

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

*Université M'hamed Bouguerra Boumerdès
Faculté des sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie*



Mémoire de master académique

Filière : Sciences Alimentaires

Specialité : Contrôle de qualité et Nutrition en Agro-alimentaire

thème

*Etude de la valeur nutritive et du potentiel
antioxydant d'une mélasse de
caroube*

Présenté par : *Filkou Fatma Zohra*

Benbouabdallah Hadjer

Oubahi Hanane

Date de soutenance: / /2020

Composition du jury :

M ^{me} Gana S.	Prof.Univ. de Boumerdes	Présidente
M ^{me} Benamrouche S.	MCA. Univ. de Boumerdes	Promotrice
M ^{me} Amellal H.	Prof .Univ. de Boumerdes	Examinatrice

Année universitaire 2019-2020

Remerciements

*En premier lieu, nous remercions notre **Dieu**, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce travail.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à M^{me} **BENAMROUCHE** pour avoir accepté de diriger ce travail ; ainsi que pour sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.*

Nous remercions le professeure Gana de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nos remerciements vont aussi au professeur Amellale pour avoir accepté de donner de son temps pour évaluer ce travail.

Enfin, nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Sans oublier l'ensemble de nos professeurs qui nous ont accompagnés tout au long de notre cursus universitaire.

**BENBOUABDALLAH H.
FILKOU F Z.
OUBAHI H.**



Dédicaces

*Au nom de Dieu, le très gracieux, le très miséricordieux,
seigneur des mondes.*

*Je dédie ce modeste travail aux êtres qui me sont les plus
chers, je cite :*

*Les deux êtres les plus précieux du monde de les
remercie pour leur générosité, leur soutien et leur
patience ainsi que pour leur grand amour à l'égard de
leurs enfants. Ces deux êtres ma mère et mon père pour
lesquels aucun mot ne saurait exprimer mes profonds
sentiments en leur égard.*

*Mes chers frères Abd elhalime et Abd elmouide, et mes
chères sœurs Ritedj et Rimas.*

A ma chère deuxième maman ; ma seule tante.

*A mon oncle Omar, que Dieu ait pitié de lui, et
l'accueillera en son vaste paradis.*

*A mes deux sœurs et deux amis les plus chers dans mon
cœur Hadjer et Fatima.*

A tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin.

Hanane



Dédicaces

*Après la louange du bon Dieu qui m'a donné la force et
la santé pour pouvoir réaliser ce modeste travail
Je le dédie avec toute mon affection à :*

*mon grand-père bouaza Mehamed Saidani, qui a été
une grande raison et une motivation pour mon succès,
mes chers parents, qui m'ont apporté tout amour,
solidarité et sacrifices,*

*mon frère bien-aimé Mehammed Amin et mon ange
Sofia,*

*mon cher oncle Abdallah, que Dieu ait pitié de lui et
l'amène dans son paradis,*

*toute ma grande famille et à tous ceux qui ont
contribué et m'ont aidé à accomplir ce travail,
mes amie (es) dont particulièrement Fatma zohra et
Hanane et khadija,*

*toute personne ayant contribué de près ou de loin à
l'élaboration de ce travail.*

Hadjer



Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents ; sans votre affection, vos conseils, vos sacrifices, vos encouragements, vos prières et vos efforts que vous avez déployé durant toute ma vie, ce travail n'aurait jamais pu être réalisé. Je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, j'espère que Dieu vous donne la longue vie et la bonne santé, je vous aime inconditionnellement.

Mes très chères sœurs Hanane et Zineb, mes chers frères Yacine et Mohamed.

Les enfants de mes frères et sœurs.

Toute ma famille.

Mon trinôme Hanane et Hadjer.

Mes chères amies et mes collègues.

Toute la promotion de sciences alimentaires 2019-2020.

Tous les enseignants qui m'ont suivie tout au long de mes études surtout ma Promotrice M^{me}

BENAMROUCHE que j'aime énormément.

Fatma Zohra

Sommaire

Introduction	1
Partie théorique	
I. Activité anti-oxydante	3
I.1. Stress oxydatif.....	3
I.2. Radicaux libres	3
I.2.1. Définition.....	3
I.2.2. Production.....	4
I.3. Espèce réactives d'oxygènes et espèces réactives azotées	4
I.3.1. Espèce réactives d'oxygènes (ERO)	4
I.3.2. Espèce réactives de l'azote (ERN)	6
I.4. Conséquences cellulaires du stress oxydant	7
I.5. Mécanisme de neutralisation des radicaux libres	9
I.5.1 Systèmes enzymatiques	9
I.5.2. Systèmes non enzymatiques	10
II. Caroube.....	10
II.1. Description botanique du caroubier	10
II.2. Anatomie du fruit	11
II.3. Taxonomie	13
II.4. Composition chimique du fruit.....	13
II.5. Production mondiale et Algérienne	14
II.6. Utilisation du caroubier	14
III. Antioxydants de la caroube	16
III. 1. Polyphénols	16
III. 2. Caroténoïdes.....	23
II. Matériels et méthodes	25
II.1. Collecte des échantillons et préparation de la mélasse	25
II.1.1. Echantillonnage	25

II.1.2. Préparation de la mélasse	26
II.2. Méthodes d'analyses utilisées	26
II.2.1. Détermination des paramètres physicochimiques	26
II.2.1.1. Taux d'humidité.....	26
II.2.1.2. pH et acidité titrable	26
II.2.1.3. Taux des solides solubles	27
II.2.2. Détermination quantitative des métabolites primaires	27
II.2.2.1. Teneur en sucres totaux.....	27
II.2.2.3. Teneur en protéines	28
II.2.2.4. Teneur en cendres et en minéraux.....	29
II.2.2.4.1. Cendres.....	29
II.2.2.4.2. Minéraux	30
II.2.2.5. Matière grasse	30
II.2.2.6. Détermination de la valeur énergétique globale	30
II.3. Activité anti-oxydante	31
II.3.1. Extraction	31
II.3.2. Méthode au DPPH.....	31
II.3.3. Méthode au ferricyanure	31
III. Résultats et discussions	32
III.1. Analyses physicochimiques	32
III.1.1. pH et acidité titrable.....	32
III.1.2. Taux d'humidité	33
III.1.3. Taux de solides solubles	33
III.2. Composition chimique de la mélasse de caroube et valeur énergétique	34
III.2.1. Teneur en protéines	34
III.2.2. Teneur en sucres totaux	35
III.2.3. Teneur en sucres réducteurs et non réducteurs	35

III.2.4. Teneur en matière grasse	36
III.2.5. Teneur en cendres et en minéraux	36
III.2. 6.Valeur énergétique globale	38
Conclusion	39
Références bibliographiques.....	40
Annexes	
Résumé	

Liste des figures

Fig. 1: différentes espèces réactives oxygénées et azotées	4
Fig. 2: Conséquences cellulaires du stress oxydant	8
Fig. 3: Production des ERO et mécanisme de neutralisation.....	9
Fig. 4 : Photographie du caroubier.....	11
Fig. 5 : Photographie des feuilles du caroubier	11
Fig. 6 : Photographie des fleurs du caroubier	11
Fig. 7: Coupe longitudinale d'une gousse de caroube.	12
Fig. 8: photographie du fruit	12
Fig. 9: photographie des graines	13
Fig. 10: Coupe longitudinale d'une Graine.....	13
Fig. 11: Structure des acides hydrox benzoïques identifiés dans la caroube	17
Fig. 12: Structure des acides hydroxycinnamiques identifiés dans la caroube.....	18
Fig. 13: Structure de base des flavonoïdes.....	19
Fig. 14: Structure des flavonoïdes glycosylés identifiés dans la caroube.....	19
Fig. 15: Structure des flavonoïdes libres identifiés dans la caroube	20
Fig. 16: Sites de Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes	21
Fig. 17: Structure des tannins hydrolysables identifiés dans la caroube.....	22
Fig. 18: Hydrocarbure acyclique en C ₄₀ H ₅₀ , composé de huit unités iso-préniques	23
Fig. 19: (A) Photographie de l'arbre du caroubier de belhasnet, (B) Photographie des fruits (gousses) de caroubier belhasnet.....	25
Fig. 20: (C) Photographie de l'arbre du caroubier de Bouzagza, (D) Photographie des fruits (gousses) de caroubier Bouzagza	25
Fig. 21: (E) Photographie de la pulpe de la caroube, (F) Photographie de la mélasse préparée.	26

Liste des tableaux

Tableau I: Classification botanique du caroubier	13
Tableau II: Production mondiale de caroube.....	14
Tableau III: caractéristiques physicochimiques de la mélasse de caroube étudiée	32
Tableau IV: composition chimique de la mélasse de caroube étudiée.....	34
Tableau V: composition en minéraux de la mélasse de caroube étudiée	37

Liste des abréviations

ADN: Acide DésoxyriboNucléique

Car: Caroténoïde

DPPH: DiPhényl Picryl-hydrazyl

EBSA: Equivalent Bovine Serum Albumine

EAC: Equivalent Acide citrique

EG: Equivalent Glucose

ERO: Espèces Réactives d'Oxygène

ERN: Especies Reactives azotees

FAO: Food and Agriculture Organization

Fig: Figure

FLO[•]: Radicaux flavoxyles

FLOH: Flavonoïdes hydroxylés

GPx: Glutathions peroxydases

GR: Glutathions réductases

GSH: Glutathion réduit

GSHPX: Glutathion peroxydases

GSSG: Glutathion oxydé

LDL: Low Density Lipoprotein

MF: Matière fraîche

Nd: Non déterminé

RL s: Radicaux Libres

SOD: Superoxydes dismutases

Introduction

Introduction

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre le taux de production des oxydants et celui de leur dégradation que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses anti-oxydantes. Sa compréhension passe par une bonne connaissance de la réactivité des diverses formes réactives de l'oxygène et des dommages cellulaires pouvant être induits par une surproduction de ces espèces et/ou par un déficit des systèmes antioxydant protecteurs. Le stress oxydatif est à l'origine de nombreuses pathologies en particulier les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, le cancer, ...etc. d'où la nécessité de consommer des aliments riches en antioxydant afin de réduire ou prévenir les dégâts causés par ce stress (**Lahlou et Bourhim, 2009**).

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L) est une espèce arborescente (**Dallali et al., 2018**), appartient à la famille des légumineuses, largement cultivé en Méditerranée. Il est considéré comme un composant important de la végétation pour des raisons économiques et environnementales (**Goulas et al., 2016**). Le fruit du caroubier est composé de 80 à 90 % de pulpe et de 10 à 20 % de graines par poids (**Tounsi et al., 2019**). La gomme est le constituant majeur de l'endosperme des graines, elle est utilisée en industrie alimentaire comme stabilisant, épaississant et émulsifiant dans une large gamme de produits alimentaires (**Salih et Jilal, 2020**). Alors que la pulpe est très riche en sucres, en fibres alimentaires, telles que la cellulose, les hémicelluloses et la lignine, en minéraux (**Sour et al., 2019**) et elle est considérée également comme un réservoir potentiel de molécules bioactives. Elle est riche en composés phénoliques (**hariri et al., 2009**), dont les plus importants sont : les proanthocyanidines, les flavonoïdes et les ellagitanins (**Dallali et al., 2018**).

Les chercheurs accordent une importance croissante aux polyphénols en raison de leurs propriétés antioxydantes qui permettent de réduire les dommages oxydatifs, plus précisément ils peuvent, par différents mécanismes, agir comme une défense efficace contre les espèces réactives de l'oxygène et de leur rôle crucial dans la prévention et le traitement de plusieurs maladies (**Hanan et Jambi, 2015**).

Le sirop de caroube est l'extrait obtenu en trempant les gousses de caroube coupées et dénoyautées dans de l'eau, puis égouttées et bouillies dans de l'eau jusqu'à épaississement du sirop (**Musa al., 2007**). Le sirop appelé aussi mélasse contient principalement une quantité importante de sucres naturels (50-80%) et de certains minéraux (fer, phosphore, calcium et potassium). Il est une bonne source de composés bioactifs (composés phénoliques, caroténoïde,...etc) associés à diverses activités biologiques, principalement l'activité anti-

oxydante, antimicrobienne et cytotoxique. Leur activité anti-oxydante est exploitée dans l'industrie alimentaire pour prévenir l'oxydation des lipides dans les systèmes alimentaires, ce qui améliore leur stabilité oxydative et prolonge leur durée de conservation. La mélasse est utilisée comme ingrédient dans de nombreuses formulations alimentaires telles que les glaces, les sirops de fruits, les gelées et les boissons à base de jus de fruits. Elle pourrait jouer un rôle fonctionnel dans la préparation des émulsions huile dans l'eau utilisées dans l'industrie alimentaire (**Tounsi et al., 2017**).

Notre travail a comme objectif, l'étude de la valeur nutritive et du potentiel antioxydant d'une mélasse de caroube. Le présent travail est divisé principalement en deux parties :

- Une partie théorique qui comporte des généralités sur l'activité anti-oxydante, la valeur nutritive et les antioxydants de caroube;
- Une partie pratique qui précise la démarche expérimentale et donne les méthodes d'analyses et les résultats correspondants.

Partie théorique

I. Activité anti-oxydante

I.1. Stress oxydatif

Le stress oxydant est une circonstance anormale qui traverse parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, des radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités anti-oxydantes. Ces derniers sont des espèces fortement toxiques et leur excès, non neutralisés par les systèmes de défense, est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules. Ces espèces toxiques entraînent des anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, des troubles immunitaires, des mutagenèses, de la mort cellulaire, ...etc (**Favier, 2006**).

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre le taux de production des oxydants et celui de leur dégradation que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses anti-oxydantes. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, métaux toxiques,...etc.). Toutes ces conditions conduisent à la production de divers oxydants. Si l'organisme ne parvient pas à les neutraliser, ces oxydants s'accumulent et réagissent avec une variété de biomolécules, créant une situation insurmontable connue sous le nom de stress oxydatif (**Sorg, 2004**).

I.2. Radicaux libres

I.2.1. Définition

Les radicaux libres sont des particules chimiques (molécules ou atomes) ayant un électron non apparié dans leur périphérie. Cet électron cherchera à se lier avec un autre électron, en s'arrachant à une autre molécule, qui devient alors déséquilibrée donc instable. Ce mécanisme peut enclencher une réaction en chaîne conduisant à la dégradation des molécules et à leur désintégration en plus petites molécules (**Morelle et Israel, 2003**).

La majorité des radicaux libres sont des dérivées de l'oxygène, certaines peuvent être des dérivées de l'azote (NO) qui possède un électron partagé entre son atome d'azote et son atome d'oxygène. Ces radicaux libres ont un rôle physiologique important en agissant, à faible concentration, comme des secondes messagés capables de régler le phénomène d'apoptose qu'est un suicide programmé des cellules, évitant leur évolution vers un état cancéreux (**Slater et al., 1995**).

I.2.2. Production

La production des radicaux libres est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d' O_2 pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respirations oxydatives (Thomas et al., 2010). Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau, au niveau de la mitochondrie. Elle peut alors être à l'origine de la production des radicaux libres oxygénés (Poston et Raijmakers, 2004). Les autres sources de production des radicaux libres peuvent être formées à partir de substances endogène et exogène (Les neutrophiles et les macrophages durant l'inflammation, les rayons UV, les rayons X, les radiations gamma et les micro-ondes, les interactions avec les produits chimiques, les échappements d'automobiles et la Fume de cigarette, la brulure de la matière organique pendant la cuisson, les feux de forêt, la consommation des produits alcooliques et certains médicaments, certains pesticides et herbicides, certains ions métalliques, toxines fongiques et xénobiotiques,... etc.) (Bagchi et Puri, 1998 ; Valko, 2006).

I.3. Espèce réactives d'oxygènes et espèces réactives azotées

I.3.1. Espèce réactives d'oxygènes (ERO)

L'oxygène est un élément essentiel pour l'organisme, il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques à l'origine de la formation de dérivés plus réactifs appelés ERO. Ces derniers sont toxiques et interagissent avec toute une série des substrats biologiques importants (Lesgards, 2000, Pincemail et al., 2002) (Fig. 1).

