

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM

FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES, DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA
VIE

Département d'Agronomie

Laboratoire de microorganismes bénéfiques, aliments fonctionnels et santé

Mémoire de Magister
En
Biotechnologie Végétale

**Effet *in vitro* du piments (*Capsicum annuum L.*)
de variété locale (*Biskra*) sur quelques germes
pathogènes et sur certaines
souches probiotiques**

Présenté par : *M^{elle} Mokhtar Mérièm*

Soutenu le

Juin 2010 devant le jury d'examen composé de :

- Mr. Selselet-Attou Ghalem	Pr	Président	Univ. Mostaganem
- Mr. B. Lotmani	MC	Examineur	Univ. Mostaganem
- Mr. M. Benali	Pr	Examineur	Univ. Sidi-Bel-Abbes
- Mr. Dilmi-Bouras Abdelkader	Pr	Examineur	Univ. Chlef
- Mr. A. Riazi	Pr	Directeur de recherches	Univ. Mostaganem

Année Universitaire : 2009-2010

Avant-propos

Le présent mémoire a été réalisé au laboratoire de micro-organismes bénéfiques, aliments fonctionnels et santé (LMBAFS) du Pr. Riazi de l'université de Mostaganem. Bien que ce travail soit personnel, de nombreuses personnes y ont influencé par leurs idées, remarques ou aide; je les en remercie.

Ce travail n'aurait pas été le même sans l'encadrement du Professeur Riazi, je tiens à vous exprimer ici ma plus profonde gratitude pour votre aide au cours de ces deux années et demi. Malgré votre emploi du temps surchargé, vous avez toujours trouvé du temps pour discuter, réfléchir et m'aider à avancer. Merci tout particulièrement pour votre soutien scientifique mais aussi humain.

Mes respectueux remerciements s'adressent à Mr. Selselet-Attou, Professeur à l'université de Mostaganem, merci d'avoir accepté de donner de votre temps pour critiquer et juger ce travail. Vos conseils me seront précieux.

Je suis extrêmement reconnaissante envers Mr. Lotmani, Maître de conférences à l'université de Mostaganem, pour avoir accepté d'examiner ce manuscrit.

Je remercie également Mr. Benali, Professeur à l'université de Sidi-Bel-Abbes, pour m'avoir honoré en acceptant d'examiner mon travail.

Mes vifs remerciements sont également adressés à Mr. Dilmi-Bouras, Professeur à l'université de Chlef, d'avoir accepté de participer à mon jury comme examinateur.

Je tiens à remercier chaleureusement mes collègues de LMBAFS ainsi que le personnel des laboratoires du département d'Agronomie (Université de Mostaganem).

À mes parents

Pour votre amour...

Pour tous vos sacrifices...

Pour tous les enseignements que vous m'avez transmis...

En témoignage de mon éternelle reconnaissance.... Je vous aime.

Mérièm, 2010.

Liste des tableaux

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PIMENTS

Tableau 1 :	<i>Capsicum</i> dans différentes langues (De, 2003).....	4
Tableau 2 :	Production du piment dans le monde (FAO, 2008).....	5
Tableau 3 :	Variétés d'espèces domestiquées du <i>Capsicum</i> (Bosland et Votava, 2000).....	8
Tableau 4 :	Composition chimique de <i>Capsicum annuum</i> L. (Lopez-Hernandez et al., 1996)...	13
Tableau 5 :	Capsaïcinoïdes identifiés dans les espèces <i>Capsicum</i> (Anu et Peter, 2000).....	16
Tableau 6 :	Niveau d'âcreté de différentes variétés de <i>Capsicum</i> en unités Scoville (Bosland et Votava, 2000).....	19
Tableau 7 :	Zones d'inhibition (mm) produites par certains phénylpropanoïdes identifiés dans le piment <i>Serrano</i> (Dorantes et al., 2000).....	23

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

Tableau 8 :	Nature et origine des souches utilisées.....	30
Tableau 9 :	Milieus de culture utilisés dans l'expérimentation.....	31

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 10 :	pH des différents extraits de piments. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	36
Tableau 11 :	Cinétique d'amélioration (exprimée en % d'augmentation des cellules) ou d'inhibition (exprimée en % de réduction des cellules) de la viabilité de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49444 en présence de différentes concentrations d'extrait de piments à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	42
Tableau 12 :	Vitesse de croissance (exprimée en log de cellules générées / h) ou d'inhibition (exprimée en log de cellules inhibées / h) de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49444 en présence de différentes concentrations d'extrait de piments à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	43
Tableau 13 :	Cinétique d'amélioration (exprimée en % d'augmentation des cellules) ou d'inhibition (exprimée en % de réduction des cellules) de la viabilité de <i>Salmonella paratyphi A</i> en présence de différentes concentrations d'extrait de piments à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	48
Tableau 14 :	Vitesse de croissance (exprimée en log de cellules générées / h) ou d'inhibition (exprimée en log de cellules inhibées / h) de <i>Salmonella paratyphi A</i> en présence de différentes concentrations d'extrait de piments à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	50

<u>Tableau 15 :</u>	Vitesse de croissance (exprimée en log de cellules générées / h) ou d'inhibition (exprimée en log de cellules inhibées / h) de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49444 en présence de différentes concentrations d'extrait de piments à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	57
<u>Tableau 16 :</u>	Cinétique d'amélioration (exprimée en % d'augmentation des cellules) ou d'inhibition (exprimée en % de réduction des cellules) de la viabilité de <i>Shigella dysenteriae</i> CECT 457 en présence d'extrait de piments à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	58
<u>Tableau 17:</u>	Vitesse de croissance de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LbRE-LSAS en présence d'extrait de piments à 37°C (log/h). Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	65
<u>Tableau 18:</u>	Pourcentage d'amélioration (exprimée en % d'augmentation des cellules) de la viabilité de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LbRE-LSAS en présence d'extrait de piments à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	66
<u>Tableau 19 :</u>	Vitesse de croissance (exprimée en log de cellules générées / h) ou d'inhibition (exprimée en log de cellules inhibées / h) de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>Lactis</i> Bb12 en présence d'extrait de piments à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	74
<u>Tableau 20 :</u>	Cinétique d'amélioration (exprimée en % d'augmentation des cellules) ou d'inhibition (exprimée en % de réduction des cellules) de la viabilité de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb12 en présence d'extrait de piments à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	75

Liste des figures

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PIMENTS

Figure 1 :	plante <i>Capsicum annuum</i> (Pegon, 2009).....	6
Figure 2 :	Différentes espèces de <i>Capsicum</i> domestiquées (Bédard, 2006).....	7
Figure 3:	Fruits de <i>Capsicum annuum</i> (Pegon, 2009).....	9
Figure 4 :	Fruits de <i>Capsicum frutescens</i> (Pegon, 2009).....	10
Figure 5 :	Fruits de <i>Capsicum chinense</i> (Pegon, 2009).....	10
Figure 6 :	Fruits de <i>Capsicum baccatum</i> (Pegon, 2009).....	11
Figure 7 :	Fruits de <i>Capsicum pubescens</i> (Pegon, 2009).....	12
Figure 8:	Anatomie du fruit de <i>Capsicum</i> (Bosland et Votava, 2000).....	15
Figure 9:	Caractéristiques physico-chimiques de la capsaïcine(Pegon, 2009).....	16
Figure 10:	Récepteur à la capsaïcine (VR-1) (Le Bars et Willer, 2004).....	18
Figure 11:	Emplâtre Américain et Baume Saint-Bernard (Pegon, 2009)	21

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Figure 12:	Diamètre des zones d'inhibition (en mm) des différentes souches en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments après 24h de culture sur milieu solide à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	36
Figure 13:	Zones d'inhibition de <i>Sh. dysenteriae</i> (A), <i>Sal. paratyphi A</i> (B), <i>S. aureus</i> (C), Bb12 (D) et LbRE-LSAS (E) en présence d'extrait de piments après 24h de culture sur milieu solide à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	38
Figure 14:	Comportement des cellules de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49444 en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments durant 36h de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	40
Figure 15:	Viabilité des cellules de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49444 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 2h (A) et 4h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	41
Figure 16:	Viabilité des cellules de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49444 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 6h (A) et 8h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	44

<u>Figure 17 :</u>	Viabilité des cellules de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49444 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 10h (A) et 12h (B) de culture à 37°C.	
	Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	45
<u>Figure 18 :</u>	Viabilité des cellules de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49444 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 24h (A) et 36h (B) de culture à 37°C.	
	Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	46
<u>Figure 19:</u>	Comportement des cellules de <i>Salmonella paratyphi A</i> en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments durant 36h de culture à 37°C.	
	Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	48
<u>Figure 20:</u>	Viabilité des cellules de <i>Salmonella paratyphi A</i> (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 2h (A) et 4h (B) de culture à 37°C.	
	Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	49
<u>Figure 21 :</u>	Viabilité des cellules de <i>Salmonella paratyphi A</i> (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 6h (A) et 8h (B) de culture à 37°C	
	Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	51
<u>Figure 22 :</u>	Viabilité des cellules de <i>Salmonella paratyphi A</i> (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 10h (A) et 12h (B) de culture à 37°C.	
	Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	53
<u>Figure 23 :</u>	Viabilité des cellules de <i>Salmonella paratyphi A</i> (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 24h (A) et 36h (B) de culture à 37°C.	
	Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	54
<u>Figure 24 :</u>	Comportement des cellules de <i>Shigella dysenteriae</i> CECT 457 en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments durant 36h de culture à 37°C.	
	Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	55
<u>Figure 25 :</u>	Viabilité des cellules de <i>Sh. dysenteriae</i> CECT 457 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 2h (A) et 4h (B) de culture à 37°C.	
	Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).....	56
<u>Figure 26 :</u>	Viabilité des cellules de <i>Sh. dysenteriae</i> CECT 457 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 6h (A) et 8h (B) de culture à 37°C.	
	Viabilité des cellules de <i>Sh. dysenteriae</i> CECT 457 (log UFC/ml) en présence de	

<u>Figure 27 :</u>	différentes concentrations d'extrait de piments pendant 10h (A) et 12h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).....	61
<u>Figure 28 :</u>	Viabilité des cellules de <i>Sh. dysenteriae</i> CECT 457 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 24h (A) et 36h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).....	62
<u>Figure 29 :</u>	Comportement des cellules de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LbRE-LSAS en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments durant 36h de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).....	63
<u>Figure 30 :</u>	Viabilité des cellules de LbRE-LSAS (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 2h (A) et 4h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).....	64
<u>Figure 31 :</u>	Viabilité des cellules de LbRE-LSAS (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 6h (A) et 8h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).....	67
<u>Figure 32 :</u>	Viabilité des cellules de LbRE-LSAS (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 10h (A) et 12h (B) de culture à 37°C Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).....	69
<u>Figure 33 :</u>	Viabilité des cellules de LbRE-LSAS (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 24h (A) et 36h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).....	70
<u>Figure 34 :</u>	Comportement des cellules de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb12 en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments durant 36h de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).....	72
<u>Figure 35 :</u>	Viabilité des cellules de Bb12 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 2h (A) et 4h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).....	73
<u>Figure 36 :</u>	Viabilité des cellules de <i>Bb12</i> (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 6h (A) et 8h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).....	76
<u>Figure 37 :</u>	Viabilité des cellules de <i>Bb12</i> (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 10h (A) et 12h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).....	78

Figure 38 : Viabilité des cellules de *Bb12* (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 24h (A) et 36h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3)..... **79**

Introduction

Le piment (*Capsicum annuum L.*), appartient à la famille des *Solanacées*. C'est une plante très répandue dans les régions tropicales et subtropicales dont les fruits comme tant d'autres épices sont utilisés directement dans l'alimentation humaine ou indirectement après transformation.

Les botanistes lui reconnaissent environ 100 espèces actuellement regroupées en deux espèces principales: *Capsicum annuum L.* et *Capsicum frutescens L.* caractérisées par l'existence de nombreuses variétés se distinguant par leur forme, leur couleur et leur pouvoir piquant (Sehonou, 2007).

Les épices en général et le piment en particulier ont des effets bénéfiques pour la digestion des aliments (Platel et Srinivasan, 2004; Sehonou, 2007) : ils stimulent l'appétit en augmentant la palatabilité des aliments, les sécrétions digestives (salivaires, gastriques, pancréatiques biliaires et intestinales); ils favorisent l'absorption des nutriments et accélèrent le transit intestinal.

Le piment comme épice ou condiment, est présent dans de nombreux plats africains. Il est consommé surtout pour sa sensation chaude et piquante (assaisonnement et exhausteur de goût) recherché dans la plupart des mets. La grande période de production du piment se situe de Juin à Septembre, période caractérisée par les pluies abondantes et peu d'ensoleillement. Le piment récolté ne se conserve que quelques jours après la cueillette comme beaucoup d'autres fruits tropicaux (Platel et Srinivasan, 2004; Sehonou, 2007).

La valeur nutritive de *Capsicum* est élevée et il constitue une excellente source en vitamines C, A, B, E, acide folique, thiamine ainsi qu'en minéraux tels que le molybdène, le manganèse et le potassium. Les piments contiennent sept fois plus de vitamine C que l'orange. Les β -caroténoïdes, et les vitamines C et A contenus dans les piments sont de puissants antioxydants qui détruisent les radicaux libres.

Dans les régions chaudes comme l'Inde, la Thaïlande, le Mexique, l'Afrique du Nord, l'Amérique du Sud et les Caraïbes, le piment fort est très largement consommé, probablement à cause de ses propriétés antibactériennes et, paradoxalement, parce qu'il procure un agréable sentiment de fraîcheur une fois l'effet brûlant passé. Depuis quelques années, les Nord-Américains se sont pris d'un véritable engouement pour le piment, sous l'influence de la population hispanophone du sud-ouest des États-Unis. La gamme des produits offerts s'allonge chaque année: sauces, gelées et confitures, bière et vodka, sorbets, glaces et chocolats fins. Les ventes de sauces à base de piment supplantent aujourd'hui celles du ketchup, qui fut longtemps le condiment le plus populaire du continent (Pegon, 2009).

Plusieurs peuples anciens ont utilisé le piment, *Capsicum*, dans leurs traditions. En effet, le *Capsicum* joue plusieurs rôles importants dans la santé de l'être humain. De nos jours, les divers composés du piment sont utilisés comme remèdes thérapeutique, antiseptiques... Toutefois, très peu de recherches se sont penchées sur l'aspect antimicrobien du *Capsicum* (Burt, 2004).

Voilà pourquoi, qu'étant donné que nous faisons partie de populations grandes consommatrices de piments pouvant être confrontées à des problèmes d'hygiène alimentaire (responsable de toxi-infections) accentués par l'environnement (fortes températures) et le non respect de la chaîne du froid lors de la fabrication de nos aliments, nous nous sommes proposés d'étudier l'effet du piment sur trois bactéries pathogènes impliquées dans les intoxications alimentaires (*Staphylococcus aureus* ATCC 49444, *Shigella dysenteriae* CECT 457 et *Salmonella paratyphi* A) et sur deux bactéries probiotiques (*Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS et *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12).

Chapitre I

Généralités sur les piments

Chapitre I : Généralités sur les piments

I.1. Histoire et origine du piment

Le piment (*capsicum*) est originaire d'Amérique tropicale (Fortin et al., 1996; Hjelmqvist, 1995; Jones, 1994; Cordell et Araujo, 1993; Basu et De, 2003; Kothari et al., 2010). Fortin et al (1996) rapportent qu'il fait partie des premières plantes à être cultivées en Amérique du Sud, il ya 7000 ans et son appellation est très diversifiée selon les pays et régions du monde (tableau 1).

Des vestiges de piments de plus de 7000 ans avant J.C ont été trouvés dans les sites archéologiques de Sud-Est du Mexique (Coon, 2003). Son introduction dans l'ancien monde a toujours suscité les plus grands débats. Selon l'opinion générale, les espèces cultivées ont été introduites en Europe par les expéditions de Christophe Colomb (Bosland et Votava, 2000). Les espagnols, relayés par les portugais, le répandront ensuite rapidement dans le monde (Stummel et Bosland, 2007).

Actuellement, on rencontre *Capsicum* partout dans le monde. Bosland et Votava (2000) ont rapporté que depuis 1994, l'usage du piment comme épice a augmenté de 21% dans le monde, et l'Asie en est le plus grand producteur. En 2008, les statistiques de la FAO (Food and Agricultural Organization) indiquent également que l'Asie occupe toujours la première place en matière de production de piments (tableau 2).

I.2. Taxonomie

Le piment (*capsicum*) appartient à la famille des solanacées, laquelle inclut les tomates, la pomme de terre et les aubergines (Coon, 2003). Aujourd'hui, le genre *Capsicum* compte 5 espèces domestiquées (*C. pubescens*, *C. baccatum*, *C. annum*, *C. chinense* et *C. frutescens*), et au moins 25 espèces sauvages (Stummel et Bosland, 2007).

Tableau 1 : *Capsicum* dans différentes langues (De, 2003).

Langue	Nom
Pharm	<i>Fructus Capsici acer</i>
Arabe	Felfel
Amharique	Mit'mita. Berbere
Assami	Joloka
Benyali	Lanka, hforich
Burmese	Nga yut thee, Nil thee
Chinois	Lup-Chew
Danish	Chili
Dutch	Spaanse peper, Cayennepeper
English	Cayenne pepper, Red pepper. Chilli, Chili
Estonien	Kihe paprika
Flnish	Chilipippuri
Français	Poivre rouge, Piment enragé, Piment fort, Piment-aiseau, Poivre de Cayenne
Aleman	Koter Pfeffer, Cayenne-Pfeffer, Chili-Pfeifer, BeiRbeere
Gujarati	La1 marcha (rouge), Lila marcha (vert)
Hebrew	Pilpel adom
Hindi	La1 mirch (red), Hari mirch (green)
Hungarien	Csilipaprika, Cayenne bors, Cayenni bors, Macskakpocs paprika, Aranybors, Ordiigbors, Chilipaprika
Icelandique	Chilipipar, Cayennepipar
Indonesien	Lombok, Cabé, Cabai
Italien	Peperone, Diavolerto, Peperoncino, Pepe di Caienne, Pepe rosso picante
Japonais	Togarashi
Kannada	Menashinakayi
Laotian	Mak phet kungsi
hfalay	Lada merah
hlalayalam	Mulagu
Marathi	Lal mirchya (rouge), Hirvya mirchya (vert)
Oriya	Lankamaricha
Pashto	Murgh
Portugais	Pimenta, Piri-piri, Pimenta de caiena
Punjabi	Lal-mircha
Singhalese	Rarhu miris, Gasmiris
Espagnol	Chile, Guindilla, Cayena inglesa, Pimienta de Cayena, Pimienta picante, Aji
Swahili	Pilipili hoho
Swedish	Chilipeppar
Tagalog	Siling labyo, Sill
Tamil	Mulagu
Telegu	Mirapakaya
Thai	Pisi hui, Prik kee, Prik
Tibetan	Sipen marpo, Si pan dmar po

Tableau 2 : Production du piment dans le monde (FAO, 2008).

Pays	Productions (×10 ³ tonnes)	Pays	Productions (×10 ³ tonnes)
Afrique sud	10	Macédoine	0.1
Algérie	7.6	Madagascar	3.4
Argentine	3.3	Malaisie	1.8
Bangladesh	117	Malawi	1.8
Bénin	15	Maldives	0.005
Bhoutan	10.7	Mali	3.1
Bosnie-Herzég	30	Maroc	14
Bulgarie	0.7	Martinique	0.27
Cambodge	10	Mexique	60
Cameroun	6.5	Myanmar	71
Cap-Vert	1.25	Népal	16.36
Chine	252	Niger	0.4
Congo R dém	34	Nigéria	50
Côte d'ivoire	14	Ouganda	3.8
Djibouti	0.3	Ouzbékistan	4
Egypte	45.6	Pakistan	130
Espagne	5	Pérou	16
Etats-Unis	55	Réunion	0.7
Ethiopie	115	Roumanie	33
Ghana	81	Sénégal	3
Grèce	0.35	Sierra Leone	3
Grenade	0.09	Slovénie	1.3
Guyane	0	Soudan	7.6
Hongrie	33	Syrie	0.5
Inde	1244	Tanzanie	6.5
Indonésie	0	Tchèque Rép	1.5
Iran	2.5	Thaïlande	39
Jamaïque	8.2	Togo	3
Japon	0	Tunisie	7
Kazakhstan	0.3	Turquie	20
Kenya	5	Viet nam	78.5
Kirghizistan	0.1	Zambie	0.9
Lao	7	Zimbabwe	13

Généralement, on distingue deux sortes de piments : les poivrons doux de jardin et les piments forts. Comme les cinq espèces s'hybrident facilement entre elles, il existe un très grand nombre de sous-espèces et de variétés de piments sur le marché horticole (Jolicoeur, 2001).

Ce dernier auteur a rapporté que les espèces domestiquées appartiennent à trois lignées génétiques distinctes : *pubescens* (*C. pubescens*, *C. eximium* et *C. cardenasii*), *baccatum* (*C. baccatum*, *C. pratermissum* et *C. tovarii*) et *annuum* (*C. annuum*, *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. chacoense* et *C. galapagoense*).

Règne: Plantae

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Solanales

Genre : *Capsicum* (De, 2003)

L'espèce *C. annuum* (figure 1) est maintenant la plus répandue et économiquement la plus importante de toutes les autres espèces cultivées de *Capsicum* (Cabballero et al., 2003; Csilléry, 2006).



Figure 1 : plante *Capsicum annuum* (Pegon, 2009).

I.3. Différents piments consommés par l'homme

Actuellement, les piments sont des condiments universels, trouvés et cultivés dans presque tous les pays du monde. Les piments sont des produits de base de cuisines ethniques comme la Thaïlandaise, la Chinoise, la Coréenne, l'Indienne, la Hongroise, l'Africaine, la Mexicaine, etc... (Coon, 2003).

Selon la diversité en matière de taille, de couleur, d'âcreté, et de saveur des différentes espèces du *Capsicum*, on rencontre plusieurs variétés chez les espèces du *Capsicum* domestiquées (figure 2) (Bosland et Baral, 2007).

Parmi les espèces domestiquées du *Capsicum*, les espèces *C. annuum*, *C. chinense* et *C. frutescens* sont les plus commercialisées dans le monde (tableau 3) (Bosland et Votava, 2000).



Figure 2 : Différentes espèces de *Capsicum* domestiquées (Bédard, 2006)

I.3.1. *Capsicum annuum*

Capsicum annuum est une espèce comprenant diverses variétés produisant des fruits aux saveurs les plus douces au plus piquantes. Ainsi, cette espèce est à l'origine des poivrons et d'un grand nombre de piments (Perry, 2007).

Tableau 3 : Variétés d'espèces domestiquées du *Capsicum* (Bosland et Votava, 2000).

	<i>C. annuum</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. pubescens</i>	<i>C. baccatum</i>	<i>C. frutescens</i>
Variétés	Bell	Habanero	Manzano	Aji Amarillo	Bird pepper
	Pimento	Scotch	Peron	Aji Ayucello	Tabasco
	Squash	Bonnet	Siete Caldos		Malagueta
	Cherry	Datil	Caballo		
	Paprika	Charapita/	Locoto		
	Chiltepin/ chile piquin	Pimento de cherio	Rocoto		
	Ancho/ mulato/pasilla	Cheira Bell Cumario			
	Cayenne	Passarinbo			
	Chihuacle	Fatalli			
	Cuban/ Pepperoncini	Congo Rocotillo			
	Costeño	Aji Chombo			
	Mirasol	Aji Panca			
	De Arbol	Aji Limo			
	Jalapeño	Aji			
	Serrano	Pucomucho			
	New Mexican				
	Santaka/ Hontaka				
	Piment ornemental				

Les poivrons se distinguent des piments par des fruits plus gros en général (3 à 12 cm de diamètre) et plus charnus, et surtout dépourvus de substance piquante (la capsaïcine) (Pegon, 2009; Zaman, 2009).

Ces fruits sont gonflés, verts immatures, et rouges, orange, jaunes, violets, blancs, bleus ou bruns quand ils sont mûrs. Ils ont un goût et un arôme doux et sucré (Grubben et Denton, 2004). Les piments de cette espèce ont des formes variables, mais sont généralement allongés ou ovoïdes mesurant de 2 à 16 cm de long, ou globuleux. Ils sont généralement rouges, parfois oranges ou jaunes, à maturité, à paroi lisse ou légèrement ridée, à saveur douce à très piquante (figure 3) (Csilléry, 2006).

Capsicum annuum est l'espèce la plus cultivée dans le monde, elle comporte beaucoup de variétés allant des plus douces aux plus fortes (Kumar et al., 2009). Elle est cultivée principalement dans les états du sud des États-Unis (notamment la Californie), le sud de l'Europe (plus particulièrement la Hongrie, l'Espagne, l'Italie, l'ex-Yougoslavie, la Bulgarie et la Roumanie), ainsi que le Nord d'Afrique, l'Amérique centrale et le Brésil (Lefebvre et al., 2002; Teuscher et al., 2005).



Figure 3 : Fruits de *Capsicum annuum* (Pegon, 2009).

I.3.2. *Capsicum frutescens*

Les fruits de *Capsicum frutescens* sont allongés, habituellement dressés, généralement petits et étroits (5cm x 1cm au plus), vert à blanc crème ou jaune lorsqu'ils sont jeunes et orange à rouge quand ils sont mûrs. Leur peau est lisse et leur saveur très piquante (figure 4) (Lefebvre et al., 2002; Grubben et Denton, 2004).

C'est une espèce qui pousse à l'état sauvage ou en culture. Il s'agit d'une espèce peu cultivée mise à part le fameux tabasco (Pegon, 2009). Elle est surtout cultivée en Amérique latine et en Inde, mais aussi aux États-Unis, en Afrique (Nigeria, Kenya, Ouganda), et au sud-est de l'Asie (Pakistan, Chine, Thaïlande) (Teuscher et al., 2005; De Masi et Siviero, 2007).



Figure 4 : Fruits de *Capsicum frutescens* (Pegon, 2009)

I.3.3. *Capsicum chinense*

Les fruits de *Capsicum chinense* sont en général globuleux à cylindriques, mesurant de 2 à 5 cm sur 1,5 à 3 cm (figure 5), habituellement pendants, ridés et de couleur rouge, orange ou jaune quand ils sont mûrs. Ces fruits possèdent une saveur caractéristique d'abricot et peuvent être extrêmement piquants à très doux (Grubben et Denton, 2004; De Masi et Siviero, 2007). C'est une espèce lente à germer et à mûrir, qui nécessite un climat chaud et humide (tropical) et une forte intensité lumineuse (Pegon, 2009). Sa culture est pratiquée sur le continent américain, du Mexique à la Floride, en Bolivie, au Chili et au sud du Brésil (Howard et al., 2000; Siviero, 2002).



Figure 5 : Fruits de *Capsicum chinense* (Pegon, 2009)

I.3.4. *Capsicum baccatum*

Les fruits de *Capsicum baccatum* sont pendants, en général allongés, mesurant 2 à 4 cm sur 7,5 à 16 cm (figure 6). Ils sont habituellement de couleur orange à rouge, parfois jaune ou brun et de saveur particulièrement piquante (Grubben et Denton, 2004). C'est une espèce cultivée en Argentine, en Bolivie, au Brésil, au Chili, au Japon, en Colombie, en Équateur, au Pérou, en Afrique centrale, aux États-Unis, en Inde et en Europe. Ses fruits sont en général séchés pour confectionner des poudres, comme le « cuzqueno » (De Masi et Siviero, 2007; Pegon, 2009).



Figure 6 : Fruits de *Capsicum baccatum* (Pegon, 2009).

I.3.5. *Capsicum pubescens*

Les fruits de *Capsicum pubescens* sont pendants, jaunes, mesurent de 6-7 cm de longueur (figure 7), ont la peau lisse et luisante et ont une chair épaisse et juteuse qui dégage une saveur très forte (Teuscher et al., 2005). C'est une espèce qui ne pousse qu'en région tropicale et en montagne. C'est le piment le plus répandu en Amérique du Sud. Il s'agit d'une des espèces les moins communes en culture, car se sont les plus délicates. Elles sont cultivées à plus de 1600m d'altitude du Mexique jusqu'au sud de la Bolivie (Pegon, 2009).



Figure 7 : Fruits de *Capsicum pubescens* (Pegon, 2009)

I.4. Principales utilisations des piments

Plusieurs genres de *Capsicum* sont d'intérêt commercial, non seulement pour leur goût et leur couleur, mais aussi en raison de leurs huiles essentielles et principes actifs. Le piment est un ingrédient essentiel dans l'agroalimentaire aux Etats-Unis et au Mexique. En outre, les piments sont utilisés dans certains produits manufacturés à utilisation variée comme arôme alimentaire, agent colorant ou ingrédient pharmaceutique (De, 2003).

Il existe une grande diversité d'usage des piments. Ils peuvent être commercialiser frais afin d'être consommés directement dans la nourriture ou bien bénéficier d'un conditionnement ou d'une transformation dont le but de prolonger la période de leur conservation.

Le piment est aussi utilisé comme colorant alimentaire « oléorésines paprika » qui sont préparés à partir des variétés rouges et non brûlantes (Cabballero et al., 2003). Les aérosols utilisés comme moyen de défense personnelle sont à base d'oléorésines *Capsicum* (Jolicoeur, 2001).

I.5. Caractéristiques des fruits de piments

La qualité d'un piment et de ses produits dérivés dépend de sa couleur, son arôme et son caractère brûlant.

1.5.1. Composition chimique des piments

Le *Capsicum* contient des colorants, principes piquants, résine, protéines, cellulose, pentoses, éléments minéraux et une faible quantité d'huiles volatiles (les graines contiennent les huiles non volatiles) (Tewksbury et al., 2008b). Le paprika est moins piquant par rapport aux autres variétés de piments mais est le plus riche en contenu. Les différentes espèces fraîches de piments contiennent une quantité importante de vitamines B, C, E et provitamine A (tableau 4), mais l'espèce *annuum* est une source très riche en vitamine C (Daood et al., 1996; De, 2003).

