

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAÏD
FACULTÉ DE MÉDECINE
DR. B. BENZERDJEB - TLEMCEEN

وزارة التعليم العالي
والبحوث العلمي
جامعة أبو بكر بلقايد
كلية الطب
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME :

Grenade de Beni Snous : étude et caractérisation chimique des extraits de pépins, évaluation de l'activité microbiologique

Présenté par : ALHIJNA Ddai Saleh Ali
BOURICH EI Habib

N. ABOU Département de
Pharmacie
Chef du Département de
Pharmacie

Président :

Dr Drici Wassila

M.C.A- Université ABOUBAKER BELKAID Tlemcen

Membres :

Dr CHERIF Nassima

Maitre-assistant classe A -Université ABOUBAKER BELKAID Tlemcen

Dr. S. BEGHDAI
Maitre Assistante
Hôpital-Universitaire
en Chimie Thérapeutique

Dr BEGHDAI Sara El Mansouria

Maitre assistant classe A -Université ABOUBAKER BELKAID Tlemcen

Dr DOUABI Omar

Assistant en microbiologie CHU Tlemcen

Dr. DOUABI Omar
Assistant en
Microbiologie

Encadreur :

Dr MERZOUG Soumia

Maitre assistant classe A -Université ABOUBAKER BELKAID Tlemcen

Dr. MERZOUG S.
Maitre Assistante
Chimie Thérapeutique

Co-encadreur :

Dr. BENZERDJEB Salima

Maitre-assistant classe A-Université ABOUBAKER BELKAID Tlemcen

Soutenu le 03.07.2017

Résumé :

Les plantes sont utilisés depuis longtemps par les populations locales pour le bien être qu'ils apportent ainsi que pour leurs vertus thérapeutiques, elles sont aujourd'hui de véritable source pour l'industrie pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique en quête perpétuelle de nouveauté et d'originalité.

Dans ce présent mémoire nous nous sommes intéressés à la grenade cultivée dans la région de Beni Snous, wilaya de Tlemcen. Nous avons commencé par quantifier les différents constituants de ce fruit, ensuite nous avons continué par l'étude physico-chimique de l'huile que nous avons extraite, par divers méthodes, à partir des pépins de grenade. L'écorce externe de ce fruit possédant elle aussi de nombreuses propriétés thérapeutiques, nous avons pensé à évaluer l'activité antibactérienne de notre variété locale sur divers souches.

Mots clés : Grenade, écorce externe, Huile des pépins de grenade ; propriétés physico-chimique, activité antibactérienne.

Abstract:

The Plants have long been used by local populations for the well being they provide and their therapeutic virtues. Today, they are a real source for the pharmaceutical, food and cosmetic industry, in search of perpetual novelty, originality.

In this memoir, we have been interested in the pomegranate grown in the region of Beni Snous, wilaya of Tlemcen. We began by quantifying the different constituents of this fruit, then we continued by physico-chemical study of the oil that we have extracted, by various methods, from pomegranate seeds. The pericarp of this fruit also has many therapeutic properties; we thought to evaluate the antibacterial activity of our local variety on various strains.

Keywords: Pomegranate, pericarp, Pomegranate seed oil; Physic-chemical properties, antibacterial activity.

ملخص:

لقد استخدم السكان المحليون النباتات منذ فترة طويلة من أجل العناية والفضائل العلاجية التي يوفرها لهم وقد أصبحت اليوم مصدر حقيقي لصناعة الأدوية والغذاء ومستحضرات التجميل، في بحث بصورة دائمة عن التجديد، والأصالة. في هذه المذكرة، كان الاهتمام بالرمان الذي ينمو في منطقة بني سنوس، ولاية تلمسان. بدأنا بتكسيم المكونات المختلفة لهذه الفاكهة، ثم واصلنا من خلال دراسة الخواص الفيزيائية والكيميائية للزيت التي استخلصناها من بذور الرمان، بطرق مختلفة وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص القشور الخارجية على سلالات بكتيريا مختلفة.

الكلمات الدالة: الرمان، قشور، زيت بذور الرمان؛ الخصائص الفيزيائية والكيميائية، النشاط المضاد للبكتيريا

REMERCIEMENTS

*En préambule à ce mémoire nous remercions **ALLAH** qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'études.*

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Ces remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la Faculté de médecine de Tlemcen (département de pharmacie), pour la richesse et la qualité de leur enseignement et pour leurs gros efforts afin d'assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

*Nous tenons à remercier sincèrement les directrices de ce mémoire ; **Mme S.MERZOUG** et **Mme S.BENDZERJEB** ; pour leurs écoutes et disponibilité tout au long de la réalisation de ce travail ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elles ont bien voulu nous consacrer.*

*Nos vifs remerciements vont également à **Mme W.DRICI** pour avoir accepté la présidence du jury de ce mémoire.*

Nos remerciements vont aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

*Nous remercions **Docteur S.BEGHDADI** d'avoir accepté de faire partie de notre jury et aussi de son soutien pendant notre travail en laboratoire.*

*Nous remercions **Docteur N.CHERIF** d'avoir accepté de faire partie de notre jury et aussi de son soutien pendant notre travail en laboratoire.*

*Nous remercions **Docteur O.DOUAHI** d'avoir accepté de faire partie de notre jury et aussi de son soutien pendant notre travail en laboratoire.*

*Nous désirons remercier **Mr MOSTEFA-KARA BACHIR**, pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.*

*Nous adressons nos remerciements à **Melle N.ABOU RIJAI**, Chef du département de pharmacie pour avoir mis à notre disposition les moyens nécessaires pour réaliser ce mémoire.*

*Nous remercions **Dr F.Z.ILES** Chef de département de microbiologie de CHU Tlemcen pour nous avoir permis de faire les tests antibactériens.*

*Nous adressons nos remerciements à la **SARL PRODALEX** pour nous avoir permis d'utiliser leurs matériels au cours de ce travail.*

*Nous souhaitons remercier notre amie **Melle K.ZIANI** pour son aide et son support moral durant notre travail en laboratoire.*

*Nos remerciements s'étendent également à **Mme R.MALEK** pour nous avoir fourni les outils afin d'accomplir notre travail.*

Dédicace

A ma très chère mère Almuslami Sawia fares,

La lanterne qui éclaire mon chemin et m'illumine de douceur et d'amour,

A mon modèle et fierté, mon père Saleh

En signe d'amour, de reconnaissance et de gratitude pour tous le soutiens et les sacrifices dont il a fait preuve à mon égard,

A mes chers frères et sœurs,

Aucun mot ne pourra décrire vos dévouements et vos sacrifices,

A toute la famille Al-hijana,

A tous mes oncles, Mahmoud, Manea, Faisal et Abdulhameed

A toutes mes tantes,

Que ce travail soit pour nous une joie partagée, pour votre soutien, vos encouragements et

Vos prières,

A tous mes amis yéménites et algériens,

En témoignage de l'amitié sincère qui nous a liés et des bons moments passés ensemble,

Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux et plein de bonnes promesses,

A tous les étudiants yéménites en Algérie,

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le dévouement et le respect que j'ai
pour vous,*

A ma meilleurs amie Asmaa

Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir plein de santé et réussite

A tout le peuple algérien,

Merci de m'avoir rendu le séjour agréable dans votre si beau pays,

***A toute ma promotion de pharmacie, et à tous les étudiants de la faculté de médecine
de Tlemcen, et surtout mon meilleur ami zaki***

Je vous dédie ce modeste travail,

A tous les gens qui ont cru en moi et qui me donnent l'envie d'aller en avant,

*Je vous remercie tous, votre soutien et vos encouragements me donnent la force de
continuer.*

AL-HIJNA ODAI SALEH

Dédicace

A mes chers parents,

Sans qui je ne serai pas où j'en suis aujourd'hui

A ma très chère mère,

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon père,

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes frères et sœurs,

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

A ma chère précieuse princesse que j'aime infiniment

Je vous dédie ce modeste travail.

A mes meilleurs amis

Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir plein de santé et réussite.

A mes collègues pharmaciens de la promotion 2011,

A toutes les personnes qui m'ont aidé, soutenu ou encouragé au long de mes études,

Je vous dédie ce modeste travail.

BOURICHE EL HABIB

Table des matières

Liste des abréviations	1
Liste des tableaux	3
Listes des figures	4
Introduction générale.....	1
PARTIE 1 : ETUDES BIBLIOGRAPHIQUES	1
1. Généralités sur la grenade et le grenadier	2
1.1 Introduction	2
1.2 Origine.....	2
1.3 Origine du Grenadier cultivé	3
1.4 L'introduction du Grenadier dans la culture européenne et méditerranéenne	3
1.5 Dénomination communes.....	4
2 Etudes botanique	5
2.1 Classification	6
2.2 Arbre de grenadier	7
2.3 Feuille.....	7
2.4 Fleur.....	8
2.4.1 Le diagramme florale.....	8
2.4.2 Les étamines	9
2.5 Le fruit.....	10
2.5.1 <i>La baie</i>	10
2.5.2 <i>Les graines</i>	10
2.5.3 <i>L'écorce du fruit</i>	11
2.6 Système racinaire.....	12
2.7 Fructification et conservation	12
2.8 Exigences.	13
2.9 Culture.....	13
2.9.1 <i>Plantation.</i>	13
2.9.2 <i>Irrigation.</i>	13
3 Propriétés pharmacologique.....	14
3.1 Activité antimicrobienne	14
3.1.1 Concentration inhibitrice minimale	14
3.1.2 Composés bioactifs responsable de l'activité antibactérienne.....	14
3.2 Efficacité contre le paludisme	14
3.3 Effet antifongique.....	15
3.4 Effet antidiarrhéique.....	15
3.5 Activité anti-inflammatoire	15
3.6 Effet anticorrosive	15
3.7 Effet anticancereux.....	15
3.8 Effet antioxydant	16
3.9 Protection contre les maladies cardiovasculaires	16
3.10 VIH.....	16
3.11 Effet antidiabétique	16
4 Compositions chimiques des différents parties de la grenade	18
4.1 L'écorce externe de fruit	18
4.2 Le jus de grenade	20
4.3 Les pépins de grenade	22
4.4 Caractères physico-chimiques de l'huile de pépins.....	25

5	Méthodes des extractions:	26
5.1	Soxhlet.....	26
5.2	CO ₂ supercritique	26
5.3	À froid	27
5.4	Conclusion.....	27
PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE.....		28
1	Matériel et méthodes	29
1.1	Quantification des divers constituants de la grenade.....	29
1.2	Extraction de l'huile de pépins de grenade.....	30
1.2.1	<i>Extraction par pression à chaud</i>	30
1.2.2	<i>Extraction chimique par solvant</i>	30
1.3	Analyses physico-chimiques de l'huile de pépins de grenade.....	32
1.3.1	<i>Densité relative à 20°C</i>	32
1.3.2	<i>Indice de réfraction à 20°C</i>	33
1.3.3	<i>Indice d'acide</i>	34
1.3.4	<i>Indice de saponification</i>	35
1.3.5	<i>Indice de peroxyde</i>	36
1.3.6	<i>Indice d'iode</i>	37
1.4	Evaluation de l'activité antimicrobienne des différentes parties de la grenade.....	38
1.4.1	<i>Manipulation</i>	38
1.4.2	<i>Préparation des milieux bactériens à tester</i>	41
2	Résultats et discussions.....	43
2.1	Quantification des divers constituants de la grenade.....	43
2.2	Le rendement en huile de pépins de grenade.....	44
2.3	Analyses physico-chimiques de l'huile de pépins de grenade.....	46
2.3.1	<i>Densité relative de l'huile de pépins de grenade</i>	46
2.3.2	<i>Indice de réfraction à 20°C</i>	46
2.3.3	<i>L'Indice d'acide – Acidité oléique</i>	47
2.3.4	<i>L'indice de peroxyde</i>	48
2.3.5	<i>L'indice de saponification</i>	49
2.3.6	<i>L' indice d'iode</i>	50
2.4	Analyses microbiologiques des jus et des extraits des grenades	52
2.4.1	<i>Les tests des jus</i>	52
2.4.2	<i>les tests des différents extraits methanolique</i>	52
2.4.3	<i>Les tests d'extrait aqueux</i>	53
2.5	Interpretation des résultats obtenus.	53
2.6	Conclusion.....	56
Conclusion générale		59
Références bibliographique		60
Reference web graphique		64

Liste des abréviations

(EA): L'extrait aqueux de L'écorce externe concassée	E.coli : Escherichia coli ATCC 25922
(EAP): L'extrait aqueux de L'écorce externe poudre	EM: extrait méthanolique
(EI): jus des cloisonnements internes	EM1/4: extrait méthanolique diluée à 1/4ème
(J): jus entier	EM1/8: extrait méthanolique diluée à 1/8ème
(J1): jus entier a été mélangé avec le jus de cloisonnement interne	EM 1/16: extrait méthanolique diluée à 1/16ème
(J2): jus entier a été mélangé avec le jus de cloisonnement interne et l'extrait aqueux cassé	F: facteur de correction
(J3): jus entier a été mélangé avec l'extrait aqueux cassé	FFA: free Fratty acides
(JF): jus fermenté	Fe: fer
(P): précipité de jus	FRAP: Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter
(S): surnagent de jus	g: gramme
ABTS: radical 2, 2-azinobis-éthylbenzothiazoline-6-sulphonate	g/moles: masse molaire gramme /mole
ATCC: American type of culture collection	HCl: acide chlorhydrique
C: concentration, en moles par litre, de la solution titrée	II: Indice d'iode ou indice de Hübl,
°C: la température «t» en degré Celsius	IL-1β: Interleukin 1 beta
Ca: calcium	PGE2: Prostaglandin E2
Ce: cerium	IP: Indice de peroxyde ou indice de Léa
CIM: Concentration inhibitrice minimale	IR: indice de réfraction à 20°C
Cl: Chlor	IS, I_s: Indice de saponification ou indice de Koettstoerfer
Co: Cobalt	K: potassium
COX-1: Cyclooxygenase-1	Kg: kilogramme
COX-2: Cyclooxygenase-2	KIO3: Iodate de potassium
Cr: Chrome	KOH: potassium
Cs: Césium	M: masse molaire
Cu: Cuivre	m: masse
DMPD: radical N, N'-p-di-méthylque-phénylènediamine	m: la masse en grammes de la prise d'essai.
DMSO: diméthylsulfoxyde	MG: matière grasse
DPPH: 2, 2-Diphenyl-1-Picryl Hydrazyl	mg/L: milligrammes / litre
DR: Densité relative à 20 C°	Mg: magnésium
	ml: millilitre
	Mn: manganèse
	mn: minute
	Mo: molybdène
	N: normalité
	N: l'azote
	Na: sodium

NaOH: hydroxyde de sodium

NDt: l'indice de réfraction pris sur le réfractomètre.