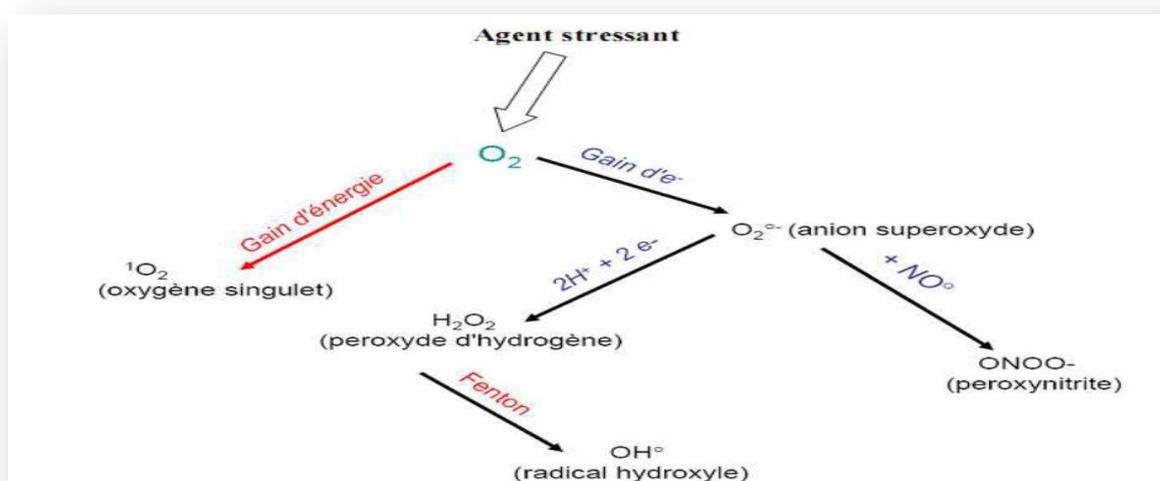


Fig. 1: différentes espèces réactives oxygénées et azotées (Nzengue, 2008).

I.3.1. 1. Radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)

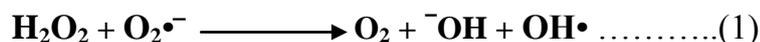
Le radical superoxyde est produit à partir de l'oxygène moléculaire, principalement par les cellules phagocytaires (neutrophiles, monocytes, macrophages, éosinophiles), et il participe à l'inactivation des virus et des bactéries. Cependant, stimulées de façon excessive ou inappropriée, ces cellules sont une source d'une importante production de radicaux libres dans le milieu environnant et susceptibles d'entraîner des lésions tissulaires sévères (**Goudable et Favier, 1997**).

I.3.1. 2. Peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée (H_2O_2)

Il est produit en grande partie à partir du radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en présence de superoxyde dismutase qui catalyse la réaction. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est un produit plus stable que les radicaux super-oxydes, c'est pourquoi il diffuse très facilement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule. C'est un oxydant très puissant capable d'accepter deux électrons supplémentaires. Il est potentiellement toxique pour la cellule et il est utilisé par la myéloperoxydase pour produire de l'hypochlorite qui permet de tuer les micro-organismes pathogènes (**Goudable et Favier, 1997**).

I.3.1. 3. Radical hydroxyle (OH^{\bullet})

Le radical hydroxyle est formé à partir du peroxyde d'hydrogène au cours de la réaction de Fenton ou à partir de l'anion superoxyde dans la réaction d'Haber-Weiss (Réaction 1):



Le radical hydroxyle est considéré comme l'ERO la plus réactive (**Lubec, 1996**), Il inactive le pyruvate déshydrogénase de la mitochondrie, dépolymérise le mucus du tractus gastro-intestinal ou induit directement des atteintes oxydatives à l'ADN. Le radical hydroxyle est produit durant l'inflammation en grande quantité lors des interactions entre l'anion superoxyde et l'acide hypochloreux, entre l'acide hypochloreux et les ions ferreux (Fe^{2+}) ou entre les interactions peroxyde d'hydrogène et monoxyde d'azote (**Kruidenier et al., 2002**).

I.3.1. 4. Acide hypochloreux (HOCl)

Comme le peroxyde d'hydrogène, l'acide hypochloreux ne rentre pas aussi dans la définition stricte des espèces radicalaires. Cependant, au cours de l'inflammation, la métabolisation du peroxyde d'hydrogène en acide hypochloreux par l'enzyme MPO (Myéloperoxydase) est élevée et l'acide hypochloreux est un agent chlorant et oxydant fort (Réaction 2).



L'acide hypochloreux est considéré comme 100 à 1000 fois plus toxique que le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) ou le peroxyde d'hydrogène et a des cibles bien marquées : inactivation enzymatique, oxydation des groupements thiols de la membrane plasmique et diminution des propriétés d'adhésion de certains composés de la matrice extracellulaire (Elaoufi, 2013).

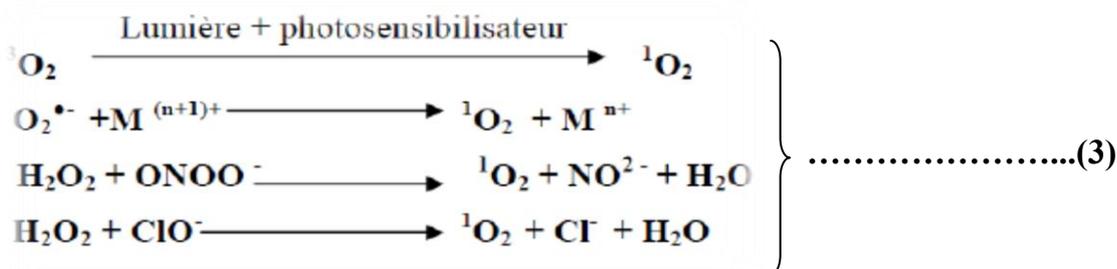
I.3.1. 5. Radicaux peroxytes ($ROO\bullet$) et alkoxytes ($RO\bullet$)

Les radicaux peroxytes ($ROO\bullet$) et alkoxytes ($RO\bullet$) sont des espèces réactives de l'oxygène secondaires (Migdal et Serres, 2011). Les radicaux peroxytes ($ROO\bullet$) sont issus de l'addition de dioxygène sur les radicaux libres $R\bullet$, provenant eux-mêmes de l'attaque des radicaux $OH\bullet$ sur les molécules organiques (Scalzo et al., 2012).

Le radical alkoxyte ($RO\bullet$) est le dernier maillon dans la chaîne de production des ERO. Il est le résultat de l'action oxydante de $OH\bullet$ sur les chaînes d'acides gras polyinsaturés (Farhataziz, 1977).

I.3.1.6. Oxygène singulet (1O_2)

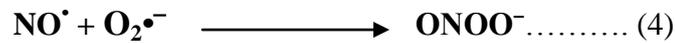
C'est une forme excitée de l'oxygène moléculaire. L'oxygène singulet est très réactif et il peut être produit par plusieurs réactions biochimiques (peroxydation, lipoxygénation), par la réaction entre divers ERO en présence de la lumière, de l' O_2 et de photosensibilisateur (comme la porphyrine) et par les leucocytes (Sorg, 2004) (Réaction 3).



I.3.2. Espèce réactives de l'azote (ERN)

Par analogie avec les espèces réactives de l'oxygène, les métabolites dérivés de l'azote sont nommés espèces réactives de l'azote ; il s'agit du monoxyde d'azote ($NO\bullet$) et du peroxyntrite ($ONOO^-$). Le monoxyde d'azote est produit de manière endogène lors du métabolisme de l'arginine par les « Nitric Oxide Synthases » (NOS) dans des certaines conditions physiologiques et physiopathologiques. L'isoforme inductible de l'enzyme (iNOS) peut être exprimée en réponse aux agents pro-inflammatoires, produisant ainsi de grandes quantités de monoxyde d'azote comparativement aux faibles quantités générées par l'isoforme endothéliale (eNOS) (Rao, 2004).

Le monoxyde d'azote lui-même se caractérise par une diffusivité élevée, une réactivité limitée et une demi-vie qui n'excède pas quelques secondes, il n'est donc pas particulièrement délétère pour les structures cellulaires (**Blanc et al., 2005**). Cependant le NO[•] peut interagir rapidement avec l'anion superoxyde et produire du peroxynitrite beaucoup plus réactif et délétère que ses précurseurs (**Murphy et al, 1998**). (Réaction 4)



Le peroxynitrite a une demi-vie plus longue et traverse facilement les membranes lipidiques. Il oxyde les lipides composant les membranes mitochondriales, altère les canaux sodiques et favorise la perméabilité vasculaire et la formation d'œdème (**Kruidenier et al., 2002**)

I.4. Conséquences cellulaires du stress oxydant

Le stress oxydatif entraîne des dégâts tissulaires par l'oxydation des protéines, des lipides et/ ou de l'ADN (**Laight et al., 2000**) (Fig. 2 ,page 8).

I.4.1. Oxydation des composés lipidiques

Les acides gras polyinsaturés ainsi que les phospholipides membranaires sont les cibles privilégiées des attaques oxydatives. Les membranes sont plus particulièrement visées par le radical hydroxyle qui arrache un atome d'hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde (ROO[•]). Cette réaction de peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué. Ce processus génère des hydro-peroxydes qui peuvent continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes et en alcanes (éthane, éthylène, pentane). Le radical peroxyde peut, quant à lui, libérer différents aldéhydes toxiques dont le malondialdéhyde (MDA) ou l'hydroxynonéal. L'accumulation d'hydroperoxydes dans les membranes réduira leur fluidité ainsi que l'activité des protéines transmembranaires (**Kruidenier et al., 2002; Valko et al., 2006**).

I.4.2. Oxydation des composés protéiques

Les protéines sont les constituants cellulaires les plus abondants et sont par voie de conséquence des cibles importantes du stress oxydant. La modification structurale mineure d'une protéine peut induire une forte variabilité dans le fonctionnement de celle-ci. Comme pour les lipides, c'est le radical hydroxyle qui est le plus réactif pour induire des altérations oxydatives des protéines introduisant de nouveaux groupes fonctionnels comme des fonctions

hydroxyles ou carbonyles qui contribuent aux altérations des fonctions des protéines. (Kruidenier et al., 2002; Valko et al., 2006). L'oxydation des protéines peut induire des modifications structurales plus importantes comme des réticulations intra ou intermoléculaires, ce qui affecte leurs fonctionnements, antigénicités et leurs activités (Martinez-Cayuela, 1995). Ainsi le stress oxydant peut avoir un effet sur la fonction propre d'une protéine mais peut également avoir des répercussions sur l'ensemble de la régulation cellulaire (Kruidenier et al., 2002; Valko et al., 2006).

I.4.3. Oxydation de l'ADN

Les ADN nucléaire et mitochondrial sont également des cibles des ERO. Les altérations les plus communes sont l'hydroxylation des bases puriques et pyrimidiques et du squelette désoxyribose provoquant le clivage des brins et des mutations génétiques (Valko et al., 2006). Les altérations de la molécule d'ADN peuvent conduire soit à l'arrêt de l'induction de la transcription ou de la transduction des voies de signalisation, soit à des erreurs de réplication, soit à une instabilité génomique et l'ensemble est associé au phénomène de carcinogenèse (Valko et al., 2006).

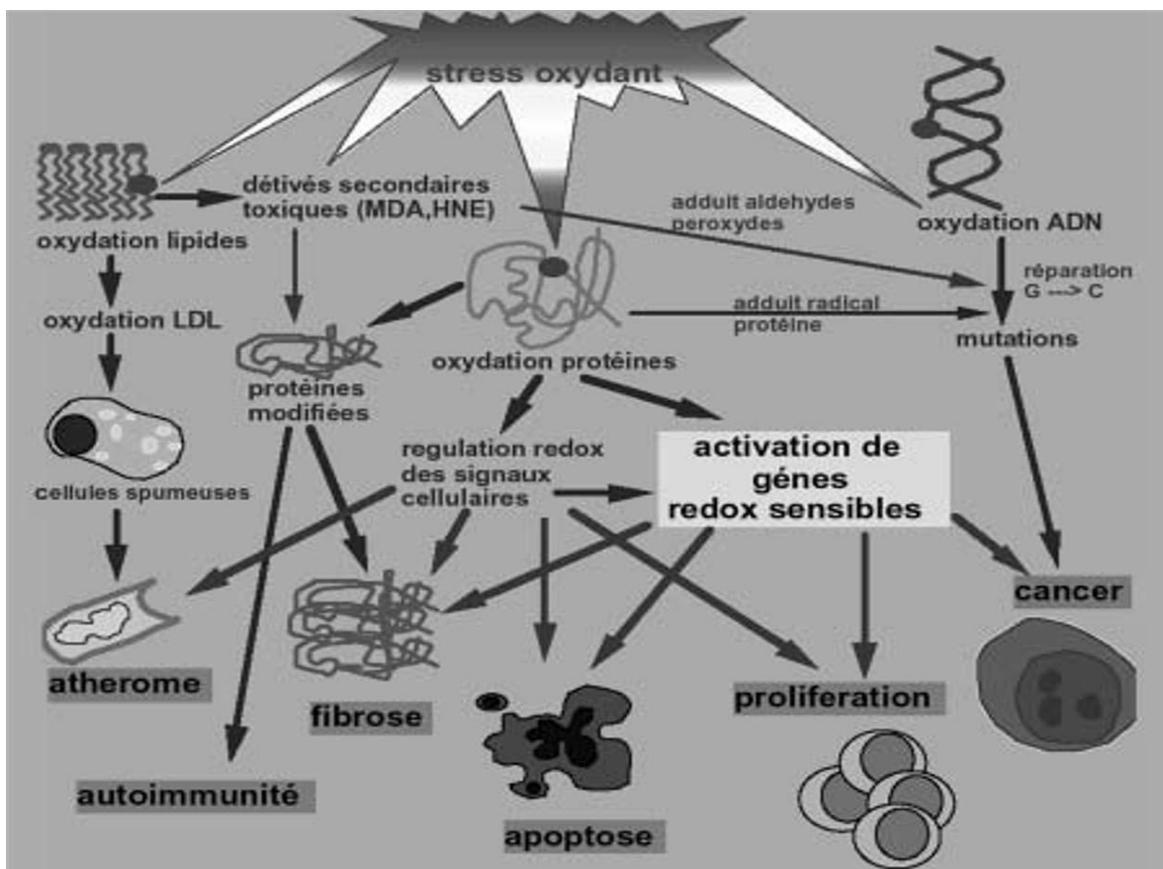


Fig. 2: Conséquences cellulaires du stress oxydant (Favier, 2006).

I.5. Mécanisme de neutralisation des radicaux libres

I.5.1 Systèmes enzymatiques

Les systèmes enzymatiques sont des moyens endogènes considérés comme la première ligne de défense contre les ERO tels que les superoxydes dismutases (SOD) et la catalase qui ont un rôle de protection, ainsi que les glutathions peroxydases (GPx) et réductases (GR) qui ont un rôle de détoxification (**Goudable et Favier, 1997**).

-**Les SOD** : Elles permettent d'éliminer les radicaux super-oxydes ($O_2^{\bullet-}$) mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à distance. La synthèse des SOD subit un rétrocontrôle négatif par les fortes concentrations de peroxyde d'hydrogène

-**Les catalases** : Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier. Elles sont quantitativement moins efficaces que les glutathion peroxydases (**Goudable et Favier, 1997**).

- **Les glutathion peroxydases (GSHPX)** : Elles réduisent le H_2O_2 et les hydro-péroxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (Fig.3).