La vitamine C contenue dans les piments (surtout les verts) est supérieure à celle contenue dans les oranges. Toutefois, comme peu de piment est utilisé lors de la confection d'un plat et qu'il est généralement cuit, l'apport en vitamine C est réduit (Pegon, 2009). Györgi est le premier qui a isolé la vitamine C à partir du paprika et a obtenu le Prix Nobel en 1937 pour cette découverte (Govindarajan et Sathyanarajana, 1991).

Tableau 4 : Composition chimique de *Capsicum annuum* L. (Lopez-Hernandez et al., 1996).

Constituants	(g/100 g de fruit frais)
Eau	91 ± 0.6
Glucose	0.85 ± 0.1
Fructose	0.75 ± 0.1
Amidon	0.81 ± 0.2
Fibres	2.20 ± 0.3
Constituants	(mg/100 g de fruit frais)
Acide citrique	28 ± 12
Acide fumarique	1.1 ± 0.4
Acide malique	208 ± 18
Acide oxalique	140 ± 24
Acide quinique	183 ± 62
Vitamine C	24 ± 12
Trans-lutéine	1.6 ± 0.3
Trans-β-carotène	0.92 ± 0.4

Les triglycérides représentent environ 60% des huiles non volatiles présentes dans les piments et parmi les acides gras qui entrent dans leur composition, c'est l'acide linoléique qui est prédominant (52,2 à 79,8 %) (Anu et Peter, 2000). Le contenu du fruit de *Capsicum* en huiles volatiles est réduit (De, 2003).

Le fructose et le glucose totalisent environ 70 % des sucres réducteurs du piment, mais on trouve aussi du galactose et du saccharose ; les sucres libres sont plus abondants dans les graines que dans le péricarpe et le placenta. En ce qui concerne les acides, l'acide citrique est le plus important, suivi des acides succinique, fumarique, malique et quinique (Govindarajan et Sathyanarajana, 1991; De Lacruz, 2007).

Un total de 14 aminoacides dans le *Capsicum* vert et 16 dans le paprika ont d'abord été identifiés, dont l'asparagine et la proline sont prédominants (Govindarajan et Sathyanarajana, 1991). Trois autres aminoacides ont été identifiés plus tard par Keheyoglow et Monoussopoulos (1977), cité par Govindarajan et Sathyanarajana (1991).

1.5.2. Couleur

La paroi du mésocarpe est responsable de la couleur des fruits. La quantité de chlorophylle varie selon les différentes variétés. Quand les fruits mûrissent, la chlorophylle et l'anthocyanine disparaissent normalement et les chloroplastes sont convertis en chromoplastes; parallèlement des chromoplastes supplémentaires apparaissent (Caballero et al., 2003; Collera-Zuniga et al., 2005).

Pendant la maturité, les caroténoïdes totaux augmentent (de 35 fois), suite à la synthèse de nouveaux pigments rouges comme les céto-caroténoïdes, dont la capsanthine (30-60 % du total des caroténoïdes), la capsorubine (5-15 %) et la cryptocapsine (environ 5 %) ; ils contiennent rarement du cyclopentanol (caroténoïde de la tomate) (Topuz et Ozdemir, 2007).

Les fruits chocolat-marron, utilisés dans une fameuse sauce Mexicaine appelée « mole », sont des homozygotes récessifs pour un allèle d'un autre gène nucléaire, lequel empêche la dégradation de la chlorophylle dans le fruit mûr ; la combinaison des caroténoïdes rouges et de la chlorophylle verte produit du marron (Caballero et al., 2003).

1.5.3. Arôme

L'arôme caractéristique des piments est produit par les gouttelettes d'huiles essentielles des cellules du mésocarpe, lesquelles augmentent pendant la maturité. L'huile est un mélange de méthoxypyrazines, d'alcools aliphatiques et d'esters. Les alcools aliphatiques et les esters semblent être responsables des arômes fruités et floraux. Les différences dans la composition de l'huile essentielle dans et entre les espèces de *Capsicum* sont peu connues (Caballero *et al.*, 2003 ; De Lacruz, 2007).

1.5.4. Caractère brûlant

L'effet sensoriel du « brûlant » est produit par un groupe de vanillyl amides connu comme les capsaïcinoïdes parmi lesquels la capsaïcine et la dihydrocapsaïcine sont prédominantes. Ces alcaloïdes, responsables du goût piquant et de la sensation de brûlure, n'existent dans aucune autre famille de plantes (Jolicoeur, 2001 ; Tewksbury *et al.*, 2006). Les capsaïcinoïdes sont synthétisés par des structures situées à la jonction du placenta (partie blanche supportant les graines au centre du fruit) et de la paroi de la gousse (figure 8) (Estrada *et al.*, 2002; Cisneros-Pineda *et al.*, 2007; Tewksbury *et al.*, 2008a).

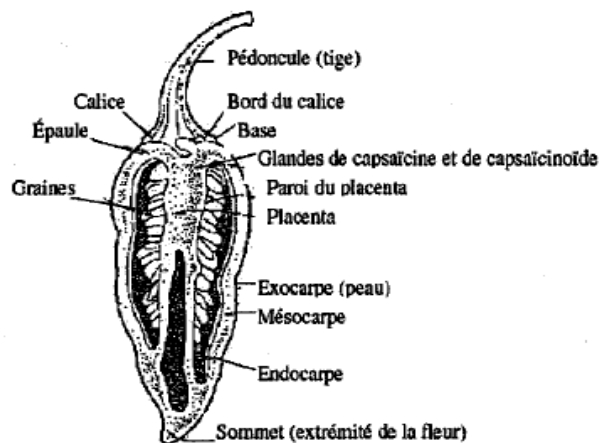


Figure 8 : Anatomie du fruit de *Capsicum* (Bosland et Votava, 2000).

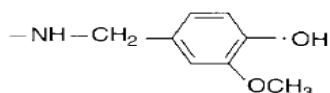
La capsaïcine est le principe actif principal présent dans le fruit de plusieurs variétés de *Capsicum* : poivron, paprika, chili, piment fort, etc.... (Bosland et Votava, 2000). De plus, la capsaïcine, une amide de formule : 8-méthyle N-vanillyle 6-nonénamide appartient à la

famille des capsaïcinoïdes (tableau 5) qui est responsable de la saveur piquante des piments forts (figure 9) (De, 2003; Ornelas-Paza *et al.*, 2010).

Tableau 5: Capsaïcinoïdes identifiés dans les espèces *Capsicum* (Anu et Peter, 2000)

Structure	Noms
$(\text{CH}_3)_2 \cdot \text{CH} \cdot \text{CH}=\text{CH} \cdot (\text{CH}_2)_4 \cdot \text{CO}-\text{R}$	Capsaïcine
$(\text{CH}_3)_2 \cdot \text{CH} \cdot (\text{CH}_2)_6 \cdot \text{CO}-\text{R}$	Dihydrocapsaïcine
$(\text{CH}_3)_2 \cdot \text{CH} \cdot (\text{CH}_2)_9 \cdot \text{CO}-\text{R}$	Homodihydrocapsaïcine
$(\text{CH}_3)_2 \cdot \text{CH} \cdot \text{CH}=\text{CH} \cdot (\text{CH}_2)_4 \cdot \text{CO}-\text{R}$	Homocapsaïcine
$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_7 \cdot \text{CO}-\text{R}$	Acide nonamique vanillyamide
$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_8 \cdot \text{CO}-\text{R}$	Acide decanoïque vanillyamide

R représente :



	Capsaïcine
Structure	
Nom IUPAC	8-Methyl-N-vanillyl-trans-6-nonenamide
Formule brute	$\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_3$
Masse molaire	305,412613 g/mol
Température de fusion	62 - 65 °C
Température de vaporisation	210 - 220 °C
Solubilité	Faiblement soluble dans l'eau. Soluble dans l'alcool, l'éther, le benzène et le chloroforme.

Figure 9 : Caractéristiques physico-chimiques de la capsaïcine (Pegon, 2009)

Garcia-Hirschfeld *et al.* (1995) attribuent l'âcreté du piment à la capsaïcine et à la dihydrocapsaïcine. Bosland et Votava (2000) rapportent aussi que le niveau d'âcreté des piments dépend de la génétique de la plante et des facteurs environnementaux. La concentration de capsaïcine change selon la variété de piment, l'origine géographique et les conditions climatiques sous lesquelles les piments sont cultivés. La capsaïcine est aussi disponible sous forme synthétique (Jolicoeur, 2001; Garcs-Claver *et al.*, 2007).

Les composés piquants sont aussi présents dans quelques autres plantes comme le gingembre (gingérols, paradols, shogaols), le poivre (pipérine) et la moutarde (sinalbine et sinigrine), mais la capsaïcine est environ 100 fois plus brûlant que les composés des deux premières (Richard, 1992).

I.6. Récepteurs vanilloïdes (au piment)

Les vanilloïdes constituent une famille d'irritants naturels responsables de la saveur « piquante » des épices, dont le plus connu est la capsaïcine, extraite du piment, qui active essentiellement les fibres C polymodales, qu'elles soient cutanées, musculaires, articulaires ou viscérales (Holzer, 1991; Cordell et Araujo, 1993; Caterina et Julius, 2001; Raisinghani *et al.*, 2005; Maity *et al.*, 2010).

L'application de capsaïcine sur la peau abaisse le seuil de déclenchement de son récepteur, le récepteur ionotropique vanilloïde VR-1 (figure 10) (appartenant à la famille des « temperature-activated transient receptor potential ion channels », le récepteur VR-1 est maintenant dénommé transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 1 « Trpv1 ») : la chaleur ambiante est alors suffisante pour l'activer, ce qui provoque une sensation de brûlure (Gunthorpe *et al.*, 2002; Cianchetti, 2010).

Le récepteur VR-1 est un canal non sélectif laissant passer tous les cations, avec cependant une préférence pour le calcium, qui répond lorsque la température atteint ou dépasse 48 °C (Patapoutian *et al.*, 2003).

Le seuil de VR-1 est également abaissé lorsque le récepteur est phosphorylé. La phosphorylation est déclenchée par l'intermédiaire d'une protéine kinase A, elle-même activée par les prostaglandines et la sérotonine, ou par l'intermédiaire d'une protéine kinase C, elle-même activée par la bradykinine et l'histamine. L'activité du récepteur VR-1 est donc

réglée avec finesse par son environnement biochimique et cette modulation se traduisant par exemple par la baisse du seuil de déclenchement du signal d'alarme en cas d'inflammation (Szallasi, 2002).

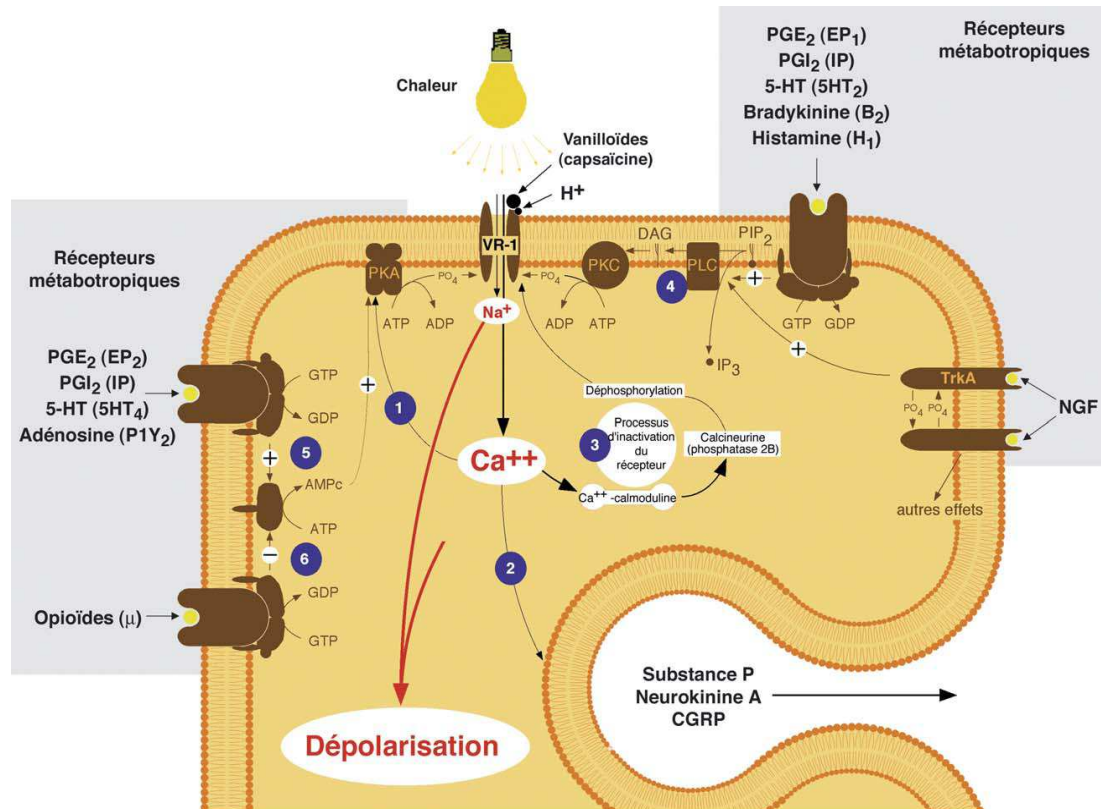


Figure 10: Récepteur à la capsaïcine (VR-1) (Le Bars et Willer, 2004).

I.7. Méthodes de dosage de la Capsaïcine

Deux moyens sont principalement utilisés pour vérifier l'âcreté du *Capsicum* : soit le test organoleptique de Scoville, soit la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) (Bosland et Votava, 2000).

I.7.1. Test de Scoville

Le test de Scoville constitue la première approche utilisée au laboratoire pour mesurer l'âcreté des piments. Dans cette méthode, des sujets humains goûtent un échantillon de piment, et déterminent son niveau de chaleur (tableau 6).

Tableau 6 : Niveau d'âcreté de différentes variétés de *Capsicum* en unités Scoville
(Bosland et Votava, 2000)

Noms	Types de piments	Espèces	Unité Scoville
Habanero orange	Habanero	<i>C. chinense</i>	210 000
Habanero rouge	Habanero	<i>C. chinense</i>	150 000
Tabasco	Tabasco	<i>C. frutescens</i>	120 000
Tepin	Tepin	<i>C. annuum</i>	75 000
Chiltepin	Tepin	<i>C. annuum</i>	70 000
Thai piquant	Asien	<i>C. annuum</i>	60 000
Jalapeño M	Jalapeño	<i>C. annuum</i>	25 000
Cayenne long et mince	Cayenne	<i>C. annuum</i>	23 000
Milta	Jalapeño	<i>C. annuum</i>	22 000
Santa Fe Grande	Hungarien	<i>C. annuum</i>	21 000
Aji Escabeche	Aji	<i>C. baccatum</i>	17 000
Cayenne long et	Cayenne	<i>C. annuum</i>	8 500
Cayenne	Cayenne	<i>C. annuum</i>	8 000
Pasilla	Pasilla	<i>C. annuum</i>	5 500
Primavera	Jalapeño	<i>C. annuum</i>	5 000
Sandia	New Mexicain	<i>C. annuum</i>	5 000
NuMex Joe E. Parker	New Mexicain	<i>C. annuum</i>	4 500
Serrano	Serrano	<i>C. annuum</i>	4 000
Mulato	Ancho	<i>C. annuum</i>	1 000
Bell	Bell	<i>C. annuum</i>	0

Ces échantillons de piment sont dilués au laboratoire jusqu'à ce que cette chaleur ne soit plus ressentie par les dégustateurs. Cette dilution est appelée l'Unité de Scoville. Cette méthode est la plus simple et la moins coûteuse, toutefois, elle a ses limites car c'est une technique subjective.

La formule suivante : **Unités Scoville = % de capsaïcine × 1,5 × 10⁵**, est utilisée pour convertir la quantité de capsaïcine contenue dans le fruit de *Capsicum* en unités Scoville (Dicecco, 1976).

I.7.2. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

L'HPLC est la méthode la plus précise pour évaluer l'âcreté des piments. Dans cette technique, on utilise un chromatographe liquide Perkin Elmer LC-200 avec une colonne C18 (15 cm de longueur × 4.5 mm I.D). Le solvant utilisé est l'acétonitrile (débit =1ml/min). Cette méthode bien qu'elle soit plus coûteuse que celle de Scoville, reste la plus précise ([Sudhakar-Johnson et al., 1992](#)).

I.8. Propriétés des piments

I.8.1. Propriétés pharmacologiques (traitement de la douleur)

Bien avant la connaissance des mécanismes de la douleur et encore plus celle de l'action de la capsaïcine sur cette dernière, les guérisseurs et les médecins de la fin du XIXe siècle utilisaient des extraits de fruit du *Capsicum* pour traiter différents types de douleurs ([Govindarajan et Sathyanarajana, 1991](#))

Depuis une quinzaine d'années, la capsaïcine intéresse le monde de la pharmacopée. Comme d'autres drogues (aspirine, codéine, dérivés d'opiacée ...), la capsaïcine semble avoir un avenir prometteur dans le traitement des douleurs chroniques à cause de sa capacité anesthésiante ([Fusco et Giacobazzo, 1997](#)).

Le piment a des propriétés analgésiques et révulsives (qui provoque une dilatation des vaisseaux sanguins cutanés) ([Calixto et Kassuya, 2005](#); [Conway, 2008](#)). Il est utilisé dans l'arthrite rhumatoïde, l'arthrose, les neuropathies, les névralgies rhumatismales et goutteuses, les lombalgies, les dystrophies, les douleurs musculaires et le psoriasis sous forme de crème, lotion, onguent ou emplâtre ([Bhutani et Pathak, 2007](#)). Il provoque une sensation de chaleur qui atténue la perception de la douleur.

Le piment a également des propriétés rubéifiantes, il irrite la peau et les muqueuses. Ainsi, il ne faut jamais appliquer de piments ou de produits à base de piments sur des muqueuses ou une peau lésée ([De Masi et Siviero, 2007](#)).

En France, le baume Saint-Bernard® et le baume Curomal® sont deux spécialités commercialisées à base d'oléorésine de *Capsicum*. Il s'agit d'antalgiques d'action locale, le premier est une crème et le second est un bâton pour application cutanée (figure 11) (Endres-Becker et Heppenstall, 2007). Il existe également un emplâtre américain Saint-Bernard®, commercialisé à base de *Capsicum* (Pegon, 2009).



Figure 11: Emplâtre Américain et Baume Saint-Bernard (Pegon, 2009).

I.8.2. Propriétés anti-oxydantes

Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres. Ces radicaux libres sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement (Willcox et al., 2004; Chuah et al., 2008).

Les piments forts renferment plusieurs types d'antioxydants et au fil de leur mûrissement, la concentration de plusieurs de ces composés augmente (Bosland, 2004; Oboh et Rocha, 2007). *Capsicum* est une source riche en flavonoïdes qui sont connus pour leur activité anti-oxydante comme la lutéoline et la quercétine (Miean et Mohamed, 2001).

Le piment est une excellente source de vitamine C dont les propriétés antioxydantes contribuent aussi à la santé des os, des cartilages, des dents et des gencives. De plus, la

vitamine C protège contre les infections, favorise l'absorption du fer et accélère la cicatrisation (Lee et al., 1995 ; Topuz et Ozdemir, 2007; Pegon, 2009).

Certaines variétés de piment fort sont de bonnes sources d' α -tocophérol, un composé antioxydant qui est aussi une forme de vitamine E. En effet, plusieurs de ces piments contiennent plus de 7 mg d' α -tocophérol par portion de 100 g (soit 0.007 % P/P). Alors que, la *noisette*, un fruit considéré comme très riche en α -tocophérol, en contient 15 mg par portion de 100 g (soit 0.015 % P/P) (Ching et Mohamed, 2006). Dans une étude réalisée par Lee et al. (1995) qui analyse plusieurs antioxydants du piment, le composé ayant l'activité antioxydante la plus forte était la lutéoline, suivie de la capsaïcine et de la quercétine.

I.8.3. Propriétés antimicrobiennes

Careaga et al. (2003) ont étudié l'effet antibactérien des extraits de « Bell pepper » sur *Salmonella thyphimirum* et *Pseudomonas aeruginosa*, toutes les deux inoculées dans la viande hachée. Ils ont montré que les extraits de « Bell pepper » appliqués à des concentrations de 1.5% et de 2.5% (p/v) dans la viande, inhibent la croissance de *S. thyphimirum*. Mais les résultats n'étaient pas significatifs avec *P. aeruginosa* qui n'a été totalement éliminée qu'après 3 jours d'exposition à une concentration supérieure à 4% d'extraits de piments.

Snyman et al. (2001) avaient rapporté que le piment rouge et le piment noir contiennent respectivement de la capsaïcine et de la pipérine ayant des effets antimicrobiens.

En 1999, Molina-Torres et al., avaient étudié l'effet antibactérien de la capsaïcine et de l'affinine sur *E.coli* ; *Pseudomonas solanacearum* ; *Bacillus subtilis* et *Saccharomyces cerevisiae*. Ces auteurs précisent qu'à des concentrations de 200 à 300 μ g/ml d'extrait de piments, la capsaïcine inhibe la croissance d'*E. coli* et *Pseudomonas solanacearum*. *B. subtilis* est beaucoup plus sensible puisque son inhibition est observée avec 25 μ g de capsaïcine/ml d'extrait seulement. Enfin, appliquée à des concentrations comprises entre 150 à 300 μ g/ml, la capsaïcine stimule la croissance de *S. cerivisea*. Toutefois, les études de Dorantes et al. (2000) ont révélé que la capsaïcine ne comportait pas d'effet antibactérien (tableau 7).

Tableau 7 : Zones d'inhibition (mm) produites par certains phénylpropanoïdes identifiés dans le piment *Serrano* (Dorantes et al., 2000)

Bactéries	<i>o</i> -coumarique	<i>m</i> -coumarique	A. cinnamique	Capsaïcine	Dehydrocapsaïcine
<i>Bacillus cereus</i>	-	10	8	-	-
<i>S. aureus</i>	-	10	6	-	-
<i>L. monocytogenes</i>	-	6	5	-	-
<i>S. typhimurium</i>	-	2	2	-	-

I.8.4. Piments et perte de poids

Hobbs (1994) avait rapporté que la consommation du *Capsicum* aide à perdre du poids chez les personnes obèses. Le piment est aussi très peu énergétique (20 kcal. /100 g), ce qui l'autorise dans les régimes minceur dont il renforce l'apport en vitamines, en minéraux et en fibres (2 %).

De plus, des chercheurs du département de médecine sociale et préventive de l'Université de Tsukuba (Japon) ont démontré que la consommation d'entrées épicées au piment fort réduisait de 200 calories la consommation alimentaire totale pendant le repas qui suit (Diepvens et Westerterp, 2007).

Une étude canadienne (Kempaiah et Srinivasan, 2006) démontre également que le piment rouge, pris en apéritif, réduirait l'appétit et l'ingestion de graisses et de protéines. Les chercheurs japonais ont également montré que l'ingestion de piment lors d'un repas provoque une augmentation des taux sanguins d'adrénaline et de noradrénaline.

Le piment stimule aussi l'oxydation des glucides, mais pas des graisses, ainsi le piment permet une utilisation plus complète de l'énergie alimentaire apportée par les sucres. Par conséquent, la dépense énergétique lors d'un repas pimenté est supérieure à celle d'un repas ordinaire. Cet effet est significatif, mais faible, ainsi l'effet amaigrissant du piment est plutôt dû à une diminution de l'appétit et de l'ingestion de graisses et de protéines qu'à l'augmentation de la dépense énergétique (Pegon, 2009).

I.8.5. Piments et ulcère de l'estomac

L'ulcère gastrique se définit en anatomo-pathologie comme une perte de substance muqueuse allant au delà de la couche musculaire muqueuse. L'érosion de la muqueuse gastrique est, par opposition, une perte de substance superficielle asymptomatique et sans risque de complication, de découverte généralement fortuite. Les érosions n'ont pas de traduction radiologique. Les lacunes visibles en imagerie correspondent à des ulcères (Karila-Cohen *et al.*, 2005).

L'ulcère gastrique touche environ 10 % des adultes des pays occidentaux avec une prévalence de 2 % et une incidence de 0,03 % (Dive, 1986; Karila-Cohen *et al.*, 2005). L'ulcère gastrique est aussi fréquent chez l'homme que chez la femme. L'âge moyen d'apparition des ulcères est de 65 ans (exceptionnel avant 40 ans) (Dive, 1986; Karila-Cohen *et al.*, 2005).

Il a été montré que l'administration intragastrique de capsaïcine à faible dose (0,25 à 1 µg/kg) inhibe de façon dose dépendante la sécrétion d'acide chez des rats. À des doses plus élevées (> 1-2 mg/kg), où le récepteur TRPV1 est désensibilisé, la capsaïcine n'a plus d'action anti-sécrétoire et le développement de dommages au niveau de la muqueuse gastrique est observé. Cet effet a été confirmé chez l'homme (Mozsik *et al.*, 1999). Des doses faibles (100 à 800 µg) administrées au niveau de l'estomac par une sonde diminuent l'acidité gastrique. Ainsi, l'inhibition de la sécrétion d'acide par la capsaïcine à faible dose est régulée par la stimulation de TRPV1 au niveau des cellules neuronales provoquant la libération du calcitonine gene-related peptide (CGRP) et de la substance P (SP) (Mozsik *et al.*, 1999).

Il a également été montré que l'application intraluminale de capsaïcine (0,1 à 0,3 mg/ml) augmente la sécrétion de HCO_3^- de façon dose-dépendante chez des rats (Kagawa *et Aoi*, 2003). La capsaïcine, du moins à faibles doses, par la stimulation de TRPV1 au niveau des cellules neuronales, a donc un effet anti-ulcéreux en protégeant les muqueuses par augmentation du flux sanguin gastrique par vasodilatation, par inhibition des sécrétions acides et par stimulation de la sécrétion de mucus et de HCO_3^- (Satyanarayana, 2006).

En raison de leur effet piquant, il est parfois recommandé en cas d'ulcère d'estomac, d'éliminer les piments forts de la diète afin d'éviter d'exacerber la douleur. Cependant, plusieurs études semblent démontrer que les piments forts n'entraîneraient pas de dommages supplémentaires à l'estomac. Certaines indiquent même que la capsaïcine qu'ils contiennent pourrait avoir un effet protecteur sur la paroi de l'estomac (Holzer, 1986; Abdel-Salam *et al.*, 1997; Mozsik *et al.*, 2005) en augmentant la production de la muqueuse gastrique (Oyagbemi *et al.*, 2010).

I.8.6. Piments et hémorroïdes

Le terme de maladie hémorroïdaire (MH) désigne l'ensemble des symptômes liés à la présence physiologique des hémorroïdes. La pathogénie de la MH relève de deux types de phénomènes : d'une part, des phénomènes mécaniques qui aboutissent à la procidence des hémorroïdes internes (HI) en raison de la rupture des fibres collagènes de soutien sous l'influence de l'âge et des efforts défécatoires, d'autre part, des phénomènes hémorhéologiques beaucoup moins bien élucidés (Di Mola *et al.*, 2006; Soudan, 2009), à l'origine de manifestations aiguës de la MH communément appelées « crise » ou « poussée », dont la définition reste floue, et qui associent, à des degrés divers, douleurs, saignements et à l'examen, oedème et/ou thrombose des hémorroïdes externes plus souvent qu'internes. Ce sont les symptômes de la MH qui guident la thérapeutique. Ils varient d'intensité et peuvent disparaître avec le temps.

Un régime riche en épices, une constipation aiguë récente, une activité physique intense, la consommation d'alcool sont des facteurs significativement associés à la « crise » hémorroïdaire (Pigot *et al.*, 2005; Soudan, 2009). Une étude française cas-témoin, avec enquête diététique, révélait que les patients, qui se plaignent de leurs hémorroïdes, absorbent plus de lipides, d'alcool, de poivre, de piment, fument plus et sont plus constipés qu'un groupe témoin (Sielezneff *et al.*, 1998; Soudan, 2008).

I.8.7. Piments et cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquent chez l'individu de sexe masculin et représente la seconde cause de mortalité par cancer chez l'homme après celui de poumon (Jemal *et al.*, 2007). Sa progression est lente et il peut être traité efficacement s'il est détecté à

un stade précoce, mais de nombreux patients ne sont diagnostiqués qu'au stade de la métastase.

L'activation des voies de l'apoptose dans les cellules androgéno-indépendantes représente l'un des principaux objectifs de lutte contre le cancer de la prostate avancé et est devenu une priorité de recherche (Wang et al., 2004; Sanchez et al., 2007). Il est bien connu que de nombreuses substances naturelles sont considérées comme ayant une valeur potentielle en tant qu'antioxydants et agents de prévention du cancer ou même en tant que médicament utilisé dans le traitement du cancer.

Des études récentes suggèrent que la consommation élevée de légumes, légumes crucifères en particulier, pourrait être associée à un risque réduit de cancer de la prostate (Talalay et Fahey, 2001; Sanchez et al., 2007).

Récemment, la capsaïcine a été indiquée pour induire efficacement l'apoptose dans certains types de cellules, y compris les cellules humaines de cancer du sein (Tuoya et al., 2006), de prostate (Jankovic et al., 2010), hépatocarcinome (Jung et al., 2001), de gliome (Qiao et al., 2005), leucémiques (Tsou et al., 2006) et carcinome épidermoïde de l'œsophage (Wu et al., 2006). Cependant, le mécanisme par lequel la capsaïcine induit l'apoptose dans les cellules cancéreuses est encore mal connu (Sanchez et al., 2007).

