

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université ABOU BEKR BELKAID –TLEMCEM–
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de
l'Univers



Département d'Agronomie



Laboratoire :
Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie :
Synthèse et activité biologique

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences Alimentaires
Option : Biologie de la nutrition

Thème :

Impact nutritionnel et recherche d'activité antioxydante de
grenade (*Punica granatum L.*)

Présenté par : Mr DICH Mohammed Nabil

Soutenu le 25 -06-2025 devant les membres de jury :

Président	LOUKIDI Bouchra	Pr	Univ. Tlemcen
Examineur	BELAID-MEDJDOUB Houria	MCA	Univ. Tlemcen
Encadrant	AZZI Rachid	Pr	Univ. Tlemcen

Année Universitaire : 2024/2025

Remerciement

En premier lieu, je remercie **Allah** le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements, à **Mr. AZZI Rachid**, Professeur au département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bakr Belkaid - Tlemcen, pour avoir accepté de m'encadrer et diriger ce modeste travail, pour sa gentillesse, sa bienveillance, son soutien, sa disponibilité permanente et ses précieux conseils.

J'ai eu le grand plaisir de travailler sous sa direction.

J'exprime également mes remerciements à **Mme LOUKIDI Bouchra**, Professeur au département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury ainsi que pour sa sympathie.

J'adresse mes sincères remerciements à **Mme BELAID-MEDJDOUB Houria**, maitre de conférences classe A, au Département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail ainsi que sa gentillesse.

Mes sincères remerciements vont également à **Melle AZZOUZ Marwa**, Doctorante en biochimie pour son soutien et son aide pour la réalisation de la pratique de ce travail.

C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimiques, Synthèse et activité biologique de l'Université de Tlemcen pour leurs gentillesses et leurs conseils.

Dédicace

Votre lecture de ces lignes signifie qu'ALLAH m'a réussi à terminer mon étude
Universitaire, qui a toujours semblé difficile à réaliser.

À mes parents, maman ma vie, papa mon soutien, vous avez été mes premiers
Enseignants et mes plus grands admirateurs. Votre amour inconditionnel m'a
Permis de me sentir soutenue et encouragée dans toutes les étapes de ma vie. Je
Ne pourrais jamais vous remercier assez pour tout ce que vous avez fait pour moi .

À mes grands parents, vous m'avez toujours encouragée à poursuivre mes rêves,
même lorsque je doutais de moi-même. Vos mots de sagesse et votre sérénité ont
Été une source d'inspiration pour moi tout au long de mes études.

À mes sœurs, mes frères, vous êtes ma famille et mon plus grand trésor. Votre
Amour, votre soutien et votre sourire ont illuminé mes journées, même dans les
Moments les plus difficiles.

À mes amies, mes collègues de promo qui m'ont partagé des moments
Inoubliables toutes les années d'étude, de la tristesse à la joie, de l'échec à la
Réussite. Nos moments de travail et de détente resteront gravés dans ma mémoire
Pour toujours.

À ma famille, mes oncles et tantes, mes cousins et cousines qui m'ont conseillé
Et encouragé à réaliser mes objectifs.

À mes chers professeurs qui m'ont enseigné tout au long de mon parcours
Universitaire.

الملخص

يتناول هذا البحث دراسة مقارنة لمستخلصات مختلفة من نبات الرمان (نقع وجلي البذور، القشور)، بالإضافة إلى عصير الرمان (كامل وبدون بذور) تراوحت نسب الاستخلاص بين 11.05% و 31.12%، حيث سجل أعلى مردود في العصير الكامل.

أظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية وجود مركبات فعالة كالفينولات، الفلافونويدات، التانينات والقلويدات، خاصة في القشور.

أما النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار (DPPH) فقد كان مرتفعاً في مستخلص القشور ($IC_{50} = 0.053$ ملغ/مل)، متفوقاً على حمض الأسكوربيك (0.101 ملغ/مل).

أظهرت تحاليل زيت البذور جودة كيميائية وثباتاً جيداً. تؤكد هذه النتائج أن الرمان يعدّ مصدراً طبيعياً غنياً بالمركبات الحيوية ذات الخصائص المضادة للأكسدة، مما يفتح آفاقاً في المجالات الغذائية والصحية والصناعية.

الكلمات المفتاحية: الرمان، الفينولات، مضادات الأكسدة، DPPH، المستخلصات، العصير، الزيت، النشاط المضاد للأكسدة.

Résumé

Ce travail a porté sur l'étude comparative de différents extraits de *Punica granatum* L. (macération et décoction de graines, décoction d'écorce), ainsi que du jus (complet et sans graines). Les rendements d'extraction ont varié entre 11,05 % et 31,12 %, avec un maximum pour le jus complet.

Les tests phytochimiques ont révélé une richesse des extraits préparés en polyphénols, flavonoïdes, tanins et alcaloïdes, particulièrement dans l'écorce. L'activité antioxydante évaluée par la méthode DPPH a montré une efficacité remarquable de l'extrait d'écorce ($IC_{50} = 0,053$ mg/ml), supérieure à l'acide ascorbique (0,101 mg/ml). Les analyses de l'huile de graines ont confirmé une bonne stabilité chimique et une qualité nutritionnelle intéressante. Ces résultats confirment le potentiel de cette plante en tant que source naturelle de composés bioactifs aux propriétés antioxydantes, avec des applications nutritionnelles, thérapeutiques et industrielles possibles.

Mots-clés : *Punica granatum*, polyphénols, antioxydants, DPPH, décoction, jus, huile, activité antioxydante.

Abstract

This study focused on a comparative analysis of various extracts of *Punica granatum* L. (seed macerate, seed and peel decoctions), along with whole and seedless juice. Extraction yields ranged from 11.05 % to 31.12 %, with the highest yield recorded for the whole juice. Phytochemical screening revealed high contents of polyphenols, flavonoids, tannins, and alkaloids, especially in the peel. The antioxidant activity assessed by the DPPH method showed a strong effect in the peel decoction ($IC_{50} = 0.053$ mg/ml), outperforming ascorbic acid (0.101 mg/ml). Chemical analysis of the seed oil indicated good stability and nutritional quality. These findings highlight the potential of *P. granatum* as a natural source of bioactive compounds with antioxidant properties, offering promising applications in nutrition, health, and industry.

Keywords: *Punica granatum*, polyphenols, antioxidants, DPPH, decoction, juice, oil, antioxidant activity.

Liste des abréviations

ERO : Les espèces réactives d'oxygène.

ERN : Les espèces réactives d'azote.

O₂•⁻ : le radical superoxyde.

O₂⁻ : le superoxyde.

•OH : le radical hydroxyle.

ROO• : le radical peroxyde.

SOD : Superoxyde dismutase.

H₂O₂ : le peroxyde d'hydrogène.

DPPH : (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

ABTS : (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)).

ORAC : (Capacité d'Absorption de l'Oxygène Radical).

FRAP : (Ferric Reducing Antioxidant Power).

EB : Extrait brut.

EBGM : Extrait brut de graine préparé par macération.

EBGD:Extrait brut de graine préparé par décoction

EBCD : Extrait brut décorce préparé par décoction.

EBJC/Extrait brut jus complet

EBJP:Extrait brut jus pur

µg Eq C/ mg Es : microgramme Équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec.

µg EAG/ mg Es : microgramme Équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec.

I (%) : Pourcentage d'inhibition

CI50 : Concentrations qui inhibent 50% du radical libre DPPH.

EC50 : Concentration efficace à réduire 50% du fer

Liste des figures

Figure 1 : les feuilles du grenadier (<i>Punica granatum</i> L.)	6
Figure 2: les fleurs du grenadier (<i>Punica granatum</i> L.).....	7
Figure 3: fruit de <i>Punica granatum</i> L.....	8
Figure 4 : les fruits et les graines de <i>Punica granatum</i>	8
Figure 5: l'écorce du grenadier.....	9
Figure 6 : Structures chimiques des acides gras.....	10
Figure 7: Principaux constituants des extraits des différentes parties de la grenade	11
Figure 8 : Usages traditionnels du grenadier.....	12
Figure 9 : présente plats de (Mesfouf) algérienne. Culinaires.....	14
Figure 10 : Comparaison entre le jus de grenade et le jus d'autres fruits : concentration en polyphénols et activité antioxydante.....	15
Figure 11: Balance antioxydants /radicaux libres.....	18
Figure 12: Mécanisme d'action antioxydante par transfert d'électrons.....	20
Figure 13: Le test de DPPH.....	21
Figure 14: Le test d'ABTS.....	21
Figure 15 : Le test de FRAP.....	22
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols	36
Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.	36
Figure 18 : Evolution des Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	38
Figure 19 : Evolution des Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut des graines de <i>Punica granatum</i> L. préparé par macération (EBGM).....	38
Figure 20 : Evolution des Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut d'épicarpe des fruits de <i>Punica granatum</i> L. préparé par décoction (EBCD).....	39
Figure 21 : Evolution des Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations jus complet des fruits de <i>Punica granatum</i> L. (EBJC).....	39

Liste des tableaux

Tableau 01 : classification de <i>Punica granatum</i> L.	5
Tableau 02 : La quantité moyenne des différents nutriments présents dans 100g net de grenade.....	12
Tableau 03 : utilisation des différents organes du grenadier en médecine traditionnelle.....	13
Tableau 04 : Rendements, aspects, couleurs et solubilité des extraits préparés de <i>Punica granatum</i> L.....	34
Tableau 05 : Résultats de screening phytochimique des différents extraits bruts aqueux préparés des parties de <i>Punica granatum</i> L.....	35
Tableau 06 : Teneurs en composés phénoliques dans les extraits préparés des extraits de <i>Punica granatum</i> L.....	37
Tableau 7 : Analyses chimiques d'huile de pépins des fruits de <i>Punica granatum</i>	37
Tableau 08 : les valeurs des CI50 pour le test de DPPH des différents extraits préparés des extraits <i>Punica granatum</i> et des molécules standard.....	40

Table de matières

Table des matières	
ملخص	
Résumé	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des figures.	
Liste des tableaux	
Introduction	2

Synthèse bibliographique

Chapitre 01: La plante étudiée : *Punica granatum* L

1. Nomenclature	5
2.classification systématique:	5
3.Description botanique et Caractéristiques morphologiques:.....	6
4.1. Les feuilles :	6
4.2. Les fleurs :	7
4.3. Le fruit :	7
3.4 La baie:.....	8
3.5 Les graines.....	9
4. Composition chimique de <i>Punica granatum</i> L:	10
5.Valeur nutritionnelle traditionnelle:	11
6.Utilisation traditionnelle :.....	12
6.1. Utilisation dans la médecine traditionnelle:	13
6.2.Consommation de la grenade.....	14
6.3. jus de fruit.....	14

Chapitre 02: L'activité antioxydante

1. Le stress oxydatif	18
2. Les radicaux libres	18
3. Maladies associées au stress oxydatif	19
4.Les antioxydants	19
5-Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante:	20
.5.1-La méthode DPPH	20
.5..2.le teste ABTS.....	21
5.3.le teste FRAP	21

Eude expérimentale

1. Matériel végétal	25
2. Préparation des extraits	25
2.1 Préparation des jus et des extraits.....	25
2.1 .décoction(sous reflux).....	26
2.2Macération	26
2.3 Conservation des extraits préparés.....	26
2.4 Détermination du rendement	26
3. Tests phytochimiques.....	27.
4.Dosage des composés phénoliques.....	28
4.1 Dosage des polyphénols totaux	28
4.2 Dosage des flavonoïdes.....	29
5.Analyses chimique des huiles	29
5.1 Indice d'acide.....	29
5.2.Indice saponification	30
5.3.Indice peroxyde.....	31
5. Evaluations de l'activité antioxydante:Test de Piégeage du radical libre DPPH•(2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	31

Résultats et interprétations

1. Caractéristiques et les rendements d'extractions.....	34
2. Tests phytochimiques.....	34
3. Dosage des composés phénoliques.....	35
4.Analyses des huiles	37
5. Evaluation de l'activité antioxydante :Test Piégeage du radical libre DPPH.....	38
Discussion	43
Conclusion et perspectives	46
Références bibliographiques	48

Introduction

Introduction

Le stress oxydatif résulte de l'incapacité de l'organisme à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ERO), en raison d'un déséquilibre entre leur production excessive et une défense antioxydante insuffisante (Sies, 1991).

Ces ERO attaquent les biomolécules (protéines, lipides, ADN), provoquant des dommages cellulaires pouvant conduire à leur dégradation ou leur mort (Moon & Shibamoto, 2009). Ce mécanisme est impliqué dans diverses pathologies, notamment les maladies inflammatoires, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les troubles cardiovasculaires (Reuter et al., 2010 ; Bidie et al., 2011).

Les antioxydants, présents en abondance dans les plantes (El-Haci et al., 2012), agissent en neutralisant les radicaux libres et en bloquant leurs effets néfastes (Halliwell, 1990).

Punica granatum L., communément appelé grenadier, est une plante arbustive appartenant à la famille des Lythracées (IPNI, 2023). Cultivée depuis l'Antiquité pour ses fruits aux multiples vertus. Cette espèce originaire du bassin méditerranéen et du Moyen-Orient (Still, 2006), connaît aujourd'hui une expansion mondiale de sa culture (Lansky & Newman, 2007). L'intérêt scientifique récent pour la grenade s'explique par sa composition exceptionnelle en composés bioactifs, notamment des polyphénols, des flavonoïdes et des acides ellagiques, responsables de ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Viuda-Martos et al., 2010; Ismail et al., 2012).