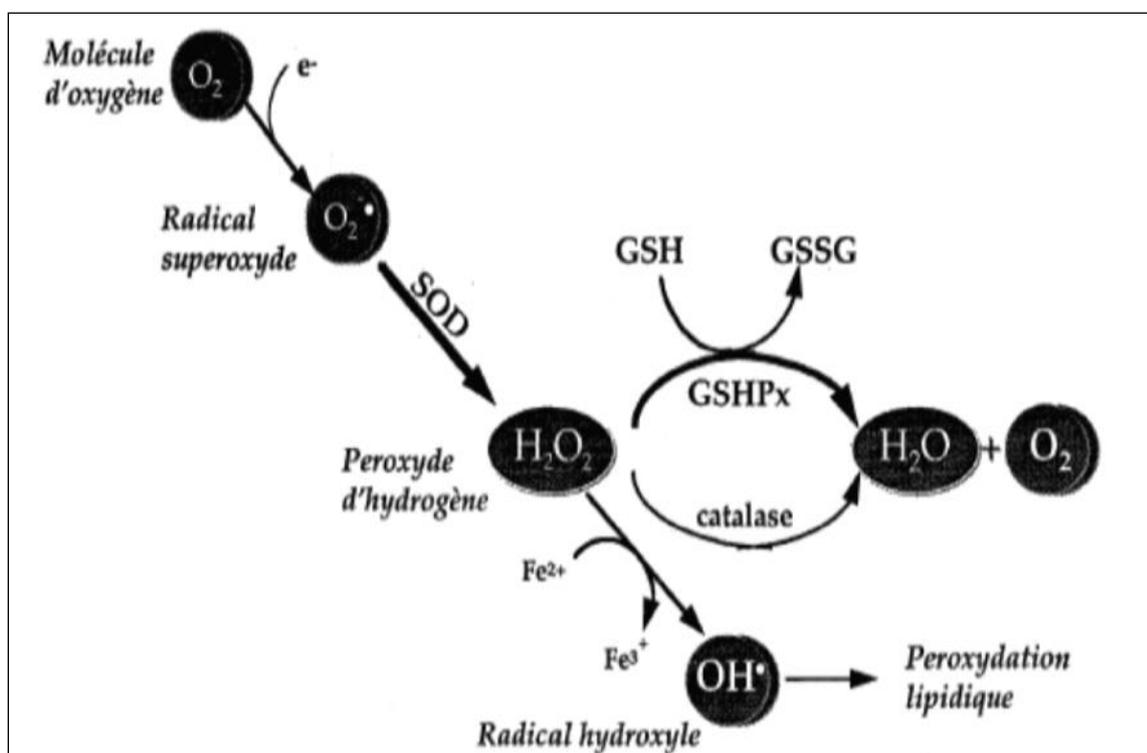


Fig. 3: Production des ERO et mécanisme de neutralisation (**Goudable et Favier, 1997**).

I.5.2. Systèmes non enzymatiques

I.5.2.1. Vitamines E et C

La vitamine E permet de diminuer la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire et au sein des LDL (low densité lipoprotéines). Elle est très active dans la résistance à l'oxydation des LDL. L'acide ascorbique (vitamine C) agit également en piégeant directement les ERO et/ou les ERN (majoritairement $l'O_2^{\cdot}$ et le $ONOO^{\cdot}$). Il est aussi capable de recycler l' α -tocophérol (T-OH) (vitamine E) de façon à agir en synergie avec ce dernier dans la prévention de la peroxydation lipidique (**Goudable et Favier, 1997**).

I.5.2.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont capables d'inactiver l'oxygène singulet (1O_2) et les RLs. Le β -carotène est particulièrement réactif vis-à-vis des lipoperoxydes ; le radical peroxyde se fixerait sur un carbone de la chaîne polyinsaturée et serait stabilisé par résonance (**Goudable et Favier, 1997**).

I.5.2.3. Composés phénoliques

Les propriétés anti-oxydantes des composés phénoliques sont attribuées à : leur capacité à piéger directement les RLs, d'inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases, de chélater les ions métalliques impliqués dans la production des ERO, d'activer les enzymes anti-oxydantes et de réduire les radicaux α -tocophéryl (**Chaillou et Nazareno, 2006**).

II. Caroube

II.1. Description botanique du caroubier

Le caroubier est un arbre ou arbuste qui peut atteindre 7 à 20 m de hauteur et d'une circonférence à la base du tronc de 2 à 3m (Fig.4). Il a une écorce lisse et grise lorsque la plante est jeune, et brune et rugueuse à l'âge adulte. Son bois de couleur rougeâtre est très dur. Les feuilles sont persistantes, de longueur de 10 à 20 cm, se caractérisent par un pétiole sillonné sur la face interne et un rachis portant de 8 à 15 folioles, opposées, de 3 à 7 cm. Elles sont coriaces, entières, ovales à elliptiques, paripennées, légèrement échancrées au sommet avec une couleur vert sombre brillante à la face supérieure et vert pâle à la face inférieure (Fig.5) (**Ait Chitt et al., 2007**). Les fleurs du caroubier sont nombreuses et petites, de 6 à 12 mm de long (**Batlle et Tous, 1997**). Elles sont regroupées en grappes latérales, disposées le long d'un axe ou rachis d'une couleur vert-jaunâtre ou rougeâtre de 4 à 10 cm de longueur sur lequel sont insérées entre 10 à 30 fleurs, voire plus (**Albanell, 1990**). Les fleurs sont d'une

couleur verte teintée de rouge, ne présentant pas de corolle, elles sont par conséquent visuellement peu attractives (Albanell, 1990) (Fig. 6).



Fig. 4 : Photographie du caroubier



Fig. 5 : Photographie des feuilles du caroubier



Fig. 6 : Photographie des fleurs du caroubier

II.2. Anatomie du fruit

Le fruit appelé caroube ou carouge, est une gousse de 10 à 20 cm de longueur, de 1 à 2,5 cm d'épaisseur et de 2 à 3 cm de largeur. Le fruit est composé de trois parties (Fig.7):

- Epicarpe** ou **peau**, de nature fibreuse et colorée ;
- Mésocarpe** ou **pulpe**, de nature charnue, riche en sucres. Il représente environ 70 à 95% du fruit entier ;
- Endocarpe**, de nature fibreuse ; il recouvre l'intérieur du fruit en le divisant en segments ou loges carpellaires où se situent les graines (Caja, 1985).

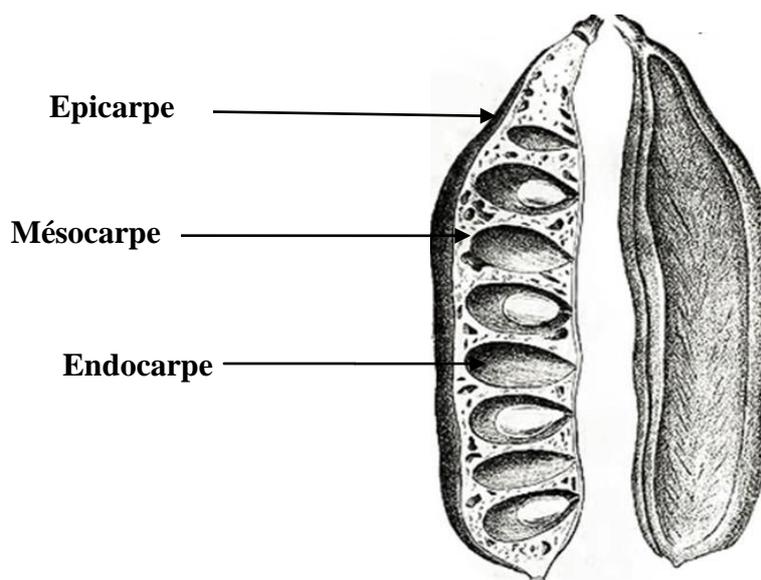


Fig. 7: Coupe longitudinale d'une gousse de caroube (Ralph , 1849).

Le fruit immature est vert puis devient brun et au moment de la maturité, brun foncé à noir (Fig. 8). Il est sinueux sur les bords, aplati et présente un tissu pulpeux, sucré, rafraichissant renfermant de 12 à 16 graines brunes soit 10 à 20 % du poids de la gousse (Rejeb, 1995).



Fig. 8: photographie du fruit

Les graines du caroubier sont petites et aplaties, d'une forme presque ovale, avec un pôle basal tronqué et écrasé en zone apicale (Fig. 9, 10, page 11). Son tégument est normalement lisse, dur, de couleur brun rougeâtre et brillant. Elles présentent des dimensions de 8 à 10 mm de long sur 6 à 8 mm de largeur avec 3 à 5 mm d'épaisseur. Les graines sont très dures et présentent une grande résistance (Albanell, 1990).



Fig. 9: photographie des graines

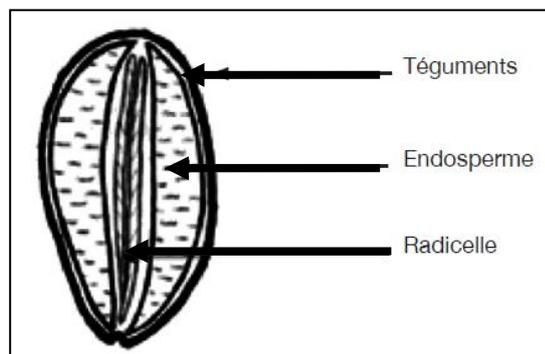


Fig. 10: Coupe longitudinale d'une Graine

II.3. Taxonomie

Selon **Quezel et Santa (1962)**, le caroubier occupe la position systématique donnée dans le tableau suivant :

Tableau I: Classification botanique du caroubier (**Quezel et Santa, 1962**)

Rang taxonomique	Classification classique
Règne	<i>plantae</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Fabales (Rosales),</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Sous- famille	<i>Caesalpinioideae</i>
Genre	<i>Ceratonia</i>
Espèce	<i>Ceratonia siliqua</i> L.

II.4. Composition chimique du fruit

La pulpe et les graines sont les deux principaux constituants de la gousse du caroubier et représentent respectivement 90% et 10% de son poids total. Selon plusieurs auteurs (**Jean, 2009 ; Kaderi et al., 2014**), la composition chimique de la pulpe dépend en général, du cultivar, de l'origine géographique et parfois de la période de récolte.

La pulpe est très riche en sucre (48-56%), en particulier le saccharose, le glucose, le fructose et le maltose mais pauvre en protéines (2-6%) et en lipides (0.4-0.6%) dont les acides saturés et insaturés sont en proportions égales. La pulpe présente également une teneur très élevée en fibres (27-50%), des cyclitols (surtout du pinitol) et des polyphénols (taninshydrolysables et condensés (18-20%) et glycosides de flavonols). Par ailleurs, l'analyse

minéralogique a révélé une composition (en mg/100g de pulpe) de : K= 1100, Ca= 307, Mg= 42, Na= 13, Cu= 0.23, Fe= 104, Mn= 0.4 et Zn= 0.59.

II.5. Production mondiale et Algérienne

Le caroubier est une espèce typique de la flore méditerranéenne, bien définie dans l'étage humide, subhumide et semi- aride (**Kaderi et al., 2014**). En Algérie, comme dans plusieurs pays méditerranéens, le caroubier croît dans les conditions naturelles à l'état sauvage sous des bioclimats de type subhumide, semi-aride et aride à une altitude allant de 100 à 1300 m dans les vallons frais qui le protègent de la gelée; avec une température de 5°C jusqu'à 20°C et une pluviométrie de 80mm à 600mm/an. Il est généralement en association avec l'olivier et le lentisque (**Rebour, 1968 ; Benamar et al., 2011**). Il est fréquemment cultivé dans l'Atlas Saharien et il est commun dans le tell (**Quezel et Santa, 1963**).

Selon les statistiques de **FAO (2018)** la production mondiale a été estimée à 144960 tonnes. La plus grande production qui est essentiellement concentrée en Portugal, premier pays producteur avec une valeur de 4173 tonnes, suivi par l'Italie, le Maroc, la Turquie, la Grèce et le Chypre. Par ailleurs, de faibles productions ont été enregistrées en Algérie ,en Espagne, et en dernier la Tunisie. Le tableau ci-dessous représente la production mondiale de caroube en 2018.

Tableau II: Production mondiale de caroube (**FAO, 2018**).

pays	Production en tonnes	pays	Production en tonnes
Portugal	41734	Chypre	7460
Italie	36951	Algérie	2880
Maroc	21974	Espagne	2268
Turquie	15506	Espagne	2268
Grèce	12216		

II.6. Utilisation du caroubier

Le caroubier est un arbre d'importance écologique, industrielle et ornementale indiscutable. Il est considéré comme l'un des arbres fruitiers et forestiers les plus performants puisque toutes ses parties (feuilles, fleurs, fruits, bois, écorces et racines) sont utiles et ont des valeurs dans plusieurs domaines (**Aafi, 1996**).

II.6.1. Arbre (bois et écorce)

Le caroubier est utilisé pour le reboisement et la reforestation des zones affectées par l'érosion et la désertification (**Rejeb et al., 1991 ; Biner et al., 2007**). Il est également utilisé comme plante ornementale en bordure des routes et dans les jardins (**Battle et al., 1997**). Le bois du caroubier appelé carouge (**Rivière et Leco, 1900**) est dur à grain fin ; il est utilisé pour la fabrication d'ustensiles et la production de combustible, il est également utilisé dans la charbonnerie et la menuiserie (**Battle et Tous, 1997 ; Hariri et al., 2009**). L'écorce de l'arbre est utilisée en tannerie, particulièrement dans l'achèvement et l'émaillage des peaux (**Battle, 1997**).

II.6.2. Feuilles et fleurs

Les fleurs sont utilisées par les apiculteurs pour la production du miel de caroube (**Rejeb et al., 1991 ; Gharnit, 2003**). Les Feuilles sont utiles pour l'alimentation des animaux. Plusieurs études ont montré que l'utilisation des feuilles associées avec le polyéthylène glycol (PEG) améliore la digestibilité et la qualité nutritive des tanins contenus dans les feuilles (**Priolo et al., 2000**) ces derniers ont été utilisés en Turquie, dans la médecine traditionnelle pour traiter la diarrhée et dans l'alimentation diététique (**Baytop, 1984**), ils ont été également désignés comme étant porteurs d'activités cytotoxiques et antimicrobiennes (**Kivçak et Mert, 2002**).

II.6.3. Fruit

Les gousses du caroubier ont été traditionnellement utilisées non seulement dans l'alimentation animale mais aussi dans l'alimentation humaine (**Louca et Papas, 1973**). Des études cliniques ont souligné l'efficacité de la poudre de caroube dans le traitement des diarrhées aiguës infantiles (**Serairi et al., 2000**). De plus, elle joue un rôle effectif dans l'élimination des parasites intestinaux (**Min et Hart, 2003**). Selon (**Rejeb, 1995**) la pulpe est recommandée contre la tuberculose pulmonaire et les affections des bronches. D'autres études expérimentales ont démontré sa capacité bactéricide vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et sa capacité à adsorber aussi les entéro-toxines produites par certaines souches d'*Escherichia coli*, de *Staphylococcus* et de vibron cholérique (**Tolentino, 1950**).

La caroube est une source de bon marché d'hydrates de carbone actuellement explorées comme matériaux pour la production de bioéthanol, avec plusieurs avantages par rapport à d'autres cultures agricole riches en sucre (**Vourdoubas et al., 2002; Turhan et al., 2010**). La farine obtenue en séchant, torrifiant et moulant les gousses après les avoir débarrassées de leurs graines, est employée surtout en agro-alimentaire comme ingrédient pour la préparation de certains produits, tels que les gâteaux, les bonbons, les crèmes glacées et les boissons

(NAS, 1979 ; Sbay et Abourouh, 2006) et comme substituant du cacao pour la fabrication du chocolat (car elle est moins calorifique et ne contient ni caféine ni théobromine) (Craig et Nguyen, 1984).

La mélasse de caroube appelée aussi sirop de caroube est largement consommée surtout pendant les périodes froides de l'année comme aliment énergétique. Elle contient principalement une quantité importante de sucres naturels (50-80%) et de certains minéraux (fer, phosphore, calcium et potassium) (Tounsi et al., 2017). La mélasse de caroube est une bonne source de composés bioactifs (composés phénoliques) associés à divers activités biologiques, principalement l'activité anti-oxydante, antimicrobienne et cytotoxique. Leur activité anti-oxydante est exploitée dans l'industrie alimentaire pour prévenir l'oxydation des lipides dans les systèmes alimentaires, ce qui améliore leur stabilité oxydative et prolonge leur durée de conservation. La mélasse est utilisée comme ingrédient dans de nombreuses formulations alimentaires telles que les glaces, les sirops de fruits, les gelées et les boissons à base de jus de fruits. Elle pourrait jouer un rôle fonctionnel dans la préparation des émulsions huile dans l'eau utilisées dans l'industrie alimentaire (Tounsi et al., 2017).

La gomme de caroube est extraite à partir de l'albumen des graines, elle est utilisée dans l'agro-alimentaire comme épaississant connu sous le code normalisé E410 (Ndir et al., 2000), elle substitue la pectine et la gélatine. Elle est également utilisée comme stabilisateur alimentaire, agent dispersant et fixateur (Vourdoubas et al., 2002 ; Turhan et al., 2010). La gomme de caroube est utilisée notamment dans le secteur pharmaceutique dans les préparations alimentaires diététiques, pour diminuer l'apport alimentaire dans le traitement de l'obésité ; et en cas d'insuffisance rénale chronique, elle retiendra dans le tube digestif, l'urée, la créatinine, l'acide urique, l'ammoniaque et les phosphates provoquant un abaissement important et bénéfique du taux d'urée dans le sang (Berrougui, 2007).

