الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES
Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

En Sciences Agronomique

Spécialité : Phytopathologie

Thème

Etude comparative des activités biologiques des extraits aqueux et alcoolique de grenadier (*Punica* GranatumL) sur certaines bioagressurs

Présenté par :

Melle MIRENNAS Leila

Melle NETTAH Nesrine

Devant le jury composé de :

Mme Chaouati . k	MAA	U. Médéa	Examinatrice
Mme Khallaf Nora	MCB	U. Médéa	Examinatrice
Mme Sehari Nadia Hanane	MCB	U. Médéa	Encadreur
Mme Siouda waffa	MCB	U. Médéa	Co-encadreur

Année universitaire 2021/2022

Remerciements

Avant tout nous remercions le bon dieu tout puissant de nous avoir donnée le courage, la valenté et la patience pour terminer ce travail.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de l'université ***Dr Yahia Fares de Médéa.***

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre ***encadreur Mme Sehari Nadia hanane*** *et à notre* ***Co-encadreur Mme Saiouda Wafaa*** *pour l'aide compétente qu'elles nous ont apportée, pour leur patience, leur confiance, leur encouragement, et leur œil critique qui nous a été très précieux pour structurer notre travail de fin d'études, nous les remercions vivement.*

Nous adressons notre sincère remerciement aux membres de jury qui ont accepté de'éxaminer ce modestre travil en particullier Mme ***Khallaf Nora*** *comme présidente de jury, et* ***Mme Chaouati Karíma.***

Nos remerciements à tous les techniciens de laboratoires du département de Science de la nature et de vie pour leurs contributions à notre réussite au terme de ce modeste.
Nos remerciements aux ingénieurs et technicien de laboraroire de chimie organique université d'oran pour la réaliqation de la spectroscopie FTIR.
Enfin nous remercions touts ceux qui nous ont aidée de loin ou de prés pour teminé ce mémoire.

Dédicace :

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents

A ma mère , son sourire est mon but,

et sous ses pieds mon paradis à celle qui ma porté dans son ventre,

et ma tiré de sa poitrine et a fait de moi son couer, alors elle

m'a comblé de son amour ….

Je t'aime ma maman .

A mon pére, qui aspirait à mon succés..Et qui la raison de mon succés …

Que dieu ait pitié de toi,mon pére bien-aimé,tu es un

Un morceau de mon cœur.

A mon compagnon de vie, mon fiancé et mon amour Ishak…

Qui m'a setenu tout à long de mon parcours d'étude

Et je le remercie pour toute le confiance et l'amour.

Et je n'oublierai jamais sa famille…surtout sa mére Taouss

A mes chéres sœurs : omelkhair, ghania, sabah,

ma belle sœur zohra, sara et chaima

Mes sœur sont le secret de mon succés

Dédicace spécial pour ma cousine Khadra et sa petite fille Latifa

A mes chèrs cousines : Rebeh,fatma,karima et khaira

A mes chérs fréres : laoumouri, noureddine et mohamed

A tous les petits enfants de ma famille :Rima, Safia, yassmine,Manar

Mohamed, Idriss, islam, adem,chouaib et younes

A toute ma famille, surtout mon oncle et sa femme

Lakhdar et Nacira

A ma chère binôme Nesrine et toute sa famille surtout ma chére Abiir

Nesrine Ma douce sœur qui a eu la patience de me supporter.

A tous mes amis : Ma belle chaima, abir, meriem el batoul,khadidja, fadoua ,

assia, Lamia, Assma.,meriem,noura,touha, Maroua, Assma, sihem, Khaoula,

Kanza, wissem, Nadia

Dédicaces

Je le dédie :

À toutes personnes qui me sont chères-

A ma chère mère

A cette mère courageuse et forte qui m'a protégé de toutes ses forces

Et qui m'aime de tout son cœur et qui a guide mes

Pas qui a l'origine de toutes mes réussites ;

A maman qui m'a tout donné je t'aimerais toujours

A mon cher père

A mon cher papa grâce à toi j'ai appris le sens du travail et de la

Responsabilité, ce modeste travail est le fruit de tous les

Sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation

A mes chers frères

Walid et Mohamed merci m'avoir toujours supporté dans mes décisions

Et votre amour et votre confiance

A ma chère sœur Abir

La vie m'a fait un très beau cadeau en faisant de toi ma sœur

A ma belle-sœur Ilham et mon neveu

Abdallah qui a apporté beaucoup du bonheur à notre famille

A toute ma famille Nettah et khelifi

A ma chère binôme Leila et toute sa famille

Ma douce sœur qui a eu la patience de me supporter

A tous mes amis

Résumé :

En Agriculture, la lutte contre les ravageurs et bioagresseurs (fongiques et bactériens, en particulier) repose principalement sur l'utilisation de pesticides chimiques qui, malheureusement, perdent de leur efficacité face à des parasites qui développent de plus de plus de résistance à leur encontre suite à leur application répétée. Par conséquent, comme alternative pour remplacer ces pesticides chimiques dans la protection des cultures, beaucoup de chercheurs se penchent sur l'utilisation de métabolites secondaires de certaines plantes spontanées comme bioprotectants ou le recyclage des déchées de plantes. A cet effet, les différents travaux, réalisés au cours de ce memoire, ont permis de déterminer la composition chimique et de mettre en exergue les propriétés antifongique et antioxydantes d'extraits de grenadier (*Punica granatum*) à l'égard de microorganismes fongiques rencontrée dans les denrées alimentaires stockées *(aspergilus flavus, Aspergillus nig).* La grenade possédée une fortement activité antioxydantes, L'analyse photochimique de la poudre des écorces de la grenade par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier ou spectroscopie FTIR a révélé la présence de différentes familles de composés chimiques, on note la présence de certains acides phénoliques dans les extraits végétaux tels que p-acide coumarique, l'acide ferulique, et **punicalagine,** principale Responsable des propriétés antioxydantes de ce fruit. Le rendement en extraits de plantes le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique 37.07 %, par rapport aux éxtrait ethanolique et aquex, ce qui nous améne a dire que le méthanol est le meilleurs solvant des composées chimique des écorces de la grenade. Pour l'activité antifongique des éxtaits étudiers celle de l'éxtarit méthanolique a donne un effet très fortement inhibiteur contre les deux souches fongiques étudiers, avec un diamètre d'inhibition maximal 31,66 mm pour la prévenance de Médéa et de 37 ;46mm pour la povenece Tlemcen. Ces résultas sont confirmés par les analyse statistique ($p<0,0001$) réalisées au cours de ce travail.

Les mots clés : punica granatum, activité antioxydante, antifongique, diamètre d'inhibition, l'extrait de l'écorce.

ملخص :

في الزراعة ، تعتمد مكافحة الآفات والمضادات الحيوية (الفطرية والبكتيرية على وجه الخصوص) بشكل أساسي على استخدام مبيدات الآفات الكيميائية التي ، للأسف ، تفقد فعاليتها في مواجهة الطفيليات التي تكتسب مقاومة متزايدة ضدها. . لذلك ، كبديل لاستبدال مبيدات الآفات الكيميائية هذه في حماية المحاصيل ، يبحث العديد من الباحثين في استخدام المستقلبات الثانوية لبعض النباتات التلقائية كمواد حماية حيوية أو إعادة تدوير نفايات النباتات. تحقيقا لهذه الغاية ، جعلت الأعمال المختلفة التي أجريت خلال هذه الرسالة من الممكن تحديد التركيب الكيميائي وتسليط الضوء على الخصائص المضادة) فيما يتعلق بالكائنات ***Punica granatum*** للفطريات ومضادات الأكسدة لمستخلصات الرمان (نيج). ***Aspergillus***، ***Aspergillus flavus*** الدقيقة الفطرية الموجودة في المواد الغذائية المخزنة (يحتوي الرمان على نشاط مضاد للأكسدة قوي ، وقد أظهر التحليل الكيميائي الضوئي لمسحوق قشر وجود ***FTIR*** الرمان بواسطة التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء لتحويل فورييه أو التحليل الطيفي عائلات مختلفة من المركبات الكيميائية ، ونلاحظ وجود بعض الأحماض الفينولية في المستخلصات حمض ، وحمض الفيروليك ، وبونيكالاجين ، وهي المسؤولة الرئيسية عن ***p-coumaric*** النباتية مثل الخصائص المضادة للأكسدة لهذه الفاكهة. ولوحظ أعلى إنتاج للمستخلصات النباتية مع المستخلص الميثانولي 37.07٪ ، مقارنة بالمستخلصات الإيثانولية والمائية ، الأمر الذي يقودنا إلى القول بأن الميثانول هو أفضل مذيب للمركبات الكيميائية لقشور الرمان. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للفطريات للمستخلصات المدروسة ، أعطى المستخلص الميثانولي تأثيرًا مثبطًا قويًا للغاية ضد السلالتين الفطريتين المدروستين ، مع أقصى قطر للتثبيط يبلغ 31.66 مم لمخاوف ميديا و 37 ؛ 46 مم لمحافظة تلمسان. تم <0.0001) الذي تم إجراؤه خلال هذا العمل. ***p*** تأكيد هذه النتائج من خلال التحليل الإحصائي (