Le but de ce travail consiste à réaliser une étude phytochimique basée sur des tests phytochimiques, dosage des composés phénoliques, et une étude biologique, *in vitro*, basée sur l'évaluation de l'activité antioxydante par le test du piégeage du radical libre DPPH^{*}, des jus et des extraits bruts aqueux préparés par décoction ou macération de *Punica granatum* L.

Ce manuscrit est développé en deux parties :

- La première partie est consacrée à la recherche bibliographique et se compose de deux chapitres :

- Le chapitre I : représente les généralités sur la plante étudiée *Punica granatum* L. ;

- Le chapitre II : englobe des informations sur d'activité antioxydante

- La deuxième partie est une partie expérimentale basée principalement sur la préparation des différents extraits de la plante *Punica granatum* L., tests phytochimiques, dosages des composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydant.

Enfin, une conclusion générale qui résume notre travail.

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I

**La plante étudiée : *Punica*
granatum L.**

1. Nomenclature

Le nom du grenadier (*Punica granatum* L.) varie d'un endroit à l'autre selon les langues parlées dans chaque pays :

Nom Scientifique : *Punica granatum* L

Nom en Anglais : pomegranate.

Nom en Français : Grenadier.

Nom en Arabe : Romane. الرمان

2. Classification et systématique

2.1. Classification botanique

Le terme grenade provient du latin « *Pomme granatum* », signifiant "pomme remplie de graines". Son nom botanique s'inspire également de l'ancien français « grenade-pomme » (Archana et al., 2012). Le grenadier (*Punica granatum*) a été décrit par Linné et intégré à sa classification en 1753 (Tableau 1).

Tableau 01 : Classification botanique de *Punica granatum* L. (Archana et al., 2012).

Règne	Végétale
Embranchement	Angiospermes
Sous-embranchement	Dicotylédones vraies
Classe	Résidées
Ordre	Myrtales
Famille	Punicacées
Genre	<i>Punica</i>
Genre espèce	<i>Punica granatum</i> L

2.2. Classification phylogénétique

En 2009, la classification a été révisée pour donner naissance au système APG III, qui regroupe 415 familles végétales réparties en 59 ordres. Dans cette nouvelle organisation, la position taxonomique du grenadier est la suivante :

Clade : Angiospermes

Clade : Eudicotylédones

Clade : Rosids

Ordre : Myrtales

Famille : Lythraceae

Genre : *Punica*

Espèce : *Punica granatum*

3. Description botanique et caractéristiques morphologiques

Le grenadier est un arbuste qui atteint 1,5 à 5 m de hauteur, avec des branches plus ou moins irrégulières et épineuses et des feuilles brillantes. Elle apparaît comme un arbuste à feuilles caduques dans les régions tempérées et comme un feuillage persistant dans les régions glaciales (Shaygannia et al., 2016).

Il a longtemps été cultivé exclusivement comme fruits ornementaux et comestibles.

Son fruit contient de nombreuses graines, chacune entourée d'une pulpe gélatineuse rouge profond, le tout enrobé d'une peau dure (écorce), sa couleur peut aller du jaune au rouge foncé. Ces feuilles sont considérées comme réciproques dans les branches nouvellement développées et intégrées dans les spores. Il comporte 1 à 5 fleurs, dont l'une est terminale et les autres sont marginales, courtes ou sans pédoncule, de couleur rouge et rarement jaune ou blanche, inodore et bisexuelle. Le fruit est de couleur rouge clair à jaune verdâtre et rarement chez certaines espèces violet foncé. Il mesure de 5 à 20 cm de diamètre et son poids varie de moins de 200g à plus de 800g. Les graines sont produites en grande quantité, elles sont triangulaires, sans albumine et incorporées dans l'arille (Shaygannia et al., 2016).

3.1. Les Feuilles

Les grenades possèdent des feuilles brillantes, coriaces, étroites et lancéolées, avec des pointes émoussées et des bases acuminées (**Figure 01**). Ces feuilles matures, de couleur verte, sont pleines, lisses, glabres et dotées de courts pétioles, présentant souvent un aspect particulièrement brillant, surtout sur leur face supérieure, en raison de cellules hétéroblastiques contenant une substance sécrétoire non encore identifiée. Leur disposition est généralement opposée et décussée (se croisant à angle droit), bien que certaines variétés aient trois feuilles par nœud (arrangées à 120 degrés) ou même quatre feuilles (deux paires opposées par nœud) sur le même arbre (Holland et al., 2009).



Figure 01 : Les feuilles du grenadier (*Punica granatum* L.) (Bouchareb et Ben Kabouya, 2021)

3.2. Les fleurs

Les grenadiers fleurissent généralement entre avril et mai, avec une floraison pouvant durer de 10 à 12 semaines selon les variétés et les conditions climatiques. Leurs fleurs, appelées balaustes au stade de boutons, se caractérisent par leur absence d'odeur, leur saveur astringente et leur capacité à teinter la salive en violet. Ces fleurs hermaphrodites et actinomorphes présentent un calice persistant composé de 5 à 8 sépales charnus rouge vif et une corolle aux pétales chiffonnés aux coloris variés (rouge orangé, blanc, jaune pâle ou saumon). La structure florale comprend un gynécée à 8-9 carpelles soudés, un ovaire infère surmonté d'un style conique, ainsi que de nombreuses étamines tapissant le réceptacle. D'un point de vue biochimique, ces fleurs renferment de l'acide gallique et divers triterpènes (acide rosolique, oléanolique, asiatique et malonique), ce qui confirme leur importance tant ornementale que pharmacologique (Figure 02) (Holland et al., 2009 ; Lansky et Newman, 2007)



Figure 02 : les fleurs du grenadier (*Punica granatum* L.) (Ben Yahkem et al., 2018).

3.3. Les fruits

Le fruit du grenadier, appelé grenade, est une baie complexe (balauste) de forme quasi sphérique et charnue, d'une taille comparable à celle d'une pomme ou d'une orange. Cette drupe mesure

environ 12 cm de diamètre, pèse entre 200 et 650 grammes et est surmontée d'un calice persistant dont l'ouverture varie selon la variété et le stade de maturation (**Figure 03**). Ils sont reliés à l'arbre par une courte tige (**Holland et al., 2009**),

Le fruit se compose de trois parties principales : les graines (environ 3 % du poids total, contenant 20 % d'huile), le jus (30 % du poids) et la peau, incluant les membranes internes (**Lansky et Newman, 2007**).



Figure 03 : fruit de *Punica granatum* L. (**Holland et al., 2009**)

3.4. La baie

La baie renferme de nombreuses graines angulaires ou arilles (**Figure 04**), contenues dans des loges séparées par des cloisons ténues, avec en moyenne 600 graines pulpeuses de couleur rouge à teinte variable. Ces graines possèdent un mésocarpe charnu et gélatineux, acidulé et sucré, constituant la partie comestible du fruit. Elles peuvent être classées en trois groupes selon leur acidité : acide (supérieure à 2 %), sucré-acide (entre 1 et 2 %) et sucré (inférieure à 1 %), ce dernier présentant parfois des graines à téguments entièrement charnus (**Evreinoff, 1957**). Les arilles varient en taille, tandis que les graines diffèrent par leur dureté selon les variétés, certaines dites "sans pépins" contenant en réalité des graines tendres (**Holland et al., 2009**).



Figure 04 : les fruits et les graines de *Punica granatum* (Calin et al., 2005)

3.5. Les graines

Les graines, partie comestible du fruit, représentent environ 50 % du poids total d'une grenade, dont 80 % sont des arilles (partie charnue) et 20 % des pépins (partie ligneuse) (**Figure 04**). Ces pépins contiennent 12 à 20 % de matière grasse, principalement des acides gras insaturés conjugués tels que l'acide punique (31,8-86,6 %), l'acide linoléique (0,7-24,4 %), l'acide oléique (0,4-17,7 %), l'acide stéarique (2,8-16,7 %) et l'acide palmitique (0,3-9,9 %), avec 95 % de ces acides sous forme estérifiée, dont 99 % de triacylglycérols (**Lansky et Newman, 2007**). Par ailleurs, le jus de grenade (pulpe) est riche en anthocyanines, notamment les 3-glucosides et 3,5-diglucosides de delphinidé, cyanidine et pelargonidine, des antioxydants flavonoïdiques responsables de sa couleur vive, qui s'intensifie avec la maturation. Il contient également divers minéraux comme le Fe, Ca, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Cu, K, Mg, Mn, Mo, Na, Rb, Sc, Se, Sn, Sr et Zn (**Lansky et Newman, 2007**).

3.6. L'écorce

L'écorce du fruit du grenadier, appelée aussi malicorium ou membrane blanche, constitue la partie dure du fruit et représente environ 50 % du poids total de la grenade (**Calin et al., 2005**). Généralement utilisée séchée sous forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtre à l'extérieur, verruqueux et brillants, avec une face intérieure concave jaunâtre portant l'empreinte des graines, elle a une saveur amère et astringente (**Figure 05**) (**Wald, 2009**). Elle est composée de 80 % d'eau, et environ 8 % de polysaccharides complexes (dont 5 % de pectines et d'hémicellulose), ainsi que des minéraux comme le potassium, le calcium, le magnésium, le phosphore et le sodium (**Spilmon, 2013**). Elle renferme également des acides hydroxybenzoïques (acide gallique et ellagique), des molécules colorantes jaunes, des anthocyanidines (responsables de la couleur rouge), très riche en flavonoïdes et tanins (**Hmid, 2013 ; Lansky et Newman, 2007**). Environ 25 % de sa composition est constituée d'ellagitannins (punicaline, punicalagine, corilagine, granatines A et B) et de flavonoïdes (lutéoline, quercétine, punicaline) (**Seeram et al., 2006**).



Figure 05 : l'écorce du grenadier (*Punica granatum*) (Kahramanoglu, 2016).

4. Composition chimique de *Punica Granatum* L.

Le grenadier (*Punica granatum*) produit des fruits dont les différents composants (graines, écorce, jus) renferment une grande diversité de constituants bioactifs (Edeas, 2010). Les tissus de la grenade contiennent notamment des polyphénols, des alcaloïdes, des triterpénoïdes, des vitamines et des minéraux (Shaygannia et al., 2016). Le jus est particulièrement riche en tanins hydrolysables, dont des ellagitanins, des anthocyanes et des acides phénoliques, tandis que l'écorce et les membranes blanches, représentant environ 50 % du poids total du fruit, constituent une source importante de composés bioactifs tels que flavonoïdes, procyanidines et minéraux (N, Ca, P, Mg, Na) (Saad, 2013). L'écorce contient également des tanins hydrolysables comme la punicalagine, la pédonculaire et la punicaline, ainsi que des flavonoïdes (lutéoline, quercétine, kaempférol, narigénine) dans les peaux. Par ailleurs, l'huile de pépins de grenade est principalement composée d'acides gras insaturés (80 %), notamment l'acide punique (un acide linoléique conjugué) (Figure 06), ainsi que des acides oléique et linoléique, mais aussi d'acides saturés (palmitique, stéarique) (Hadjib et al., 2021). Enfin, les graines renferment des glycolipides et des stérols (cholestérol, stigmastérol), confirmant ainsi la richesse nutritionnelle et bioactive de la grenade dans son ensemble (Hmid, 2013).

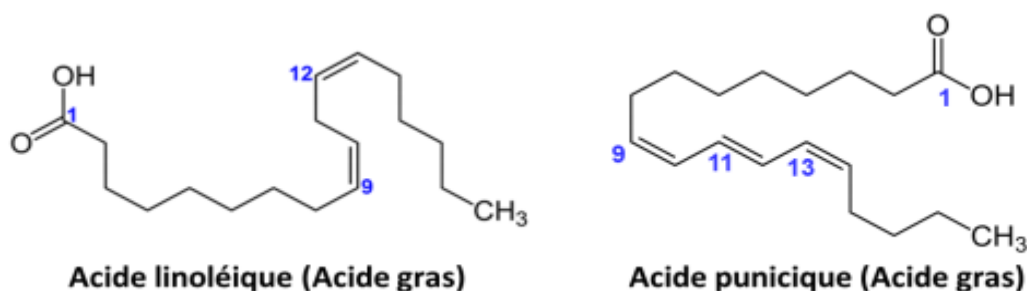


Figure 06 : Structures chimiques d'acide punique et acide linoléique.



Figure 07 : Principaux constituants des extraits des différentes parties de la grenade (Al-Muammar et Khan, 2012)

5. Valeur nutritionnelle de la grenade

La grenade est un fruit sucré, parfois acidulé en raison de sa teneur en acide citrique. Riche en fibres alimentaires, en folate et en vitamine C, elle contient également plusieurs vitamines du groupe B, notamment la B6 (pyridoxine), ainsi que divers minéraux et oligo-éléments comme le potassium, le phosphore, le calcium, le magnésium, le fer, le zinc et le cuivre. Avec un poids moyen de 155 g (soit environ 117 kcal), elle apporte en moyenne 75,9 kcal pour 100 g (321 KJ). Les valeurs nutritionnelles peuvent varier selon la variété, la saison, le degré de maturité et les conditions de culture, comme le détaille le tableau suivant pour 100 g de grenade (**Tableau 02**) (Bekir et al., 2013).