III. Antioxydants de la caroube

La caroube est importante en raison de leurs propriétés nutritionnelle et anti-oxydante. Les antioxydants les plus connus sont surtout les caroténoïdes (surtout le β -carotène) et les poly phénols. Ces derniers incluent les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins.

III. 1. Polyphénols

III.1.1. Définition

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 (Naczk et Shahidi, 2004 ;

Gülcin, 2006). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans la croissance, la reproduction et dans les interactions de la plante avec son environnement (**Richter , 1993**).

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénolique» regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à six carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle et al., 2004**) et vont des simples molécules phénoliques à des composés hautement polymérisés (**Lin et al., 2016**).

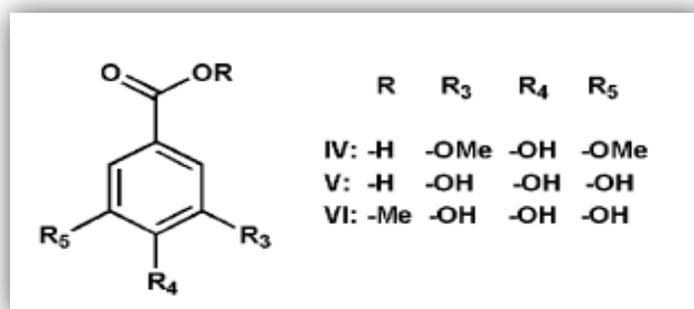
Les polyphénols se trouvent dans les gousses de caroube sous forme de granules bruns clairs de taille entre 100 et 500µm. Ces granules se trouvent dans la fraction fibreuse de la pulpe de caroube et peuvent être extraits par des solvants polaires (**El Bouzdoudi et al., 2016**).

III.1.1. Classification

Les composés phénoliques peuvent fondamentalement être catégorisés en plusieurs classes, Parmi ceux-ci, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins qui sont considérés comme les principaux composés phénoliques (**Balasundram et al., 2016**).

III.1.1. 1. Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (Fig.11) (acide gallique, acide 4-hydroxybenzoïque, les acides protocatéchique, vanillique, syringique,...etc.) et de l'acide hydroxycinnamique (Fig.12) (acides cinnamique, p-coumarique, férulique,... etc.) (**Bruneton, 2008 ; Balasundram et al., 2016**).

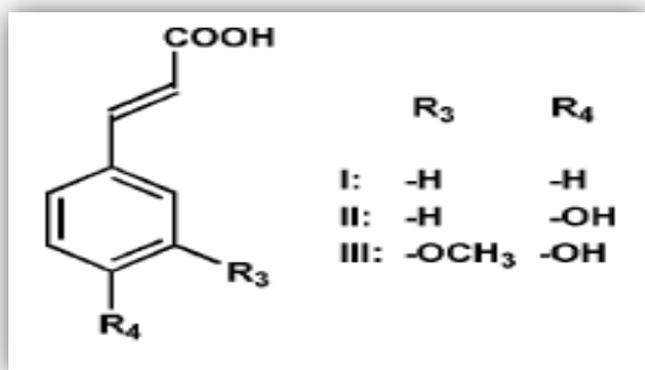


IV= Acide syringique.

V= Acide gallique.

VI=Methyl gallate

Fig. 11: Structure des acides hydrox benzoïques identifiés dans la caroube (**Owen et al., 2003**).



I= Acide cinnamique.

II= Acide *p*-coumarique.

III= Acide férulique

Fig. 12: Structure des acides hydroxycinnamiques identifiés dans la caroube (Owen et al., 2003).

○ Propriétés anti-oxydantes

L'activité anti-oxydante des acides phénoliques et leur esters dépend du nombre et de la position des groupes hydroxyles dans la molécule qui serait renforcée par une entrave stérique (Rice, 1996). En outre, le groupement méthoxyle et les groupes d'acides carboxyliques ont également des effets importants sur la capacité antioxydante des acides phénoliques. Les acides hydroxycinnamiques ont une activité anti-oxydante plus efficace que les acides hydroxybenzoïques. De plus, les acides caféique, sinapique, férulique et *p*-coumarique sont respectivement plus actifs que les acides protocatéchique, syringique, vanillique et *p*-hydroxybenzoïque (Brand et al., 1995).

III.1.1. 2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Guignard, 1996).

Les flavonoïdes sont des composés de faible poids moléculaire, composé de quinze atomes de carbone, disposés en une configuration C₆-C₃-C₆. La structure est constituée essentiellement de deux noyaux aromatiques A et B, reliés par un hétérocyclique oxygéné C (Fig.13). Les substitutions aux noyaux A et B donnent naissance aux différents composés au sein de chaque classe de flavonoïdes. Ces substitutions peuvent inclure l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, acylation, et la sulfatation (Balasundram et al., 2016).

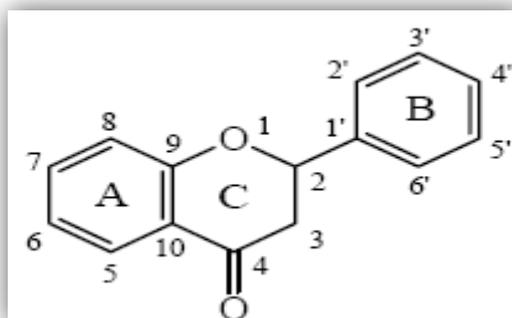
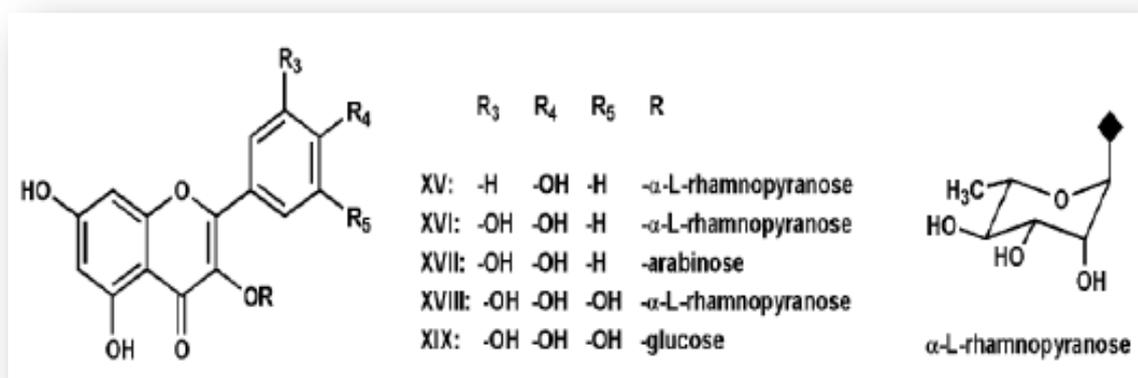


Fig. 13: Structure de base des flavonoïdes (Pietta, 2000).

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). Les flavonoïdes glycosylés identifiés dans la caroube sont représentés par le kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnoside, la quercetine-3-*O*- α -L-rhamnoside, la quercetine arabinoside, la myricetine-3-*O*- α -L-rhamnoside et la myricetine glucoside (Owen et al., 2003) (Fig. 14).



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

Fig. 14: Structure des flavonoïdes glycosylés identifiés dans la caroube (Owen et al., 2003).

Les flavonoïdes aglycones de la caroube 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-méthylether, myricétine, kaempferol), les flavanones (naringénine) et les isoflavones (genistéine) (Owen et al., 2003) (Fig.15).

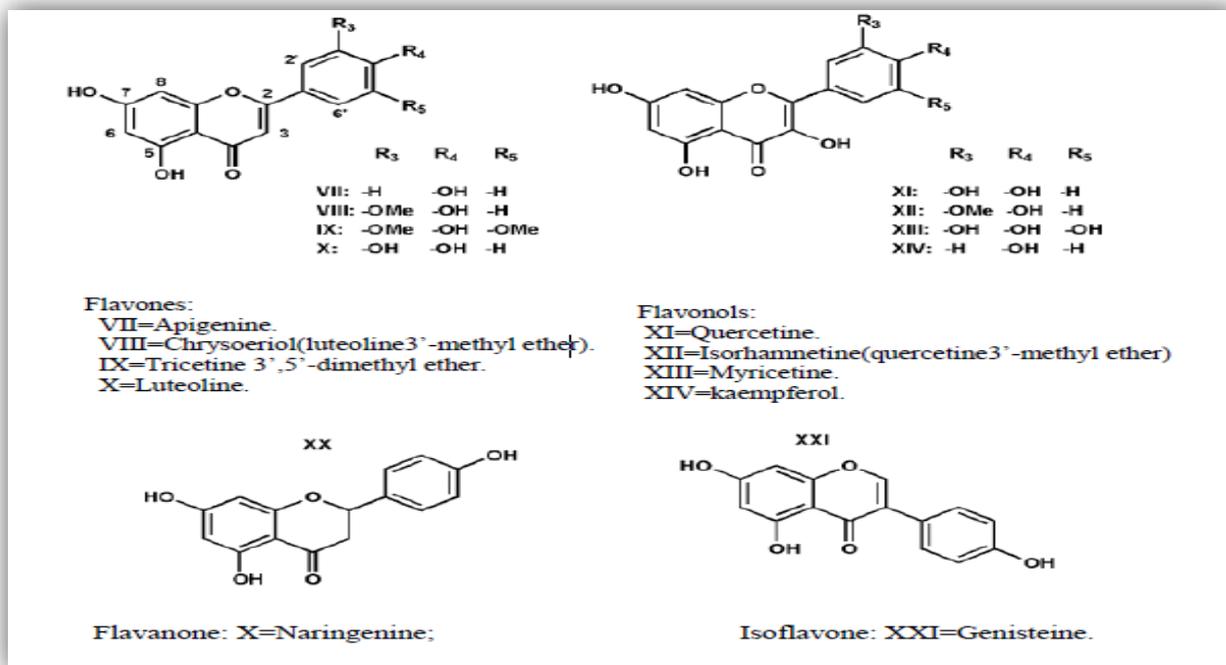


Fig. 15: Structure des flavonoïdes libres identifiés dans la caroube (Owen et al., 2003).

○ Propriétés anti-oxydantes

a)- **Neutralisation des radicaux libres** : Les flavonoïdes sont susceptibles de piéger les radicaux libres : les radicaux hydroxyles (OH[•]), l'anion super-oxyde (O₂^{-•}) et les radicaux peroxylipidiques (Ghardia, 2005). L'activité de piégeage des radicaux par les flavonoïdes est fonction de leur structure et de la disposition des groupes hydroxyles (Amic et al., 2003). Les flavonoïdes hydroxylés (FLOH) sont capables de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles (FLO[•]) moins réactifs, cette capacité peut être expliquée par leur propriété de donation d'un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle selon la réaction de piégeage suivante :



Cette réaction donne une molécule stable (RH) et un radical flavoxyle (FLO[•]). Les radicaux flavoxyles peuvent interagir entre eux pour former des composés non réactifs (Amic et al., 2003).

b)- **Chélation des métaux** : Les ions métalliques peuvent contribuer à la génération de radicaux libres qui conduit par la suite à la peroxydation des lipides, les lésions tissulaires et le stress oxydant (Tiwari, 2001). De plus, ils sont responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante (Pietta, 2000):



En raison de leur structure chimique spécifique, les flavonoïdes chélatent facilement les ions métalliques en créant des composés complexes. Cette capacité est due à la présence dans chaque molécule de flavonoïde de trois domaines susceptibles d'interagir avec des ions métalliques qui sont : le groupe 3',4'-dihydroxy situé sur le cycle B, le groupe 3-hydroxy ou 5-hydroxy et les groupes 4-carbonyl dans le cycle C (Fig.16).

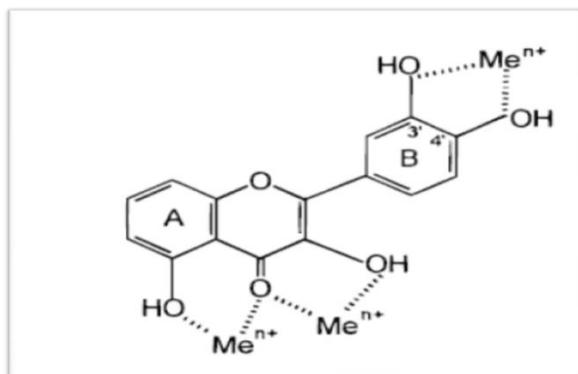


Fig. 16: Sites de Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes (Pietta, 2000).

c)- Inhibition enzymatique : les flavonoïdes inhibent les enzymes responsables de la production de l'anion superoxyde comme la xanthine oxydase (Pietta, 2000) qui catalyse l'hydroxylation de l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (Baghiani, 2012). De plus, ils inhibent la cyclooxygénase, la lipoxygénase, la monooxygénase microsomale, la glutathion S-transférase, la succinoxydase mitochondriale, et la NADH (Nicotiramide Adénine Dinucléotide) oxydase, qui sont tous impliqués dans la génération des ERO (Pietta, 2000).

III.1.1. 3. Tanins

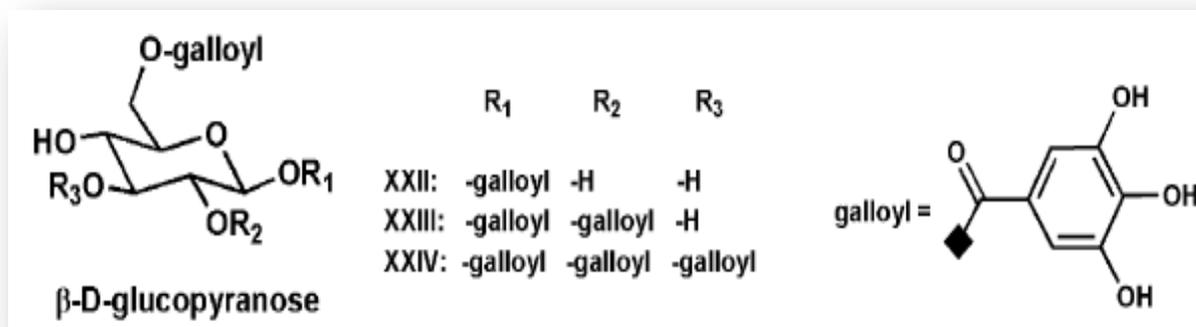
Les tanins sont des composés phénoliques très répandus dans le règne végétal (Vasta et al., 2007). Ils sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes avec des glucides, des protéines et des enzymes, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés également à la cellulose et de nombreux éléments minéraux. Les tanins sont de deux types: les tanins non hydrolysables ou les tanins condensés (catéchines) et les tanins hydrolysables (ou l'acide tannique) (Ref'at et al., 2008).

Les tanins hydrolysables sont des esters d'acides phénoliques (acide galique ou ellagique) associés à un polyol (habituellement le glucose). Ils sont divisés en ellagitannins et

gallotanins. Les gallotanins libèrent par hydrolyse acide à l'eau chaude ou par action enzymatique de l'acide galique (Collin et Crouzet, 2011).

Les tanins condensés sont des polymères d'unités de flavonoïdes à haut poids moléculaire, capables de se lier à des protéines et de les précipiter (Vasta et al., 2007). Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unité de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Bruneton, 1999).

L'examen au microscope électronique montre que la pulpe de caroube contient des granules de tanin enfermés dans des cellules de parenchyme. L'analyse par diffraction des rayons X démontre que ces granules n'ont pas de structure cristalline. Les tanins des gousses de caroube sont fortement polymérisés et d'un poids moléculaire de 32 000 g/mole et ont une forme granulaire non poreuse (El Bouzdoudi et al., 20016). Avallone et al.(1997) constatent que les gousses de caroube renferment plus de tanins condensés (proanthocyanidines) que de tanins hydrolysables (ellagitaninns et les gallotaninns) (Fig.17). En effet, une gousse de caroube contient en moyenne 19 mg de polyphénols totaux par g de matière fraîche; 2,75mg/g de tanins condensés et 0,95mg/g de tanins hydrolysables.



