

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de RELIZANE
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie
Département de Sciences de la Nutrition



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en :
Biochimie de la nutrition

Intitulé

**Caractérisation physico-chimique et bactériologique de l'extrait aqueux de
Ceratonia siliqua (Caroubier)**

Présenté par :

Mr : BELFAKRET ELHABIB

Mlle : ABDEL BARI MERIEME

Devant les membres de jury :

Président : Mr BETTOUATI A Maître de conférence (A) (U. Relizane)

Encadreur : Mme BENAHMED FATIHA Maître de conférence (A) (U. Relizane)

Examineur : Mme GHEZIEL CHAHIRA Maître de conférence (B) (U. Relizane)

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Je loue Allah, le Très-Haut, pour m'avoir accordé la santé, la patience et la force nécessaires à l'accomplissement de ce travail. J'aimerais exprimer ma profonde gratitude à ma famille pour son soutien inconditionnel et ses prières constantes, qui ont constitué un véritable pilier tout au long de ce parcours.

J'adresse mes sincères remerciements à "**Dr Benahmed Fatiha**", Professeure d'enseignement supérieur au Département des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Relizane, pour la qualité de son encadrement et ses conseils précieux. Je tiens également à exprimer toute ma gratitude à "**Dr Bettouati Abdelkader**", président du jury, ainsi qu'à "**Dr Gheziel Chahira**", pour avoir accepté de relire ce travail et pour leurs remarques constructives qui ont grandement contribué à son amélioration.

« *Merci* »



Dédicace

À ceux dont les prières ont été le secret de ma réussite,

À ceux qui m'ont inculqué le goût d'apprendre et de me dépasser,

À mes chers parents, mon soutien tout au long de ma vie,

À mes frères, sœurs et tous les membres de ma famille, le cœur battant de ma vie
et mon soutien constant,

À mes professeurs qui n'ont jamais hésité à me transmettre leurs connaissances et
leurs conseils,

À mes amis qui ont partagé mon chemin avec enthousiasme,

À tous ceux qui ont cru en moi,

Je dédie le fruit de cet humble effort,

En témoignage de ma gratitude et de ma loyauté.



BELFAKRET ELHABIB

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

À ma raison de vivre, **ma mère** qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

À mon très cher **père** qui a toujours été pour moi un exemple d'un père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, son soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai eu pour lui.

À ma chère sœur **Aicha** et mes chères frères **Aziz** et **Sedik**.

À mes belles sœurs **Hayet** et **Asma** et mon adorable tante **Zolikha**.

À mes neveux **Bara** et **Anes** et mes nièces **Tasnime** et **Assinet**.

À ma compagne de route, à ma proche amie **Fariha**.

À tous ceux qui ont contribué à ce travail de près et de loin, à tous qui ont me donné la force pour continuer, je vous remercie infiniment.

MERCI D'ETRE TOUJOURS LÀ POUR MOI



ABDEL BARI MERIEME

RÉSUMÉ

Ce mémoire s'inscrit dans une démarche de valorisation durable des plantes locales, en particulier du caroubier (*Ceratonia siliqua*), comme source de colorant naturel alimentaire. Face aux préoccupations croissantes concernant les colorants synthétiques, cette étude explore le potentiel du caroube pour offrir une alternative sûre, fonctionnelle et écologique. L'extraction aqueuse, choisie pour sa compatibilité avec les principes de la chimie verte (sécurité, faible impact environnemental), a permis d'obtenir un extrait aux propriétés remarquables. Les analyses physico-chimiques réalisées en laboratoire accrédité révèlent : un pH modérément acide (5,57), idéal pour la stabilité des polyphénols et les applications dans les produits laitiers, une densité élevée (1,060) et une conductivité électrique significative (7,77 mS/cm), témoignant d'une richesse en composés bioactifs solubles (galactomannanes, minéraux, acides organiques), une pureté microbiologique exemplaire : absence de pathogènes (*Salmonella*, *E. coli*), de contaminants fongiques (levures/moisissures) et de staphylocoques, avec une charge microbienne totale très faible (110 UFC/g), bien en deçà des normes alimentaires (ICMSF, EFSA). Ces résultats positionnent le colorant de caroube comme un ingrédient multifonctionnel innovant, alliant sécurité sanitaire, propriétés technologiques et bénéfices environnementaux, répondant aux exigences des marchés actuels.

Mots-clés : Colorants naturels, *Ceratonia siliqua*, extraction aqueuse, analyse physico-chimique, sécurité microbiologique,

ABSTRACT

This thesis is part of a sustainable valorization approach for local plants, particularly the carob tree (*Ceratonia siliqua*), as a source of natural food colorant. In response to growing concerns about synthetic colorants, this study explores carob's potential to provide a safe, functional, and eco-friendly alternative. Aqueous extraction—selected for its alignment with green chemistry principles (safety, low environmental impact)—yielded an extract with remarkable properties. Accredited laboratory physicochemical analyses revealed: a moderately acidic pH (5.57), ideal for polyphenol stability and dairy applications, a high density (1.060) and significant electrical conductivity (7.77 mS/cm), indicating richness in soluble bioactive compounds (galactomannans, minerals, organic acids), exemplary microbiological purity: Absence of pathogens (*Salmonella*, *E. coli*), fungal contaminants (yeasts/molds), and staphylococci, with a very low total microbial load (110 CFU/g), well below food safety standards (ICMSF, EFSA). These results position carob colorant as an innovative multifunctional ingredient, combining food safety, technological properties, and environmental benefits, meeting current market requirements

Natural colorants, *Ceratonia siliqua*, aqueous extraction, physicochemical analysis, microbiological safety,

ملخص

ندرج هذه الأطروحة في إطار منهجية مستدامة لتعزيز القيمة المحلية للنباتات، وخاصة شجرة الخروب، كمصدر لملون طعام طبيعي. في ظل المخاوف المتزايدة بشأن الملونات الاصطناعية، تبحث هذه الدراسة في إمكانات الخروب لتقديم بديل آمن، وظيفي، وصديق للبيئة. وقد أسفر استخلاص المائي -المختار لموافقته مبادئ الكيمياء الخضراء- السلامة، الأثر البيئي المنخفض - (عن مستخلص بخصائص استثنائية. وكشفت التحاليل الفيزيوكيميائية في مختبر معتمد: رقم هيدروجيني حمضي معتدل (5.57)، مثالي لاستقرار البوليفينولات وتطبيقاته في المنتجات اللبنية، كثافة عالية (1.060) وموصلية كهربائية ملحوظة (7.77 مللي سيمنز/سم)، مما يدل على غناه بمركبات حيوية نشطة قابلة للذوبان (غالكتومانانات، معادن، أحماض عضوية)، نقاوة ميكروبيولوجية فائقة: غياب مسببات الأمراض والملوثات الفطرية (الخمائر/العفن)، والمكورات العنقودية، مع حمولة ميكروبية كلية منخفضة جداً (110) وحدة مستعمرة/غم، أقل بكثير من المعايير الغذائية (ICMSF)، الهيئة الأوروبية لسلامة الأغذية. (تضع هذه النتائج ملون الخروب كمكون وظيفي متعدد الابتكار، يجمع بين السلامة الغذائية، الخصائص التكنولوجية،

الكلمات المفتاحية: الملونات الطبيعية، سيراتونيا سيليكوا، الاستخلاص المائي، مضادات الأكسدة، الألياف الغذائية، التحليل الفيزيائي والكيميائي، السلامة الميكروبيولوجية، تطبيقات الأغذية، المكونات الوظيفية، وتتمين النباتات المحلية.

LISTE DES ABREVIATIONS

UV-Vis	Spectroscopie Ultraviolet-Visible
FTIR	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier
RMN (NMR)	Résonance Magnétique Nucléaire (Nuclear Magnetic Resonance)
HPLC	Chromatographie Liquide à Haute Performance
GC	Chromatographie en Phase Gazeuse (Gas Chromatography)
CCM (TLC)	Chromatographie sur Couche Mince (Thin Layer Chromatography)
pH	Potentiel Hydrogène (acidité/basicité d'une solution)
CO ₂	Dioxyde de carbone
°C	Degrés Celsius
mg/L	Milligrammes par litre (unité de concentration)

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Differentes nuances des colorants vegetaux selon la societe SCRD.....	12
Figure 02 : montrant la structure de la chlorophylle	12
Figure 03 : montrant la structure du bêta-carotène.....	13
Figure 04 : montrant la structure du cyanidine-3-glucoside.....	13
Figure 05 : montrant la structure de la bêtanine	14
Figure 06 : montrant la composition de la curcumine	14
Figure 07 : fruit de caroube	22
Figure 08 ; Nutritional composition of carob and health benefits.....	22
Figure 09 : Composition chimique du caroub.....	25-24
Figure 10 :Principe Extraction avec des solvants organiques	29
Figure 11 : Principe de Extraction sous pression	30
Figure 12 : Extraction au CO ₂ supercritique	31
Figure 14 : Broyage	35
Figure 15 : Préparation les plantes	35
Figure 16 : Mélanger la caroube avec de l'eau	36
Figure 17 : La filtration	37

LISTE DES FIGURES

Figure 18 : Échantillon final	37
Figure 19 : Les Outils et Méthodes Utilisés dans l'Analyse Physico-Chimique	40
Figure 20: Méthode de dénombrement des germes aérobies	42
Figure 21 : Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux.	44
Figure 22 : Absence de croissance des <i>Staphylococcus à coagulase</i>	50
Figure 23 : Dénombrement des <i>germes aérobie</i> à 30°C	50

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : présentant la classification des colorants naturels	09
Tableau 02 : comparatif entre les colorants naturels et synthétiques.....	11
Tableau 03 :Exemples de colorants naturels et leurs applications dans l'industrie alimentaire.....	18
Tableau 04 : Exemples de colorants végétaux naturels et de leurs bienfaits pour la santé.....	20
Tableau 05 : La composition moyenne de la pulpe du caroubier	28
Tableau 06 : Les Outils et Méthodes Utilisés dans l'Analyse Physico-Chimique de l'Extrait de Caroube	36
Tableau 07 : des Normes Microbiologiques (ISO + AFNOR).....	38
Tableau 08 :Résultats d'Analyse Physico-Chimique de l'Extrait de Caroube.....	45
Tableau 09 :Résultats d'Analyse microbiologie de l'Extrait de Caroube	47

REMERCIEMENTS

RÉSUMÉ	VI
ABSTRACT	0
ملخص	0
LISTE DES ABRÉVIATIONS	0
LISTE DES FIGURES	0
LISTE DES TABLEAUX	0
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1

PARTIE 1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les Colorants	5
I.1. L'origine des couleurs dans la nature	5
I.1.1. Couleurs résultant de pigments	5
I.1.2. Couleurs structurelles	5
I.1.3. Couleurs résultant de la diffusion optique	6
I.1.4. Couleurs résultant d'interférences optiques (Couleurs d'interférence)	6
I.1.5. Couleurs résultant de la réfraction	6
I.1.6. Couleurs résultant d'une émission chimique ou biologique (Bioluminescence et Chimiluminescence)	6
I.1.7. Couleurs résultant de la décomposition chimique (oxydation ou dégradation chimique)	7
I.2. Classification des colorants	7
I.2.1. Colorants synthétiques	7
I.2.2. Colorants naturels	7
I.3. Colorants naturels	7
I.3.1. Sources de colorants naturels	8
I.3.2. Utilisations des colorants naturels	9
I.3.3. Avantages des colorants naturels	10
I.3.4. Inconvénients des colorants naturels	10
I.3.5. L'avenir des colorants naturels	10
I.3.6. Comparaison entre les colorants naturels et artificiels	10
I.4. Colorants végétaux	11

I.4.1. Types de colorants végétaux	12
I.4.1.1. Chlorophylles	12
I.4.1.2. Caroténoïdes	13
I.4.1.3. Anthocyanes	13
I.4.1.4. Bétalaines	14
I.4.1.5. Pigments de curcumine	14
I.4.2. Utilisations dans divers domaines	15
I.4.3. Utilisations dans les industries alimentaires.....	15
I.4.4. Défis liés à l'utilisation des colorants végétaux	18
I.4.5. L'effet des pigments végétaux sur la santé et la nutrition	18
II. <i>Ceratonia siliqua</i>	21
II.1. Classification Taxonomique de <i>Ceratonia siliqua</i>	21
II.1. Description botanique et habitats	21
II.2. Répartition géographique	21
II.3. Répartition géographique du caroubier dans le monde	21
II.4. Composition nutritionnelle et chimique du caroube	22
II.5. Composition phytochimique du caroube	23
II.6. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques	25
II.7. Valeur économique des graines	25
II.8. Usage Industriel du Caroubier (diversifié)	26
II.6.1. Industrie Cosmétique	26
II.6.2. Industrie Pharmaceutique et Médicinale	26
II.9. Importance Socioéconomique du Caroubier	26
III. Extraction des colorants	28
III.1. Extraction d'eau	28
III.2. Extraction avec des solvants organiques	29
III.3. Extraction sous pression	29
III.4. Extraction par acidité ou basicité	30
III.5. Extraction au CO ₂ supercritique	31
III.6. Extraction par biofermentation	31

PARTIE II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. Matériel végétal: choix et identification de espèce étudiée	33
II.1. Préparation des extraits des plantes	33
II.2. Filtrer le mélange	34
II.3. Conserver les colorants	35
II. Analyse de la phtiochimie et microbienne des couleurs.	35
III.1. Les types d'analyses effectuées comprennent notamment.....	36
III.2. Méthode d'analyse	36

PARTIE III. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

I. Choix de la méthode d'extraction	44
II. résultats et discussion des Analyse	44
Conclusions et recommandations	48
Références Bibliographiques.....	50
Annexes	58

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

L'utilisation des plantes médicinales, notamment comme source de composés bioactifs pour l'alimentation et la santé, connaît un essor significatif. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, 80% de la population dans certains pays d'Afrique a recours à la phytothérapie (OMS, 2002). Ces plantes produisent une diversité de métabolites secondaires (Fraga, 2007) terpénoïdes, alcaloïdes et composés phénoliques (Bruneton, 1995; Halliwell, 2006) dont les propriétés sont largement exploitées dans les industries alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (Bruneton, 1995; Halliwell, 2000; Merzouki *et al.*, 2000). Dans un contexte où le marché des colorants naturels devrait croître de 8,1% par an jusqu'en 2027 (Grand View Research, 2023), l'exploitation des métabolites secondaires végétaux s'impose comme une solution stratégique.

Parmi ces composés, les polyphénols (flavonoïdes, acides phénoliques, tanins, etc.) suscitent un intérêt croissant. Leur potentiel s'exprime notamment dans la recherche d'alternatives naturelles aux additifs synthétiques. Ainsi, l'utilisation de colorants naturels d'origine végétale s'impose comme une solution sûre et saine face aux préoccupations sanitaires et environnementales liées aux colorants artificiels (Tresserra-Rimbau *et al.*, 2022). Ces pigments (anthocyanes, caroténoïdes, bétalaines, flavonoïdes) confèrent non seulement des couleurs vives mais possèdent également des activités biologiques bénéfiques (antioxydante, anti-inflammatoire).

