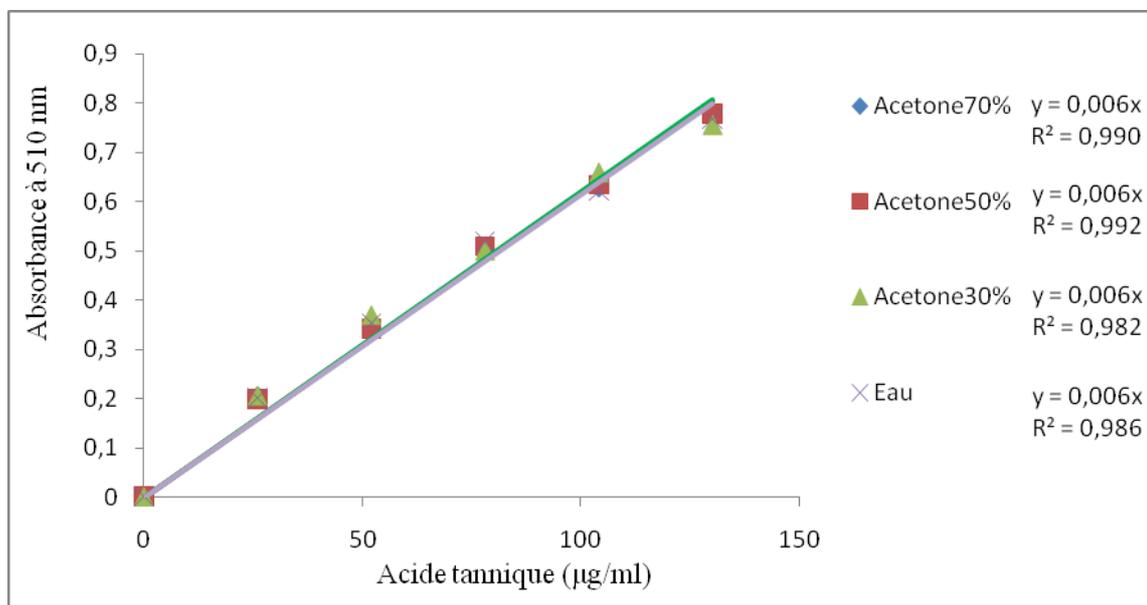
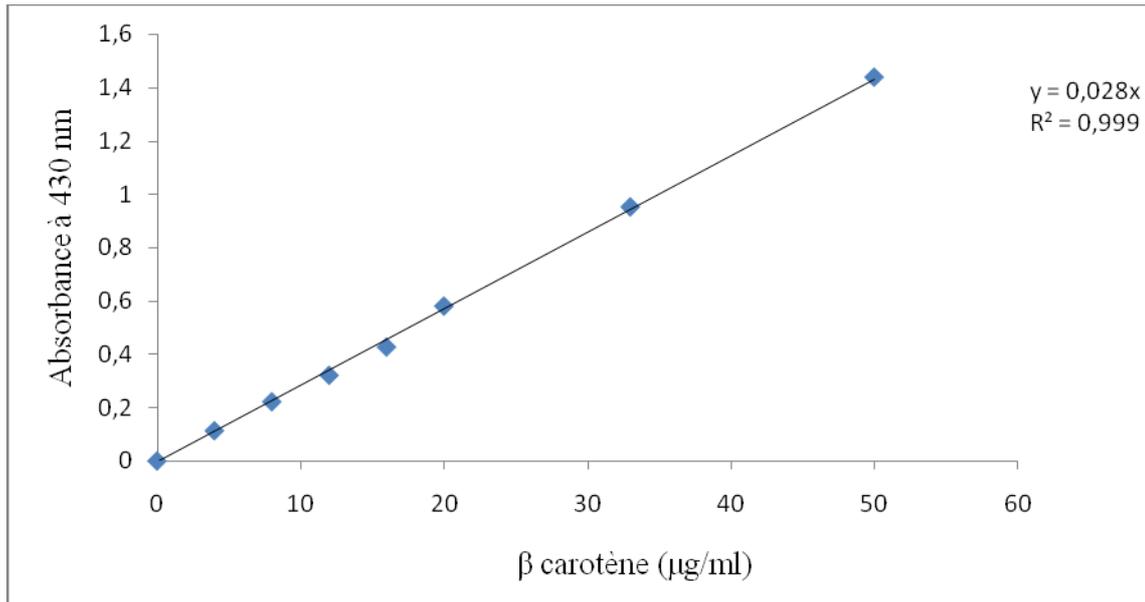
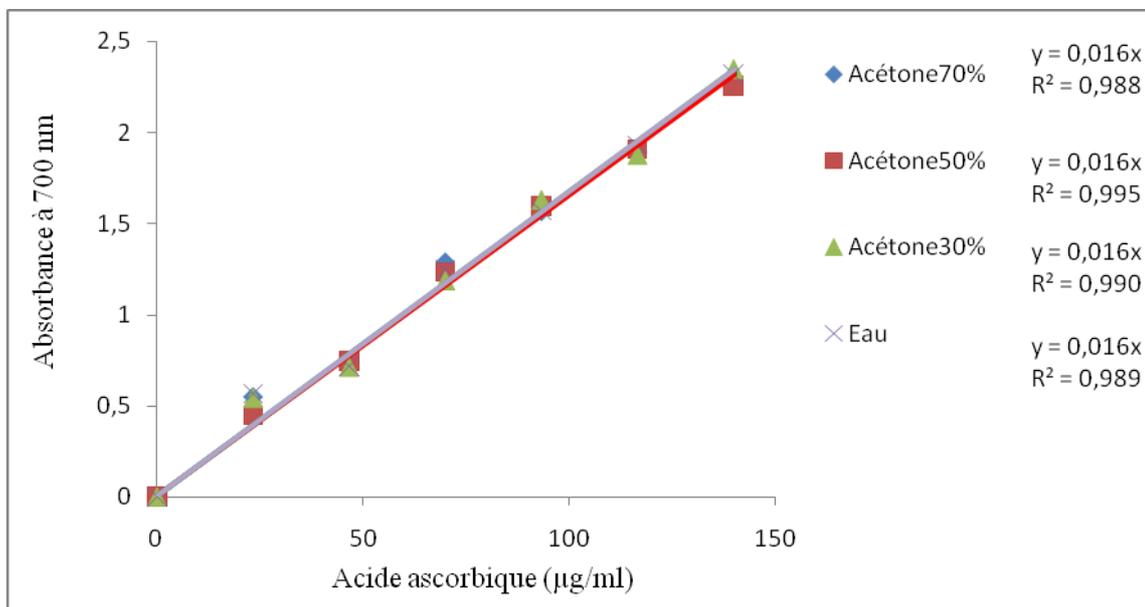