، نشاط مضاد للأكسدة ، مضاد للفطريات ، قطر التثبيط ، ***Punica granatum*** الكلمات المفتاحية:

مستخلص اللحاء

Abstract:

In Agriculture, the fight against pests and bioaggressors (fungal and bacterial, in particular) is mainly based on the use of chemical pesticides, which, unfortunately, lose their effectiveness in the face of parasites, which are increasingly developing resistance against them. Following their repeated application. Therefore, as an alternative to replace these chemical pesticides in crop protection, many researchers are looking into the use of secondary metabolites of certain spontaneous plants as bioprotectants or the recycling of plant waste. To this end, the various works carried out during this thesis have made it possible to determine the chemical composition and to highlight the antifungal and antioxidant properties of pomegranate extracts (Punica granatum) with regard to fungal microorganisms encountered in stored foodstuffs (aspergilus flavus, Aspergillus nig). The pomegranate has a strong antioxidant activity, The photochemical analysis of the pomegranate peel powder by Fourier transform infrared spectroscopy or FTIR spectroscopy revealed the presence of different families of chemical compounds, we note the presence of certain phenolic acids in plant extracts such as p-coumaric acid, ferulic acid, and punicalagin, the main responsible for the antioxidant properties of this fruit. The highest yield of plant extracts was observed with the methanolic extract 37.07%, compared to the ethanolic and aqueous extracts, which leads us to say that methanol is the best solvent for the chemical compounds of the pomegranate peels for the antifungal activity of the extracts studied, that of the methanolic extract gave a very strong inhibitory effect against the two fungal strains studied, with a maximum diameter of inhibition of 31.66 mm for the concern of Médéa and 37; 46 mm for the province of Tlemcen. These results are confirmed by the statistical analysis ($p<0.0001$) carried out during this work.

Key words: punica granatum, antioxidant activity, antifungal, inhibition diameter, bark extract.

Liste des figures :

1 fruit, fleur, feuille, graines et écorce du Punica Granatum……..... 04

2 Arbre de grenadier (Punica Granatum L) ……..05

3 les feuilles du grenadier. ……06

4 les fleurs du grenadie……..06

5 le fruit du Punica Granatum L…… ..……..07

6 les fruits (graine, écorce) de grenade. …….……....07

7 les écorces séchées du grenadier……08

8 principale variétés de grenade dans le monde et en Algérie ……10

9 Photo de la coupe transversale du fruit du grenadier variété Sefri (a), variété Kabylie(b) et variété Wonderful (c) ……...……. 11

10 Répartition géographique de Punica Granatum L ……12

11 différentes utilisations de grenadier …….14

12 six classe de flavonoïdes …… 15

13 structure chimique des tannins (a) hydrolysables, (b) condensés. …….. 17

14 structure chimique de coumarine. ……..……..... 18

15 structure des acides benzoïques……..... 18

16 structure chimique de quelques acides cinnamiques …… 19

17 quelques exemples d'alcaloïdes……. 20

18 quelques structures des terpènes……. 21

19 Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production…….. 21

20 Réaction de test DPPH…… 22

21 activité antifongique…… 24

22 Organigramme des étapes d'étude des propriétés des différents Extraits

L'écorce de la Grenade……. 30

23 Photo du fruit et de la fleur (a), de la plante (b) et de l'écorce de

la grenade (c) …… 31

24 Carte de localisation de grenade dans la région de la wilaya de Médéa

(Ben chicao 36.19.8573,2.848721), …… 31

25 Carte de localisation de grenade dans la région de la wilaya deTlemcen …. 32

26 séchage et broyage des écorces du grenadier…… 32

27 procédure d'extraction aqueux. ……..34

28 Protocole de préparation d'extrait méthanolique par macération……...35

29 procédure d'extraction alcoolique……...36

30 Réduction du radical DPPH par un antioxydant……. 38

31 procédure de l'activité antioxydante……... 40

32 procédure d'activité antifongique. ……..43

33 Schémas de la méthode des aromatogrammes en boite de Pétri. L'activité antifongique est déterminée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques après 24h d'incubation à 37° C……..... 44

34 Rendement des différents extraits de l'écorce de la grenade (variétés Médéa et Tlemcen). ……...47

35 Analyse phytochimique de l'écorce de Grenade (Punica granatum) par

Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). …… …48

36 Analyse phytochimique de l'écorce de Grenade (Punica granatum) par

Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Région Tlemcen. …… ...49

37 Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH• des antioxydants des

Extraits testés……..51

38 Activité antioxydante de l'acide gallique vis-à-vis de DPPH. …….....52

39 Résultats des tests antifongiques de l'extrait (aqueux, éthanolique

et méthanolique) de l'écore de la grenade sur l'aspergillus Flavus

(variété de Médéa). …….....52

40 Effet des extraits aqueux et alcooliques des écorces de la grenade sure

Champignon aspergillus Flavus

(Variété de Médéa). ……..……..53

41: Résultats des tests antifongiques de l'extrait (aqueux, éthanolique

et méthanolique) de l'écore de la grenade sur l'aspergillus

Niger (variété de Médéa) ……54

42 Effet des extraits aqueux et alcoolique des écorces de la grenade sure

Champignon aspergillus Niger (variété de Médéa).…… …….....57

43 Résultats des tests antifongiques de l'extrait (aqueux) de l'écore de

la grenade sur l'aspergillus Flavus et Niger

(variété de Tlemcen). ……..……...57

44 Effet des extraits aqueux des écorces de la grenade sur champignon

Aspergillus Flavus et Niger (variété de Tlemcen). ……58

Liste des tableaux:

1 classification botanique du Punica Granatum…….…09

2 Listes des verreries, produits et appareille sutilisés pour l'extraction. ……..32

3 Matériel utilisé pour l'activité antioxydante. …… 36

4 matériels utilisés pour l'activité antifongique. …… 40

5 Caractéristiques des souches de aspergillus sur milieu PDA. ……41

6 Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne.

En 5 classes. …….44

7 rendement des différents extraits de l'écorce de la grenade (Variétés Médéa et Tlemcen) . ……....45

8 spectre phytochimique de la poudre de L'écorce de Grenade, Réalisé

par FTIR. ……...…… 49

9 Détermination du diamètre d'inhibition (mm) de l'extrait contre

Aspergillus Flavus. ……..…52

10 Analyse de la variance du diametre d'inhibition de la croissence fongique en fonction de la concentration des éxtraits…….54

11 Diamètre des zones d'inhibition de la croissance fongique

En 5 classes. (Dorman et al., 200). ……..……54

12 Détermination du diamètre d'inhibition (mm) de l'extrait contre

Aspergillus Flavus et Niger... ……56

13 Analyse de la variance du diametre d'inhibition de la croissence fongique en fonction de la concentration des éxtrait ……..58

Sommaire :