Dans ce contexte, le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), ou «Kharoube » en Algérie élément majeur de la flore méditerranéenne et couramment utilisé en médecine traditionnelle algérienne pour traiter diverses pathologies représente une ressource prometteuse. Botaniquement classé dans la famille des Légumineuses, il produit des gousses à la texture ferme. Sa pulpe est naturellement riche en sucres, tandis que ses graines contiennent des lipides ; l'ensemble du fruit constitue également une source notable de minéraux (potassium, calcium, phosphore). Son fruit, riche en antioxydants, polyphénols et fibres, démontre des effets positifs sur le bien-être humain et la prévention de maladies chroniques (action antiproliférative, anti-hyperlipidémique, antidiabétique, gastro-protectrice) (Papaefstathiou *et al.*, 2018). Outre ses vertus santé, le caroubier présente un intérêt économique et fonctionnel : la poudre de caroube issue des graines est utilisée comme alternative au cacao dans divers produits alimentaires, tandis que les gousses, graines et feuilles sont traditionnellement valorisées dans l'alimentation animale. Si ses graines sont principalement valorisées en

gomme un hydrocolloïde utilisé comme épaississant, émulsifiant ou gélifiant après extraction mécanique ou chimique de l'endosperme (**Barak & Mudgil, 2014 ; Urdiain et al., 2004**), au delà de ses applications alimentaires, cette gomme trouve également sa place dans l'industrie pharmaceutique comme excipient dans des formulations de pommades, de comprimés, de pâtes dentifrices ou comme agent anti-cœliaque. L'ensemble de ces propriétés positionne le caroubier comme une ressource polyvalente. L'extraction et la caractérisation ciblée de ses polyphénols et antioxydants ouvrent des perspectives prometteuses pour le développement d'ingrédients fonctionnels, notamment en tant que source de colorant naturel.

L'objectif principal de cette étude est donc d'évaluer les paramètres physico-chimiques d'un colorant naturel extrait du Kharoube algérien, ressource locale abondante et traditionnellement employée.

Pour répondre à cet objectif, ce mémoire est structuré comme suit :

Le premier chapitre présente une revue bibliographique approfondie sur les colorants naturels végétaux, en se focalisant sur le Kharoube. Il inclut une description botanique, une analyse phytochimique (métabolites secondaires, composés phénoliques : classification, structure, propriétés biologiques), ses usages en médecine traditionnelle et ses propriétés thérapeutiques.

Le deuxième chapitre décrit en détail le matériel végétal utilisé, les méthodes d'extraction employées et les techniques analytiques mises en œuvre pour caractériser le colorant.

Le troisième chapitre expose et interprète les résultats obtenus lors des analyses physico-chimiques microbiologiques

Enfin, une conclusion synthétise les découvertes essentielles de ce travail et ouvre des perspectives pour des recherches futures

Dans quelle mesure les pigments naturels peuvent-ils être extraits efficacement des plantes locales, sont-ils stables dans les produits alimentaires et quels avantages nutritionnels peuvent-ils offrir ?

Hypothèses d'étude

Cette étude repose sur un ensemble d'hypothèses scientifiques qui seront testées par la recherche, à savoir :

Certaines plantes locales contiennent de grandes quantités de pigments naturels extractibles.

L'étude suggère que certaines plantes locales sont riches en composés colorants naturels tels que les anthocyanes, les caroténoïdes et les flavonoïdes, ce qui en fait des sources prometteuses de colorants alimentaires.

La méthode d'extraction affecte la quantité et la qualité des pigments extraits.

L'efficacité d'extraction des pigments naturels devrait varier en fonction des méthodes utilisées, et certaines techniques peuvent être plus efficaces que d'autres en termes de rendement et de stabilité

La stabilité des colorants naturels dépend des facteurs environnementaux et des conditions de stockage.

L'étude émet l'hypothèse que des facteurs tels que la température, le pH, l'exposition à l'oxygène et la lumière affectent la stabilité des pigments, ce qui peut avoir un impact sur leur aptitude à être utilisés dans les produits alimentaires.

Les pigments naturels ont des propriétés nutritionnelles bénéfiques, notamment une activité antioxydante.

On s'attend à ce que les pigments extraits aient des capacités antioxydantes et anti-inflammatoires, ce qui en fait un ajout nutritionnel bénéfique par rapport aux colorants synthétiques.

Les colorants naturels peuvent être utilisés dans les produits alimentaires sans affecter négativement leur qualité.

L'étude émet l'hypothèse que l'incorporation de colorants naturels dans divers produits alimentaires n'aura pas d'impact négatif sur le goût ou la texture, mais pourrait même ajouter des avantages sensoriels et pour la santé.

Les colorants naturels peuvent remplacer les colorants synthétiques dans certaines applications alimentaires.

Les colorants naturels devraient constituer une alternative efficace et durable aux colorants synthétiques dans certains produits alimentaires, en particulier lorsque les techniques d'extraction et de stabilité seront améliorées.

Partie I.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

BIBLIOGRAPHIQUE

Les colorants artificiels (E100-E199), bien que réglementés, soulèvent des préoccupations sanitaires croissantes validées par les agences de sécurité alimentaire. Plusieurs études cliniques associent certains dérivés azoïques (E102, E110, E129) à des effets neurocomportementaux chez l'enfant, dont l'hyperactivité et les troubles de l'attention (McCann *et al.*, *The Lancet*, 2007 ; EFSA, 2022). L'E171 (dioxyde de titane), interdit dans l'UE depuis 2022, présente un potentiel génotoxique confirmé par l'ANSES (2021). Bien que les doses autorisées soient contrôlées, la consommation cumulative via les produits transformés expose à des effets synergiques mal évalués (Feketea *et al.*, *Nutrients*, 2021).

I. Les colorants:**I.1. L'origine des couleurs dans la nature**

Les couleurs que nous voyons dans la nature résultent de certaines réactions physiques et chimiques et dépendent de la manière dont la lumière est absorbée, réfléchie ou réfractée. L'origine des couleurs dans la nature peut être classée en plusieurs sources principales :

1) Couleurs résultant de pigments :

Les pigments sont des produits chimiques qui absorbent certaines longueurs d'onde de la lumière et en réfléchissent d'autres, produisant des couleurs.

Exemples :

- ✚ **Chlorophylle** : Un pigment vert présent dans les plantes qui absorbe la lumière rouge et bleue et réfléchit le vert. (Fox, D. L. (1979))
- ✚ **Caroténoïdes** : Pigments orange et jaune présents dans les carottes et les patates douces. Johnsen, S. (2012),
- ✚ **Anthocyanes** : pigments rouges et bleus présents dans les fruits tels que le raisin et les fraises, Tanaka, Y., Sasaki, N., & Ohmiya, A. (2008)

2) Couleurs structurelles :

Ces couleurs ne sont pas basées sur des pigments mais sur la structure microscopique de la surface qui réfléchit la lumière. Cela se produit lorsque la lumière interagit avec les motifs subtils ou les fines couches de la surface.

Exemples :

- ✚ **Plumes d'oiseaux** : comme le paon, où les couleurs vives résultent de la réflexion et de la diffusion optique de la lumière à travers des structures microscopiques.
- ✚ **Aile de papillon** : Les couleurs vives des ailes de papillon sont causées par des interférences optiques et non par des pigments. Parker, A. R. (2000).
- ✚ **Yeux des insectes** : Ils contiennent des structures microscopiques qui réfléchissent la lumière de différentes couleurs. Kinoshita, S. (2008)

BIBLIOGRAPHIQUE

3) Couleurs résultant de la diffusion optique :

Ce phénomène se produit lorsque la lumière est diffusée lorsqu'elle frappe des particules ou des structures microscopiques.

Exemples :

- ✦ **La couleur bleue du ciel** : résulte de la diffusion de la lumière solaire par les particules atmosphériques (effet Reynolds ou diffusion Rayleigh). **Bohren, C. F., & Huffman, D. R. (1983)**
- ✦ **La couleur bleue de l'eau** : résulte de l'absorption de la lumière rouge et de la diffusion de la lumière bleue. **Nassau, K. (2001)**

4) Couleurs résultant d'interférences optiques (couleurs d'interférence)

Ce phénomène se produit lorsque la lumière se réfléchit sur deux surfaces parallèles très proches l'une de l'autre, ce qui provoque une interférence de la lumière et produit des couleurs vives.

Exemples :

- ✦ **Bulles de savon** : Les couleurs chatoyantes des bulles de savon sont causées par des interférences optiques. **Parker, A. R. (2000)**
- ✦ **Ailes d'insectes** : comme celles des coléoptères, où des couleurs métalliques apparaissent en raison d'interférences optiques. **Kinoshita, S., Yoshioka, S., & Miyazaki, J. (2008)**

5) Couleurs résultant de la réfraction

Ce phénomène se produit lorsque la lumière traverse des matériaux de densités différentes, provoquant un changement dans la direction de la lumière.

Exemples :

- ✦ **Arc-en-ciel** : causé par la réfraction de la lumière dans les gouttelettes d'eau. **Hecht, E. (2002)**
- ✦ **Cristaux minéraux** : tels que les diamants et les cristaux, où la lumière se réfracte à l'intérieur du cristal pour apparaître dans différentes couleurs. **Bohren, C. F. (2001)**

6) Couleurs résultant d'une émission chimique ou biologique (bioluminescence et chimiluminescence)

Ces couleurs proviennent de la production de lumière par des réactions chimiques ou biologiques au sein des organismes vivants

Exemples :

- ✦ **Bioluminescence** : comme les poissons des grands fonds, les vers luisants et les méduses. **Haddock, S. H. D., Moline, M. A., & Case, J. F. (2010)**
- ✦ **Chimiluminescence** : comme l'illumination de certains produits chimiques utilisés dans les feux d'artifice. **Campbell, A. K. (2008)**

BIBLIOGRAPHIQUE

7) Couleurs résultant de la décomposition chimique (oxydation ou dégradation chimique)

Dans certains cas, les couleurs changent en raison de modifications chimiques de la substance.

Exemples :

- ✚ **Rouille du fer** : La couleur du fer change en brun rougeâtre en raison d'une réaction d'oxydation. **Lee, D. W. (2007)**
- ✚ **La couleur des feuilles change en automne** : suite à la décomposition de la chlorophylle et à l'accumulation d'autres pigments. **Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2015)**

I.2. Classification des colorants

Les colorants sont des substances colorées utilisées pour colorer divers matériaux tels que les tissus, les aliments, les produits pharmaceutiques, etc. Ils peuvent être classés en deux types principaux :

1) Colorants synthétiques :

Ils sont fabriqués chimiquement et sont couramment utilisés dans diverses industries (alimentaire, textile, construction, etc.)

- ✚ Colorants synthétiques organiques : comprennent les colorants azoïques, les colorants anthraquinoniques et les colorants phtalocyanines. **Delgado-Vargas, F., & Paredes-López, O. (2003).**
- ✚ Colorants synthétiques inorganiques : comprennent des oxydes métalliques tels que les oxydes de fer et les oxydes de chrome. **Hunger, K. (Ed.). (2003).**

2) Colorants naturels :

Les colorants naturels sont des composés colorés extraits de sources naturelles, telles que des plantes, des animaux et des micro-organismes, et utilisés pour colorer les aliments et d'autres produits.

- ✓ **Colorants végétaux** : extraits de plantes, tels que la chlorophylle et les anthocyanes. **Burkinshaw, S. M. (2016)**
- ✓ **Colorants d'origine animale** : comme le carmin (E120) extrait de l'insecte cochenille. **Carle, R., & Schweiggert, R. M. (2016).**
- ✓ **Colorants à base minérale** : tels que l'oxyde de fer rouge. **Gürses, A. et al. (2016).**
- ✓ **Bio-pigments** : Ils sont extraits des processus métaboliques de certains micro-organismes tels que les bactéries et les champignons, comme les pigments rouges *Monascus* produits par le champignon *Monascus purpureus*. **European Food Safety Authority (EFSA). (2021).**

I.3. colorants naturels

Les colorants naturels sont des substances utilisées pour colorer diverses surfaces telles que les tissus, le cuir, le papier et les aliments. Ces pigments sont extraits de

BIBLIOGRAPHIQUE

sources naturelles telles que les plantes, les animaux, les minéraux et les microbes. Les colorants naturels sont respectueux de l'environnement et relativement sûrs par rapport aux colorants synthétiques qui peuvent contenir des produits chimiques nocifs. **Delgado-Vargas, F., & Paredes-López, O. (2003).**

1) Sources de colorants naturels :**A. Plantes :**

- ✚ **Couleur rouge** : Elle est extraite des racines de la plante Garance ou de l'insecte Cochenille.
- ✚ **Couleur jaune** : Elle est extraite des fleurs de curcuma, des feuilles de lotus ou des pelures d'oignon.
- ✚ **Couleur bleue** : extraite de la plante Indigo.
- ✚ **Couleur violette** : Elle est extraite de certains types de plantes comme les groseilles à maquereau.
- ✚ **Couleur verte** : Elle peut être obtenue en mélangeant des colorants bleus et jaunes. **Bechtold, T., & Mussak, R. (Eds.). (2009).**

B. Pour les animaux :

- ✚ **Carmin** : Il est extrait de l'insecte carmin qui vit sur la plante d'aloë vera.
- ✚ **Pourpre de Tyr** : Il a été extrait des glandes des escargots de mer. **Cardon, D. (2007).**

C. Minéraux :

- ✚ Les oxydes de fer sont utilisés pour produire des couleurs brunes et rouges.
- ✚ L'oxyde de chrome est utilisé pour produire la couleur verte.
- ✚ L'oxyde de cobalt est utilisé pour produire la couleur bleue. **Eastaugh, N., Walsh, V., Chaplin, T., & Siddall, R. (2008).**

D. Microbes :

Certains colorants peuvent être produits par des bactéries et des champignons, un domaine de recherche récent visant à développer des alternatives durables aux colorants. **Venil, C. K., & Lakshmanan, M. (2015).**

BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 01 : présentant la classification des colorants naturels (**Delgado-Vargas, F., & Paredes-López, O. 2003**).

Classification	Source	Composés responsables de la couleur	Exemples
Colorants végétaux	feuilles, fleurs, racines	Flavonoïdes, anthocyanes	Colorant indigo, chlorophylle
Colorants animales	Insectes, escargots	Acide carminique, pourpre de Tyr	Colorant carmin issu de l'insecte cochenille, pourpre royal
Colorants minéraux	Oxydes métalliques	oxydes de fer, oxydes de cuivre	Ocre rouge, lapis-lazuli
Colorants microbiens	Bactéries et champignons	Pigments de Monascus Flavins	Monascus purpureus Bactérie Pseudomonas aeruginosa

2) Utilisations des colorants naturels

❖ Dans l'industrie textile et textile :

Les colorants naturels sont utilisés pour colorer les vêtements et les tissus de manière sûre et respectueuse de l'environnement.