NO: monoxyde d'azote

O: oxygène

P.aeruginosa: Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Rb: rubidium

Rdt: Rendement

réf: référence

Sc: scandium

Se: sélénium

Sn: stain

Sr: strontium

sPLA2: phospholipase A2

S.aureus: Staphylococcus aureus ATCC 25923

T: Température

UV: ultraviolet

V: volume

VIH: virus de l'immunodéficience humaine

Zn: zinc

Liste des tableaux

TABLEAU I : CLASSIFICATION PHYLOGENETIQUE APGII	6
TABLEAU II: : LES CONSTITUANTS DE LA GRENADE. ^[24]	18
TABLEAU III :LES STRUCTURES CHIMIQUES DES ELLAGITANNINS.....	19
TABLEAU IV :STRUCTURES CHIMIQUES DES FLAVONOÏDES.	21
TABLEAU V :STRUCTURE CHIMIQUE DES ANTHOCYANINES.....	21
TABLEAU VI : EXEMPLES SUR DES TENEURS EN ACIDE GRAS PROVENANT DE 5 VARIETES DE GRENADE DIFFERENTES.....	23
TABLEAU VII :EXEMPLES SUR LES ACIDES GRAS PRESENTS DANS L' HUILE.	24
TABLEAU VIII :LES STRUCTURES CHIMIQUES DES HORMONES STEROÏDIENNES DES PEPINS.	24
TABLEAU IX : CARACTERES PHYSICOCHIMIQUES DE L' HUILE DE PEPINS DE GRENADE.	25
TABLEAU X : RENDEMENTS EN ECORCE EXTERNE ET INTERNE AINSI QUE EN GRAINS.....	43
TABLEAU XI : LES POURCENTAGES DES CONSTITUANTS DE LA GRENADE.....	44
TABLEAU XII : RENDEMENTS EN JUS ET PEPINS.	44
TABLEAU XIII : LES RENDEMENTS EN HUILE PAR SOXHLET	45
TABLEAU XIV : DENSITE RELATIVE DE QUELQUES HUILES VEGETALES.	46
TABLEAU XV : INDICES DE REFRACTION DE QUELQUES HUILES VEGETALES.	47
TABLEAU XVI : INDICES D' ACIDE DE QUELQUES HUILES VEGETALES.	47
TABLEAU XVII : ACIDITE OLEIQUES DE QUELQUES HUILES VEGETALES.	48
TABLEAU XVIII : INDICE DE PEROXYDE DE QUELQUES HUILES VEGETALES.....	49
TABLEAU XIX :INDICES DE SAPONIFICATION DE DIFFERENTES HUILES VEGETALES.....	50
TABLEAU XX : VALEURS DES INDICES D' IODE DE DIFFERENTES HUILES VEGETALES.....	51
TABLEAU XXI : LES RESULTATS DE LECTURE DES DIFFERENTS JUS POUR LES 3 SOUCHES.....	52
TABLEAU XXII :LES RESULTATS DE LECTURE DE L' EXTRAIT METHANOLIQUE ET SES DILUTIONS POUR LES 3 SOUCHES.....	53
TABLEAU XXIII :LES RESULTATS DE LECTURE DES DEUX EXTRAITS AQUEUX POUR LES 3 SOUCHES.	53
TABLEAU XXIV : LES DIFFERENTS RESULTATS DE LECTURE DES EXTRAITS ET DES JUS.	54
TABLEAU XXV :ACTIVITE DES EXTRAITS SUR S.AUREUS ET P.AERUGINOSA	55

Listes des figures

FIGURE 1 : LIMITE DE LA CULTURE DU GRENADIER DANS LA ZONE MEDITERRANEENNE ET CAUCASIENNE	4
FIGURE 2: LE GRENADIER.....	7
FIGURE 3: LA FEUILLE DE GRENADIER.....	7
FIGURE 4: LA FLEUR DE GRENADIER.....	8
FIGURE 5: FLEURS SECHES	8
FIGURE 6: DIAGRAMME FLORALE	8
FIGURE 7: ETAMINES	9
FIGURE 8: FRUIT DE GRENADIER	10
FIGURE 9: LES GRAINES	11
FIGURE 10: CLOISONNEMENT INTERNE.....	11
FIGURE 11: ECORCE EXTERNE	11
FIGURE 12: SYSTEME RACINAIRE	12
FIGURE13: STRUCTURE CHIMIQUE DE LA PELLETIERINE	18
FIGURE 14: ACIDE ELLAGIQUE	18
FIGURE 15: L'ACIDE GALLIQUE.....	18
FIGURE 16: EXTRACTEUR DE SOXHLET	26
FIGURE 17: ETAT SUPERCRITIQUE DU CO ₂	26
FIGURE 18: EXTRACTION PAR PRESSAGE A FROID	27
FIGURE 19: UNE GRENADIER DE BENI SNOUS	29
FIGURE 20: REFRACTOMETRE ABBE	33

Introduction générale

Notre mémoire a été réalisé sur la grenade de la région de Beni Snous, Wilaya de Tlemcen. Son utilisation en médecine traditionnelle ainsi que la possibilité d'exploiter ses différents constituants dans l'industrie pharmaceutique nous a incité à réaliser ce travail, L'absence de données bibliographique, de l'exploitation industrielle et des recherches

Le fruit du Grenadier, son écorce et ses fleurs sont utilisés depuis très longtemps par différentes civilisations anciennes pour leurs différentes activités thérapeutiques en particulier l'activité anticancéreuse et antimicrobienne comparables à celle des tétracyclines.

Dans ce présent mémoire nous nous sommes intéressés à la grenade de la région de Beni Snous, wilaya de Tlemcen par défaut d'étude de cette variété et dans le but de valoriser cette variété très peu consommée connue localement sous le nom (ATMI)

L'objectif de notre étude est :

- ✓ Extraire l'huile fixe à partir des pépins de grenade.
- ✓ Évaluer les caractères physico-chimiques de cette l'huile.
- ✓ Etudier l'activité antimicrobienne de l'écorce de la grenade.

A decorative graphic consisting of several overlapping blue triangles of varying shades, pointing to the right, located above the title.

PARTIE 1 : ETUDES

BIBLIOGRAPHIQUES

- Chapitre 01 : Généralités sur la grenade
- Chapitre 02 : Etudes botanique
- Chapitre 03 : Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques
- Chapitre 04 : Compositions chimiques de différentes parties de la grenade
- Chapitre 05 : Méthodes d' extractions

1. Généralités sur la grenade et le grenadier

1.1 Introduction

Les fruits du Grenadier (*Punica granatum L*) ainsi que ses graines, son écorce et ses fleurs sont utilisés depuis très longtemps par différentes civilisations anciennes qui lui ont attribués plusieurs vertus.

Les études modernes montrent que le régime alimentaire est le moyen le plus évident pour maintenir le corps en bonne santé, et prévenir contre les différentes maladies. Parmi les aliments qui présentent des propriétés nutritifs très intéressantes on peut citer la grenade, en effet elle possède des effets antioxydants très élevé, ainsi que plusieurs propriétés thérapeutiques, en relation avec la composition chimique riche en tanins et en polyphénols.

La grande partie de ses composés chimiques se trouve en outre dans l'écorce et les pépins qu'on considère comme déchets. l'étude et l'évaluation de ces derniers ont été récemment un sujet intéressant pour les scientifiques qui ont démontré leur efficacité dans la prévention et la lutte contre les maladies chroniques les plus fréquentes.

1.2 Origine

La partie phylogénétique du Grenadier se trouve selon les derniers travaux des botanistes et pomologues, dans toute la région qui englobe l'Iran, l'Afghanistan et la Transcaucasie orientale, où s'observe une multitude de formes spontanées et de variétés cultivées. ^[01]

En Asie Mineure dans la région méditerranéenne, ainsi qu'en Afrique de Nord, l'espèce se serait naturalisée à la suite d'une très ancienne culture, et de sa dispersion par les oiseaux. ^[01]

1.3 Origine du Grenadier cultivé

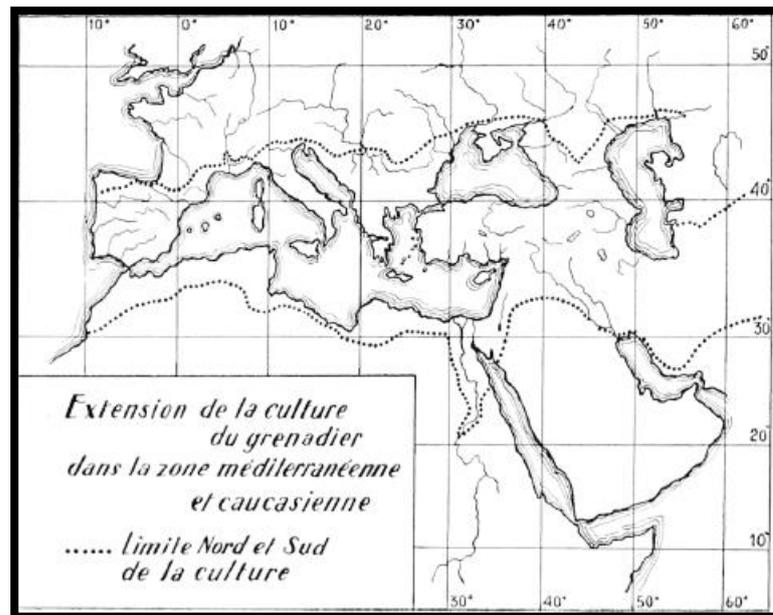
La culture du Grenadier est considérée comme une domestication d'une espèce sauvage, elle n'a pas débuté dans la zone méditerranéenne comme on le supposait encore récemment, mais elle a pris naissance en Asie occidentale à l'époque préhistorique, son extension dans l'antiquité vers l'Occident (zone méditerranéenne) d'abord, puis vers l'Inde et la Chine. ^[01]

1.4 L'introduction du Grenadier dans la culture européenne et méditerranéenne

C'est Les Romains qui ont introduit cet arbre en Afrique du Nord, et ils le connaissaient sous le nom de « Malum panicum », décrit par les auteurs romains depuis l'époque de Caton (II^e siècle avant J-C). ^[01]

En Espagne, la culture du Grenadier s'est développée surtout sous l'occupation arabe, d'où son nom « Granada » nom de la ville de Grenade, où cette culture était florissante, mais actuellement est moins appréciée qu'elle ne l'était dans le passé. ^[01]

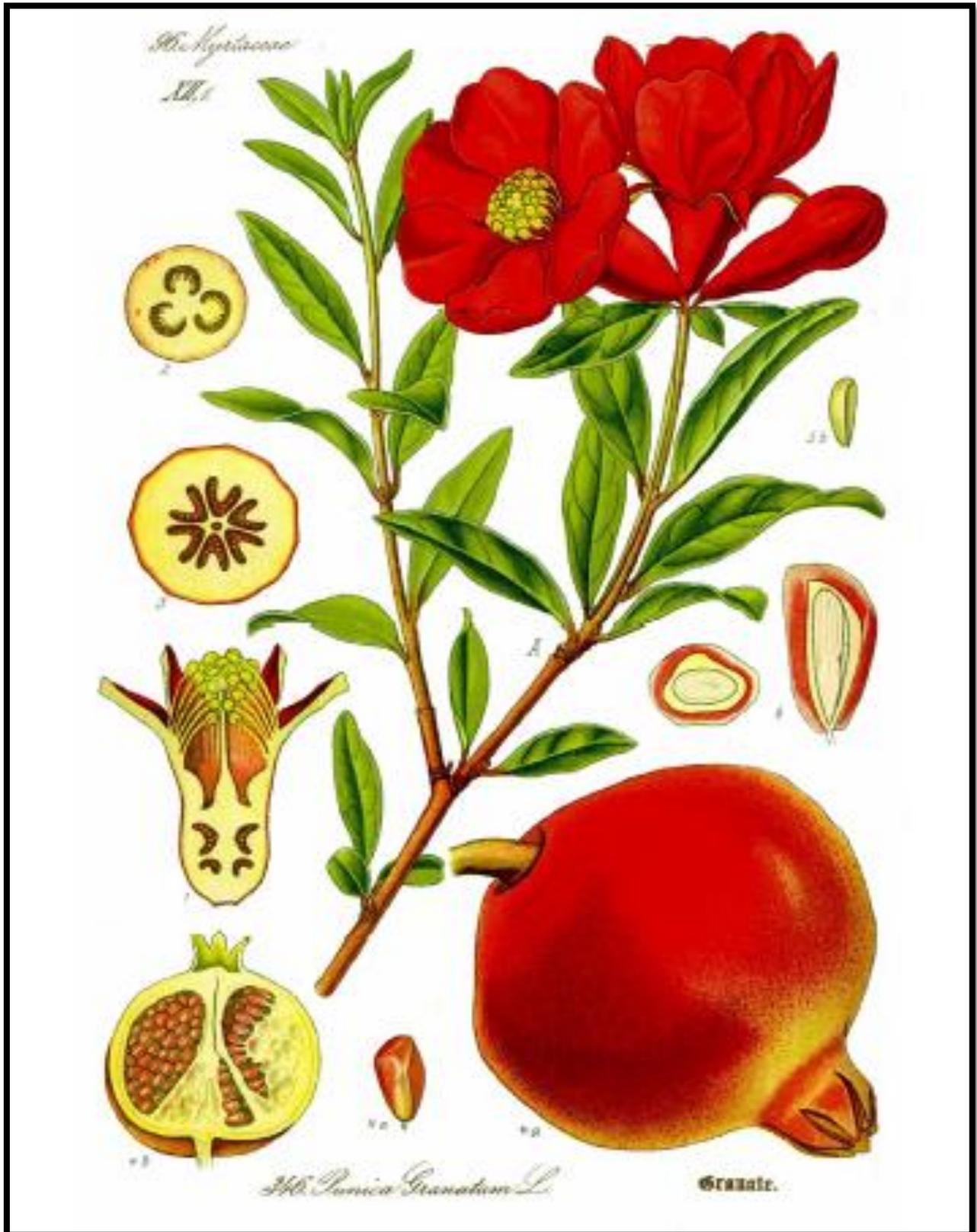
Les limites de la culture de grenadier sont décrites par la figure ^[01]

Figure 1 : limite de la culture du grenadier dans la zone méditerranéenne et caucasienne ^[01]

1.5 Dénomination communes

- En Algérie et en pays arabes : الرمان
- En France: Arosse, Balaustier, Granatier, Grenadier, Migranier.
- En Allemagne: Balluster, Echter, Gemeine grante, Granat, Granatbaum, Margaretenblum.
- En Angleterre: Carthaginian-apple, Dwarf Pomegranate, Pome granat, Pome granate.
- En Espagne: Granado, Mangrano.
- En Flamand: Granaatboom.
- En Italie: Granata, Granato, Melograno, Me Pagrana.
- Au Japon: Zakuro.
- Au Portugal: Granatbaum, Româ, Romanzeiro, Romazeira,.

