

The phenolic compounds of *Ceratonia siliqua* pulps and seeds (Les composés phénoliques des pulpes et des graines de *Ceratonia siliqua*)

F. Fadel¹, S. Fattouch², S. Tahrouch³, R. Lahmar², A. Benddou⁴, A. Hatimi³

¹Ecole Nationale des Sciences Appliquées, Université Ibn Zohr, B.P 1136/S – Agadir – Maroc.

²Laboratoire de Biotechnologie, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie, Tunis, Tunisie

³Laboratoire de Biotechnologies Végétales, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Zohr, B.P. 8106-Dahkla Agadir, Maroc.

⁴Ecole Nationale de Commerce et de Gestion, Université Ibn Zohr, Agadir, Maroc.

Received: 12 May 2011; revised version 12 June 2011; accepted: 13 June 2011

*Corresponding Author, E-mail: fatiha.fadel@gmail.com

Abstract

The phenolic compounds of the pulps and seeds aqueous acetone extracts of the carobs tree (*Ceratonia Siliqua*), harvested from two areas (Izouika and Reggada) in the southwest of Morocco, were analysed using HPLC. High-performance liquid chromatography-diode array detection are used for the identification and quantification of the phenolic compounds of these extracts, among which in particular the gallic acid, the syringic acid, the p-coumaric acid, the m-coumaric acid, the benzoic acid and the hydroxytyrosol. Generally, in both areas the extracts of the pulps are richer, qualitatively and quantitatively, in phenolic compounds towards those of the seeds. The phenolic profile of the pulp is dominated by the coumaric acid (20,52 % of Izouika against 17,05 % of Reggada) and the gallic acid (17,8 % of Izouika against 12,57 % of Reggada). In the extracts of seeds, coumaric acid and gallic acid are also majority phenolic acids, the coumaric acid represents 8,07 % in Izouika and 8,18 % in Reggada while the gallic acid represents 5,01 % in Izouika and 3,95 % in Reggada. The comparison of the results, obtained for the forest carob tree (Reggada) and that of a cultivated Izouika, shows that globally the difference is not significant between the total phenols of pulps and seeds between both areas.

Keywords: *Ceratonia Siliqua*, HPLC, Phenolic compounds, Pulps, Seeds.

Résumé

Les extraits acétoaqueux des pulpes et des graines du caroubier (*Ceratonia Siliqua*) de deux localités différentes du sud ouest marocain (Izouika et Reggada), sont analysés pour leurs composés phénoliques. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) à barrettes de diodes est utilisée pour l'identification et la quantification des composés phénoliques de ces extraits, dont notamment l'acide gallique, l'acide syringique, l'acide p-coumarique, l'acide m-coumarique, l'acide benzoïque et l'Hydroxytyrosol. En général, dans les deux localités les extraits de la pulpe sont plus riches, qualitativement et quantitativement, en composés phénoliques au regard de ceux de la graine. Le profil phénolique de la pulpe est dominé par l'acide coumarique (20,52% à Izouika contre 17,05% à Reggada) et l'acide gallique (17,8% à Izouika contre 12,57% à Reggada). Dans les extraits des graines, l'acide coumarique et l'acide gallique sont également les acides phénoliques majoritaires, l'acide coumarique représente 8,07% à Izouika et 8,18% à Reggada alors que l'acide gallique représente 5,01% à Izouika et 3,95% à Reggada. La comparaison des résultats obtenus pour le caroubier forestier (Reggada) et celui d'une plantation privée (Izouika) montre, que globalement la différence, entre le pouls des phénols totaux des pulpes et celui des graines, est très peu significative entre les deux localités.

Mot clés : *Ceratonia Siliqua*, Composés phénoliques, Graines, HPLC, Pulpes.