XXII=1,6-di-O-galloyl-β-D-glucose. XXIII=1,2,6-tri-O-galloyl-β-D-glucose.
 XXIV=1,2,3,6-tetra-O-galloyl-β-D-glucose.

Fig. 17: Structure des tannins hydrolysables identifiés dans la caroube (Owen et al., 2003).

○ Propriétés anti-oxydantes

Les tanins sont des antioxydants très efficaces ayant une activité anti-oxydante considérable. Les potentiels redox électrochimiques des tanins sont similaires aux potentiels des petits phénols apparentés (Hagerman et al., 1999). Les tanins ne fonctionnent pas uniquement comme des antioxydants primaires (c'est-à-dire qu'ils donnent des atomes

d'hydrogène ou des électrons), ils fonctionnent également comme des antioxydants secondaires. Ils ont la capacité de chélater les ions métalliques tels que le Fe(II) et d'interférer avec l'une des étapes de la réaction de Fenton, retardant ainsi l'oxydation. Selon **Ryszard (2007)**, l'inhibition de la peroxydation des lipides par les tanins peut agir sur l'inhibition de la cyclo-oxygénase. Les tanins condensés insolubles sont également des piègeurs efficaces des espèces réactives de l'oxygène (**Owen et al., 2003**).

III. 2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes constituent une imposante famille de pigments de nature terpénoïde dont la couleur varie du jaune au rouge orangé. Chimiquement, ils dérivent de l'enchaînement de huit unités isopréniques qui s'organisent en un hydrocarbure acyclique en $C_{40}H_{56}$ (Fig. 18). Les caroténoïdes peuvent être classés en composés non oxygénés, comme l'alpha et le bêta-carotène, le lycopène (qui n'est pas cyclique) et les composés oxygénés (les xanthophylles tels la lutéine, la zéaxanthine, l'astaxanthine) (**Nicol, 2000**).

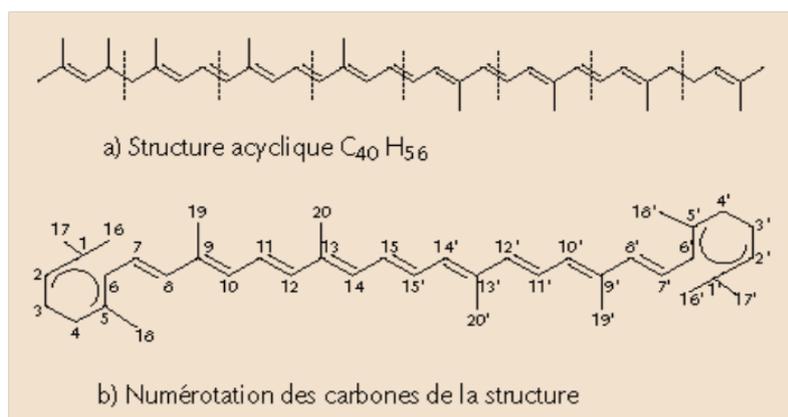


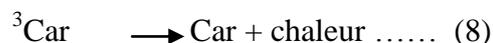
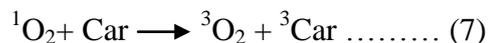
Fig. 18: Hydrocarbure acyclique en $C_{40}H_{56}$, composé de huit unités iso-préniques

(**Nicol, 2000**).

○ Propriétés anti-oxydantes

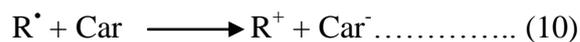
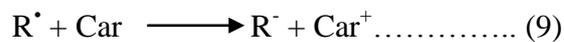
Les caroténoïdes sont des antioxydants naturels très puissants. Ils font partie des extincteurs de l'oxygène singulet (1O_2) les plus efficaces (**Fiedor et Burda, 2014**). La capacité des caroténoïdes à éteindre l'oxygène singulet est liée au système de double liaison conjuguée. La protection maximale est accordée par ceux qui ont neuf doubles liaisons ou plus (**Rodriguez et Amaya, 1997**). La réaction d'extinction implique le transfert de l'énergie d'excitation de l'oxygène singulet au caroténoïde, entraînant la formation de l'oxygène

moléculaire triplet et de caroténoïde triplet excité (Relation 7) qui revient à son état initial par la conversion de l'excès d'énergie en chaleur (Relation 8) (Krinsky, 1989).



Car: Caroténoïde, ${}^3\text{Car}$: Caroténoïde sous forme triplet, ${}^1\text{O}_2$: oxygène singulet ; ${}^3\text{O}_2$: oxygène triplet.

Les caroténoïdes peuvent également piéger les radicaux libres par : (i) le transfert d'électrons entre le radical libre (R^\bullet) et le caroténoïde, ce qui entraîne la formation d'un cation du radical Caroténoïde (Car^+) (Relation 9) ou d'un anion du radicale caroténoïde (Car^-) (Relation 10) ; (ii) la formation d'un adduit du radical (RCar^\bullet) (Relation 11) ; et (iii) le transfert d'atomes d'hydrogène conduisant à un radical Caroténoïde neutre (Car^\bullet) (Relation 12) (Fiedor et Burda, 2014).



Partie pratique

II. Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au laboratoire de recherche : technologique douce, valorisation, physicochimie des matériaux biologique et biodiversité pédagogiques de l'université de Boumerdès et au laboratoire de contrôle de qualité et conformité sise à corso (laboratoire Madi).

II.1. Collecte des échantillons et préparation de la mélasse

II.1.1. Echantillonnage

Le matériel végétal, constitué de gousses de caroubier mûres, a été collecté dans deux forêts l'une à belhasnet et l'autre à bouzagza (les deux régions sont situées à la wilaya de boumerdes) (Fig.19) et (Fig.20). La récolte a été faite d'une manière aléatoire à partir de plusieurs arbres en mois d'Aout 2019.



(A)



(B)

Fig. 19: (A) Photographie du caroubier de belhasnet, (B) Photographie des fruits (gousses) de caroubier belhasnet



(C)



(D)

Fig. 20: (C) Photographie du caroubier de Bouzagza, (D) Photographie des fruits (gousses) de caroubier Bouzagza

II.1.2. Préparation de la mélasse

Les gousses sont lavées, égouttées et coupées en petits morceaux de 1 x 2 cm et les pépins sont écartés. Les morceaux de caroube sont trempés dans de l'eau de robinet pendant 24 heures et le mélange est ensuite bouilli pendant 20 minutes. Après filtration sur mousseline, le filtrat est concentré sur feu doux tout en agitant le mélange avec une cuillère en bois pour éviter la caramélisation du produit. La cuisson est arrêtée quand on atteint la consistance voulue (Fig. 21).



(E)



(F)

Fig. 21: (E) Photographie de la pulpe de la caroube, (F) Photographie de la mélasse préparée.

II.2. Méthodes d'analyses utilisées

II.2.1. Détermination des paramètres physicochimiques

II.2.1.1. Taux d'humidité

La teneur en humidité est définie comme étant la perte de poids subie lors de la dessiccation. Peser 5 g d'échantillon dans des capsules propres, puis les mettre dans l'étuve à $103^{\circ}\text{C} \pm 2$ jusqu'au poids constant (AOAC, 1995).

II.2.1.2. pH et acidité titrable

Le pH est la différence de potentiel existant entre deux électrodes plongées dans le produit objet de la mesure.

L'acidité titrable a été mesurée par neutralisation de l'acidité totale libre contenue dans un volume de la solution obtenue avec une solution d'hydroxyde de sodium (0.1 N), en présence de quelques gouttes de phénol phtaléine jusqu'à virage de la couleur au rose.

L'acidité titrable est exprimée par rapport à la teneur en acide citrique selon la formule suivante :

$$\text{Acidité} = N_b \cdot V_b \cdot M / V_a \cdot P$$

Avec : N_b : Normalité de la solution d'hydroxyde de sodium (0.1 N).

V_b : Volume de la solution d'hydroxyde de sodium (ml).

M : Masse molaire de l'acide citrique (192.13 g/mole).

V_a : Volume d'échantillon (ml).

P : Nombre de proton portés par l'acide citrique (3) (**AOAC, 2000**).

II.2.1.3. Taux des solides solubles

1 g d'échantillon sont mélangés avec 50 ml d'eau distillée. L'ensemble est chauffé au bain marie, pendant 20 min, en remuant de temps en temps. L'extrait est ensuite centrifugé à 1000 tours /min et le taux de solides solubles est lu directement sur le réfractomètre (**AOAC, 1995**).

II.2.2. Détermination quantitative des métabolites primaires

II.2.2.1. Teneur en sucres totaux

Le dosage des sucres totaux est effectué par la méthode de phénol / acide sulfurique selon **Dubois et al.(1956)** et la défécation des échantillons a été réalisée selon la méthode de **Carrez (1908)**. 1 g de carbonate de calcium est mélangé avec 20 ml d'échantillon dilué à 1/100 et 20 ml d'eau. Après une agitation et un repos de 15 min. 1 ml de ferrocyanure de potassium à 15% et 1 ml d'acétate de zinc à 30% sont additionnés et la solution est ajustée à 100 ml avec de l'eau distillée puis filtrer.

A 1ml de phénol à 5% w/v, 1 ml de l'échantillon déféqué et dilué à 1/3 est ajouté. Le tout est homogénéisé par vortex puis additionné de 5 ml d'acide sulfurique concentré. L'ensemble est incubé dans un bain marie à 100°C pendant 5 mn. A la sortie du bain marie, l'échantillon est stocké pendant 30mn à l'obscurité et l'absorbance est mesurée à 490 nm. Les concentrations en sucres sont déterminées en se référant à la courbe standard de glucose (10 à 80 µg/ml) (Annexe I, Fig. 1) et les résultats sont exprimés en mg Equivalent Glucose/100 mg.

II.2.2.2. Teneur en sucres réducteurs et non réducteurs

Cette méthode de dosage repose sur la réduction de la liqueur de Fehling, mélange d'une solution de sulfate de cuivre et de sel de Seignette en présence de soude, par les sucres présents dans l'échantillon. Son principe repose sur la réduction de l'oxyde cuivrique CuO en

petits grains rouges-brique d'oxyde cuivreux Cu_2O . Avant de doser chimiquement les sucres, il est nécessaire de diluer l'échantillon car la méthode ne convient uniquement que pour des concentrations en sucres inférieures à 5 g/l

1. Etalonnage de la liqueur de Fehling : Verser dans un tube à essai 5 ml de liqueur de Fehling diluée à 1/3, puis porter le tube à ébullition (3 min) à l'aide d'un agitateur magnétique chauffant. Verser doucement, sans arrêter l'ébullition, la solution sucrée de glucose (2g/l) jusqu'à disparition de la coloration bleue (sans apparition de la coloration jaune). Soit V le volume en ml versé.

2. Dosage des sucres réducteurs : Verser dans un tube à essai 5 ml de liqueur de Fehling diluée à 1/3, puis porter le tube à ébullition et verser goutte à goutte la solution déféquée et diluée placée dans la burette en opérant comme précédemment . Soit V' le volume versé en ml.

3. Dosage des sucres totaux et non réducteurs : La solution déféquée est hydrolysée en milieu acide et à chaud : 5ml d'acide chlorhydrique sont ajoutés à 10 ml de la solution déféquée puis l'ensemble est porté au bain-marie bouillon pendant 15 min. Laisser refroidir puis neutraliser avec la soude caustique jusqu'à pH 6 (contrôler le pH au papier universel). Prélever un volume de cette solution puis opérer comme pour les sucres réducteurs. L'hydrolyse nous permis de doser les sucres totaux (sucres réducteurs+ sucres hydrolysables) et de déduire indirectement le taux en sucres non réducteurs (sucres totaux –sucres réducteurs) **(Chidan-Kumar et al., 2014)**.

Calculs

Pour une même quantité de solution de liqueur de Fehling utilisée, soit 15 ml, on obtient la relation suivante : $n(\text{glucose}) = n(\text{sucres réducteur échantillon})$

Soit la solution glucose (1) solution déféquée (2) ; Ce qui donne : $n_1 = n_2 \Rightarrow C_1V_1 = C_2V_2$

Comme on raisonne en concentration massique : $C_m = C \times M$ or M est identique puisque c'est la masse molaire du glucose d'où : $C_{m1} V_1 = C_{m2} V_2$ avec C_{m2} inconnue.

15 ml de liqueur de Fehling correspond à 15 ml de solution de glucose à 2 g.l^{-1}

Soit $C_{m1} V_1 = 15 \times 2 = 30 \text{ mg}$ de sucres.

La teneur en sucres de l'échantillon à doser est donc : $C_{m2} (\text{mg/ml}) = 30 / V_2$

II.2.2.3. Teneur en protéines

La détermination de la teneur en protéines est effectuée par un dosage de l'azote total par la méthode de **Kjeldahl** qui se déroule en trois phases (Digestion, distillation, titration) (AOAC, 2000). Dans un ballon de Kjeldahl on introduit 15g de sulfate de potassium à 1,5 g

de sulfate de cuivre, 25ml d'acide sulfurique et 1,5 g de l'échantillon. Chauffer le ballon et agiter jusqu'à ce que la couleur noire se transforme en une couleur limpide (vert) puis poursuivre le chauffage pendant 2 heures. Laisser le contenu refroidir puis ajouter 250ml d'eau distillée et 100 ml de NaOH (32%). En parallèle, mélanger dans un bicher 25 ml d'acide borique avec 4 gouttes de bleu de méthyle (couleur rose- violette). Placer le bicher sous le réfrigérant de telle sorte que l'extrémité de tube de dégagement plonge dans la solution d'acide borique. Raccorder le ballon avec le réfrigérant puis chauffer à l'ébullition et poursuivre la distillation jusqu'au changement de couleur de l'acide borique (jaune). Enfin titrer le distillat avec l'acide sulfurique (0,1N). Un essai à blanc est réalisé en appliquant le même protocole en remplaçant l'échantillon par 5ml d'eau.

Expression des résultats :

L'azote total est calculé suivant la formule représentée ci- dessous :

$$\text{Azote total (N) (\%)} = (V_1 - V_2) \times N \times 1,4 / M$$

Avec :

V_1 : Volume de H_2SO_4 (0.1N) utilisé pour la titration de la solution à doser (ml).

V_2 : Volume de H_2SO_4 (0.1N) utilisé pour un essai blanc (ml).

N : normalité de H_2SO_4

M : masse de la prise d'essai.

Le taux d'azote total est converti en taux de protéines brutes selon la formule suivante :

$$\text{Taux de protéines (\%)} = \text{N total (\%)} \times 6,25$$

Où 6,25 est le facteur de conversion basé sur le taux moyen d'azote des protéines.

II.2.2.4. Teneur en cendres et en minéraux

II.2.2.4.1. Cendres

Le dosage des cendres est basé sur la destruction de toute matière organique sous l'effet de température élevée ($500 \pm 25 \text{ C}^\circ$). Peser les creusets vides, ajouter 10 g de l'échantillon dans les creusets puis placer les dans un four à moufle pendant 3-5h à 550°C . A la sortie du four, placer les creusets dans un dessiccateur pour le refroidissement. Peser les creusets refroidis. Réchauffer les creusets à nouveau pendant une demi-heure ou plus. Répéter cette opération jusqu'à ce que le poids devienne constant (de couleur blanche ou blanc grisâtre) (AOAC, 2002).

II.2.2.4.2. Minéraux

Le dosage des ions Na^+ , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} et Mg^{2+} a été réalisé par spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA) (AFNOR, 1986). Après minéralisation de 0,5 g de matière sèche, les cendres ainsi obtenus sont mis dans 3 ml d'eau distillée et 3 ml d'acide chlorhydrique concentré. Ce mélange est chauffé ensuite sur une plaque chauffante, sans dépasser 250°C, jusqu'à la dissolution complète des cendres. A la fin, la solution obtenue est versée dans une fiole jaugée d'une capacité de 100 ml et complétée au trait de jauge avec de l'eau distillée. Elle servira au dosage des sels minéraux par spectrophotométrie d'absorption atomique de type PU 9200 X Philips.

La concentration de chaque élément en g/l est déduite à partir de sa courbe d'étalonnage convenable.

II.2.2.5. Matière grasse

L'extraction de la matière grasse a été réalisée par solvant organique (Hexane) avec un appareil de type Soxhlet, selon la méthode ISO 659 (1998). Le taux de la matière grasse est calculé par la formule suivante :

$$\text{MG \%} = (\text{P1-P2}) \times 100 / \text{ME}$$

Avec :

P2 : poids du ballon vide (g).