Tableau 02 : La quantité moyenne des différents nutriments présents dans 100g net de grenade (Orhan et al., 2014)

Composants	Quantité	Vitamines	Quantité
Eau	80 g	Vitamine B1	0,049 mg
Protéines	1,29 g	Vitamine B2	0,042 mg
Lipides	0,74 g	Vitamine B3	0,3 mg
Acides gras saturés	0,12 g	Vitamine B5	0,49 mg
Glucides	14,2 g	Vitamine B6	0,09 mg
Sucre	13,7 g	Vitamine B9	38 µg
Fibres	2,3 g	Vitamine C	8,15 mg
Acides organiques	0,97 g	Vitamine E	0,6 mg
Minéraux et oligo-éléments	Quantité	Polyphénols	Quantité
Calcium	6,5 mg	Flavonoïdes	1,1 mg
Cuivre	0,11 mg	Polyphénols totaux	1,1 mg
Fer	0,3 mg		
Iode	0,9 µg		
Magnésium	7,5 mg		
Manganèse	0,12 mg		
Phosphore	22 mg		
Potassium	248 mg		
Sodium	3 mg		
Zinc	0,35 mg		

6. Utilisations traditionnelles du grenadier

La figure 08 présente les différents domaines d'utilisation des grenades *Punica granatum L.*

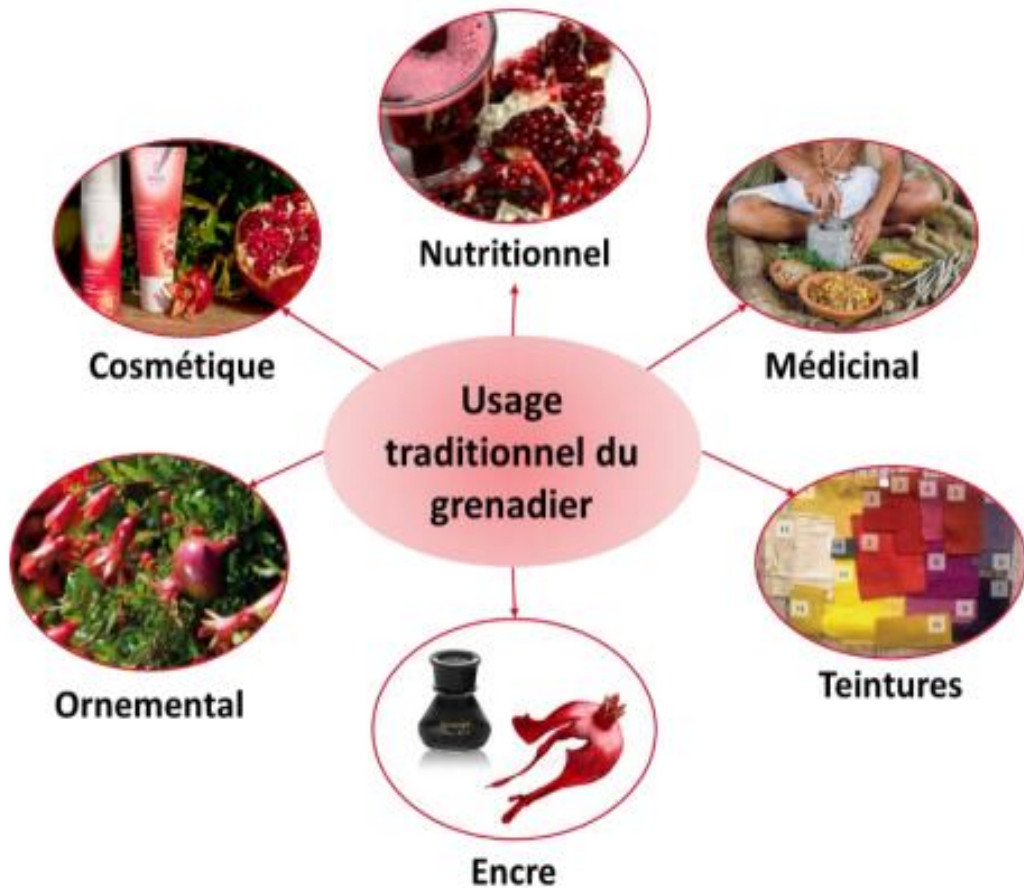


Figure 08 : domaine d'utilisation du grenadier (Sitzia, 2009).

6.1. L'utilisation en médecine traditionnelle

La grenade possède une longue histoire d'utilisation en médecine naturelle, ayant été employée pendant des milliers d'années pour traiter diverses maladies à travers le monde (Wald, 2009). Tous les composants de la plante, y compris les fleurs, les feuilles, l'écorce des jeunes pousses et des racines, l'écorce du fruit ainsi que le jus, étaient utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques. Par exemple, la peau de grenade servait d'agent antiparasitaire et était employée contre les troubles gastro-intestinaux tels que la dysenterie, la diarrhée, la stomatite, les ulcères et les saignements, grâce à ses effets astringents (Shaygannia et al., 2016). Les extraits de la plante étaient également utilisés pour soigner les pertes vaginales et d'autres affections gynécologiques, ainsi que gargarisés pour soulager l'inflammation du pancréas (Tableau 03) (Shaygannia et al., 2016).

Tableau 03 : Utilisation des différents organes du grenadier en médecine traditionnelle (Benkherbache et Benkherbache, 2021).

Organe utilisé	Fins thérapeutiques	Région / Pays
Fleurs	- Anthelminthique. - Soulager les épistaxis, otites et hémorragies. - Toniques et astringentes. – Traiter la diarrhée et la dysenterie, les hémorragies passives, les écoulements muqueux avec atonie, la leucorrhée et la blennorrhée, le gonflement atonique des amygdales et le relâchement de la luvette et des gencives.	Chine et Egypte
Racines	- En décoction pour traiter le ténia, les diarrhées chroniques, les dysenteries chroniques et les pertes blanches ou hémorragiques	Chine
Feuilles et écorce Des Rameaux	-Tonique - La débilité de l'estomac, le manque d'appétit, les nausées, la faiblesse générale, la chlorose, l'anémie, la migraine.	Chine
Écorce de grenade	- Effets vermifuges. - Anthelminthique. -Toniques et astringentes - Traiter la diarrhée et la dysenterie, les hémorragies passives, les écoulements muqueux avec atonie, la leucorrhée et la blennorrhée, le gonflement atonique des amygdales et le relâchement de la luvette et de gencive.	Egypte
Jus de grenade	- Réputation d'accroître la fécondité et d'être un Antidote à la stérilité. - Rafrâichissant, diurétique, adoucissant.	Afrique du Nord, Inde, Chine
Peau de grenade (Malicorium)	- Effets astringents pour l'intestin, pour "arrêter le sang" et pour "chasser les parasites", diarrhée et dysenterie chroniques, présence de sang dans les selles, prolapsus rectal, spermatorrhée, hyperménorrhée, pertes blanches, accumulation de parasites, douleurs abdominales.	Chine
Graines de grenade	- Soulager les ulcères atoniques.	Chine

6.2. Consommation de la grenade

Les grenades et leur jus, obtenu en pressant les fruits entiers, sont consommés dans le monde entier, Ce fruit offre une valeur nutritionnelle et industrielle remarquable, que ce soit pour une consommation fraîche, en jus ou en transformation.

La grenade se compose de 50 % d'écorces et membranes et de 50 % de partie comestible (arilles), produisant environ 80 % de jus et 20 % de pépins.

Ses graines peuvent agrémenter des salades de fruits, des sorbets ou des plats traditionnels comme la Seffa algérienne (Mesfouf), un couscous sucré (**Figure 09**).

Son jus, à la fois savoureux et désaltérant, peut être fermenté, une pratique remontant à l'Égypte antique, où la grenade symbolisait ambition et prospérité. Riche en pectines, le jus entre dans la préparation de gelées alimentaires, tandis que les grenades fraîches servent à élaborer la grenadine, un sirop utilisé pour aromatiser et colorer divers cocktails (**Sitzia, 2009**).



Figure 09 : Présentation du plat algérienne culinaire (Mesfouf) unissant les grenade (**Amoula, 2021**)

6.3. Jus de fruit de la grenade

Le jus de grenade, réputé pour ses vertus thérapeutiques depuis l'Antiquité, voit son intérêt confirmé par des études récentes. Riche en polyphénols antioxydants, principalement issus des membranes des loges du fruit – généralement non consommées en raison de leur âpreté –, il se distingue par la puissance et la quantité de ses composés actifs. Ces derniers exercent une action antioxydante particulièrement bénéfique pour le cerveau, avec un effet neuroprotecteur prometteur dans la prévention de la maladie d'Alzheimer (**Spilmon 2013**)

Des expériences comparant le pouvoir antioxydant du jus de grenade à celui de 11 autres jus (prune rouge, raisin, canneberge, kiwi, orange, pamplemousse, pomme, ananas, poire et pêche) ont évalué trois paramètres : la teneur en polyphénols (**Figure 10A**), la concentration minimale nécessaire pour inhiber de 50 % l'oxydation des LDL (**Figure 10B**), et la capacité à neutraliser les radicaux libres (**Figure 10C**) (**Wald, 2009**).

Les résultats soulignent la supériorité du jus de grenade, renforçant son potentiel dans la protection contre le stress oxydatif et les maladies neurodégénératives.

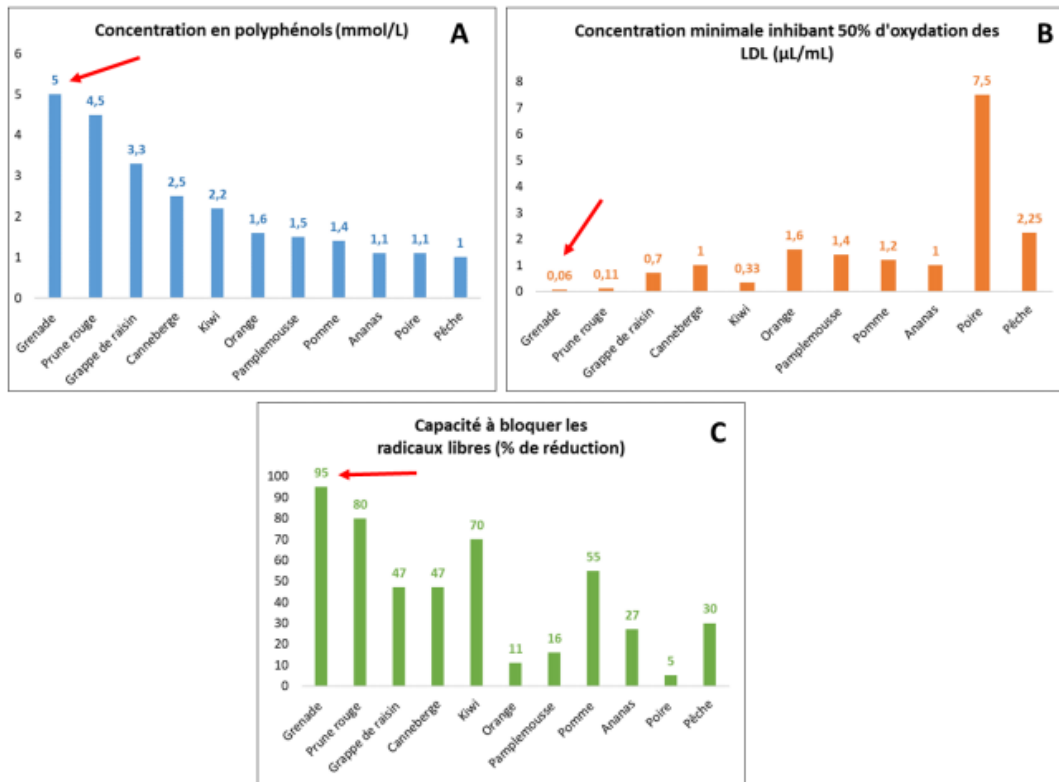


Figure 10 : Comparaison entre le jus de grenade et le jus d'autres fruits : concentration en Polyphénols et activité antioxydante (Wald, 2009).

Chapitre II

Stress oxydatif

1. Stress oxydatif

Dans l'organisme, un équilibre existe entre les espèces réactives (ER), naturellement présentes en faible concentration, et les défenses antioxydantes (enzymes, vitamines, glutathion, etc.). Lorsque cet équilibre est rompu, un stress oxydatif apparaît, caractérisé par :

- Une augmentation des pro-oxydants (ERO/ERN).
- Une diminution des capacités antioxydantes.
- Dommages cellulaires irréversibles (peroxydation lipidique, fragmentation des protéines, altération des glucides) et implication dans diverses pathologies (**Figure 11**) (**Haleng et al., 2007**).