1. Introduction

Le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*), appartenant à la grande famille des légumineuses, est une essence presque endémique du pourtour méditerranéen, cultivé depuis longtemps pour ses produits dérivés mais aussi pour sa résistance au manque d'eau. La gousse du caroubier ou caroube, comestible et sucrée, présente une valeur énergétique importante [1,2]. Deux principaux produits sont tirés de la caroube. La gomme, extraite de l'endosperme de la graine, est utilisée dans les industries agro-alimentaires, pharmaceutiques, cinématographiques, textiles et cosmétiques. Etant le dérivé le plus recherché de la caroube, la gomme possède des caractéristiques très intéressantes en tant que multi additif [3]. La farine, obtenue en séchant, torréfiant et moulant les gousses après les avoir débarrassées de leurs graines, est employée pour la production industrielle de bioéthanol et d'acide citrique [4] mais surtout en agroalimentaire comme antioxydant grâce à sa composition riche en polyphénols. En effet, la caroube contient 2 à 20% de composés phénoliques [5,4], 24 différentes structures principales ont déjà été identifiées et leur teneur déterminées par [5]. Des études récentes ont montré que d'autres parties de l'arbre tel que la feuille [6,7] et l'écorce [8] sont également riches en composés phénoliques. Il est prouvé actuellement que ces composés offrent des possibilités chimio-préventives intéressantes contre certains cancers, en particulier ceux de la région gastro-intestinale [9,10]. Plusieurs autres activités biologiques différentes sont attribuées aux composés phénoliques, dont notamment, antioxydante [11], antimutagène [12], anticarcinogène [13], antiproliférative [14] et antioestrogénique [15]. Il a également été prouvé que ces biométabolites jouent un rôle indéniable dans la protection des plantes vis à vis de différents stress [16,17] et qu'ils peuvent de ce fait subir des fluctuations très importantes. Pour toutes les vertus du caroubier, la région du Souss Massa Draa, dont les pluviométries ne dépassent pas 200 mm/an dans certaines localités, a lancé un projet de plantation d'un million de caroubiers (DPA, Tiznit, 2007). Il s'agit de la protection de l'environnement par l'installation d'une ceinture verte contre la désertification. Une situation qui pousse les acteurs du secteur agricole vers des cultures peu exigeantes en eau, à savoir l'arboriculture et particulièrement le caroubier.

C'est dans ce sens qu'une analyse des extraits des pulpes et des graines du caroubier visant à comparer la composition phénolique de la caroube du domaine forestier et celle issue du domaine privé serait intéressante et contribuerait à valoriser cette essence forestière, fourragère et fruitière. Cette étude est menée dans deux localités différentes de la province de Tiznit, région de Souss Massa (sud ouest marocain).

2. Matériels et Méthodes

Matériel végétal

Les gousses du caroubier sont récoltées dans la région de Souss Massa au niveau de deux localités situées dans la province de Tiznit :

- Reggada située au sud de Tiznit (village d'Oulad Jrrar) : caroubier forestier,
- Izouika située au Nord de Tiznit (commune d'El Maader El Kabir) : plantation privée.

Les gousses ont été ensuite séchées à l'ombre à température ambiante. Les pulpes et les graines, séparées par concassage manuel des fruits secs, ont été broyées finement dans un broyeur électrique M20 2000 t/min de type IKA-Universalmühle et conservées à l'abri de l'humidité et de la lumière.

Extraction des composés phénoliques

1g de poudre de pulpes ou de graines du caroubier a été mélangé à 10 ml d'acétone 70% préparé à l'avance et conservé à une température entre -10°C et -20°C pendant au moins 12 heures, ensuite le mélange est filtré. Le filtrat est concentré par évaporation rotative à 40°C jusqu'à élimination complète de l'acétone. La phase aqueuse récupérée est analysée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

Méthode

La Chromatographie Liquide à Haute Performance et la méthode utilisée sont les mêmes utilisées par [18]. Les composés phénoliques ont été analysés par un système HPLC (Beckman, Fullerton, CA, USA), en utilisant une colonne de phase inverse Discovery RP-C18 (Supelco, 250 mm x 4,6 mm; taille des particules est de 5 µm). Les composés ont été séparés selon le gradient de solvants A (Eau/Acide formique ; 19/1) et B (Méthanol) décrit par [18] et détectés à 280 nm avec un détecteur UV (D166). Les chromatogrammes ont été analysés par le logiciel Gold Analysis v1.5 (Beckman Instruments, CA, USA). La teneur des composés phénoliques identifiés a été calculée en corrélant les pics mesurés avec les courbes d'étalonnage obtenues par des composés de référence (fournis

par Sigma-Aldrich, Paris, France) à savoir l'acide gallique, l'acide procatéchique, le 4-hydroxy-benzoïque, le 4-hydroxy-acétique, l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide *p*-coumarique, l'acide *m*-coumarique, l'acide *o*-coumarique, l'acide férulique, l'acide benzoïque, l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol).

Analyse statistique

Les résultats de l'analyse par HPLC des composés phénoliques des pulpes et des graines du caroubier sont traités par : EXCEL et le test t pour échantillons indépendants par groupe (STATISTICA 6).