P1 : poids du ballon après extraction et évaporation du solvant (g).

ME : masse de la prise d'essai (g).

MG : Taux de la matière grasse .

II.2.2.6. Détermination de la valeur énergétique globale

La valeur énergétique globale est l'énergie libérée par la combustion des protéines, des lipides et des glucides contenus dans l'alimentation, en tenant compte de la digestibilité de chacun de ces macromolécules et de leurs coefficients d'ATWATER. Les coefficients d'ATWATER se définissent comme l'énergie métabolisable en kcal de 1g de nutriment. Pour les glucides et les protéines, ce coefficient est égal à 4 kcal, soit 17 kJ et pour les lipides, il correspond à 9 kcal soit 38 kJ (AFNOR, 1987). La valeur énergétique globale est calculée à partir de la relation ci-après.

$$E = (9 \times L) + (4 \times G) + (4 \times P)$$

Avec E: valeur énergétique globale en kcal, L : teneur en lipides totaux en g pour 100g d'échantillon, G : teneur en glucides totaux en g pour 100g d'échantillon, P : teneur en protéines totales en g pour 100g d'échantillon et 9, 4 et 4 : les coefficients d'ATWATER des lipides, glucides et protéines.

II.3. Activité anti-oxydante

II.3.1. Extraction

10g d'échantillon sont extraits par macération au moyen de 100 ml de solvant (mélange de solvant V/V : méthanol 80% et acétone 70%) à la température ambiante pendant 24 heures sous agitation magnétique. L'extrait est filtré puis concentré dans une étuve dotée d'aération à 40 °C jusqu'à évaporation complète du solvant organique puis reconstituer dans du méthanol pur.

II.3.2. Méthode au DPPH

900 µl de la solution d'extraits (0.5, 1, 1.5 et 2 mg/ml) ou standards (quercétine et acide gallique à des concentrations allant de 0.15 à 0.4 mg/ml et de 0.086 à 0.4 mg/ml, respectivement) sont ajoutés à 900 µl DPPH (0.2 mM, préparé dans du méthanol pur). Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif, contenant uniquement la solution de DPPH (0.1mM), est mesurée à 517 nm (**Brand-Williams et al., 1995**). L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

Activité scavenger (%) = $[1 - (\text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$.

II.3.3. Méthode au ferricyanure

500 µl des solutions d'extraits (1 mg/ml) ou standards (quercétine et acide gallique à 0.02 mg/ml) (1mg/ml) sont mélangés avec 1.25 ml d'une solution à 1 % de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) et 1.25 ml d'un tampon phosphate (0.2M, pH 6,6). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min. Après refroidissement, 1.25 ml d'une solution d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés. La solution est centrifugée à 3000 t/min pendant 10 min. Le surnageant (1.25 ml) est mélangé à 1.25ml d'eau distillée puis 250 µl de chlorure de fer (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm (**Oyaizu, 1986**).

II.4. Etude statistique

Toutes les données représentent la moyenne des trois essais \pm écart type.

NB. Suite à la situation sanitaire délicate du pays on n'a pas pu achever la partie expérimentale, en conséquence le potentiel antioxydant n'a pas été évalué.

Résultats et discussions

III. Résultats et discussions

III.1. Analyses physicochimiques

Les caractéristiques physicochimiques de la mélasse de caroube analysée sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau III: caractéristiques physicochimiques de la mélasse de caroube étudiée

pH	Acidité (g EAC/l)	Brix (°Bx)	Humidité (%)
5,293 ± 0,015	6,148 ± 0,665	86,667 ± 2,887	17,411 ± 0,524

EAC : Equivalent Acide citrique

III.1.1. pH et acidité titrable

Dans l'analyse des denrées alimentaires l'acidité est évaluée par mesure directe de pH et /ou par la détermination de l'acidité titrable ou acidité totale. Le pH mesure la concentration de protons libres dans une solution tandis que l'acidité titrable est une mesure de la somme des protons libres et des acides non dissociés dans une solution. L'acidité a une incidence non seulement sur le goût de l'aliment en question, mais également sur la capacité de développement de micro-organismes, tels que les bactéries et les champignons. En général, plus un aliment est acide, moins il a de chances d'accueillir des micro-organismes (**Shafiur, 2007**).

D'après les résultats du tableau III, le pH de la mélasse est estimé à $5,293 \pm 0,015$. Notre résultat est légèrement supérieur à ceux trouvés par **Tounsi et al. (2020)**. Ces derniers rapportent des valeurs de pH comprises entre 4,26 et 4,4 pour les mélasses de caroube traditionnelles et une valeur de 4,56 pour la mélasse de caroube commerciale. Cette différence de résultats peut être expliquée par l'effet du cultivar, le degré de maturité du fruit et sa teneur en acide organique (**Zoecklein et al., 2010**). Selon **Toker et al. (2013)**, la durée et la température de stockage influencent sur le pH du produit. Le pH de la mélasse diminue avec la durée et la température de stockage. De plus la dégradation des sucres en acides et l'hydrolyse du 5-hydroxymethylfurfural (HMF) en acide lévulinique et formique entraîne une diminution du pH (**Tounsi et al., 2020**). Selon **Özhan (2008)** et **Wang et al. (2006)**, lors de la réaction de condensation entre une fonction carbonylée et une fonction amine d'un

acide aminé il peut y avoir une diminution du pH du milieu car la fonction amine disparaît alors que la fonction acide carboxylique peut toujours s'exprimer.

D'après les résultats du tableau III, l'acidité de la mélasse est de $6,148 \pm 0,665$ g EAC/l. Notre résultat dépasse de loin celui de **Sengül et al. (2007)**. Ces derniers ont enregistré une acidité de 0,6 g EAC/l pour la mélasse de caroube commerciale. Cependant notre résultat s'avère inférieur à celui de **Tetik et al. (2011)**. Ces derniers rapportent des valeurs d'acidité totale situées entre 9,9 et 13,4 g EAC/l. En comparant l'acidité de la mélasse de caroube à celle de la mélasse de raisin. On constate que cette dernière s'avère plus acide. Selon **Turkben et al. (2016)**, l'acidité des mélasses de différentes variétés de raisins se situe entre 2,7 et 18,1 g EAC/l. Cette différence de résultats est justifiée par plusieurs facteurs comme le type du matériel végétal, l'origine géographique (**Stein, 2007 ; Batu et al., 2013**), la variété, les conditions climatiques, les pratiques culturales et le degré de maturité du fruit (**Zoecklein et al., 2010**).

III.1.2. Taux d'humidité

L'humidité a une relation directe avec la durée de conservation des produits, plus l'échantillon est moins humide plus sa durée de conservation est prolongée (**Ergun et al., 2010**).

Les résultats illustrés dans le tableau III montrent que l'humidité de la mélasse est estimée entre 16,887% et 17,935%. On comparant les teneurs en humidité de notre échantillon avec celles trouvées par **Ertugay et al. (2006)** (24.10%) et **Papaefstathiou et al. (2018)** ($24.46 \pm 0.04\%$) on constate que notre échantillon est moins humide. Les mélasses sont plus humides que le fruit. Selon **Karkacier et Artik (1995)** et **Papaefstathiou et al. (2018)**, l'humidité des fruits se situe entre 8,1% et 14,80%. L'augmentation de l'humidité est justifiée par l'ajout d'eau pour la préparation de la mélasse

III.1.3. Taux de solides solubles

Le taux de solides solubles (ou le degré Brix) indique le pourcentage de matière sèche soluble dans l'eau incluant les sucres, les sels minéraux, les acides carboxyliques, les alcools, les vitamines et les acides aminés solubles, mais pas les protéines car elles ne sont pas solubles (**Messaïd, 2008**). Le Brix nous renseigne généralement sur la teneur en sucre. Les autres composants des solides solubles peuvent toutefois influencer le Brix si leur proportion augmente. Le taux de solides solubles dépend de nombreux facteurs dont la lumière, la

température et le temps de cuisson du produit, l'humidité et le degré de maturité du fruit (Scott, 2019).

D'après les résultats du tableau III, notre mélasse de caroube est caractérisée par une teneur élevée en solides solubles. Le taux de Brix est estimé à $86,667 \pm 2,887^\circ\text{Bx}$. Ce taux est supérieur à ceux trouvés par Tetik (2011) ($71,7 \pm 2^\circ\text{Bx}$) et Şimşek et Artık (2002) ($71,70^\circ\text{Bx}$) et Turhan (2006) ($64,6 \pm 0,1^\circ\text{Bx}$).

III.2. Composition chimique de la mélasse de caroube et valeur énergétique

La composition chimique de la mélasse de caroube étudiée est illustrée dans le tableau suivant

Tableau IV: composition chimique de la mélasse de caroube étudiée

Protéines (gEBSA/10g)	Sucres totaux (g EG/100g)	Sucres réducteurs (g/100 g)	Sucre non réducteurs (g/100 g)	Matière grasse (g/100g)	Cendres (g/100g)	Valeur Énergétique globale (Kcal /100g)
3,20	61,249 ± 2,500	19,166 ± 0,418	42,09 ± 2,082	0,393 ± 0,010	3,059 ± 0,064	261,337 ± 10,576

EBSA : Equivalent Bovine Serum Albumine, EC : Equivalent Glucose, MF : Matière fraîche.

III.2.1. Teneur en protéines

Les protéines sont présents presque dans tous les aliments mais avec des proportions variables. Certains aliments sont relativement riches en protéines (10 à 25%) comme les viandes, les poissons, les légumes secs et les céréales,...etc. d'autres sont moins riches comme, les légumes et les fruits...etc (Dupin et al., 1972).

Les résultats du dosage des protéines (tableau IV) révèlent une teneur de 3.20 g EBSA/100 g. En comparant aux données bibliographiques, on constate que cette teneur est largement supérieure à celles de Ozcan et al. (2007) et Tounsi et al. (2019). Ces derniers ont enregistré des teneurs de $1,40 \pm 0,02\%$ et de $2,28 \pm 0,23\%$, respectivement). Par contre notre résultat est similaire à celui de Tounsi et al. (2017). Ces derniers rapportent une valeur de $3,45 \pm 0,02\%$.

III.2.2. Teneur en sucres totaux

Les résultats du dosage des sucres totaux montrent que la mélasse constitue une source importante en hydrates de carbones (61,249 g EG/100g). Notre résultat est inférieur à ceux trouvés par **Şimşek et Artik (2002)** et **Sengül et al. (2007)**. Ces derniers rapportent des valeurs de l'ordre de 68,79 % et 71,20 %, respectivement. Cette différence de résultats peut s'expliquer par l'effet variétal, le taux de maturité du fruit, les conditions climatiques, l'origine géographique, les facteurs génétiques,...etc. (**Scott, 2019**) ainsi que la consistance de la mélasse et son taux d'humidité. **Boublenza et al. (2019)** ont dosé le taux de sucre de dix variétés de caroube spontanées et cultivées, localisées dans différentes régions du Nord algérien. D'après les résultats obtenus, le taux de sucres totaux était situé entre 43,22 % et 50,28 %, les variétés récoltées à Boumerdes étaient les moins sucrées. **El Batal et al. (2016)** ont trouvé des valeurs de taux de sucres situées entre 31,5 et 50,1% MF pour les variétés de caroube marocain. Par contre **Haddarah et al. (2013)** ont enregistré des valeurs hautement élevées pour les variétés libanaises (72,2% et 89,46%).

Tetik et al. (2011) a déterminé le profil de sucre de dix échantillons de mélasse de caroube commerciale en Turquie. Ces derniers ont constaté une prédominance du saccharose comme sucre principal suivi du glucose et du fructose dans tous les échantillons testés.

III.2.3. Teneur en sucres réducteurs et non réducteurs

La présence de sucres réducteurs dans les sirops pourrait réduire leur cristallisation et constituer une bonne source d'énergie rapide (**Abbès et al.,2011**). Les résultats du dosage des sucres réducteurs et non réducteurs de la mélasse de caroube sont représentés dans le tableau IV. Les résultats montrent un taux de 19,166% pour les sucres réducteurs et 42,09% pour les sucres non réducteurs. Notre résultat corrobore celui de **Tetik et al. (2011)**. Ces derniers ont constaté une prédominance du saccharose qui est un sucre non réducteur par rapport aux sucres réducteurs (glucose et du fructose) dans tous les échantillons de mélasses testées. Notre résultat obtenu pour les sucres réducteurs est proche de ceux trouvés par **Tounsi et al. (2019)**. Ces derniers ont rapporté des taux de $21.45 \pm 1.22\%$ et de $20.80 \pm 2.11\%$ pour les mélasses de caroube traditionnelles et commerciales.

Les teneurs en sucres réducteurs et non réducteurs des mélasses varient en fonction de la variété du fruit, son taux de maturation, son acidité et surtout selon les conditions de cuisson et leurs influences sur la conversion des sucres non réducteurs en sucres réducteurs sous l'effet de la chaleur et l'acidité (**May et Stainsby, 1986 ; Ayaz et al., 2000**). **Bilgiçli et**

Akbulut (2009) ont enregistré des teneurs élevées en sucres réducteurs (64.70%, 43.72%, 33.54%, 58.18% et 56.26%) et des teneurs faible en sucres non réducteur (0,68%, 12,22%, 3,24%, 0,46% et 3,81%) pour des mélasses de mûrier, d'abricot, d'aunée, de raisin et de pastèque, respectivement.

III.2.4. Teneur en matière grasse

Les lipides alimentaires occupent une place importante dans les propriétés organoleptiques des aliments. Ils contribuent à la texture des aliments, à leur palatabilité et leurs donnent un goût agréable (**Tremolieres et al., 1980; Belleville et al., 1989**). Les nutritionnistes recommandent un apport journalier de 30 à 35 % pour couvrir nos besoins physiologiques. Les lipides sont des molécules qui fournissent de l'énergie et permettent le transport des vitamines liposolubles. De multiples paramètres influent sur le taux de matière grasse comme la granulométrie, l'humidité, la nature du solvant et la méthode d'extraction utilisée. La teneur on matière grasse de la mélasse de caroube est faible elle a été estimée à $0,393 \pm 0,010\%$ (Tableau IV). Cette valeur est légèrement inférieure de celle trouvée par **Tounsi et al. (2019)** ($0.45 \pm 0.05\%$) mais similaire à celle déterminée par **Badem et Alpkent. (2018)** (0.41%).

III.2.5. Teneur en cendres et en minéraux

Le taux de cendres représente la quantité totale en matière minérale présente dans un produit. La teneur en cendres des aliments doit avoir un seuil à ne pas dépasser pour la consommation humaine et animale. La détermination de ce taux nous éclaire sur la qualité nutritionnelle de l'échantillon à analyser (**Gaouar, 2011**). À partir des résultats obtenus (Tableau IV), la teneur en cendres est estimée à $3,059 \pm 0,064 \%$. Cette teneur est similaire à celles trouvées par **Tounsi et al. (2020)** pour les mélasses de caroube traditionnelles et commerciales ($2.97 \pm 0.1\%$ et $3.06 \pm 0.05\%$, respectivement). Notre résultat semble légèrement dépasser celui de **Özcan et al. (2007)**. Ces derniers détectent des teneurs entre 2.13 % et 2.19 % pour la mélasse de caroube fournie par un transformateur de caroube local à Antalya. Cette différence trouvée peut être expliquée par l'effet du cultivar, la nature du sol, les conditions climatiques et d'irrigation la nature de l'eau utilisée pour l'extraction du jus (eau minérale ou de robinet) **Tounsi et al.(2020)**.

En comparant nos résultats aux données bibliographiques, on constate que la teneur en matière minérale de la mélasse est plus faible à celle du fruit frais (3,05% contre 3,33% selon **Özcan et al. (2007)**). Le même résultat à été constaté par **Özcan et al. (2007)** et

Papaefstathiou et al.(2018). Ces derniers rapportent des teneurs de $2,16\pm 0,03\%$ et $2,29 \pm 0,05\%$ contre $3,33\pm 0,20\%$ et $2,46$ à $2,63\%$, pour la mélasse et le fruit, respectivement).

La spectroscopie d'absorption atomique a permis de doser quelques minéraux tels que le Fe, Mg, Mn, Zn, Na et Ca (Tableau V).