I.8.8. Piments et sphère ORL

Trois types de récepteurs sensoriels ont été identifiés dans la muqueuse nasale: les mécanorécepteurs, sensibles aux stimuli tactiles, les chimiorécepteurs sensibles aux substances irritantes et les thermorécepteurs, sensibles aux changements de température. Les fibres sensibles surtout activées par les irritants chimiques sont des fibres nerveuses non myélinisées de type C (pour capsaïcine), à conduction lente et pharmacologiquement caractérisées par une sensibilité spécifique pour la substance active du *Capsicum* appelée capsaïcine (8-méthyl-N-vanillyl-6-nonéamide) (Cauna et al., 1996)

L'application de capsaïcine sur les muqueuses respiratoires est suivie d'une importante vasodilatation locorégionale, et d'un œdème secondaire à une augmentation de la perméabilité vasculaire avec extravasation de protéines plasmatiques. Lorsque l'exposition de ces

muqueuses est répétée plusieurs fois par jour, on observe une diminution de la vasodilatation et de l'œdème (Lundblad, 1984).

Lorsque la capsaïcine est appliquée sur la muqueuse buccale humaine le sujet ressent une violente brûlure caractéristique de l'ingestion de piment. Si cette exposition est répétée quotidiennement les sensations de brûlures s'estompent au cours du temps, on observe une désensibilisation. Cette accoutumance à l'ingestion de piment est due à une diminution puis une disparition des neuropeptides sensitifs dans les terminaisons nerveuses. La synthèse de ces neuropeptides se fait dans le noyau des cellules nerveuses (Taylor-Clark *et al.*, 2006).

I.8.9. Autres propriétés des piments

Le *Capsicum* tonifie le système cardiovasculaire. Il facilite la circulation du sang, augmente la performance du cœur et diminue la pression artérielle (Guerrero, 2000).

Il a été montré, sur des rats soumis à un régime à haute teneur en graisses (30%) pendant 8 semaines, que l'ajout de 0,014% de capsaïcine dans leur nourriture diminue l'hypertriglycéridémie, ainsi que la masse de tissu adipeux viscéral (Kawada *et al.*, 1986, Kempaiah *et al.*, 2006).

Sur des rats soumis pendant 8 semaines à un régime à haute teneur en cholestérol, l'ajout de 0,015% de capsaïcine dans leur nourriture diminue l'hypercholestérolémie (Manjunatha *et al.*, 2007).

Une étude épidémiologique menée auprès de la population thaïlandaise, qui consomme de grandes quantités de piments forts, a permis de constater que le taux de troubles cardiovasculaires chez les Thaïlandais était nettement inférieur à celui des Nord-Américains (Pegon, 2009).

Chapitre II

Matériels et Méthodes

Chapitre II: Matériels et Méthodes

II.1. Nature et origine des souches

II.1.1. Les souches bénéfiques

Bifidobacterium animalis sbsp *lactis* Bb12 provient de notre laboratoire partenaire français : UR 910 écologie et physiologie des systèmes digestif INRA 78352 Jouy-en-Josas, France.

La souche *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS, provient de la collection de notre laboratoire LMBAFS (Laboratoire de microorganismes bénéfiques, aliments fonctionnels et santé, Université de Mostaganem) (tableau 8).

II.1.2. Les souches pathogènes

Il s'agit de *Shigella dysenteriae* CECT 457 issue d'une collection espagnole «Colección Española de Cultivos Tipos» et qui nous a été aimablement fournie par le professeur Luis Izaara-Miguel CINTAS, université Complutense de Madrid, Espagne. *Staphylococcus aureus* ATCC 49444, issue de la collection américaine «American Type Culture Collection», a été fournie par la société Microbiologics CE, St Cloud MIN, USA; et enfin *Salmonella paratyphi* A qui provient de la collection de laboratoire d'hygiène, Mostaganem (tableau 8).

II.2. Origine des piments utilisés

Les piments utilisés dans cette étude ont été achetés dans un marché local de la ville de Mostaganem, et appartiennent à l'espèce (*Capsicum annum* L.) variété *Biskra* (Clause-vegseeds, France).

II.3. Choix des milieux de culture et conditions de croissance

II.3.1. Choix des milieux de culture

Tous les milieux de culture sont stérilisés par autoclavage à 121°C pendant 20 minutes. Pour les bifidobactéries, le milieu MRS à pH 6.5 (De Man *et al.*, 1960), additionné de cystéine-HCL à 0.05% (P/V) a été utilisé sous forme de bouillon pour leur culture et sous forme gélosée pour leur dénombrement (tableau 9).

Tableau 8: Nature et origine des souches utilisées.

Souche	Origine
<p>1- Les souches bénéfiques :</p> <ul style="list-style-type: none">- <i>Bifidobacterium animalis</i> sbsp <i>lactis</i> Bb12 - <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LbRE-LSAS	<p>UR910 Ecologie et Physiologie du système digestif- INRA - Jouy-en-Josas, France</p> <p>LMBAFS (Laboratoire de micro-organismes bénéfiques, aliments fonctionnels et santé, Université de Mostaganem</p>
<p>2- Souches pathogènes</p> <ul style="list-style-type: none">- <i>Shigella dysenteriae</i> CECT 457 - <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49444 - <i>Salmonella paratyphi</i> A	<p>(SEGABALP), université Complutense de Madrid, Espagne</p> <p>Microbiologics CE, St Cloud, MIN, USA.</p> <p>Laboratoire d'hygiène, Mostaganem</p>

Tableau 9 : Milieux de culture utilisés dans l'expérimentation.

Souches	Milieux	Origine du milieu de culture
<i>Bifidobacterium animalis</i> sbsp <i>lactis</i> Bb12	Bouillon MRS agar (Man, Rogosa et Sharpe, 1960) (milieu liquide pour culture et solide pour dénombrement)	Institut pasteur (Alger) et Merck (Germany)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LbRE-LSAS	Bouillon MRS agar (Man, Rogosa et Sharpe, 1960) (milieu liquide pour culture et solide pour dénombrement)	Institut pasteur (Alger) et Merck (Germany)
Staphylococcus aureus ATCC 49444	Bouillon cœur cervelle (Réf. CM0225) (milieu d'enrichissement) Milieu de Ringer (Réf. BR0048) (Milieu de dilution) Milieu chapman (milieu solide pour dénombrement)	Institut pasteur Alger Merck,Germany Institut pasteur Alger
<i>Salmonella paratyphi A</i>	Bouillon cœur cervelle (Réf. CM0225) (milieu d'enrichissement) Milieu de Ringer (Réf. BR0048) (Milieu de dilution) Milieu SS (Réf. CM0533) (milieu solide pour dénombrement)	Institut pasteur Alger Merck,Germany Institut pasteur Alger
<i>Shigella dysenteriae</i> CECT 457	Bouillon cœur cervelle (Réf. CM0225) (milieu d'enrichissement) Milieu de Ringer (Réf. BR0048) (Milieu de dilution) Milieu SS (Réf. CM0533) (milieu solide pour dénombrement)	Institut pasteur Alger Merck,Germany Merck,Germany

La mise en culture des bactéries pathogènes nécessite aussi un milieu liquide « Bouillon cœur cerveau » BHI, utilisé comme milieu d'enrichissement. Pour le dénombrement, il est réalisé sur milieux solides adéquats pour chaque souche (tableau 9). Le milieu de dilution utilisé est le milieu de Ringer qui est réparti dans des tubes à essais (9 ou 10 ml par tube selon la dilution recherchée).

II.3.2. Les conditions de croissance

II.3.2.1. Bactéries bénéfiques

Etant donné que les bifidobactéries ne tolèrent pas l'oxygène en raison de la formation de composés oxygénés toxiques comme le peroxyde d'hydrogène, l'ion superoxyde ou les radicaux hydroxylés, leur culture nécessite l'addition de cystéine chlorhydrique Cys-Hcl à 0.05% au milieu (Scardovi, 1986). Les conditions d'anaérobiose sont assurées par l'utilisation de jarres d'anaérobiose. La souche LbRE-LSAS est une bactérie anaérobie facultative, elle est incubée à 37°C en anaérobiose sur milieu solide ou liquide.

II.3.2.2. Les bactéries pathogènes

Les souches *Staphylococcus aureus*, *Shyella dysenteriae* et *Salmonella paratyphi A* sont des bactéries anaérobies facultatives. Leur incubation se fait à 37°C en anaérobiose sur milieu solide ou liquide.

II.4. Extraction des piments

La préparation des extraits de piments a été effectuée selon la méthode de Dorantes et al. (2000). Dans cette méthode, les fruits de *Capsicum* sont soumis à un lavage avec de l'eau de robinet, puis séchés. Les fruits verts non blessés sont découpés en petits morceaux d'environ 1.5 cm².

Des portions de 150g de *Capsicum* ont été suspendues dans 150 ml d'isopropanol avant de les broyer au moulinex pendant 15 min. Les broyats sont resuspendus dans 5g de charbon actif, et laissés au repos durant 10 min. La suspension est ensuite filtrée à travers un papier Whatman N° 7, puis le solvant est évaporé à une température de 75°C.

II.5. Détermination de la matière sèche

La teneur en matière sèche est déterminée par le séchage de l'échantillon à l'étuve à $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Audigié *et al.*, 1983).

II.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Généralement, la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est considérée comme étant la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 heures (Teresa Fera *et al.*, 1998). La détermination de la CMI a été réalisée par la technique de dilution en milieu liquide couplée à l'étalement sur milieu solide telle que décrite par Chabert et Daguet (1985).

Dans un tube à essai, on ajoute des volumes variables d'extrait de piments de façon à ce que le gradient de sa concentration suive une progression géométrique de raison 2 et varie de 0 à 80 mg/ml. Ces tubes, contenant des solutions limpides sont incubés à 37°C pendant 24 heures afin de contrôler la stérilité des préparations. Ensuite, chaque tube de l'une des séries estensemencé avec 1 ml d'un inoculum de 10^8 UFC/ml. On incube ensuite tous les tubes à l'étuve à 37°C pendant 24 heures, 0.1 ml du contenu de chaque tube est ensuiteensemencé dans un milieu solide et incubé à 37°C .

Après 24h d'incubation, la plus faible concentration qui a totalement inhibée le germe étudié est considérée comme la CMI.

II.7. Mise en évidence du pouvoir antimicrobien de l'extrait de piments

II.7.1. Méthode de diffusion sur milieu gélose

Cette expérience vise à cultiver les bactéries sur les milieux de cultures contenus dans les boîtes de Pétri à raison d'une concentration approximative de 10^8 UFC/ml. Après un repos de 15 min, des disques filtres contenant différentes concentrations d'extrait de piments (5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml) ont été déposés sur la gélose. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h en aérobiose.

Après 24h d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'une règle.

II.7.2 Méthode de contact dans un milieu liquide

Cette méthode consiste à cultiver les souches pathogènes et bénéfiques en présence de différentes concentrations d'extrait de piments, et l'incubation se fait à des intervalles de temps 0h, 2h, 4h, 6h, 8h, 10h, 12h, 24h et 36h à 37°C. Le nombre de cellules des souches étudiées est ajusté de manière à obtenir le nombre de $1 \cdot 10^8$ log UFC/ml.

A chacun des temps précités, on prélève les cultures correspondantes, et on effectue des dilutions décimales, on étale 100µl de chacune d'elle sur une boîte de milieu spécifique. L'incubation se fait à 37 °C pendant 48h en anaérobiose pour la Bb12 et en aérobiose pour la souche lactique LbRE-LSAS. Les souches pathogènes ont été incubées à 37 °C pendant 24h en aérobiose.

II.8 Traitement statistique des résultats

Chaque expérience a été indépendamment réalisée en 3 exemplaires et répétée trois fois dans un dispositif en randomisation totale et les résultats obtenus ont été soumis à l'analyse de variance (ANNOVA) en utilisant le logiciel Stat box version 6.4 (1999).

La comparaison de moyennes a été réalisée par le test de Student- Newman-Keuls au seuil de 5% pour comparaison multiple. A $P < 0.05$, la différence est considérée significative.

Chapitre III

Résultats et Discussion

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1. Mise en évidence rapide de l'activité antibactérienne de l'extrait de piments

L'activité antibactérienne de l'extrait de piment dont la matière sèche est égale à 14% a été évaluée sur quelques souches bactériennes gram-positives : *Staphylococcus aureus* ATCC 49444, *Lactobacillus rhamnosus* (LbRE-LSAS), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12, et deux souches gram-négatives : *Shigella dysenteriae* CECT 457 et *Salmonella paratyphi A* selon la méthode de diffusion sur disque.

Les extraits aqueux de piments ont été utilisés à différentes concentrations en matière sèche, respectivement 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml. Les résultats présentés dans le [figure 12](#) montrent que l'extrait de piments est actif contre les trois souches pathogènes *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphi A*, *Shigella dysenteriae* et inactifs sur les souches bénéfiques suivantes : *Lactobacillus rhamnosus* (LbRE-LSAS), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12.

Les diamètres des zones d'inhibition de l'extrait de piments correspondant à la concentration 40 et 80 mg/ml sont plus élevés que ceux observés avec des concentrations plus basses. Ce résultat est en relation avec la concentration plus importante en matière sèche et donc en composés actifs, et également avec le pH (les concentrations plus fortes ont un pH plus acide) ([tableau 10](#)).

Sur le plan de la sensibilité, il s'est avéré que *S. aureus* était la souche la plus sensible vis-à-vis de l'extrait de piments suivie de *Sal. paratyphi A* et *Sh. dysenteriae* avec des zones d'inhibition respectives de 17, 11.5 et 9.5mm en présence de 80 mg/ml. En revanche aucune zone d'inhibition n'a été remarquée vis-à-vis des souches bénéfiques LbRE-LSAS et Bb12.

L'analyse de la variance effectuée pour vérifier l'action des extraits de piments sur la croissance des cinq bactéries étudiées démontre que leur effet est significatif ($p < 0,0001$).

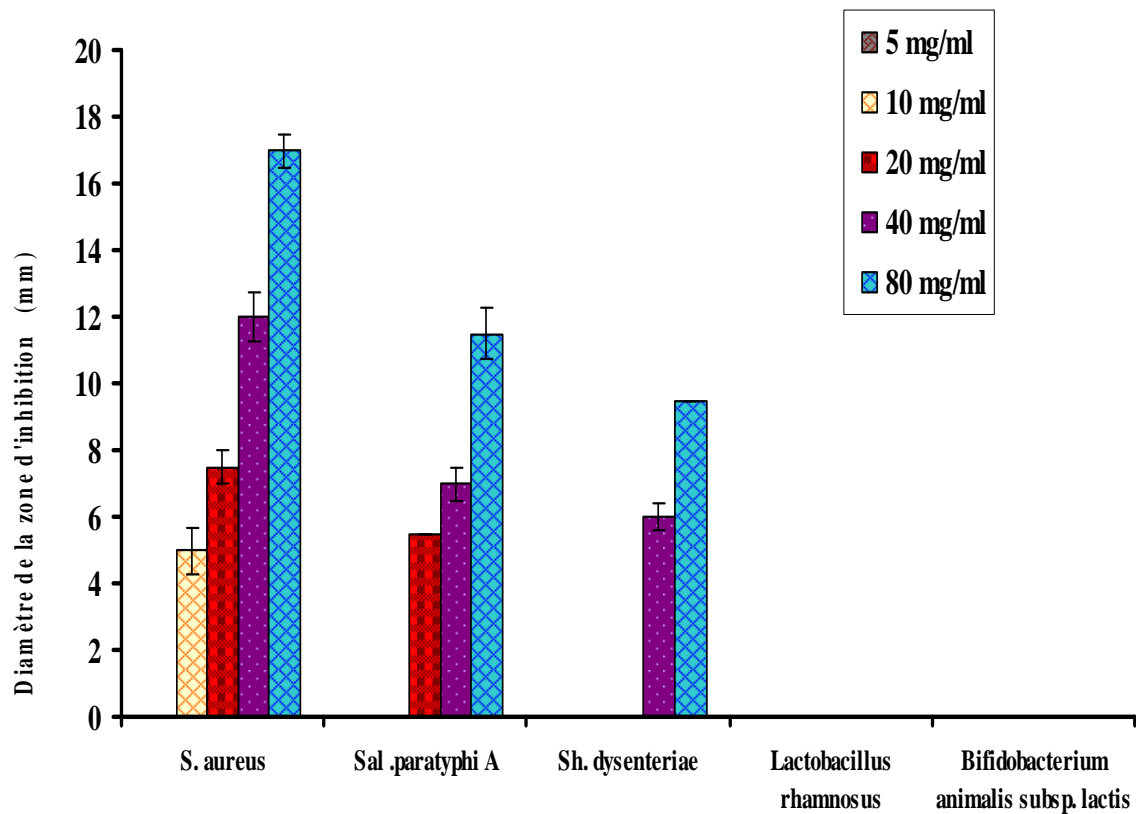


Figure 12: Diamètre des zones d'inhibition (en mm) des différentes souches en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments après 24h de culture sur milieu solide à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Tableau 10 : pH des différents extraits de piments.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Concentration (mg/ml)	5	10	20	40	80
pH	6.80 \pm 0.11	6.68 \pm 0.09	6.60 \pm 0.17	5.89 \pm 0.05	5.38 \pm 0.1

Cette analyse démontre également que la zone d'inhibition ne semble pas être la même selon la souche de bactérie considérée au seuil de signification 0.05 ($p < 0,0001$). De plus, elle montre que la zone d'inhibition varie d'une bactérie à une autre.

Selon nos résultats, *Shigella dysenteriae* et *Salmonella paratyphi A* se sont montrées moins sensibles envers le piment par rapport à *Staphylococcus aureus* en enregistrant des zones d'inhibition de 9.5 et 11.5mm respectivement en présence de 80 mg/ml d'extrait de piments (figure 13).

Cette observation va dans le même sens que celle rapportée par les travaux de Skocibusic et al. (2006) qui ont constaté que les bactéries gram négatives sont en général résistantes aux faibles concentrations de composés phénoliques jouant un rôle antimicrobien par rapport aux bactéries gram positives.

Dorante et al. (2000) ont testé l'effet de trois variétés de piment (habanero, serrano et *pimiento morron*) sur quelques souches pathogènes : *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*. Selon leurs résultats, les trois variétés inhibent la croissance des quatre souches, et c'est *pimiento morron* qui a le meilleur pouvoir inhibiteur en enregistrant des zones d'inhibition de diamètre de : 12, 11, 7 et 5mm respectivement avec les souches sus-citées.

Pour mieux comprendre ce mécanisme d'inhibition, Dorante et al. (2000) ont séparé les différents capsaïcinoïdes présents dans la variété *serrano* (acide α -coumarique, acide *m*-coumarique, acide Trans-cinnamique, Capsaïcine et Dihydrocapsaïcine) et les ont testé sur les souches précédentes.

Ces auteurs ont observé des zones d'inhibition de diamètres correspondants à 10, 10, 6, 2mm respectivement avec les souches *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* en présence d'acide *m*-coumarique. Ces zones d'inhibition sont légèrement inférieures (8, 6, 5 et 2mm) lorsque l'acide Trans-cinnamique est présent. Tandis que l'acide α -coumarique, Capsaïcine, et Dihydrocapsaïcine ont donné un résultat négatif.

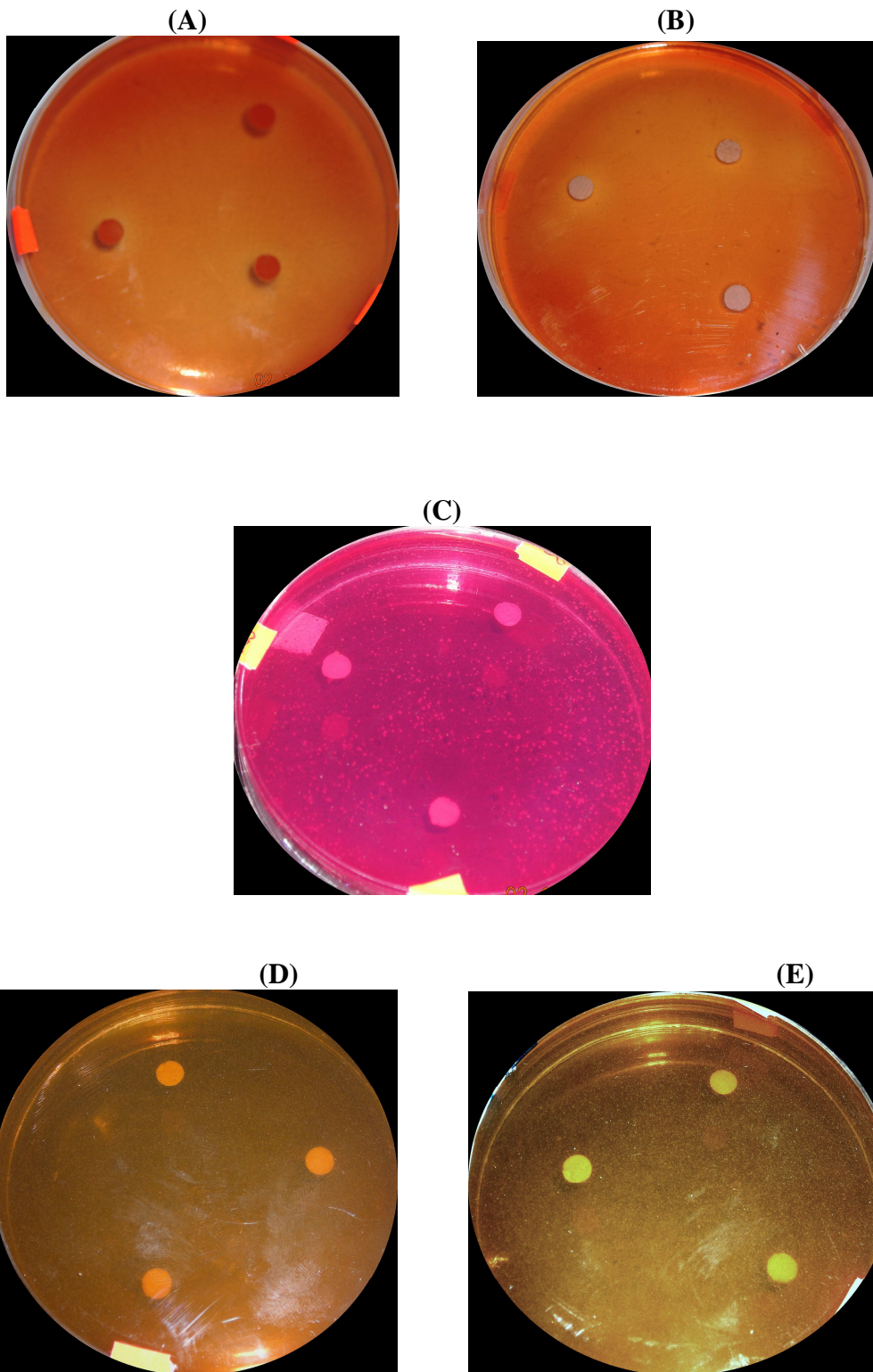


Figure 13 : Zones d'inhibition de *Sh. dysenteriae* (A), *Sal. paratyphi A* (B), *S. aureus* (C), Bb12 (D) et LbRE-LSAS (E) en présence d'extrait de piments après 24h de culture sur milieu solide à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

L'acide cinnamique se trouve dans les prunes, cannelle et les plantes utilisées comme épices (Beuchat et Golden, 1989; Dorante et al., 2000). Par ailleurs, Kouassi and Shelef (1998) ont étudié l'effet de L'acide cinnamique sur *Listeria monocytogenes* et son possible mode d'action. Ils ont montré que l'acide cinnamique inhibe la captation du glucose et les enzymes responsables de la production d'ATP.

III.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la plus faible concentration d'extrait inhibant toute croissance visible après un temps d'incubation de dix-huit à vingt-quatre heures. La CMI permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes aux substances antimicrobiennes (Kablan, 2008). La détermination des CMI a été réalisée par la technique de dilution en milieu liquide couplée à l'étalement sur milieu solide telle que décrite par Chabert et Daguet (1985). Les trois souches pathogènes avaient une CMI égale à 10 mg/ml d'extrait de piments.

Soetarno et al. (1997) ont testé l'effet de l'extrait de trois variétés de piments sur *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. La CMI de l'extrait de piments était de : 80, 12, 80, 12 et 1000 mg/ml avec les souches : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Catalina et al. (2009) ont exploré l'effet du romarin sur *Staphylococcus aureus*, la Concentration minimale d'inhibition était de 50 mg/ml. Donc on peut déduire que l'extrait de piments est plus actif par rapport à celui du romarin vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.

III.3. Comportement des souches pathogènes en présence d'extrait de piments

III.3.1. *Staphylococcus aureus* ATCC 49444

Après deux heures de culture de *Staphylococcus aureus* ATCC 49444, une légère croissance a été enregistrée (figure 14) en présence de 5 (0.28 log UFC/ml) et 10 mg/ml (2 log UFC/ml) d'extrait de piments. En revanche, à de fortes concentrations 20, 40 et 80 mg/ml, l'extrait de piments exerce son effet inhibiteur dès les premières heures où on commence à enregistrer des pertes de viabilité de l'ordre de : 0.1, 0.4 et 2 log UFC/ml, respectivement (figure 15.A).

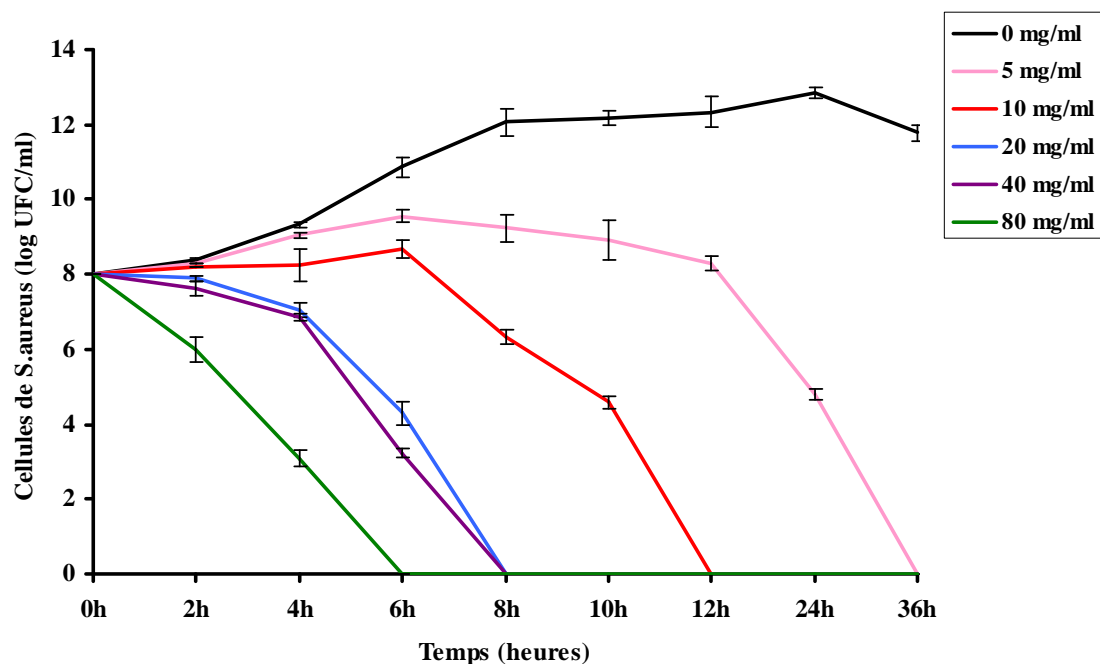


Figure 14 : Comportement des cellules de *Staphylococcus aureus* ATCC 49444 en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments durant 36h de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Ce taux d'inhibition augmente avec la prolongation du temps de culture pour atteindre après 4h des pertes de viabilité équivalentes à : 0.86, 0.75 et 2.92 log UFC/ml qui correspondent à des pourcentages d'inhibition de 10.87, 9.96 et 48.86 % en présence de 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments (figure 15.B) (tableau 11).

Les concentrations 5 et 10 mg/ml ne semblent pas avoir un effet inhibiteur dès les premiers heures, car la croissance de *S. aureus* continue à s'exprimer en présence de ces concentrations avec une vitesse de croissance de l'ordre de 0.38 log/h avec 5 mg/ml et seulement 0.04 log/h en présence de 10 mg/ml (tableau 12).