3. Résultats et discussion

L'analyse par HPLC des extraits des pulpes et des graines du caroubier des deux localités montre leur richesse en composés phénoliques (figures 1, 2, 3 et 4). L'acide coumarique (addition des teneurs des acides *p* et *m*-coumarique) et l'acide gallique sont les acides phénoliques majoritaires identifiés aussi bien dans les extraits des pulpes que dans ceux des graines. L'acide coumarique représente 20,52±8,76 % des composés phénoliques détectés dans l'extrait des pulpes du caroubier d'Izouika (plantation privée) et 17,05±10,20 % dans l'extrait des pulpes de Reggada (domaine forestier) (tab.1). Dans la localité d'Izouika, les acides *p*-coumarique et *m*-coumarique représentent respectivement 10,78±6,27 % et 9,73±5,56 % alors que dans la localité de

Reggada, l'acide *p*-coumarique représente 13,27±4,15 % et l'acide *m*-coumarique 3,78±2,10 %. L'acide gallique, acide phénolique majoritaire également, représente 17,8±9,06 % des composés phénoliques détectés dans les pulpes du caroubier d'Izouika et 12,57±5,67 % dans les pulpes de Reggada.

Dans les extraits des graines du caroubier, l'acide coumarique est également l'acide phénolique majoritaire avec un pourcentage de 8,07±5,79 % à Izouika (6,47±3,23 % d'acide *p*-coumarique et 1,6±1,37 % d'acide *m*-coumarique) et 8,18±7,26 % à Reggada dont 6,55±3,86 % d'acide *p*-coumarique et 1,62±1,31 % d'acide *m*-coumarique (tab.1). L'acide gallique représente 5,01±3,42 % dans l'extrait des graines d'Izouika et 3,95±2,09 % dans l'extrait des graines de Reggada.

La différence entre les pulpes d'Izouika et celles de Reggada, ainsi que les graines d'Izouika et celles de Reggada, n'est pas significative pour l'ensemble des acides phénoliques majoritaires identifiés (tab.1). Cependant, une différence hautement significative entre les pulpes et les graines dans chaque localité, pour les acides phénoliques majoritaires identifiés, est notée (tab.2). En effet, dans la localité d'Izouika, l'extrait des pulpes est plus riche en acide gallique, en acide coumarique dont l'acide *m*-coumariques et en acide benzoïque par rapport aux extraits des graines (tab.2 et figure1). A Reggada, la différence est significative pour l'acide gallique et l'acide coumarique (tab.2 et figure2). Contrairement aux pulpes, les graines du caroubier des deux localités ne contiennent ni l'hydroxytyrosol ni l'acide protocatéchique (tab.1, tab.2, figure3 et figure4).

Tableau 1 : Pourcentage des composés phénoliques identifiés des pulpes et des graines du caroubier d'une plantation privée et du domaine forestier.

	% des composés phénoliques détectés			
	Pulpe		Graine	
	Izouika	Reggada	Izouika	Reggada
Acide gallique	17,8±9,06 ^a	12,57±5,67 ^a	5,01±3,42 ^x	3,95±2,09 ^x
Acide syringique	3,24±2,45 ^a	5,11±3,18 ^a	2,82±0,63 ^x	4,12±1,23 ^x
Acide coumarique*	20,52±8,76 ^a	17,05±10,20 ^a	8,07±5,79 ^x	8,18±7,26 ^x
Acide <i>p</i> -coumarique	10,78±6,27 ^a	13,27±4,15 ^a	6,47±3,23 ^x	6,55±3,86 ^x
Acide <i>m</i> -coumarique	9,73±5,56 ^a	3,78±2,10 ^a	1,6±1,37 ^x	1,62±1,31 ^x
Acide benzoïque	4±1,98 ^a	3,19±2,33 ^a	1,73±0,93 ^x	1,93±1,4 ^x
Acide 4hydroxybenzoïque	00 ^a	0,23±0,2 ^a	0,12±0,11 ^x	0,11±0,10 ^x
Acide protocatéchique	0,13±0,11 ^a	0,79±0,55 ^a	00	00
Hydroxytyrosol	0,64±0,62 ^a	1,21±1,2 ^a	00	00

Pour le même organe, les colonnes dont les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différents au seuil P= 0,05. * La teneur en acide coumarique est l'addition de celles de *p* et *m*-coumarique.

Tableau 2 : Comparaison des composés phénoliques identifiés dans les pulpes et dans les graines de chaque localité.