Tableau V: composition en minéraux de la mélasse de caroube étudiée

Minéraux	Teneurs (mg/g MF)
Manganese	0,018±0,002
Fer	0,011±0,002
Cadmium	Nd
Calcium	3,964±0,003
Cuivre	Nd
Magnésium	1,464±0,17
Sodium	2,236±0,047
Zinc	0,018 ± 0,0003

D'après les résultats du tableau V les différents minéraux se trouvant dans la mélasse et qui sont en quantité dominante sont le calcium ($3,964\pm 0,003$ mg/g), suivi du sodium ($2,236\pm 0,047$ mg/g) et de magnésium ($1,464\pm 0,17$) mg/g. Le manganèse et le zinc ($0,018$ mg/g) ainsi que le Fer ($0,011\pm 0,002$ mg/g) se trouvent sous forme de trace. Notre résultat corrobore ceux de **Şimşek et Artık. (2002)** et **Ozcan et al. (2007)**. Ces derniers rapportent une prédominance du calcium et une absence du cuivre dans la mélasse de caroube. Par contre nos teneur en calcium, en sodium et en magnésium s'avèrent légèrement supérieures aux siennes. **Şimşek et Artık (2002)** rapportent une valeur de calcium de 0.135 mg/g et de sodium de 0.014 mg/g et de magnésium de 0.05 mg/g. Alors que **Ozcan et al. (2007)** rapportent de teneurs en calcium de 0.86 ± 0.06 mg/g de sodium de 1.13 ± 0.25 mg/g et de magnésium de 0.54 ± 0.079 mg/g .

La quantité de fer de notre mélasse est en adéquation avec celle d'**Ozcan et al. (2007)** 0.011 ± 0.001 mg/g mais elle est légèrement supérieure à celle de **Şimşek et Artık.(2002)** 0.00034 mg/g. Pour le manganèse et le zinc, notre mélasse s'avère riche en ces minéraux en comparaison avec les résultats de **Şimşek et Artık.(2002)**. Ces derniers rapportent des teneurs de 0.00045 mg/g et de 0.00012 mg/g respectivement. Cette différence de résultats peut être expliquée par l'effet du cultivar, la nature du sol, les conditions climatiques et géographiques et les facteurs génétiques,...etc. (**Tounsi et al.,2020**).

III.2. 6. Valeur énergétique globale

La valeur énergétique d'un aliment provient de l'énergie libérée par ses nutriments au cours de leur métabolisme. D'après les travaux d'ATWATER, on admet que l'énergie libérée par le métabolisme est de 4 kcal/g, soit 17 kJ pour les glucides et les protéines, 9 kcal/g soit 38 kJ pour les lipides et 7 kcal/g pour les alcools. La somme donne la valeur énergétique globale de l'aliment (**Feinberg et al., 1993**).

Les résultats du tableau IV montrent que la valeur énergétique globale de la mélasse de caroube est estimée à $261,337 \pm 10,576$ kcal /100g. Cette valeur dépasse celle trouvée par **Ozcan et al. (2007)** ($248,38 \pm 7,64$ Kcal/ 100g). Cette différence de résultats peut être expliquée par la variabilité des méthodes de quantifications, le degré de maturation du fruit, la sucrosité du fruit, l'humidité de l'échantillon, ...etc. (**Ayaz et al ., 2000**). La mélasse de caroube est naturellement très énergétique. Selon **Feinberg et al. (1993)**, la valeur énergétique de la mélasse est similaire à celle de la confiture (260 Kcal/100g) dont 60% de son poids est du saccharose ajouté pour la gélification de la pectine.

Ozcan et al. (2007) ont également montré dans leur étude que la farine et le fruit de caroube ont des valeurs énergétiques supérieures en comparaison avec la mélasse ($395,22 \pm 15,23$ kcal/100g et $399,82 \pm 2,30$ kcal /100g, respectivement). Ceci peut être expliqué par le non épuisement de la totalité des nutriments lors de pressurage des morceaux de caroube pour l'obtention de la mélasse. La perte de ces nutriments dans le résidu explique le niveau énergétique élevé du fruit et de sa farine en comparaison avec la mélasse, qui est le produit dérivé.

Conclusion

Conclusion

Notre travail avait comme objectif, la valorisation de la caroube par l'étude de la valeur nutritive et du potentiel antioxydant de sa mélasse. Malheureusement pour certaines raisons, le pouvoir antioxydant n'a pas été évalué et l'étude s'est limitée uniquement à l'analyse de quelques paramètres physicochimiques et la détermination de la composition chimique de la mélasse.

Les résultats des analyses physicochimiques montrent que la mélasse de caroube analysée présente les caractéristiques suivantes : un pH estimé à 5,293 avec une acidité totale de 6,148 g EAC/l, un taux d'humidité moyenne situé entre 16,887% et 17,935% avec un taux élevé en solides solubles de l'ordre de 86,667°Bx.

L'analyse de la composition chimique de la mélasse montre sa richesse en sucres totaux (61,25 g EG/100g) avec un taux de 19% pour les sucres réducteurs et 42,25% pour les sucres non réducteurs. La quantification des protéines et de la matière grasse a révélé la pauvreté de la mélasse en ces composés, les taux ont été estimés à 3,40 % et 0,393% pour les protéines et la matière grasse, respectivement. Cependant, la mélasse de caroube est avérée moyennement riche en minéraux. Le taux en cendres a été estimé à 3,059 %. L'analyse minéralogique effectuée sur les cendres de la mélasse montre une prédominance du calcium avec une teneur de 3,964mg/g, suivi du sodium (2,236 mg/g) et de magnésium (1,464mg/g). Le manganèse et le zinc (0,018mg/g) ainsi que le Fer (0,011±0,002mg/g) se trouvent sous forme de trace.

La valeur énergétique de la mélasse a été déterminée en se basant sur les teneurs en glucides, en protéines et en lipides, en tenant compte des coefficients d'ATWATER (4 kcal/g pour les sucres et les protéines et 9Kcal/g pour les lipides). Les résultats montrent que la mélasse de caroube est très énergétique. Sa valeur énergétique globale a été estimée à 261,337±5,576 kcal /100g et en comparaison avec la bibliographie elle est équivalente à celle de la confiture.

Il serait intéressant de continuer ce travail par :

- L'étude du potentiel antioxydant de la mélasse de caroube en appliquant plusieurs tests antioxydants (ABTS, DPPH, Pouvoir réducteur,...etc.)
- Le dosage des différents antioxydants et composés bioactifs (composés phénoliques, vitamine C, caroténoïdes, fibres,...etc)
- Des essais d'incorporation de la mélasse de caroube dans des formulations alimentaires (biscuit, chocolat, yaourt,...etc.) comme ingrédient naturel.

Références bibliographiques

1. Aafi, A. (1996). Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.). Centre Nationale de la Recherche Forestière. Rabat (Maroc). 10p.
2. Abbès, F., Bouaziz, M. A., Blecker, C., Masmoudi, M., Attia, H., & Besbes, S. (2011). Date syrup: effect of hydrolytic enzymes (pectinase/cellulase) on physico-chemical characteristics, sensory and functional properties. *LWT-Food science and Technology*, 44(8), 1827-1834.
3. AFNOR. (1980). Association Française de Normalisation. Aliments des animaux : dosage des chlorures solubles dans l'eau. 18-105. Paris : NFV.
4. AFNOR. (1986). Association Française de Normalisation : Recueil des normes Françaises aux méthodes d'essai.
5. AFNOR. (1987). Association Française de Normalisation. Echantillonnage et contrôle en agroalimentaire.543. Paris: AFNOR.
6. AFNOR. (2005) Association Française de Normalisation Normes Françaises en ISO 6878 / T90-023., Avril 2005. Qualité de l'eau - Dosage du phosphore - Méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium.G
7. Ait Chitt, M., Belmir, H., & Lazrak, A. (2007). Production de plants sélectionnés et greffés de caroubier. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA MAPM/DERD, 153, 1-4.
8. Albanell, E. (1990). Caracterización morfológica, composición química y valor nutritivo de distintas variedades de garrofa (*Ceratonia siliqua* L.) cultivadas en España. *Universidad autónoma de Barcelona. Barcelona, España. 209p.*
9. Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., & Trinajstić, N. (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica chemica acta*, 76(1), 55-61.
10. AOAC. (1995). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, *16th Edition*, Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists .
11. AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, *17th Edition*,360. Maryland. U.S.A.
12. AOAC. (2002). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical. *17th Edition*, 480. Gaithersburg, USA.
13. Avallone, R., Plessi, M., Baraldi, M., & Monzani, A. (1997). Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. *Journal of food composition and analysis*, 10(2), 166-172.
14. Ayaz, F. A., Kucukislamoglu, M., & Reunanen, M. (2000). Sugar, non-volatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoidea*) fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(2), 171-177.
15. Bagchi, K., & Puri, S. (1998). Free radicals and antioxidants in health and disease: a review. *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal*, 4 (2), 350-360.

16. Baghiani, A., Djarmouni, M., Boumerfeg, S., Trabsa, H., Charef, N., Khennouf, S., & Arrar, L. (2012). Xanthine oxidase inhibition and antioxidant effects of Peaganum harmala seed extracts. *European Journal of Medicinal Plants*, 42-56.
17. Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.
18. Battle, I., & Tous, J. (1997). Carob tree: *Ceratonia siliqua* L.-Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Bioversity International.
19. Batu, A., Küçük, E., & Çimen, M. (2013). Doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz bölgeleri çiçek ballarının fizikokimyasal ve biyokimyasal değerlerinin belirlenmesi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 8(1), 52-62.
20. Baytop, T. (1984). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)(Treatment with plant in Turkey, past and present).
21. Belleville, J. (1998). comportement alimentaire – Le goût pour les lipides *Cah. Nut. (633)* , 6. Diet.
22. Benmahioul, B., Kaid-Harche, M., & Daguin, F. (2011). Le caroubier, une espèce méditerranéenne à usages multiples. *Forêt méditerranéenne*, 32(1), 51-58.
23. Berrougui H.(2007), Le caroubier (*Ceratoniasiliqua* L.), une richesse nationale aux vertus medicinales, *Maghreb Canada Express* .Vol. 5, N° 9.
24. Bilgicli, N., & Akbulut, M. (2009). Effects of different pekmez (fruit molasses) types on chemical, nutritional content and storage stability of cake. *Journal of Food Quality*, 32(1), 96-107.
25. Biner, B., Gubbuk, H., Karhan, M., Aksu, M., & Pekmezci, M. (2007). Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey. *Food Chemistry* (100), 1453-1455.
26. Blanc, M., Moinard, C., & Cynober, L. (2005). Monoxyde d'azote. Radicaux libres et stress oxydant. Paris, Lavoisier , 25-43.
27. Boublenza, I., Ghezlaoui, S., Mahdad, M., Vasai, F., & Chemat, F. (2019). Algerian carob (*Ceratonia siliqua* L.) populations. Morphological and chemical variability of their fruits and seeds. *Scientia Horticulturae*, 256, 108537.
28. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
29. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

30. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales, Paris, Ed. Tec-Doc, 227-445.
31. Bruneton, J. (2008). Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Tec & Doc/Lavoisier, Paris, 198-260.
32. Caja, G. (1985). La Garrofa: Composición, procesado y usos agroindustriales. Jornadas de la Garrofa. LLiria, Valencia-España.
33. Carrez, C. (1909). Défécation du lait pour le dosage du lactose par les liqueurs cupriques, 1909. *Journal Pharm. ac. Chim*, 30, 36-37.
34. Chaillou, L. L., & Nazareno, M. A. (2006). New method to determine antioxidant activity of polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), 8397-8402.
35. Craig, W. J., & Nguyen, T. T. (1984). Caffeine and theobromine levels in cocoa and carob products. *Journal of Food Science*, 49(1), 302-305.
36. Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (Eds.). (2006). Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. John Wiley & Sons.
37. Dallali, S., Aloui, F., Selmi, H., & Sebei, H. (2018). Comparison of the chemical composition and the antioxidant activity of the leaves of Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) collected in three sites of Djebel Zaghouan (Tunisia). *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, CIRIS (21)*, 3429-3438.
38. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
39. Dupin, H. (1992). Alimentation et nutrition humaines. ESF éditeur, 167-168.
40. El Batal, H., Hasib, A., Ouattmane, A., Dehbi, F., Jaouad, A., & Boulli, A. (2016). Sugar composition and yield of syrup production from the pulp of Moroccan carob pods (*Ceratonia siliqua* L.). *Arabian Journal of Chemistry*, 9, S955-S959.
41. El Bouzdoudi, B., El Ansari, Z. N., Mangalagiu, I., Mantu, D., Badoc, A., & Lamarti, A. (2016). Determination of polyphenols content in carob pulp from wild and domesticated moroccan trees. *American Journal of Plant Sciences*, 7(14), 1937-1951.
42. ELAOUFI, M. (2013). Activité antioxydante des extraits phénoliques de caroube (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis).
43. Ergun, R., Lietha, R., & Hartel, R. W. (2010). *Moisture and Shelf Life in Sugar Confections. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(2), 162-192.
44. Ertugay, M. F., Sengül, M., & Yüksel, Y. (2006). rheological characteristics of carob pekmez. *international journal of food properties*, 10, 39
45. Farhataziz; Ross, A. B. (1977). National Standard Reference Data Series. *NBS*, 59.

46. Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
47. Fiedor, J., & Burda, K. (2014). Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*, 6(2), 466-488.
48. Food, F. A. O. (2018). Agriculture Organization of the United Nations Statistics database, FAOSTAT.
49. Gharnit, N. (2003). Caractérisation du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) originaire de la Province de Chefchaouen (Nord-ouest du Maroc) (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, Faculté des Sciences et Techniques, Université Abdelmalek Essaâdi, Tanger, Maroc, 141 p).
50. Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
51. Ghizlane S., Abderrazek J. 2020 . Utilisation alimentaire de la pulpe de caroube: Formulation et test consommateur. *Marocaine des Sciences Agronomiques et vétérinaires*.
52. Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.
53. Goulas, V., Stylos, E., Chatziathanasiadou, M. V., Mavromoustakos, T., & Tzakos, A. G. (2016). Functional components of carob fruit: Linking the chemical and biological space. *International journal of molecular sciences*, 17(11), 1875.
54. Gramza, A., & Korczak, J. (2005). Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. *Trends in Food Science & Technology*, 16(8), 351-358.
55. Guignard, J. L. (1996). *Abrégé de biochimie végétale*, paris, 160p.
56. Gülçin, İ. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2-3), 213-220.
57. Haddarah, A., Ismail, A., Bassal, A., Hamieh, T., Ioannou, I., & Ghoul, M. (2013). Morphological and chemical variability of Lebanese carob varieties. *European scientific journal*, 9(18).
58. Hagerman, A. E., Riedl, K. M., & Rice, R. E. (1999). Tannins as biological antioxidants. In *Plant Polyphenols 2* (pp. 495-505). Springer, Boston, MA.
59. Hariri, A., Ouis, N., Sahnouni, F., & Bouhadi, D. (2009). Mise en oeuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base des extraits de caroube. *Rev. microbiol. ind. san et environ*, 37-55.
60. Hennebelle, T., Sahnouni, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
61. Jambi, H. A. (2015). Effect of roasting process on polyphenols content of carob powder. *Life Science Journal*, 12(12), 1-5.

62. Jean, B. (2009). *Pharmacognosie ; phytochimie ; plantes médicinales* (éd. 4). France, France, 100-111.
63. Kaderi, M., Hamouda, G. B., Zaeir, H., Hanana, M., & Hamrouni, L. (2015). Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Ceratonia siliqua* (L.). *Phytothérapie*, 13(2), 144-147..
64. Karkacier, M., & Artik, N. (1995). Determination of physical properties, chemical composition and extraction condition of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.). *Gida*, 20(30), 131-136.
65. Kivçak, B., Mert, T., & Öztürk, H. T. (2002). Antimicrobial and cytotoxic activities of *Ceratonia siliqua* L. extracts. *Turkish Journal of Biology*, 26(4), 197-200.
66. Krinsky N.I., 1989. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 7(6), pp. 617–635.
67. Kruidenier, L. A., & Verspaget, H. W. (2002). oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease—radicals or ridiculous?. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 16(12), 1997-2015.
68. Kumar, C., Mythily, R., Venkatachalapathy, R., & Chandrāju, S. (2014). Bio-mimic conversion of Maida (polysaccharides) to reducing sugars by acid hydrolysis and its estimation using standard methods. *International Food Research Journal*, 21(2), 523-526.
69. Lahlou, F., & Bourhim, N. (2009). contribution à l'étude de l'effet antioxydant du thè vert (*camellia sinesis*) et du romarin (*rosmarinus officinalis*) contee le stress oxydatif. *laboratoire de biochimie et boilogie moléculaire* .
70. Laight, D. W., Carrier, M. J., & Änggård, E. E. (2000). Antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction. *Cardiovascular research*, 47(3), 457-464.
71. Lesgards, J. F. (2000). Contribution à l'étude du statut antioxydant de l'homme: Aspects chimiques et biochimiques (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 3).
72. Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., ... & Chen, H. (2016). An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules*, 21(10), 1374.
73. Louca, A., & Papas, A. (1973). The effect of different proportions of carob pod meal in the diet on the performance of calves and goats. *Animal Science*, 17(2), 139-146.
74. Lubec, G. (1996). The hydroxyl radical: from chemistry to human disease. *Journal of investigative medicine: the official publication of the American Federation for Clinical Research*, 44(6), 324.
75. Martinez-Cayueta, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77(3), 147-161.