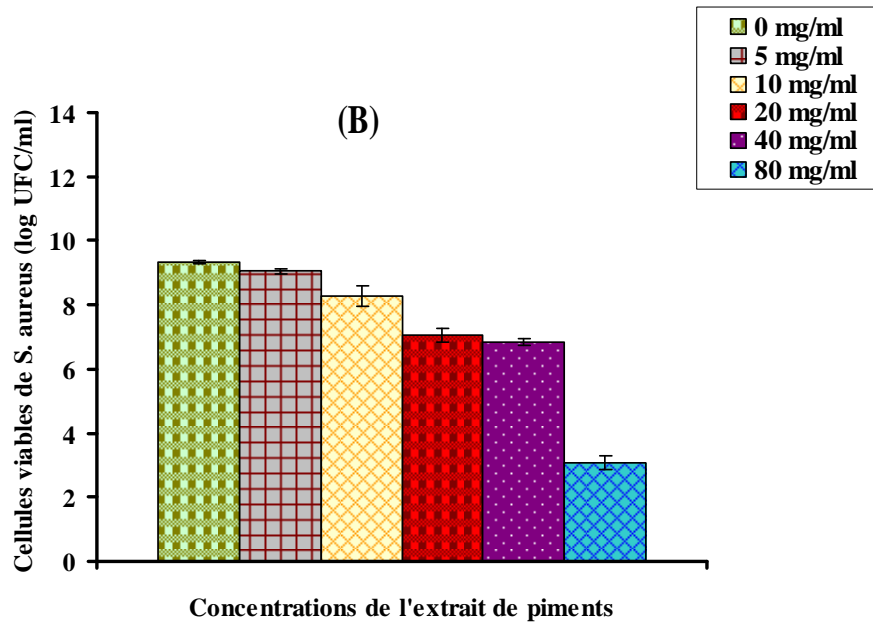
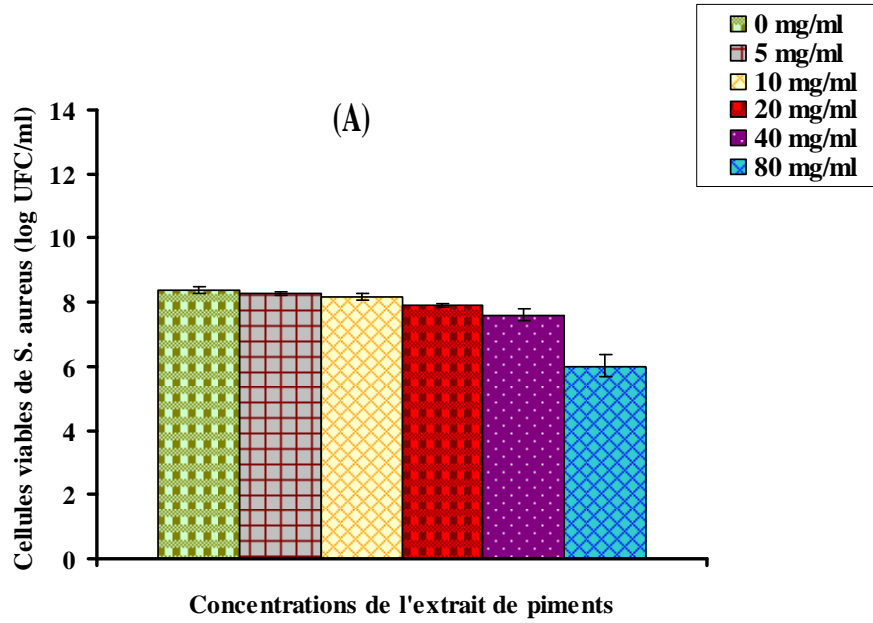


Figure 15 : Viabilité des cellules de *Staphylococcus aureus* ATCC 49444 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 2h (A) et 4h (B) de culture à 37°C.
 Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Tableau 11 : Cinétique d'amélioration (exprimée en % d'augmentation des cellules) ou d'inhibition (exprimée en % de réduction des cellules) de la viabilité de *Staphylococcus aureus* ATCC 49444 en présence de différentes concentrations d'extrait de piments à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	80 mg/ml
0-2h	+ 3.47 \pm 0.079	+ 2.20 \pm 0.19	- 1.25 \pm 0.17	- 4.97 \pm 0.22	- 25.00 \pm 1.73
2-4h	+ 9.32 \pm 0.67	+ 0.96 \pm 0.12	- 10.87 \pm 1.13	- 9.96 \pm 0.77	- 48.68 \pm 1.25
4-6h	+ 5.52 \pm 0.30	+ 5.03 \pm 0.70	- 38.93 \pm 0.97	- 52.81 \pm 1.80	-100 \pm 0
6-8h	- 3.35 \pm 0.21	- 26.87 \pm 1.42	- 100 \pm 0	- 100 \pm 0	
8-10h	- 3.54 \pm 0.22	- 27.44 \pm 1.2			
10-12h	- 6.77 \pm 0.75	- 100 \pm 0			
12-24h	- 42.43 \pm 1.6				
24-36h	- 100 \pm 0				

Après 6h de culture, une légère croissance de *S. aureus* est toujours enregistrée en présence de 5 et 10 mg/ml avec une faible augmentation de biomasse équivalente à 0.5 et 0.41 log avec de faibles vitesses de croissance de l'ordre de 0.25 et 0.21 log UFC/h. Alors que les concentrations 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments exercent une bonne inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* ATCC 49444, traduite par une perte de biomasse de l'ordre de 2.74, 3.61 et 3.07 log UFC/ml (figure 16.A) équivalente à un pourcentage d'inhibition avoisinant les 39, 53 et 100 %.

L'activité inhibitrice du *Capsicum* vis-à-vis de *S. aureus* continue à évoluer après 8h d'incubation, affichant un pourcentage d'inhibition de plus de 3.35 % et 26.87 %, qui correspond à une perte de viabilité de l'ordre de 0.32 et 2.33 log en présence des faibles concentrations (5 et 10 mg/ml). Cette inhibition était plus importante avec les concentrations 20 et 40 mg/ml où cette souche a été totalement inhibée (figure 16.B).

Tableau 12 : Vitesse de croissance (exprimée en log de cellules générées / h) ou d'inhibition (exprimée en log de cellules inhibées / h) de *Staphylococcus aureus* ATCC 49444 en présence de différentes concentrations d'extrait de piments à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	80 mg/ml
0-2h	+ 0,14 \pm 0.03	+ 0,09 \pm 0.01	- 0,05 \pm 0.017	- 0,20 \pm 0.034	- 1,00 \pm 0.23
2-4h	+ 0,38 \pm 0.08	+ 0,04 \pm 0.017	- 0,43 \pm 0.036	- 0,38 \pm 0.078	- 1,46 \pm 0.36
4-6h	+ 0,25 \pm 0.04	+ 0,21 \pm 0.028	- 1,37 \pm 0.031	- 1,81 \pm 0.04	- 1,54 \pm 0.086
6-8h	- 0,16 \pm 0.04	- 1,16 \pm 0.20	- 2,15 \pm 0.18	- 1,61 \pm 0.27	
8-10h	- 0,16 \pm 0.024	- 0,87 \pm 0.16			
10-12h	- 0,30 \pm 0.085	- 2,30 \pm 0.34			
12-24h	- 1,76 \pm 0.28				
24-36h	- 2,38 \pm 0.40				
0-36h	- 0,22 \pm 0	- 0,66 \pm 0	- 1,00 \pm 0	- 1,00 \pm 0	- 1,33 \pm 0

Après 10h (figure 17.A), des biomasses de l'ordre de 0.32 et 1.74 log sont perdues en présence de 5 et 10 mg/ml de *Capsicum* ; ce qui correspond à un pourcentage d'inhibition de plus de 3 et 27% par rapport à celui enregistré après 8h de culture.

Cette sensibilité poursuit son augmentation si le temps d'incubation est prolongé à 12h et génère des inhibitions respectives de 6.77 et 100% en présence de 5 et 10 mg/ml représentant des pertes de biomasse de l'ordre de 0.6 et 4.6 log UFC/ml, respectivement (figure 17.B).

Après 24 h de contact (figure 18.A), l'action inhibitrice de 5mg/ml d'extrait de piment devient plus importante (42.43 %). *S. aureus* est totalement inhibée après 36 h (figures 18.B).

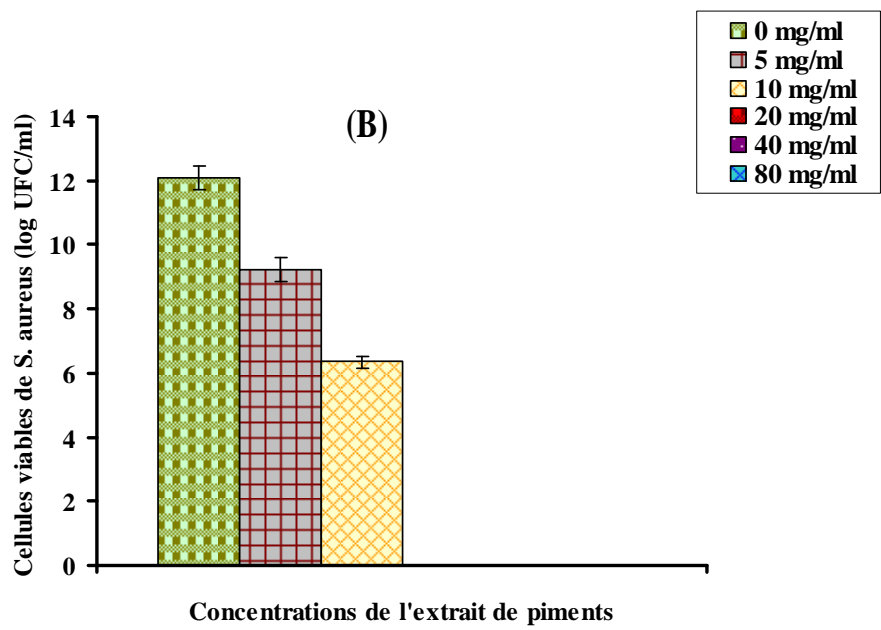
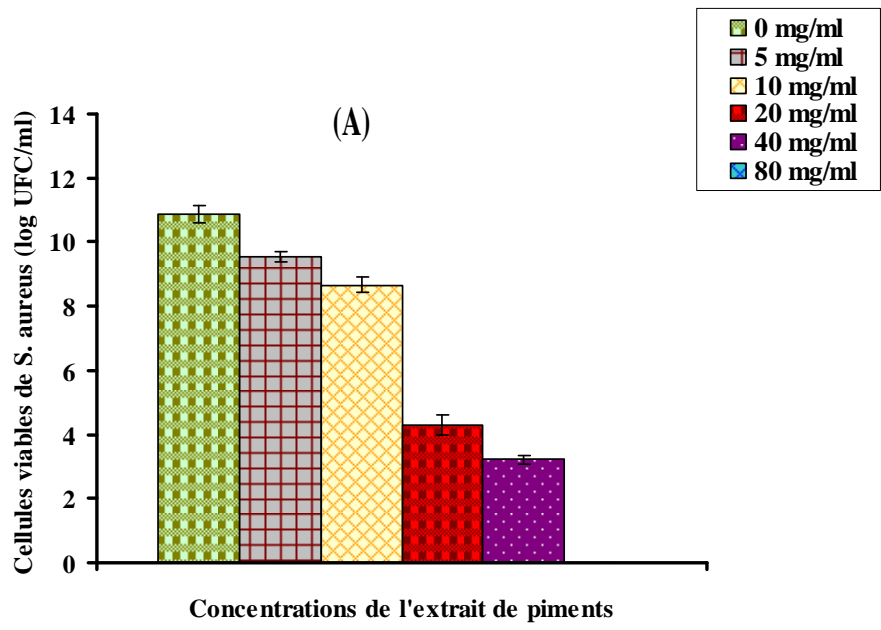


Figure 16 : Viabilité des cellules de *Staphylococcus aureus* ATCC 49444 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 6h (A) et 8h (B) de culture à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

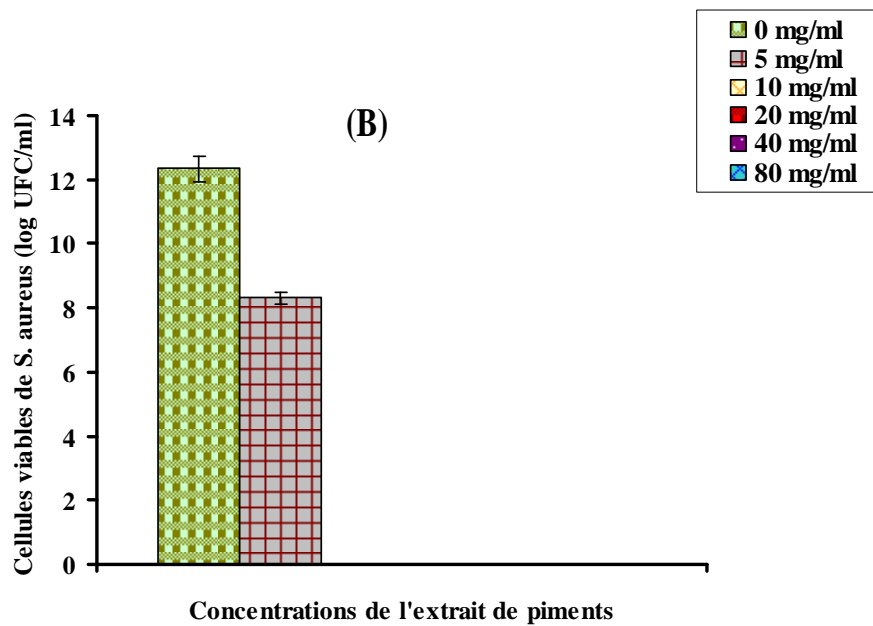
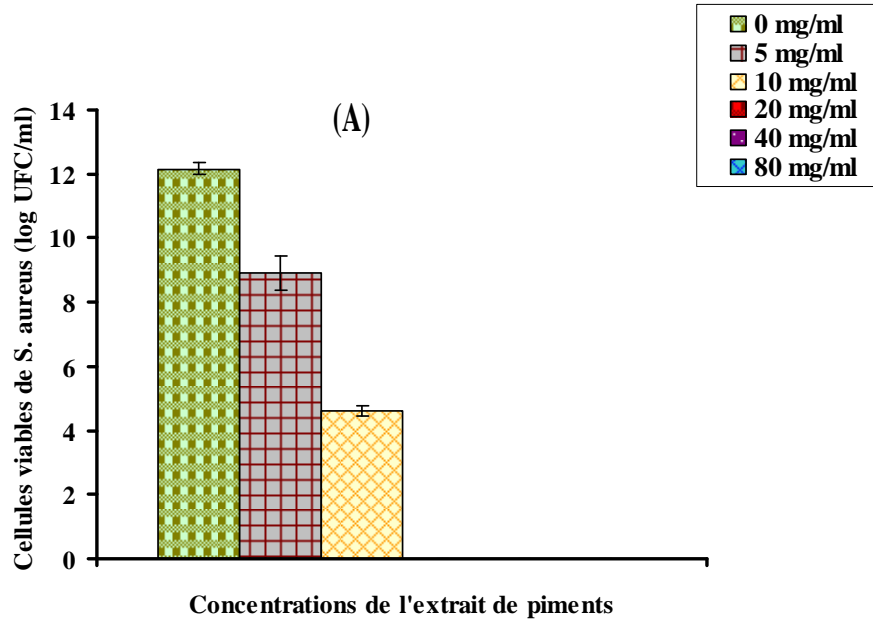


Figure 17 : Viabilité des cellules de *Staphylococcus aureus* ATCC 49444 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 10h (A) et 12h (B) de culture à 37°C.
Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

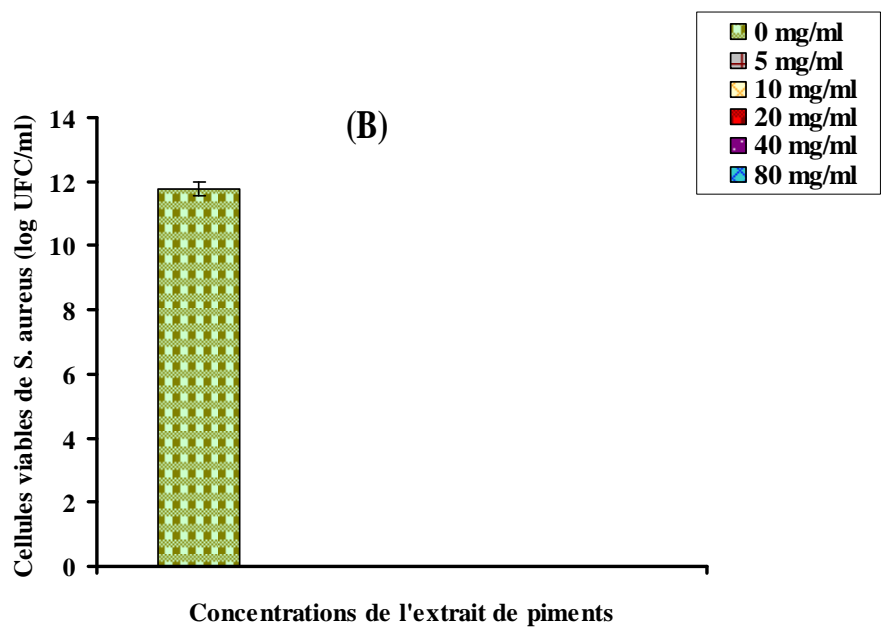
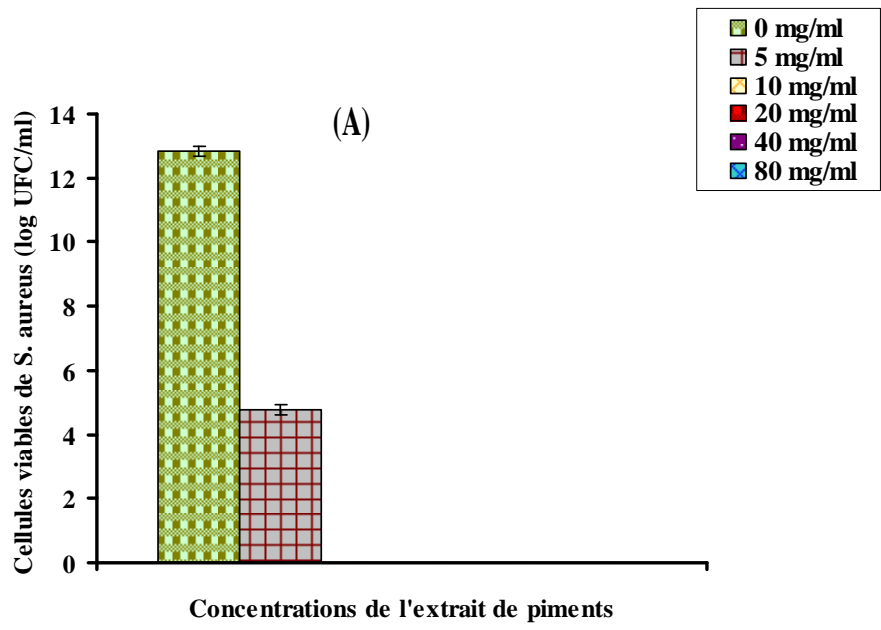


Figure 18 : Viabilité des cellules de *Staphylococcus aureus* ATCC 49444 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 24h (A) et 36h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Cichewicz et Thorpe (1996) ont testé l'effet de l'ail et de onze variétés de piment sur *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium tetani*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, et *Candida albicans*. Les résultats varient entre une inhibition partielle, totale et une stimulation.

Leurs travaux montrent aussi que ces effets sont influencés par la nature des tissus frais ou cuits. Les extraits cuits des feuilles de *C. annuum* ont une activité inhibitrice plus importante sur *B. cereus* et *B. subtilis* que les extraits frais. Paradoxalement dans cette étude, les capsaïcinoïdes (Capsaïcine et Dihydrocapsaïcine) n'ont montré aucun effet antimicrobien sur les microorganismes testés ; alors que d'autres écoles (Kang et al., 1987; Jones et al., 1997; Molina-Torres et al., 1999; Snyman et al., 2001; Acero-Ortega et al., 2005a) préconisent le contraire, c'est-à-dire que la capsaïcine et dihydrocapsaïcine possèdent un large spectre d'action antimicrobienne.

III.3.3. *Salmonella paratyphi A*

L'action inhibitrice de l'extrait de piments vis-à-vis de *Sal. paratyphi A* est plus faible par rapport à celle observée chez *S. aureus* (figure 19). Après 2 h de contact de *Sal. paratyphi A* avec l'extrait de piments, seulement la concentration 80 mg/ml a légèrement inhibé la croissance de ce germe avec une faible perte de viabilité équivalente à 0.18 log qui correspond à un pourcentage d'inhibition équivalent à 0.25% (tableau 13). Une faible croissance est enregistrée en présence des autres concentrations et qui varie de (0.02 à 0.52 log) (figure 20.A).

Après 4h d'incubation, la croissance de *Salmonella* diminue pour atteindre des pertes de viabilité qui varient entre 0.05 et 0.32 log en présence de 5, 10 et 20 mg/ml. Les taux d'inhibition mesurés en présence de 40 et 80 mg/ml étaient de 1 et 2.4 log (figure 20.B) correspondant à des pourcentages de 0.61 et 13.77, respectivement.

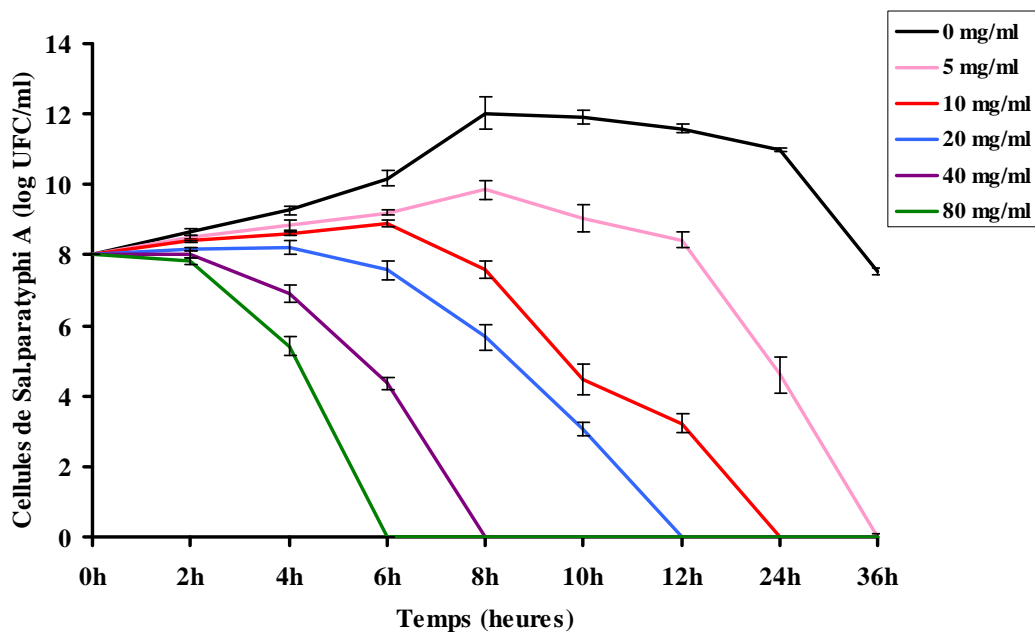


Figure 19 : Comportement des cellules de *Salmonella paratyphi A* en présence de 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments durant 36h de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

5,

Tableau 13 : Cinétique d'amélioration (exprimée en % d'augmentation des cellules) ou d'inhibition (exprimée en % de réduction des cellules) de la viabilité de *Salmonella paratyphi A* en présence de différentes concentrations d'extrait de piments à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	80 mg/ml
0-2h	+ 6,50 \pm 0.75	+ 4,87 \pm 0.42	+ 2,25 \pm 0.095	- 0,25 \pm 0.07	- 2.25 \pm 0.85
2-4h	+ 3,70 \pm 0.32	+ 2,50 \pm 0.20	- 0,61 \pm 0.08	- 13,77 \pm 0.95	- 30.69 \pm 1.32
4-6h	+ 4,20 \pm 0.27	- 3,60 \pm 0.34	- 8,14 \pm 0.56	- 36,95 \pm 1.28	- 100 \pm 0
6-8h	+ 6,90 \pm 0.36	- 14,70 \pm 0.64	- 24,87 \pm 0.95	- 100 \pm 0	
8-10h	- 8.00 \pm 0.64	- 41,09 \pm 1.54	- 45,77 \pm 1.60		
10-12h	- 6,80 \pm 0.28	- 27,85 \pm 0.87	- 100 \pm 0		
12-24h	- 45,44 \pm 1.36	- 100 \pm 0			
24-36h	- 100 \pm 0				

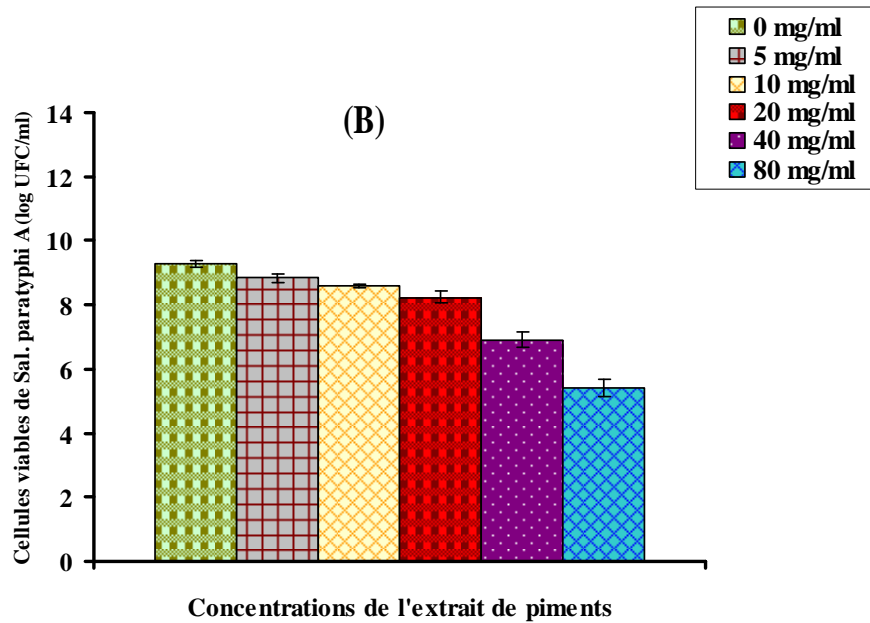
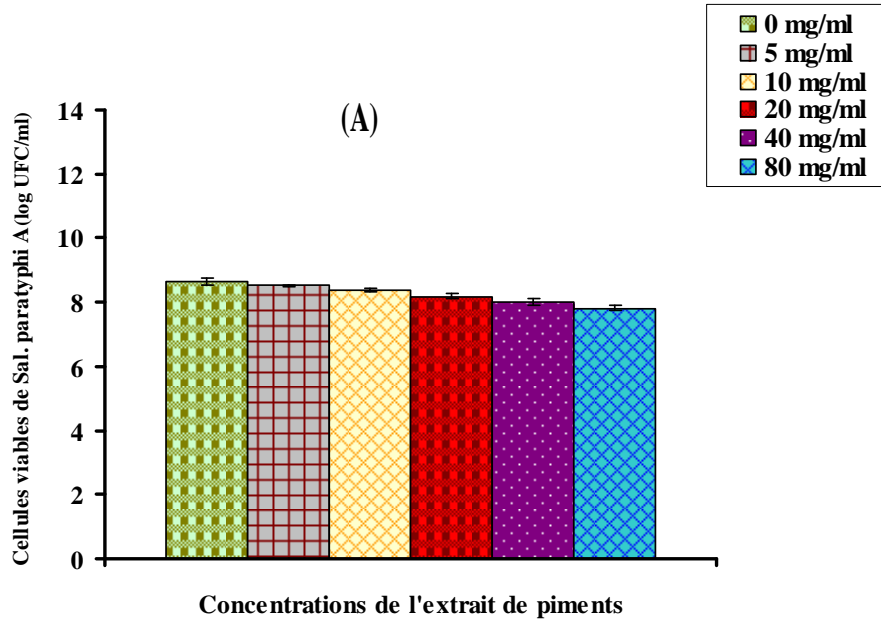


Figure 20 : Viabilité des cellules de *Salmonella paratyphi A* (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 2h (A) et 4h (B) de culture à 37°C.
 Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Une réduction de biomasse de l'ordre de 5.42 log a été observée après la culture de *Salmonella* en présence de la plus forte concentration d'extrait de piments (80 mg/ml) au bout de 6h avec une vitesse d'inhibition équivalente à 2.71 log UFC/h (tableau 14), ce taux de réduction représente une inhibition totale. Alors que plus que juste 0.67 et 2.55 log ont été inhibés en présence de 20 et 40 mg/ml avec des pourcentages d'inhibitions de presque 8 et 37% (figure 21.A).

L'inhibition continue de s'accroître après 8h d'exposition des cellules au piment pour atteindre un maximum (100%) avec la concentration 40 mg/ml suivie par les concentrations de 20 mg/ml (24.87%) et 10 mg/ml (14.70%), correspondant à une perte de viabilité de l'ordre de 4.36, 1.88 et 1.31 log, respectivement (figure 21.B).