	Izouika		Reggada	
	pulpes	graines	pulpes	graines
Acide gallique	17,80±9,06 ^a	5,01±3,42 ^b	12,57±5,67 ^x	3,95±2,09 ^y
Acide syringique	3,24±2,45 ^a	2,82±0,63 ^a	5,11±3,18 ^x	4,12±1,23 ^x
Acide coumarique	20,52±8,76 ^a	8,07±5,79 ^b	17,05±10,20 ^x	8,18±7,26 ^y
Acide <i>p</i> -coumarique	10,78±6,27 ^a	6,47±3,23 ^a	13,27±4,15 ^x	6,55±3,86 ^x
Acide <i>m</i> -coumarique	9,73±5,56 ^a	1,6±1,37 ^b	3,78±2,10 ^x	1,62±1,31 ^x
Acide benzoïque	4±1,98 ^a	1,73±0,93 ^b	3,19±2,33 ^x	1,93±1,4 ^x
Acide 4-hydroxybenzoïque	0,00 ^a	0,12±0,11 ^a	0,23±0,2 ^x	0,11±0,10 ^x
Acide protocatéchique	0,13±0,11 ^a	0,00 ^a	0,79±0,55 ^x	0,00 ^x
Hydroxytyrosol	0,64±0,62 ^a	0,00 ^a	1,21±1,2 ^x	0,00 ^x

Pour la même localité, les colonnes dont les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différents au seuil P= 0,05.

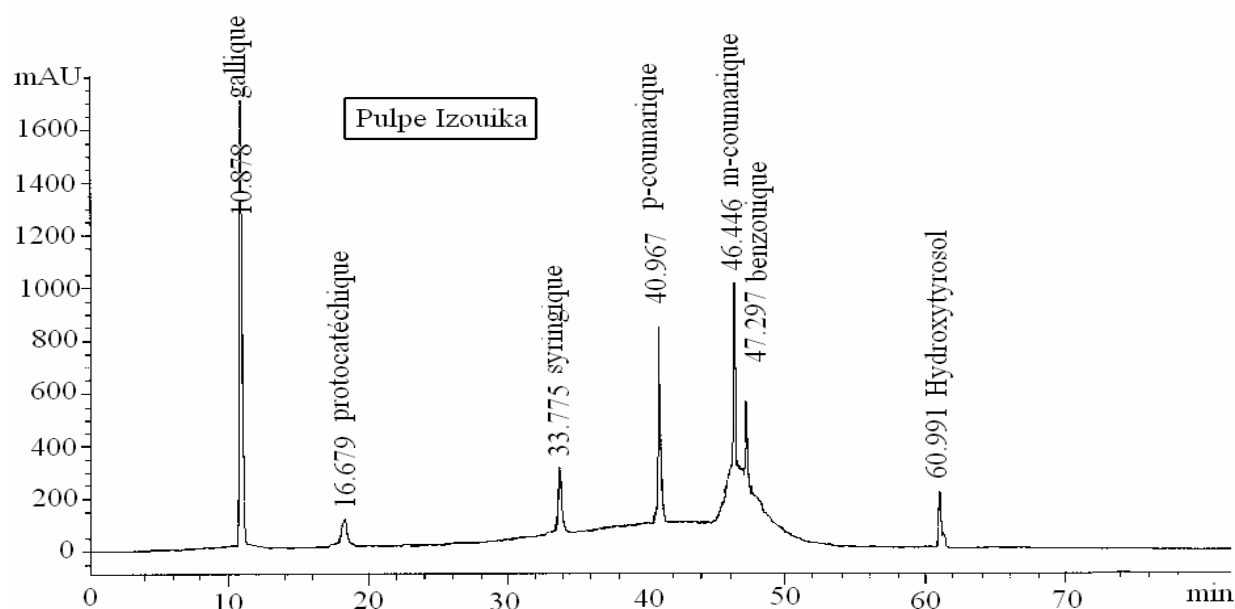


Figure 1: Profil chromatographique des composés phénoliques extraits des pulpes du caroubier d'Izouika.

Nos résultats montrent une différence significative ($p < 0,05$) entre la teneur des pulpes et celle des graines. En effet, nous avons constaté que dans les deux localités les extraits des pulpes ont des teneurs en acides phénoliques plus importantes que celles des extraits des graines (tab.2). Les analyses des extraits des pulpes ont également montré une gamme de composés phénoliques plus diversifiée que celle des extraits des graines. En effet, l'analyse chromatographique a révélé que les extraits des graines sont dépourvus d'acide protocatéchique et d'hydroxytyrosol qui sont, en revanche, présents dans les extraits des pulpes

(figures 1 et 2). L'hydroxytyrosol, dont la pulpe du domaine forestier est plus riche quoique les analyses statistiques ont montré une différence non significative entre Izouika et Reggada, est un antioxydant puissant. Des études ont prouvé qu'une faible dose d'hydroxytyrosol réduit les conséquences de la fumée passive chez les rats [19]. L'étude de l'auto-oxydation des huiles montre que l'hydroxytyrosol est le composé le plus actif : le peroxyde d'hydrogène est complètement inhibé par l'ajout d'hydroxytyrosol [20].