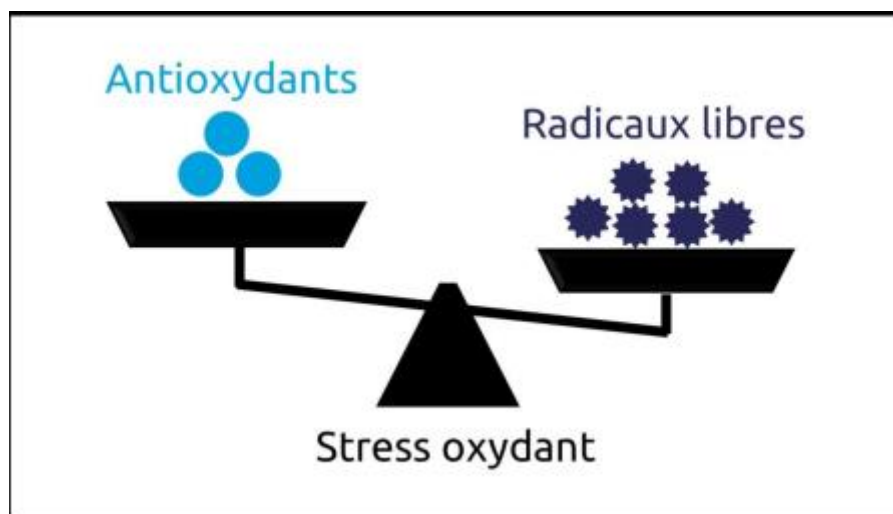


Figure 11 : Balance antioxydants /radicaux libres (**Nimse et Pal., 2015**)

2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules instables et agressives qui causent des dommages dans l'ensemble du corps. Ayant perdu un électron, elles deviennent extrêmement réactives et cherchent à retrouver leur stabilité en captant des électrons auprès des molécules voisines. Ce processus déclenche une réaction en chaîne : les molécules ainsi atteintes deviennent à leur tour des radicaux libres, attaquant d'autres structures cellulaires. Cette cascade peut affecter des centaines, voire des milliers de molécules.

Lorsque qu'une molécule est transformée en radical libre, ses propriétés physiques et chimiques se modifient de manière irréversible, perturbant le fonctionnement de la cellule à laquelle elle appartient. Sous l'effet de ces attaques, les cellules vivantes dégénèrent et perdent leurs fonctions normales. Les radicaux libres peuvent même détruire complètement la membrane protectrice des cellules (**Bruce Fife et al., 2012**).

3. Maladies associées au stress oxydatif

Le stress oxydatif joue un rôle clé dans de nombreuses maladies, notamment avec l'âge (affaiblissement des défenses antioxydantes et augmentation des radicaux libres). Exemples :

- Neurodégénérescence : Alzheimer, Parkinson.
- Cardiovasculaires : Athérosclérose, AVC.
- Métaboliques : Diabète, obésité.
- Autres : Cancer, fibrose pulmonaire, rétinopathie, etc. **(Mancinelli et al., 2011)**.

4. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui peuvent prévenir ou ralentir les dommages causés aux cellules par les radicaux libres **(Halliwell et Gutteridge, 2015)**.

Ils présentent principalement des activités basées sur trois mécanismes : le transfert d'atomes d'hydrogène, le transfert d'électrons et la chélation des métaux **(Figure 12) (Granato et al., 2018)**.

Ils montrent leurs activités par trois voies différentes :

- Prévention : prévention de la formation des radicaux libres et leurs dérivés ;
- Interruption : interruption des réactions d'oxydation des radicaux ;
- Et inactivation : inactivation des produits de réaction des radicaux libres/dérivés radicaux **(Mirończuk-Chodakowska et al., 2018)**.

Les antioxydants, tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes et les polyphénols, peuvent neutraliser les radicaux libres et prévenir ou atténuer les effets néfastes du stress oxydatif sur l'organisme **(Sies et Jones, 2020)**.

Ils peuvent renforcer le système immunitaire, améliorer la fonction cognitive et réduire l'inflammation et le risque de certaines maladies chroniques.

Cependant, les effets bénéfiques des antioxydants peuvent varier selon leurs sources, leurs doses et leurs interactions avec d'autres éléments nutritifs **(Bhullar et Rupasinghe, 2013)**.

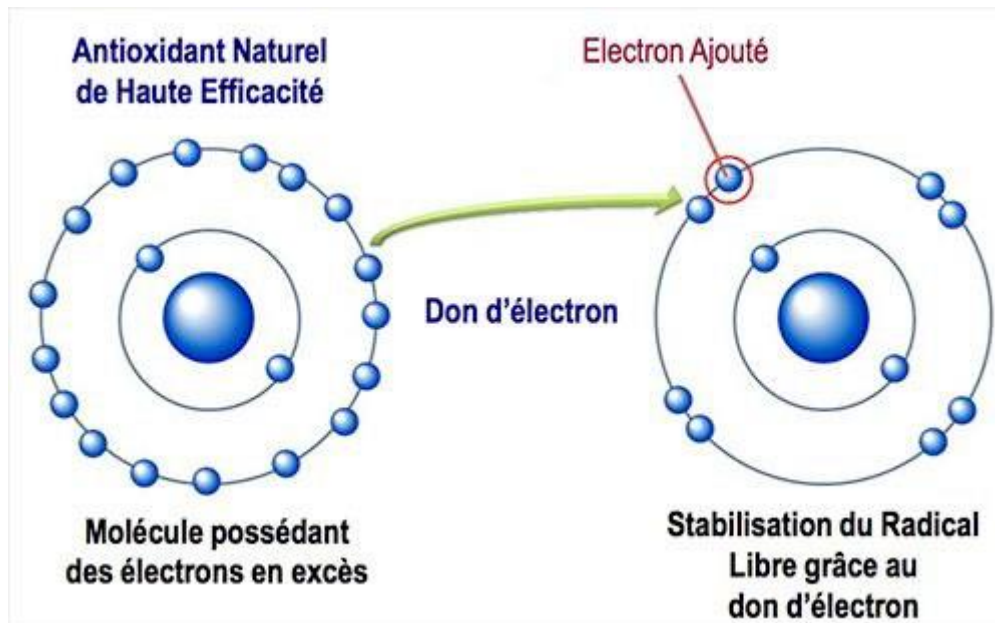


Figure 12 : Mécanisme d'action antioxydante par transfert d'électrons (Halliwell et Gutteridge, 2015)

5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des molécules peut être mesurée *in vivo* ou *in vitro*. Les techniques *in vitro*, couramment utilisées pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits végétaux, reposent souvent sur des réactions de coloration ou de décoloration d'un réactif spécifique en présence d'un antioxydant. Ces méthodes permettent d'estimer la capacité d'une molécule à résister à l'oxydation (Hammoudi, 2015 ; Brahimi et Terrai, 2018 ; Righi et Boukhalat, 2021).

5.1. Test du piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

C'est test développé par Blois (1958) et permet d'évaluer l'activité antioxydante en mesurant spectrophotométriquement à 517 nm la réduction du radical violet DPPH• en son dérivé jaune DPPH-H par transfert d'hydrogène (Figure 13). Cette transition chromique, proportionnelle au pouvoir antioxydant de l'échantillon, se traduit par une diminution d'absorbance caractéristique, dont l'ampleur permet de calculer le pourcentage d'inhibition (CI50). Rapide, sensible et reproductible, cette technique largement validée constitue un outil standard pour l'étude comparative des capacités antiradicalaires de divers composés ou extraits (Majhenič et al., 2007 ; Hammoudi, 2015).

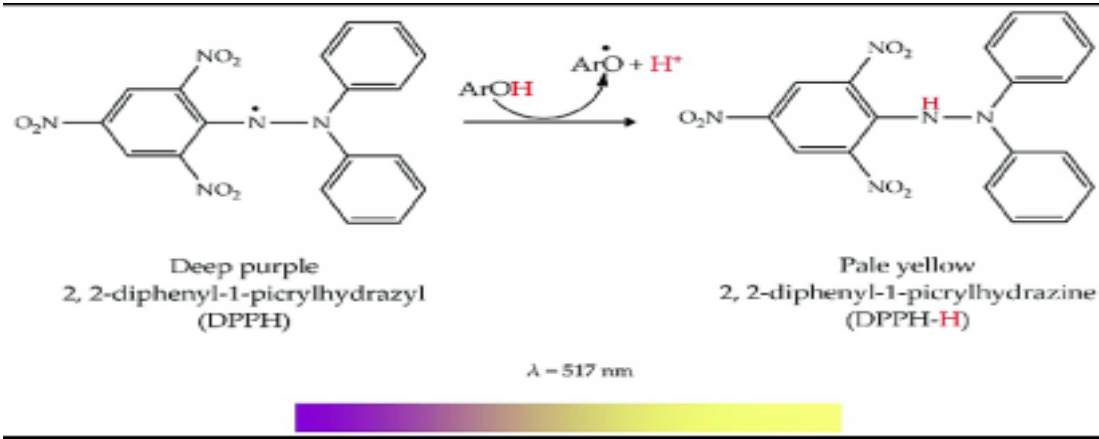


Figure 13 : Le test du peignage du radical libre DPPH (Bibi Sadeer et al., 2020)

5.2. Le test d’ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) :

C’est un test basé sur la capacité d'un composé à réduire le radical ABTS⁺, en particulier la diminution de la couleur verte du radical. Cette méthode a l'avantage d'être plus sensible que la méthode DPPH (Figure14) (Re et al., 1999).

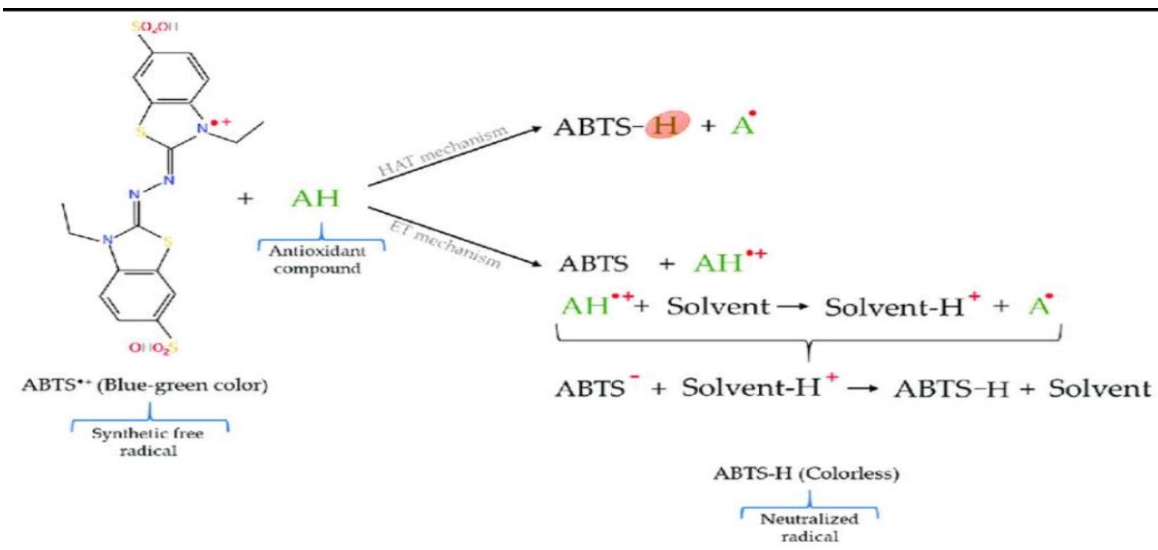


Figure 14 : Le test d’ABTS (Echegaray et al., 2021).

5.3. Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) :

Il est basé sur la réduction de fer ferrique Fe³⁺ en fer Fe²⁺ par intervention des antioxydants responsables à la couleur bleu. Il est mesuré par méthode spectrophotométrique à une longueur d'onde de 593 nm (Figure15) (Ou et al., 2001).

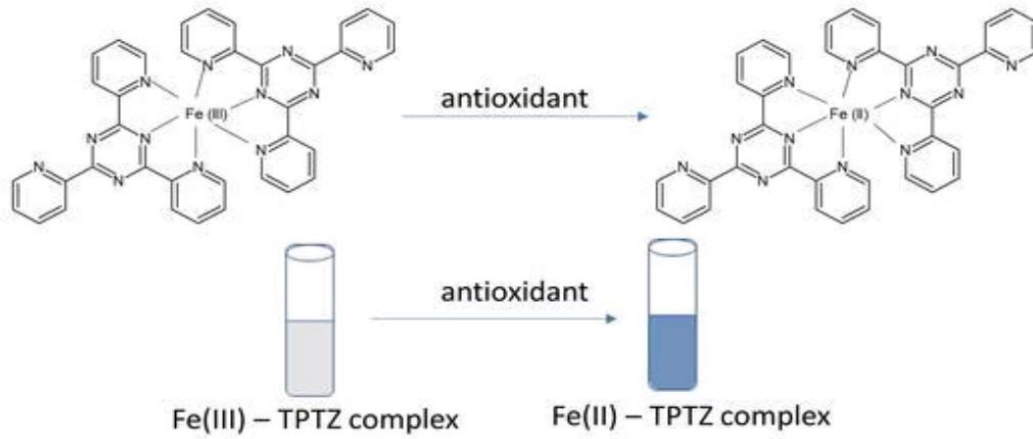


Figure 15 : Le test de FRAP (Wojtunik-Kulesza, 2020).

Partie

Expérimentale

Matériel et Méthodes

✓ Objectif

Notre travail est réalisé au sein du laboratoire de recherche antibiotiques, antifongiques, physico-chimie, synthèse et activité biologique « LAPSAB », Faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd « Tlemcen »

Le but de ce travail est l'étude phytochimique et la recherche d'activité antioxydante, par la technique de piégeage du radical libre (DPPH), des extraits bruts aqueux préparés, par décoction ou macération, de deux parties des fruits de *Punica granatum* L.