Il est utilisé depuis des milliers d'années dans des civilisations anciennes telles que l'Égypte, l'Inde et la Chine. **Bechtold, T., & Mussak, R. (Eds.). (2009)**

❖ Dans l'industrie alimentaire :

Les colorants naturels sont utilisés pour améliorer l'apparence des produits alimentaires, comme l'utilisation du curcuma pour donner aux aliments une couleur jaune. **Cardon, D. (2007).**

❖ En médecine traditionnelle :

Certains colorants naturels ont des propriétés médicinales, comme le curcuma, qui est utilisé comme anti-inflammatoire. **Rodriguez-Amaya, D. B. (2019).**

❖ Dans les arts et l'artisanat :

BIBLIOGRAPHIQUE

Les colorants naturels sont utilisés dans la peinture des tissus et du cuir et dans la fabrication de manuscrits anciens. **Cardon, D. (2007).**

3) Avantages des colorants naturels

- ❖ Respectueux de l'environnement : il ne provoque pas de pollution environnementale significative par rapport aux colorants artificiels.
- ❖ Sans danger pour la santé : il ne contient pas de produits chimiques toxiques.
- ❖ Biodégradable : Il se décompose facilement dans l'environnement sans laisser d'effets nocifs.
- ❖ Donne des couleurs uniques : Il présente des couleurs chaudes et naturelles difficiles à obtenir avec des colorants synthétiques. **Eastaugh, N., Walsh, V., Chaplin, T., & Siddall, R. (2008)**

4) Inconvénients des colorants naturels :

- ❖ **Coût élevé** : Le processus d'extraction des colorants à partir de sources naturelles peut être coûteux et laborieux.
- ❖ **Manque de stabilité** : les couleurs peuvent être moins stables que les colorants synthétiques, s'estompant avec le temps ou l'exposition à la lumière et à l'eau.
- ❖ **Production limitée** : Les ressources naturelles sont limitées et peuvent ne pas répondre à la forte demande des marchés.
- ❖ **Variété limitée** : Il peut être difficile d'obtenir une large gamme de couleurs en utilisant uniquement des colorants naturels. **Venil, C. K., & Lakshmanan, M. (2015).**

5) L'avenir des teintures naturelles :

Avec une sensibilisation croissante à l'environnement et aux préoccupations en matière de santé, on observe une tendance croissante à utiliser des colorants naturels comme alternative durable aux colorants synthétiques. La recherche scientifique se concentre également sur le développement de nouvelles technologies pour améliorer l'efficacité et la stabilité des colorants naturels, ainsi que sur leur production en grande quantité à faible coût. **Azeredo, H. M. C. (2009)**

6) Comparaison entre les colorants naturels et synthétiques :

Les colorants artificiels sont des produits chimiques fabriqués en laboratoire. Il est largement utilisé dans les industries alimentaires, textiles et médicales.

✚ Caractéristiques :

- ✓ Faible coût : plus facile et moins cher à produire.
- ✓ Solidité des couleurs : Plus résistant à la lumière, à la chaleur et au lavage.
- ✓ Variété de couleurs : Offre une large gamme de couleurs vives. **Martins, N. et al. (2016).**

✚ Inconvénients :

- ✓ Impacts environnementaux négatifs : Il est considéré comme une source de pollution.

BIBLIOGRAPHIQUE

- ✓ Risques pour la santé : Peut provoquer des allergies ou des maladies graves comme le cancer.
 - ✓ Non biodégradable : reste dans l'environnement pendant de longues périodes.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., & Nigam, P. (2001).**

✚ **Exemples de colorants artificiels :**➤ **Carmin :**

- ✓ Couleur : Rouge vif.
- ✓ Source : Extrait d'insecte cochenille.
- ✓ Utilisations : Colorant alimentaire, boissons et maquillage.
- ✓ Code commercial : « E120 ». **Downham, A., & Collins, P. (2000).**

➤ **Tartrazine :**

- ✓ Couleur : Jaune.
- ✓ Source : Produit chimique industriel.
- ✓ Utilisations : Colorant alimentaire, médicaments.
- ✓ Code commercial : « E102 ». **Downham, A., & Collins, P. (2000).**

➤ **Indigo :**

- ✓ Couleur : Bleu.
- ✓ Source : Elle peut être naturelle (issue de la plante indigo) ou synthétique.
- ✓ Utilisation : Teinture de vêtements.
- ✓ Marque déposée : « Synthetic Indigo Dey ». **Bechtold, T., & Mussak, R. (2009).**

Tableau 02 : comparatif entre les colorants naturels et synthétiques (**Delgado-Vargas, F., & Paredes-López, O. 2003).**

Article	Colorants naturels	Colorants industriels
Source	Plantes, animaux, minéraux, microbes	Laboratoires chimiques
Coût	Haut	Faible
Cohérence	Non réparé	Fixé
Effet sur la santé	Relativement sûr	Peut être nocif
Impact environnemental	Respectueux de l'environnement	Polluant pour l'environnement
Diversité des couleurs	limité	large

BIBLIOGRAPHIQUE

I.4. colorants végétaux

Les couleurs jouent un rôle essentiel dans l'attrait des produits alimentaires, affectant directement l'acceptation et l'appréciation de la qualité du produit par le consommateur. Avec la prise de conscience croissante des risques potentiels pour la santé des colorants synthétiques, l'intérêt pour l'utilisation de colorants naturels extraits de sources végétales et animales a augmenté. (Francis, F. J. 2000).

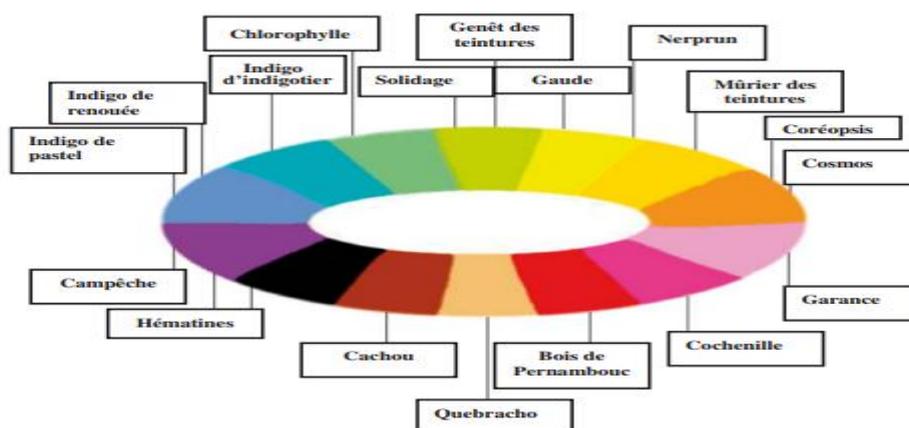


Figure 01 : Différentes nuances des colorants végétaux selon la société SCRD (Société commerciale Raoul-Duval)

1) Types de colorants végétaux :

Vous trouverez ci-dessous les principaux types de pigments végétaux avec des exemples :

- **Chlorophylles :**

- ✚ Code commercial : E140

- ✚ Source : Extrait de plantes vertes telles que les épinards, le persil et les algues.

- ✚ Couleur : Vert.

- ✚ Formule chimique :

- ✚ Chlorophylle a : $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$

- ✚ Chlorophylle b : $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$

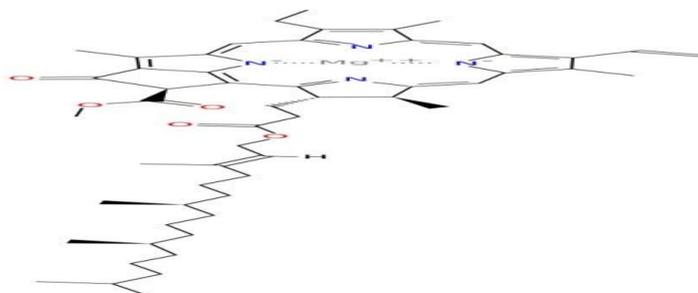


Figure 02 : montrant la structure de la chlorophylle.

BIBLIOGRAPHIQUE

• **Caroténoïdes :**

- ✚ Code commercial : E160
- ✚ Source : Extrait de fruits et légumes tels que les carottes, les patates douces et les tomates.
- ✚ Couleurs : orange, rouge, jaune.
- ✚ Formules chimiques :
 - ✓ Bêta-carotène : $C_{40}H_{56}$
 - ✓ Lycopène : $C_{40}H_{56}$

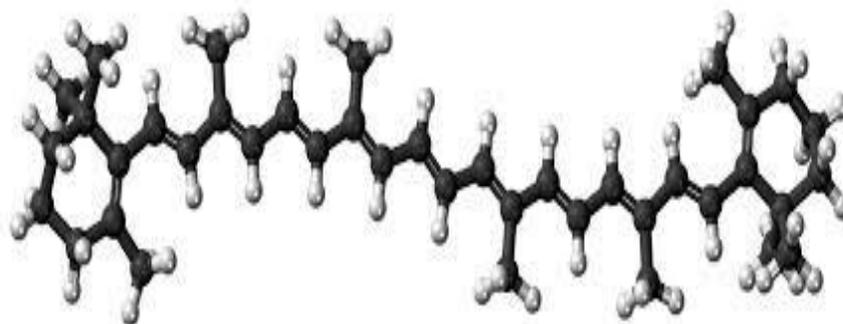


Figure 03 : montrant la structure du bêta-carotène

• **Anthocyanes :**

- ✚ Code commercial : E163
- ✚ Source : Extrait de fruits et légumes rouges ou violets tels que les baies, les fraises, les cerises et les raisins.
- ✚ Couleurs : rouge, violet, bleu.
- ✚ Formules chimiques :
 - ✓ Cyanidine-3-glucoside : $C_{21}H_{21}O_{11}^+$

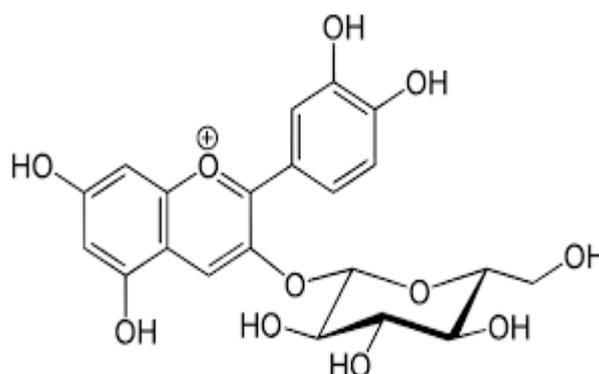


Figure 04 : montrant la structure du cyanidine-3-glucoside.

BIBLIOGRAPHIQUE

- **Bétalaines**

- ✚ Code commercial : E162
- ✚ Source : Extrait de betteraves rouges (betterave).
- ✚ Couleurs : rouge, jaune.
- ✚ Formules chimiques :
 - ✓ Bétanine : $C_{24}H_{26}N_2O_{13}$

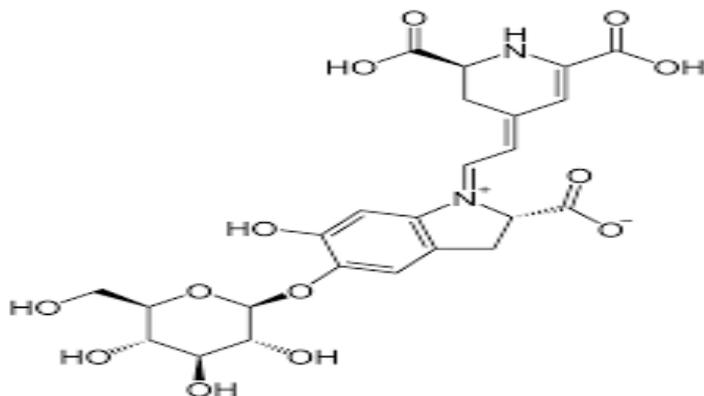


Figure 05 : montrant la structure de la bétanine

- **Pigments de curcumine :**

- ✚ Code commercial : E100
- ✚ Source : Extrait de racines de curcuma.
- ✚ Couleur : Jaune.
- ✚ Formule chimique :
 - ✓ Curcumine : $C_{21}H_{20}O_6$ (Delgado-Vargas, F., & Paredes-López, O. 2003)

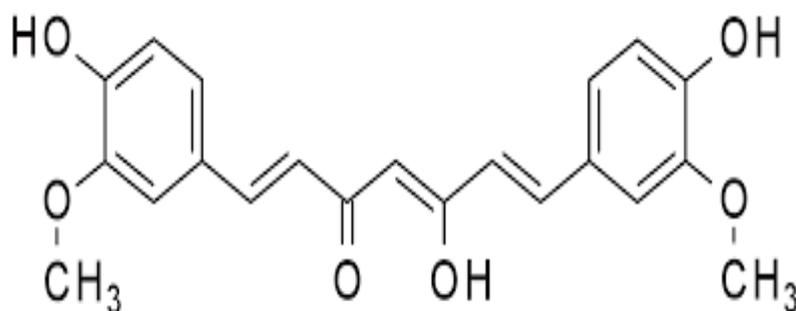


Figure 06 : montrant la composition de la curcumine (Hewlings, S. J., & Kalman, D. S. (2017).

BIBLIOGRAPHIQUE**2) Utilisations des colorants végétaux dans tous les domaines :**

À l'époque moderne, les teintures végétales ont connu un retour en force en raison de la prise de conscience croissante de l'importance de la durabilité et de la santé. Ils sont largement utilisés dans :

- ✚ Dans la teinture des tissus : Les colorants végétaux sont utilisés pour fabriquer des vêtements traditionnels et brodés.
- ✚ Dans les aliments : Ils sont utilisés comme colorants alimentaires naturels tels que le curcuma et le safran.
- ✚ En cosmétique : comme le henné pour la teinture des cheveux.
- ✚ Dans les médicaments : Certains pigments végétaux sont utilisés comme ingrédients dans les médicaments naturels. **(Downham, A., & Collins, P. 2000).**

Les colorants végétaux ne sont donc pas seulement des matières colorantes, mais font partie de l'histoire et de la culture humaines. Grâce aux progrès scientifiques et technologiques, il est devenu possible d'améliorer ses propriétés et de mieux l'utiliser sans nuire à l'environnement ni à la santé. Dans un contexte mondial axé sur le développement durable, les colorants à base de plantes constituent une option stratégique pour l'avenir.

Cependant, l'utilisation de colorants à base de plantes est une étape vers l'amélioration de la sécurité alimentaire et la fourniture de produits plus compatibles avec les besoins des consommateurs à la recherche d'options saines et naturelles **(Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., & Nigam, P. 2001).**

3) L'importance des colorants végétaux dans l'industrie alimentaire :

Les colorants végétaux sont un élément essentiel de l'industrie alimentaire moderne, utilisés pour améliorer l'apparence visuelle des produits alimentaires et les rendre plus attrayants pour les consommateurs. Avec une sensibilisation croissante des consommateurs à la santé et à l'environnement, les colorants à base de plantes sont devenus un choix privilégié par rapport aux colorants synthétiques **(Martins, N. et al. 2016)**. Voici l'importance des colorants végétaux dans l'industrie alimentaire sous plusieurs aspects :

❖ Améliorer l'attrait visuel des produits :

L'apparence visuelle d'un produit alimentaire est l'un des principaux facteurs influençant la décision d'achat. Les colorants végétaux sont utilisés pour ajouter des couleurs vives et éclatantes aux produits, les rendant plus attrayants pour les consommateurs **(Azeredo, H. M. C. 2009)**.

Exemples :

Utilisez du curcuma (couleur jaune) pour faire du riz basmati ou des pâtes colorées.

BIBLIOGRAPHIQUE

Utilisation de betteraves rouges (couleur rouge) dans la production de jus de fruits ou de bonbons(Azeredo, H. M. C. 2009).

❖ **Répondre aux demandes des consommateurs en matière d'aliments sains :**

Avec la demande croissante de produits sains et naturels, les teintures végétales sont devenues une option idéale pour répondre à ces désirs. Les consommateurs sont de plus en plus prudents à l'égard des produits chimiques synthétiques présents dans leurs aliments et recherchent des alternatives naturelles.