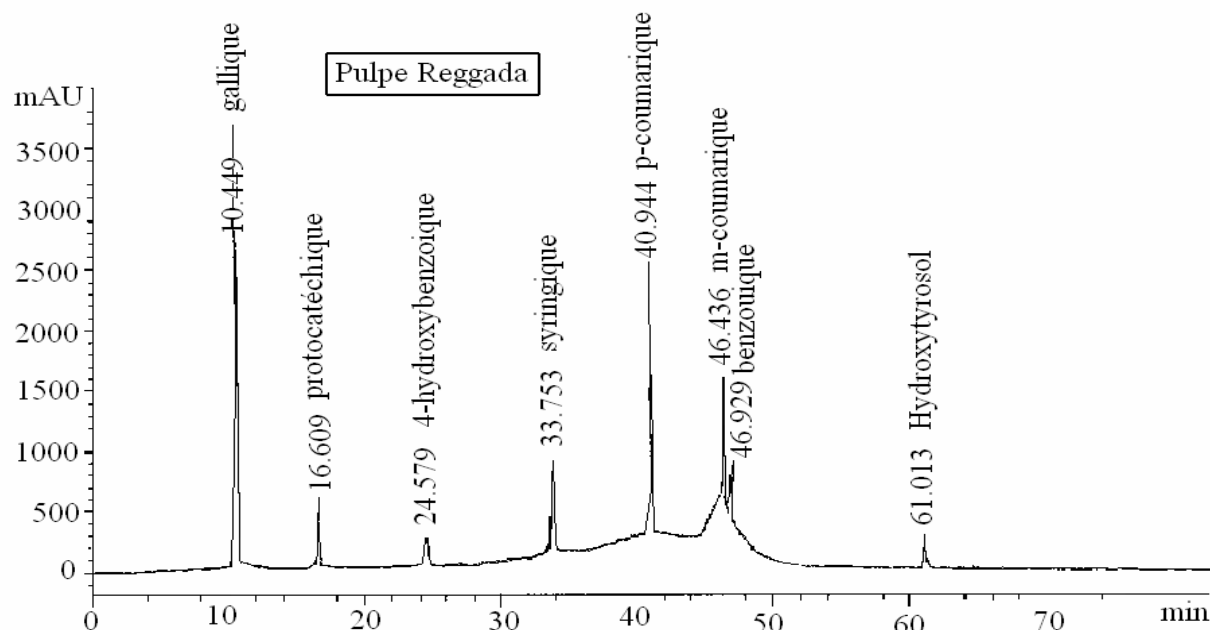


Figure 2 : Profil chromatographiques des composés phénoliques extraits des pulpes du caroubier de Reggada.