Il comprend :

1- Extraction du matériel végétal (Préparation des extraits brut aqueux à partir des fruits de *Punica granatum* L.) : écorce (pulpe) et graines (pépins) ;

2- Tests phytochimiques

3- Dosage des composés phénoliques : Polyphénols totaux et Flavonoïdes ;

4-Evaluations de l'activité antioxydante des extraits obtenus : Piégeage du radical : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur des grenades (*Punica granatum*), achetées le 17 décembre 2024 au marché local de la région de Bni Snous, Tlemcen, Algérie.

Les fruits ont été lavés, une partie a été utilisée pour la préparation des jus de grenade et une deuxième pour la séparation de la pulpe et du pépin.

La pulpe et les pépins ont été séparées et séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière.

2. Préparation des jus et des extraits

2.1. Préparation des jus

Deux jus pressés ont été préparés dans cette étude :

- ✓ Un jus préparé des fruits complets de grenade ;
- ✓ Un jus préparé des fruits de grenade sans pépins.

Les jus préparés sont, ensuite, conservés dans le congélateur à -18°C, jusqu'à leurs utilisations.

2.2. Préparation des extraits brut aqueux (EB).

Les extraits bruts aqueux d'écorce et des pépins des fruits de *Punica granatum* ont été préparés par une extraction solide/liquide selon deux méthodes :

2.2.1. Décoction (sous reflux)

Dans un ballon rodé surmonté d'un réfrigérant, 10g de la matière végétale broyée (écorce ou pépins) a été mélangée avec 200ml d'eau distillée. Le mélange est placé sous reflux dans un chauffe ballon à une température d'ébullition stable pendant 45min. Le mélange a été filtré par papier filtre et séché à sec dans une étuve à 37°C.

2.2.2. Macération

Une masse de 10 g des pépins des fruits de *Punica granatum* a été macérée avec un volume de 200 ml d'eau distillée, pendant 48 heures, à l'abri de la lumière, à une température ambiante et sous agitation. Par la suite, Le mélange a été filtré par papier filtre et séché à sec dans une étuve à 37°C.

2.2.3. Conservation des extraits bruts aqueux préparés

Les extraits bruts aqueux préparés par décoction (EBGD) dégraines et d'écorce (EBCD) et par macération des graines (EBGM) des fruits de *Punica granatum*, sont conservés à l'abri de la lumière à 4 °C pour une utilisation ultérieure.

2.3. Extraction d'huile des pépins

Une quantité de 25g de pépins des fruits de *Punica granatum* broyés a été insérée dans une cartouche en cellulose puis dans un siphon à Soxhlet, surmonté d'un réfrigérant, et monté sur un ballon contenant 200ml de chloroforme. Le solvant est chauffé à l'aide d'un chauffe ballon, à une température de 45°C pendant 2 heures.

Le chloroforme est, en suite, évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 45°C.

L'huile obtenue est récupérée dans un tube à hémolyse et conservée à 4°C et à l'abri de la lumière.

2.4. Calculs des rendements

Le rendement est le rapport entre la masse d'extrait après l'évaporation (**M**) du solvant et la masse du matériel végétal utilisé (**M0**), il est exprimé en pourcentage

Le pourcentage du rendement de chaque extrait a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

Avec :

R : Rendement exprimé en %.

M : masse de l'extrait obtenu après évaporation exprimée en gramme (g).

M₀ : masse initiale du matériel végétal en (g).

3. Les tests phytochimiques

Dans le but de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires dans les extraits des feuilles de la plante étudiée, nous avons effectué une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration, de précipitation. Cette analyse est réalisée selon les techniques décrites par (**Harbone, 1998 ; Bruneton, 1999**).

3.1. Les composés azotés

➤ Les alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml d'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes d'HCl (1 %) et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement révélé la présence d'alcaloïdes.

3.2. Les composés phénoliques

➤ Les tanins

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (1 %). Le mélange incubé pendant 15 min à température ambiante. La présence des tanins indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

➤ Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune prouvé la présence des flavonoïdes.

➤ Les quinones libres

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1 %). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indiquée la présence des quinones libres.

➤ Anthraquinones

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de NH_4OH (10 %) puis agiter. L'apparition d'une coloration violette démontré la présence des anthraquinones.

3.3. Les composés terpéniques

➤ Les saponines : test de mousse

Dans un tube à essai, introduire 10 ml d'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15 min. Une hauteur supérieure à 1 cm de mousse indiquée la présence de saponines.

➤ Terpénoïdes

Test de Slakowski : dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marronne à l'interphase indiqués la présence des Terpénoïdes.

3.4. Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1 ml de liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) à 1 ml d'extrait à analyser et incuber l'ensemble 8 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indiquée la présence des composés réducteurs.

4. Dosage des composés phénoliques

4.1. Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

La teneur en phénols totaux est habituellement déterminée par méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_4$) du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers ont présenté un maximum d'absorption à 760 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Georgé et al., 2005).

➤ Mode opératoire

Les polyphénols totaux sont déterminés par méthode spectrophotométrique suivant le protocole décrit par Vermerius et Nicholson (2006) :

- ✓ Mélanger 0,1 ml d'extrait (1mg/ml) avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (2 %) ;

- ✓ Agiter et incuber pendant 5 minutes ;
- ✓ Ajouter 0,1 ml de réactif Folin-Ciocalteu à 1N ;
- ✓ Incuber pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à température ambiante ;
- ✓ Mesurer l'absorbance à 760 nm contre un blanc.

En parallèle, une gamme d'étalonnage est préparée dans les mêmes conditions à partir d'acide gallique à différentes concentrations de 30 à 500 µg/ml.

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (µg Eq AG/mg ES).

4.2. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par des solutions incolores de nitrite de sodium (NaNO_2 , 15 %) et de chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 10 %), en milieu alcalin, ce qui entraîne la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510 nm. (Nsemi, 2010).

➤ Mode opératoire

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée selon la méthode décrite par **at et al., (1999)**.

- ✓ Mélanger 250 µl de l'extrait (1mg/ml) avec 1 ml d'eau distillée et 75 µl du NaNO_2 à 15 %;
- ✓ Laisser incuber pendant 6 min à température ambiante puis ajouter 75 µl du chlorure d'aluminium AlCl_3 à 10 % ;
- ✓ Après 6 min, ajouter 1 ml d'hydroxyde de sodium NaOH (4 %) ;
- ✓ Compléter le volume total à 2,5 ml d'eau distillée ;
- ✓ Agiter le mélange et laisser incuber à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min ;
- ✓ Mesurer l'absorbance à 510 nm.

Une gamme d'étalonnage est préparée dans les mêmes conditions avec la catéchine à différentes concentrations de 1, 25 à 500 µg/ml.

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec (µg Eq C/mg ES).

5. Analyses chimiques des huiles

L'huile de pépins des fruits de *Punica granatum* a été soumise à des analyses chimiques par des méthodes titrimétriques en présence des indicateurs colorés :

5.1. Indice d'acide

➤ Principe

Il consiste à neutraliser les acides libres par une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (Benosman et Mamchaoui, 2005).

➤ Mode opératoire

Selon la méthode décrite dans la réglementation CEE/2568/91.

- ✓ Une prise d'essai d'huile de 1g a été dissoute dans 5ml d'éthanol ;
- ✓ Le mélange a été titré à l'aide d'une solution KOH éthylique (0,1 N) en présence de phénolphthaléine à 2% jusqu'à l'apparition de la couleur rose. Un témoin (sans matière grasse) a été réalisé dans les mêmes conditions.
- ✓ L'acidité est exprimée en pourcentage d'acide oléique qui se détermine par :

$$\text{Acidité (AC)\% (d'acide oléique)} = (V-V_0) * (N * M / 10 * m)$$

V : volume en millilitre de KOH nécessaire pour neutraliser l'échantillon ;

V₀ : volume en millilitre de KOH nécessaire pour neutraliser le blanc ;

N : normalité de l'hydroxyde de potassium ;

M : masse molaire (g/ml) d'acide oléique qui est égale à 282g/ml ;

m : masse en gramme de la prise d'essai.

5.2. Indice de saponification

➤ Principe

L'indice de saponification correspond aux nombres de milligrammes de potasse nécessaires pour saponifier les acides gras contenus dans un gramme de matière grasse. Cette valeur est d'autant plus élevée que les acides gras sont de plus faible poids moléculaire.

➤ Mode opératoire

- ✓ Mettre dans un ballon 1g d'huile avec 25 ml de KOH éthylique (0,5 mol/l) ;
- ✓ Porter le mélange à l'ébullition à reflux pendant 60 min ;
- ✓ Laisser refroidir et ajouter 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine à 2% ;
- ✓ Titrer par l'acide chlorhydrique de 0,5 mol/l ;
- ✓ Agiter jusqu'au virage à l'incolore de la phénolphthaléine

- ✓ Déterminer le volume V_1 de la neutralisation de l'échantillon
- ✓ Réaliser un témoin (1 ml d'eau distillée +25 ml de KOH éthylique), dans les mêmes
- ✓ Conditions de l'échantillon, pour déterminer le volume V_0 du titrage.

Indice de saponification est exprimée en mg de KOH/g huile :

$$IS = \frac{M_{\text{KOH}} \times (V_0 - V_1) \times C_{\text{HCL}}}{m}$$

V_0 : Volume de neutralisation de témoin en ml ;

V_1 : Volume de neutralisation de l'échantillon en ml ;

C_{HCL} : concentration de la solution d'acide chlorhydrique en mol/l (0,5mol/ l) ;

M_{KOH} : masse molaire du KOH en g/mol (56,1g/mol) ;

m : masse d'huile pesée en g (1g).

5.3. Indice d'ester

L'indice d'ester (IE) est la quantité en milligrammes de KOH nécessaire à la saponification des acides gras liés des glycérides présentes dans 1 gramme de matière grasse. IE n'est pas mesurable. Il est calculé à partir des deux indices IS (indice de saponification) et IA (indice d'acidité). C'est la différence entre l'indice de saponification et l'indice d'acidité ($IE = IS - IA$) (Tchouar et al.,2014).

5.4. Indice de peroxyde

➤ Principe

Ce paramètre nous renseigne sur le degré d'oxydation des huiles.

➤ Mode opératoire

Le protocole décrit par le règlement CEE2568/91 a été adopté pour la détermination de cet indice :

- ✓ 1g d'huile sont mis en solution dans 10 ml de chloroforme,15ml d'acide acétique glacial et 1ml d'une solution saturée d'iodure de potassium.
- ✓ Après incubation pendant 5min à l'obscurité, 75ml d'eau distillée sont ajoutés.
- ✓ Le mélange est titré par une solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$ (0,01 N) en présence d'empois d'amidon comme indicateur.
- ✓ Un essai témoin (sans matière grasse) est réalisé dans les mêmes conditions.

L'indice de peroxyde IP est déterminé selon la formule :

$$IP = \frac{V - V_0}{m \times 1000 \times N}$$

N : Normalité $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$;

V : Volume en ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ nécessaire pour le titrage de l'échantillon ;

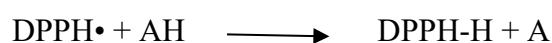
V 0 : le volume de thiosulfate de sodium requis pour titrer le blanc ;

m : masse en gramme de la prise d'essai.

6. Evaluation de l'activité antioxydante: Piégeage du radical libre DPPH(2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

➤ Principe

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 diphényl 1 picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Maataoui et al., 2006). Ce radical est un oxydant qui peut être réduit par l'antioxydant (AH) selon la réaction suivante :



➤ Mode opératoire

La recherche de l'activité antiradicalaire des extraits préparés est réalisée selon le protocole décrit par Atoui et al., (2005).

- ✓ 50 μl des solutions d'extraits à différentes concentrations de (0,2 à 2mg/ml) sont ajoutés à 1950 μl DPPH• (0,0025 g fraîchement préparé dans du méthanol) ;
- ✓ Pour chaque concentration un blanc est préparé contenant 50 μl de chaque concentration d'extraits et 1950 μl du méthanol ;
- ✓ Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 μl du méthanol avec 1950 μl de DPPH•

La lecture de l'absorbance est faite à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.

Les molécules standard (acide ascorbique, BHA) sont utilisées comme contrôles positifs, dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les extraits.

Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois.

➤ Calcul des pourcentages d'inhibition

$$I (\%) = [(A \text{ cont} - A \text{ éch}) / A \text{ cont}] \times 100$$

I (%) : Pourcentage d'inhibition.

Acont : Absorbance du contrôle négatif.

Aéch : Absorbance du l'échantillon testé.

➤ Calcul des CI50

La CI50 est définie comme étant la concentration de l'extrait qui provoque l'inhibition de 50% du radical libre DPPH•. Elle est calculée graphiquement à partir des courbes de régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits étudiés ou des molécules standard (acide ascorbique, BHA). Elle permet de déterminer l'extrait le plus efficace avec la valeur la plus faible en CI50.

Résultats et Interprétations

1. Caractéristiques des extraits et les rendements d'extractions

Les cinq extraits préparés de *Punica granatum*, récupérés après évaporation à sec, sont pesés pour déterminer le poids sec obtenu. Les rendements sont calculés à partir de la masse de la matière végétale sèche initiale et de la masse de la matière végétale extraite. Les résultats sont exprimés en pourcentage massique.

Les caractéristiques ainsi que les rendements de chaque extrait utilisé dans notre travail sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Rendements, aspects, couleurs et solubilité des extraits préparés des graines et d'écorces de *Punica granatum* L.