Exemple : Utilisation de pigments végétaux tels que la chlorophylle (verte) dans la production de boissons énergétiques vertes (Venil, C. K., & Lakshmanan, M. 2015).

❖ **Améliorer la qualité des produits alimentaires :**

Certains colorants végétaux ajoutent non seulement de la couleur, mais améliorent également la valeur nutritionnelle du produit. De nombreux pigments végétaux contiennent des antioxydants et des nutriments bénéfiques pour la santé globale(Eastaugh, N., Walsh, V., Chaplin, T., & Siddall, R. 2008).

Exemples :

Les anthocyanes (provenant des framboises et des fraises) sont utilisées pour colorer les bonbons et possèdent des propriétés antioxydantes.

La spiruline (issue d'algues bleues) est utilisée pour colorer les produits et constitue une riche source de protéines.

❖ **Respect de la législation et de la réglementation sanitaire :**

De nombreux pays ont imposé des lois strictes concernant l'utilisation de colorants artificiels en raison de leurs risques potentiels pour la santé. Les colorants végétaux sont considérés comme une alternative sûre et conforme à ces réglementations(Rodriguez-Amaya, D. B. 2019).

Exemple : Dans l'Union européenne, certains colorants artificiels tels que la tartrazine et le rouge allura ont été interdits dans les produits alimentaires pour bébés, ce qui a incité les entreprises à utiliser des colorants d'origine végétale comme alternative(Rodriguez-Amaya, D. B. 2019).

❖ **Renforcer la confiance entre les consommateurs et les entreprises :**

L'utilisation de colorants d'origine végétale reflète l'engagement de l'entreprise à fournir des produits sains et durables. Cela renforce la confiance des consommateurs dans la marque et améliore sa réputation sur le marché.

BIBLIOGRAPHIQUE

Exemple : Les entreprises alimentaires qui utilisent des colorants végétaux présentent souvent leurs produits comme étant « 100 % naturels » ou « sans produits chimiques »(**Cardon, D. 2007**)..

❖ **Réduire les risques pour la santé associés aux colorants artificiels :**

Les colorants artificiels peuvent être liés à des problèmes de santé tels que des allergies, des troubles du système nerveux et même un risque accru de cancer. Les colorants végétaux sont considérés comme plus sûrs car ils sont extraits de sources naturelles et ne provoquent pas d'effets secondaires graves lorsqu'ils sont utilisés correctement.

Exemple : Le curcuma (couleur jaune) est utilisé comme colorant naturel au lieu de colorants artificiels comme le « jaune coucher de soleil » et son utilisation est totalement sûre (**Bechtold, T., & Mussak, R. (Eds.). (2009)**).

❖ **Soutenir la durabilité environnementale :**

Les colorants végétaux sont considérés comme respectueux de l'environnement car ils se décomposent facilement et ne provoquent pas de pollution à long terme. Il est également produit à partir de ressources naturelles renouvelables, ce qui en fait un choix durable(**Bechtold, T., & Mussak, R. (Eds.). (2009)**).

Exemple : L'utilisation de colorants d'origine végétale (comme les épinards pour le vert) réduit le besoin de produits chimiques nocifs(**Cardon, D. 2007**)..

Utilisations diverses dans les industries alimentaires :(Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., & Nigam, P. 2001).

Les colorants végétaux sont utilisés dans une large gamme de produits alimentaires, ce qui les rend indispensables dans divers secteurs :

- ❖ Confiserie : pour colorer le chocolat, les gâteaux et la gélatine.
- ❖ Boissons : Pour colorer les jus, les boissons gazeuses et les boissons pour sportifs.
- ❖ Aliments surgelés : pour colorer la glace, colorer les frites.
- ❖ Sauces : Pour colorer les sauces et les mayonnaises.

BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 03 :Exemples de colorants naturels et leurs applications dans l'industrie alimentaire(Downham, A & Collins, P. 2000) :

Article	Source	la couleur	Utilisations
Curcuma	Racine de curcuma	jaune	Riz, sauces, boissons, desserts
Teinture de betterave	Betterave	Rouge/rose	Jus, desserts, yaourts et sauces
Spiruline	Algues bleues	Bleu/Vert	Bonbons, boissons et compléments alimentaires
Hibiscus	fleurs d'hibiscus	rouge/violet	jus, thé et boissons gazeuses
Épinard	Feuilles d'épinards	vert	sauces, desserts et aliments surgelés

4) Défis liés à l'utilisation des colorants végétaux :

Malgré leurs avantages, l'utilisation des colorants naturels dans l'industrie alimentaire pose certains défis :

- ❖ **Coût élevé** : les colorants naturels sont relativement plus chers que les colorants synthétiques en raison des processus d'extraction et de production.
- ❖ **Instabilité** : Certains colorants naturels peuvent être affectés par des facteurs tels que la chaleur, la lumière et l'humidité, entraînant un changement de couleur.
- ❖ **Gamme de couleurs limitée** : les colorants naturels offrent une gamme de couleurs plus restreinte par rapport aux colorants synthétiques (**Downham, A., & Collins, P. 2000**).

5) L'effet des colorants naturels sur la santé et la nutrition

Les colorants naturels sont des substances extraites de sources naturelles telles que les plantes, les fruits, les légumes et les minéraux, et sont utilisées pour améliorer l'apparence visuelle des aliments ou d'autres produits. Contrairement aux colorants artificiels, qui peuvent être associés à certains effets négatifs sur la santé, les colorants naturels sont souvent considérés comme plus sûrs et plus sains. Cependant, son effet sur la santé et la nutrition dépend du type de substance utilisée, de sa source et de la manière dont elle est utilisée (**Downham, A., & Collins, P. 2000**).

- **Bienfaits des colorants naturels sur la santé et la nutrition (OMS, 2002 Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., & Nigam, P. 2001) :**
- ❖ **Riche en nutriments**

De nombreux colorants naturels contiennent des antioxydants et des nutriments bénéfiques. Par exemple:

BIBLIOGRAPHIQUE

- ✦ Curcumine (issue du curcuma) : Contient des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes.
- ✦ Betteraves rouges : une riche source de vitamines et de minéraux tels que l'acide folique et le fer.
- ✦ Chlorophylle (issue de plantes vertes) : On pense qu'elle favorise la santé digestive et favorise la détoxification.
- ❖ **Promouvoir la santé cardiovasculaire**

Certains pigments naturels, comme ceux issus de fruits rouges (fraises, framboises), contiennent des anthocyanes, qui contribuent à améliorer la santé cardiaque et à réduire la pression artérielle.

- ❖ **Soutien immunitaire**

- Les pigments extraits de fruits et légumes riches en vitamine C (comme les oranges et les citrons) peuvent renforcer le système immunitaire et réduire le risque de maladie.

- ❖ **Améliorer la digestion**

Les pigments naturels tels que la chlorophylle stimulent la production d'enzymes digestives, ce qui contribue à améliorer le processus de digestion.

- ❖ **Réduire le risque de maladies chroniques**

Les pigments naturels contenant des antioxydants jouent un rôle important dans la réduction du stress oxydatif, un facteur majeur conduisant à des maladies chroniques telles que le cancer et les maladies cardiaques.

- **Effets négatifs potentiels des colorants naturels (OMS, 2002, European Food Safety Authority (EFSA). (2021):**

Malgré leurs bienfaits, l'utilisation de colorants naturels peut avoir certains effets négatifs :

- ❖ **Allergie**

- Certaines personnes peuvent être allergiques à certains ingrédients des colorants naturels. Par exemple, les personnes allergiques aux fruits peuvent rencontrer des problèmes si des colorants extraits de ces fruits sont utilisés.

- ❖ **Surdose**

Même les substances naturelles peuvent être nocives si elles sont consommées en grande quantité. Par exemple, de grandes quantités de curcumine peuvent provoquer des maux d'estomac.

BIBLIOGRAPHIQUE

❖ **Interactions médicamenteuses**

- Certains colorants naturels peuvent interagir avec les médicaments. Par exemple, la curcumine peut affecter l'efficacité des médicaments anticoagulants (Khoo, H. E. et al. (2017)).

❖ **Manque d'organisation**

Bien que les colorants naturels soient souvent sûrs, certains pays n'ont pas de lois strictes concernant leur utilisation, ce qui peut conduire à leur mélange avec d'autres ingrédients malsains.

Tableau 04 : Exemples de colorants végétaux naturels et de leurs bienfaits pour la santé (Khoo, H. E. et al. (2017)) :

Source naturelle	la couleur	Avantages pour la santé
Curcuma	jaune	Anti-inflammatoire, favorise la santé digestive, améliore la santé des articulations
Betterave	rouge	Favorise la santé cardiaque, contient du fer et de la vitamine C
Épinard	vert	Contient de la chlorophylle qui favorise la détoxification et la santé digestive.
fraise	rouge	Riche en anthocyanes, qui réduisent le risque de maladie cardiaque.
Carottes	orange	Riche en bêta-carotène, qui se transforme en vitamine A dans le corps et favorise la santé des yeux.

➤ **Conseils pour utiliser les colorants naturels en toute sécurité :**

Optez pour des colorants naturels de sources certifiées, en vérifiant scrupuleusement les étiquettes et en respectant les dosages. Bien que plus sains que les alternatives synthétiques, leur usage requiert une vigilance accrue (allergies, conditions médicales) et une consultation professionnelle si nécessaire.

BIBLIOGRAPHIQUE**II. *Ceratonia siliqua* :**

Le caroubier est un arbre à feuilles persistantes appartenant à la famille des légumineuses

(Fabaceae) et est considéré comme une plante indigène des régions méditerranéennes. La caroube

est largement cultivée dans la région méditerranéenne en raison de sa capacité à s'adapter aux

climats arides et aux sols pauvres. Cette plante se distingue par sa haute valeur nutritionnelle et

industrielle, et est utilisée dans de nombreuses applications traditionnelles et modernes.

1. Classification Taxonomique de *Ceratonia siliqua* :

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) appartient au règne des Archéplastides, un des grands groupes des eucaryotes intégrant les plantes terrestres ainsi que les algues rouges et vertes. Il est classé parmi les Angiospermes, c'est-à-dire les plantes à fleurs, ainsi que parmi les Dicotylédones vraies, possédant deux cotylédons par graine, et plus précisément parmi le noyau des Dicotylédones vraies (eudicotylédones). Il est également inclus dans le clade des Rosidées, plus particulièrement parmi les Fabidées, regroupant les plantes ayant généralement des propriétés de fixation de l'azote. Du point de vue de la classification systématique, le caroubier appartient à l'ordre des Fabales ainsi qu'à la famille des Fabacées (ou Légumineuses), réputée pour la richesse de ses graines en protéines et en fibres. Le genre associé est *Ceratonia*, tandis que l'espèce est *Ceratonia siliqua* L., nom binomial attribué par Carl Linné, illustrant ainsi l'ancrage taxonomique précis de cet arbre majeur du pourtour méditerranéen.

2. Description botanique et habitats

Cette espèce est un arbuste dioïque héli-parasitique de 2-5 m, à feuilles lancéolées aiguës, (0.5-4×0.5-2 cm). Les fruits murs sont produits tout au long de l'année, avec une hausse importante en hiver et mineure au printemps. Ce sont des

BIBLIOGRAPHIQUE

drupes rouges globuleuses de 6-8 mm (**Quezel et Santa, 1963; Singh et al., 2005**).

La période de floraison dure presque six mois pour les femelles et presque toute l'année pour les mâles.

3. Répartition géographique

La distribution a été progressive compte tenu de son exigence climatique, cette espèce s'adapte à un climat doux typiquement méditerranéen comme l'Australie, la Californie, l'Afrique du sud ainsi l'Amérique du sud.

4. Répartition géographique du caroubier dans le monde

Le caroubier est une espèce typiquement méditerranéenne où sa distribution dans cette région est très ancienne, elle est répandue dans les zones semi-arides et arides (**Benmahioul et al., 2011**)

Le caroubier pousse en Turquie, à Chypre, en Syrie, Liban, sud de la Jordanie, Égypte, Arabie, Tunisie et Libye avant d'atteindre l'ouest Méditerranéen (**Hillcoat et al., 1980**). Il a été propagé par les Grecs en Grèce et en Italie, et par les Arabes sur la côte nord Afrique, sud et est de l'Espagne. Depuis, il est diffusé dans le sud du Portugal, dans le sud-est de la France. La caroube est également cultivée dans plusieurs autres pays, zones climatiques et régions méditerranéennes telles que l'Australie, l'Afrique du Sud, les États-Unis (en particulier l'Arizona et Californie du Sud), les Philippines et l'Iran (**Bertrand, 2013**).

Les caroubes sont réunies en grappes simples. Ce sont des gousses indéhiscentes, de grande taille : 10 à 30 cm de longueur, 1,5 à 3 cm de largeur et de 1 à 2 cm d'épaisseur. Chaque caroube pèse environ 15 à 30 grammes (**Battle et al, 1997**).

La gousse comporte trois parties : l'épicarpe, le mésocarpe et les graines, des cloisons pulpeuses transversales qui la sépare à l'intérieur renfermant de 4 à 16 graines dont la longueur et la largeur sont respectivement de 8 à 10 mm et de 7 à 8 mm



Figure 07 : Fruit du caroubier (*Ceratonia siliqua*).

Note. Photo prise par l'auteur.

5. Composition nutritionnelle et chimique du caroube

Le fruit du caroubier (*Ceratonia siliqua*)(**Figure 07**) est un mélange complexe de métabolites secondaires. Il contient divers nutriments, notamment des fibres, des sucres et des polyphénols, ainsi qu'une abondance de minéraux et d'acides aminés. La composition nutritionnelle du caroube et ses avantages pour la santé sont illustrés dans la Figure 1.

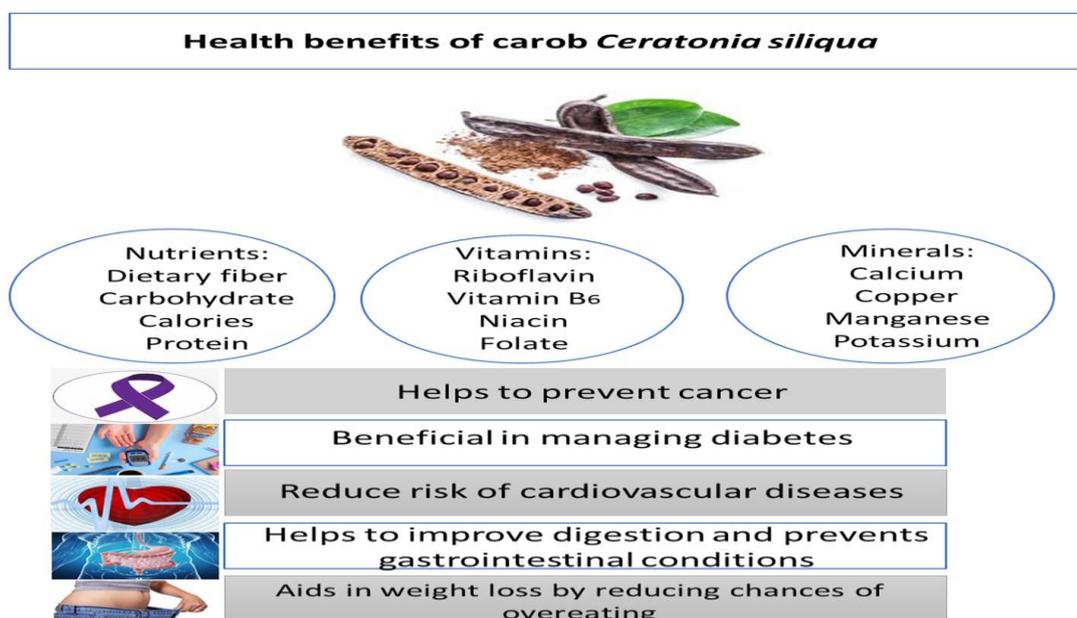


Figure 08 : Composition nutritionnelle de la caroube et bienfaits pour la santé

Bruneton, J. (1995)

BIBLIOGRAPHIQUE**5.1 Glucides**

Le caroube est une source essentielle de sucres à haute valeur nutritionnelle. Des études indiquent que sa teneur en glucides varie entre 40 et 55 g/100 g de matière sèche (MS) (Turhan, 2014). Le saccharose est le glucide prédominant (jusqu'à 52 g/100 g MS), suivi du fructose (1,8–12,5 g/100 g MS) et du glucose (1,8–10,2 g/100 g MS) (Diaz, 1997 ; Sigge *et al.*, 2011). Ce profil sucré permet la production d'un sirop naturel de caroube, dont les procédés d'extraction modernes sont bien établis (Livesey, 2003).