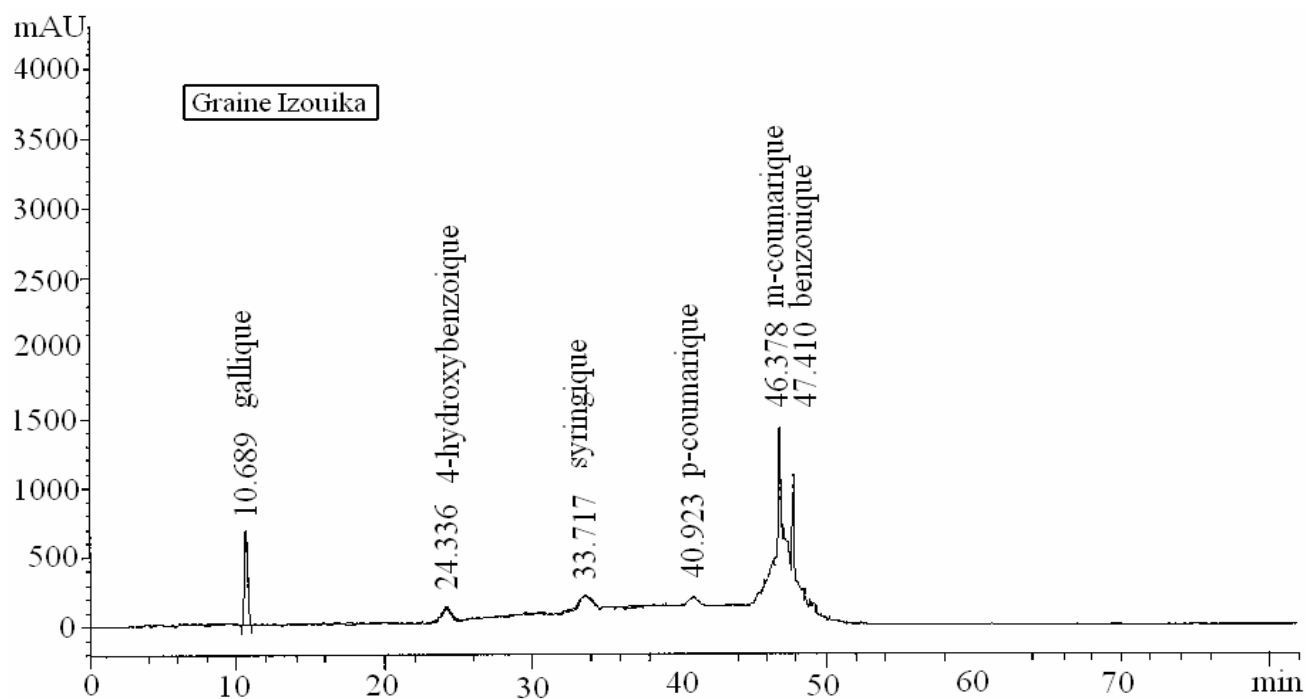


Figure 3 : Profil chromatographiques des composés phénoliques extraits des graines du caroubier d'Izouika.

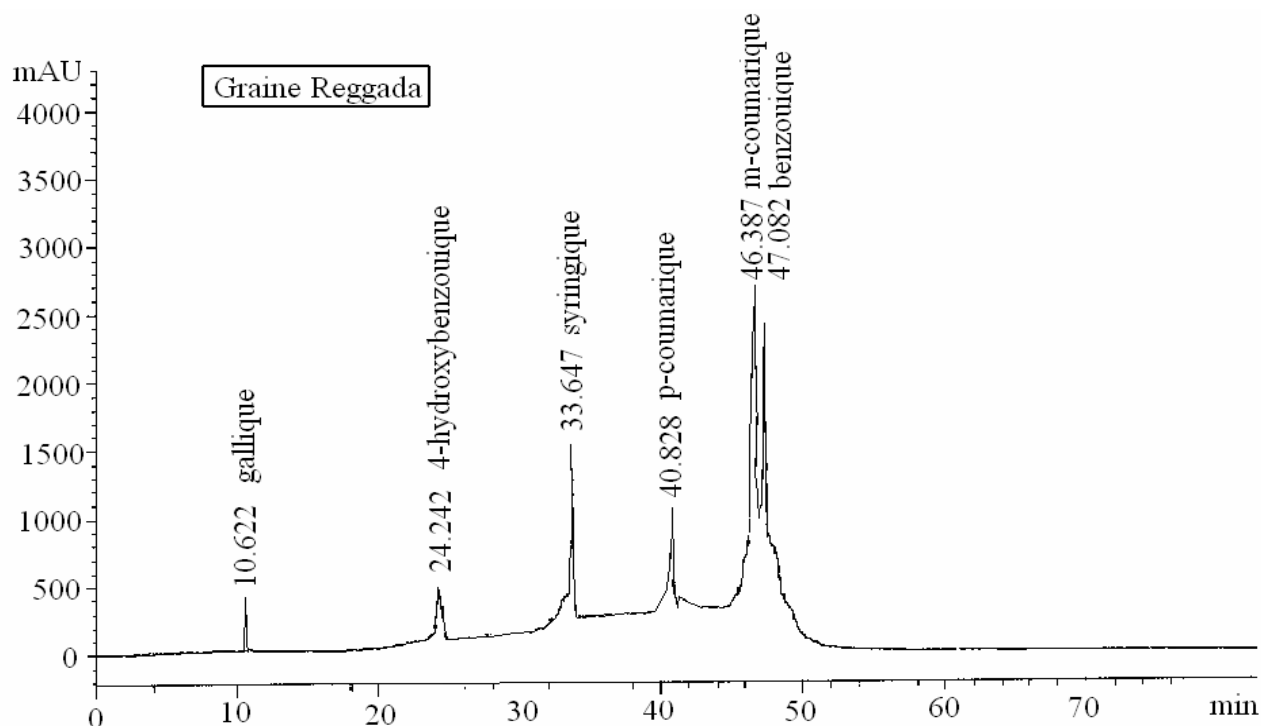


Figure 4 : Profil chromatographique des composés phénoliques extraits des graines du caroubier de Reggada.