Introduction……..…… 01

Partie 1 : Générélité

Chapitre 1 : synthese bibliographique

I. Historique……...……03

II. Description générale……05

II.1. Les feuilles…….…..05

II.2. Les fleurs……06

II.3. Les fruits…….....07

II.3.1. Les écorces…… 08

III-Classification botanique ……09

IV. Variété de grenade……...…….09

V. Répartition géographique…… ..……....11

V.1. Dans le monde……..……...11

V.2. En Algérie……...…….. 12

VI. L'utilisation du Punica Granatum L……..…….....13

VI.1. Utilisation traditionnelle du Punica Granatum L…… .13

VI.2. Le domaine de pharmacologique……. .14

Partie 1 : Générélité

Chapitre 2 : Métabolites secondaire

I. Définition des métabolites…….. 16

I.1. Métabolites primaires……..…… 16

I.2. Métabolites secondaire ……..…… ……..16

I.2.1. Les composés phénoliques…….……... 17

I.2.1.1. Les flavonoïdes…….……... ..……17

I.2.1.2. Les tannins …… 18

I.2.1.3. Les coumarines…….. ……18

I.2.1.4. Les acides phénoliques……...……19

I.2.2. Les composés azotés ……...……..……..19

I.2.2.1. Les alcaloïdes ……..…….……20

I.2.2.2. Lesterpènoïdes …….……. ……....21

II. Le stress oxydant et les facteurs le favorisant……. ……....22

III. Activités biologiques de grenade…….....24

III.1. Activité antioxydant…… ..25

III. Mode d'action des

antioxydants……26

IV.1. Terpènes antioxydants……..……...23

IV.2. Polyphénols antioxydants Les composés phénoliques ……..…24

V. Radicaux libres……..27

VI. Activités antifongiques……....28

Partie 2 : Méthodologie

Chapitre 1 : Matériel et méthode

I. Matériel et Méthode …… 29

I.1. Méthode d'analyse …… ……29

I.2. Matériel végétale …… ……31

II.2.1. Séchage et broyage …… ……...32

I.2.1.1. Matériel d'extraction …… ……..32

I.2.1.2. Méthode d'extraction …… ……...33

I.2.1.2.1. Préparation de l'extrait aqueux …… …33

I.2.1.3.2.3. Préparation de l'extrait alcoolique

(éthanolique et Méthanolique) …… …….35

I.2.1.2. L'analyse phytochimique des extraits végétaux ……. 36

II.2.1.2. Utilisation du FTIR …… ……36

I.2.1.3. Test d'activité antioxydante ……... 36

I.2.1.3.1. Matériel utilisé ……37

I.2.1.3.2. Méthode d'activité antioxydante : ……. 37

I.2.1.3.2.1. Piégeage du radical DPPH : …….. 37

I.2.1.3.2.2. Principe …… ……..38

I.2.1.4. La méthode d'activité antioxydante ……... 39

I.2.1.4.1. Test d'activité antifongique : ……. 41

I.2.1.4.1. Matériel utilisé ……..... 41

I.2.1.4.1. La méthode d'activité antifongique ……..... .42

Partie 2 : Méthodologie

Chapitre 2 : Résultats et discussion

I.. Résultats et discussion ……. 45

I.1. Rendement d'extraction ……..…... 45

II. Utilisation du FTIR ……..……. 47

II.1. Résultats et interprétation ……..…… 48

II.2. Analyse phytochimique des extraits de

l'écorce de Grenade : …….. . 48

III. L'activité antioxydante DPPH …….. 48

IV. Interprétation des résultats d'activité antifongique ……. 52

IV.1. Effet fongicide des extraits aqueux et alcooliques de grenade sur aspergillus Flavus (variété Médéa) ……52

IV.2. Effet fongicide extrais de grenade sur aspergillus Niger

(variété Médéa): ……... 54

IV. Effet fongicide d'extraits aqueuse de grenade sur aspergillus

Flavus et Niger (variété Tlemcen) : ……. 56

Discission général ……. 58-59

Conclusion …… 60-61

Références …….. 62-65

Annexe ……66-74

Les abréviations :

EOA : espèce oxygéne activées

UV : ultra violet

PP : polyphénole

SOD : action des superoxydes dismutases

NOS : non synthése

CMI : concentration minimale inhibitrice

VCM : vitesse de croissance mycéluim

MES : masse d'extrait sec

PAM : programme alimentaire mondial

Db : diamétre de croissance du timoin

Da : diamétre de croissance de l'essai

D : diamétre de croissance du D

Di : diamétre de croissance de chaque jour et le temps d'incubation

M_0 : masse de poudre

FTIR : fourier transforme infra red spectroscopy

DPPH : 1-1déphényl 2-picryl-hydrosyl

DMSO : diméthyle sulboxyle

ROS : radicaux libre d'oxygéne

D_0 : densité optique

g : gramme

ml : mililitre

Introduction :

Avec la prise de conscience de l'impact environnemental et sanitaire des pesticides de synthèse et l'apparition de phénomènes de résistance face à ces produits, de nouveaux types de produits de protection des cultures font leur apparition : les bio-pesticides. Il s'agit de produits naturels d'origine végétale, animale ou microbienne, à priori moins rémanent et moins impactant pour l'environnement que les pesticides conventionnels. Car, en Agriculture, la lutte contre les ravageurs et bioagresseurs (fongiques et bactériens, en particulier) repose principalement sur l'utilisation de pesticides chimiques qui, malheureusement, perdent de leur efficacité face à des parasites qui développent de plus de plus de résistance à leur encontre suite à leur application répétée, (**Lamberth et al,. 2013**).

la recherche sur les plantes médicinales a attiré une attention particulière parce que ces plantes sont riches en métabolites secondaires (composés phénolique, tanins, flavonoïdes…), qui ont plusieurs propriétés antioxydants et antimicrobiennes qui peuvent construire une base de traitement ou de complément de traitement des maladies humaines **(Cowan,1999 ; Dahanukar et al., 2000).**

La grenade (*Punica granatum L*). est un fruit antique avec des antécédents médicaux. Sa peau épaisse, de même que ses cloisons internes sont riches en tanins ce qu'il lui confère un gout acres et amères. Les études sont montrées que les antioxydants trouvés dans la grenade ont des effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire **(Rosenblat et al., 2006).**

Les propriétés thérapeutiques potentielles du grenadier sont très variées et incluent traitement et prévention du cancer, les maladies cardiovasculaires, diabète, dysfonctionnement érectile et protection contre les radiations ultraviolettes. Ces activités thérapeutiques sont attribuées à différents mécanismes. La plupart des recherches se sont concentrées sur les propriétés antioxydant, anticarcirogénique, anti-inflammatoire et antidiabétique du grenadier. **(Ben Abdennebi, 2012).**

Les écorces de grenade (*Punica Granatum L*). Est une partie non comestible obtenue pendant le traitement de jus de grenade. La peau est une source riche en tannins, flavonoides et autre composés phénolique **(Li et al, 2006)**.

Ainsi, notre but est la valorisation des éxtraits des écorces de la grenade par la rechercher de nouveaux produits bioactifs naturels pour remplacer les pesticides chimiques afin de protéger les cultures et de préserver la santé humaine et l'environnement.

A cet effet, le présent travail est organisé en trois parties successives et complémentaires :

- La première partie est une recherche bibliographique qui compte deux chapitres:
- Chapitre 1 intitulé : généralité sur la grenade et chapitre 2 : les métabolites secondaires.
- La deuxième partie résume la partie expérimentale qui comporte quatre volets :
- Récolte et schage des écorces de la grenade de deux provenece différentes .
- Extraction et rendement des extraits végétaux.;
- Analyse des **propriétés antifongique et anti oxydantes** des extraits végétaux.
- la phytochimie des extraits végétaux
- La troisième et dernière partie est consacrée aux résultats obtenus, à leur interprétation et leur discussion pour terminer avec une conclusion générale et des perspectives.

Partie 1 :

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 :

Généralité sur la grenade

Punica Granatum (le grenadier)

Punica Granatum le nom vient latin *Malum Granatum* qui signifie (fruit à petits graines). **(Gagnon, 2020)**

I. Historique:

Depuis l'antiquité, l'homme utilisé les plante comme une source principale de nourriture par la suite s'est développé pour utiliser comme une source médicaments, remèdes afin de soigne les différentes maladies.

Parmi les plantes médicinales ayant un intérêt thérapeutique important figure le grenadier *(Punica Granatum L),* ce fruit avec un histoire médicale et très fréquemment consommé et employé en médicine traditionnelle en Algérie. **(Ali Sabrine et Abdou Djihane.2020).**

Les conditions pour le témoignage archéologique concernant le grenade sont mauvaises, puisque le fruit est la plupart du temps consommé frais et que la peau riche en eau éclaté lorsqu'on la chauffe comme des expériences le montrent seules les veilles grenades à la peau relativement desséchée ont une chance de fossiliser et d'arriver.

Les formes spontanées de grenadier *(Punica Granatum)* se rencontrent en Asie central dans une zone qui va du monde de l'Iran, de Transcaucasie au Türk méritant jusqu'au nord de l'Inde, elles seraient originaires des parties montagneuses de l'Asie Centro-occidentale.

Le grenadier est originaire du nord de l'Iran et de l'Afghanistan ou il couvre de grandes étendues à l'état spontané depuis 4000 ans. On le retrouve aussi sur des bas-reliefs égyptiens datant de 2500 ans avant le Christ (**Navarro *et al.*, 2011**).