5.2 Protéines

Les fruits renferment divers acides aminés : Soufrés ; Acides ; Hydroxylés ; Aliphatiques ; Basiques ; Amidés ; 57% des acides aminés totaux sont basiques ou amidés(**Figure 08**). Le caroube dépasse les standards de l'OMS en acides aminés essentiels (Miś & Dziki, 2013).

5.3 Minéraux

Riche en potassium (jusqu'à 1120 mg/100 g MS) et calcium (équivalent à une tasse de lait pour 1200 mg), le caroube contient aussi des microminéraux : fer (teneur la plus élevée), manganèse, zinc, cobalt, baryum (Rizzo *et al.*, 2004). Les gousses présentent des concentrations inférieures aux graines en composés bioactifs (Barak & Mudgil, 2014).

5.4 Fibres

La pulpe contient 30 à 40% de fibres, divisées en : Insolubles (majoritaires) : Lignine, cellulose, hémicellulose (70% des fibres totales), Solubles (≤ 10 g/100 g) : Glucides simples (Camero & Merino, 2004).

6. COMPOSITION PHYTOCHIMIQUE DU CAROUBE

Les gousses sont caractérisées par : Composés majoritaires : Fibres alimentaires (27–50%), tanins condensés (18–20%), minéraux (fer, potassium, magnésium, zinc, cuivre) ; Composés mineurs : Protéines (3–4%), lipides (0,4–0,8%). Sucres dominants: Saccharose (32–38%), fructose (5–7%), glucose (5–6%) (Palafox-Carlos *et al.*, 2011).

BIBLIOGRAPHIQUE

La chromatographie HPLC a révélé : Des tanins non hydrolysés : Proanthocyanidines composées de groupes flavan-3-ol et leurs esters galloyl, accompagnés d'acide gallique, catéchine, gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine et de glycosides de quercétine (Ortega et al., 2009) et Des tanins hydrolysés : Sous forme de flavonoïdes (26%), d'acides phénoliques (acides cinnamique, p-coumarique, gallique), tanins, hydroxytyrosol, glycosides de flavone et polyphénols divers (Papagiannopoulos et al., 2004).

Le jus de caroube est riche en électrolytes (sodium, zinc, manganèse, potassium, fer, cuivre). La composition chimique varie selon : le climat, l'espèce, le stade de maturité, la partie de l'arbre :

Gousses mûres : Dominées par le pyrogallol (48,02%–3,55%), la catéchine (19,10%–2,11%) et l'acide tannique (9,01%–1,40%) (Toydemir et al., 2013).

Gousses immatures : Contiennent catéchine (16,52%–2,34%), épicatechine (12,26%–1,04%), acide gallique (15,12%–2,31%), pyrogallol (26,45%–3,03%) et acide chlorogénique (15,01%–1,72%) (Rtibi et al., 2015).

Les feuilles renferment : Tanins (13%–0,45%), Kaempférol (77%–2,43%), Polydatine (0,85%–0,22%), Catéchine hydrate (4,30%–0,3%)

Comparatif analytique : Teneur en fibres : Plus élevée dans les **feuilles** que dans les gousses, Sucres réducteurs : Plus abondants dans les extraits de caroube vs feuilles (Rtibi et al., 2016).

BIBLIOGRAPHIQUE

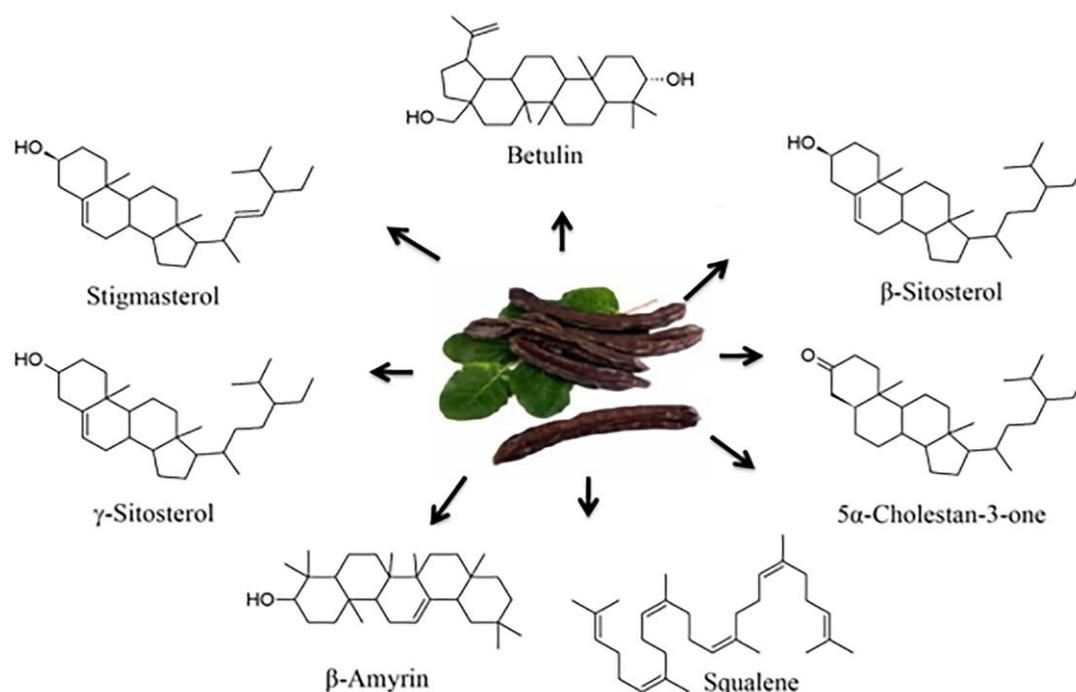


Figure 09 : Composition chimique du caroub, (Bruneton, 1995).

Le caroubier est une ressource végétale remarquable, dont les différentes parties sont riches en une grande variété de composés chimiques d'intérêt. Les gousses, communément appelées "caroubes", constituent la partie la plus connue et exploitée de l'arbre. Elles renferment une pulpe comestible dont sa composition physicochimique est tributaire de plusieurs éléments, tels que la provenance des fruits, l'époque de collecte, les cultivars de caroubier, ainsi que les modalités et la durée de conservation.

D'autres études ont par ailleurs mis en évidence sa richesse en polyphénols, avec des taux de 16 à 20% essentiellement sous forme de tanins (Figure 09).

La teneur en fibres alimentaires peut quant à elle atteindre jusqu'à 39,8% (Bengoechea *et al*, 2008 ; Youssef *et al.*, 2009).

BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 05 : La composition moyenne de la pulpe du caroubier
(Puhan et Wielinga (1996) mentionné dans (Batlle et al, 1997).

Constituants	%
Sucre totaux	48-56
Saccharose	32-38
Glucose	5-6
Fructose	5-7
Pinnitol	5-7
Tanins condensés	18-20
Polysaccharides non amylacés	18
Cendres	2-3
Lipides	0.2-0.6

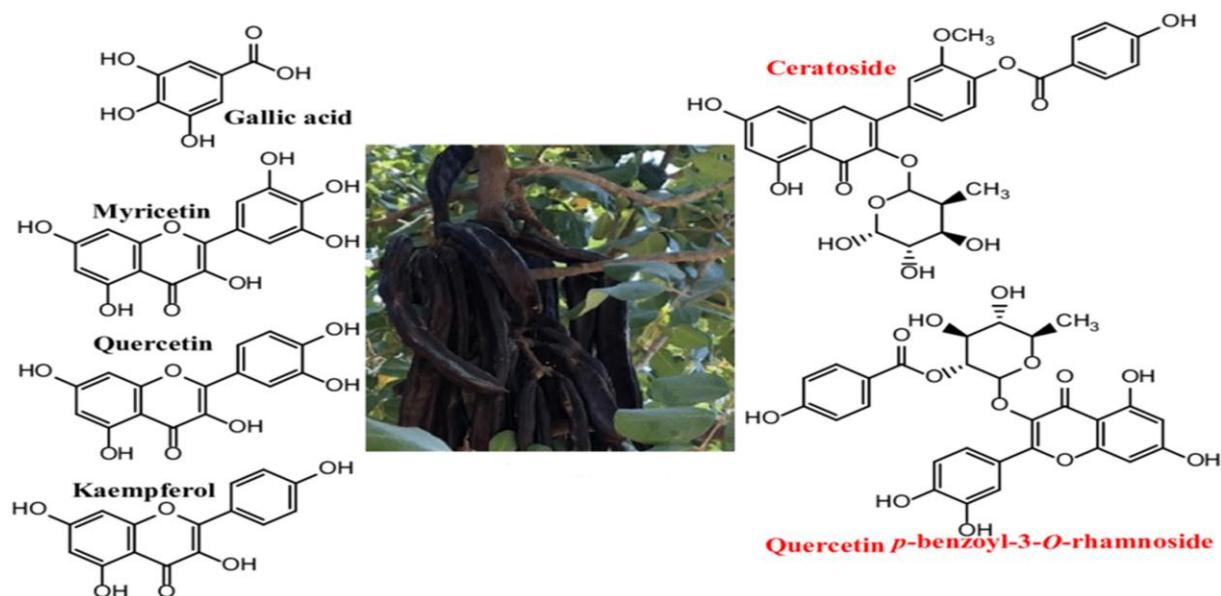


Figure 10 : Composition chimique du caroub. , (Bruneton, 1995)

BIBLIOGRAPHIQUE**7. Utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutiques**

Usage Agroalimentaire du Caroubier

Historique ancien méconnu : Utilisation attestée depuis l'Antiquité, notamment comme aliment de base dans les régions pauvres comme la Grèce (**Brandt, 2002 ; Marakis, 1996**).

8. Valeur économique des graine :

✚ Source de la "gomme de caroube", extraite de l'endosperme, largement utilisée comme épaississant, stabilisant et émulsifiant dans l'industrie alimentaire (**Albanell et al., 1993; Biner et al., 2007; Tous et al., 2009; Goncalves & Romano, 2005; Mattaus & Ozcan, 2011**).

✚ Pulpe riche en composés bioactifs : Source de fibres, sucres et polyphénols antioxydants (**Owen et al., 2003**). Transformable en poudre, c'est un ingrédient prometteur pour l'alimentaire et les aliments fonctionnels (**Tsatsaragkou et al., 2014; Arribas et al., 2019; Biernacka et al., 2017**).

✚ Substitut du cacao: Après torréfaction, goût et couleur similaires, mais sans caféine, théobromine ni acide oxalique (**Biner et al., 2007; Durazo et al., 2014**).

9. Usage Industriel du Caroubier (diversifié)

✚ Multivalorisation : Toutes les parties sont exploitées (**Fadel et al., 2006; Rejeb et al., 1991; Gharnit, 2003**).

✚ Graines: Source de galactomannanes (gomme) aux propriétés épaississantes/stabilisantes/gélifiantes (applications cosmétiques, pharmaceutiques).

Feuilles: Source d'antioxydants et molécules bioactives (pharmaceutique, nutraceutique).

✚ Écorce : Source de tanins et pigments (tannage, teinture).

Ressource multifonctionnelle sous-exploitée (**Rejeb et al., 1991; Gharnit, 2003**).

BIBLIOGRAPHIQUE

9.1. Industrie Cosmétique

La gomme de caroube est utilisée pour ses propriétés :

Texturantes: Agent liant dans les savons, stabilisateur d'émulsions dans crèmes/lotions (**Jones, 1953**). Hydratantes (rétention d'eau) dans soins hydratants, baumes. Nettoyantes/rafraîchissantes : Dans les dentifrices (**Roukas, 1993; Roukas, 1998**).

9.2. Industrie Pharmaceutique et Médicinale

Utilisations traditionnelles et validées :

- ✚ Traitement des troubles digestifs (diarrhée).
- ✚ Antioxydant (régimes amincissants).
- ✚ Régulation glycémie et cholestérol (fibres/farine).
- ✚ Fort pouvoir antibactérien (**Ayaz et al., 2009**).

10. Importance Socioéconomique du Caroubier

- ✚ Développement durable : Culture adaptée au changement climatique, potentiel pour augmenter les revenus et la durabilité agricole.
- ✚ Défi: Développer des systèmes de culture innovants pour contraintes environnementales et production de qualité.
- ✚ Collaboration nécessaire : Agriculteurs, industrie, consommateurs pour innovation (traçabilité, chaîne alimentaire).

Avantages économiques: Réduction des importations d'édulcorants en Europe/Méditerranée, augmentation des exportations mondiales de produits à base de caroube.

BIBLIOGRAPHIQUE**III. Extraction des colorants**

Les méthodes d'extraction des colorants naturels varient en fonction de la source végétale ou animale, mais elles s'appuient généralement sur des techniques physiques et chimiques pour extraire le colorant de la plus haute qualité (**Delgado-Vargas & Paredes-López, 2003 ; Azeredo, 2009**). Voici quelques méthodes courantes :

1. Extraction avec d'eau :

- ✓ Principe : La matière végétale est bouillie dans l'eau pour extraire les pigments solubles.
- ✓ Avantages : Méthode sûre et respectueuse de l'environnement.
- ✓ Inconvénients : Certains colorants sont sensibles à la chaleur, ce qui peut entraîner une perte de couleur ou une décoloration.

Exemple : Extraction du pigment anthocyanique des baies et du chou rouge (**Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009)**).

2. Extraction avec des solvants organiques :

- ✓ Principe : Des solvants tels que l'éthanol, le méthanol, l'acétone ou l'hexane sont utilisés pour dissoudre le colorant et le séparer de la matière première (figure 11).
- ✓ Avantages : Haute efficacité dans l'extraction des colorants, en particulier ceux qui sont insolubles dans l'eau.
- ✓ Inconvénients : Certains solvants peuvent être toxiques, ils doivent donc être complètement éliminés avant utilisation dans les industries alimentaires.
- ✓ Exemple : Extraction du lycopène des tomates à l'aide d'hexane et extraction de la curcumine du curcuma à l'aide d'éthanol (**Rodriguez-Amaya, D. B. (2001) , Azmir, J., et al. (2013)**).