2 Etudes botanique



2.1 Classification

embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones vraies
Sous Classe :	Rosidées
Ordre :	Myrtales
Famille :	Lythracées
Genre :	<i>Punica</i>
Espèce :	<i>Punica granatum</i>

Tableau I : classification phylogénétique APGII

2.2 Arbre de grenadier

Le grenadier se présente comme un petit arbre de 3 à 4 m. de hauteur, donnant de nombreux rejets, on le trouve plus souvent sous forme de cépée, qu'avec une tige unique. Les rameaux sont grêles, parfois épineux. ^[01]

Il croît majoritairement dans toute la région méditerranéenne, de façon spontanée ou cultivée. ^[02]

Figure 2: Le grenadier



Figure 3: La feuille de grenadier



2.3 Feuille

Les feuilles du grenadier sont caduques, opposées, et disposées sur les rejets comme ils peuvent être en touffes sur les pousses courtes, glabres sur les deux faces. Caractérisées par la couleur verte foncé de la face supérieure et à nervure médiane nettement déprimée. La face inférieure, vert clair, montre une nervure médiane très saillante. ^[01]

Ces feuilles entières, brillantes, lancéolées, assez coriaces, présentent un limbe elliptique allongé, de 3 à 8 cm de long. de sommet obtus ou allongé, munies d'un court pétiole rougeâtre. ^[03]

2.4 Fleur

Les fleurs axillaires, solitaires ou parfois disposées par deux, présentent un calice épais, coriace, tubuleux et turbiné à 6 lobes triangulaires. La corolle d'un rouge éclatant est formée de 5 à 7 pétales obovales.

Elles sont appelées aussi balaustes (quand elles sont sous forme de boutons), Les fleurs sans odeur sont sèches, de saveur astringente et âpre et donnent à la salive une teinte violacée. ^[04]

Figure 4: La fleur de grenadier



Figure 5: fleurs séchées (B)



Elles sont hermaphrodites, actinomorphes. ^[05]

Ces balaustes sont très ornementales, de couleur grenat, pourpre ou rouges portés par un court pédoncule réunis au sommet des branches de 2 ans ou plus par groupe de deux ou trois, et s'ouvrent de mai à juillet.

2.4.1 Le diagramme florale

Le diagramme floral est composé de :

- Un calice de 4 à 8 courts sépales charnus persistants, dressés au début, puis ils s'étalent après la fécondation, présentant une préfloraison valvaire. ^[05]
- Une corolle de 4 à 8 minces pétales qui s'alternent avec les sépales.

Figure 6: Diagramme florale (C)



- Leur couleur change, selon la variété, elles prennent le plus souvent un rouge orangé vif, mais aussi jaune pâle, crème, saumon, leurs extrémités peuvent être blanches.
- Dans les variétés à fleurs doubles le nombre de pétales est doublé formant une belle fleur ornementale.
- Un gynécée de 8 ou 9 carpelles, sur deux verticilles soudés au tube du calice.
- L'ovaire infère est surmonté d'un style conique terminé par une tête stigmatique. ^[02]

2.4.2 Les étamines

Figure 7: Etamines (D)



Très nombreuses et libres, à partir de la corolle elles tapissent la paroi interne du réceptacle floral. ^[05]

Ces étamines possèdent des anthères biloculaires. Elles sont versatiles, introrses et à déhiscence longitudinale. ^[05]

2.5 Le fruit



2.5.1 La baie

Le fruit du grenadier nommé grenade (*Punica granatum*), est une baie ronde à écorce dur, sa taille est d'une pomme ou d'une orange, son diamètre varie entre de 2 à 12 cm. ^[06]

Divisée en neuf loges dont les cloisons membraneuses partent du réceptacle et renferment des semences entourées d'une pulpe succulente, ordinairement rougeâtre. ^[07]

Et selon la variété sa couleur diffère, blanc jaunâtre, jaune foncé, violet foncé ou rarement noir.

A maturité le fruit est facilement identifiable par le reste du calice qui lui surmonte, formant une couronne dentée. ^[08]

La grenade présente une placentation hétérogène. Après fécondation de la fleur, l'accroissement du tube du calice porte les carpelles externes au-dessus des autres, et le fruit se trouve composé de deux rangées de loges superposées, de telle sorte que dans la rangée inférieure la placentation est axile, tandis qu'elle est pariétale dans la rangée supérieure. ^[02]

2.5.2 Les graines

C'est la partie comestible du fruit.

Figure 9: Les graines (F)

Cette baie renferme de nombreuses graines contenues dans des loges, séparées par des cloisons ténues et membraneuses.

Toutes ces graines possèdent un mésocarpe charnu et gélatineux, acidulé et sucré. ^[09]

Composé d'un tégument externe pulpeux et très succulent, et un tégument interne dur et coriace, courtement funiculées, deviennent plus ou moins anguleuses par compression réciproque. ^[05]

2.5.3 L'écorce du fruit

L'écorce du fruit du grenadier ou autrement appelé malicorium, il s'agit de la partie externe et dure du fruit. La couleur de la face extérieure dépend de la variété, brillants, la face intérieure généralement jaunâtre, concave, portant l'empreinte des graines qui y étaient appliquées, de saveur amère et astringente. ^[04]

Figure 9: Ecorce externe*Figure 10: Cloisonnement interne*

2.6 Système racinaire

Le système racinaire de grenadier est :

- -Fasciculé.
 - -De surface (60cm²).
 - Avec la capacité à s'adapter selon les conditions de sol.
- ^[10] La racine du grenadier est ligneuse, noueuse, dure et pesante. ^[10]

Figure 11: Système racinaire (G)



La face externe gris jaunâtre ou brunâtre montre de larges écailles subéreuses, des rides ou de larges fissures. La face interne jaune verdâtre est lisse et finement striée longitudinalement. ^[02]

L'écorce de la racine se présente sous forme de fragments irréguliers, plus ou moins enroulés ou cintrés, d'un millimètre d'épaisseur environ.

2.7 Fructification et conservation ^[01]

La fructification du Grenadier commence dès la troisième année après la plantation.

Le plein rendement commence dans la 6-7^{em} année et se poursuit pendant 30-40 ans.

La durée de vie des arbres cultivés est de 50-60 ans.

La maturité des fruits a lieu fin septembre-octobre, certaines variétés mûrissent en novembre.

Les fruits se conservent de deux à trois mois, sans perdre leurs qualités. Dans la glace leur conservation peut être prolongée de six mois.

La grenade, en raison du péricarpe épais et dur, supporte très bien le transport.

2.8 Exigences. ^[01]

Le meilleur développement du Grenadier a lieu dans des sols profonds, riches, frais, argilo-siliceux, avec sous-sol perméable. Les terrains alcalins lui sont favorables.

La qualité du fruit et le rendement dépendent beaucoup de l'humidité du sol et de sa nature, il réussit aux altitudes les plus diverses de 300 à 1000 mètres, l'adaptation du Grenadier aux altitudes élevées n'exclut pas la possibilité de sa culture en plaine et même au bord de la mer, sur le littoral de la Méditerranée.

2.9 Culture.

2.9.1 Plantation. ^[01]

C'est par scions d'un an qu'est effectuée la plantation en place. On choisira de préférence des scions de 0, 60 à 0, 80 cm. de haut, avec un système racinaire bien chevelu ; les scions doivent présenter 3-5 rameaux latéraux déjà constitués.

L'époque de la plantation dépend des régions et de l'altitude. Avec le même succès, on peut planter en automne (novembre-décembre), ou au printemps (mars-avril). Le départ tardif de la végétation du Grenadier permet de planter assez tard.

2.9.2 Irrigation. ^[01]

Pour obtenir des fruits de qualité, la pluviométrie doit être environ de 500 mm, avec des pluies printanières, des étés chauds et de longs automnes secs.

Dans les régions où la pluviométrie est déficiente il est nécessaire d'irriguer les Grenadiers, la première année, après la plantation des jeunes plants, l'arrosage se fait 3 à 4 fois par mois quand les jeunes grenadiers se sont bien enracinés deux arrosages par mois sont suffisants.

3 Propriétés pharmacologique

3.1 Activité antimicrobienne

Les composés des écorces de grenade ont des propriétés thérapeutiques.

Les extraits (aqueux ; méthanolique et éthanolique) de l'écorce de grenade montrent une propriété antibactérienne comparable à celle de la tétracycline contre les souches bactériennes de *Staphylococcus aureus* (Gram positive), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négative). [11]

3.1.1 Concentration inhibitrice minimale

Il a été mentionné que l'extrait n'a une activité anti-bactérienne qu'à partir d'une certaine concentration, c'est la concentration inhibitrice minimale qui a été déterminé par (N.S. Al.Zoreky), et aussi que les extraits méthanolique à 80° (degré alcoolique) sont les plus efficaces [12]

3.1.2 Composés bioactifs responsable de l'activité antibactérienne

L'ellagitannin punicalagine a été révélé susceptible la substance responsable de l'activité antimicrobienne de l'écorce de la grenade. [13]

3.2 Efficacité contre le paludisme

L'écorce de fruits immatures a démontré son efficacité pour le traitement du paludisme et de soutenir que l'acide Ellagique est le principal composé actif de l'extrait, glycosides, acide Ellagique et les ellagitannins (punicalagins et punicalins) peuvent contribuer comme Pro-médicaments à une administration plus efficace de l'acide Ellagique en vivo. [14]

3.3 Effet antifongique

Un pouvoir inhibiteur considérablement élevé a été attribué à l'extrait éthanolique de l'écorces de grenade contre L'ASCOCYHTA RABIEI (PASS.) LABR. ET FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. RADICIS-LYCOPERSICI. [15]

3.4 Effet antidiarrhéique

L'extrait aqueux de l'écorce de la grenade est riche en tanins, flavonoïdes et alcaloïdes. il présente une activité relativement considérable par rapport à celle d'une référence connu (LOPERAMIDE), contre la diarrhée, ce résultat a validé l'ancienne utilisation de l'écorce de grenade comme un antidiarrhéique naturel. [15]

3.5 Activité anti-inflammatoire

L'extrait de fruits de grenadier riche en polyphénols a montré son action inhibitrice de la production induite par la cytokine inflammatoire IL-1 β de PGE2 et la production de NO dans les chondrocytes, cet effet inhibiteur c'est élargi sur l'activité enzymatique à la fois de COX-1 et COX-2 in vitro, mais l'effet a été plus prononcé sur l'activité enzymatique de l'enzyme COX-2. [17]

3.6 Effet anticorrosive

L'extrait éthanolique des pépins de grenade a été inhibiteur pour la corrosion de l'acier doux dans les solutions acides. Les résultats d'impédance ont révélé que l'extrait fonctionnait via l'adsorption de la matière organique sur l'interface métal / solution, et que cet effet est dû aux quatre composés (pelargonidine ; pelletière ; acide ellagique et gallique). [18]

3.7 Effet anticancereux

L'acide ellagique, l'acide caféique, la luteoline et l'acide punique, sont tous des composés avec des actions anticancéreuses connues. [19]

Le jus fermenté, l'écorce de grenade, et l'huile de pépins de grenade, lorsqu'ils sont combinés, cet ensemble Inhibe la prolifération, l'invasion et la sécrétion de phospholipase A2 (sPLA2) dans le cancer de la prostate. [19]

3.8 Effet antioxydant

L'activité antioxydante des jus de grenade a été évaluée par quatre méthodes différentes (ABTS, DPPH, DMPD et FRAP) et comparées à celle du vin rouge et à une infusion de thé vert. Les jus de grenade commerciaux ont montré une activité antioxydante trois fois supérieure à celle du vin rouge et du thé vert. [20]

Ces jus commerciaux contenant la punicalagine composé principale de l'écorce à (1500-1900 mg/L) ont montré une activité antioxydante plus élevée que celle des jus expérimentaux obtenus à partir des arilles seulement. [20]

3.9 Protection contre les maladies cardiovasculaires

L'effet de la consommation de jus de grenade par des patients hypertendus sur leur tension artérielle et sur l'activité de l'enzyme de conversion sérique a été décrite, on observe une diminution de l'activité de l'AC sérique et une réduction de la tension artérielle systolique. [21]

3.10 VIH

Le jus de grenade contient plusieurs ingrédients, comme l'acide caféique acide ursolique, catéchines et quercétine qui ont été déclarés avoir une activité anti-VIH (pouvoir inhibiteur de gp120-cd4). [22]

3.11 Effet antidiabétique

Il a été mentionné que les mécanismes hypoglycémiques de l'extrait de fleurs de grenadier sont similaires à ceux de l'acarbose, 10- α -glucosidase inhibiteur utilisé dans le traitement de la maladie de type 2. [23]

Aussi que l'extrait méthanolique de pépins de grenade était dépendamment de la dose: hypoglycémiant chez les Rats diabétiques, approchant une réduction de 10% de la glycémie.
[23]

L'extrait aqueux de l'écorce de grenade était également significativement hypoglycémiant, et il est suggéré de l'utiliser pour traiter le diabète type 1 aussi bien que pour type2. [23]

4 Compositions chimiques des différents parties de la grenade

La grenade suscite depuis longtemps l'intérêt des chercheurs qui ont pu identifier grâce aux différentes techniques comme la chromatographie couplée à la spectroscopie de masse ou encore la résonance magnétique, la composition des différents constituants de ce fruit.