Les extraits	Rendement (%)	Aspect	Couleur	Solubilité
EBGM	11,05	Pâteux	Marron foncé	Eau distillée
EBGD	22,48	Pâteux	Marron foncé	Eau distillée
EBCD	25,50	Cristallisé	Marron	Eau distillée
EBJC	31,12	Caramélisé	Brun-rouge	Eau distillée
EBJP	29,63	Caramélisé	Rouge	Eau distillée

EBGM : extrait brut des graines préparé par macération ; EBGD: extrait brut des graines préparé par décoction ; EBCD : Extrait brut d'écorce préparés par décoction. EBJC : jus complet. EBJP : jus sans pépins .

Nous pouvons remarquer à partir de ces résultats que l'extrait EBJC a enregistré le rendement le plus élevé estimé à 31,12%, suivi de l'extrait EBJP estimé à 29.63 %, et l'extrait EBCD estimé à 25,50%. Les autres extraits EBGD et EBGM ont représenté les rendements les plus faibles à savoir 22,48 % et 11,05%, respectivement.

L'extrait EBCD a présenté un aspect cristallisé, contrairement à l'extrait EBGD et EBGM qui ont montré un aspect pâteux. Ces deux extraits ont présenté la même couleur (marron foncé).

D'autre part, les deux Les extraits EBJC et EBJP sont identiques en apparence (Caramélisé) et en couleur (rouge et brun-rouge).

De plus, tous les extraits préparés ont montré une bonne solubilité dans eau distillée.

2. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques se limitent à la détection de quelques groupes chimiques étudiés par des réactions qualitatives, via des réactifs spécifiques à chaque famille de composés. Ces tests sont fondus sur des réactions de coloration, précipitations et de solubilités.

Les résultats obtenus des tests phytochimiques effectués sur les jus et les extraits bruts préparés par décoction et macération sont regroupés dans le tableau 05

Tableau 05 : Résultats de screening phytochimique des jus et des différents extraits bruts aqueux préparés de *Punica granatum* L.

Métabolites secondaires	EBGM	EBGD	EBCD	EBJC	EBJP
Alcaloïdes	+	-	-	+	-
Tanins	+	+	++	+	+
Flavonoïdes	++	+	-	++	+
Quinones libres	+	+	-	+	-
Anthraquinones	-	-	+++	+++	++
Saponines	+	+++	+++	+	-
Terpénoïdes	++	++	-	+	-
Composés réducteurs	-	-	+	++	+++

(++) : Test fortement présent ; (++) : test moyennement présent ; (+) : présent ; (-) : absence.

EBGM : extrait brut des graines préparé par macération ; EBGD: extrait brut des graines préparé par décoction ; EBCD : Extrait brut d'écorce préparés par décoction. EBJC : extrait brut jus complet. EBJP : extrait brut jus sans pépins

D'après les résultats obtenus des tests phytochimiques qui ont été effectués sur les extraits préparés de *Punica granatum* L., nous avons noté la présence des tanins dans tous les extraits étudiés, des alcaloïdes dans les extraits EBGM et EBJC , des flavonoïdes dans tous les extraits sauf dans l'extrait EBCD, des saponines dans tous les extraits sauf dans l'extrait EBJP, des terpénoïdes dans tous les extraits sauf dans l'extrait EBCD et EBJP, et aussi des composés réducteurs dans les extraits EBCD, EBJC et EBJP.

Les Quinones libres sont présentes dans les extraits EBGM, EBGD et EBJC et les Anthraquinones dans les extraits EBCD, EBJC et EBJP.

3. Dosage des composés phénoliques

Les extraits préparés sont analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible, pour leurs contenus en polyphénols totaux, en flavonoïdes.

Les dosages des polyphénols totaux sont déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'absorbance est lue par une longueur d'onde de 760 nm, L'acide gallique est utilisé pour tracer la courbe d'étalonnage. Les résultats obtenus, sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$). Ils sont déterminés à partir de la

formule de la régression linéaire est de $y = 0,0003x$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9964$ (Figure 16).

Les dosages des flavonoïdes sont réalisés par des réactions chimiques en milieu alcalin avec le nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3) ayant une absorbance maximale à 510 nm. Le composé de référence utilisé pour l'établissement de courbe étalonnage est la catéchine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq C/mg ES}$). Les teneurs sont obtenues à partir de la courbe de régression linéaire, ayant l'équation de $y = 0,002x$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9978$ (Figure 17).

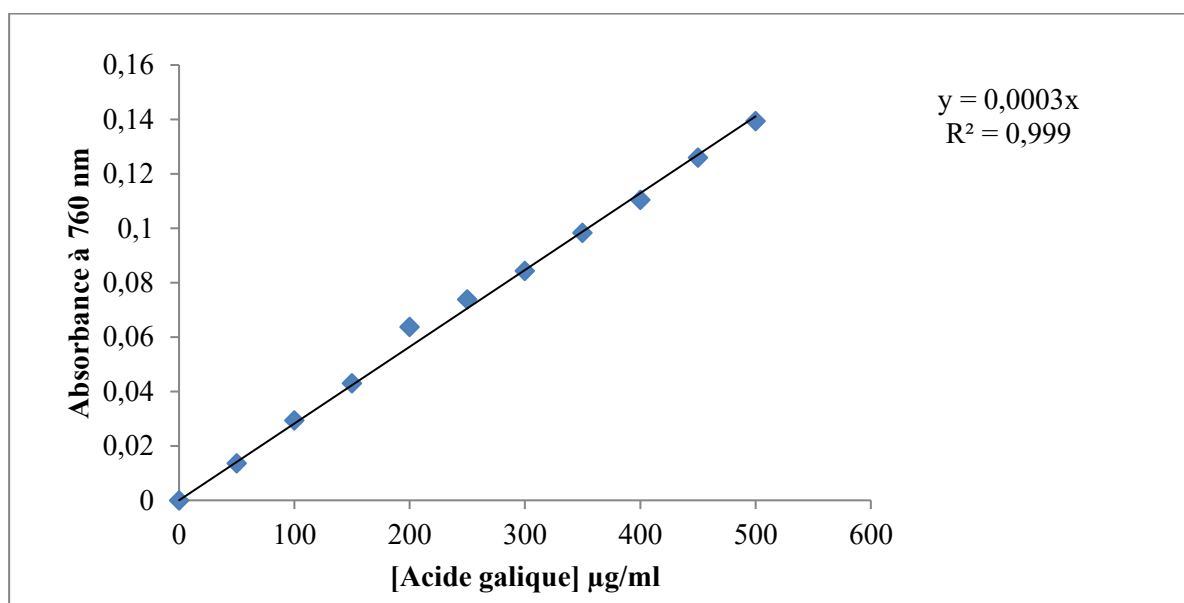


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

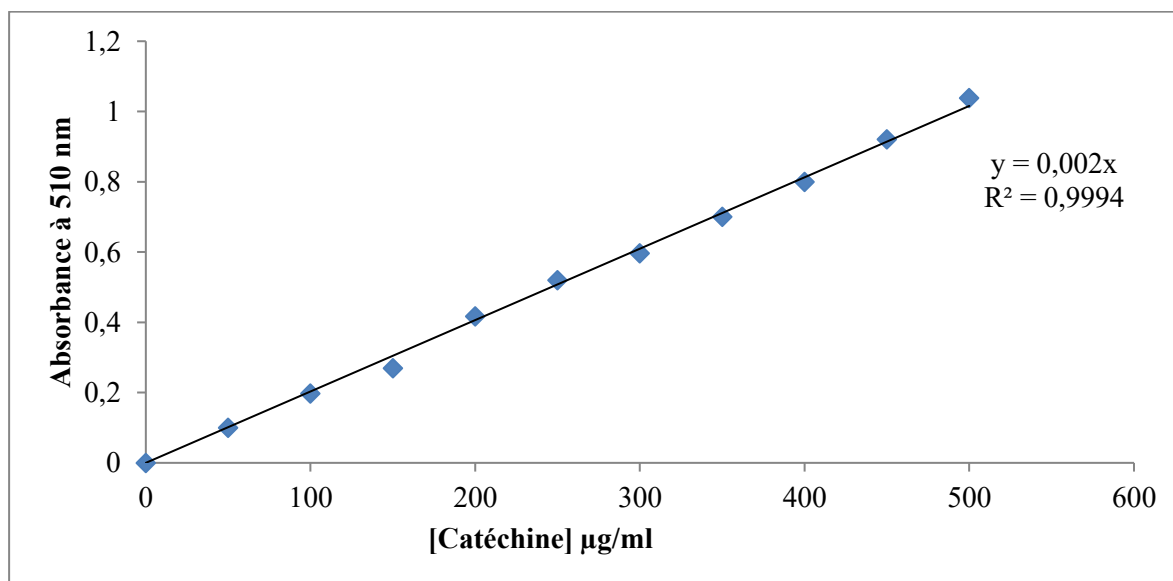


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Les résultats des teneurs en des composés phénoliques des extraits étudiés sont regroupés dans le Tableau 06.

Tableau 06 : Teneurs en composés phénoliques dans les extraits préparés des extraits de *Punica granatum* L

Extraits préparés	Polyphénols totaux ($\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$)	Flavonoïdes ($\mu\text{g Eq C/mg ES}$)
	Moyenne \pm écarte type (n=3)	Moyenne \pm écarte type (n=3)
EBGM	69,89 \pm 4,14	47,12 \pm 17,30
EBGD	52,2 \pm 18,25	36,48 \pm 11,86
EBCD	100 \pm 16,167	88,53 \pm 19,67
JC	68 \pm 4,24	51,49 \pm 8,50
JP	50 \pm 6,36	40,89 \pm 17,20

EBGM : extrait brut des graines préparé par macération ; EBGD: extrait brut des graines préparé par décoction ; EBCD : Extrait brut d'écorce préparés par décoction. JC : jus complet. JP : jus sans pépins

Les résultats obtenus (Tableau 06) ont révélé une variabilité des teneurs en composés phénoliques, entre les cinq extraits préparés.

Nous avons noté que l'extrait brut préparé d'écorce EBCD a présenté quantité les plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes, par rapport aux autres extraits bruts préparés des pépins (graines), avec des teneurs de l'ordre de 100 \pm 16,167 $\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$ et 88,53 \pm 19,67 $\mu\text{g Eq C/mg ES}$, respectivement.

Par ailleurs, le jus complet a marqué des teneurs plus élevées en composés phénolique, par rapport à ceux du jus sans pépins, avec des teneurs de l'ordre de 68 \pm 4,24 $\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$ pour les polyphénols totaux et de l'ordre de 51,49 \pm 8,50 $\mu\text{g Eq C/mg ES}$ pour les flavonoïdes.

4. Analyses chimiques des huiles

L'huile de pépins des fruits de *Punica granatum* a été soumise à des analyses chimiques afin de vérifier sa qualité par rapport aux normes officielles du Codex Alimentarius (1983 et 2024).

Les résultats obtenus lors de la détermination des caractéristiques chimiques de l'huile sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Analyses chimiques d'huile de pépins des fruits de *Punica granatum*

Les indices	IA	IP	IS	IE
Les résultats obtenus	0,57	9	44,88	44,316
Codex Alimentarius	≤ 0,6 (2024)	≤ 10 (2024)	186 – 198 (2024)	186-187,94 (1983)

IA : Indice d'acide (mg de KOH/g d'huile) ; IS : Indice de saponification (mg KOH/g d'huile) ; IE : Indice d'ester (mg KOH/g d'huile) ; IP : Indice de peroxyde (még O2/kg).

D'après les résultats obtenus (**Tableau 7**), nous avons constaté que l'indice d'acide et l'indice de peroxyde de l'huile des graines de carthame sont conformes aux normes établies par le **Codex Alimentarius (2024)**, avec des valeurs estimées à 0,57 mg de KOH/g d'huile et 09 még O2/Kg d'huile respectivement, ce qui indiquant une huile peu oxydée et de bonne qualité.

5. Evaluation de l'activité antioxydante : Test Piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante des extraits aqueux de *Punica granatum* L. est évaluée par le test Piégeage du radical libre DPPH. Ce test est basé sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel :

L'absorbance est mesurée à l'aide d'un colorimètre à une longueur d'onde de 520 nm. A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibitions du radical libre DPPH en présence des extraits bruts préparés et les comparés aux molécules de références (acide ascorbique, BHA : Butylated hydroxyanisole).

Les résultats sont présentés sous forme de graphe de pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH, en fonction des concentrations des extraits (EBJC, EBCD, EBGGM) ou des molécules de référence (acide ascorbique, BHA) (**Figures 18-21**).