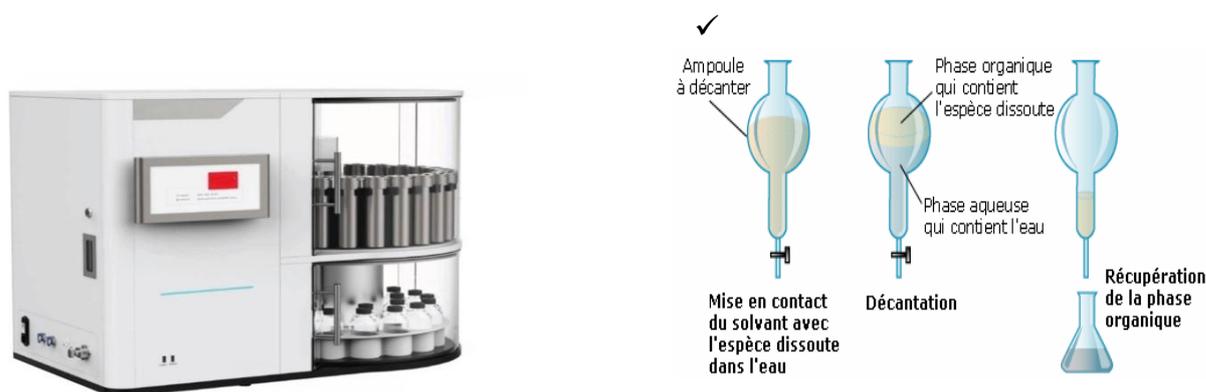


Figure 11: Principe Extraction avec des solvants organiques(Rodriguez-Amaya, D. B. (2001), Azmir, J., et al. (2013).

3. Extraction sous pression :

- ✓ Principe : La matière première est broyée ou pressée pour extraire les jus riches en pigments(**Figure 12**).
- ✓ Avantages : Méthode naturelle ne nécessitant pas de solvants chimiques.
- ✓ Inconvénients : Il peut être moins efficace que d'autres méthodes pour isoler le colorant pur.
- ✓ Exemple : Extraction du bêta-carotène des carottes par pressage(**Chemmat, F., et al. (2017)** ,Azmir, J., et al. (2013).



Figure 12 : Principe de Extraction sous pression (**Chemmat, F., et al. (2017)** Azmir, J., et al. (2013) , de Melo, M. M. R., et al. (2014).

BIBLIOGRAPHIQUE

4. Extraction par acidité ou basicité :

- ✓ Principe : Le pH est ajusté pour faciliter la dissolution du colorant dans l'eau ou le solvant utilisé.
- ✓ Avantages : La couleur obtenue peut être contrôlée.
- ✓ Inconvénients : Une forte acidité ou une forte alcalinité peut affecter la stabilité du colorant.
- ✓ Exemple : Extraction du pigment anthocyanique des baies rouges à l'aide d'acide citrique.

5. Extraction au CO₂ supercritique :

- ✓ Principe : Le dioxyde de carbone supercritique (à haute température et pression) est utilisé pour extraire les colorants sans utiliser de solvants organiques(**Figure 13**).
- ✓ Avantages : Technologie propre et sûre, maintient la pureté du colorant.
- ✓ Inconvénients : Nécessite un équipement spécial et coûteux.
- ✓ Exemple : Extraction de caroténoïdes à partir de poivron rouge et de carottes.



Figure 13 : Extraction au CO₂ supercritique (Chemat, F., et al. (2017) Azmir, J., et al. (2013) , de Melo, M. M. R., et al. (2014)

BIBLIOGRAPHIQUE**6. Extraction par bio-fermentation :**

- ✓ Principe : Des bactéries ou des champignons sont utilisés pour produire des colorants à partir de sources naturelles.
- ✓ Avantages : Méthode respectueuse de l'environnement et durable, et la production de colorant peut être améliorée par génie génétique.
- ✓ Inconvénients : Cela prend plus de temps par rapport aux autres méthodes.
- ✓ Exemple : Production de pigment phycocyanine (bleu) à partir d'algues bleu-vert (**Chemat, F., et al. (2017)** **Azmir, J., et al. (2013)** , **de Melo, M. M. R., et al. (2014)** , **Papagiannopoulos, M., et al. (2004)**).

PARTIE II.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel végétal: choix et identification de espèce étudiée

1) Extraction avec d'eau :

L'extraction à l'eau est une méthode douce basée sur l'utilisation de l'eau comme solvant pour extraire les composés bioactifs hydrosolubles. Cette technique est largement utilisée dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques, notamment pour obtenir des extraits végétaux riches en antioxydants, pigments naturels ou polyphénols.

Des gousses de caroube mûres ont été obtenues dans les régions de jdiouia et de oued Rhiou. La maturité des fruits a été confirmée visuellement par l'observation de leur couleur brun foncé et de leur fermeté. Après la récolte, les gousses ont été nettoyées à la main pour éliminer les impuretés et la poussière, puis séchées dans un endroit ombragé et bien ventilé afin d'éviter la dégradation des composés actifs par la chaleur ou la lumière directe. Après séchage, les gousses ont été broyées en une fine poudre à l'aide d'un broyeur électrique. Les échantillons ont été conservés dans des récipients en verre scellés à température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation pour des expériences chimiques et analytiques.

2) Préparation des extraits des plantes :

Préparation de la matière première :

Nous avons utilisé des gousses de caroube entières pour ce procédé, broyées en une fine poudre à l'aide d'un broyeur automatique (**Figure 14 -15**) .

(Si vous disposez de poudre de caroube prête à l'emploi, vous pouvez l'utiliser directement.)



Figure 14 : Broyage



Figure 15 : Préparation des plantes

A. Mélanger la caroube avec de l'eau :

- Ajouter une petite quantité de poudre de caroube dans le bol. (La quantité de poudre dépend de la couleur souhaitée, mais un ratio de 1:4 (poudre:eau) est généralement utilisé.)
- Ajouter de l'eau pure à la poudre jusqu'à ce qu'elle soit entièrement recouverte.
- Bien mélanger le mélange avec une cuillère pour assurer une répartition uniforme de la poudre (**Figure 16**).



Figure 16 : Mélanger la caroube avec de l'eau

B. Chauffer le mélange :

- Placer la casserole sur le feu et augmenter progressivement le feu jusqu'à ébullition. Dès que l'ébullition commence, baisser le feu et laisser mijoter 30 à 60 minutes.
- Remuer de temps en temps pendant la cuisson pour éviter que la poudre n'attache au fond du bol .

C. Laisser refroidir le mélange :

Une fois la cuisson terminée, retirez la casserole du feu et laissez-la refroidir complètement.

Plus le refroidissement est long, plus vous aurez de chances d'extraire une plus grande quantité de colorant.

2) Filtrer le mélange :

- Une fois le mélange refroidi, utiliser une passoire ou un chiffon doux pour éliminer la poudre restante et obtenir un liquide clair (**Figure 17**).



Figure 17 : La filtration

3) Conserver les colorants :

- Verser le colorant extrait dans des bouteilles en verre stérilisées.
- Bien refermer les bouteilles et conserver dans un endroit frais et sec ou au réfrigérateur

Figure 18.



Figure 18 : Échantillon final

❖ Conseils et astuces :

Choisir le type de caroube :

- Pour un résultat optimal, veillez à utiliser de la caroube de haute qualité et exempte d'impuretés.

Ajuster l'intensité de la couleur :

- Pour une couleur plus foncée, vous pouvez augmenter la quantité de poudre de caroube ou diminuer la quantité d'eau. Vous pouvez également faire bouillir le mélange plus longtemps pour augmenter la concentration de colorant.

2. Analyse de physicochimique et microbienne des colorants du caroube :

Dans le cadre de cette étude, une série d'analyses a été effectuée afin d'évaluer les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des échantillons étudiés. Ces analyses ont été réalisées en collaboration avec le Laboratoire Ould Cheikh, situé au n° 21, rue Sidi Abed, Relizane. Ce laboratoire est reconnu au niveau régional pour son expertise dans les domaines de l'agroalimentaire, de la cosmétique, des produits d'entretien ménager ainsi que de l'analyse des eaux. Il dispose d'un équipement moderne et de techniques d'analyse avancées, garantissant ainsi la précision et la fiabilité des résultats. Le Laboratoire Ould Cheikh est une structure spécialisée dans la réalisation d'analyses physico-chimiques et microbiologiques. Il offre ses services d'analyse et de contrôle de qualité dans plusieurs domaines, notamment:

- Les produits agricoles et alimentaires
- Les produits cosmétiques
- Les produits d'entretien ménager
- Les eaux

Le laboratoire s'engage à garantir la qualité et la sécurité des produits en appliquant des méthodes d'analyse rigoureuses conformes aux normes nationales et internationales, faisant de lui un partenaire fiable pour les industriels, distributeurs et organismes de contrôle.

1) Les types d'analyses effectuées comprennent notamment:

- **Analyses physico-chimiques** : mesure du pH, taux d'humidité, matières sèches, couleur, etc.
- **Analyses microbiologiques** : recherche de contaminations microbiennes afin de garantir la sécurité des échantillons destinés à la consommation ou à l'usage domestique.

Ces analyses ont fourni des données scientifiques essentielles pour valider les hypothèses de travail et évaluer la conformité des produits aux normes de qualité et de sécurité en vigueur.

2) Méthode d'analyse

A. Les Outils et Méthodes Utilisés dans l'Analyse Physico-Chimique de l'Extrait de Caroube :

L'analyse physico-chimique de l'extrait de caroube a nécessité l'utilisation d'instruments de laboratoire précis ainsi que de méthodes normalisées pour garantir la fiabilité et la reproductibilité des résultats. Le tableau suivant résume les principaux paramètres analysés, les outils utilisés, les méthodes appliquées et des remarques techniques utiles (Tableau 06 , Figure 19).

Tableau 06 : Les Outils et Méthodes Utilisés dans l'Analyse Physico-Chimique de l'Extrait de Caroube

Paramètre	Instrument utilisé	Méthode d'analyse	Remarques pratiques
pH	pH-mètre électronique	Mesure directe à l'aide d'une sonde dans l'échantillon	Calibrage requis avec solutions tampon pH 4 et 7
Densité	Densimètre	Mesure directe de la masse volumique de l'échantillon	Mesure à 20°C recommandée pour une précision optimale
Conductivité électrique	Conductimètre	Mesure de la conductivité ionique de la solution	Indique la teneur en sels minéraux/acides organiques
Indice de réfraction	Réfractomètre	Mesure de la déviation de la lumière à travers l'échantillon	Permet d'estimer les matières dissoutes (ex : Brix)

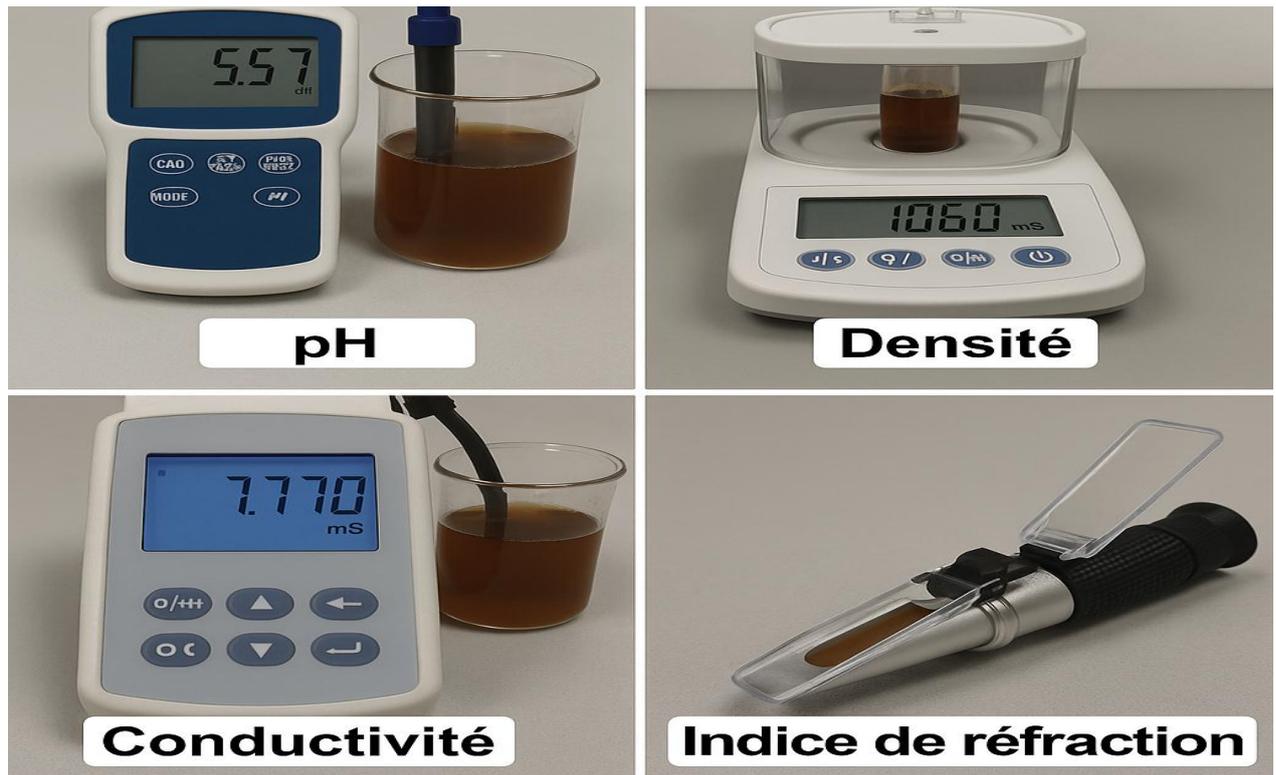


Figure 19 : Les Outils et Méthodes Utilisés dans l'Analyse Physico-Chimique de l'Extrait de Caroube

B. Les Outils Utilisés dans l'Analyse microbiologiques de l'Extrait de Caroube :

Les analyses consistent à vérifier la qualité des produits alimentaires, selon des critères microbiologiques et à détecter la présence des germes indésirables pouvant représenter un danger pour la santé humaine. Pour l'analyse statistique des germes recherché on a utilisé le model ANOVA1

Tableau 07 : des Normes Microbiologiques (ISO + AFNOR) :

Norme	Nom de la norme	Type d'analyse	Micro-organismes ciblés	Milieu de culture	Température / Durée
ISO 4833	Dénombrement des microorganismes	Numération totale aérobie mésophile	Germes aérobies mésophiles	PCA (Plate Count Agar)	30°C pendant 72h
ISO 4832	Dénombrement des coliformes	Numération des coliformes totaux	Coliformes	VRBL (Violet Red Bile Lactose Agar)	37°C pendant 24h
ISO 7251	Détection d'Escherichia coli (méthode NPP)	Détection de E. coli	Escherichia coli	Bouillon au lauryl sulfate → Bouillon EC	44°C pendant 24–48h
ISO 7954	Dénombrement des levures et moisissures	Numération des levures et moisissures	Levures et moisissures	YGC (Yeast Glucose Chloramphenicol Agar)	25°C pendant ~5 jours
ISO 6888-1	Détection de Staphylococcus aureus	Numération des staphylocoques à coagulase positive	Staphylococcus aureus	Baird-Parker + jaune d'œuf + tellurite	37°C pendant 24–48h
AFNOR	Normes françaises (diverses)	Selon le type d'analyse	Selon le micro-organisme ciblé	Selon la norme (ex: XLD pour Salmonella)	Général ement 35– 37°C

❖ Recherche et dénombrement des germes aérobies (ISO 4833-1)

Les germes aérobies sont l'ensemble des bactéries capables de se développer sur un milieu nutritif à 30°C en aérobose. Le milieu de culture utilisé pour ce dénombrement est la gélose PCA (Plate Count Agar) permettant la croissance de tous les germes aérobies. Les ensemencements sont effectués à partir des dilutions décimales (10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴), à l'aide d'une pipette stérile, 1 ml est prélevé de chaque dilution pour être déposé dans les boîtes de Petri, puis dans chacune des boîtes, on coule 15 ml de milieu PCA. Le mélange est homogénéisé par des mouvements circulaires des boîtes. Lorsque le milieu de culture solidifié complètement, les boîtes sont incubées dans l'étuve à 30°C pendant 72 h (Figure 30). Après la

fin de la période d'incubation la lecture se fait en comptant toutes les colonies qui sont apparues dans chaque boîte (Figure 20).