Figure 3 : Courbes d'étalonnage des tannins.



**Figure 4 :** Courbe d'étalonnage pour le dosage des caroténoïdes.



**Figure 5:** Courbes d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le pouvoir réducteur.

## Résumé

Cette étude a été consacrée aux dosages des antioxydants (polyphénols, tannins, flavonoïdes et caroténoïdes) de cinq échantillons de caroube, après leur extraction à quatre températures (25°C, 50°C, 75°C et 90°C), en utilisant comme solvants l'eau, l'acétone 30% , l'acétone 50% et l'acétone 70% (v/v), ainsi qu'à la détermination de l'activité antioxydante de tous les extraits obtenus. Les résultats obtenus indiquent que les extraits acétoniques présentes des teneurs en composés phénoliques (1,57-10,65 g/100g ), en flavonoïdes (0,10 -0,32 g/100g) et en tannins(0,04-1,65 g/100g) plus élevées que celles des extraits aqueux. En augmentant la température d'extraction, des concentrations plus importantes en antioxydants ont été obtenues. Des teneurs en caroténoïdes (2,00 - 4,21 mg/100g) appréciables ont été révélés dans la caroube. Des corrélations significatives, comprises entre 0,79 et 0,97 ont été établies entre la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins avec l'activité anti-radicalaire et le pouvoir réducteur des extraits aqueux et acétoniques.

**Mots clé :** caroube, température, solvant, polyphénols, flavonoïdes, tannins, pouvoir réducteur, activité antiradicalaire.

## Summary

This study was devoted to determinate the antioxydants (polyphenols, tannins, flavonoïdes and carotenoids) of five samples of carob, after their extraction at four temperatures (25°C, 50°C, 75°C and 90°C), by using water, acetone 30%, acetone 50% and acetone 70% (v/v) as solvents and the determination of the antioxydant activity of all the extracts obtained. The results obtained indicate that the acetone extracts present contents of phenolic compounds (1,57-10,65 g/100g), flavonoïdes (0,10 -0,32 g/100g) and of tannins (0,04-1,65 g/100g) higher than those obtained from the aqueous extracts. By increasing the temperature of extraction significant antioxydant concentrations were obtained. Appreciable contents of carotenoid (2,00-4,21 mg/100g) were revealed in carob. Significant correlations, ranging between 0,79 and 0,97 were established between the content of polyphenols, flavonoïdes and tannins with the radical scavenging activity and the reducing power of the aqueous and acetone extracts.

**Keywords:** carob, temperature, solvent, polyphenols, flavonoïdes, tannins, reducing power, radical scavenging activity.

## خلاصة

هذه الدراسة اهتمت بتقييم المضادات للأكسدة الموجودة في 05 عينات من الخروب، بعد استخلاصها تحت تأثير أربع درجات حرارة مختلفة (25°م، 75°م و 90°م)، وهذا باستعمال المحاليل التالية : الماء، الأستون (50%، 30% و 90%)، بالإضافة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة لكافة المستخلصات المتحصل عليها. النتائج المتوصل إليها بينت أن المستخلصات الأستونية تحتوي على كميات من polyphénols (1,57 - 10,65 غ / 100 غ) flavonoïdes (0,10 - 0,32 غ / 100 غ) و tannins (0,04 - 1,65 غ / 100 غ) اكبر من تلك المتحصل عليها باستعمال الماء. كميات اكبر من مضادات الأكسدة تم الحصول عليها برفع درجات حرارة الاستخلاص. كميات معتبرة من الكاروتينويد (2,00 - 4,21 مغ / 100 غ) تم العثور عليها في الخروب. ترابطات نسبية محصورة بين 0,79 و 0,97 تم الحصول عليها بين كميات polyphénol، flavonoïde، tannins مع النشاط ضد الجذري و القدرة الارجاعية.

**كلمات المفتاح:** خروب، حرارة، محلول، polyphénols، flavonoïde، tannins، النشاط ضد الجذري، القدرة الارجاعية.