Tableau II: : Les constituants de la grenade. ^[24]

Caractère	Valeur
Poids moyen	284 g
Volume moyen	313 cm ³
Ecorce externe	38 % de poids de fruit.
Cloisonnement interne	10 % de poids de fruit.
Graines	52 % de poids de fruit.
Jus	78 % de poids des graines
Pépins	22 % de poids des graines

4.1 L'écorce externe de fruit

L'écorce de la grenade est riche en ellagitannins tels que la Punicalline, la Punicalagine, la Corilagine, la Granatine A ainsi que la Granatine B. Elle renferme également des acides hydroxybenzoïques comme d'acide gallique et de l'acide ellagique et aussi des anthocyanidines, responsables de la couleur des grenades. On note aussi la présence d'un alcaloïde : la Pelletierine. ^[25]

Figure 12: Structure chimique de la Pelletierine

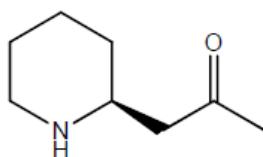


Figure 13: Acide ellagique

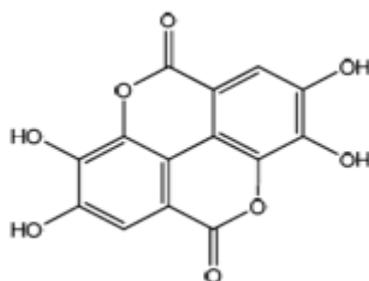
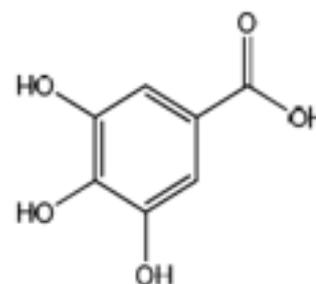


Figure 14: L'acide gallique



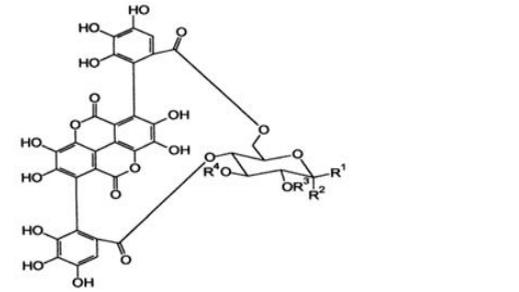
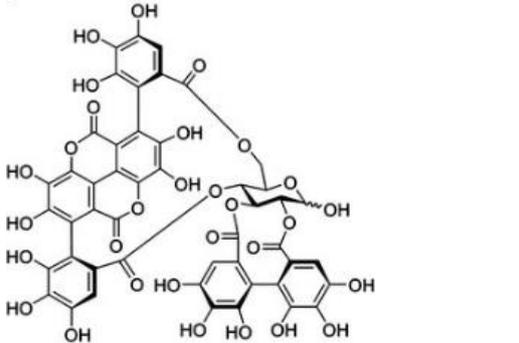
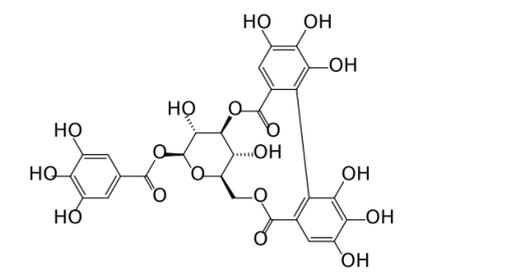
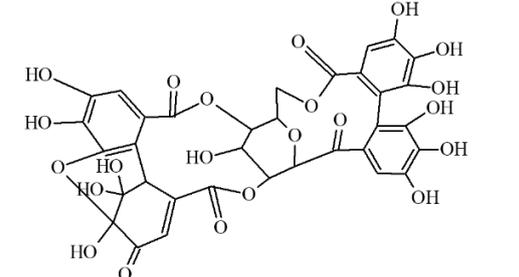
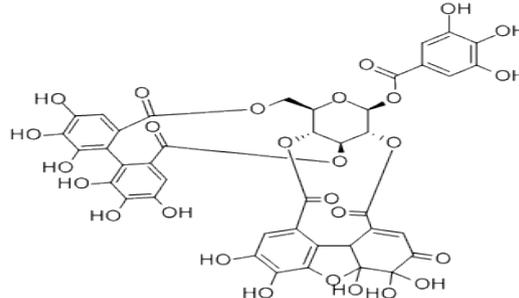
Molécules	Structures chimiques
<i>La punicalline</i>	
<i>La punicalagin</i>	
<i>La corilagine</i>	
<i>La granatine A</i>	
<i>La granatine B</i>	

Tableau III :Les structures chimiques des ellagitannins.

4.2 Le jus de grenade ^[25]

Le jus de grenade est composé de 85,4% d'eau, 10,6% Sucres totaux, 1,4% de pectine, 0,2 à 1,0% de polyphénol.

Les anthocyanines et les flavonoïdes, fournissent au jus de grenade sa couleur brillante et sont aussi de puissants antioxydants. Parmi les anthocyanines on peut citer la delphinidine, le cyanidine, la pelargonidine.

Des sucres simples tel que le glucose, le fructose ou des disaccharides tq le saccharose sont présents dans le jus ainsi que des acides organique comme l'acide citrique, l'acide malique ou encore l'acide ascorbique. On retrouve aussi de l'acide gallique, l'acide ellagique et de l'acide quinique dans le jus, ainsi que des acides aminés tel que Proline, Valine.

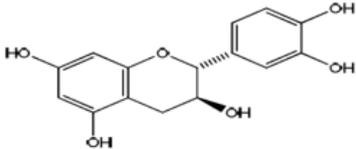
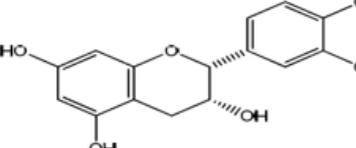
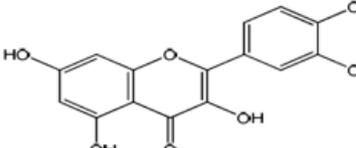
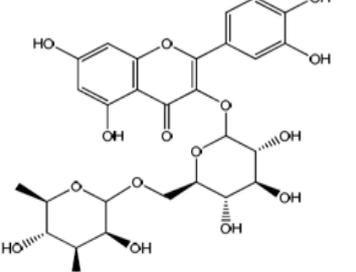
La catéchine	
L'épicatéchine	
La quercétine	
La rutine	

Tableau IV :structures chimiques des flavonoïdes.

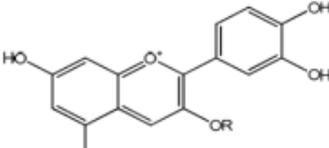
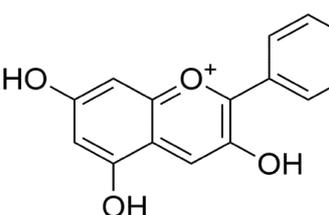
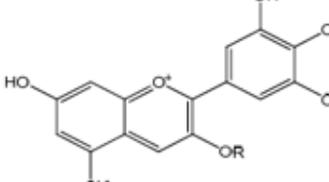
La cyanidine	
La pélagonidine	
La delphinidine	

Tableau V :structure chimique des anthocyanines.

4.3 Les pépins de grenade

A partir des pépins de grenade on récupère une huile constitué majoritairement d'acide gras insaturé ^[25] représentés par l'acide punicoïque: acide *cis*-9, *trans*-11, *cis*-15, octadécatriénoïque, et aussi par les acides oléiques et linoléiques.

Il existe des hormones stéroïdiennes dans les graines de grenade, en effet, la 17 α -oestradiol, l'oestrone, l'oestriol et la testostérone sont présentes.

De plus, ces graines renferment aussi de nombreux stérols, comme le cholestérol ou le Stigmastérol. Enfin, elles renferment aussi des Triterpènes: acide ursolique, acide oléanolique, ainsi que des Isoflavones.

Acides gras % (huile de pépins)		Variétés				
		1	2	3	4	5
14:0	Myristique	0.7 ± 1.5	0.18 ± 0.21		0.35 ± 0.10	
16:0	Palmitique	5.7 ± 4.1	5.07 ± 1.30	2.45 ± 0.19	4.00 ± 0.76	4.04 ± 0.34
18:0	Stéarique	2.1 ± 3.1	4.20 ± 1.56	1.52 ± 0.26	2.92 ± 0.56	2.30 ± 0.21
18:1 (ω-9)	Oméga-9	9.0 ± 5.6	7.86 ± 2.25	4.19 ± 0.61	5.68 ± 1.69	5.29 ± 0.25
18:2 (ω-6)	Oméga-6	10.8 ± 6.9	8.36 ± 2.36	4.49 ± 0.49	4.08 ± 1.04	6.05 ± 0.53
18:3 (9c11t13t)	α éléostéarique		10.70 ± 4.44	6.41 ± 0.27		
18:3 (9t11t13t)	B-éléostéarique		8.78 ± 5.16	1.03 ± 0.16		
18:3 (9t11t13c)	Catalpique		15.24 ± 6.17	3.48 ± 0.34		
18:3 (9c11t13c)	Punitive	71.5 ± 17.9	36.98 ± 10.12	74.11 ± 1.55	81.22 ± 2.15	58.14 ± 2.10
20:0	Arachidique		0.69 ± 0.14	0.39 ± 0.04	0.53 ± 0.18	0.50 ± 0.04
20:1	Eicosénoïque		1.65 ± 1.85	0.61 ± 0.09		0.61 ± 0.05
22:0	béhénique	0.1		0.18 ± 0.02		
24:0	lignocérique		0.97 ± 0.94		1.00 ± 0.24	
23,05% d'acides gras		Non identifiés				
1-Inde ^[34] ; 2-Chine et Tunisie ^[33] ; 3-Turquie ^[37] ; 4-Géorgie, États-Unis ^[35] ; 5-Petrolina, Brésil ^[36]						

Tableau VI : Exemples sur des teneurs en acide gras provenant de 5 variétés de grenade différentes. ^[26]

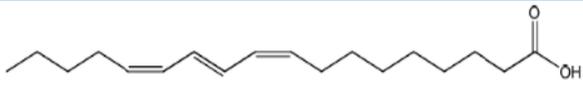
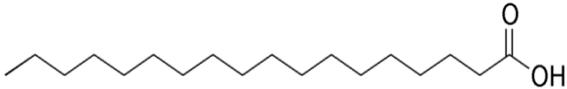
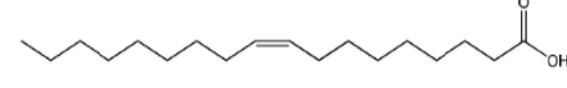
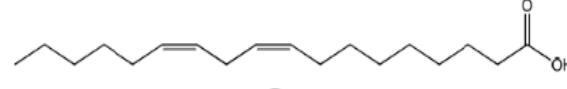
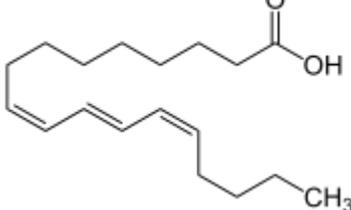
Acide palmitique	
Acide Stéarique	
Acide Oleique (ω-9)	
Acide Linoléique(ω-6)	
Acide Punicique (ω-5)	

Tableau VII :Exemples sur les acides gras présents dans l'huile.

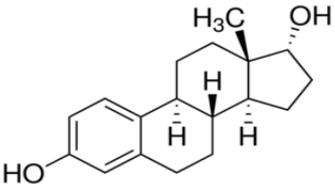
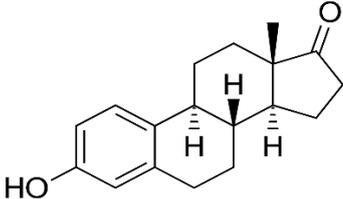
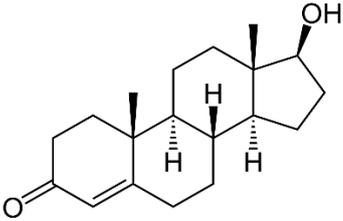
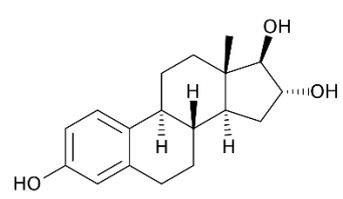
Le 17-α-Estradiol	
L'estrone	
La testostérone	
L'estriol	

Tableau VIII :Les structures chimiques des hormones stéroïdiennes des pépins.