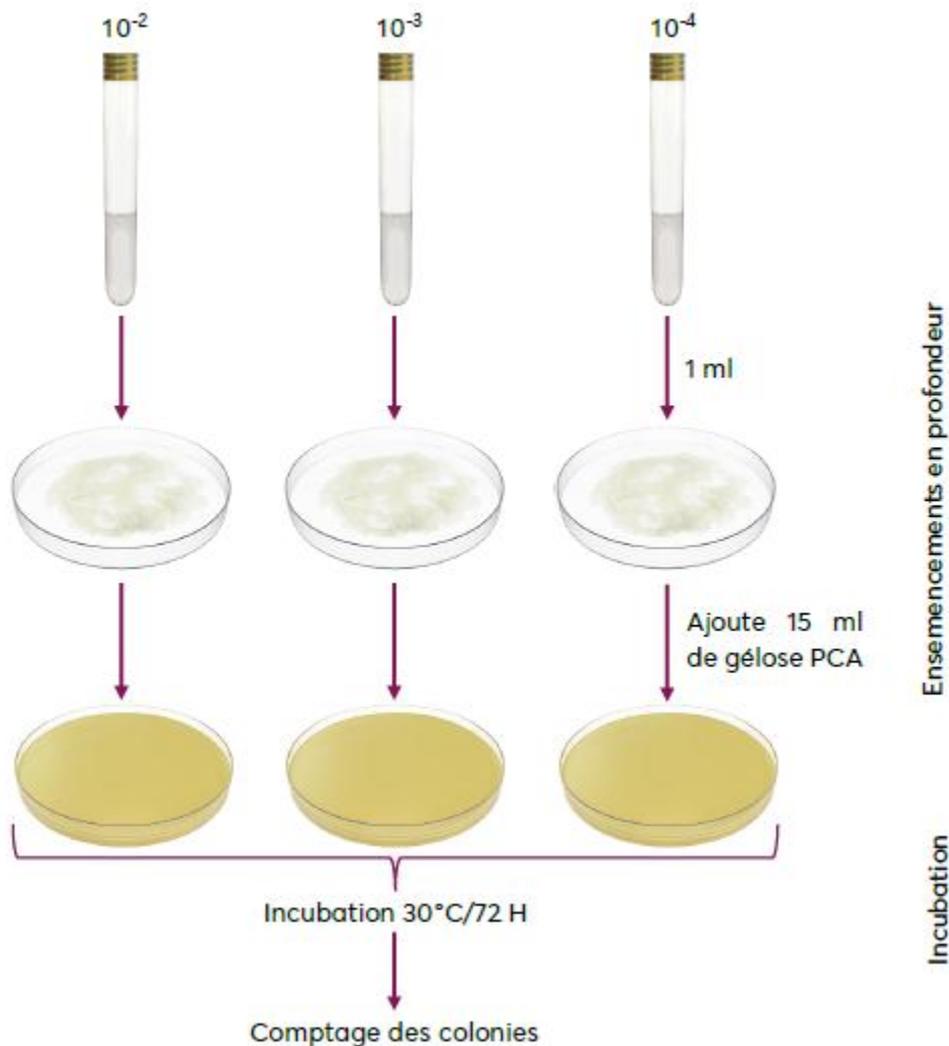


Figure 20 : Méthode de dénombrement des germes aérobies (Fellouh *et al.*, 2021)

❖ **Recherche et dénombrement de coliformes totaux (NM ISO 4832, 2003)**

Nous avons déposé 1 ml de chaque dilution décimale (10^{-2} jusqu' à 10^{-5}) dans une boîte de pétri stérile, ensuite 15 ml de Désoxycholate lactose (DCL) ont été coulés et mélangés avec l'inoculum par la suite, nous avons incubé les boîtes de pétri pendant 24h à 37°C (pour les coliformes totaux) et à 44°C (pour les coliformes fécaux). Les colonies caractéristiques sont rouge brique d'un diamètre de 0,5mm. Mettre une boîte de pétri témoin contenant la gélose VRBL ; A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 2 fois 1ml dans deux boîtes de Pétri vides préparés à cet usage et numérotées ; Compléter ensuite chaque boîte avec 20ml de la gélose VRBL, fondue puis refroidie à +45°C ; Faire ensuite des

mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée ; Une série de boîtes est incubée à +37°C, pendant 24 à 48 h et servira à la recherche des Coliformes Totaux ; l'autre série est incubée à +44 °C pendant 24 à 48 h et servira à la recherche des Coliformes Fécaux

Lecture

Que ce soit à +37 ou à +44°C, les premières lectures se feront au bout de 24h et consistent à repérer les petites colonies rouges ayant poussé en masse fluorescentes, ce qui signifie que la lecture doit se faire dans une chambre noire et sous une lampe à UV. Les autres colonies non fluorescentes ne sont pas des coliformes totaux.

Dénombrement

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs de dilutions ;

- Les colonies apparaissent violettes de 0.5 à 1mm de diamètre entouré d'un halo de précipité des sels biliaires ;
- Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions ;

❖ Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (ISO 7251)

Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement une quantité de 1ml (20gouttes) au fond des boîtes de pétrie vides, préparées et numérotées à l'avance pour cet usage.
- Ensuite, ensemencement en masse 1ml de chaque dilution dans le milieu PCA préalablement fondue dans un bain-marie puis refroidie à 45°C (**Figure 21**).

Faire des mouvements circulaires de va-et-vient ou de forme huit (8) pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée.

- Laisser solidifier sur la paillasse.
- Incuber les boîtes préparées couvercles en bas, dans l'étuve à 30 °C pendant 72 h avec :
 - ✚ Première lecture à 24 heures.
 - ✚ Deuxième lecture à 48 heures.
 - ✚ Troisième lecture à 72 heures.

Le nombre de microorganisme est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Nombre de germes} = \Sigma c / V \times (n1 + 0.1n2) \times D$$

N : nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial ;

Σ colonies : Somme des colonies des boîtes interprétables ;

V (ml) : volume de solution déposée (1 ml) ;

n1 : nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue ;

n2 : nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue ;

D: facteur de la première dilution retenue.

b. Lecture

Après la période d'incubation spécifiée, déterminez quelles boîtes contiennent des colonies des formes lenticulaires. Si nous remarquons une invasion rapide des colonies dans des boîtes, comptez les colonies après 24 heures, puis à nouveau jusqu'à 72 heures (NF V 08-011).

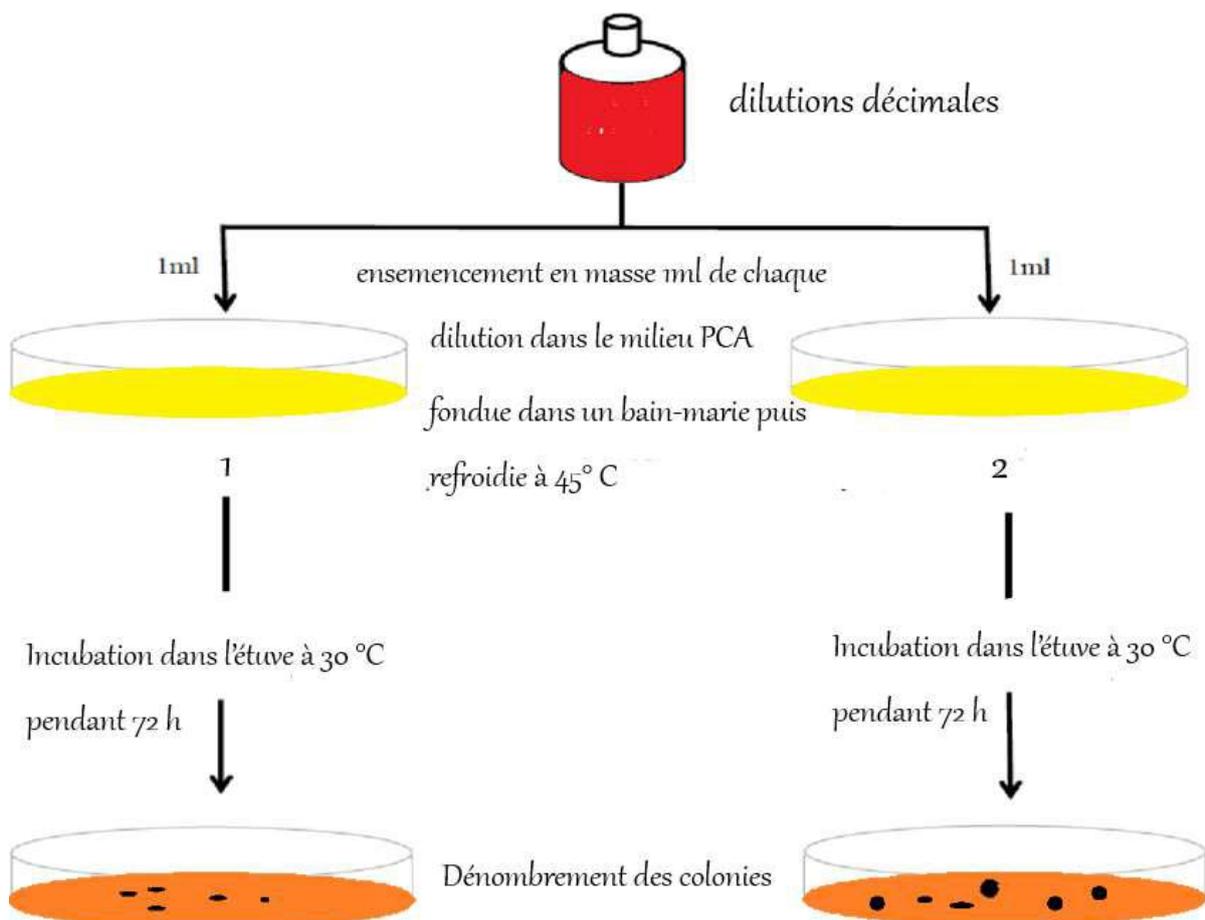


Figure 21: Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux. (NF V 08-020, ISO 7251).

❖ Recherche et dénombrement des levures et moisissures (ISO 7954).

La gélose Sabouraud estensemencée dans les mêmes conditions citées ci-dessus et incubée à 25°C (température ambiante) pendant 5 jours (ISO 7954). La présence de levures est indiquée par la formation de colonies ovoïdes, lisses de couleur blanchâtre, tandis que les moisissures se présentent sous forme de grandes colonies caractéristiques de couleur variable

❖ Recherche et dénombrement des levures et moisissures (ISO 6888-1)**Méthodes****a. échantillonnage**

Cette méthode consiste en :

- Préparation des suspensions mères et des dilutions décimales selon les recommandations de la norme **NF EN ISO 6887-1**
- Ensemencement par étalement sur gélose Baird-Parker
- Incubation pendant 24 h à 37° et lecture. Les colonies caractéristiques de *Staphylococcus aureus* sont des colonies noires (réduction du tellurite et tellure noir) brillantes, 0,5 à 2 mm de diamètre entourées d'un halo clair (protéolyse des protéines de l'oeuf) éventuellement entourées d'une zone de précipitation opaque (précipitation de glycérides obtenues par action de la lécithinase de la bactérie qui hydrolyse la lécithine du jaune d'oeuf).
- Purification des colonies caractéristiques sur gélose nutritive et identification biochimiques avec le test de la catalase et la fermentation du mannitol.

PARTIE III.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1. Choix de la méthode d'extraction :

La méthode d'extraction est choisie en fonction du type de colorant, de sa source et de sa stabilité. Il existe une tendance mondiale vers des méthodes naturelles et respectueuses de l'environnement, en particulier dans les industries alimentaires et pharmaceutiques. L'extraction à l'eau est choisie pour la teinture de caroube (*Ceratonia siliqua*) pour plusieurs raisons importantes, notamment :

- ✓ **Sécurité et santé** : L'eau est un solvant sûr et non toxique, ce qui est très important lors de l'extraction de substances utilisées dans les produits alimentaires, médicaux ou cosmétiques.
- ✓ **Disponibilité de l'eau et facilité de manipulation** : L'eau est facilement disponible et bon marché, ce qui fait de l'extraction de l'eau une méthode peu coûteuse et facile à utiliser par rapport aux solvants organiques tels que l'éthanol ou le méthanol.
Préservation des composés actifs : De nombreux composés phénoliques et pigments de la caroube sont solubles dans l'eau, comme les anthocyanes et les flavonoïdes, qui sont responsables de la couleur et de l'activité biologique du pigment.
- ✓ **Environnement** : L'extraction de l'eau est une option respectueuse de l'environnement et ne laisse aucun déchet chimique dangereux.
- ✓ **Utilisations traditionnelles** : La caroube est traditionnellement utilisée comme boisson en la faisant bouillir ou en la faisant tremper dans l'eau, indiquant que l'eau est adaptée à l'extraction de ses ingrédients actifs.

A. Résultats des Analyse physico-chimique :

Les résultats obtenus des analyses physico-chimiques de l'extrait de caroube révèlent des propriétés distinctives soulignant sa valeur fonctionnelle et applicative dans les domaines alimentaires et pharmaceutiques.