Actuellement, les principaux pays de culture du grenadier sont l'Iran, l'Afghanistan, la Turquie et autour du Bassin Méditerranéen (Espagne, Italie, Grèce et Maroc). En Algérie, il fut introduit par les Phéniciens et les centres de culture sont en Oranie et la Mitidja**.** (**Mostaganem (**186 261 **Qx)**, Relizane **(**90 565 **Qx). (DSA, 2018).**

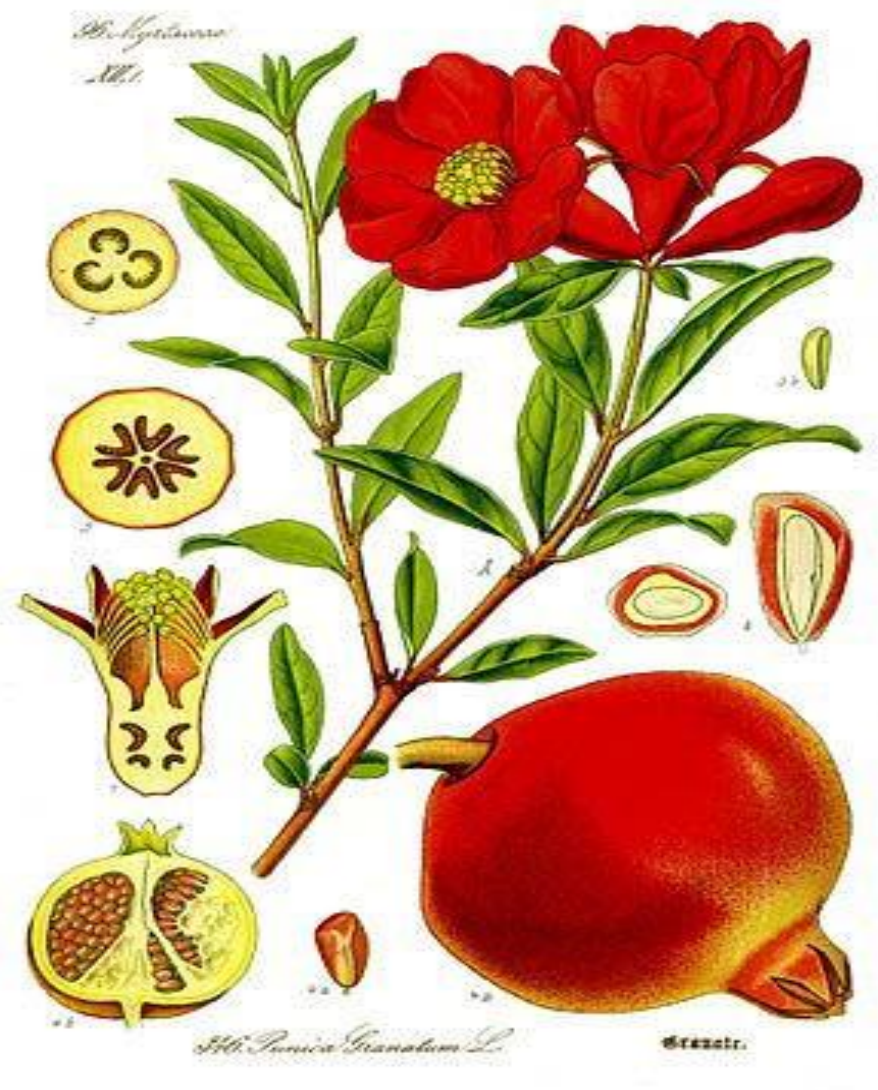


Figure 1 : fruit, fleur, feuille, graines et écorce du *Punica Granatum* **(ALHIJNA Odai Saleh Ali et BOURICH EL Habib, 2017).**

II. Description générale:

Le grenadier *punica granatum* famille de punicacées (lythracées), est un arbre à rameaux nombreux, les rameaux sont épineux pendant leur jeune âge.

Punica granatum est une petite *arbre* Monoïque autofertiele à peut arbustif qui peut atteindre 6 m de haute.



Figure 2 : Arbre de grenadier *(Punica Granatum L.*

Il peut vivre jusqu'à 200 ans mais est le plus productif en fruit dans ses 20 Premières années de fructification.

Son écorce est gris beige et à tendance à se crevasser et à desquamer avec l'âge.

(Dramchi Sofiene, 2015).

II.1. Les feuilles:

Les feuilles caduques, entières oblongues sont coriaces, vertes et luisantes, traversées par des veines rouges, à l'automne, le feuillage devient doré, très lumineux.

Les feuilles du grenadier contiennent des flavones, telles que la lutéoléine et l'apigénine avec des propriétés anxiolytiques, elles renferment également des tanins, comme la pinicaline et la pinicaligine. **(Ali Sabrine et Abdou Djihane, 2020).**



Figure 3: les feuilles du grenadier. **(Von Deutshland and Schweiz, 1885 in Ilham 2013).**

II.2. Les fleurs :

Les fleurs du grenadier, au calie tubulaire et coriace, sont solitaires ou regroupées en bouquets simple.

Les fleurs du Grenadier contiennent de l'acide gallique et des tri terpènes ursolique, acide oléanolique, comme l'acide asiatique, acide maslimique. **(Ali Sabrine et Abdou Djihane, 2020).**



Figure 4: les fleurs du grenadier.

II.3. Les fruits:

Les fruits du grenadier au péricarpe épais, coriace et surmonté des restes du calice en forme de couronne et très résistant, l'intérieur du fruit est divisé par de légères cloisons en quelques compartiments ou lages, chaque lage est remplie d'arilles : des graines polyédriques plus moins ligneuse et enveloppées d'un pulpe juteuse d'un rose grenat plus ou moins foncé suivant les variétés, seules celle-ci consommable. La partie comestible représente un peu plus de la moitié du poids du fruit. (**Fiche technique, Novembre 2019).**



Figure 5 : le fruit du *Punica Granatum L*



Figure 6: les fruits (graine, écorce) de grenade.

II.3.1. Les écorces:

L'écorce du fruit de la grenade 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 étalent appliquées, de saveur amère et astringente. **(Planchon, Colin, 1875, in Alhijna, Bourich, 2017, in Miloud Romaissa, 2019).**

La peau de la grenade est composée à 80% d'eau, de polysaccharides complexes (=8%), dont des polysaccharides solubles (=5%), représentés par des pectines et de l'hémicellulose. Elle contient aussi des minéraux, dont la potassium, calcium, phosphore et sodium **(Spilmon, 2013).**

L'écorce du fruit contient également deux importants acide hydroxy benzoïques, l'acide gallique et l'acide éllagique, elle renferme aussi des mol de nombreux ellagitanins sont aussi présents, tels que la punicaline, la punicalagine, la corilagine, la granatine A et la granatine B. écules sa coloration jaune et anthocyanidine, responsables de la couleur rouge de grenades. L'écorce de grenade se compose également, l'acide gras, de catéchines, de quercétines et de rutines **(Hmide, 2013).**



Figure7: les écorces séchées du grenadier. **(Original, 2022).**

III-Classification botanique :

Le grenadier, *Punica Granatum* a été décrit par Linné et introduite dans sa classification en 1753. Telle est cette classification, cette classification encore adaptée est décrite dans le tableau 1. **(Spichiger et al, 2009 in Benyahia, Hadbi, 2016, in Miloud Romaissa, 2019).**

Tableau 1 : classification botanique du *Punica Granatum*. **(Spiching et al, 2009 IN Benyahia, Hadbi, 2016 in, Miloud Romaissa, 2019).**

Embranchement	Angiosperme
Sous-embranchement	Dicotylédones varies
Classe	Gamopétales
Ordre	Myrtiflorales
Famille	Punicacées
Genre	Punica
Espèce	Punica Granatum

IV. Variété de grenade

Le grenade est un petit buisson qui atteint une hauteur d'à peu près un mètre. Il est utilisé comme plante ornementale. Il existe plus de 1000 variétés de Punica Granatum, en effet, la taille du fruit, la couleur de l'écorce et des graines, la dureté des pépins, la teneur en jus, l'acidité et l'astringence ainsi que la période de maturation sont les critères les plus utilisé pour les distinguer.