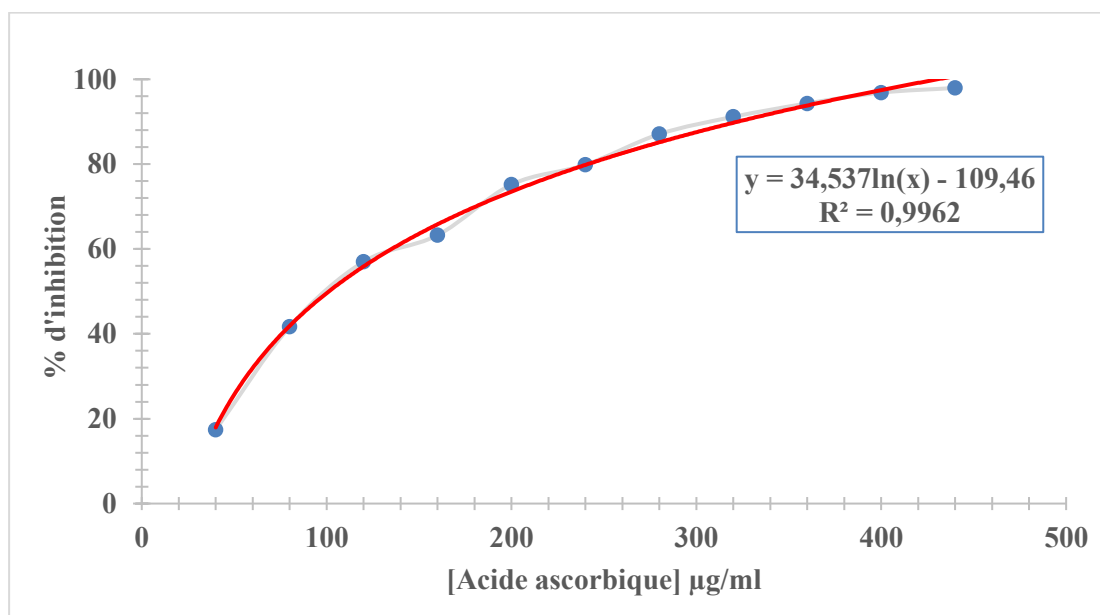


Figure 18 : Evolution des Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

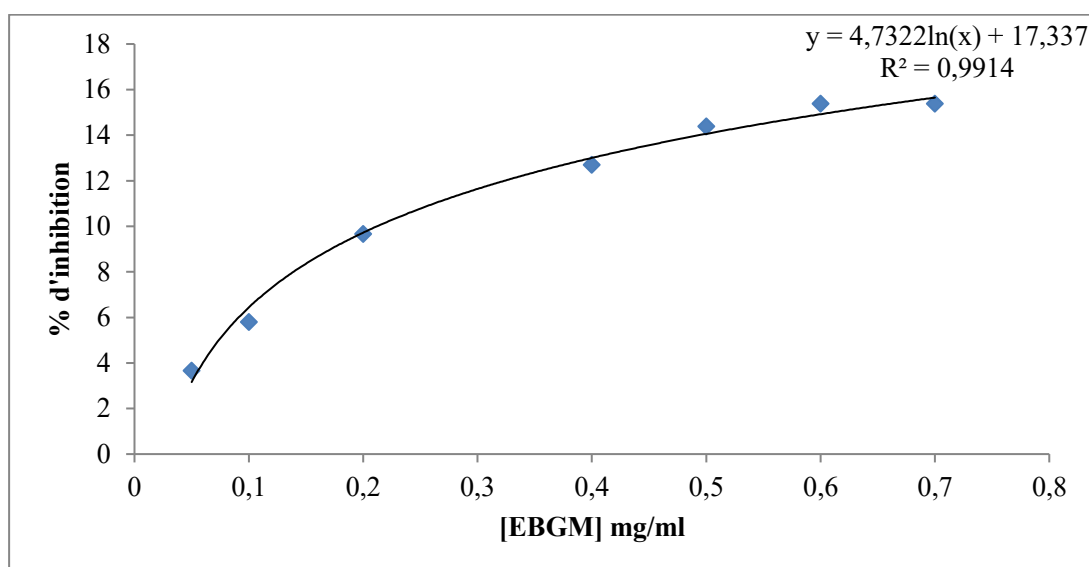


Figure 19 : Evolution des Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut des graines de *Punica granatum* L. préparé par macération (EBGM).

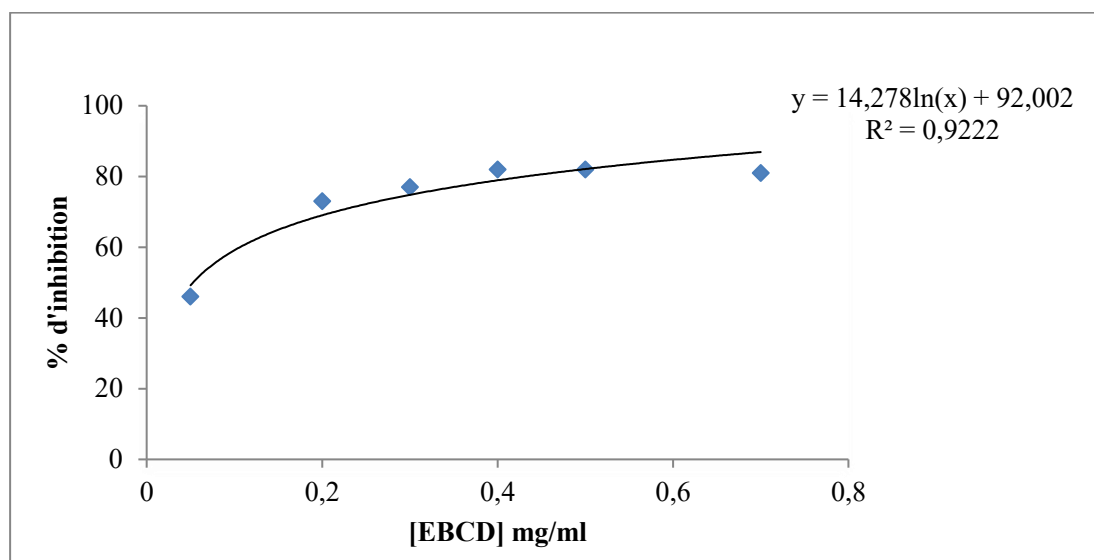


Figure 20 : Evolution des Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut d'épicerpe des fruits de *Punica granatum* L. préparé par décoction (EBCD).

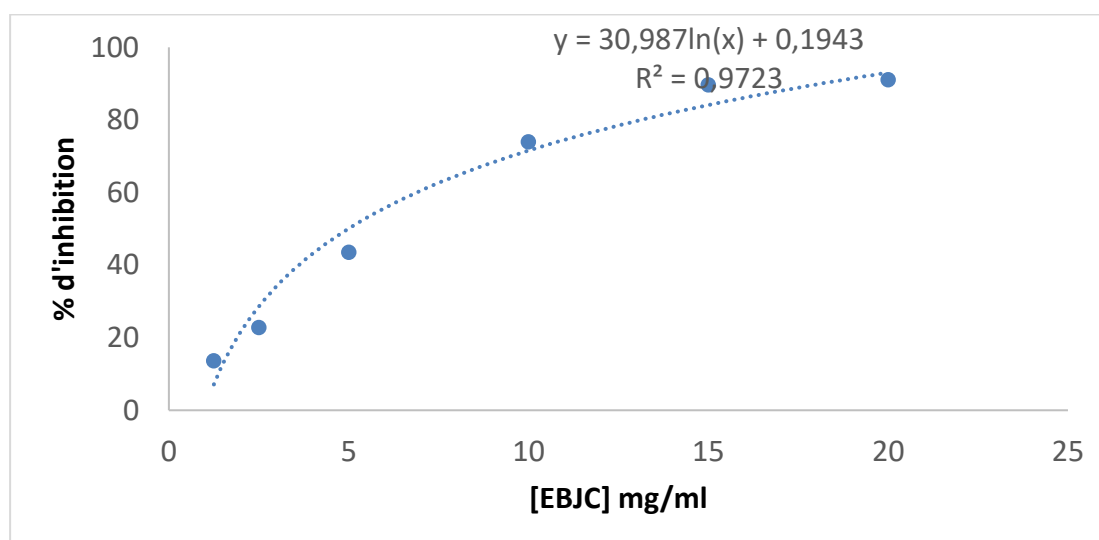


Figure 21 : Evolution des Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations jus complet des fruits de *Punica granatum* L. (EBCJ).

➤ **Calcul des CI50 : concentrations inhibitrices à 50%**

A partir des équations de régressions logarithmiques des courbes représentés dans les figures ci-dessus, nous avons calculé les CI50, qui représentent les concentrations nécessaires pour inhiber 50% du radical libre DPPH (mg /ml), des molécules de référence et des extraits préparés.

Les valeurs obtenues sont présentées dans le **tableau 4**.

La CI50 lié à la capacité antioxydante d'un composé, Elle représente la quantité d'antioxydant requise pour diminuer (neutraliser) 50% de la concentration du radical libre, plus la CI50 est faible plus l'extrait a un potentiel antioxydant puissant.

Tableau 08 : les valeurs des CI50 pour le test de DPPH des différents extraits préparés de *Punica granatum* et des molécules standard.

Extrait/ standard	CI50 (mg/ml)
EBGM	N.D
EBCD	0,053
EBJC	1,619
Acide ascorbique	0,101
BHA (Hydroxyanisole butylé)	0,119

N.D : non déterminée ; EBGM : extrait brut des graines préparé par macération ; EBCD : Extrait brut d'écorce préparés par décoction. EBJC : jus complet.

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré une activité antiradicalaire pour le piégeage du radical libre DPPH de l'extrait EBCD avec une CI50 de l'ordre de 0,0527 mg/ml, meilleure que celle de l'extrait EBJC (CI50 de l'ordre 1,619 mg/ml et même, par rapport aux molécules de références, acide ascorbique et BHA, qui ont présenté des CI50 de l'ordre de 0,101mg/ml et 0,119, respectivement.

Par ailleurs, nous n'avons pas pu déterminer le CI50 de l'extrait EBGM où le pourcentage d'inhibition des concentrations testées n'a pas dépassé 16%

Discussion

Dans le cadre de la valorisation des aliments riches en antioxydants, nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts aqueux préparés par décoction ou macération (EBGM, EBGD et EBCD) et leur jus (EBJC et EBJP) des *Punica granatum* L.

L'analyse des rendements d'extraction a montré que le jus complet (EBJC) offrait le rendement le plus élevé (31,12 %), suivi du jus sans graines (EBJP, 29,63 %), puis de la décoction d'écorce (EBCD, 25,50 %), de la décoction de graines (EBGD, 22,48 %) et enfin de la macération de graines (EBGM, 11,05 %). Ces résultats confirment ceux rapportés par **Sweidan et al. (2023)**, qui ont obtenu un rendement de 26,82 % à partir des écorces par décoction, et par **Derakhshan et al. (2020)**, avec un rendement d'environ 30 % pour le jus de grenade pressé. La faible efficacité de la macération des graines (11,05 %) est comparable à celle trouvée par **Tüfekçi et Duman (2020)**, qui ont rapporté un rendement de 10,4 % pour l'extrait huileux des graines.

Les tests phytochimiques qualitatifs ont confirmé la richesse des extraits d'écorce (EBCD) en flavonoïdes, tanins, alcaloïdes et stéroïdes. Quant à l'analyse quantitative, l'extrait EBCD présentait une teneur en polyphénols totaux de $100 \pm 16,17 \mu\text{g Eq AG/mg}$ et en flavonoïdes de $88,53 \pm 19,67 \mu\text{g Eq C/mg}$. Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues par **Popovici et al. (2021)**, qui ont trouvé $80,12 \mu\text{g Eq AG/mg}$ en polyphénols et $69,35 \mu\text{g Eq C/mg}$ en flavonoïdes dans un extrait hydroalcoolique d'écorce. De même, **Derakhshan et al. (2020)** ont rapporté des valeurs autour de $90 \mu\text{g Eq AG/mg}$ pour les écorces, confirmant la concentration élevée en composés antioxydants de cette partie de la plante.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH a montré que l'extrait EBCD possédait une IC_{50} de 0,053 mg/ml, ce qui est plus puissant que l'acide ascorbique (0,101 mg/ml) et le BHA (0,119 mg/ml). À titre de comparaison, **Granato et al. (2018)** ont mesuré une IC_{50} de 0,072 mg/ml pour un extrait méthanolique d'écorce de grenade, tandis que **Ben Saad et al. (2020)** ont trouvé une IC_{50} de 0,045 mg/ml pour un extrait aqueux. Le jus complet (EBJC) a révélé une faible activité antioxydante ($IC_{50} = 1,619 \text{ mg/ml}$), ce qui reste inférieur à ce que rapporte **Orhan et al. (2014)**, avec une IC_{50} de 0,742 mg/ml pour un jus commercial, suggérant que les conditions de préparation influencent fortement l'activité. La macération des graines (EBGM), quant à elle, n'a montré aucune activité détectable, ce qui est cohérent avec la gamme moins de 16%

L'huile extraite des graines a été analysée pour ses caractéristiques physico-chimiques. L'indice d'acide (IA) était de 0,57 %, inférieur à la valeur limite de 1 % fixée pour les huiles comestibles

non raffinées (Codex Alimentarius). L'indice de peroxyde (IP) était de 9 meq O₂/kg, indiquant un bon état de conservation (la norme étant <10 meq O₂/kg). Les indices de saponification (IS = 44,88 mg KOH/g) et d'ester (IE = 44,316 mg KOH/g) reflètent une bonne qualité avec une faible teneur en acides gras libres. **Abbasi et al. (2013)** ont rapporté des valeurs similaires avec un IA de 0,62 %, un IP de 8,1 meq O₂/kg et un IS de 45,2 mg KOH/g, confirmant la stabilité et la richesse lipidique de l'huile de graines de grenade. Ces paramètres rendent cette huile intéressante pour des applications cosmétiques et nutritionnelles.