Tableau 14: Vitesse de croissance (exprimée en log de cellules générées / h) ou d'inhibition (exprimée en log de cellules inhibées / h) de *Salmonella paratyphi A* en présence de différentes concentrations d'extrait de piments à 37°C.
Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	80 mg/ml
0-2h	+ 0,26 \pm 0.05	+ 0,19 \pm 0.03	+ 0,09 \pm 0.01	+ 0,01 \pm 0	- 0,09 \pm 0.017
2-4h	+ 0,16 \pm 0.023	+ 0,10 \pm 0.009	+ 0,02 \pm 0.005	- 0,50 \pm 0.09	- 1,20 \pm 0.17
4-6h	+ 0,18 \pm 0.04	+ 0,15 \pm 0.018	- 0,33 \pm 0.12	- 1,27 \pm 0.13	- 2,71 \pm 0.21
6-8h	+ 0,31 \pm 0.084	- 0,65 \pm 0.14	- 0,94 \pm 0.13	- 2,18 \pm 0.27	
8-10h	- 0,39 \pm 0.078	- 1,56 \pm 0.27	- 1,30 \pm 0.16		
10-12h	- 0,30 \pm 0.06	- 0,62 \pm 0.047	- 1,54 \pm 0.087		
12-24h	- 1,91 \pm 0.19	- 1,61 \pm 0.16			
24-36h	- 2,30 \pm 0.30				
0-36h	- 0,22 \pm 0	- 0,33 \pm 0	- 0,66 \pm 0	- 1,00 \pm 0	- 1,33 \pm 0

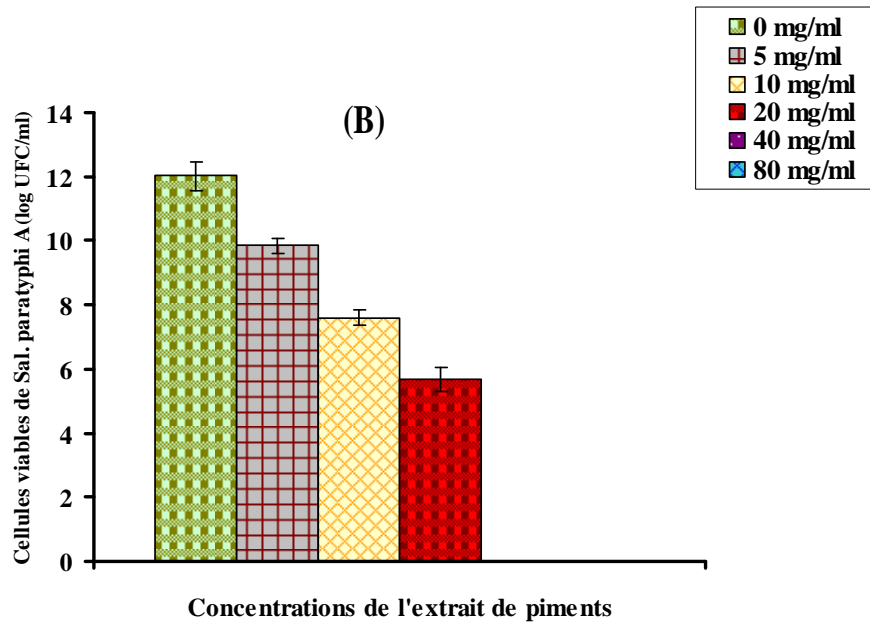
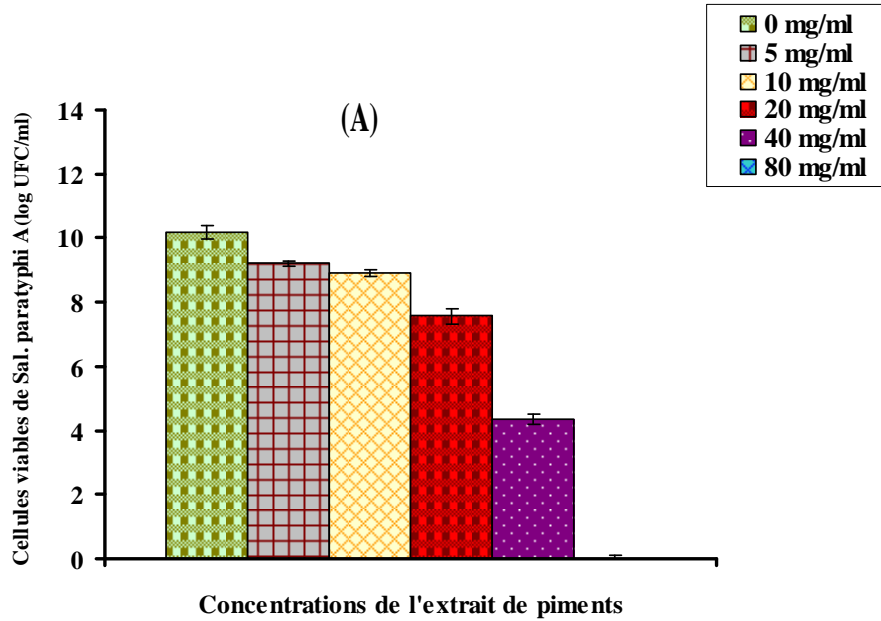


Figure 21 : Viabilité des cellules de *Salmonella paratyphi A* (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 6h (A) et 8h (B) de culture à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Lorsque l'incubation est prolongée à 10h, des pertes de viabilité qui varient entre 0.79 et 3.12 log UFC/ml ont été enregistrées en présence de 5, 10 et 20 mg/ml d'extrait de piments (figure 22.A).

L'inhibition augmente au cours du temps d'incubation car après 12h de contact, ce germe a été totalement inhibé en présence de 20 mg/ml de *Capsicum*, tandis que les concentrations 5 et 10 mg/ml ont exercé une inhibition plus prononcée par rapport au début de culture où la perte de viabilité est de l'ordre de 0.6 et 1.25 log (figure 22.B).

La viabilité de *Salmonella paratyphi* A exprimée en log UFC/ml continue de diminuer et affiche des valeurs de 3.83 et 3.23 log lorsqu'elle est cultivée pendant 24 heures respectivement avec 5 et 10 mg/ml d'extrait de piments qui correspond à 45.44 et 100% d'inhibition (figure 23.A).

Le maximum d'inhibition de *Salmonella paratyphi* A en présence de 5 mg/ml a été obtenu après 36h de culture, l'inhibition était totale (figure 23.B).

Careaga et al. (2003) ont étudié l'effet de l'extrait de piment, variété Bell, avec différentes concentrations sur *Salmonella typhimurium* et *Pseudomonas aeruginosa* dans la viande. *Salmonella typhimurium* a été inhibée à partir de 1.5 ml d'extrait appliqué à 100g, cette concentration était inactive pour *Pseudomonas aeruginosa* qui a été inhibé à 3ml d'extrait par 100g de viande.

Huiyun Zhang et al. (2009) ont exploré l'effet de treize épices incluant le piment avec différentes concentrations (5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml) sur *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* et *Lactobacillus sake*. Les souches *L. monocytogenes*, *P. fluorescens* sont les plus sensibles au piment, mais les plus fortes inhibitions sont obtenues avec le clou de girofle, romarin, écorce de cassia et la réglisse.

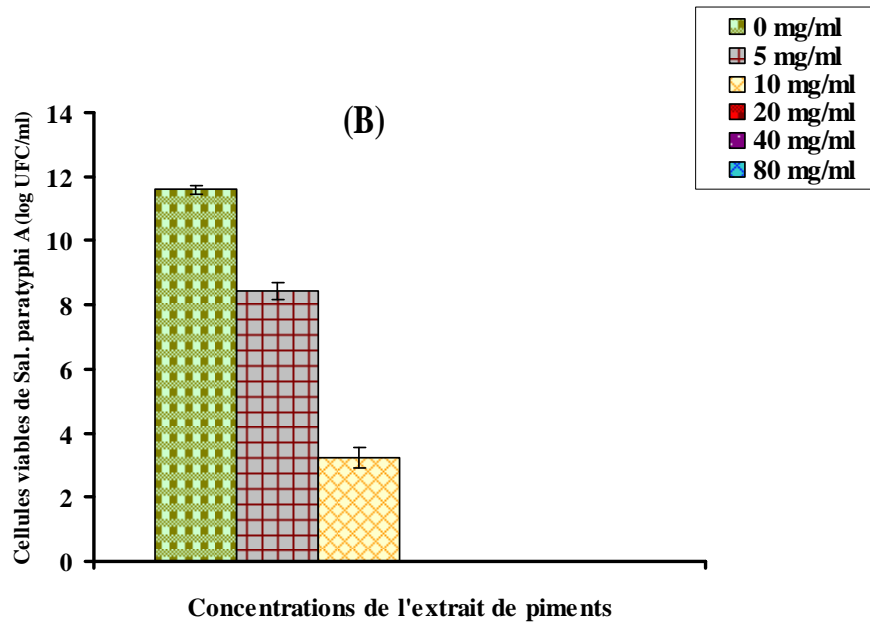
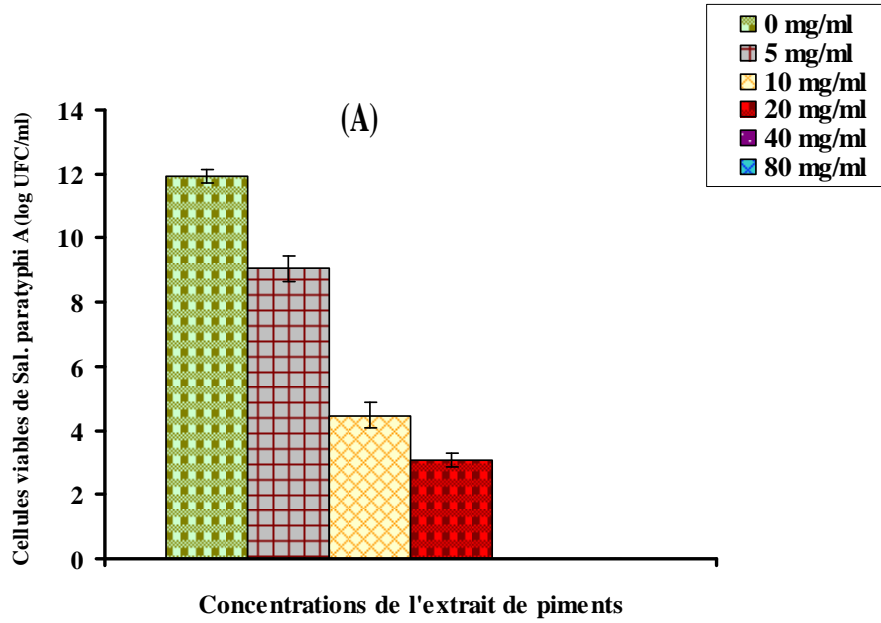


Figure 22: Viabilité des cellules de *Salmonella paratyphi A* (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 10h (A) et 12h (B) de culture à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

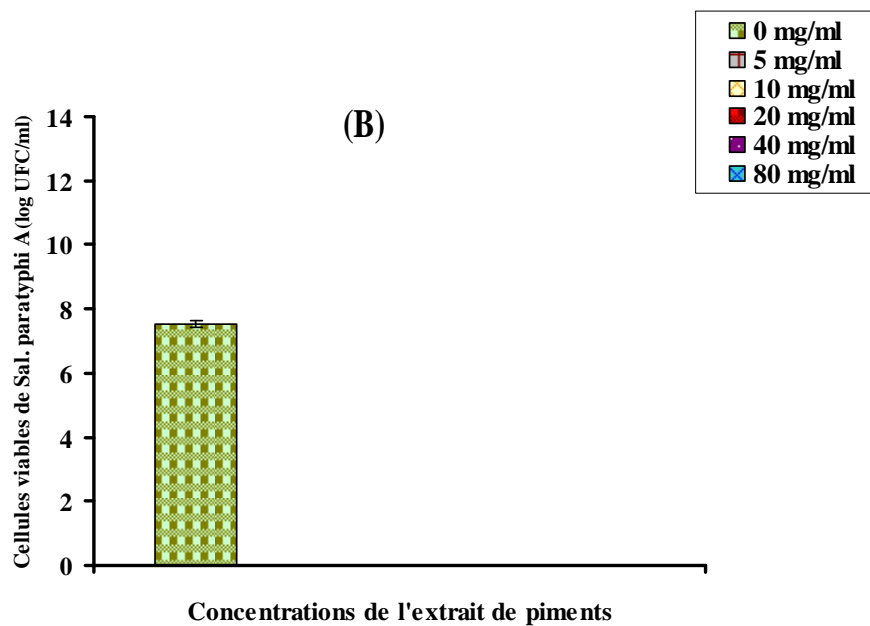
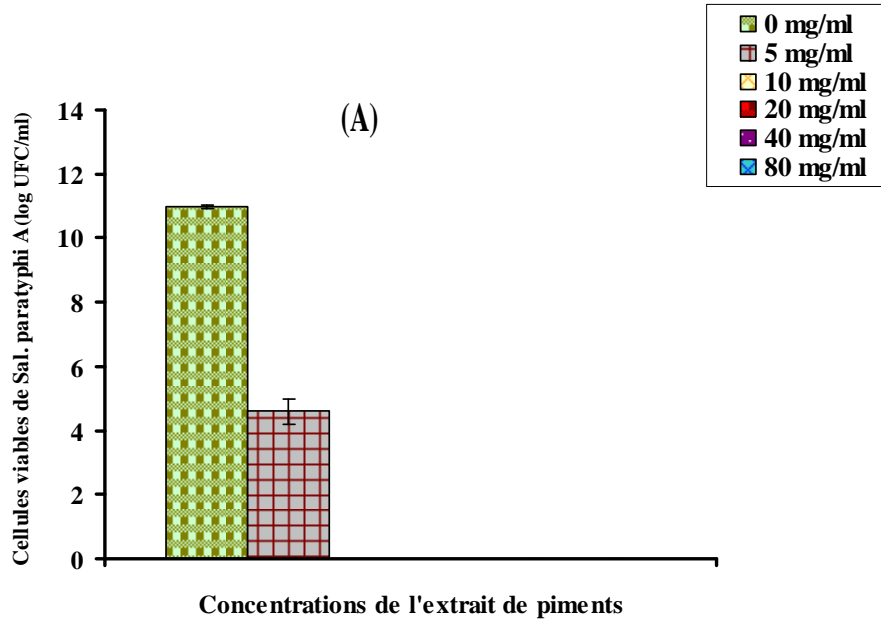


Figure 23 : Viabilité des cellules de *Salmonella paratyphi A* (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 24h (A) et 36h (B) de culture à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

III.3.3. *Shigella dysenteriae* CECT 457

L'action inhibitrice de *Capsicum* sur *Shigella dysenteriae* CECT 457 a été quantifiée dès les 2 premières heures de culture (figure 24), cette souche s'est montrée plus résistante par rapport aux deux autres souches pathogènes et a pu croître en présence des différentes concentrations de piments (0.34 à 0.9 log) (figure 25.A).

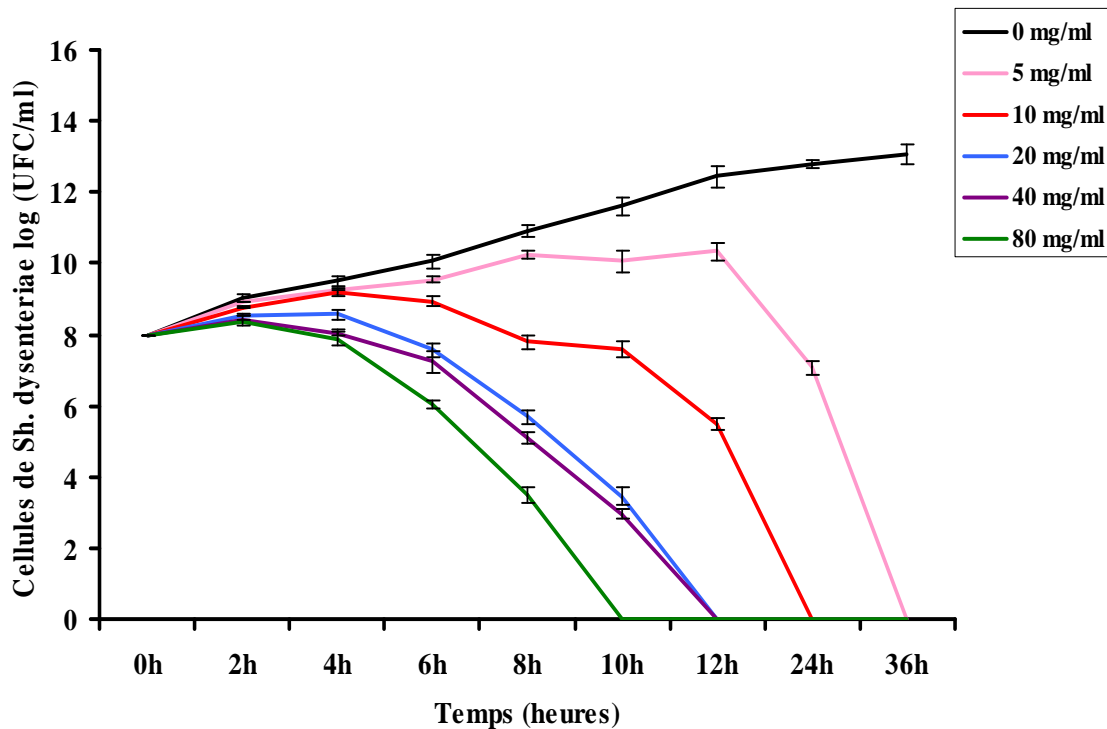


Figure 24 : Comportement des cellules de *Shigella dysenteriae* CECT 457 en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments durant 36h de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Ce léger taux de croissance continue à s'exprimer pendant les premières 4 heures d'exposition au piment, par une faible évolution (comprise entre 0.01 et 0.33 log) en présence de 5, 10 et 20 mg/ml (figure 25.B). Des pertes de viabilité équivalentes à 0.38 et 0.47 log (soit 4.5 et 5.60 %) (tableau 15) ont été obtenues respectivement en présence de 40 et 80 mg/ml.

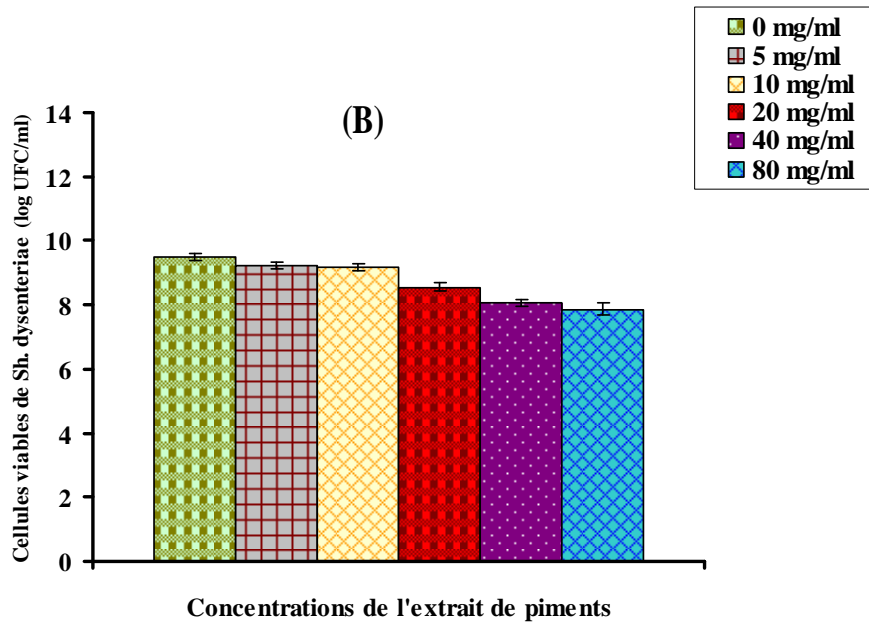
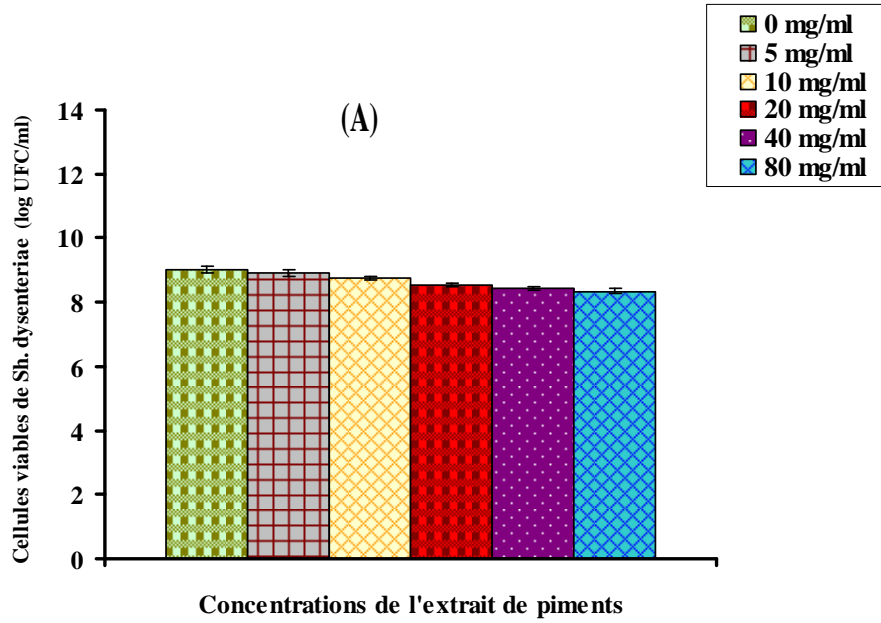


Figure 25 : Viabilité des cellules de *Sh. dysenteriae* CECT 457 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 2h (A) et 4h (B) de culture à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Tableau 15: Cinétique d'amélioration (exprimée en % d'augmentation des cellules) ou d'inhibition (exprimée en % de réduction des cellules) de la viabilité de *Shigella dysenteriae* CECT 457 en présence d'extrait de piments à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	80 mg/ml
0-2h	+ 11,25 \pm 0.59	+ 9,62 \pm 0.29	+ 6,87 \pm 0.67	+ 5,37 \pm 0.34	+ 4,27 \pm 0.58
2-4h	+ 3,70 \pm 0.14	+ 4,62 \pm 0.24	+ 0,11 \pm 0.078	- 4,50 \pm 0.64	- 5,65 \pm 0.76
4-6h	+ 3,46 \pm 0.27	- 2,57 \pm 0.14	- 11,68 \pm 0.46	- 10,18 \pm 0.71	- 23,12 \pm 1.15
6-8h	+ 7,12 \pm 0.63	- 12,97 \pm 0.48	- 24,86 \pm 0.68	- 29,59 \pm 0.84	- 42,14 \pm 1.4
8-10h	- 1,76 \pm 0.15	- 2,31 \pm 0.41	- 39,43 \pm 0.97	- 42,04 \pm 1.46	- 100 \pm 0
10-12h	- 2,90 \pm 0.41	- 27,89 \pm 0.94	- 100 \pm 0	- 100 \pm 0	
12-24h	- 31,63 \pm 1.36	- 100 \pm 0			
24-36h	- 100 \pm 0				

Après 6h de culture de *Shigella dysenteriae*, une légère croissance a été enregistrée avec 5 mg/ml d'extrait de piments (0.32 log) (figure 26.A). Lorsque cette souche est cultivée 6h avec 10, 20, 40 et 80mg/ml, une réduction de biomasse qui de 0.23 à 1.82 log générée par des vitesses d'inhibition comprises entre 0.11 et 0.91 log/h a été observée (tableau 16). En logarithme du nombre des cellules et après 8 h de contact, la figure 26.B illustre des pertes de la biomasse qui varient de 1.31 à 4.36 log.

Tableau 16: Vitesse de croissance (exprimée en log de cellules générées / h) ou d'inhibition (exprimée en log de cellules inhibées / h) de *Shigella dysenteriae* CECT 457 en présence d'extrait de piments à 37°C.
Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).

	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	80 mg/ml
0-2h	+ 0,45 ± 0.089	+ 0,38 ± 0.023	+ 0,27 ± 0.007	+ 0,21 ± 0.04	+ 0,17 ± 0.021
2-4h	+ 0,16 ± 0.05	+ 0,20 ± 0.06	0 ± 0	- 0,19 ± 0.012	- 0,23 ± 0.036
4-6h	+ 0,16 ± 0.042	- 0,11 ± 0.007	- 0,5 ± 0.048	- 0,41 ± 0.098	- 0,91 ± 0.098
6-8h	+ 0,34 ± 0.043	- 0,58 ± 0.098	- 0,94 ± 0.065	- 1,07 ± 0.12	- 1,27 ± 0.17
8-10h	- 0,09 ± 0.002	- 0,09 ± 0.004	- 1,12 ± 0.13	- 1,07 ± 0.19	- 1,75 ± 0.32
10-12h	+ 0,14 ± 0.005	- 1,06 ± 0.18	- 1,72 ± 0.24	- 1,47 ± 0.16	
12-24h	- 1,63 ± 0.36	- 2,74 ± 0.54			
24-36h	-3,53 ± 0.18				
0-36h	- 0.22 ± 0	- 0.33 ± 0	- 0.66 ± 0	- 0.66 ± 0	- 0.80 ± 0

La prolongation du temps de culture à 10h permet une perte de viabilité de *Sh. dysenteriae* plus importante (figure 27.A) : 0.18, 0.18, 2.24, 3.5 et 1.76 log en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml qui correspond respectivement à 1.76, 2.31, 39.43, 42.04 et 100%.

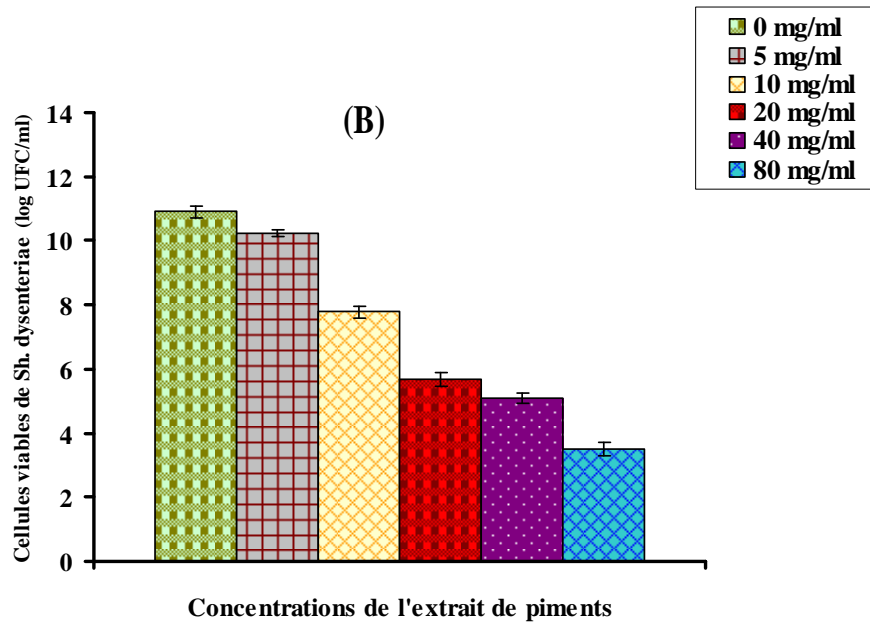
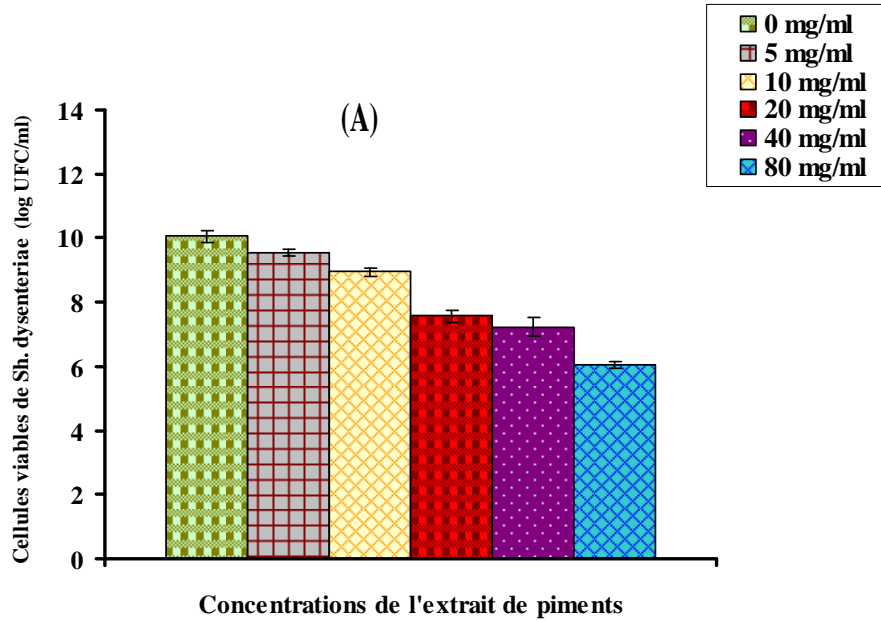


Figure 26 : Viabilité des cellules de *Sh. dysenteriae* CECT 457 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 6h (A) et 8h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

La poursuite de cette culture à 12h, permet une inhibition totale (soit 100% d'inhibition) de ce germe pathogène en présence de 20 et 40 mg/ml (figure 27.B), tandis que seulement 2.90 et 27.89 % d'inhibition a été enregistrée avec les concentrations 5 et 10 mg/ml d'extrait de piments. L'inhibition totale de *Sh. dysenteriae* n'a été obtenue qu'après des temps respectifs de 24 et 36h de culture avec 5 et 10 mg/ml d'extrait de piments (figure 28.A et B).

Molina-Torres *et al.* (1999) ont étudié l'effet antimicrobien des alkamides (capsaïcine et affinine) sur *Escherichia coli*, *Pseudomonas solanacearum*, *Bacillus subtilis* et *Saccharomyces cerevisiae*. Leurs résultats indiquent que 90 % d'*E. coli* a été inhibé après 8h d'incubation en présence de 25 mg/ml d'affinine, alors que de 200 jusqu'à 300 mg/ml de capsaïcine retarde seulement la croissance. *P. solanacearum* était plus résistante par rapport à *E. coli* et n'a été totalement inhibée qu'après l'administration de 150 mg/ml d'affinine, et a été retardée juste de 20% en présence de 300 mg/ml de capsaïcine. La capsaïcine avait un grand pouvoir inhibiteur contre *Bacillus subtilis* par rapport à l'affinine en inhibant cette souche à une concentration de 25 mg/ml, tandis que l'affinine le faisait à 150 mg/ml.

Acero *et al.* (2005) ont évalué l'effet de l'extrait de dix variétés de piments sur *Listeria monocytogenes*. Les piments contenant de fortes concentrations d'acide coumarique et caféique exercent le plus grand pouvoir inhibiteur.

Ponce *et al.* (2008) ont testé l'effet de quelques plantes sur *Listeria monocytogenes*, et les meilleurs résultats d'inhibition ont été obtenus avec le romarin avec une zone d'inhibition de 19 mm de diamètre, suivi de l'olive (13.5 mm), et du piment enregistrant une zone d'inhibition de 10.5 mm de diamètre.

Tsuchiya (2001) a montré que l'application d'une faible concentration de capsaïcine dans les membranes liposomiques rend celles-ci fluides tandis qu'une concentration élevée les solidifie. Ces auteurs préconisent qu'étant donné que les membranes des bactéries sont similaires à celles des liposomes, essentiellement constituées de phospholipides, on soutient alors l'idée que la capsaïcine agit de la même façon sur les bactéries.