- Couleur de la peau : du rouge foncé au jaune pâle rosé
- Couleur des arilles : du rouge très foncé au rose transparent (peau commercialisé)
- Goût des arilles : acide ou doux

A l'heure actuelle, aucune différence entre les variétés au niveau de la taille du fruit ou de caractéristiques agronomiques n'a été mise en évidence, selon leur caractéristiques sensorielles et leur teneur en sucre et acide. **(BAYOU Samiha et KEROUM Amina, 2020).**

Les principales variétés dans le marché mondial sont :

- Wonderful
- Mollar de Elche
- Acco
- Hicaz

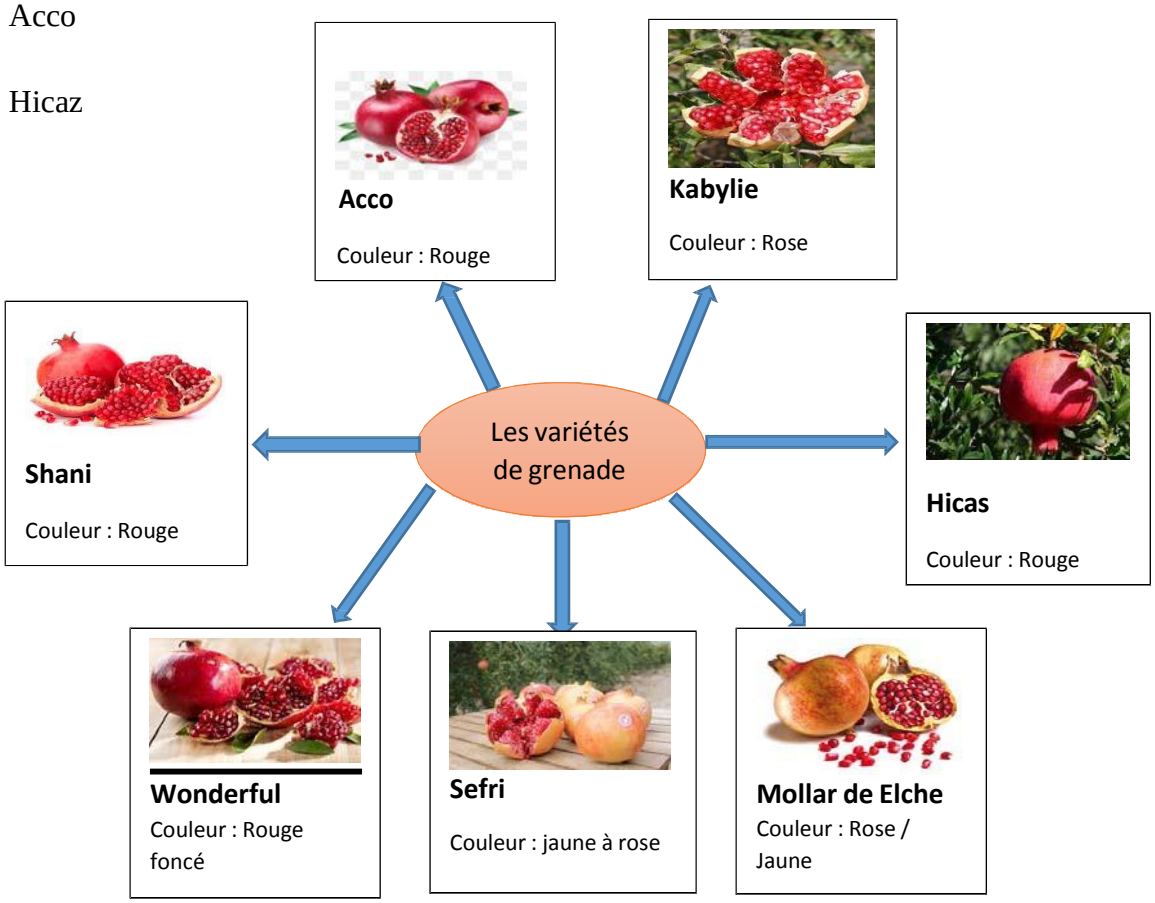


Figure 8 : principale variétés de grenade dans le monde et en Algérie **(BAYOU KERROUM Amina, 2020)**

Les deux principales variétés produites en Algérie sont :

- Sefri
- Kabylie
- Wonderful



(a) (b) (c)

Figure 9: Photo de la coupe transversale du fruit du grenadier variété **Sefri** (a), variété **Kabylie** (b) et variété Wonderful (c) (**Hmid, 2013).**

En Algérie, deux variétés sont très répandues: **la variété "Kabylie" et la variété " Sefri"** et qui sont à Gros fruit jaune (500g) et graine demi-tendre rose clair, juteuse et sucrée avec une Maturité en début octobre.

V. Répartition géographique:

V.1. Dans le monde:

La Punica Granatum est beaucoup cultivée dans le bassin méditerranéen (Espagnol, Italie, Grec, Algérie, Tunisie et Maroc…etc.).

De même en Amérique, on le rencontre déjà plus rarement dans le midi de la France, au Portugal, et en Bulgarie. **(Dramchi Sofiene, 2015).**

V. *En Algérie:*

Le grenadier est répandu dans toute l'Algérie et souvent Subspontané dans le Tell Algérois-constantinois. **(Dramchi Sofiane 2015).**

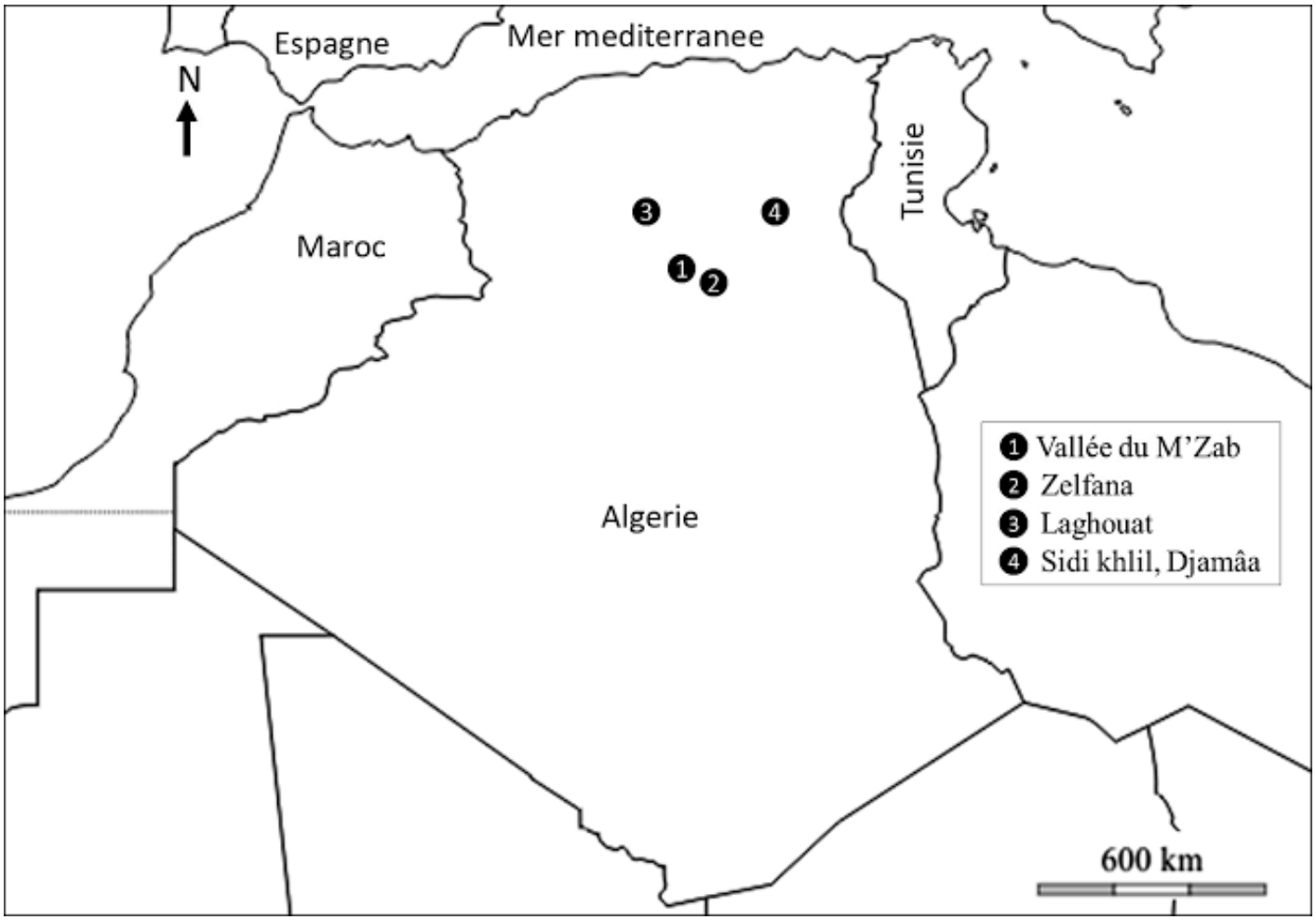


Figure 10 : Répartition géographique de *Punica Granatum L*

VI. *L'utilisation du Punica Granatum L:*

Le grenadier *(Punica Granatum)* a été domestique depuis l'Antiquité pour ses nombreuses propriétés et ses différents avantages. Le grenadier et ses fruits (les grenades) sont utilisés dans plusieurs domaines. Les principales utilisations du grenadier existent dans les domaines suivants :

L'alimentation, la santé, l'ornementation, l'industrie et la cosmétique…etc.