Conclusion et prescriptives

Conclusion ET Prescriptives

Cette étude a mis en évidence les richesses phytochimiques et nutritionnelles de *Punica granatum* L., à travers l'analyse de ses différentes formes d'exploitation : extraits de graines et d'écorces, ainsi que jus complet (EBJC) et jus sans graines (EBJP). Les résultats ont montré que la décoction d'écorce (EBCD) présentait le meilleur profil bioactif, avec une forte teneur en polyphénols totaux (100 µg Eq AG/mg), une activité antioxydante très élevée ($IC_{50} = 0,053$ mg/ml), surpassant même l'acide ascorbique ($IC_{50} = 0,101$ mg/ml). Le jus complet a montré un bon rendement (31,12 %) mais une activité antioxydante plus modeste ($IC_{50} = 1,619$ mg/ml), ce qui reste cohérent avec la dilution naturelle des principes actifs dans la matrice liquide. Toutefois, il reste une source intéressante de composés bioactifs facilement accessibles dans l'alimentation quotidienne. Par ailleurs, l'huile issue des graines a présenté de bonnes qualités chimiques (IA = 0,564 %, IP = 9 meq O₂/kg), ce qui la rend apte à une utilisation nutritionnelle et cosmétique.

Les résultats de ce travail soulignent le potentiel de *Punica granatum* comme aliment fonctionnel. Le jus, en particulier, constitue une source naturelle de composés phénoliques aux effets bénéfiques pour la santé cardiovasculaire, la régulation glycémique et la protection contre le stress oxydatif, comme suggéré par plusieurs études cliniques. Bien que son activité antioxydante soit inférieure à celle des extraits concentrés, sa consommation régulière peut avoir un effet cumulatif préventif.

De plus, l'utilisation des sous-produits (écorces, graines) pour formuler des compléments alimentaires ou enrichir des produits nutritionnels (barres, poudres, huiles) représente une voie prometteuse de valorisation. Il serait pertinent à l'avenir de tester l'effet synergique du jus et des extraits sur des modèles biologiques, et d'évaluer leur impact sur des biomarqueurs du stress oxydatif et de l'inflammation chez l'homme.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

6. **Abbasi, M. M., et al.** (2013). Oil Characterization and Lipid Class Composition of Pomegranate Seeds. *Journal of Food Science and Technology*, 50(2), 234–239.
7. **Al-Muammar, M. N., & Khan, F.** (2012). Obesity: The preventive role of the pomegranate (*Punica granatum*). *Nutrition*, 28(6), 595–604.
8. **Archana, P., Anita, B., & Sushma, K.** (2012). A review: *Punica granatum* – The divine fruit. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(6), 16–22.
9. **Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P.** (2005). Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89(1), 27–3
10. **Bekir, J., Mars, M., Souchard, J. P., Bouajila, J.** (2013). Chemical composition and antioxidant activity of methanolic extract of *Punica granatum* L. *Industrial Crops and Products*, 42, 587–595.
11. **Ben Saad, H., et al.** (2020) Pomegranate peel extracts as natural antioxidants in meat products: A systematic review *Antioxidants* 9(3), 241.
12. **Benkherbache, F., & Benkherbache, N.** (2021). Usages traditionnels et propriétés médicinales du grenadier (*Punica granatum* L.). *Revue des Sciences Biologiques et de la Santé*, 2(1), 45–60.
13. **Benosman, A., & Mamchaoui, T.** (2005) Contrôle qualité des huiles végétales : Méthodes physico-chimiques. *Revue des Sciences et Technologies*, 12(2), 45-52.
14. **Benyahkem, M., Lamri, K., & Hadjadj, S.** (2018). Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de feuilles de *Punica granatum* L. (Mémoire de master, Université Kasdi Merbah – Ouargla). DSpace – Université de Ouargla. <http://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/handle/123456789/14657>
15. **Bhullar, K. S., & Rupasinghe, H. P. V.** (2013). Polyphenols: Multipotent therapeutic agents in neurodegenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, Article ID 891748.
16. **Bibi Sadeer, N., et al.** (2020) Versatile applications of the DPPH assay in the evaluation of antioxidant activity: A review. *MethodsX*, 7, 101044.
17. **Bidie, A. P., Ndukwu, B. C., & Kouakou, T. H.** (2011). Evaluation de l'activité antioxydante de quelques plantes médicinales de Côte d'Ivoire. *Phytothérapie*, 9(4), 241–246.
18. **Blois, M. S.** (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200.
19. **Bouchareb, K., & Ben Kabouya, N.** (2021). Étude des bio-agresseurs du grenadier dans la palmeraie de Ghardaïa (Mémoire de master, Université de Ghardaïa). Thèses-Algérie. <https://theses-algerie.com/1778993571601446>.
20. **Brahimi, F., & Terrai, B.** (2018) Screening phytochimique et activité antioxydante de *Punica granatum* L. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 10(2), 420-435.
21. **Bruce Fife, C.N., & Fife, J.P.** (2012) *The Coconut Oil Miracle* Penguin Group, 5th Edition. (Ouvrage général sur les dommages cellulaires causés par les radicaux libres, notamment les membranes cellulaires). ISBN: 978-1-58333-204-5
22. **Bruneton, J.** (1999) *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales* (4ème éd.). Lavoisier Tec & Doc.

Références bibliographiques

23. **Calin, S. A., & Carboneli, B. A.** (2005). La grenade cultivées en Espagne punicalogine anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans les l'aliment fonctionnelle du fruit. livre. Natural antioxydant granatum et université Miguel Hernandez EDS. Murcia Espagne, 77p.
24. **Derakhshan, S., Ferrante, M., Tadi, M., Ansari, F., Heydari, A., & Hosseini, M. S.** (2020). Pomegranate (*Punica granatum* L.) and Its Promise as an Anti-Cancer Fruit: A Review of Current Evidence. *Journal of Ethnopharmacology*, 257, 112682.
25. **Echegaray, N., et al.** (2021) Recent advances in the application of the ABTS•⁺ assay for antioxidant activity assessment. *Food Chemistry*, 348, 129074.
26. **Edeas, M.** (2010). Antioxidants and redox signaling in human health and diseases: The future of redox medicine. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 64(7), 427–428.
27. **El-Haci, I. A., Bekkara, F. A., Mazari, W., & Gherib, M.** (2012). Phytochemical screening and antioxidant activity of some medicinal plants from North-West Algeria. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(10), 728–734.
28. **Evreinoff, V. A.** (1957). Contribution à l'étude du Grenadier. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 4(3), 124-138
29. **Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M.J.** (2005) Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1370-1373.
30. **Granato, D., Nunes, D. S., & Barba, F. J.** (2018). An integrated strategy between food chemistry, statistics, and machine learning to develop functional foods with bioactive compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 72, 115–126.
31. **Granato, D., Nunes, D. S., & Barba, F. J.** (2018). Extraction, Identification, and Quantification of Bioactive Compounds from Pomegranate Peel. *Food Chemistry*, 267, 254–260. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.142>
32. **Hadjib, A., El Amraoui, B., & El Amraoui, M.** (2021). Chemical characterization and antioxidant activity of pomegranate seed oil. *OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 28, 12.
33. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., & Cheramy-Bien, J. P.** (2007). Evolution of oxidative stress parameters during heart surgery. *Current Medicinal Chemistry*, 14(7), 705–717.
34. **Halliwell, B.** (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research Communications*, 9(1), 1–32.
35. **Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C.** (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine* (5th ed.). Oxford University Press. 978-0-19-871747-8
36. **Hammoudi, R.** (2015) Évaluation du potentiel antioxydant des plantes médicinales algériennes : Approches chimiques et biologiques Thèse de Doctorat, Université d'Alger.
37. **Harborne, J.B.** (1998) *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (3rd ed.). Springer Science & Business Media.
38. **Hmid, I., Elothmani, D., Hanine, H., Oukabli, A., & Mehinagic, E.** (2013) Comparative study of phenolic compounds and their antioxidant attributes of pomegranate juices from different cultivars grown in Morocco. *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5869-5877

Références bibliographiques

39. **Holland, B., Welch, A. A., Unwin, I. D., Buss, D. H., Paul, A. A., & Southgate, D. A. T.** (2009). McCance and Widdowson's The Composition of Foods (6th ed.). Royal Society of Chemistry.
40. **IPNI (International Plant Names Index).** (2023). *Punica granatum* L. IPNI. <https://www.ipni.org/n/729187-1>
41. **Ismail, T., Sestili, P., & Akhtar, S.** (2012). Pomegranate peel and fruit extracts : A review of potential anti-inflammatory and antioxidant activities in health promotion. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2), 397_405.
42. **Kabramanoglu, S.** (2016). Postharvest quality of pomegranate fruit (Doctoral dissertation, Çukurova University).
43. **Landry, J., & Newman, R. A.** (2007). Pomegranate and its potential impact on health. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 7(3–4), 273–285.
44. **Lansky, E. P., & Newman, R. A.** (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2), 177–206.
45. **Maataoui, S., Hmyene, A., Hilali, S., & Ziyat, A.** (2006) Évaluation de l'activité antioxydante de différentes variétés marocaines d'huile d'olive par la méthode DPPH *Biologie & Santé*, 6(2), 45-52.
46. **Majhenič, L., Škerget, M., & Knez, Ž.** (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104(3), 1258–1268.
47. **Mancinelli, R., Fabrizi, M., Pallottini, V., Letizia, C., Migliorati, G., & Moroni, N.** (2011). Oxidative stress and steroid hormones. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 5(1), 31–36.
48. **Mironczuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E.** (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, 63(1), 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005>
49. **Moon, J. K., & Shibamoto, T.** (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1655–1666.
50. **Nimse, S. B., & Pal, D.** (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006.
51. **Orhan, I. E., Özçelik, B., Kartal, M., & Kan, Y.** (2014). Antimicrobial and antiviral effects of essential oils from selected Umbelliferae and Labiatae plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(1), 61–67.
52. **Orhan, I., et al** (2014) Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish pomegranate cultivars *Food Chemistry* 153, 149-156
53. **Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L.** (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619–4626.
54. **Popovici, C., Saykova, I., & Tuchiluş, C.** (2021). In Vitro Evaluation of Biological Activities and Phytochemical Analysis of Different Solvent Extracts of *Punica granatum* L. *Plants*, 10(12), 2742.
55. **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.

Références bibliographiques

56. Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer : How are they linked ? Free Radical Biology and Medicine, 49(11), 1603–1616.
57. Righi, N., & Boukhalat, S. (2021) Nouvelles méthodes d'évaluation des antioxydants naturels Revue critique. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 35(1), 1-15.
58. Saad, H., Charrier-El Bouhtoury, F., Pizzi, A., Rode, K., Charrier, B., & Ayed, N. (2013). Characterization of pomegranate peels tannin extractives. Industrial Crops and Products, 40, 239-24
59. Seeram, N. P., Zhang, Y., Reed, J. D., Krueger, C. G., & Vaya, J. (2006). Pomegranate phytochemicals. In R. R. Watson (Ed.), Pomegranate: Ancient Roots to Modern Medicine (pp. 3–29). CRC Press.
60. Shaygannia, E., Bahmani, M., Zamanzad, B., & Rafieian-Kopaei, M. (2016). A review study on *Punica granatum* L. Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine, 21(3), 221–227.
61. Shaygannia, E., Bahmani, M., Zamanzad, B., & Rafieian-Kopaei, M. (2016). A review study on *Punica granatum* L. Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine, 21(3), 221–227.
62. Sies, H. (1991). Oxidative stress : From basic research to clinical application. The American Journal of Medicine, 91(3C), 31S–38S.
63. Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 21(7), 363–383.
64. Sitzia, M. (2009). La grenade : Histoire, symbolique et usages traditionnels. Journal of Ethnobiology and Traditional Medicine, 112(3), 45-58.
65. Spilmont, M. (2013) Pomegranate juice and its polyphenols exhibit potent neuroprotective effects in Alzheimer's disease models. Journal of Nutritional Biochemistry, 24(12), 2235-2243
66. Still, D. W. (2006). Pomegranate: A literature review. Journal of Medicinal Plants Research, 1(3), 45–52.
67. Sweidan, A., Al-Dabbas, M. M., & Al-Qudah, M. A. (2023). Phytochemical Content and Biological Activities of Jordanian Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peels Extracts. Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences, 16(1), 33–45.
68. Tchouar, N., Benalia, M., & Yousfi, M. (2014) Caractérisation physico-chimique des huiles végétales : Application aux huiles d'olive et de graines. Revue des Sciences et Technologies, 25(1), 12-20.
69. Tüfekci, M., & Duman, R. (2020) Optimization of oil extraction from pomegranate seeds using response surface methodology Journal of the American Oil Chemists' Society, 97(4), 355-365.
70. Vermeris, W., & Nicholson, R. (2006) Phenolic Compound Biochemistry Springer. ISBN: 978-1-4020-5163-0.
71. Vinha-Martos, M., Rocha, L., & Pinto, E. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of pomegranate juice and peel. Food Chemistry, 123(2), 377–384.
72. Wald, D., Danilenko, M., & Amir, H. (2009) Comparative antioxidant activity of pomegranate juice against other fruit juices: Role of polyphenols in neurodegenerative disease prevention. Food Chemistry, 115(4), 1297-1305.

Références bibliographiques

73. **Wojtunik-Kulesza, K.A., et al.** (2020) Optimization of the FRAP assay for in-lab and in-field applications: Sensitivity, reproducibility, and correlation with total phenolics and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 315, 126291.