4.4 Caractères physico-chimiques de l'huile de pépins

Une analyse complète d'une huile végétale nécessite l'utilisation de la CPG /SM mais, avant que ces techniques aient été développées, on utilisait et on utilise encore des paramètres plus faciles d'accès pour caractériser les différentes caractéristiques physico-chimiques des huiles. Le tableau suivant donne un exemple pour l'huile extraite des pépins de grenade.

Caractères physico-chimiques	Valeurs
Indice de réfraction (20 °c)	1.518
Point de fusion °C	13.0
Indice d'iode	74.2
Indice d'acide	1.1
Indice de saponification	188.9
Indice d'ester	187.8
Teneur en glycérol %	10.3
Teneur insaponifiable %	0.7

Tableau IX : Caractères physicochimiques de l'huile de pépins de grenade. [24]

5 Méthodes des extractions:

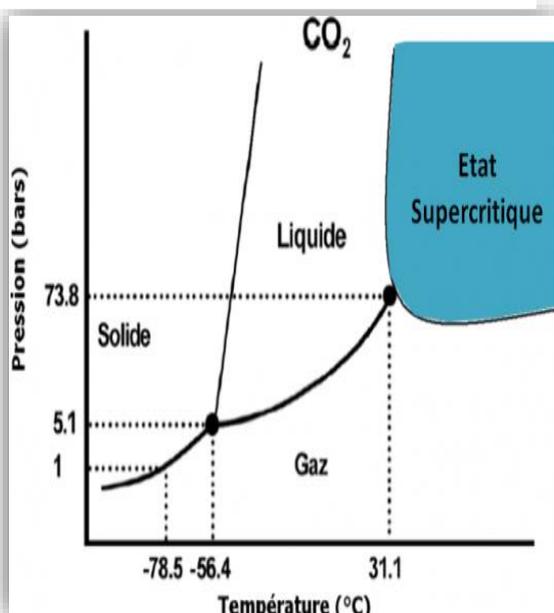
5.1 Soxhlet

Extraction liquide-solide C'est une extraction a chaud par l'extracteur de soxhlet. On introduit notre poudre des pépins broyés dans la cartouche, le solvon s'évapore. en passant dans le réfrigérant il retourne à l'état liquide et tombe dans le corps ou se trouve la cartouche et solubilise les composés à extraire. Le corps de l'appareil se remplit plusieurs fois qui permet une extraction maximale.

Figure 15: Extracteur de soxhlet



Figure 16: Etat supercritique du CO₂



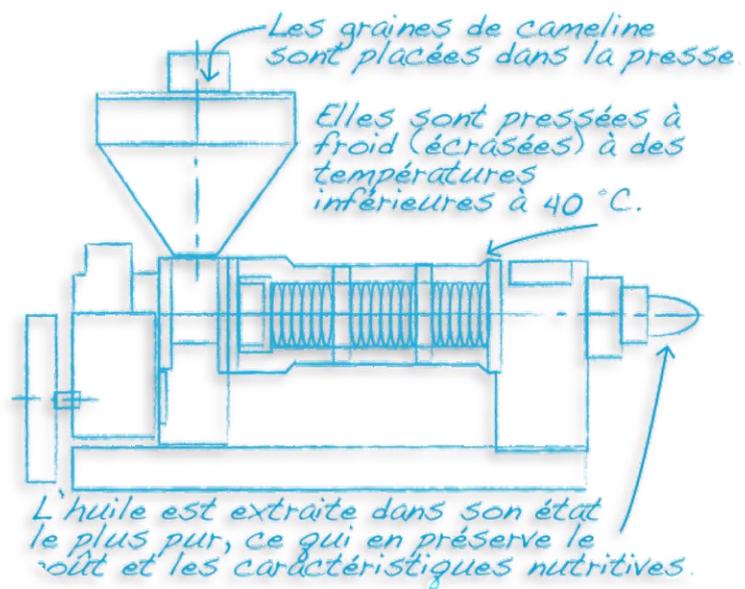
5.2 CO₂ supercritique

C'est une nouvelle technique d'extraction liquide-solide, l'appareil pousse le CO₂ à entrer à son état critique en jouant sur la pression. Le CO₂ liquide révélé comme un excellent solvant apolaire passe et solubilise les composé contenu dans l'échantillon, la récupération de ces derniers est facile et ne laisse pas des résidus toxique, le CO₂ retourne à son état gazeux et se sépare des autre composés sans avoir besoin d'élever la température.

5.3 À froid

Sans liquide d'extraction
C'est une opération simple par pressage de matière première à froid réalisé par des machines qui exercent leur pression sans augmenter la température permettant une extraction sans résidus nuisibles à la santé.

Figure 17: Extraction par pressage à froid



5.4 Conclusion

On a pu voir à travers cette étude bibliographique, que la grenade possédait des propriétés formidables que ce soit à travers ses nombreuses activités thérapeutiques, ou aussi à travers sa composition chimique.

Dans cet état d'esprit, on va :

- ✓ Quantifier, les différents constituants de la grenade issue de la région de Beni Snous,
- ✓ Procéder à des analyses physico-chimiques de l'huile de pépins de ce fruit,
- ✓ Effectuer des tests microbiologiques sur l'écorce de la grenade.



PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

- Chapitre 1 : matériel et méthodes
- Chapitre 2 : résultats et discussions

1 Matériel et méthodes

1.1 Quantification des divers constituants de la grenade

La variété de grenade (*Punica granatum L*) sur laquelle porte notre étude provient de la région DE BENI SNOUS non loin de la ville de Tlemcen. Nous avons effectué la récolte de notre fruit au mois de novembre.

Dans un premier travail, nous avons quantifié les différents constituants de la grenade à travers les opérations suivantes :

Figure 18: Une grenadier de Beni Snous



EPLUCHAGE : l'opération consiste à éplucher manuellement le fruit et recueillir l'écorce du fruit

EGRENAGE : On procède à la séparation des graines et à la quantification de la cloison interne de la grenade

PRESSAGE : En utilisant un tissu en toile de petites porosité, nous avons presse les graines manuellement et ainsi pu séparer le jus et les pépins de la grenade.

Les pépins de couleur jaune beige sont lavés puis séchées à l'étuve à 50 °C pendant 24 heures.

Pour la quantification des divers constituants, 3 lots de **10 kg** de grenade ont été nécessaire pour cette opération. Les différents constituants : Ecorce, Cloison interne, Graines, Jus et enfin Pépins ont été soigneusement pesées afin de calculer leur rendement comme suit :

$$\text{Rdt}(\%) = \frac{m}{M} \times 100$$

Avec: *m*: La masse d'un constituants en (g)
M: La masse des grenades en (g).

1.2 Extraction de l'huile de pépins de grenade

L'extraction de l'huile de pépins de grenade a été faite par deux méthodes:

1.2.1 Extraction par pression à chaud

L'extraction de l'huile repose sur un simple pressage en continue et ceci a l'aide d'une presse à huile (matériel mis à notre disposition par la SARL PRODALEX).

Nous avons débuté par un pressage à froid, le rendement en huile étant négligeable, nous avons été obligé d'effectuer le pressage en préchauffant au préalable la presse avec une résistance.

Le pressage de neuf cent gramme de pépins de grenade nous a permis de récupérer une huile brute et du tourteau. Une filtration sur papier wattman nous a fourni une huile pure dont le rendement est exprimé comme suit :

$$\text{Rdt} (\%) \text{ pure} = \frac{m'}{m} \times 100$$

Avec:

- *m'*: La masse en (g) de l'huile filtrée.
- *m*: La masse en (g) de pépins de grenade.

1.2.2 Extraction chimique par solvant

L'extraction de l'huile de pépins de grenade a été réalisée aussi par l'extracteur de Soxhlet avec un solvant non polaire tel que le cyclohexane sur une matrice solide qui est le

broyat des graines. **20 g** de broyat ont été placés dans une cartouche bien fermée et bouchée avec du coton dégraissé.

Dans le but d'optimiser les rendements en huile, plusieurs essais ont été réalisés :

Méthode

A : La cartouche contenant le broyat est directement placée dans le Soxhlet. L'extraction a duré **4 heures**. Après évaporation du solvant nous avons récupéré une masse m de l'huile.

Méthode B : La cartouche contenant le broyat est laissée macérer 24h, à température ambiante, dans **200ml** de cyclohexane. La durée de chauffage au Soxhlet est de **1 heure**.

Par cette méthode, nous avons voulu diminuer le temps de chauffage au Soxhlet.

Après évaporation du solvant, l'huile est pesée pour pouvoir calculer son rendement

Méthode C : Cette fois-ci nous avons mis la cartouche contenant le broyat de pépins de grenade dans un ballon contenant **200 ml** de cyclohexane et nous chauffons à reflux pendant 30 minutes. Ce même solvant va être utilisé dans l'extraction. Le temps de chauffage au Soxhlet a été fixé à 1 heure.

Après évaporation du solvant au rotavapeur, l'huile est pesée et on calcule son rendement comme suit:

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{m}{m'} \times 100$$

Où:

- m: Masse en (g) de l'huile récupéré
- m: Masse en (g) des pépins broyées.

1.3 Analyses physico-chimiques de l'huile de pépins de grenade

1.3.1 Densité relative à 20°C : (NF ISO 6883)

La densité relative d'une huile à 20°C est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile V à la masse de même volume d'eau distillée.

La densité relative est mesurée au moyen d'un pycnomètre sur lequel on effectue une suite de pesées en utilisant une balance très précise et sensible.

Après avoir nettoyer le pycnomètre avec de l'acétone, on le pèse et on le rempli par un volume d'eau distillée récemment bouillie et on refroidie le tout jusqu'à ce que l'eau atteigne une température de 20°C, Le pycnomètre est pesé et on note le poids.

On refait la même chose en remplissant le pycnomètre cette fois ci par le même volume d'huile. La température est maintenu à **20°C**. Ensuite, le pycnomètre est pesé et on note le poids.

La densité relative est déterminée par la formule suivante ;

$$D^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Avec:

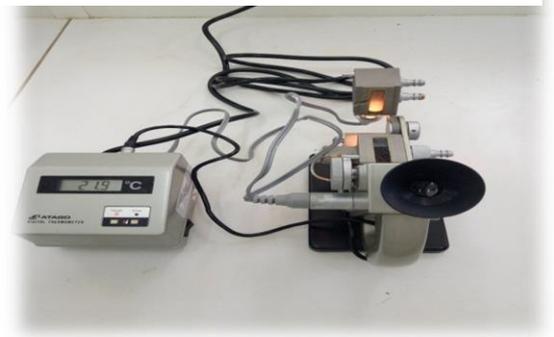
- **m0**: masse en (g) du pycnomètre vide,
- **m1**: masse en (g) du pycnomètre rempli d'eau distillée,
- **m2**: masse en (g) du pycnomètre rempli d'huile.

1.3.2 Indice de réfraction à 20°C: (ISO 6320)

On mesure l'indice de réfraction de l'huile grâce à un réfractomètre type Abbe, lié à un bain à température constante et précédemment étalonné avec de l'eau distillée.

La température pendant la mesure doit être de 20°C pour les huiles fluides ^[32]

Figure 19: Refractomètre Abbe



Après avoir nettoyée la surface du prisme du réfractomètre avec de l'eau distillée et essuyé avec du papier Joseph, une goutte d'huiles de pépins de grenade sont déposées sur le prisme.

La fenêtre de lecture donne directement la valeur de l'indice de réfraction à la température «T» en degré Celsius

Si le refractomètre n'est pas connecté à un bain thermostat, on prend la mesure de l'indice à température ambiante et on fait une conversion à l'aide de la relation empirique suivante :

$$n^{20} = n^T + 0.000045(T - 20)$$

Sachant que :

- T est en °C

1.3.3 Indice d'acide : (NF EN ISO 660)

C'est un 'indice qui évalue l'altération hydrolytique des corps gras. La présence d'eau (dans les graines ou dans le milieu) peut entraîner des phénomènes d'hydrolyse des huiles, soit par une action chimique ou enzymatique ^[32]. Les triglycérides sont alors partiellement hydrolysés en acides gras libres.

L'indice d'acidité exprime par le nombre de mg d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides libres présent dans l'huile ^[33].

L'acidité oléique d'une huile représente le pourcentage des acides gras libres (=FFA pour *free fatty acids*) exprimés conventionnellement en acide oléique pour les huiles végétales ^[32].

Dans un erlenmeyer de 250 ml, **0, 25** g d'huile est dissoute dans **50** ml d'un mélange d'éthanol /oxyde d'éthyle (**25-25** v/v). On ajoute 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine. On effectue le titrage avec une solution de KOH éthanolique jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante

Pour les calculs:

$$IA (\%) = \frac{56,1 \times C \times V}{m}$$

$$\text{Acidité (\%)} = \frac{C \times M \times V}{10 \times m}$$

Avec:

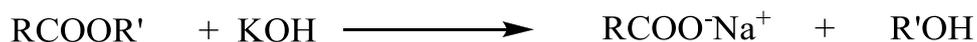
- **56,1**: est la masse molaire (g/moles) de l'hydroxyde de potassium,
- **C**: est la concentration exacte, en (mol/l), de la solution titrée de KOH ethanolique utilisée,
- **V**: est le volume en (ml) d'hydroxyde de potassium utilisé,
- **m**: est la masse en grammes de la prise d'essai (huile),
- **M**: est la masse molaire pour l'acide oléique (282 g / mol).

1.3.4 Indice de saponification : (NF ISO 3657)

L'**indice de saponification (IS)** ou *indice de Koettstoerfer* est la masse en % d'hydroxyde de potassium KOH, qui réagit avec le corps gras pour le transformer en savon ^[34].

Il est exprimé en (**mg KOH /g**).

La réaction de *saponification* est complète, rapide et irréversible.