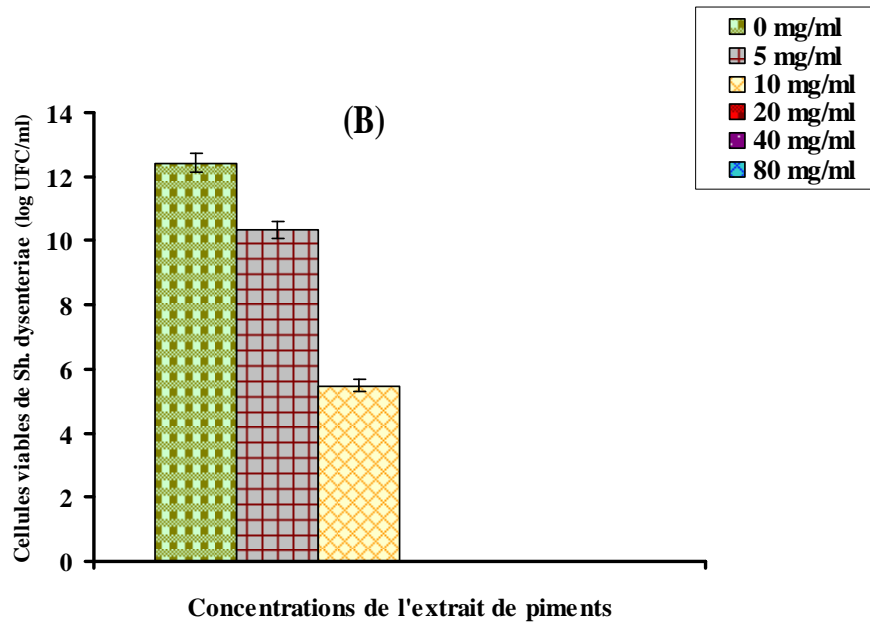
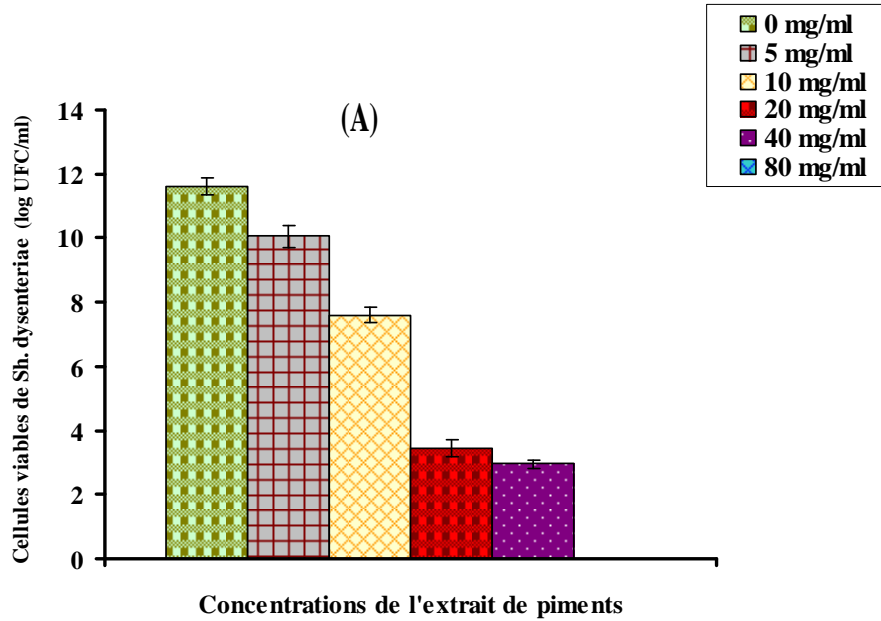


Figure 27 : Viabilité des cellules de *Sh. dysenteriae* CECT 457 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 10h (A) et 12h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

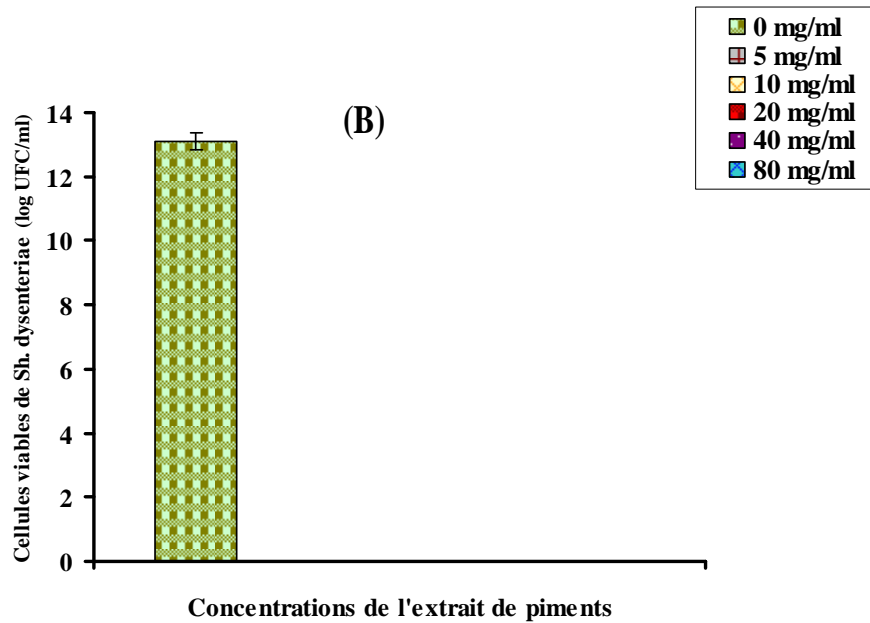
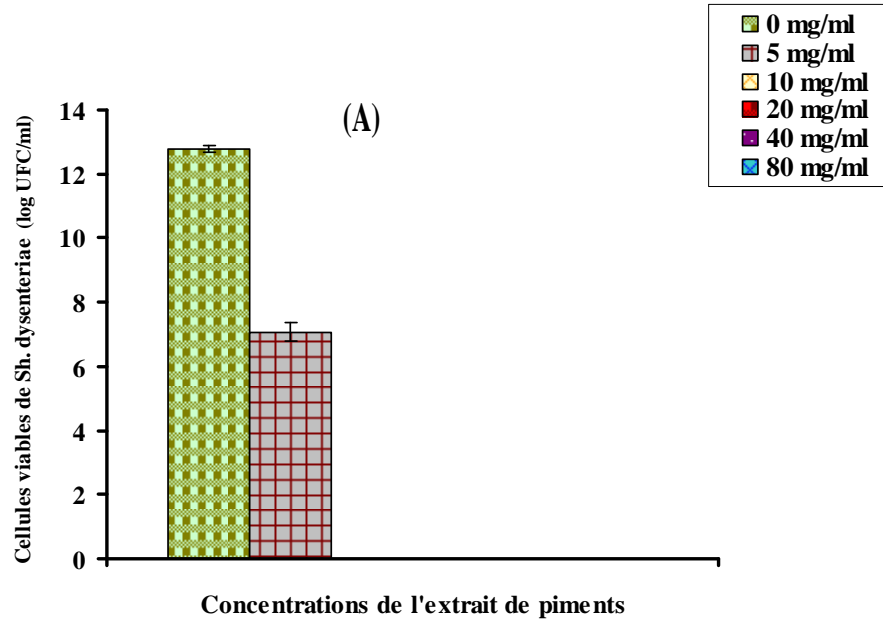


Figure 28 : Viabilité des cellules de *Sh. dysenteriae* CECT 457 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 24h (A) et 36h (B) de culture à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

III.4. Comportement des souches bénéfiques en présence d'extrait de piments

III.4.1. *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS

En présence de différentes concentrations d'extrait de piments, la viabilité de la souche *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS ne semble pas être affectée (figure 29).

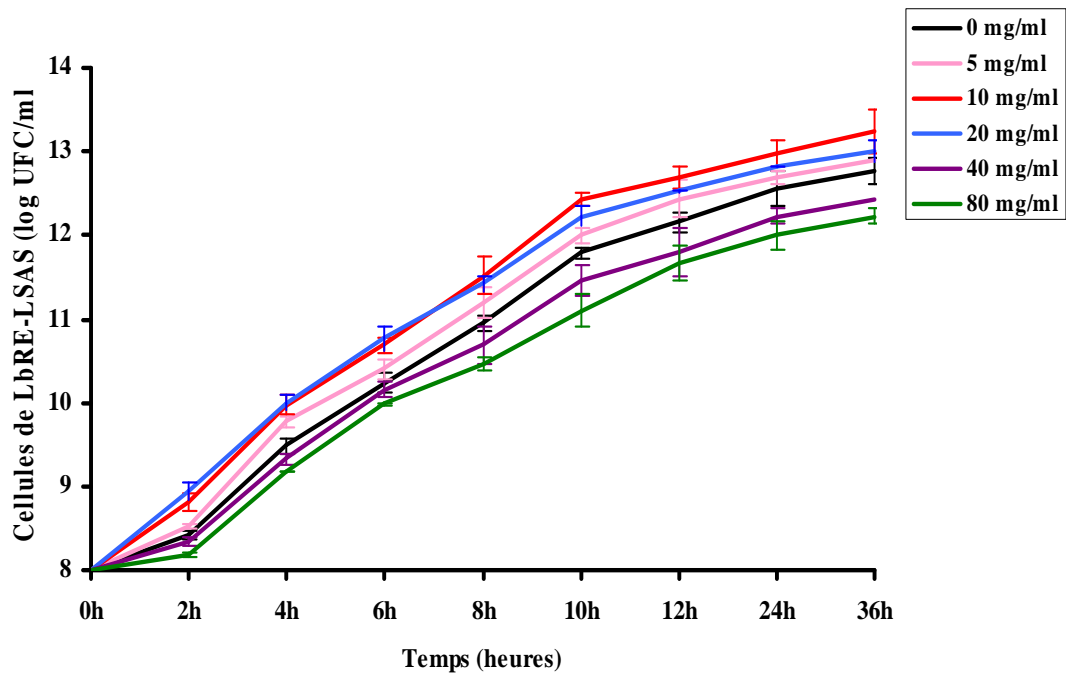


Figure 29 : Comportement des cellules de *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments durant 36h de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Durant les premières deux heures de culture, l'addition des différentes concentrations de l'extrait de piments provoque une augmentation de biomasse de l'ordre de 0.53, 0.81, 0.95, 0.34 et 0.19 log (figure 30.A) générée par des vitesses de croissance respectives de 0.26, 0.40, 0.47, 0.17 et 0.09 log/h en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml (tableau 17).

Lorsque l'incubation fût prolongée à 4h, l'évolution de la croissance de LbRE-LSAS continue en présence des différentes concentrations de *Capsicum*, cette augmentation varie entre 0.99 et 1.24 (figure 30.B), les pourcentages d'amélioration sont comprises entre 0.49 et 0.62 log/h (tableau 18).

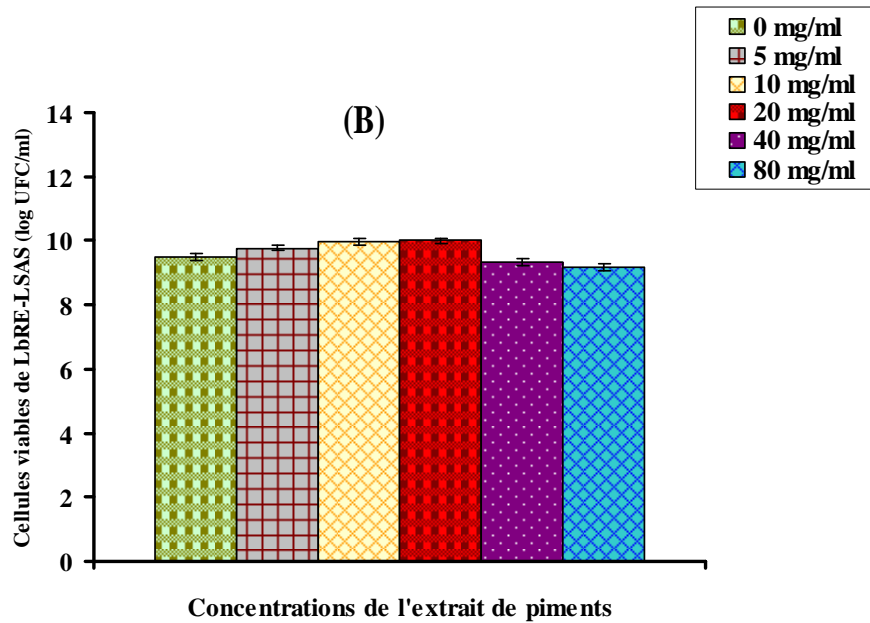
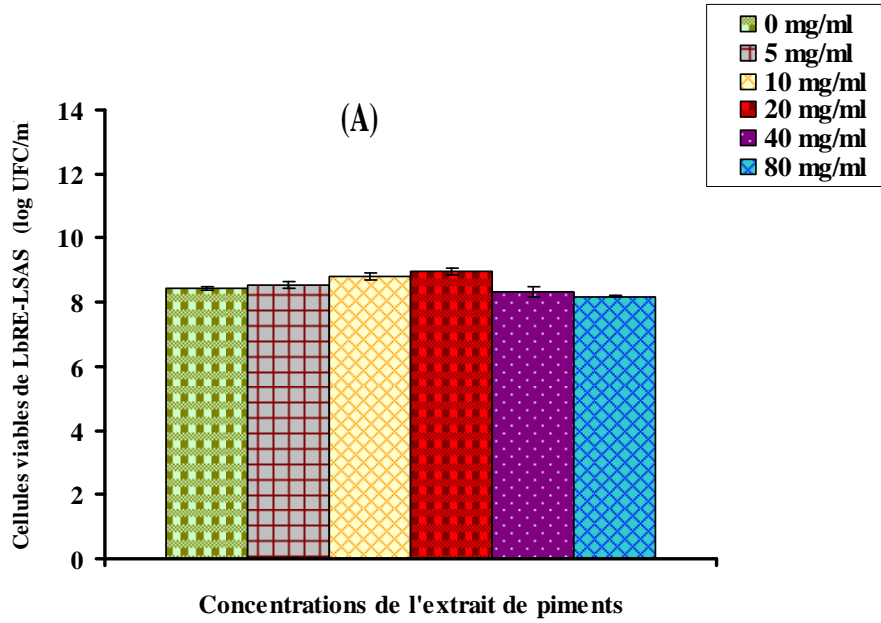


Figure 30 : Viabilité des cellules de LbRE-LSAS (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 2h (A) et 4h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

**Tableau 17: Vitesse de croissance de *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS en présence d'extrait de piments à 37°C (log/h).
Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).**

	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	80 mg/ml
0-2h	+ 0,26 \pm 0.078	+ 0,40 \pm 0.032	+ 0,47 \pm 0.041	+ 0,17 \pm 0.009	+ 0,09 \pm 0.007
2-4h	+ 0,62 \pm 0.08	+ 0,58 \pm 0.042	+ 0,52 \pm 0.098	+ 0,49 \pm 0.074	+ 0,50 \pm 0.096
4-6h	+ 0,31 \pm 0.074	+ 0,36 \pm 0.065	+ 0,38 \pm 0.064	+ 0,41 \pm 0.084	+ 0,40 \pm 0.032
6-8h	+ 0,39 \pm 0.034	+ 0,41 \pm 0.017	+ 0,32 \pm 0.01	+ 0,26 \pm 0.05	+ 0,23 \pm 0.052
8-10h	+ 0,40 \pm 0.04	+ 0,45 \pm 0.09	+ 0,40 \pm 0.05	+ 0,38 \pm 0.069	+ 0,32 \pm 0.087
10-12h	+ 0,22 \pm 0.098	+ 0,13 \pm 0.0014	+ 0,14 \pm 0.0056	+ 0,17 \pm 0.0041	+ 0,28 \pm 0.038
12-24h	+ 0,12 \pm 0.005	+ 0,14 \pm 0.002	+ 0,14 \pm 0.075	+ 0,21 \pm 0.085	+ 0,16 \pm 0.079
24-36h	+ 0,10 \pm 0.005	+ 0,12 \pm 0.01	+ 0,09 \pm 0.004	+ 0,10 \pm 0.009	+ 0,11 \pm 0.2
0-36h	+ 0,13 \pm 0.03	+ 0,13 \pm 0.008	+ 0,13 \pm 0.005	+ 0,11 \pm 0.01	+ 0,11 \pm 0.098

Tableau 18: Pourcentage d'amélioration (exprimée en % d'augmentation des cellules) de la viabilité de *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS en présence d'extrait de piments à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	80 mg/ml
0-2h	+ 6,62 \pm 0.23	+ 10,12 \pm 0.42	+ 11,87 \pm 0.65	+ 4,25 \pm 0.17	+ 2,37 \pm 0.26
2-4h	+ 14,50 \pm 0.298	+ 13,16 \pm 0.31	+ 11,73 \pm 0.41	+ 11,87 \pm 0.38	+ 12,21 \pm 0.28
4-6h	+ 6,44 \pm 0.17	+ 7,22 \pm 0.25	+ 7,70 \pm 0.35	+ 8,89 \pm 0.48	+ 8,70 \pm 0.18
6-8h	+ 7,59 \pm 0.24	+ 7,76 \pm 0.26	+ 6,03 \pm 0.134	+ 5,21 \pm 0.48	+ 4,70 \pm 0.15
8-10h	+ 7,23 \pm 0.25	+ 7,89 \pm 0.38	+ 7,09 \pm 0.12	+ 7,20 \pm 0.179	+ 6,11 \pm 0.198
10-12h	+ 3,66 \pm 0.45	+ 2,09 \pm 0.089	+ 2,37 \pm 0.14	+ 3,05 \pm 0.21	+ 5,13 \pm 0.65
12-24h	+ 2,00 \pm 0.16	+ 2,28 \pm 0.24	+ 2,31 \pm 0.18	+ 3,55 \pm 0.34	+ 2,82 \pm 0.26
24-36h	+ 1,57 \pm 0.09	+ 1,92 \pm 0.14	+ 1,48 \pm 0.24	+ 1,63 \pm 0.17	+ 1,91 \pm 0.064

Lorsque la culture est prolongée à 6h (figure 31.A), on remarque que le pourcentage d'amélioration par rapport au témoin a faiblement augmenté pour afficher un maximum de 5.27 % en présence de 20 mg/ml d'extrait de piments.

Après 8h de culture, les concentrations 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments retardent toujours la croissance de *Lactobacillus rhamnosus* par rapport au témoin, avec des différences de quantités de biomasse de l'ordre de 0.26 et 0.49 log UFC/ml (figure 31.B). Les concentrations 5, 10 et 20 mg/ml d'extrait de piments exercent toujours une légère stimulation de l'ordre de 2.19, 5.20, 4.29 % par rapport toujours au témoin.

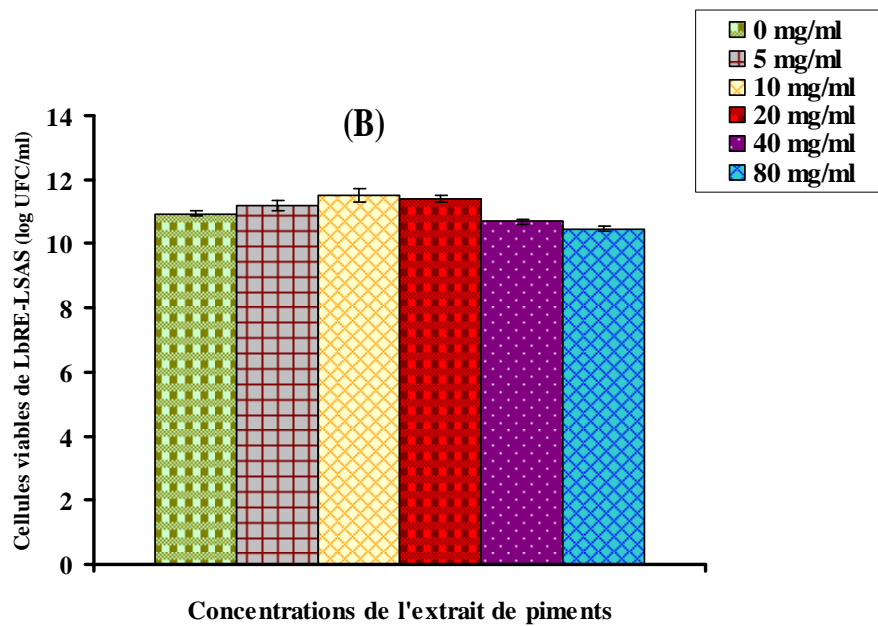
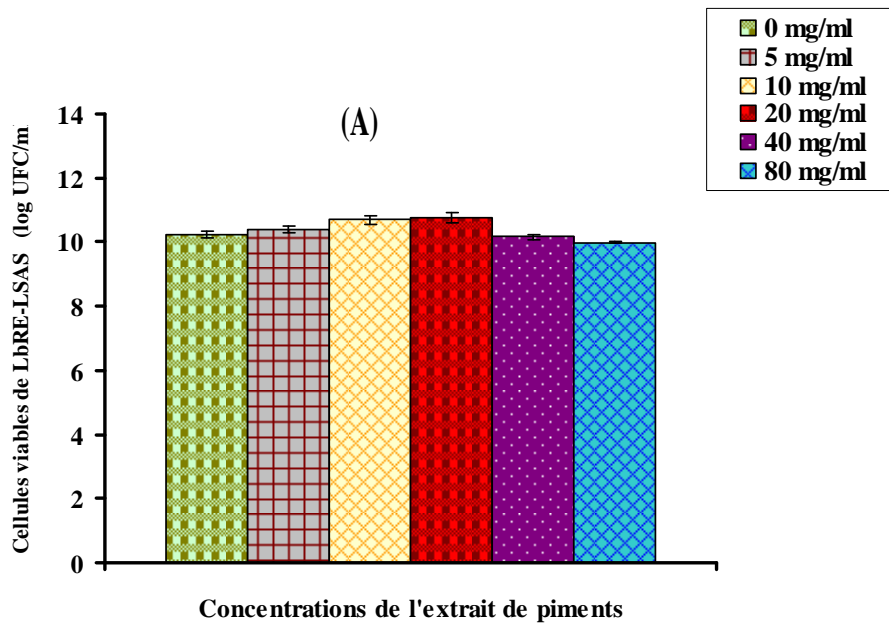


Figure 31: Viabilité des cellules de LbRE-LSAS (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 6h (A) et 8h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Une augmentation de biomasse de l'ordre de 0.81, 0.91, 0.81, 0.77 et 0.64 log a été obtenue après 10h de culture avec 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments, respectivement (figure 32.A). Cette évolution de croissance diminue après 12h pour enregistrer des faibles augmentation de biomasse équivalentes à 0.44, 0.26, 0.29, 0.35 et 0.57 log avec de faibles vitesses de croissance de l'ordre de 0.22, 0.13, 0.14, 0.17 et 0.28 log UFC/h (figure 32.B).

Ce léger taux d'amélioration en présence de faibles concentrations ou de retard de la croissance en présence de fortes concentrations d'extrait de piments continue à s'exprimer durant les heures qui suivent jusqu'à la fin de l'incubation (36h) avec des vitesses maximales de croissance qui varient de 0.11 à 0.13 (figure 33. A et B).

Nazzaro et al. (2008) ont testé l'effet de l'extrait de deux variétés de piments sur *Lactobacillus casei* DSM 9595, *L. fermentum* DSM 20052, *L. acidophilus* DSM 20079, *L. bulgaricus* DSM 20081, *L. rhamnosus* DSM 20711, *Escherichia coli* DSM8579, *E. coli* EC101, *Bacillus cereus* DSM4313, *B. cereus* DSM 4384, et *B. cereus* GN105. Leurs résultats montrent que le piment inhibe la croissance de : *E. coli* EC101, *Bacillus cereus* DSM4313, *B. cereus* DSM 4384 et *B. cereus* GN 105 ; tandis que les bactéries lactiques étaient résistantes.

Dix-huit extraits d'épices: mélisse citronnelle, coriandre, cumin, fenouil, *Helichrysum compactum*, houblon, laurier, mahaleb, moutarde, myrte, origan, piment rouge, rose, sauge, sésame, sumac, estragon et le thym ont été testés contre quinze lactobacilles (*Lactobacillus plantarum* C27, *L. plantarum* C32, *L. plantarum* C39, *L. plantarum* P33, *L. plantarum* P51, *L. plantarum* P53, *L. fermentum* C47, *L. fermentum* P37, *L. fermentum* P38, *L. fermentum* P46, *L. fermentum* P54, *L. coryniformis* subsp. *Torquens* C33, *L. animalis* C26, *L. acidophilus* P49 et *Lactobacillus* sp. C41) par Sağdıç et al (2003). Les résultats de ces auteurs indiquent qu'aucune zone d'inhibition n'a été observée avec la coriandre, fenouil, mahaleb, moutarde, piment rouge, rose et le sésame. Les souches *L. coryniformis* subsp. *Torquens* C33 et *L. animalis* C26 étaient les seules bactéries lactiques résistantes à la mélisse citronnelle. L'estrageon avait un

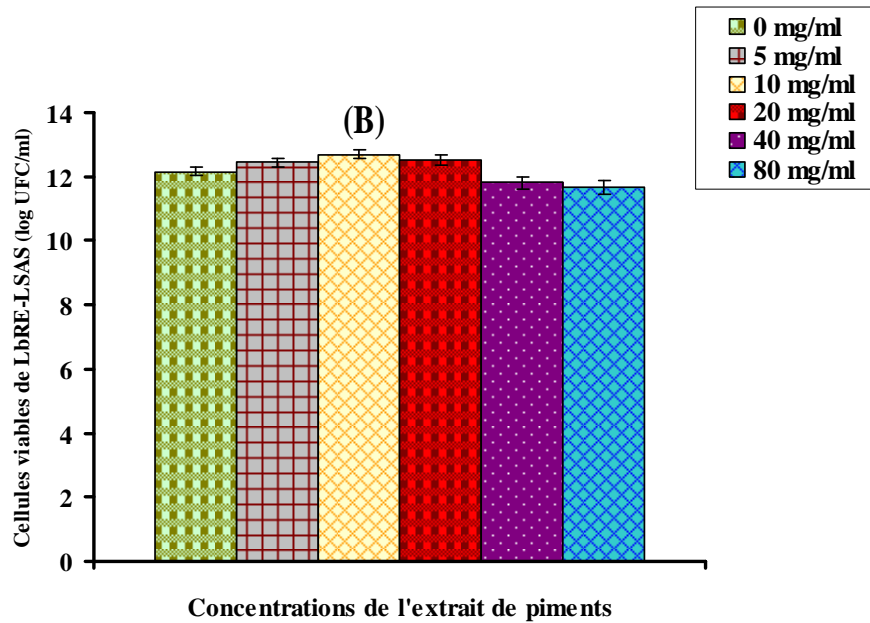
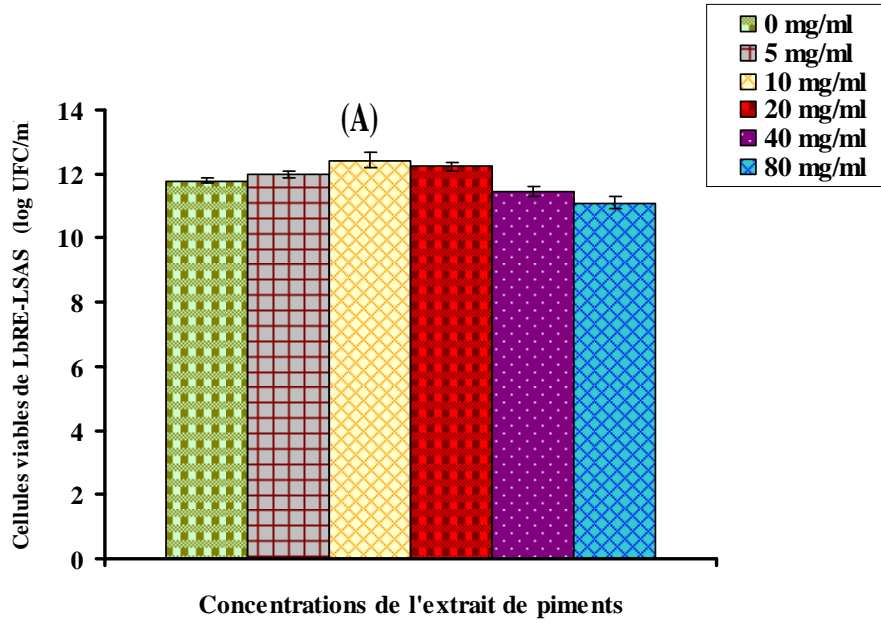


Figure 32: Viabilité des cellules de LbRE-LSAS (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 10h (A) et 12h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

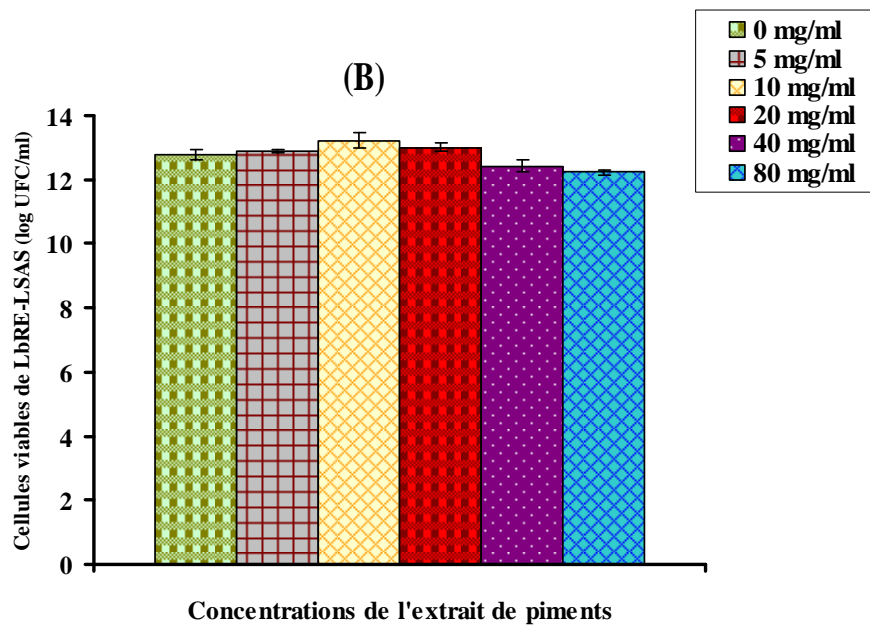
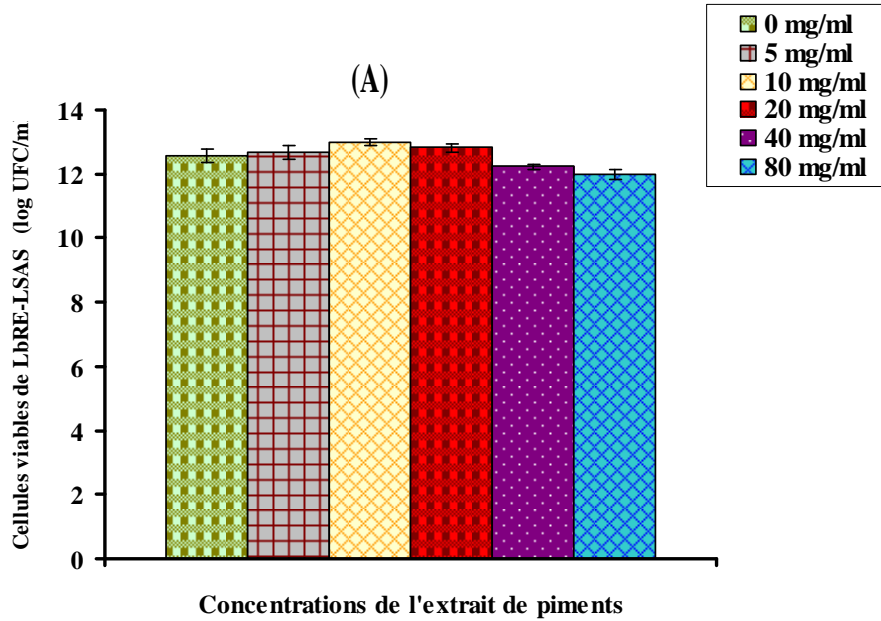


Figure 33 : Viabilité des cellules de LbRE-LSAS (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 24h (A) et 36h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

pouvoir inhibiteur contre les souches : *L. plantarum* C27, *L. plantarum* C39, *L. plantarum* P33, *L. plantarum* P51, *L. plantarum* P53, *L. fermentum* C47, *L. fermentum* P37 et *Lactobacillus sp.* C41. Le reste des épices inhibaient la croissance de toutes les bactéries, le myrte et l'houblon donnaient les plus grandes zones d'inhibition vis-à-vis de ces germes.