- La valeur enregistrée du pH est de 5,57 (**Tableau 08**) indique une nature légèrement acide de l'extrait. Cette acidité est probablement due à la présence d'acides organiques naturels tels que l'acide malique, citrique ou ascorbique, Le colorant de caroube est riche en **polyphénols** (ex. tanins) et **acides organiques** (acide gallique, malique), qui abaissent naturellement le pH. Un pH dans cette plage est favorable pour une utilisation alimentaire car il aide à inhiber la croissance de certains micro-organismes altérants, tout en stabilisant les composés phénoliques antioxydants. Ce résultat concorde avec les travaux (Albanese et al., 2019) qui a trouvé un pH de 5,8 ; de même pour des extraits commerciaux de colorant de caroube (E410) montrent des pH proches de 6,0 (EFSA, 2017)

- **Densité (1,060)**

Une densité de 1,060 (**Tableau 08**) pour le colorant de caroube est un résultat cohérent avec les propriétés physiques attendues. Ce qui a été trouvé par plusieurs auteurs y compris Benkeblia et al. (2012) qui a trouvé une densité comprise entre 1,38-1,055 ainsi qu'une étude sur concentrés de caroube (Türker et al., 2021) qui ont trouvé une densité de 1,62

- **Conductivité électrique (7,770 mS)**

Cette valeur (**Tableau 08**) élevée reflète une concentration importante en ions dissous, tels que les sels minéraux (calcium, potassium, magnésium...) et acides organiques. Cela indique que l'extrait est riche en composants minéraux naturels, ce qui renforce son potentiel comme colorant alimentaire ou ingrédient à effet régulateur. Nos résultats concordent avec plusieurs études (**Sakonidou et al., 2003, EFSA 2017 et;Türker et al., 2021**)

- **Indice de réfraction (1,3535)**

L'indice de réfraction (**Tableau 08**) mesuré indique une quantité notable de substances dissoutes, en particulier les sucres. Cela est cohérent avec la nature de la caroube, riche en sucres solubles, qui contribuent à améliorer le goût, la texture et la valeur énergétique des produits alimentaires. Ce résultat est en accord avec des études publiés par plusieurs auteurs qui ont travaillé sur le sirop de caroube : **Türker et al. (2021) et Benkeblia et al., 2012** qui ont trouvé respectivement (1,34 et 1,36)

Tableau 08 :Résultats d'Analyse Physico-Chimique de l'Extrait de Caroube

Paramètre	Résultat	Unité	Interprétation
pH	5,57	-	Légèrement acide, compatible avec les applications alimentaires
Densité	1,060	-	Bonne concentration en matières dissoutes
Conductivité électrique	7,770	mS	Teneur ionique élevée, présence probable de sels ou d'acides naturels
Indice de réfraction	1,3535	-	Concentration moyenne à élevée en substances dissoutes, notamment en sucres

B. Résultats des analyses microbiologiques

Notons que le nombre de bactéries aériennes à 30 ° C est de 110 unités de formation coloniale en gramme (**Tableau 09**), et cela se situe dans les limites acceptables dans les extraits de plantes. Naturellement, il y en a quelques-uns car les plantes contiennent souvent des micro-organismes inoffensifs.

Nous notons également l'absence des colonies totales et de l'écharchie cole (**Tableau 09, Figure 22**), une excellente indication de la sécurité des étapes de fabrication et du manque de pollution brazi, ce qui indique le respect des conditions d'hygiène pendant la préparation.

En outre, il est rassuré qu'il n'y a pas de levure et de moisissure (**Tableau 09**). Parce que son existence aurait pu indiquer la possibilité de croissance des champignons et la production de toxines fongiques, et cela est très important, surtout si le produit était dirigé vers la consommation humaine ou comme matières premières alimentaires.

De même, l'absence de Staphylococcus (**Tableau 09**) azae de l'enzyme de coagulation indique que la main-d'œuvre ou l'équipement utilisé n'a contribué à aucune pollution humaine. Cela améliore la sécurité de la chaîne productive.

Et n'oubliez pas le point le plus important: l'absence de Salmonella (**Tableau 09 , Figure 23**). Il s'agit d'un résultat de base car sa présence aurait été un danger direct pour la santé publique.

La caroube présente naturellement une faible charge microbienne, mais les valeurs rapportées ici (0 UFC/g pour les indicateurs clés) reflètent un contrôle qualité bien supérieur à la moyenne industrielle

En bref, tous les indicateurs confirment une qualité microbiologique élevée de cet extrait de plante. Il ne peut que recommander de suivre les mêmes protocoles d'hygiène pour maintenir ce niveau à l'avenir

Tableau 09 :Résultats d'Analyse microbiologie de l'Extrait de Caroube

Paramètre	Résultat	Méthode utilisée	Interprétation
Germes aérobies à 30°C	110 UFC/g	ISO 4833	Résultat acceptable dans les extraits végétaux (charge microbienne faible)
Coliformes totaux	0	ISO 4832	Absence de contamination fécale
Escherichia coli	0	ISO 7251	Bon indicateur d'hygiène
Levures	0	ISO 7954	Absence de contamination fongique
Moisissures	0	ISO 7954	Échantillon sain, sans risque de mycotoxines
Staphylococcus à coagulase positive	0	ISO 6888-1	Aucune contamination cutanée ou humaine détectée
Salmonella	Absente	AFNOR	Absence de germes pathogènes majeurs



Figure 22 : Absence de croissance des *Staphylococcus à coagulase*

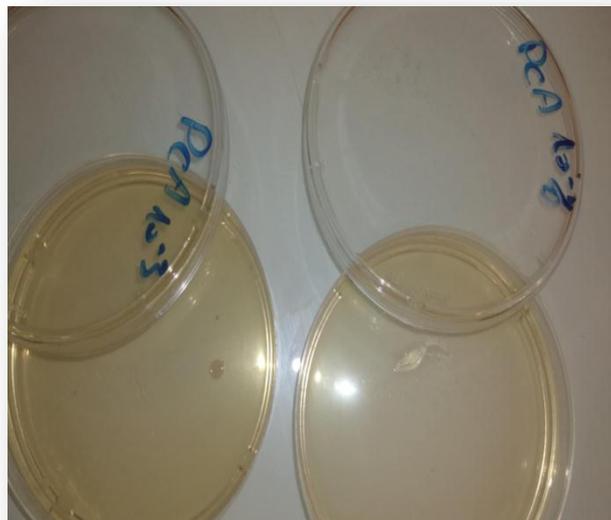


Figure 23 : Dénombrement des *germes aérobie* à 30°C

CONCLUSIONS

ET

PERSPECTIVES

Les analyses physico-chimiques et microbiologiques réalisées sur l'échantillon de colorant de caroube démontrent une excellente qualité ainsi qu'une sécurité irréprochable. Sur le plan nutritionnel, l'indice de réfraction (1,3535) et la densité (1,060) témoignent d'une forte concentration en sucres naturels tels que le saccharose et le fructose, offrant ainsi une source d'énergie naturelle ainsi qu'une alternative plus saine aux édulcorants artificiels. Bien que non mesurées directement, les fibres solubles et insolubles ainsi que les polyphénols naturellement présents dans la caroube favorisent la régulation du transit intestinal, réduisent l'absorption du cholestérol et contribuent à la prévention des maladies cardiovasculaires. Par ailleurs, la conductivité électrique élevée (7,770 mS) suggère une richesse en sels minéraux essentiels tels que le potassium, le magnésium et le calcium, bénéfiques pour le fonctionnement du système nerveux, musculaire et cardiovasculaire. Sur le plan de la santé, la caroube possède des propriétés antioxydantes importantes grâce à la présence de composés phénoliques et de tanins, offrant ainsi une protection naturelle contre le stress oxydatif et le vieillissement prématuré. Elle est également reconnue pour son effet hypocholestérolémiant et sa capacité à réguler la glycémie, en plus d'être exempte de caféine, de gluten et des allergènes majeurs, ce qui la rend particulièrement adaptée aux personnes atteintes de maladies cardiovasculaires, de diabète ainsi qu'aux enfants et aux personnes sensibles. Du point de vue microbiologique, l'absence de germes pathogènes tels qu'*E. coli*, *Salmonella* ou *Staphylococcus* ainsi que de levures et de moisissures atteste d'une préparation rigoureuse et hygiénique, ainsi que d'une stabilité favorable du produit. En conclusion, le colorant de caroube apparaît comme un ingrédient naturel prometteur, à la fois sûr, nutritif et fonctionnel, idéal pour des usages alimentaires, nutraceutiques ou cosmétiques, à condition de garantir des conditions de conservation et de formulation adaptées.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

A.

1. **Azeredo, H. M. C. (2009)**. Betalains: properties, sources, applications, and stability. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(12), 2365–2376.
2. **Albanese, D., Cinquanta, L., Cuccurullo, G., & Di Matteo, M. (2019)**. Impact of thermal treatments on polyphenols and antioxidant capacity of artichoke heads. *Food Chemistry*, 271, 197–205.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.177>

B.

3. **Bechtold, T., & Mussak, R. (Eds.). (2009)**. *Handbook of Natural Colorants*. Wiley.
4. **Bohren, C. F., & Huffman, D. R. (1983)**. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. Wiley-VCH.
5. **Brady, N., & Weil, R. R. (2008)**. *The Nature and Properties of Soils – chapitre sur la couleur des sols due aux oxydes de fer (pertinent pour les couleurs naturelles)*.
6. **Bruneton, J. (1995)**. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3e éd.)*. Paris : Lavoisier-Tec & Doc.
7. **Burkinshaw, S. M. (2016)**. *Physico-Chemical Aspects of Textile Coloration*. Wiley.

C.

8. **Campbell, A. K. (2008)**. *Living Light: Bioluminescence in Animals and Plants*. Oxford University Press.
9. **Cardon, D. (2007)**. *Natural Dyes: Sources, Tradition, Technology and Science*. Archetype Publications.
10. **Carle, R., & Schweiggert, R. M. (2016)**. *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages: Industrial Applications for Improving Food Color*. Woodhead Publishing.

D.

11. **Delgado-Vargas, F., & Paredes-López, O. (2003)**. *Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses*. CRC Press.

E.

12. **Eastaugh, N., Walsh, V., Chaplin, T., & Siddall, R. (2008).** *Pigment Compendium: A Dictionary and Optical Microscopy of Historical Pigments.* Routledge.
 13. EFSA (2017). Safety of carob bean gum (E 410). *EFSA Journal*, 15(3).
 14. **European Food Safety Authority (EFSA). (2021).** Guidance on the data required for the risk assessment of food additives. *EFSA Journal*, 19(10), e06850.
 15. **EFSA (2017).** Re-evaluation of carob bean gum (E 410). *EFSA Journal*, 15(3).
- F.**
16. **Fox, D. L. (1979).** *Biochromy: Natural Coloration of Living Things.* University of California Press.
 17. **Fraga, C. G. (2007).** Plant polyphenols: How to translate their in vitro antioxidant actions to in vivo conditions. *IUBMB Life*, 59(4-5), 308–315.
- G.**
18. **Gürses, A. et al. (2016).** *Dyes and Pigments: New Research and Applications.* Springer.
- H.**
19. **Haddock, S. H. D., Moline, M. A., & Case, J. F. (2010).** Bioluminescence in the sea. *Annual Review of Marine Science*, 2, 443–493.
 20. **Halliwell, B. (2006).** Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141(2), 312–322.
 21. **Hecht, E. (2002).** *Optics (4th ed.).* Addison-Wesley.
 22. **Hunger, K. (Ed.). (2003).** *Industrial Dyes: Chemistry, Properties, Applications.* Wiley-VCH.
- J.**
23. **Johnsen, S. (2012).** *The Optics of Life: A Biologist's Guide to Light in Nature.* Princeton University Press.
- K.**
24. **Kinoshita, S., & Yoshioka, S. (2005).** Structural Colors in Nature: The Role of Regularity and Irregularity in the Structure. *ChemPhysChem*, 6(8), 1442–1459.
- L.**
25. **Lee, D. W. (2007).** *Nature's Palette: The Science of Plant Color.* University of Chicago Press.

M.

26. **Mason, B. (1998).** *The Nature of Colour*. Smithsonian Institution Press.
27. **Merzouki, A., Ed-derfoufi, F., & Molero Mesa, J. (2000).** Contribution to the knowledge of ethnobotanical and ethnopharmacological plant uses in the Rif region (North of Morocco). *Fitoterapia*, 71(4), 389–401.

N.

28. **Nassau, K. (2001).** *The Physics and Chemistry of Color: The Fifteen Causes of Color*(2nd ed.). Wiley.

O.

29. **OMS, 2002.** *Santé et environnement dans le développement durable : cinq années après l'Agenda 21*. Genève : Organisation mondiale de la Santé.

P.

30. **Pacifico, S., Galasso, S., Piccolella, S., Kretschmer, N., Pan, S. P., & Nocera, P. (2015).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the ethanolic extract of the leaves from *Crataegus monogyna* Jacq. *Food Research International*, 77, 630–638.
31. **Parker, A. R. (2000).** 515 million years of structural colour. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*, 2(6), R15–R28.

R.

32. **Rodriguez-Amaya, D. B. (2019).** Update on natural food pigments - A mini-review. *Current Opinion in Food Science*, 26, 25–34.

T.

33. **Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2015).** *Plant Physiology and Development* (6th ed.). Sinauer Associates.
34. **Tanaka, Y., Sasaki, N., & Ohmiya, A. (2008).** Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal*, 54(4), 733–749.
35. **Venil, C. K., & Lakshmanan, M. (2015).** Microbial pigments: Current status and future applications. In S. K. Deshmukh & M. K. Gupta (Eds.), *Advances in Biotechnology*. Springer.

V.

36. **Vukusic, P., & Sambles, J. R. (2003).** Photonic structures in biology. *Nature*, 424(6950), 852–855.

S

37. Sakonidou, E. P., Krokida, M. K., & Maroulis, Z. B. (2003). Effect of pH on the enzymatic hydrolysis of carob germ proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(21), 6236–6239. <https://doi.org/10.1021/jf0345315>

T

38. Türker, B., Yilmaz, M. T., & Karaman, S. (2021). Production and characterization of carob extract powder: Effect of spray drying conditions on powder properties and adsorption behaviour. *Food Hydrocolloids*, 112, 106333. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106333>

ANNEXES

Composition et études de préparation du milieu de culture de cellules

1. Composition typique d'un milieu de culture cellulaire (exemple : DMEM)

Composant	Concentration approx.
Glucose	1–4,5 g/L
Acides aminés essentiels	Selon formulation (ex. L-lysine, L-leucine...)
Vitamines	Ex. acide folique, vitamine B12
Sels minéraux	NaCl, KCl, CaCl ₂ , MgSO ₄ , NaHCO ₃
Rouge de phénol (indicateur pH)	~15 mg/L
Glutamine ou substitut	2–4 mM
Sérum fœtal bovin (FBS) (optionnel)	5–10 % (v/v)
Antibiotiques (optionnels)	Pénicilline, streptomycine

2. Exemple de préparation du milieu (DMEM)

- Travailler en conditions stériles sous hotte à flux laminaire.
 - Vérifier la bouteille de milieu commercial (ex. DMEM).
 - Ajouter **10 % (v/v) de sérum fœtal bovin (FBS)** si nécessaire.
 - Ajouter **1 % (v/v) d'antibiotiques** (pénicilline-streptomycine) si souhaité.
 - Bien homogénéiser délicatement.
 - Filtrer sur membrane stérile de 0,22 µm si préparation maison.
 - Conserver à 4 °C à l'abri de la lumière.
-

3. Points d'étude et de validation du milieu

- Vérification de la stérilité du milieu.
 - Mesure du pH final (7,0–7,4).
 - Vérification de l'osmolarité (~280–320 mOsm/kg).
 - Contrôle de l'absence de mycoplasmes.
 - Test de viabilité cellulaire (exemple : coloration au bleu trypan).
-

4. Remarques supplémentaires

- Adapter la concentration de sérum selon la lignée cellulaire.
- Remplacer la glutamine par **GlutaMAX** pour plus de stabilité.
- Certains milieux sont sans sérum (chemically defined) : prévoir des suppléments adaptés.
- Toujours étiqueter la date de préparation et la composition sur le flacon.

NOTE : Les compositions exactes varient selon le fournisseur (Gibco, Sigma, etc.) et le type de milieu (DMEM, RPMI, MEM, etc.).