Dans un ballon monocol **m g** d'huile sont dissous dans **25 ml** une solution de KOH ethanolique (**0,5N**). Le ballon est chauffé au reflux du solvant pendant **1** heure.

L'excès de KOH est titré par une solution d'acide chlorhydrique HCl (**0,5N**),

Un essai à blanc est préparé en suivant le même mode opératoire.

L'indice de saponification (IS) est calculé ainsi:

$$\text{IS} = \frac{56,1 \times C \times (V - V_1)}{m}$$

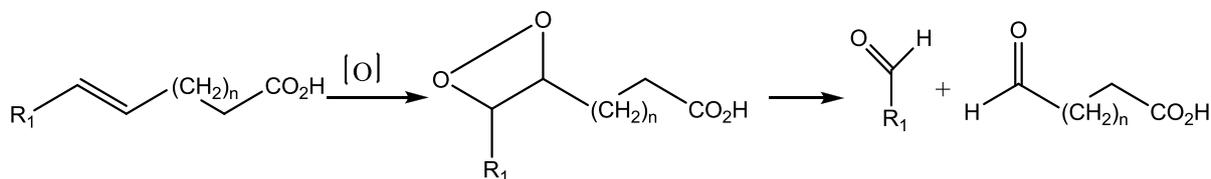
Avec:

- **V**: est le volume d'acide chlorhydrique (ml) nécessaire pour le dosage du blanc,
- **V'**: est le volume d'acide chlorhydrique (ml) nécessaire pour le dosage de l'essai,
- **C**: est la concentration exacte, en (mol /l), de la solution titrée d'acide chlorhydrique utilisée,
- **m**: est la masse en (g) de l'huile,
- **56, 1**: est la masse molaire de KOH éthanolique (g /mol)

1.3.5 Indice de peroxyde : (NF T 60-220 et ISO 3960)

L'indice de peroxyde IP permet d'évaluer l'état d'oxydation d'une huile. En effet les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs favorisants (UV, eau, enzyme, trace de métaux, ...) [35].

Les premiers composés formés au cours de l'oxydation sont les peroxydes ou les hydroperoxydes. Ceux-ci vont ensuite évoluer vers des composés plus stables: aldéhydes, cétones, acides comme le montre la réaction suivante:



L'indice de peroxyde exprime en (**meq O₂ / Kg**) est le nombre de microgrammes d'oxygène actif contenus dans l'huile et susceptibles d'oxyder l'iodure de potassium.

Une masse **m** en(g) de l'huile est dissoute dans **10** ml de chloroforme, **15** ml d'acide acétique et **1** ml d'iodure de potassium saturé. L'erlenmeyer contenant ce mélange est fermé hermétiquement et laissé pendant **5** minutes à l'abri de la lumière.

L'iode libéré est dosé avec une solution de thiosulfate de sodium à **0, 01 mol/l**, en utilisant l'empois d'amidon comme indicateur coloré.

Un essai à blanc est préparé en suivant le même mode opératoire.

La formule de calcul:

$$IP = \frac{(V_1 - V) \times C}{m} \times 100$$

Avec:

- **V'**: est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour l'indication,
- **V**: est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour l'essai à blanc,
- **C**: est la concentration, en (mol / l) de la solution étalonnée de thiosulfate de sodium,
- **m**: est la masse en (g) de l'huile.

1.3.6 Indice d'iode: (NF ISO 3961)

L'**indice d'iode II** est la masse en grammes d'iode fixé sur les doubles liaisons présentes dans l'huile. Il est exprimé en (**g de I₂ / 100g d'huile**).

La méthode de dosage utilise le **reactif de Wijs** que l'on trouve dans le commerce prêt à l'emploi, selon la réaction suivante:



Le dosage consiste à faire réagir dans un erlenmeyer, une solution de mono-chlorure d'iode (ICl) dans l'acide acétique (**réactif de Wijs**) sur une masse **m** d'huile pesé et préalablement dissous dans **15** ml de dichlorométhane.

L'erlenmeyer contenant la solution est bouché hermétiquement et placé dans un endroit sombre pendant **2** heures après l'avoir agité. On ajoute ensuite **25** ml d'iodure de potassium (KI) à **10%** et **150** ml d'eau distillée afin d'extraire l'iode en excès dans la phase aqueuse.

On titre l'iode en excès par le thiosulfate de sodium Na₂S₂O₃, **0,05** mol / l en présence d'empois d'amidon et cela jusqu'à décoloration complète des deux phases.

La réaction peut être accélérée par l'emploi d'un catalyseur, l'acétate mercurique dans l'acide acétique.

En suivant le même protocole un essai à blanc est préparé

Le calcul de II se fera selon la formule:

$$II = 12,69 \times C \times (V' - V) / m$$

Avec:

- **C**: est la concentration, en(mol/ l) de la solution de thiosulfate de sodium préalablement étalonnée.
- **V'**: est le volume de thiosulfate de sodium (ml) qui a servi pour le dosage de l'huile;
- **V**: est le volume de thiosulfate de sodium (ml) qui a servi pour l'essai à blanc;
- **m**: est la masse (g) de l'huile.

Les solutions ont été à chaque fois étalonnées avant leur utilisation pour les différents dosages de l'huile de pépins de grenade afin de respecter les méthodes officielles.

1.4 Evaluation de l'activité antimicrobienne des différentes parties de la grenade

Cette partie est consacrée à l'évaluation de certaines parties de fruit de grenadier à savoir, l'écorce externe, cloisonnement interne et le jus des grains.

1.4.1 Manipulation

1.4.1.1 Préparation de la matière première

A partir d'une quantité de grenade initialement lavée essuyée et épiluchée :

-l'écorce externe a été récupérée séchées et pesées, une partie de cette écorce était ensuite réduite en poudre par broyage

-Les grains ont été isolés des fruits épiluchés.

-Les cloisonnements interne ont été récupérés et conservés au congélateur a labri de de l'air et de la lumière.

1.4.1.2 Préparation des échantillons à tester

1.4.1.2.1 Les jus des graines

L'isolement des jus

L'isolement de jus des graines de grenade a été fait au niveau du laboratoire de chimie thérapeutique par pression manuel en utilisant un simple tissu à maille serrée à fin de ne pas altérer les pépins.

Plusieurs types de produits ont été récupérés :

- jus entier conservé par congélation dans des petits tube à une température n'excédant pas le 4 C ° ; testé microbiologiquement sous l'abréviation de **(J)**
- jus fermenté obtenu par la fermentation pendant 4 mois, testé microbiologiquement sous l'abréviation de **(JF)**
- surnagent et précipité de jus ont été séparés par décantation en utilisant une ampoule à décantation.
- phase surnagent testé microbiologiquement sous l'abréviation **(S)**
- phase précipité testé microbiologiquement sous l'abréviation **(P)**

1.4.1.2.2 Le jus des cloisonnements internes

Le jus du cloisonnement interne a été obtenu par une simple pression manuelle et testé microbiologiquement sous l'abréviation de **(EI)**.

Le poids du jus récupéré à partir de 47.68g de cloisonnement interne été égal à 22.34g:

Rdt =46.85 %

1.4.1.2.3 *Les mélanges du jus avec les extraits*

le jus entier a été mélangé avec le jus de cloisonnement interne à raison (75%, 25%) et testé microbiologiquement sous abréviation **(J1)**

le jus entier a été mélangé avec le jus de cloisonnement interne et l'extrait aqueux cassé a raison (50%, 25%, 25%) et testé microbiologiquement sous abréviation **(J2)**

le jus entier a été mélangé avec l'extrait aqueux cassé a raison (52%, 50%) testé microbiologiquement sous abréviation de **(J3)**

1.4.1.2.4 *L'écorce externe*

Deux types d'extraits ont été préparés :

L'extrait aqueux ;

L'écorce concassée a été introduite dans un bécher contenant 50 ml d'eau distillée à raison de 8 g.

Le bécher est ensuite chauffé à une température n'excédant pas le 80 C° dans un bain marie sous agitation pendant 2 heures.

Le contenu du bécher a été filtré puis l'extrait obtenu a été conservé à l'abri de la lumière à une température n'excédant pas 4 C°, ces échantillons ont été testés microbiologiquement sous l'abréviation **(EA)**.^[42]

De la même façon précédente, la poudre de l'écorce externe a été préparée et testée microbiologiquement sous l'abréviation **(EAP)** ^[42]

L'extrait méthanoïque :

La poudre de l'écorce externe a été introduite à raison de 8 g dans un ballon contenant 50ml de méthanol

Le ballon est ensuite chauffé à une température n'excédant pas le 80°C sous agitation pendant 3heures.

Le contenu du ballon a été filtré puis le méthanol a été évaporé en utilisant un rota vapeur, l'extrait a été récupéré sous forme de poudre avec un poids égal à = 2.88 g ^[43]

Rdt = 36 %

Cet extrait a été conservé à l'abri de la lumière et à une température n'excédant pas le 4C°.

Au moment des tests l'extrait obtenu a été dissout dans le DMSO et diluée à (1/4, 1/8, 1/16 et 1/30) et testé microbiologiquement sous l'abréviation **(EM)**

1.4.2 Préparation des milieux bactériens a tester

1.4.2.1 Souches utilisées

On a testé l'activité antibactérienne des extraits de grenade sur des souches de référence fournies par le service de microbiologie de CHU Tlemcen sur un milieu gélose de Mueller Hinton (milieu de référence pour les tests antibactériens).

- Deux souches à Gram négatif: (ATCC: American type of culture collection)
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- Une souche à Gram positif:
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Le milieu de culture a été préparé dans des conditions stériles en suivant la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Choi *et al.* 2006).

1.4.2.2 Tests microbiologiques

1.4.2.2.1 Repiquage

Les différents germes ont été repiqués, puis incubés à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

1.4.2.2.2 Préparation de l'inoculum

Des colonies bien séparées ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile et homogénéisées chacun dans 2 ml d'eau physiologique, l'inoculum utilisé est à 0.5 MF

1.4.2.2.3 Ensemencement

Des boîtes de pétrie stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalement à l'aide d'un écouvillon.

L'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

Sur ces germes tout au début de leur croissance et A l'aide d'une pince stérile les disques stériles de papier Wattman imbibées instantanément des différents échantillons à tester seront déposés à raison de 6 disque par boîte de pétri.

1.4.2.2.4 La lecture des résultats

Après 18h à 24h d'incubation.

La lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition pour chacun des souches à l'aide d'un pied à coulisse

- Présence de zone claire autour du disque: présence d'activité inhibitrice.
- Absence de zone claire autour du disque: absence d'activité inhibitrice

2 Résultats et discussions

2.1 Quantification des divers constituants de la grenade

La grenade est un fruit qui présente plusieurs constituants avec des activités biologiques avérées, Il est donc naturel d'essayer de les quantifier.

Ce travail, porte sur la grenade qui appartient à une variété bien précise il s'agit de la variété dite "ATMI" qui se caractérise par des pépins assez durs et un jus très acide.

Ainsi nous avons pesé dans un premier temps l'écorce externe, la cloison interne et les graines afin de déterminer leur pourcentage dans la grenade sur trois lots de 10Kg chacun

Poids des lots de grenade	Poids de l'écorce externe (g)	Pourcentage en l'écorce externe %	Poids de la cloison interne (g)	Pourcentage de la cloison interne %	Poids des graines (g)	Pourcentage des graines %
10 Kg	3625	36,25	134,4	1,34	6200	62
10 Kg	3619	36,19	121,5	1,21	6250	62,50
10 Kg	3610	36,10	114,2	1,14	6270	62,70

Tableau X : Rendements en écorce externe et interne ainsi que en grains.

Les graines donnent d'un cote un jus acide et de couleur rouge sang et de l'autre cote les pépins. Une fois pesé, on détermine leurs pourcentages dans la grenade.

Poids des lot de grenades (g)	Poids du jus (g)	Volume du jus (ml)	Pourcentage du jus (%)	Poids des pépins (g)	Pourcentage des pépins (%)
10000	5580	4750	55.8	606	6.06
10000	5636	4650	56.36	600	6
10000	5631	4830	56.31	610	6.1

Tableau XII : Rendements en jus et pépins.

Après ces résultats le pourcentage moyen des constituants de la grenade de la variété de BENI SNOUS dite **ATMI** est :

Ecorce Externe	Cloison Interne	Grains	Jus%	Pépins
36,18	1,23	62,4	56,15	6,05

Tableau XI : les pourcentages des constituants de la grenade.

2.2 Le rendement en huile de pépins de grenade

Par pressage à chaud

A partir d'une masse de 900g de pépins de grenade presses et filtre directement sur papier filtre, 46, 13 g d'huile a été obtenue. Le rendement de l'huile par cette méthode est estime a:

Rdt = 5,13 %

Par l'utilisation du soxhlet :

Les masses de l'huile obtenue par les 3 méthodes (**A, B et C**) ainsi que les pourcentages sont résumés dans le tableau:

	Méthode A	Méthode B	Méthode C
Poids de l'huile en (g)	3,12	2,98	3,25
Pourcentage de l'huile (%)	15,62	14,7	16,25

Tableau XIII : Les rendements en huile par soxhlet

D'après ces résultats, le rendement le plus intéressant a été obtenu en chauffant d'abord à ébullition le broyat de pépins de grenade pendant 30 mn et qu'ensuite on continue par une extraction au soxhlet pendant 1heure.

Le rendement en huile est de :

Rdt = 16,25 %

Cette technique nous donne un rendement plus élevé par rapport à la première technique, néanmoins l'extraction par pression présente l'avantage d'être rapide et écologique.

2.3 Analyses physico-chimiques de l'huile de pépins de grenade

Les analyses dont nous allons présenter les résultats ont été fait la plus part sur l'huile extraite par la méthode du Soxhlet.