DE Lacruz (2007) a étudié le comportement de la souche *Lactobacillus lactis* INRA 115 dans du lait additionné de piment en poudre. Le pH du lait diminue d'environ 0,3 unité immédiatement après l'ajout de piment. L'acidité initiale plus importante des essais contenant 1 ou 2 % de piment favorise la croissance de cette souche neutrophile qui se traduit par une acidification plus rapide. Dans une fabrication de fromage pimenté, l'ajout de piment au lait, avant les levains lactiques, diminuerait le temps de formation du gel lactique. L'ajout de piment (1 ou 2 %) diminue le temps de formation du gel lactique d'environ deux fois par rapport à celui observé sans piment.

Dorante et al. (2008) ont testé l'effet des extraits de *Capsicum* et l'acide cinnamique sur la croissance de certaines bactéries pathogènes qui peuvent se développer dans les produits laitiers (*Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus*). Les deux souches pathogènes ont été inhibées en présence d'extrait de piments et d'acide cinnamique. Dans le but de savoir si les conditions qui inhibent *Listeria* et *Staphylococcus* auraient une incidence sur la croissance des bactéries bénéfiques, Ces derniers auteurs ont testé ces extraits sur une souche bénéfique *Lactobacillus plantarum*. Leurs résultats ont montré qu'aucune inhibition significative n'a été observée avec les deux extraits. Ces résultats suggèrent que l'extrait de piments peut être utilisé pour inhiber les bactéries pathogènes sans affecter la croissance des bactéries lactiques bénéfiques.

III.4.2. *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* Bb12

Le comportement de la souche probiotique *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb12) vis-à-vis des différentes concentrations de piments est illustré par la figure 34. On constate qu'à des concentrations de 5, 10 et 20 mg/ml, le piment stimule la croissance de Bb12 et ce n'est qu'à 40 et 80 mg/ml, que cette souche commence à être sensible, mais très légèrement, par rapport au témoin.

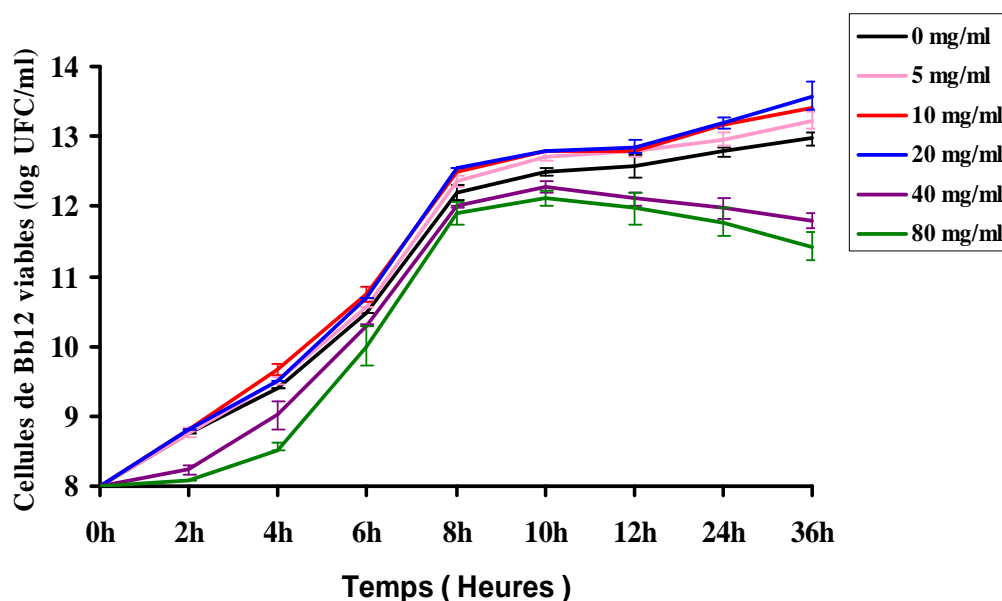


Figure 34 : Comportement des cellules de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments durant 36h de culture à 37°C.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

La viabilité des cellules de Bb12 n'est pas affectée par les différentes concentrations de piments après 2h d'incubation (figure 35.A). Cette viabilité est au contraire améliorée de 0.76, 0.80, 0.80, 0.23 et 0.08 log UFC/ml en présence de 5, 10, 20, 40 et 80 mg/ml d'extrait de piments, respectivement. Cette amélioration a été générée par des vitesses de croissance respectives de l'ordre de 0.38, 0.40, 0.40, 0.11 et 0.04 log/h (tableau 19).

Après 4h de contact, une augmentation de l'ordre de 0.74, 0.87, 0.70, 0.79 et 0.43 log (figure 35.B) a été enregistré, qui correspond à un pourcentage qui varie de 0.08 à 9.8 % (tableau 20).

Un maximum d'amélioration par rapport au témoin correspond à 2.58 % a été obtenu avec 10 mg/ml d'extrait de piments après 6h d'incubation (figure 36.A). La prolongation de la culture à 8h (figure 36.B) donne une augmentation de biomasse qui varie de 1.7 et 1.89 log.

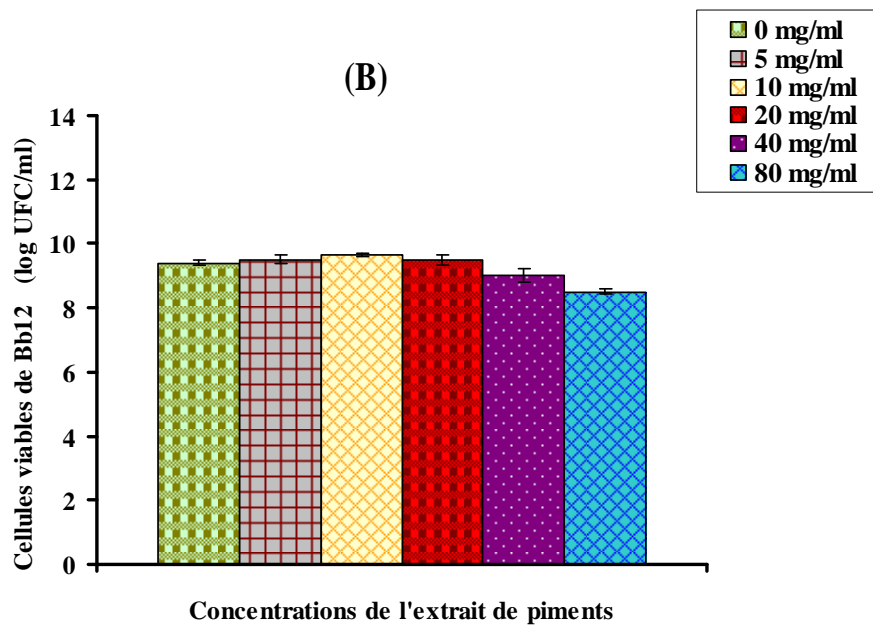
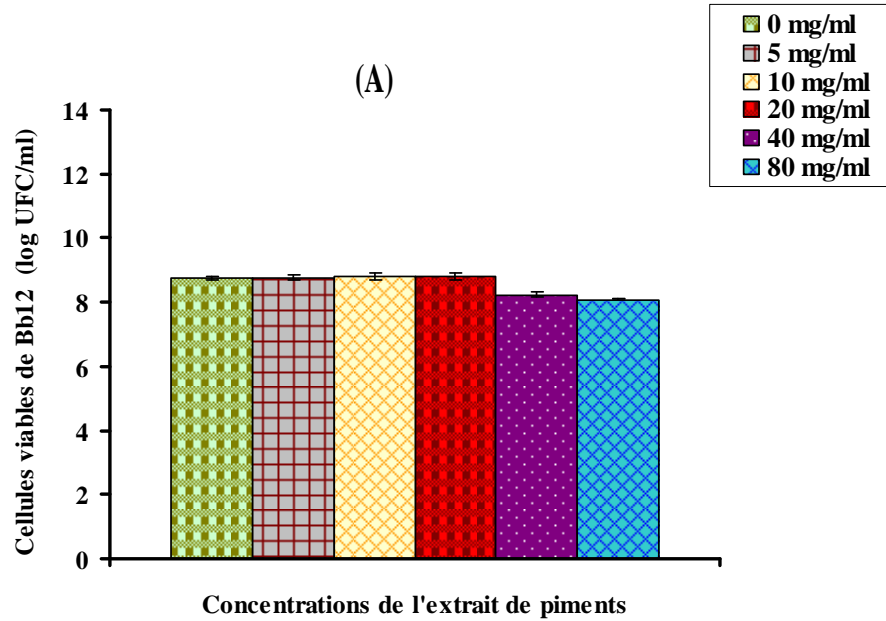


Figure 35 : Viabilité des cellules de Bb12 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 2h (A) et 4h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Tableau 19: Vitesse de croissance (exprimée en log de cellules générées / h) ou d'inhibition (exprimée en log de cellules inhibées / h) de *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* Bb12 en présence d'extrait de piments à 37°C.
Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).

	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	80 mg/ml
0-2h	+ 0,38 ± 0.032	+ 0,40 ± 0.054	+ 0,40 ± 0.095	+ 0,11 ± 0.007	+ 0,04 ± 0
2-4h	+ 0,37 ± 0.054	+ 0,43 ± 0.03	+ 0,35 ± 0.022	+ 0,39 ± 0.01	+ 0,21 ± 0.006
4-6h	+ 0,53 ± 0.047	+ 0,53 ± 0.021	+ 0,59 ± 0.035	+ 0,64 ± 0.072	+ 0,74 ± 0.045
6-8h	+ 0,90 ± 0.058	+ 0,88 ± 0.042	+ 0,92 ± 0.16	+ 0,85 ± 0.09	+ 0,94 ± 0.18
8-10h	+ 0,18 ± 0.023	+ 0,14 ± 0.017	+ 0,12 ± 0.009	+ 0,14 ± 0.045	+ 0,11 ± 0.0085
10-12h	+ 0,03 ± 0	0 ± 0	+ 0,03 ± 0	- 0,08 ± 0.0017	- 0,07 ± 0.0025
12-24h	+ 0,09 ± 0.0058	+ 0,19 ± 0.0074	+ 0,17 ± 0.015	- 0,07 ± 0.008	- 0,09 ± 0.005
24-36h	+ 0,13 ± 0.025	+ 0,13 ± 0.016	+ 0,19 ± 0.021	- 0,09 ± 0.007	- 0,17 ± 0.022
0-36h	+ 0,13 ± 0	+ 0,15 ± 0	+ 0,14 ± 0	+ 0,11 ± 0	+ 0,10 ± 0

Tableau 20: Cinétique d'amélioration (exprimée en % d'augmentation des cellules) ou d'inhibition (exprimée en % de réduction des cellules) de la viabilité de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 en présence d'extrait de piments à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).

	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	40 mg/ml	80 mg/ml
0-2h	+ 0,09 ± 0.002	+ 9,5 ± 0.64	+ 10 ± 0.78	+ 10 ± 0.95	+ 2,87 ± 0.65
2-4h	+ 0,08 ± 0.0078	+ 8,44 ± 0.52	+ 9,88 ± 0.96	+ 7,95 ± 0.48	+ 9,6 ± 0.36
4-6h	+ 0,11 ± 0.052	+ 11,15 ± 0.47	+ 11,06 ± 0.65	+ 12,52 ± 1.2	+ 14,19 ± 0.98
6-8h	+ 0,17 ± 0.008	+ 17,04 ± 1.3	+ 16,38 ± 1.12	+ 17,3 ± 0.94	+ 16,5 ± 1.2
8-10h	+ 0,02 ± 0.003	+ 2,91 ± 0.54	+ 2,24 ± 0.12	+ 1,91 ± 0.12	+ 2,33 ± 0.25
10-12h	+ 0.005 ± 0	+ 0,47 ± 0.13	0 ± 0	+ 0,54 ± 0.18	- 1,38 ± 0.09
12-24h	+ 0,01 ± 0.004	+ 1,41 ± 0.28	+ 2,97 ± 0.25	+ 2,72 ± 0.31	- 1,15 ± 0.174
24-36h	+ 0,02 ± 0	+ 2,08 ± 0.36	+ 1,97 ± 0.52	+ 2,88 ± 0.64	- 1,50 ± 0.15

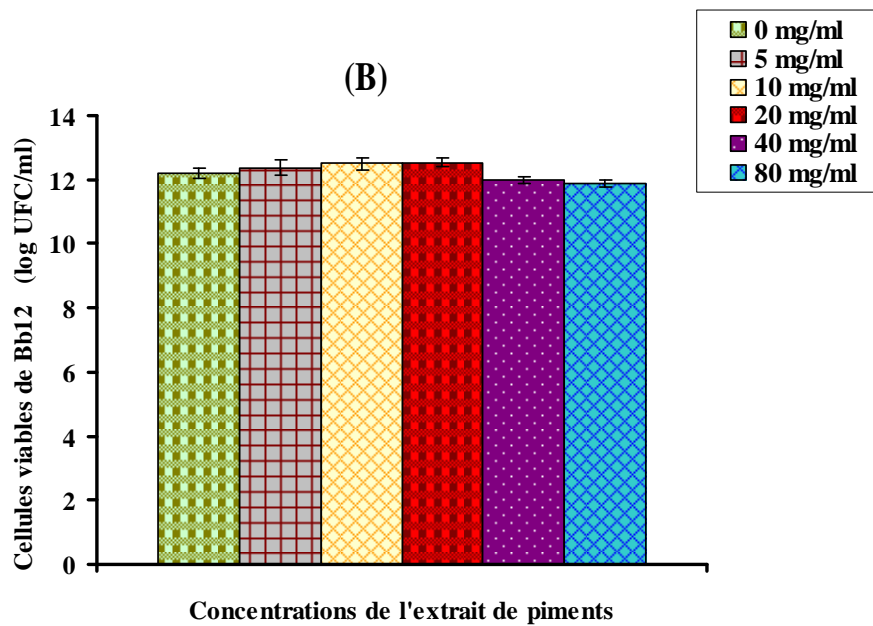
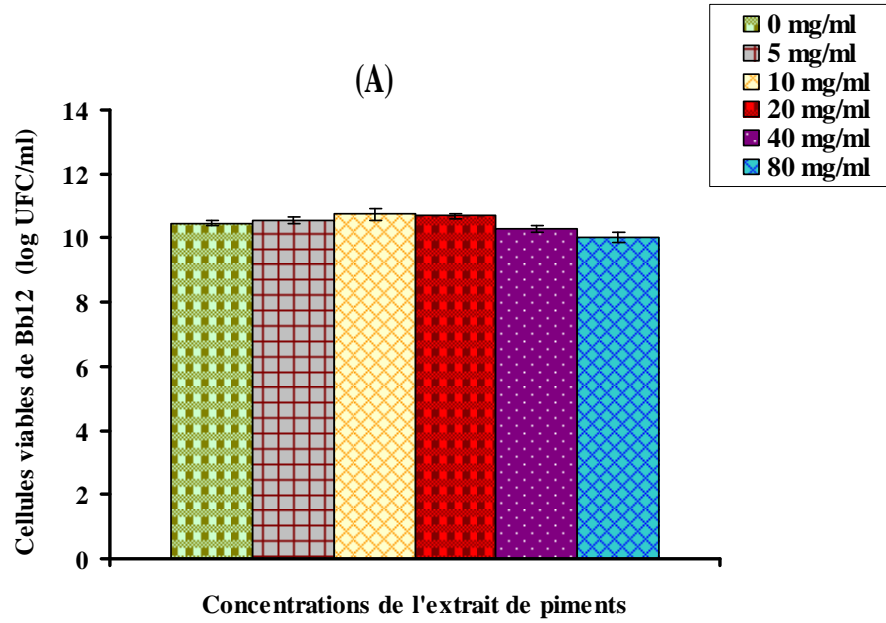


Figure 36 : Viabilité des cellules de Bb12 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 6h (A) et 8h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Ce taux diminue après 10h de culture pour arriver jusqu'au 0.23 à 0.36 log, une faible biomasse qui donne un pourcentage qui varie de 0.02 à 2.33 % (figure 37.A).Après 12h, la croissance de la Bb12 reste presque stable (figure 37.B) en présence de 5, 10 et 20 mg/ml d'extrait de piments alors que des pertes de viabilité de l'ordre de 0.11 et 0.15 log ont été obtenues avec 40 et 80 mg/ml.

La prolongation de la culture à 24h (figure 38.A) permet un maximum d'amélioration correspondant à 3.28 % par rapport au témoin en présence de 20 mg/ml d'extrait de piments et une inhibition équivalente à 7.82 % en présence de 80 mg/ml de *Capsicum*. A la fin de l'incubation (36h), la croissance de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* a été améliorée de 2, 3.46 et 4.70 % avec 5, 10 et 20 mg/ml, tandis que 9.1 et 11.87% d'inhibitions a été enregistrées en présence de 40 et 80 mg/ml (figure 38.B).

Les épices sont riches en manganèse (Mn^{2+}) (Zaika et Kissinger, 1984; Kang et Fung, 2000) qui stimule fortement les cultures starters. À ce jour, peu d'informations sont disponibles sur l'influence des ions manganèse sur la production des agents antimicrobiens et des facteurs bifidogènes.

Nos résultats vont dans le même sens que Ibrahim et al. (2003) qui ont testé l'efficacité des combinaisons de bifidobactéries (*B. adolescentis* ATTC 15704, *B. animalis* ATTC 27672, *B. bifidum* ATTC 15696, *B. bifidum* ATTC 29521, *B. breve* ATTC 15698, *B. breve* ATTC 15701, *B. infantis* ATTC 15697, *B. infantis* ATTC 25962, *B. infantis* ATTC 15708, *B. infantis* NCFB 2205, *B. longum* NCFB 2259) avec des épices (l'ail, l'oignon, la cannelle, le piment, clous de girofle, la sauge, le romarin, l'origan et origanox) sur l'inactivation de *E. coli* O157: H7 (380-94) dans la viande hachée de boeuf. Leurs résultats montrent que l'origanox avait le plus grand effet inhibiteur contre *E. coli* O157: H7, suivi du piment et de l'ail. La souche *B. longum* est la seule souche qui a inhibé la croissance d'*E. coli*. Avec origanox ou *B. longum* seul, une diminution progressive de la quantité de cellules d'*E. coli* de l'ordre de presque 2 log a été détectée. Toutefois, la combinaison d'origanox et des bifidobactéries a donné une réduction de 5 log. Selon leurs travaux, à des faibles concentrations d'origanox (0.1 à 0.3%), la croissance de *B. longum* est stimulée. Alors que l'administration des doses supérieures à 0.3% retarde la croissance de cette souche.

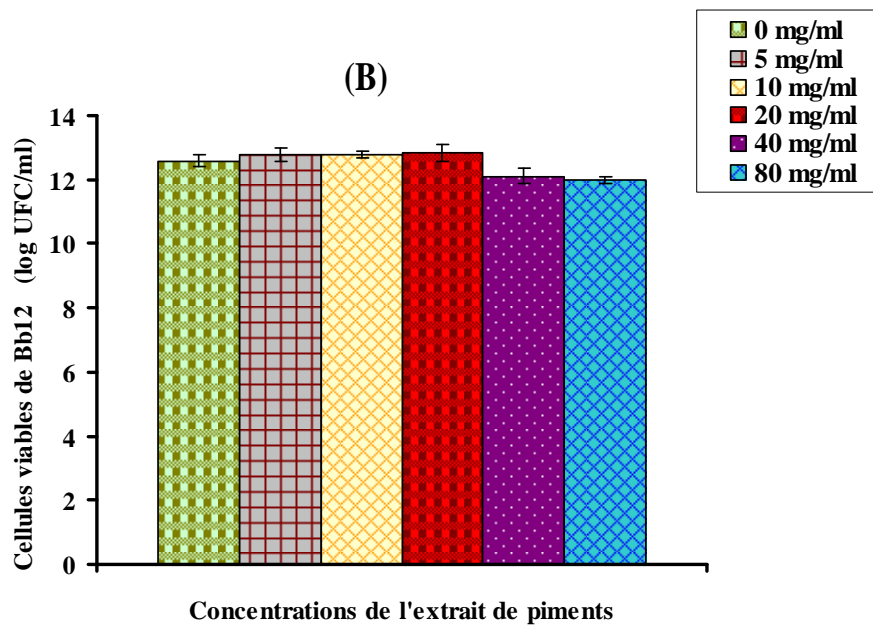
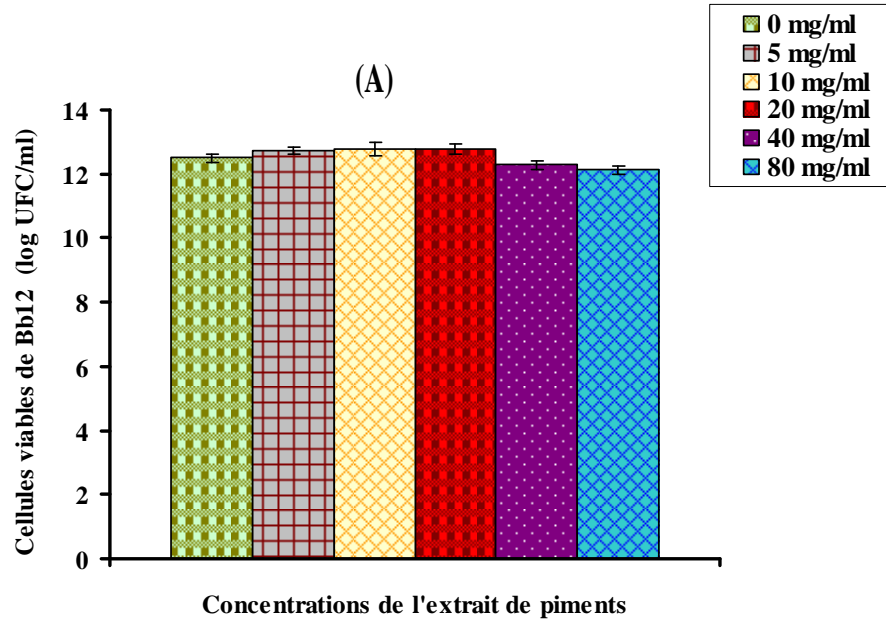


Figure 37: Viabilité des cellules de Bb12 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 10h (A) et 12h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

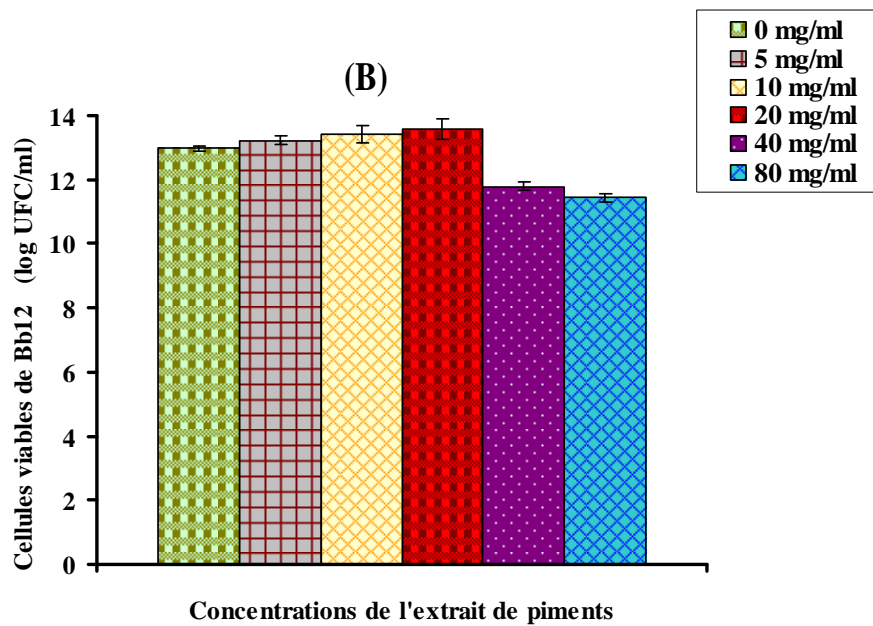
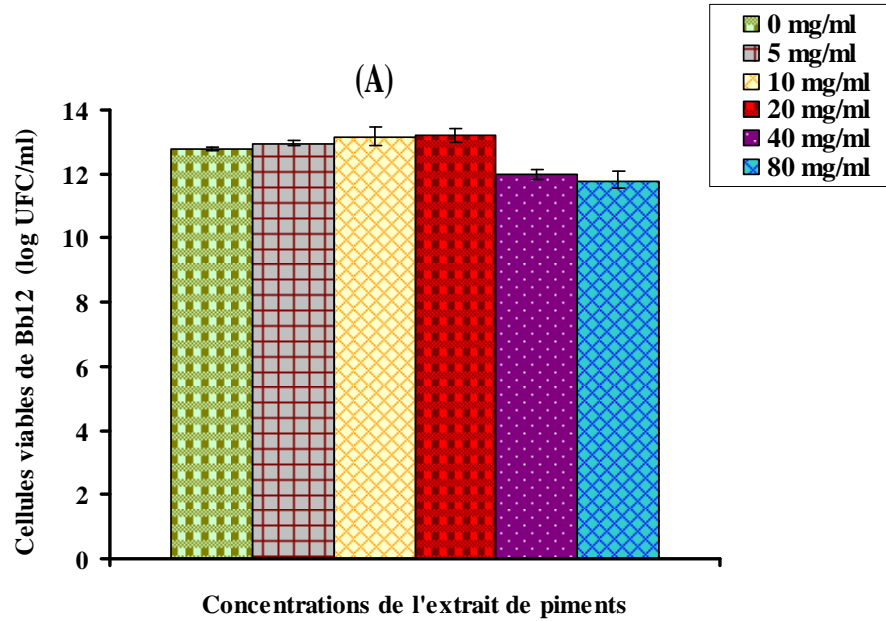


Figure 38 : Viabilité des cellules de Bb12 (log UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extrait de piments pendant 24h (A) et 36h (B) de culture à 37°C. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations \pm SD (n=3).

Sutherland et al. (2009) ont testé l'effet de 37 aliments (fruits, légumes et épices) dont le piment fait partie sur quelques bactéries probiotiques (*Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus* et *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*) et sur des bactéries pathogènes (*Escherichia coli* 01 57 :H7 et *Escherichia coli* LF82). Les résultats ont montré que la croissance de la souche bifide et des souches lactiques en présence de l'extrait de piments était plus importante par rapport au témoin.

Pour récapituler, l'extrait de piments a un effet inhibiteur significatif sur la croissance des bactéries pathogènes (*Staphylococcus aureus* ATCC 49444, *Shigella dysenteriae* CECT 457 et *Salmonella paratyphi* A). Par contre les bactéries probiotiques (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 et *Lactobacillus rhamnosus* Lb RE-LSAS) ont été légèrement stimulées en présence de faibles doses d'extrait de piments (5, 10 et 20 mg/ml).

Conclusion

L'objectif de cette étude était de déterminer l'effet *in vitro* d'une variété locale de piment (*Biskra*) sur trois souches pathogènes (*Staphylococcus aureus* ATCC 49444, *Shigella dysenteriae* CECT 457 et *Salmonella paratyphi A*) et deux souches bénéfiques (*Bifidobacterium animalis* sbsp *lactis* Bb12 et *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS).