Depuis des milliers d'années et pour ses propriétés médicinales et thérapeutique, le grenadier *(Punica Granatum),* ses fruits ainsi que ses graines, ses écorces et ses fleurs sont utilisés comme remèdes pour guérir quelques maladies dans les régions de répartition du grenadier.

VI.1. Utilisation traditionnelle du Punica Granatum L :

A de soit traditionnellement utilisé dans l'alimentation courante, les différentes parties du grenadier sont utilisées en médecine traditionnelle dans plusieurs pays dans le monde depuis des centaines d'années. Grace aux recettes de grand-mères, cet arbre représente un candidat potentiel dans le cadre du développement de nouvelles stratégies préventives de l'apparition des diverses pathologies. D'autre utilisations sont également présente comme les teintures naturelles, la décoration et en cosmétique. **(Sitzia,2009, in Benkherbache Zouyna et Amira, 2021).**

VI.2. Le domaine de pharmacologique

Plusieurs médicaments à base d'extrait du grenadier sont utilisés pour lutter contre états inflammatoires, les maladies cardiovasculaires, ainsi que l'athérosclérose.

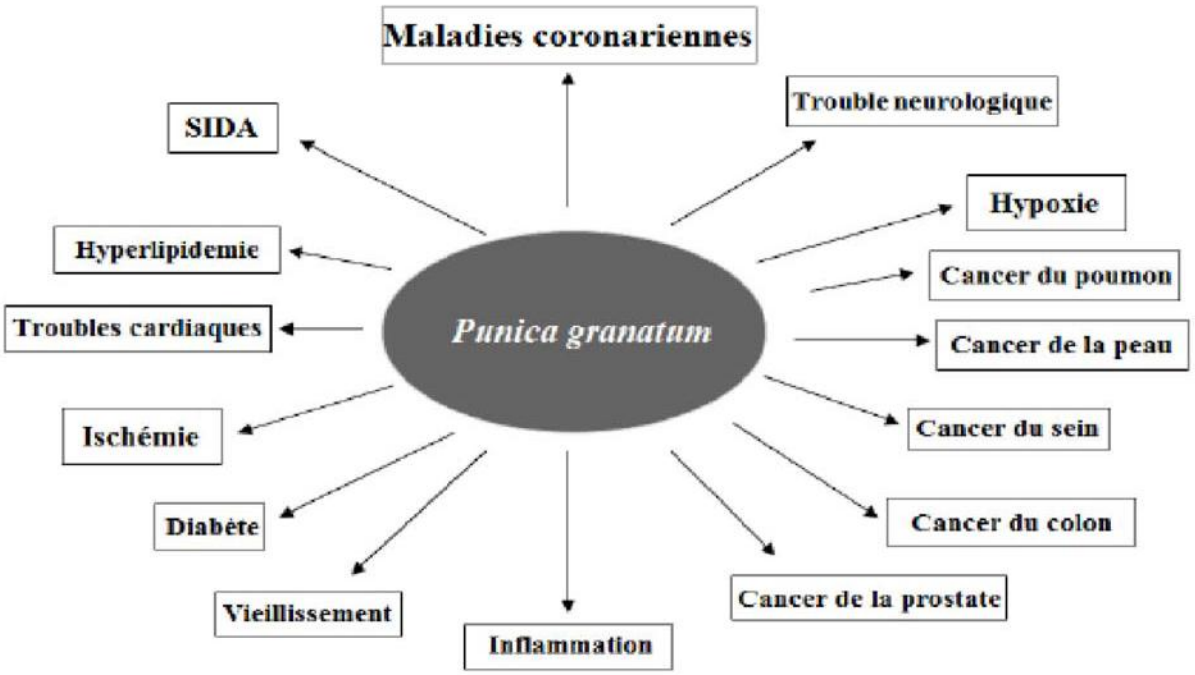


Figure 11 : Maladies traitées par *Punica Granatum* (**Seeram et al., 2006).**

Cela justifie son utilisation comme agent de conservation naturel car actuellement, on tend à substituer les agents chimiques ayant une activité anti-microbiologique et antioxydant par des agents naturels présents dans les fruits, les légumes et les herbes aromatiques (**Ayala- Zavala, et al., 2008; Lairini et al., 2014**).

VI.3. Le grenadier en médecine traditionnelle

L'intérêt thérapeutique des différents organes du grenadier (racines, fleurs, feuilles et fruits) a été réellement reconnu par le milieu médical dans plusieurs pays dans le monde. Leurs utilisations sont différentes d'une région à l'autre selon la partie utilisée, fraiche ou séchée.

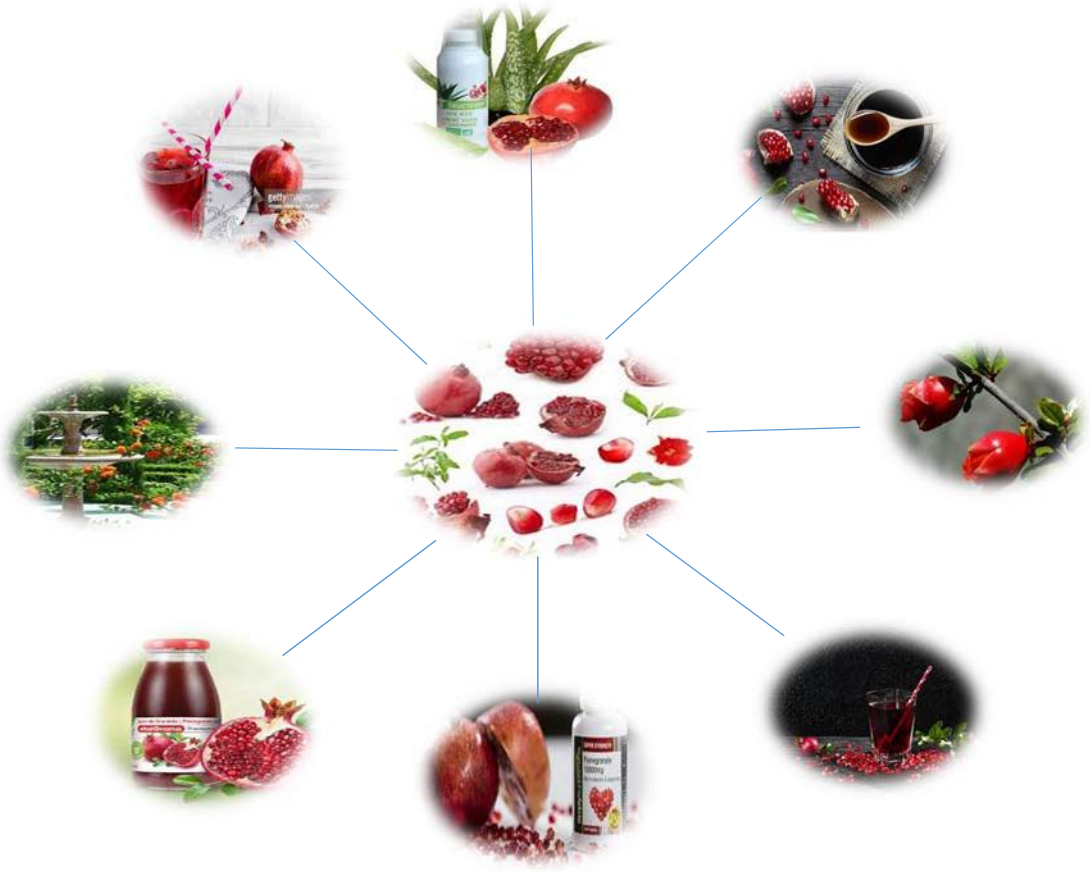


Figure 12 : différentes utilisations de grenadier **(BAYOU Samiha et KERROUM Amina, 2020).**

Chapitre 2:

Les métabolites secondaires

I. Définition des métabolites:

Les métabolites sont les produits intermédiaires du métabolisme. Le terme métabolite est généralement par définition limité à de petites molécules. Les métabolites ont diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, un stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes. **(Benguelil et Aouifour, 2017).**

I.1. Métabolites primaires:

Un métabolite primaire est un type de métabolite qui est directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme, c'est –à-dire une fonction intrinsèque. Les métabolites primaires rassemblent les acides aminés, les lipides, les carbohydrates et les acides nucléiques. Inversement, un métabolite secondaire n'est pas directement impliqué dans ces processus physiologiques fondamentaux (indispensable) d'un organisme, mais possède typiquement une fonction écologique importante (c'est-à-dire une fonction relationnelle). **(Khorssi, 2015).**

I.2. Métabolites secondaire:

Le fait que beaucoup de ces composés ne se pas rencontre pas chez toutes les espèces montre qu'il n'entre pas dans les métabolismes générale (primaire), ce sont les métabolites secondaires, qui n'exercent aucune fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétale (croissance, développement, reproduction…) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétale lui-même, rôle de défense, rôle de résistance. (**Merghem, 2009, in Djimli et kouiza, 2016).**

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (composés phénoliques, terpène, les alcaloïdes) qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans les domaines différents. Dans ce chapitre, nous avons essayé de les définir, classer, et présenter quelques activité biologiques et propriétés de ces composés. **(Ali Sabrine et Abdou Djihane, 2020).**

I.2.1. Les composés phénoliques:

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autre fonctions, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. **(J. Hadj Salem, 2009).**

I.2.1.1. Les flavonoïdes:

Le nom flavonoïde est issu du latin « flavus » qui signifie jaune. Ce sont des pigments qui sont responsables de la coloration des fruits et des fleurs. Les différentes couleurs dépendent de la structure mais également du PH du milieu. Ils peuvent avoir comme rôle d'attirer les insectes pollinisateurs.

Les flavonoïdes sont classés en six classes : anthocyane, flavonol, flavone, flavonone, isoflavone, flavanol. **(Douaouri, 2018, in HADDAD et al, 2020).**

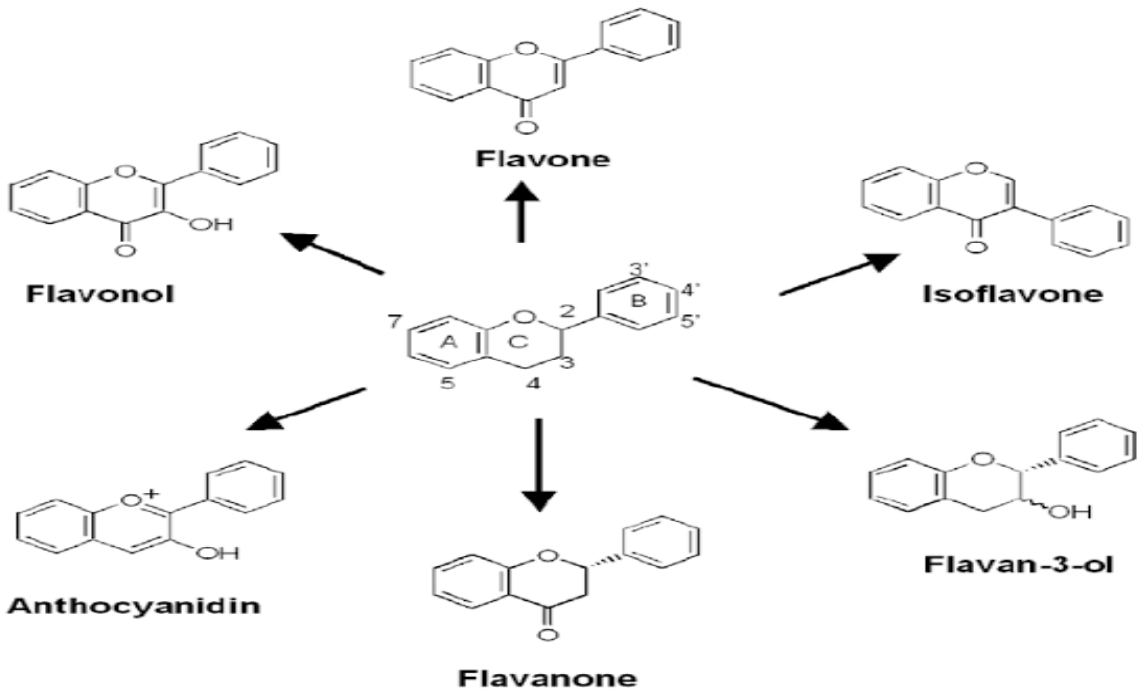


Figure 13: six classe de flavonoïdes

I.2.1.2. Les tannins :

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autre protéines, les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvé dans toute les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines. **(A. Sabrine et A. Djihane, 2020).**

Ils peuvent être classé en deux groupes : tannins hydrolysables et tannins condensés. Les tannins hydrolysables peuvent être ensuite divisés en gallotanins, qui fournissent du sucre et de l'acide gallique à hydrolyse, et les ellagitanins qui, par hydrolyse. **(Douaouri, 2018).**

Les tannins condensés, appelés aussi polyphénols ou paroanthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation Humaines, les tannins jouent un rôle important dans les qualités organoleptiques nutritionnelles des produits. **(Hmid, 2013).**

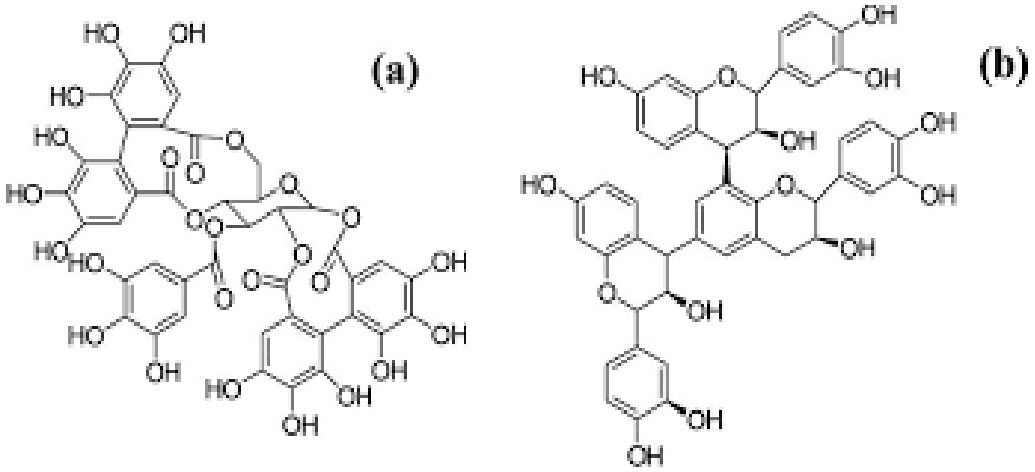


Figure 14 : structure chimique des tannins (a) hydrolysables, (b) condensés.

I.2.1.3. Les coumarines :

L'expression de coumarines a été introduite en 1820 par Vogel pour désigner tout hétérocyclique ayant un atome d'oxygéne. Ce sont des substances phénoliques obtenues par fusion de benzène avec L'a-pyrane, aboutissant à la formation du noyau benzopyrane. Les coumarines sont fréquemment hydrolysées en position 7 et ces hydroxyles peuvent être méthyles ou engagés dans une liaison hétérosidique. **(N. Boussalah, 2012).**

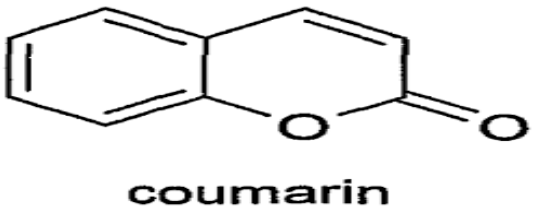


Figure 15 : structure chimique de coumarine

I.2.1.4. Les acides phénoliques :

La dénomination générale d'acide phénolique englobe, d'une part les acides benzoïques en C6- C1 et d'autre part les acides cinnamiques en C6- C3. Les principaux acides benzoïques sont : l'acide p-hydrixybenzoique, l'acide protocatéchique, l'acide vanillique et l'acide gallique. Ce dernier est largement rependu comme constituant des tannins hydrolysables. **(A. Sabrine et A. Djihane, 2020).**

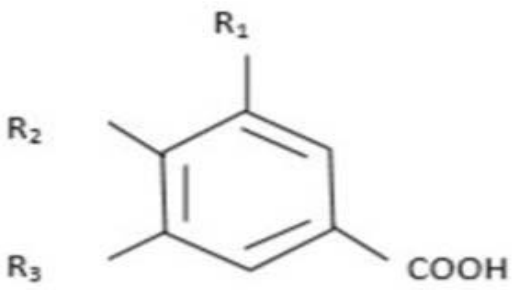


Figure 16 : structure des acides benzoïques **(A. Sabrine et A. Djihane, 2020).**