2.3.1 Densité relative de l'huile de pépins de grenade

La **densité relative** dépend de la composition de l'huile ainsi que de la température (La température de **20°C** est recommandée par la méthode officielle NF ISO 6883).

*La densité trouve pour notre huile est de **0.943***

Notre huile a une densité comparable à l'huile de pépins de raisin mais supérieur aux autres huiles présentes dans le tableau suivant :

Huiles Végétales	Densité relative (%)	Réf.
Huile d'olive	0,910	36
Huile d'argan	0,917	36
Huile de pépins de raisin	0,910 – 0,930	H
Huile de palme	0,910	H
Huile de Jatropha curcas	0,919	38

Tableau XIV : Densité relative de quelques huiles végétales.

2.3.2 Indice de réfraction à 20°C

L'indice de réfraction croit avec le degré d'insaturation des acides gras présents dans l'huile, il dépend lui aussi de la température.

*L'indice de réfraction mesure est de **IR = 1.5178***

A titre comparatif l'indice de réfraction d'autre huile est donne dans le tableau ci-dessous:

Huiles Végétales	Indice de réfraction	Réf
Huile d'olive	1,466-1,468	36
Huile d'argan	1,4711	36
Huile de pépins de raisin	1,4765	1
Huile de palme	1,453	37
Huile de <i>Jatropha curcas</i>	1,468	38

Tableau XV : Indices de réfraction de quelques huiles végétales.

L'indice de réfraction à une valeur de **1.5178**. Elle est élevé en comparant avec les autres huiles.

2.3.3 L'Indice d'acide – Acidité oléique.

L'**indice d'acidité** est un paramètre de mesure de la qualité de l'huile qui devient, dans le temps, légèrement acide suite à l'hydrolyse des triglycérides présents dans le corps gras.

*L'indice d'acidité retrouve dans l'huile est de **2.43 %***

Huiles Végétales	Indice d'acide (%)	Ref
Huile d'olive	1-3	36
Huile d'argan	0,98-2,6	36
Huile de pépins de raisin	0,4 – 1,5	41

Tableau XVI : Indices d'acide de quelques huiles végétales.

Nous remarquons à travers le tableau suivant que l'indice d'acidité de l'huile de pépins de grenade reste dans la gamme des indices d'acidités de la majorité des autres huiles.

L'**acidité oléique** est le pourcentage d'*acides gras libres* (FFA pour *Free Fatty Acids*) exprimé conventionnellement en acide oléique pour la majeure partie des corps gras.

Il est recommandé pour une huile comestible d'avoir un taux d'acidité faible (inférieur à 3, 3% norme imposée par Codex Alimentarius) pour être conservée longtemps sans détérioration ref ^[10].

Acidité oléique de l'huile de pépins de grenade est: 0.24

A titre comparatif l'acidité oléique de l'huile de pépins de grenade est bien en dessous des valeurs observées dans le tableau suivant :

Huiles Végétales	Acidité oléique (%)	Ref
Huile d'olive	0.5-1.5	36
Huile d'argan	0.49-1.3	36
Huile de pépins de raisin	0.2-0.75	1

Tableau XVII : Acidité oléiques de quelques huiles végétales.

2.3.4 L'indice de peroxyde

L'**indice de peroxyde** permet d'évaluer le degré d'oxydation des acides gras insaturés présents dans l'huile et qui est responsable du rancissement du corps gras.

Plus celui-ci est élevé, plus la matière grasse est oxydée. Plusieurs facteurs favorisent cette réaction d'oxydation tq la chaleur, la lumière et l'oxygène de l'air.

Cet indice mesure le nombre d'oxygène actif dans les chaînes organiques d'un corps gras.

L'indice de peroxyde de l'huile de pépins de grenade est 1.69meq O₂/kg

A titre comparatif l'indice de peroxyde d'autres huiles végétales est donné dans le tableau ci-dessous:

Huiles Végétales	Indice de peroxyde (meqO ₂ / Kg)	Réf
Huile d'olive	≤ 20	37
Huile d'argan	2,60- 2,64	40
Huile de pépins de raisin	6,0 – 13,5	41
Huile de palme	2	37
Huile de <i>Jatropha curcas</i>	0,3	38

Tableau XVIII : Indice de peroxyde de quelques huiles végétales.

L'indice de peroxyde est relativement faible même plus bas que celui de l'argan, cependant il reste plus élevé que celui de l'huile de *Jatropha curcas*.

2.3.5 L'indice de saponification

L'indice de saponification nous renseigne sur la longueur des chaînes hydrocarbonées des corps gras, plus elles sont longues plus l'indice diminue.

Elle représente la quantité de potasse, exprimée en milligrammes, nécessaire pour saponifier 1 g de corps gras.

L'indice de saponification de l'huile de pépins de grenade est de

196.40

A titre comparatif l'indice de saponification d'autre huile est donne dans le tableau ci-dessous:

Huiles Vegetales	Indice de saponification (meq KOH /g)	Réf
Huile d'olive	185-196	36
Huile d'argan	189-193	36
Huile de pépins de raisin	174,7	1
Huile de palme	195 -205	37
Huile de Jatropha curcas	199	38

Tableau XIX :Indices de saponification de différentes huiles végétales.

L'indice de saponification de l'huile situe à **196.40** meq de KOH/g est comparable à celles des autres huiles présentes dans le tableau a titre de comparaison.

2.3.6 L'indice d'iode

L'indice d'iode renseigne sur le degré d'insaturation d'un corps gras en précisant la masse d'iode I₂ fixé sur les insaturations contenues dans 100 g matière grasse. Cet indice est aussi considéré comme un critère de qualité de l'huile.

L'indice d'iode peut être déterminé par la *méthode de Wijs*.

L'indice d'iode de l'huile de pépins de grenade est: 153.04

Interprétation : L'indice d'iode de l'huile de pépins de grenade est comparable à celui de l'huile de pépins de raisin, mais a une valeur élevée qui pourrait supposer que cette huile est riche en acide gras insaturée.

Huile	Indice d'iode (g de I ₂ /100g)	Réf
Huile d'olive	75-94	36
Huile d'argan	99-102	36
Huile de pépins de raisin	115 à 150	J
Huile de palme	35-61	37
Huile de <i>Jatropha curcas</i>	100	38

Tableau XX : Valeurs des indices d'iode de différentes huiles végétales.

2.4 Analyses microbiologiques des jus et des extraits des grenades

2.4.1 Les tests des jus

Pour le *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* aucune zone d'inhibition enregistré sauf pour le jus du cloisonnement interne(EI).

Pour l'*Escherichia coli* aucune zone d'inhibition n'a été enregistrée.

Les zones sont mentionnées dans le tableau suivant :

	T	S	P	EI	J	JF	J1	J2	J3
Staphylococcus aureus ATCC 25923	-	-	-	12mm	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	8mm	-	-	-	-	-

Tableau XXI : les résultats de lecture des différents jus pour les 3 souches.

2.4.2 les tests des différents extraits méthanolique

Pour le *S.aureus* et *P.aeruginosa* on a remarqué une activité microbiologique se traduisant par des zones d'inhibitions ;

pour les dilutions de 1/4eme et de 1/8eme les zones d'inhibitions étaient enregistrées seulement pour *S.aureus*.

Pour les dilutions de 1/16eme et 1/30eme aucune zone d'inhibition n'a été enregistrée aucunes souches.

Pour *E.coli* aucune zone d'inhibition n'a été enregistrée.

Les zones d'inhibition mentionnée dans le tableau :

	EM	EM =1/4	EM=1/8	EM=1/16	EM=1/30
Staphylococcus aureus ATCC 25923	19mm	13mm	8 mm	-	-
Escherichia coli ATCC 25922	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	12mm	-	-	-	-

Tableau XXII : les résultats de lecture de l'extrait méthanolique et ses dilutions pour les 3 souches.

2.4.3 Les tests d'extrait aqueux

Pour *S.aureus* et *P.aeruginosa* on a remarqué une activité se traduisant par des zones d'inhibitions pour les 2 extraits (EA et EAP)

Pour *Escherichia coli* aucune zone d'inhibition n'as été remarquée

Les zones d'inhibition mentionnée dans le tableau:

	T=DMSO	EA	EAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923	-	15mm	11mm
Escherichia coli ATCC 25922	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	-	14mm	14mm

Tableau XXIII : les résultats de lecture des deux extraits aqueux pour les 3 souches.

2.5 Interprétation des résultats obtenus.

L'extrait méthanolique: de l'écorce externe a présenté la meilleure activité des échantillons à tester avec une zone d'inhibition de (19) mm pour le *S.aureus*,

Pour les dilutions de l'extraits méthanolique, on a remarqué des zone d'inhibition pour les dilutions 1/4eme et 1/8eme qui ont donné des zones d'inhibition de (13) mm et (8) mm sur *S.aureus*.

	EA	EAP	EM	EM 1/4	EM 1/8	EM 1/16	EM=1/30	EI
Staphylococcus aureus ATCC 25923	15mm	11mm	19mm	13mm	8	-	-	12mm
Escherichia coli ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	14mm	14mm	12mm	-	-	-	-	8mm

Tableau XXIV : les différents résultats de lecture des extraits et des jus.

Pour les dilutions de 1/16eme et 1/30eme aucune zone d'inhibition n'a été enregistrée ces résultats sont comparables avec l'étude de *Lairini et al* ^[46]

Aucune activité n'a été enregistré par rapport *E.coli* cela est due a la concentration de l'extrait utilisé 0.16g/ml, Ce résultat est comparable au résultat de l'étude de Laila el Hanafi fait en 2012 à l'école supérieur de technologie Fès qui n'a remarqué une zone d'inhibition que à une concentration de 0.31g/ml ^[44]

L'extrait aqueux: a présenté aussi une bonne activité avec une préférence pour EA par rapport à EAP sur *S.aureus* avec des zones d'inhibitions de (15) mm pour EA et (11) mm pour EAP, le broyage avait abolit l'activité contre le *S.aureus*.

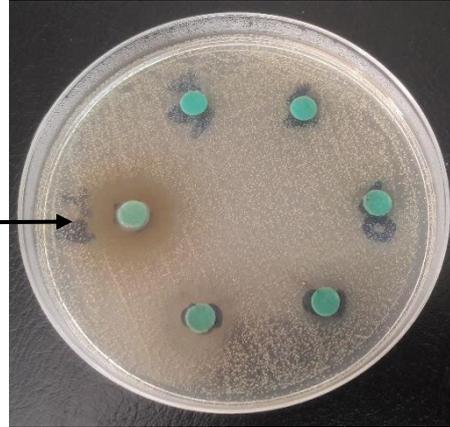
Les extrait aqueux ont présenté une activité meilleures que celle de l'extrait méthanoïque sur *P.aeruginosa* avec la même zone d'inhibition pour EA et EAP (14) mm

On peut dire que cette activité est due à La combinaison unique des tanins et des alcaloïdes issus de cette écorce, ainsi que leur action synergique comparés avec d'autre fruit riches seulement en tanin (*Acacia mearnsii*) ou en alcaloïde ^[45]

Le jus de cloisonnement interne : a présenté à son tour une bonne activité mais avec une zone d'inhibition moins importante par rapport aux extraits

Activité du **EM** sur ***S.aureus***

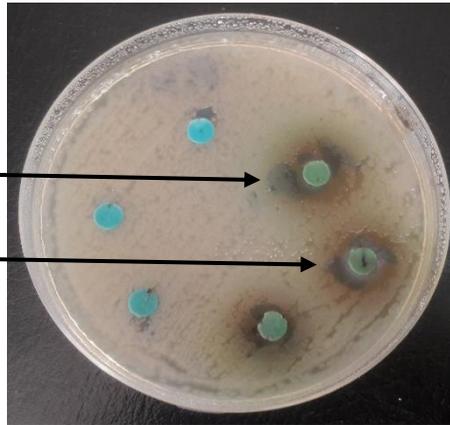
EM →



Activité du **EAP** et **EA** sur ***P.aeruginosa***

EAP →

EA →



Activité du **EAP** et **EA** et **EI** sur ***S.aureus***

EAP →

EA →

EI →

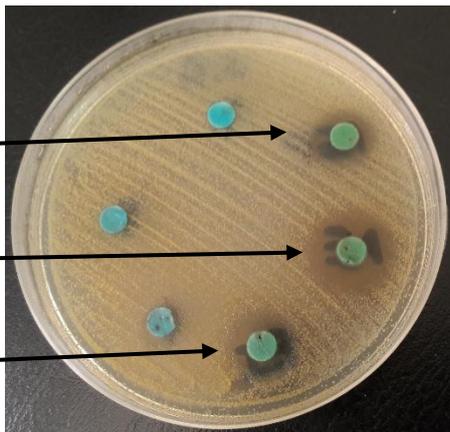


Tableau XXV :activité des extraits sur *S.aureus* et *P.aeruginosa*

2.6 Conclusion

EM présente la meilleure activité pour *S.aureus*.

EA présente la meilleure activité pour *P.aeruginosa*.

L'étude du jus des cloisonnements internes a révélé une activité microbiologique pour le *S.aureus* et donc une étude microbiologique de **l'extrait** des cloisonnements internes pourra donner une activité microbiologique beaucoup plus intéressante, et pourra même révéler d'autres activités anti inflammatoire, antifongique, antioxydant, anti diarrhéique, protection contre les maladies cardiovasculaires et même anti cancéreuse.



CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Le but de notre travail était d'étudier la grenade récoltée de la région de **Béni Snous** wilaya de Tlemcen. La variété choisie était acide et avec de gros pépins connue sous le nom (**Atmi**). Ce travail a été divisé en trois parties principales :

La première était de quantifier les différentes parties de la grenade. Nous avons trouvé que le fruit était moyennement composé de :

62.4% d'Arilles (graines) dont le jus est à **90 %**, et les pépins à **10 %**. Qui ont par la suite donné **5.125 %** d'huile par pressage à chaud et **16.25 %** par Soxhlet et en fin, les pourcentages du cloisonnement interne et de l'écorce externe sont respectivement de **1.23%** et **36.18 %**.