La différence n'est pas significative ($p < 0,05$) entre la plantation privée et le domaine forestier, soumis à l'agression hydrique, pour l'ensemble des composés phénoliques identifiés aussi bien pour l'extrait de la graine que pour l'extrait de la pulpe du caroubier. Ces résultats diffèrent de ceux trouvés par Sreenivasulu *et al.*, [21] ; Naczek et Shahidi, [22] qui ont cité que la synthèse et l'accumulation des composés phénoliques dans les plantes est généralement stimulée en réponse à différents stress. Misirli *et al.*, [23] ont également mentionné que les cellules végétales répondent aux stimuli environnementaux en synthétisant les métabolites secondaires qui peuvent les protéger contre les agents de l'agression.

La présence des composés phénoliques dans le fruit du caroubier a été rapportée par plusieurs auteurs [5,24-27]. En effet, la pulpe et la graine du caroubier sont riches en acides phénoliques qui font partie des composés phénoliques en général, groupe de substances phytochimiques le plus important dans la nature [28] et ayant des activités antioxydantes, de chélation et anti-inflammatoire... [29]. Les acides phénoliques ont un pouvoir antibactérien plus puissant par rapport à celui des flavonoïdes [30]. L'acide coumarique est l'acide phénolique majoritaire des extraits de la pulpe et de la graine du

caroubier suivi de près par l'acide gallique qui constitue, également le composé phénolique majoritaire du thé noir [31]. La pulpe, connue pour son activité antioxydante [32] et pouvant être utilisée dans le domaine médical, contient plus d'acide coumarique et d'acide gallique que la graine. L'acide coumarique a des propriétés antioxydantes et pourrait avoir un rôle dans la réduction du risque du cancer de l'estomac [33]. Il a aussi une activité antiulcéreuse [34], ce qui valorise l'utilisation de la pulpe et de la graine du caroubier dans les industries pharmaceutique, parapharmaceutique et alimentaire. Quant à l'acide gallique, il semble avoir un effet antiasthmatique [35] et inhibe la formation du cancer œsophagien chez les rats [36]. L'acide gallique utilisé, dans les tests de routine, comme substance de référence dans les activités antioxydantes [37], manifeste également une activité antiradicalaire supérieure à celle de l'acide ascorbique [38].

Notre étude montre que les arbres du caroubier présentent la même teneur et le même profil en acides phénoliques dans le domaine forestier et la plantation privée. Ce qui montre que cet arbre, ne nécessitant pas de soins cultureux particuliers, pourrait être utilisé pour améliorer le revenu des agriculteurs des régions sèches et augmenter la production marocaine en caroubes. En effet cet arbre donne une production même pendant une

année de sécheresse [39] permettant probablement de couvrir le manque de certains dérivés de la courbe au Maroc souvent importés de l'Algérie ou d'autres pays [3].

4. Conclusion

Dans les deux localités les extraits des pulpes de caroube ont des teneurs en acides phénoliques plus importantes et une gamme de composés phénoliques plus diversifiée que celles des extraits des graines de ces mêmes fruits. En effet, dans chaque localité, les pulpes contiennent des teneurs plus importantes en acides phénoliques majoritaires identifiés (acides coumarique et gallique) que les graines qui sont dépourvus d'acide protocatéchique et d'hydroxytyrosol. La différence n'est pas significative entre la plantation privée et le domaine forestier pour l'ensemble des composés phénoliques identifiés aussi bien pour l'extrait de la graine que pour l'extrait de la pulpe du fruit de caroubier. Ce qui montre que cet arbre, connu par sa résistance au manque d'eau, pourrait probablement servir comme espèce de choix, dans la lutte contre la désertification.