76. May, C. D., & Stainsby, G. (1986). Factors affecting pectin gelation. *Gums and stabilisers for the food industry, 3/edited by Glyn O. Phillips, David J. Wedlock, and Peter A. Williams.*515-523.London.
77. Meziane, Y. (2018). *Caractérisation nutritionnelle, hygiénique et organoleptique de quelques marques du jus d'orange industriel* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
78. Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
79. Min, B. R., & Hart, S. P. (2003). Tannins for suppression of internal parasites. *Journal of Animal Science*, 81(14_suppl_2), E102-E109.
80. Morelle, J. & Israel, L. (2003). L'oxydation des aliments et la santé. François-Xavier de Guibert. Paris , 200-240.
81. Murphy, M. P., Packer, M. A., Scarlett, J. L., & Martin, S. W. (1998). Peroxynitrite: a biologically significant oxidant. *General Pharmacology: The Vascular System*, 31(2), 179-186.
82. Musa Özcan, M., Arslan, D., & Gökçalik, H. (2007). Some compositional properties and mineral contents of carob (*Ceratonia siliqua*) fruit, flour and syrup. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58(8), 652-658.
83. Naczki, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054(1-2), 95-111.
84. NAS. (1979). Tropical Legumes: Resources for the Future. *National Academy of Sciences* , 109-116.
85. Ndir, B., Lognay, G., Wathelet, B., Cornelius, C., Marlier, M., & Thonart, P. (2000). Composition chimique du nétéu, condiment alimentaire produit par fermentation des graines du caroubier africain *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 4(2), 101-105.
86. Nicol, M., & Maudet, M. (2000). Caroténoïdes et vitamine A. Actualités. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 7(3), 266-270.
87. Nzungue, Y. (2008). *Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc: place des métallothionéines et de p53* (Doctoral dissertation).
88. 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(12), 1727-1738.
89. Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
90. Özhan, N. B. "Kinetics of nonenzymatic browning reactions in Carob Pekmez during storage." (2008).

91. Papaefstathiou, E., Agapiou, A., Giannopoulos, S., & Kokkinofa, R. (2018). Nutritional characterization of carobs and traditional carob products. *Food science & nutrition*, 6(8), 2151-2161
92. Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products* (63) , 1035-1042.
93. Pincemail, J., Sergent, O., Detry, O., Gaspar, Y., Cheramy-Bien, J. P., Cillard, J., et al. (2002). Intracellular free iron content of rat liver tissue.
94. Poston, L., & Raijmakers, M. T. M. (2004). Trophoblast oxidative stress, antioxidants and pregnancy outcome—a review. *Placenta*, 18, S72-S78.
95. Priolo, A., Waghorn, G. C., Lanza, M., Biondi, L., & Pennisi, P. (2000). Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: effects on lamb growth performance and meat quality. *Journal of Animal Science*, 78(4), 810-816.
96. Quezel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).
97. Rahman, M. S. (Ed.). (2007). *Handbook of food preservation*. CRC press.
98. Ralph, T. S. (1849). *Icones Carpologicae; Or Figures and Descriptions of Fruits and Seeds: Part I Leguminosae*. Will. Pamplin.
99. Rao, C. V. (2004). Nitric oxide signaling in colon cancer chemoprevention. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 555(1-2), 107-119.
100. Rebour, H. (1968). Fruits Méditerranéen,. 330. PARIS: la maison rustique Paris.
101. Ref'at, A. A., Takruri, H. R., & Al-Sayyed, H. (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4(3).
102. Rejeb, M. N. (1995). Le caroubier en Tunisie: Situations et perspectives d'amélioration. *Quel avenir pour l'amélioration des plantes*, 79-85.
103. Rejeb, M. N., Laffray, D., & Louguet, P. (1991). Physiologie du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) en Tunisie. *Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides*, Group d'Etude de l'Arbre, Paris, France. P, 417-426.
104. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.
105. Richter, G. (1993). *Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie*.
106. Rivière, C. H., & Leco, H. (1900). *Manuel pratique de l'agriculteur algérien*. Editeur: Augustin CHALLAMEL. Paris, 349-353.
107. Rodriguez-Amaya, D. B. (1997). Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed and stored foods (pp. 1-93). Arlington, VA: John Snow Incorporated/OMNI Project.

108. Rombaut, N. (2013). Etude comparative de trios procédés d'extraction d'huile: application aux grains de lin et aux pépins de raisin; aspects qualitatifs et quantitatifs. Thèse de doctor, Université de technologie.at. 252. Compiègne, Paris.
109. Ryszard, A. (2007). Tannins: the new natural antioxidants? *European Journal of Lipid Science and Technology* , 549.
110. Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C., & Yamasaki, H. (2002). Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, 177(1), 67-80.
111. Sbay, H., & Abourouh, M. (2006). Apport des espèces à usages multiples pour le développement durable: cas du pin pignon et du caroubier. Centre de Recherche Forestière Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification, Rabat, 1-9.
112. Scalzo, R. L., Todaro, A., & Rapisarda, P. (2012). Methods used to evaluate the peroxy (ROO·) radical scavenging capacities of four common antioxidants. *European Food Research and Technology*, 235(6), 1141-1148.
113. Scott, T. (2019). Brix as a Metric of Fruit Maturity. *Applied Food Science*.
114. Sengül, M., Fatih Ertugay, M., & Yüksel, Y. (2007). Rheological Characteristics of Carob Pekmez. *International Journal of Food Properties*. 10 , 1, 39-46.
115. Serairi-Beji, R., Mekki-Zouiten, L., Tekaya-Manoubi, L., Loueslati, M. H., Guemira, F., & Mansour, A. B. (2000). Could carob pulp be incorporated in oral rehydration solution for the treatment of acute diarrhoea?. *Médecine Tropicale*, 60(2), 125-128.
116. ŞİMŞEK, A., & ARTIK, N. (2002). Değişik meyvelerden üretilen pekmezlerin bileşim unsurları üzerine araştırma. *GIDA*, 27(6), 459-467.
117. Slater, A. F., Stefan, C., Nobel, I., & Van Den Dobbelen, D. J. (1995). Signalling mechanisms and oxidative stress in apoptosis. *Toxicology letters*, 82, 149-153.
118. Sonia, C. O. L. L. I. N., & Jean, C. R. O. U. Z. E. T. Polyphénols et procédés. Lavoisier.
119. Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *Comptes rendus biologies*, 327(7), 649-662.
120. Sour, S., Chahinez, F., & Taif, A. (2019) beneficial effects of carob pulp (*Ceratonia siliqua*) on lipids profile and oxidant/antioxidant status in obese rats, 9(1), 1200-1206.
121. Stein, H. (2007, April). Feeding the pigs' immune system and alternatives to antibiotics. In *Proceedings of London Swine Conference* (pp. 65-82).
122. Tetik, N., Turhan, I., Oziyici, H. R., & Karhan, M. (2011). Determination of D-pinitol in carob syrup. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(6), 572-576.
123. Thomas, R. H., Bernards, M. A., Drake, E. E., & Guglielmo, C. G. (2010). Changes in the antioxidant activities of seven herb-and spice-based marinating sauces after cooking. *Journal of food composition and analysis*, 23(3), 244-252.

124. Tiwari, A. K. (2001). Imbalance in antioxidant defence and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current science*, 1179-1187.
125. Toker, O. S., Dogan, M., Ersöz, N. B., & Yilmaz, M. T. (2013). Optimization of the content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) formed in some molasses types: HPLC-DAD analysis to determine effect of different storage time and temperature levels. *Industrial Crops and Products*, 50, 137-144.
126. Tolentino, P. (1950). Mécanismes et limites de l'action thérapeutique de la farine de caroube dans les diarrhées infantiles: étude clinique et expérimentale. *Ann. Paed*, 175, 200-222.
127. Tounsi, L., Ghazala, I., & Kechaou, N. (2020). Physicochemical and phytochemical properties of Tunisian carob molasses. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(1), 20-30.
128. Tounsi, L., Karra, S., Kechaou, H., & Kechaou, N. (2017). Processing, physico-chemical and functional properties of carob molasses and powders. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(3), 1440-1448.
129. Tremolieres, J., Serville, Y., & Jacquot, R. (1980). Manuel Elementaire D'alimentation Humaine. Les Bases De L'alimentation.ESF. *tome 1 , 9eme* , 553. Paris.
130. Tounsi, L., Kchaou, H., Chaker, F., Bredai, S., & Kechaou, N. (2019). Effect of adding carob molasses on physical and nutritional quality parameters of sesame paste. *Journal of food science and technology*, 56(3), 1502-1509.
131. Turhan, I., Bialka, K. L., Demirci, A., & Karhan, M. (2010). Ethanol production from carob extract by using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource technology*, 101(14), 5290-5296.
132. Turhan, I., Tetik, N., Aksu, M., Karhan, M., & 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(5), 498-507.
133. Türkben, C., Suna, S., İzli, G., Uylaşer, V., & Demir, C. (2016). Physical and chemical properties of pekmez (Molasses) produced with different grape cultivars.
134. Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
135. Vasta, V., Lanza, M., Pennisi, P., Bella, M., & Priolo, A. (2007). Effect of dietary condensed tannins on lamb intramuscular fatty acids. In : Priolo A. (ed.), Biondi L. (ed.), Ben Salem H. (ed.), Morand-Fehr P. (ed.). *Advanced nutrition and feeding strategies to improve sheep and goat* . , 35-39. Zaragoza : CIHEAM.
136. Vourdoubas, J., Makris, P., Kefalas, J., & Kaliakatsos, G. (2002). In: Proceedings of the 12th National Conference and Technology Exhibition on Biomass for Energy. *Industry and Climate Protection* , 489-493. Amsterdam.

137. Wang, H. Y., Hu, X. S., Chen, F., Wu, J. H., Zhang, Z. H., Liao, X. J., & Wang, Z. F. (2006). Kinetic analysis of non-enzymatic browning in carrot juice concentrate during storage. *European Food Research and Technology*, 223(2), 282.
138. Zoecklein, B. W., Fugelsang, K. C., & Gump, B. H. (2010). Practical methods of measuring grape quality. In *Managing wine quality* (pp. 107-133). Woodhead Publishing.

Annexes

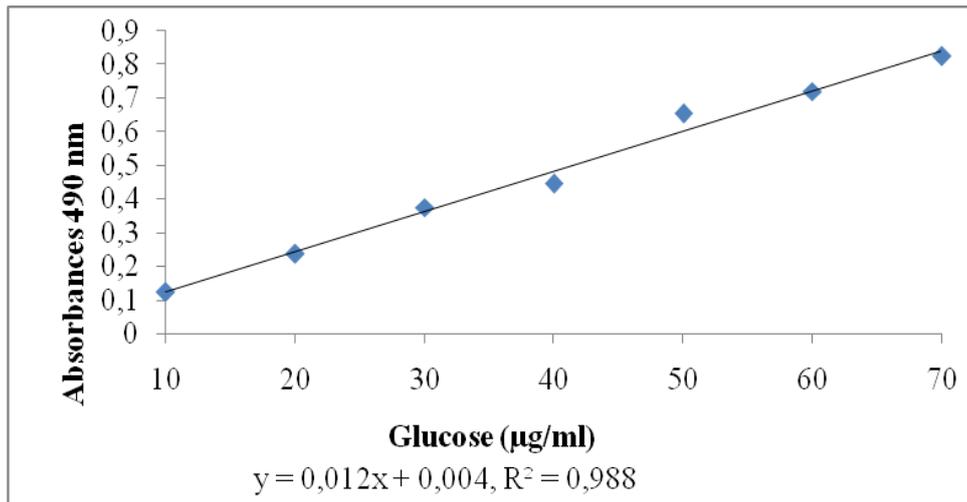


Fig. 1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux

Résumé

Résumé

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est une espèce typique de la flore méditerranéenne, bien définie dans l'étage humide, subhumide et semi- aride. Il est considéré comme l'un des arbres fruitiers et forestiers qui présente une importance écologique, industrielle et ornementale indiscutable. Le caroubier est fréquemment utilisé dans nos traditions culinaires et médicales. L'objectif de notre étude est la valorisation de la caroube par l'analyse de quelques paramètres physicochimiques et l'étude de la valeur nutritive de sa mélasse. Les résultats obtenus à l'issue de ce travail montrent que la mélasse présente un taux élevé en solides solubles (86,67%), un pH acide (5,29), une acidité totale de 6,15 g EAC/L et une teneur en humidité de 17,41%. L'analyse de la composition chimique a révélé sa richesse en sucres (61,25%) et sa pauvreté en protéines (3,20%) et en matière grasse (0,39%). Sa valeur énergétique a été estimée à 261,34Kcal/100g. L'étude minéralogique a montré que la mélasse est riche en en minéraux (3,06%) dont les plus importants sont le calcium (3,964mg/g), le sodium (2,24mg/g) et le magnésium (1,46mg/g).

Mots clés : caroube, composition chimique, Mélasse, valorisation

abstract

The carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) is a typical species of the Mediterranean flora, well defined in the humid, subhumid and semi-arid stage. It is considered to be one of the fruit and forest trees of indisputable ecological, industrial and ornamental importance. The carob tree is frequently used in our culinary and medical traditions. The objective of our study is the valorization of the carob by the analysis of some physicochemical parameters and the study of the nutritional value of its molasses. The results obtained from this work show that molasses has a high soluble solids content (86.67%), an acid pH (5.29), a total acidity of 6.15 g EAC/L and a moisture content of 17.41%. Chemical composition analysis revealed its high sugar content (61.25%) and low protein (3.06%) and fat (0.39%) content. Its energy value was estimated at 261.34Kcal/100g. The mineralogical study showed that molasses is rich in minerals (3.25%) of which the most important are calcium (3.964mg/g), sodium (2.24mg/g) and magnesium (1.46mg/g).

Keywords: carob, chemical composition, Molasses, valorisation

ملخص

شجرة الخروب (*Ceratonia siliqua* L.) هي نوع نموذجي من نباتات البحر الأبيض المتوسط ، محددة جيدًا في المنطقة الرطبة وشبه الرطبة وشبه الجافة. تعتبر واحدة من أشجار الفاكهة والغابات ذات الأهمية البيئية والصناعية والزخرفية التي لا جدال فيها. كثيرا ما تستخدم شجرة الخروب في تقاليدنا في الطهي والطب. الهدف من دراستنا هو تقييم الخروب من خلال تحليل بعض المعايير الفيزيائية والكيميائية ودراسة القيمة الغذائية لدبسه. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في نهاية هذا العمل أن دبس الخروب يحتوي على نسبة عالية من المواد الصلبة الذائبة (86.67٪) ودرجة الحموضة الحمضية (5.29) وحموضة كلية 6.15 غ / L EAC و a محتوى رطوبة 17.41٪. أظهر تحليل التركيب الكيميائي له غناه بالسكريات (61.25٪) وقلة البروتين (3.20٪) والدهون (0.39٪). قدرت قيمة طاقتها بـ 261.34 كيلو كالوري / 100 جرام. أظهرت الدراسة المعدنية أن دبس السكر غني بالمعادن (3.06٪) أهمها الكالسيوم (3.964 مغ / غ) والصوديوم (2.24 مغ / غ) والمغنيسيوم (1.46 مغ / غ).

الكلمات المفتاحية: تركيب كيميائي ، تقييم ، خروب ، دبس