L'activité antibactérienne du *Capsicum* a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Selon nos résultats, il s'est avéré que les trois souches pathogènes : *S. aureus*, *Sal. paratyphi A* et *Sh. dysenteriae* sont sensibles à l'action du piments avec des zones d'inhibition respectives de 17, 11.5 et 9.5 mm en présence de 80 mg/ml d'extrait de piments. Tandis que les souches probiotiques : Bb12 et Lb-RE sont résistantes. L'activité inhibitrice d'extrait de piments dépend de sa concentration en matière sèche, du pH et de la sensibilité ou de l'insensibilité de la souche testée.

La cinétique de croissance des cinq souches a été suivie en présence des différentes concentrations d'extrait de piments. La croissance de la souche la plus sensible, *Staphylococcus aureus* ATCC 49444, a été fortement retardée dès les première heures de culture afin d'être totalement inhibée après 6, 8, 8, 12 et 36h en présence de 80, 40, 20, 10 et 5 mg/ml, respectivement. *Salmonella paratyphi A* était moins sensibles envers l'extrait de piments par rapport à *Staphylococcus aureus*, le maximum d'inhibition (100%) n'a été obtenu qu'après 6, 8, 12, 24 et 36h respectivement de la dose la plus forte vers celle la plus faible. *Shigella dysenteriae* CECT 457 était la souche la plus résistante parmi les souches pathogènes. La croissance de cette souche a été faiblement retardée pendant les premières heures; l'inhibition totale n'a été obtenue qu'après 10, 12, 12, 24 et 36h.

La croissance des deux souches probiotiques *Bifidobacterium animalis* sbsp *lactis* Bb12 et *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS s'est légèrement améliorée en présence de 5, 10 et 20 mg/ml d'extrait de piments avec des pourcentages maximales de 4,70 et 5,37%, alors que les fortes doses 40 et 80 mg/ml retardent faiblement leur croissance.

L'utilisation des épices comme inhibiteurs de la croissance microbienne dans les aliments est souvent limitée, car les doses anti-microbiennes effectives peuvent excéder fréquemment les niveaux organoleptiquement acceptés. Néanmoins, les épices mélangées

avec d'autres barrières antimicrobiennes peuvent améliorer la durée de conservation et la sécurité microbiologique des aliments.

Sur le plan des perspectives, nous considérons que les observations faites *in vitro* ne constituent qu'une première étape de recherche pour l'évaluation des propriétés antibactériennes du piment et permettant son utilisation comme bioprotecteur naturel. Cela ouvre un champ d'études complémentaires visant la séparation des différents constituants d'extrait de piments et l'exploration de leurs effets *in vivo* sur les infections du tube digestive et l'expression des souches probiotiques dans le contexte gastro-intestinale.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdel-Salam OM, Szolcsanyi J, Mozsik G. (1997). Capsaicin and the stomach. A review of experimental and clinical data. *J. Physiol .Paris*, **91** (3-5), 151-71.
- Acero-Ortega C, Dorante L, Hernandez-Sanchez H, Tapia MS, Guitiérrez-Lopez G, Alzamora S et Lopez-Malo A. (2005a). Response surface analysis of the effects of *Capsicum* extract, temperature and pH on the growth and inactivation of *Listeria monocytogenes*. *J.Food. Eng*, **67**, 247-252.
- Aggarwal BB, Shishodia S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem. Pharmacol*, **71**(10), 1397-421.
- Anu A. et Peter K. V. (2000). The Chemistry of Paprika. *Ind. Spices*, **37**(2), 15-18.
- Audigié C, Dupont G, Zonszain F. (1983). Principes des méthodes d'analyse biochimique. *Ed. Doin*, T. 2, Paris, 144 p.
- Basu SK, De AK. (2003). *Capsicum*: historical and botanical perspectives. In: De AK, editor. *Capsicum: The Genus Capsicum*. London: *CRC Press*, 1-15.
- Bédard A. (2006). Piment. Institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels (INAF), Université Laval.
- Beuchat LR, Golden DA. (1989). Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food. Technol*, **43**, 142–143.
- Bosland PW, Baral J B. (2007). 'Bhut Jolokia'-the world's hottest known chili pepper is a putative naturally occurring interspecific hybrid. *Hort. Science*, **42**, 222–224.
- Bosland PW et Votava EJ. (2000). Peppers : Vegetable and Spice Capsicums .*CABI Publishing*. 204.
- Bhutani M et Pathak AK. (2007). « Capsaicin is a novel blocker of constitutive and interleukin-6-inducible STAT3 activation ». *Clin. Cancer. Res*, **13**(10), 3024-32.
- Burt S. (2004). Essentials oils : their antimicrobial properties and potential applications in foods. *Int. J. Food .Microbio*, **94**, 223-253.
- Caballero B, Trugo LC et Finglas P. M. (2003). Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. *ed. Academic Press*, Vol. 7. (2). United Kingdom.
- Calixto JB, Kassuya CAL. (2005). Contribution of natural products to the discovery of the transient receptor potential (TRPV) channels family and their functions. *Pharmacol .Ther*, **106**(2), 179-208.
- Careaga, M, Fernandez E, Dorantes L, Mota L, Jaramillo ME, Hernandez-Sanchez H. (2003). Antibacterial activity of *Capsicum* extract against *Salmonella typhimurium* and

- Pseudomonas aeruginosa* inoculated in raw beef meat. *International J. Food Microbio*, **83**, 331-335.
- Catalina S, Abadi b, Repetto b, Vojnov c, Moreno S. (2009). Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. *Food Chem*, **115**, 456–461.
- Caterina MJ, Julius D. (2001). The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Annu. Rev. Neurosci*, **24**,487–517.
- Cauna N, Hindere K, Wentges SR. (1996). Sensory receptor organs of the human respiratory mucosa. *Am. J. Anat*, **134**,187-93.
- Cianchetti C. (2010). Capsaicin jelly against migraine pain. *Int. J. Clin. Pract*, **4**, 457–459.
- Cichewicz R et Thorpe P. (1996). The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine. *J.Ethnopharmacol*, **52**, 61-70.
- Cirad-Gret. (2002). Memento de l'agronome. Ministère des Affaires Étrangères, Paris.
- Cisneros-Pineda O, Torres-Tapia LW, Gutiérrez-Pacheco LC, Contreras-Martín F, González-Estrada T, Peraza-Sánchez SR. (2007). Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico. *Food.Chem*, **104**, 1755–1760.
- Chabbert YA et Daguet (1985). Sensibilité bactérienne aux antibiotiques. In: le Minor: bactériologie médicale. Flammarion, Paris
- Chandrasoma PT, Der R, Ma Y, Peters J, Demeester T. (2003). Histologic classification of patients based on mapping biopsies of the gastroesophageal junction. *Am. J. Surg. Pathol*, **27**,929-936.
- Ching LS, Mohamed S. (2006). Alpha-tocopherol content in 62 edible tropical plants. *J .Agric. Food. Chem*, **49**(6), 3101-5.
- Chuah A M, Lee Y C, Yamaguchi T, Takamura H, Yin L J, Matoba T. (2008). Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. *Food Chem*, **111**, 20–28.
- Collera-Zuniga O, Garcia Jimenez F, Melendez Gordillo R. (2005). Comparative study of carotenoid composition in three Mexican varieties of *Capsicum annum L*. *Food Chem*, **90**, 109–114.
- Conway SJ. (2008). TRPping the switch on pain : an introduction to the chemistry and biology of capsaicin and TRPV1. *Chem. Soc. Rev*, **37**(8),1530-1545.
- Cordell, G.A et Araujo, O. (1993). Capsaicin : Identification, Nomenclature, and Pharmacotherapy. *anna . Pharmacother*, **27**,330-336.
- Coon, D. (2003). Chile Peppers: Heating up Hispanic foods. *Food Tech*, **57**(1):39-43.
- Csilléry G. (2006). Pepper taxonomy and the botanical description of the species. *Acta. Agron. Hung*, **54**,151–66.

- Dallel, R. (2001). Les récepteurs vanilloïdes et leurs ligands. *Doul. Analg*, **4**, 243-256.
- Daood HG, Vinkler M, Markus F, Hebshi EA, Biacs PA. (1996). Antioxidant vitamin content of spiced red pepper (paprika) as affected by technological and varietal factors. *Food Chem*, **55**, 365–372.
- Dasgupta, P et Fowler, C.J. (1997). Chilies : From Antiquity to Urology. *British J. Urology*, **80**, 845-852.
- De A. (2003). *Capsicum* : The genus *Capsicum*. *Medicinal and aromatic plants - industrial profiles*, **33**.
- De Lacruz. (2007). Faisabilité de la production au Mexique de fromages de chèvre additionnés de piment : aspects technologiques, sensoriels, sanitaires et économiques. Thèse doctorat en Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. L'Institut National Polytechnique de Lorraine. France.
- De Man J. C, Rogosa M, Sharpe M. E. (1960). A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J. Appl. Bacteriol*, **23**, 130-135.
- De Masi L, Siviero P. (2007). Agronomic, chemical and genetic profiles of hot peppers (*Capsicum annuum ssp.*). *Mol. Nutr. Food Res*, **51**(8) ,1053-1062.
- Dicecco J.J (1976). Gas-liquid Chromatographic determination of capsaicin. *J. AOAC*, **59**, 1.
- Diepvens K, Westerterp KR. (2007). Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*, **292**(1), 77-85.
- Di Mola FF, Friess H, Koninger J. (2006). Hemorrhoids and transient receptor potential vanilloïd 1. *Gut*, **55**,1665–1666.
- Dive C. (1986). Gastro-entérologie clinique. OEsophage-estomac. *Capelle ed, Bordeaux*, **1**, 139.
- Dorantes L, Colmenero R, Hernandez-Sanchez H, Mota L, Jaramillo M.E, Fernandez E et Salano C. (2000). Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annuum* extracts. *International J.Food Microbio*, **57**, 125-128.
- Dorantes L, Araujo J, Carmona A et Hernández-Sánchez H. (2008). Effect of *Capsicum* Extracts and Cinnamic Acid on the Growth of Some Important Bacteria in Dairy Products. *J. Food Eng*, **67**,247.
- Endres-Becker J, Heppenstall PA. (2007). Mu-opioid receptor activation modulates transient receptor potential vanilloïd 1 (TRPV1) currents in sensory neurons in a model of inflammatory pain. *Mol. Pharmacol*, **71**(1), 12-18.
- Estrada B, Bernal MA, Diaz J, Pomar F, Merino F. (2002). Capsaicinoids in vegetative organs of *Capsicum annuum L.* in relation to fruiting. *J. Agri Food Chem*, **50**, 1188–1191.

- FAO. (2008). Organisation des nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO).
- Forti J. (1996). *L'encyclopédie visuelle des aliments*. Edition : Québec/ Amérique international.
- Fortin J. (1996). *L'encyclopédie visuelle des aliments*. Ed. Québec/Amérique internationale.
- Fusco BM et Giacobozzo M. (1997). Peppers and pain : The promise of capsaicin. *Drugs*, **53**, 909-914.
- Garcia-Hirschfeld J, Lopez-Briones LG, Belmonte C et Valdeolmillos M. (1995). Intracellular free calcium responses to protons and capsaicin in cultured trigeminal neurons. *Neuroscience*, **67**, Issue 1, 235-243.
- Garcs-Claver, Gil-Ortega, Ivarez-Fernndez, Arnedo Andrs. (2007). Inheritance of Capsaicin and Dihydrocapsaicin, Determined by HPLC-ESI/MS, in an Intraspecific Cross of *Capsicum annuum* L. *J. Agric. Food Chem*, **55** (17), 6951-6957.
- Govindarajan VS, Sathyanarajana MN. (1991). *Capsicum* : production, Technology, chemistry, and quality. Part V. impact on physiology, pharmacology, Nutrition, and metabolism; structure, pungency, pain, and desensitization sequences. *Critic. Rev. food sci. nutr*, **29**, 435-474.
- Graham DY, Smith JL, Opekun AR. (1998). Spicy food and the stomach. Evaluation by videoendoscopy. *JAMA*, **260**, 3473-5.
- Grubben G J H, Denton OA. (2004). « Ressources végétales de l'Afrique tropicale : légumes ». *PROTA*, 172-182.
- Guerrero M. (2000). Effet de la capsaïcine sur le métabolisme énergétique et la prise alimentaire chez les personnes ayant perdu du poids. Mémoire présenté à la faculté des études supérieures de l'Université Laval.
- Gunthorpe MJ, Benham CD, Randall A, Davis JB. (2002). The diversity in the vanilloid (TRPV) receptor family of ion channels. *Trends. Pharmacol. Sci*, **23**, 183-91.
- Gutierrez O, Akamatsu T, Cardona H, Graham DY, El-Zimaity HM. (2003). Helicobacter pylori and heterotopic gastric mucosa in the upper esophagus (the inlet patch). *Am. J. Gastroenterol*, **98**, 1266-1270.
- Hjelmqvist L, Jornvall H, Danielsson O, Persson B et Shafqat J. (1995). The alcohol dehydrogenase system. *Adv. Exper. Med. Bio*, **372**, 281-94.
- Hobbs, C. (1994). Cayenne, This Popular Herb is Hot. *Let's Live*, **55**.
- Holzer P. (1991). Capsaicin: Cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol. Rev*, **43**, 143-201.

- Holzer P, Sametz W. (1991). Gastric mucosal protection against ulcerogenic factors in the rat mediated by capsaicin-sensitive afferent neurons. *Gastroenterology*, **91**, 975-981.
- Howard LR, Talcott ST, Jorseau A. (2000). Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *J Agric. Food Chem*, **48**(5), 1713-1720.
- Huiyun Zhang, Baohua Kong, Youling L. Xiong, Xu Sun. (2009). Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 C. *Meat Science*, **81**, 686-692.
- Ibrahim SA, Dharmavaram SR, Seo C. W et Shahbazi G. (2003). Antimicrobial Activity of *Bifidobacterium longum* (NCFB 2259) as Influenced by Spices. *Inter. J of Food Saf*, **2**, 6-8.
- Jaiarj P, Sithiporn S, Yuvadee W, Noppakhum V, Penchom P et Weena J. (1999). Cardiovascular actions of capsaicinoid extract from Thai *Capsicum*. *Thai J. Phytopharm*, **5**, 1-13.
- Jankovic Bojana, Loblaw Andrew, Nam Robert. (2010). Capsaicin may slow PSA doubling time: case report and literature review. *Canad. Uro. Asso. J*, **4**, Issue 1.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. (2007). Cancer statistics. *CA. Canc. J. Clin*, **56**, 106-130.
- Jolicoeur. H. (2001). Les chasse-ours à base de poivre de Cayenne. Page 13. *Société de la faune et des parcs du Québec ed.* Direction du développement de la faune. Québec.
- Jones J.G. (1994). Pollen Evidence for early Settlement and Agriculture in Northern Belize. *Palynology*, **18**, 205-211.
- Jones N L, S Shabib et PM. Sherman. (1997). Capsaicin as an inhibitor of the growth of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *FEMS. Microbio. Lett*, **146**, 223-227.
- Jung MY, Kang HJ, Moon A. (2001). Capsaicin-induced apoptosis in SK-Hep-1 hepatocarcinoma cells involves Bcl-2 downregulation and caspase-3 activation. *Canc. Lett*, **165**, 139-145.
- Kablan B J, Adiko M., Abrogoua DP. (2008). Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Cote d'Ivoire. *Phytothérapie*, **6**, 282-288.
- Kagawa S et Aoi M. (2003). Stimulation by capsaicin of duodenal HCO₃⁽⁻⁾ secretion via afferent neurons and vanilloid receptors in rats: comparison with acid-induced HCO₃⁽⁻⁾ response. *Dig. Dis. Sci*, **48**(9), 1850-1856.
- Kang Y Y, Labrooy S J, Yap I, Guan R, Lim Kp, Math Mv et Tay H H. (1987). Racial differences in peptic ulcer frequency in Singapore. *J. Gastroenterol. Hepatol*, **2**, 239-144.

- Kang JY, Yeoh KG, Chia HP. (1995). Chili– protective factor against peptic ulcer? *Dig. Dis. Sci*, 40, 576-9.
- Karila-Cohen, Petit T, Teissier J et Merran. (2005). Ulcère gastrique. *Éditions Françaises de Radiologie*, Paris, 86,387-391.
- Kawada T, Hagihara K. Guan R. Jorseau A. (1986). Effects of capsaicin on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. *J. Nutr*, 116(7), 1272-1278.
- Kempaiah RK, Srinivasan K. (2006). Beneficial influence of dietary curcumin, capsaicin and garlic on erythrocyte integrity in high-fat fed rats. *J. Nutr. Biochem*, 17(7), 471-478.
- Kothari S.L, Joshi A, Kachhwaha S, Ochoa-Alejo N. (2010). Chilli peppers - A review on tissue culture and transgenesis. *Biotech. Advan*, 28, 35–48.
- Kouassi Y, Shelef LA. (1998). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by cinnamic acid: possible interaction of the acid with cysteinyl residues. *J. Food Saf*, 18.
- Kumar AM, Reddy KN, Sreevathsa R, Ganeshan G, Udaykumar M. (2009). Towards crop improvement in bell pepper (*Capsicum annuum L.*): transgenics by a tissue-culture-independent Agrobacterium-mediated in planta approach. *Sci. Hortic. Amsterdam*, 119:362–370.
- Le Bars D, Willer JC. (2004). Physiologie de la douleur. *EMC. Anesth. Réanim*, 1, 227–266.
- Lee Y. (1996). Antioxidant compounds in peppers as affected by genotype, maturation, processing and storage. *Thèse de Doctorat, Université Texas*, 113.
- Lee Y, Howard LR, Villalon B. (1995). Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) Cultivars. *J. Food Sci*, 60 (3), 473-476.
- Lefebvre V, Goffinet B, Chauvet J C, Caromel B. (2002). Evaluation of genetic distances between pepper inbred lines for cultivar protection purposes: comparison of AFLP, RAPD and phenotypic data. *Theor. Appl. Genet*, 102, 741 –750.
- Lehours P. (2003). Helicobacter pylori and the others. *Gastroentero. Clin. Biol*, 27,367-373.
- Levey DJ, Tewksbury JJ, Cipollini M, Carlo T (2006). A field test of the directed deterrence hypothesis in two species of wild chili. *Oecologia*, 150,51–68.
- Lim K et Yoshioka M. (1997). Dietary red pepper ingestion increases carbohydrate oxidation at rest and during exercise in runners. *Med. Sci. Sports Exerc*, 29(3), 355-61.
- Lopez-Hernandez J, Oruna-Concha M.J, Simal-Lozano J, Vazquez-Blanco et Gonzalez-Castro. (1996). Chemical composition of Padron peppers (*Capsicum annuum L.*) grown in Galicia (N.W. Spain). *Food chem*, 57(4), 557-559.
- Lundblad L. (1984). Protective reflexes and vascular effects in the nasal mucus elicited by activation of capsaicin sensitive substance P-immunoreactive neurons. *Acta .Physiol. Scand*, 529,1-42.

- Maity R, Sharma J, Jana NR. (2010). Capsaicin Induces Apoptosis Through Ubiquitin-Proteasome-System Dysfunction. *J. Cell. Biochem*, 109,933-942.
- Manjunatha H, Srinivasan K, Perucka. (2007). Hypolipidemic and antioxidant effects of dietary curcumin and capsaicin in induced hypercholesterolemic rats. *Lipids*, 42(12), 1133-1142.
- Miean KH et Mohamed S. (2001). Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *J. Agric. Food Chem*, 49(6), 3106-12.
- Molina-Torres J, Garcia-Chavez A, Ramirez-Chavez E. (1999). Antimicrobial properties of alkaloids present in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: affinin and capsaicin. *J. Ethnopharmacol*, 64, 241-248.
- Mozsik G, Debreceni A, Racz I. (1999). Small doses of capsaicin given intragastrically inhibit gastric basal acid secretion in healthy human subjects. *J. Physiol. Paris*, 93(5), 433-6.
- Mozsik G, Szolcsanyi J, Racz I. (2005). Gastroprotection induced by capsaicin in healthy human subjects. *World J. Gastroenterol*, 11(33), 5180-4.
- Nazzaro F, Caliendo G, Arnesi G, Veronesi A, Sarzi P et Fratianni F. (2009). Comparative content of some bioactive compounds in two varieties of *Capsicum annum*. L and evaluation of their antimicrobial and mutagenic activities. *J. Food Bioch*, 45, 367-375.
- Oboh G et Rocha JB. (2007). Distribution and antioxidant activity of polyphenols in ripe and unripe tree pepper (*Capsicum pubescens*). *J. Food Biochem*, 31, 456-473.
- Ornelas-Paza, Martínez-Burrola, Ruiz-Cruz, Santana-Rodríguez, Ibarra-Junquera, Olivas, Martínez. (2010). Effect of cooking on the capsaicinoids and phenolics contents of Mexican peppers. *Food Chem*, 119, 1619-1625.
- Oyagbemi AA, Saba AB, Azeez OI. (2010). Capsaicin : a novel chemopreventive molecule and its underlying molecular mechanisms of action. *Ind. J. Canc*, 47,1.
- Patapoutian A, Peier AM, Story GM, Viswanath V. (2003). Thermo TRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation. *Nat. Rev. Neurosci*, 4, 529-39.
- Pegon J. (2009). Des piments à la capsaïcine : quels impacts sur la santé ? Thèse doctorat à l'université Strasbourg. France.
- Perry L, Dickau R, Zarrillo S, Holst I, Pearsall DM, Piperno DR, Berman MJ, Cooke RG, Rademaker K, Ranere AJ. (2007). Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. *L*) in the Americas. *Science*, 315, 986-988.
- Pigot F, Siproudhis L, Allaert FA (2005). Risk factors associated with hemorrhoidal symptoms in specialized consultation. *Gastroenterol. Clin. Biol*, 29,1270-1274.
- Platel K et Srinivasan K. (2004). Digestive stimulant action of spices: A myth or reality? *Ind. J. Med. Res*, 119, 167-79.

- Ponce Alejandra G, Roura Sara, Carlos E. del Valle, Moreira Maria R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *In vitro* and *in vivo* studies. *Postharvest Bio. Techno*, **49**, 294–300.
- Qiao S, Li W, Tsubouchi R, Haneda M, Murakami K, Yoshino M (2005). Involvement of peroxynitrite in capsaicin-induced apoptosis of C6 glioma cells. *Neurosci. Res*, **51**, 175–183.
- Raisinghani M, Pabbidi RM, Premkumar LS. (2005). Activation of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) by resiniferatoxin. *J. Physiol*, **567**, 771–786.
- Richard H. (1992). *Epices et Aromates*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Sağdıç O, Karahan AG, Ozean M et Ozlan G. (2003). Effect of Some Spice Extracts on Bacterial Inhibition. *Food Sci Tech Intern*, **9**, 353.
- Sanchez, Cazenave, Olea, Vara, Chiloeches, Diaz-Laviada. (2007). Apoptosis induced by capsaicin in prostate PC-3 cells involves ceramide accumulation, neutral sphingomyelinase, and JNK activation. *Apoptosis*, **12**, 2013–2024.
- Sanders DL, Pfeiffer RB, Hashimoto LA, Subramony C, Chen F. (2003). Pseudomembranous gastritis: a complication from aspergillus infection. *Am. Surg*, **69**, 536-538.
- Satyanarayana MN. (2006). Capsaicin and gastric ulcers. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, **46**(4), 275-328.
- Scardovi V. (1986). Genus *Bifidobacterium*, ORLA JENSEN 1924, 472 IN: Bergey's Manual of systematic bacteriology, IX Ed WILLIAMS et WIPKINS. BALTIMORE.
- Sehonou J. (2007). La sensation de brûlure après consommation de plats pimentés est-elle prédictive de la présence d'un ulcère gastrique ou duodéal ? *J. Afr. Hepato. Gastroenterol*, **1**, 84–86.
- Sielezneff I, Antoine K, Lecuyer J. (1998). Is there a correlation between dietary habits and hemorrhoidal disease? *Presse Med*, **27**, 513-517.
- Siviero P. (2002). peperoncino piccante. *Essenze Derivati Agrumari*, **72**, 53–72.
- Skocibusic M, Bezic, N et Dunkic, V. (2006). Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja* Vis. Growing in Croatia. *Food Chemistry*, **96**, 20-28.
- Snyman T, Stewart M.J et Steenkamp V. (2001). A fatal case of pepper poisoning. *Forensic Science International*, **124**, 43-46.
- Soetarno S, Sukrasno, E. Yulinah and Sylvi. (1997). Antimicrobial Activities of the Ethanol Extracts of *Capsicum* Fruits with Different Levels of Pungency. *JMS*, **2**, 57 – 63.
- Soudan D. (2008). Diététique et anus. *Pelv Perineol*, **3**, 53–56.

- Soudan D. (2009). Traitement médical de la maladie hémorroïdaire : du nouveau en 2009 ? *Pelvi-Périnéologie*, 4, 158-162.
- Soulard. (2002). Mise au point du dosage plasmatique de la capsaïcine par chromatographie liquide haute performance / détection électrochimique après instillation intra-vésicale chez l'Homme. PRIX DE THÈSE DE LA SOCIÉTÉ DE PHARMACIE DE BORDEAUX.
- Stummel R et Bosland Pw. (2007). ORNAMENTAL PEPPER « *Capsicum annuum* ». N.O. Anderson (ed.), *Flower Breed and Genet*, 561–599.
- Sudhakar-Johnson T, Ravishankar GA, Venkataraman LV. (1992). Separation of capsaicin from phenylpropanoid compounds by high performance liquid chromatography to determine the biosynthetic status of cells and tissues of *Capsicum frutescens* Mill. in vivo and in vitro. *J. Agric. Food Chem*, 40, 2461–2524.
- Sutherland J, Miles M, Hedderley D, Li J, Devoy S, Sutton K, Lauren D. (2009). In vitro effects of food extracts on selected probiotic and pathogenic bacteria. *Inter. J Food Sci. Nutri*, 60(8), 717 – 727.
- Szallasi A. (2002). Vanilloid (capsaicin) receptors in health and disease. *Am. J. Clin. Pathol*, 118,110–21.
- Szallasi A. and Blumberg RM. (1999). Vanilloid (Capsaicin) receptors and mechanisms. *Pharmacol. Rev.*, 51, 159-212.
- Szolcsanyi J, Bartho L. (2001). Capsaicin-sensitive afferents and their role in gastroprotection: an update. *J. Physiol Paris*, 95: 181-8.
- Talalay P et Fahey JW. (2001). Phytochemicals from cruciferous plants protect against cancer by modulating carcinogen metabolism. *J. Nutr*, 131, 3027–3033.
- Teresa Fera M, Carbone M, De Sarro A, Blandino G, Riggio G, Cusumano V, Battista De Sarro G, Anzani Ciliberti F. (1998). Bactericidal activity of lansoprazole and three macrolides against *Helicobacter pylori* strains tested by the time-kill kinetic method. *Int. J. Antimi. Ag*, 10, 285–289.
- Teuscher E, Anton R, Lobstein A. (2005). « Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles.
- Tewksbury JJ, Levey DJ, Huizinga M, Haak D, Travaset A. (2008a). Costs and benefits of capsaicin-mediated control of gut retention in dispersers of wild chilies. *Ecology*, 89,107–117.
- Tewksbury JJ, Manchego C, Haak DC, Levey DJ. (2006). Where did the chili get its spice? Biogeography of capsaicinoid production in ancestral wild chili species. *Chem. Ecol*, 32(3):547-64.

- Tewksbury JJ, Reagan, Machnicki, Carlo, Haak, Calderon Penaloza, and Levey. (2008b). Evolutionary ecology of pungency in wild chilies. *Edited by May R. Berenbaum, Ecology*, **89**,107-117.
- Taylor-Clark, Kollarik, MacGlashan. (2006). Nasal sensory nerve populations responding to histamine and capsaicin. *Amer. Acad. Allerg. Asthm. Immuno*, 1282- 1289.
- Topuz A., Ozdemir F. (2007). Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum L.*) grown in Turkey. *J.Food Compos. Analy*, **20**, 596–602.
- Tsou MF, Lu HF, Chen SC, Wu LT, Chen YS, Kuo HM, Lin SS, Chung JG. (2006). Involvement of Bax, Bcl-2, Ca²⁺ and caspase-3 in capsaicin-induced apoptosis of human leukemia HL-60 cells. *Anticancer Res*, **26**, 1965–1971.
- Tsuchiya H. (2001). Biphasic membrane effects of capsaicin, an active component in *Capsicum* species. *J. Ethnopharm*, **75**, 295-299.
- Tuoya, Baba N, Shimoishi Y, Murata Y, Tada M, Koseki M, Takahata K (2006). Apoptosis induction by dohevanil, a DHA substitutive analog of capsaicin, in MCF-7 cells. *Life Sci*, **78**, 515– 519.
- Visudhiphan S, Poolsuppassi S, Piboonnukarintr O et Tumliang S. (1982). The relationship between high fibrinolytic activity and daily *Capsicum* ingestion in Thais. *Amer. J. Clin. Nutri*, **35**, 1452-1458.
- Wang G, Reed E, Li QQ. (2004). Apoptosis in prostate cancer: progressive and therapeutic implications. *Int. J. Mol. Med*, **14**, 23–34.
- Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr* ,**44**(4),275-95.
- Wu CC, Lin JP, Yang JS, Chou ST, Chen SC, Lin YT, Lin HL, Chung JG. (2006). Capsaicin induced cell cycle arrest and apoptosis in human esophagus epidermoid carcinoma CE 81T/VGH cells through the elevation of intracellular reactive oxygen species and Ca²⁺ productions and caspase-3 activation. *Mutat. Res*, **601**,71–82.
- Zaman. (2009). Regeneration potential of seedling explants of chilli (*Capsicum annuum*). *Afric. J. Biotechnol*, **18**, 591–596.