Références

1. Biner, B., Gubbuk, H., Karhan, M., Aksu, M., Pekmezci, M. *Food Chemistry* 100 (2007) 1453-1455.
2. Avallone, R., Plessi, M., Baraldi, M., Monzani, A. *Journal of food composition and analysis*, 10 (1997) 166-172.
3. Sbay, H. Le caroubier au Maroc, Un arbre d'avenir. CRF Collection Maroc Nature (2008).
4. Makris, D., Kefalas, P. *Food Technol. Biotechnol.* 42 (2004) 105-108.
5. Owen, R., Haubner, R., Hull, W., Erben, G., Spiegelhalder, B., Bartscha, H. *Food and Chemical Toxicology* 41 (2003) 1727-1738.
6. Whiteley, L.O., Klurfeld, D.M. *Nutrition and Cancer* 36 (2000) 131-149.
7. Tahiri, A., Fadel, F., Tahrouch, S., El madidi, S., Hatimi, A. Symposium sur les composés phénoliques, 17 et 18 décembre (2009), Agadir -Maroc.
8. Katim Alaoui, Yahya Cherrah, Abdellah Farah, Abdesslam Ennabili, Brahim El Bali and Mohammed Lachkar, *Rec. Nat. Prod.* 4:4 (2010) 193-204
9. Hanane El Hajaji , Nadya Lachkar , Yahya Cherrah , Katim Alaoui , Abdellah Farah , Abdesslam Ennabili, Brahim El Bali and Mohammed Lachkar, *Journal Arabian of chemistry* 4 (2011) 321.
10. Peters, U., Sinha, R., Chatterjee, N., Subar, A.F., Ziegler, R.G., Kulldorff, M., Bresalier, R., Weissfeld, J.L., Flood, A., Schatzkin, A., Hayes, R.B. *The Lancet* 361 (2003) 1491-1495.
11. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B. *Free Radical Research* 22 (1995) 377-383.
12. Yamagishi, M., Natsume, M., Nagaki, A., Adachi, T., Osakabe, N., Takizawa, T., Kumon, H., Osawa, T. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (2000) 5074-5078.
13. Mukhtar, H., Wang, Z.Y., Katiyar, S.K., Agarwal, R. *Preventive Medicine* 21 (1992) 351- 360.
14. Manthey, J.A., Guthrie, N. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (2002) 5837-5843.
15. Messina, M., Barnes, S. *Journal of the National Cancer Institute* 83 (1991) 541-546.
16. Harborne, J. B. *Ann. Proc. Phytochem. Soc. Europe*. Clarendon Press, Oxford, 25 (1985) 393- 408.
17. Dai G.H., Nicole M., Andary C., Mondolot-Cosson et Boubals D. *Phytopathology*, 85 (1995) 149-154.
18. Fattouch, S., Caboni, P., Coroneo, V., Tuberoso, C. G., Angioni, A., Dessi, S., Marzouki, N., Cabras P. J. *Agric. Food Chem.* 55 (2007) 963-969.
19. Visioli, F., Galli, C., Plasmati, E., Viappiani, S., Hernandez, A., Colombo, C., Sala, A. University of Milan, Institute of Pharmacological Sciences, *Circulation*. 102 (2000) 2169.
20. CIBAC : Association universitaire (loi 1901) - Éditeur délégué : UPVM - Dépôt : N°38 - octobre 2002.
21. Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U., Weschke, W. *Physiol Plant*; 109 (2000) 35-442.
22. Naczki, M., Shahidi, F. *J. Chromatogr.* 1054 (2004) 95-111.
23. Misirli, A., Kuden, A., Demir, G., Gulcan, R. *GREMPA Seminar on pistachios and almonds = 11ème Colloque du GREMPA sur le pistachier et l'amandier*. Zaragoza: CIHEAM-IAMZ (2001) 71-86.

24. Haber, B. *Cereal Foods World* 47 (2002) 365–369.
25. Corsi, L., Avallone, R., Cosenza, F., Farina, F., Baraldi, C., Baraldi, M. *Fitoterapia* 73 (2002) 674–684.
26. Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H., Kanazawa, K. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (2003) 571–581.
27. Papagiannopoulos, M., Wollseifen, H. R., Mellenthin, A., Haber B. and Galensa R. *J. Agric. Food Chem.*, 52 (2004), 3784-3791.
28. Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., Sapirstein, H. D. *Cereal chem* (2005) 390-393.
29. Mohammedi, Z. Thèse de Magistère de l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen. (2006).
30. Madi, A. Mémoire de magister, Biotechnologie végétale (2010) 91p.
31. Hodgson, J. M., Morton, L. W., Puddey, I. B., Beilin, L. J., Croft K, D. J. *Agric. Food Chem.* 48 (2000) 2276–2280.
32. Ferguson, L.R., Shuo-tun, Z., Harris, P.J. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49 (2005) 585–693.
33. Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M.S., Nakayama, T. *J Agric Food Chem.* 50 (2002):373-7.
34. Poirot, B., Nevers, V., Hachet, H., Grellier, G. Congrès du Syndicat National d'Afrique, Poitiers (2010).
35. Nishimura, T., Wang, L.Y, Kusano, K., Kitanaka, S. *Chem. Pharm. Bull.* 53 (2005) 305-8.
36. Hale A. L. Office of Graduate studies of texas A&M university. *Genetics*, 260 (2003).
37. Erlund, I. *Nutr. Res.* 24 (2004) 851–74.
38. Murray, A. P., Rodriguez, S., Frontera, M. A., Tomas, M. A., Mulet, M. C. Z. *Naturforsch.* 59 (2004) 477–480.
39. Gharnit, N. Caractérisation et essai de régénération in vivo du caroubier (*Ceratonia siliqua.L*) originaire de la province de Chefchaouen (2003).

(2011) <http://www.jmaterenvirosci.com>