La deuxième partie était de connaître les caractéristiques physicochimiques de l'huile des pépins obtenue. Nous avons trouvé une densité relative de **0.943** ; un indice de réfraction de **1.519** ; une acidité de **2.43%** ou **0.24** en acidité oléique ; un indice de peroxyde de **1.69**(meqO₂/kg) ; un indice de saponification de **196.40** (KOH/g) et un indice d'iode de **153.04** (g de I₂/100g). Ces valeurs nous montrent que cette huile peut être utilisée en cosmétique et aussi nous permettent d'élaborer une fiche technique pour son côté commercial.

La troisième partie s'agissait de l'évaluation de l'activité antibactérienne des différentes parties de la grenade sur trois souches : **Staphylococcus aureus ATCC 25923** ; **Escherichia coli ATCC 25922** et **Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**. Les résultats ont montré une activité anti staphylococcus aureus intéressante de l'extrait méthanolique de l'écorce externe, une activité anti pseudomona aeruginosa de l'extrait aqueux de l'écorce externe, le nouvel aspect testé dans cette partie est celui de l'activité microbiologique du jus des cloisonnements internes qui s'est avéré actif microbiologiquement ce qui pourra justifier une future étude de l'extrait des cloisonnements internes .



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographique

1. EVREINOFF V. - Contribution à l'étude du Grenadier - . *Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée*. 1957. 124-138.
2. GARNIER G ; BEZANGER-BEAUQUESNE L. - Ressources médicinales de la flore française - . *Editions Vigot Frères*. 1961. Tome II. 838-842.
3. GODET J. - Arbres et arbustes aux quatre saisons - . *Les guides pratiques du naturaliste* . *Editions Delachaux et Niestlé*. 1991. 96 et 170.
4. PLANCHON G ; COLLIN E. - Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale - . *Librairie F. Savy*. 1875. Tome I 235-236 et 307-308.
5. COURCHET L. - Traité de botanique : comprenant l'anatomie et la physiologie végétales et les familles naturelles, à l'usage des candidats au certificat d'études physiques, chimiques et naturelles des étudiants en médecine et en pharmacie - . *Editions Baillière*. 1897. 1019-1023.
6. CAZIN F. - Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes et acclimatées - . *Editions de l'envol*. 1868. 497-501.
7. ROZIER F. - Démonstrations élémentaires de botanique [à l'usage de l'Ecole royale vétérinaire de Lyon] - . *Chez Bruyset*. 1787.
8. BRUNETON J. - Pharmacognosie - Phytochimie - Plantes médicinales - . *Editions Tec Doc*. 1999. 860.
9. BÄRTELS A. - Guide des plantes du bassin méditerranéen - . *Editions Ulmer*. 1998. 352.
10. GUIBOURT N. - Histoires naturelles des drogues simples ou cours d'histoire naturelle professé à l'école de pharmacie de Paris - . *Editions J.B.Baillière, Paris*.
11. KHAN J ; S. HANEE. - Antibacterial properties of punicagranatum peels - . 2011.
12. AL-ZOREKY N. - Antimicrobial activity of pomegranate (*Punicagranatum L.*) fruit peels - . *International journal of food microbiology* . 2009. 244-248.
13. MACHADO T. - Antimicrobialellagitannin of *Punicagranatum* fruits - . *Journal of the Brazilian Chemical Society* . 2002. 606-610.
14. DELL'AGLI M. - Antiplasmodial activity of *Punicagranatum L.* fruit rind - . *Journal of ethnopharmacology* . 2009. 279-285.
15. KANOUN K. - Etude de l'efficacite de l'extrait ethanologique d'ecorces de *punica granatum linn* sur deux souches phytopathogenes: *assytha rabiei* (pass.) labr. et *fusarium oxysporum f. sp. Radicis-lycopersici* - . *European Scientific Journal*. 2004.

16. QNAIS E. - Antidiarrheal Activity of the Aqueous extract of Punicagranatum.(Pomegranate) peels - . *Pharmaceutical Biology* . **2007. 715-720.**
17. SHUKLA M. - Bioavailable constituents/metabolites of pomegranate (Punicagranatum L) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1beta-induced PGE 2 production in human chondrocytes in vitro - . *Journal of inflammation*. **2008.**
18. CHIDIEBERE M. - Corrosion inhibition and adsorption behavior of Punicagranatum extract on mild steel in acidic environments: Experimental and theoretical studies - . *Industrial & Engineering Chemistry Research* . **2012. 668-677.**
19. LANSKY E. - Pomegranate (Punicagranatum) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel™ - . *Investigational new drugs* . **2005. 121-122.**
20. Gil M. - Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing - . *Journal of Agricultural and Food Chemistry* . **2000. 4581-4589.**
21. AVIRAM M. ; DORNFELD L. - Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure - . *Atherosclerosis* . **2001. 195-198.**
22. NEURATH A. - Punicagranatum (Pomegranate) Juice Provides an HIV-1 Entry Inhibitor and Candidate Topical Microbicide - . *Annals of the New York Academy of Sciences* . **2005. 311-327.**
23. KATZ S. - Punicagranatum: heuristic treatment for diabetes mellitus - . *Journal of medicinal food* . **2007. 213-217.**
24. EL-NEMR S. - Chemical composition of juice and seeds of pomegranate fruit - . *Food/Nahrung* . **1990. 601-606.**
25. PRAKASH C ; PRAKASH I. - Bioactive chemical constituents from pomegranate (Punicagranatum) juice, seed and peel-A Review - . *IJRCE* **1. 2011.**
26. CARVALHOFILHO J. - Pomegranate seed oil (Punicagranatum L.): A source of punicic acid (conjugated a-linolenic acid) - . *Journal of Human Nutrition & Food Science*. **2014.**
27. ELFALLEH W ; YING M ; NASRI N ; SHENG-HUA H ; GUASMI F ; FERCHICHI A. - Fatty acids from Tunisian and Chinese pomegranate (Punicagranatum L.) seeds - . *Int J Food SciNutr*. **2011. 200-206.**
28. PARASHAR A ; SINHA N ; SINGH P. - Lipid contents and fatty acids composition of seed oil from twenty five pomegranates varieties grown in India - . *Advance Journal of Food Science and Technology*. **2010. 12-15.**

29. PANDE G ; AKOH C. - Antioxidant capacity and lipid characterization of six Georgia-grown pomegranate cultivars - . *J Agric Food Chem.* **2009.** 9427-9436.
30. JARDINI F ; MANCINI-FILHO J. - Composição centesimal e perfil dos ácidos graxos de romã (*Punicagranatum*, L.) cultivada no Brasil - . *Higiene Alimentar.* **2007.** 81-85.
31. KÝRALAN M ; GÖLLÜKCÜ M ; TOKGÖZ H. - Oil and conjugated linolenic acid contents of seeds from important pomegranate cultivars (*Punicagranatum* L.) grown in Turkey - . *Journal of the American Oil Chemists' Society (JAOCS).* **2009.** 985-990.
32. OLLÉ M. - Analyse des corps gras - . *Bases documentaires: techniques d'analyses; Ed. Techniques de l'ingénieur.* **2002.** 3325.
33. ADRIAN J ; POTUS J ; POIFFAIT A ; DAUVILLIER P. - Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires - . *Techniques & documentation- Lavoisier.* **1998.** 47-53.
34. SALGAROLO P. - Pratique des manipulations de chimie- à l'usage des biologistes - . *Techniques & documentation- Lavoisier.* **2003.** 229-237.
35. CHEFTEL J ; CHEFTEL H. - Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments - . *Techniques & documentation- Lavoisier.* **1984.** 244-249.
36. MOSTEFA-KARA I. - contribution à l'étude de l'analyse de l'huile de *Citrullus colocynthis* (coloquinte) et de son pouvoir antimicrobien - . *Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers département de biologie laboratoire des produits naturels.* **2010-2011.** 63, 64, 65, 68, 69.
37. INSTITUT FRANÇAIS DES HUILES VÉGÉTALES PURES, Les huiles végétales : 2 000 plantes oléagineuses répertoriées .
38. DJENONTIN J ; DANGOUE D ; WOTTO V ; SOHOUNLHOUE K ; LOZANO P ; PIOCH D. - Composition en acides gras, stérols et tocophérols ,l'huile végétale non conventionnelle extraite des graines de *Jatropha curcas* L (euphorbiaceae) du Bénin S. T. *Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée (LERCA), Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC), Université d'Abomey-Calavi (UAC), 01 BP 2009 Cotonou.*
39. - Quality of borage seed oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide Article (PDF Available) - . *Chemical Engineering Journal.* **2002.** 103-109.
40. RAHMANI M. - Composition chimique de l'huile d'argane « vierge »- . *Département des sciences alimentaires et nutritionnelles, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, BP 6202, Rabat Instituts, 10101 Rabat, Maroc.*
41. NATACHA ROMBAUT. - Etude comparative de trois procédés d'extraction d'huile: aspects qualitatifs et quantitatifs : application aux graines de lin et aux pépins de

- raisin - . *Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur de l'UTC, Spécialité: Génie des Procédés Industriels et développement durable* . **2013. 88.**
42. JAHIR ; ALAM ; KHAN ; SONALI ; HANEE. - Antibacterial properties of Punica granatum peels, amity university, lucknow - .
43. AL-ZOREKY N. - Antimicrobial activity of pomegranate (Punicagranatum L.) fruit peels- . *Department of Food Science & Nutrition, College of Agricultural and Food Sciences, P.O. Box 420, King Faisal University, Al-Ahsa 31982, Saudi Arabia* .
44. ELHANAFI L . - Activités antimicrobienne et antioxydante d'extrait aqueux du fruit de Zizyphus lotus et de l'écorce du fruit de Punicagranatum- . *Ecole supérieur de technologie Fes. 2012.*
45. CHAHNEZ SANAA. - Effet de l'Irradiation sur les propriétés antioxydantes, antimicrobiennes & cytoprotectrices de l'écorce de Punicagranatum. **2013.**
46. LAIRINI S. - Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de Punicagranatum par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante (Enhancement of the aqueousextract of the bark of Punicagranatum fruit through the study of its antimicrobial and antioxidant activities)- . *Université Sidi Mohammed Ben Abdallah, 1Equipe Bioindustrie et Technologie Alimentaire. Laboratoire Agroalimentaire et Sécurité Sanitaire, Ecole Supérieure de Technologie de Fès, Maroc.*



REFERENCES WEB GRAPHIQUE

Reference web graphique

- A :http://fr.wikipedia.org/wiki/Punica_granatum
- B :<http://zaatar.fr/statics/les-fleurs/fleurs-de-grenadier/>
- C:http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Punica_granatum_flowerdiagram.png
- D :<http://www.ctresfacileafaire.com/archives/2012/06/21/24542741.html>
- E :<http://sante-healthpeople.blogspot.com/p/le-fruit-de-la-grenade-douce.html>
- F :<http://www.epochtimes.fr/9603-9603.html>
- G :<http://www.cehm.net/spip.php?rubrique96>
- h :<http://revonssavons.fr/WordPress/wp-content/uploads/2016/02/Densit%C3%A9-huiles.pdf>
- I:http://www.er.uqam.ca/nobel/c2002/Protocoles/Vinaigrette/VinaigretteB_huiles.html
- J :<https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-vegetale-pepins-de-raisin>

Résumé :

Les plantes sont utilisés depuis longtemps par les populations locales pour le bien être qu'ils apportent ainsi que pour leurs vertus thérapeutiques, elles sont aujourd'hui de véritable source pour l'industrie pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique en quête perpétuelle de nouveauté et d'originalité.

Dans ce présent mémoire nous nous sommes intéressés à la grenade cultivée dans la région de Beni Snous, wilaya de Tlemcen. Nous avons commencé par quantifier les différents constituants de ce fruit, ensuite nous avons continué par l'étude physico-chimique de l'huile que nous avons extraite, par divers méthodes, à partir des pépins de grenade. L'écorce externe de ce fruit possédant elle aussi de nombreuses propriétés thérapeutiques, nous avons pensé à évaluer l'activité antibactérienne de notre variété locale sur divers souches.

Mots clés: Grenade, écorce externe, Huile des pépins de grenade ; propriétés physico-chimique, activité antibactérienne.

Abstract:

The Plants have long been used by local populations for the well being they provide and their therapeutic virtues. Today, they are a real source for the pharmaceutical, food and cosmetic industry, in search of perpetual novelty, originality.

In this memoir, we have been interested in the pomegranate grown in the region of Beni Snous, wilaya of Tlemcen. We began by quantifying the different constituents of this fruit, then we continued by physico-chemical study of the oil that we have extracted, by various methods, from pomegranate seeds. The pericarp of this fruit also has many therapeutic properties; we thought to evaluate the antibacterial activity of our local variety on various strains.

Keywords: Pomegranate, pericarp, Pomegranate seed oil; Physic-chemical properties, antibacterial activity.

ملخص:

لقد استخدم السكان المحليون النباتات منذ فترة طويلة من أجل العناية والفضائل العلاجية التي يوفرها لهم وقد أصبحت اليوم مصدر حقيقي لصناعة الأدوية والغذاء ومستحضرات التجميل، في بحث بصورة دائمة عن التجديد، والأصالة. في هذه المذكرة، كان الاهتمام بالرمان الذي ينمو في منطقة بني سنوس، ولاية تلمسان. بدأنا بتكسيم المكونات المختلفة لهذه الفاكهة، ثم واصلنا من خلال دراسة الخواص الفيزيائية والكيميائية للزيت التي استخلصناها من بذور الرمان، بطرق مختلفة وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص القشور الخارجية على سلالات بكتيريا مختلفة.

الكلمات الدالة: الرمان، قشور، زيت بذور الرمان؛ الخصائص الفيزيائية والكيميائية، النشاط المضاد للبكتيريا