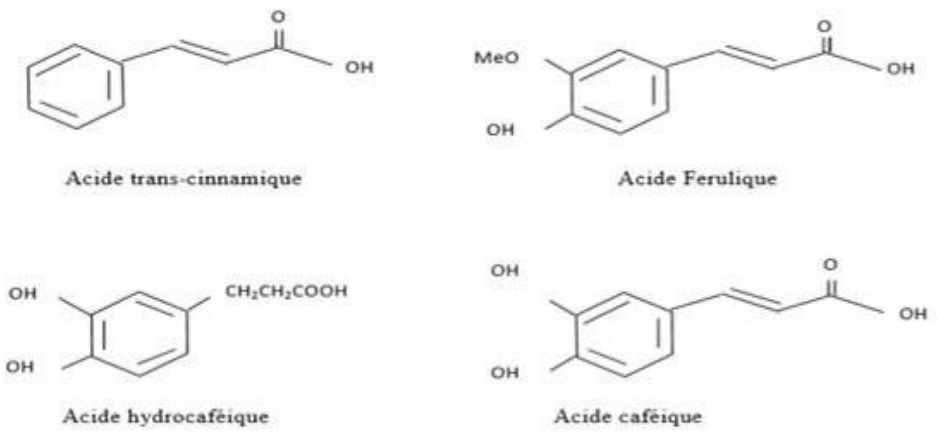


Figure 17 : structure chimique de quelques acides cinnamiques

(A. Sabrine et A. Djihane, 2020).

I.2.2. Les composés azotés:

I.2.2.1. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des molécules de structure complexes cyclique et azotées, relativement stables plus ou moins basique. Les alcaloïdes sont insolubles dans l'eau. On distingue ainsi trois grandes classe : les alcaloïdes vrais, les proto-alcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes. **(G. Aicha,2016).**

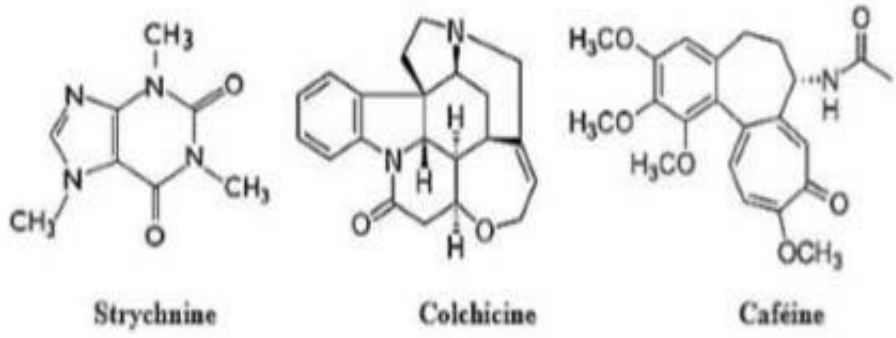


Figure 18: quelques exemples d'alcaloïdes **(H. Baddiar, 2016, in A. Sabrine et A. Djihane, 2020).**

I.2.2.2. Lesterpènoïdes :

Les terpènes ou isoterpènoides sont des composés issus de la condensation de l'isoprène, cycliques ou acyclique. Ils peuvent être classés en fonction du nombre de carbone. Ce sont des composés protecteurs des végétaux face aux stress. **(G. Aicha, 2016).**

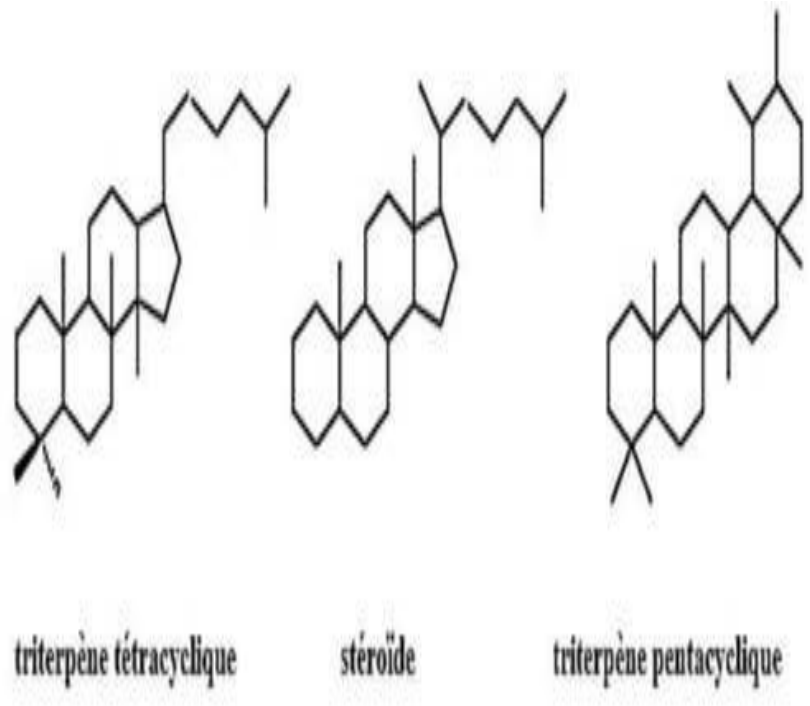


Figure 19 : quelques structures des terpènes **(H. Baddiar, 2016).**

II. Stress oxydant:

II.1. Généralité:

Le stress oxydatif, ou stress oxydant, est l'agression des cellules par des radicaux libres aussi appelés « espèces réactives de l'oxygène », qui sont des atomes ou des molécules devenus très instables (réactifs) et qui peuvent interagir avec les composants des cellules et les endommages. **(Psycho média, publié le 10 novembre 2017).**

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydants de l'organisme, en faveur des premières. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires. Le rôle des EOA est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique.

En fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription. Citons aussi le processus de fécondation, au cours du quel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'EOA pour percer la paroi membranaire de l'ovule **(J. Haleng, J. Pincemail, et al, 2007)**

II.2. Les défenses antioxydants:

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses anti oxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase**,** glutathion Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique. **(J. Haleng, J. Pincemail, et al, 2007).**

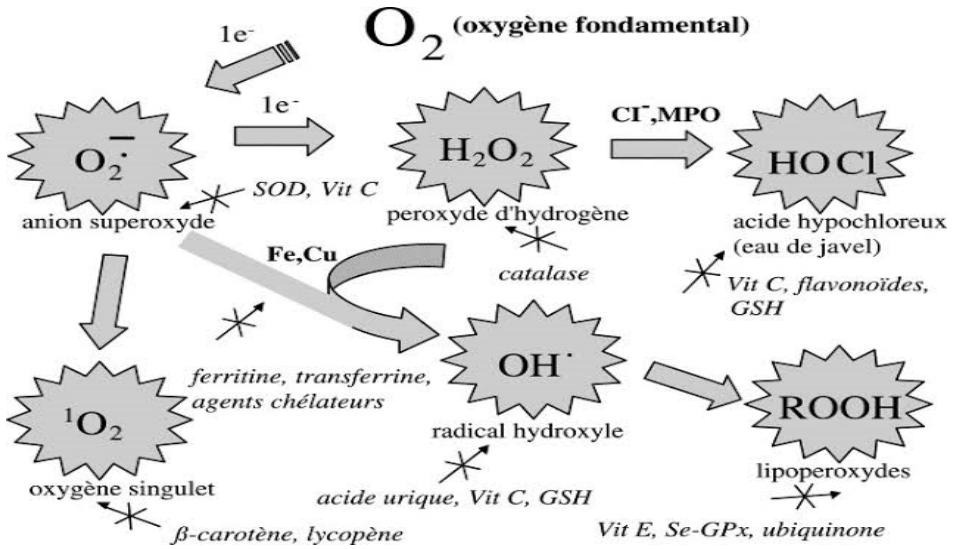


Figure 20 : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production **(J. Haleng, J. Pincemail, et al, 2007).**

II. Le stress oxydant et les facteurs le favorisant :

Dans des conditions physiologiques, la production des EOA est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense de notre organisme : la balance antioxydants / pro-oxydants est en équilibre. Le stress oxydant résultera d'une situation où l'organisme ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques. Il est potentiellement impliqué dans le développement du vieillissement ou de pathologies associées au vieillissement (maladies cardio-vasculaires et neurodégénératives, cancer, diabète, dégénérescence maculaire, asthme, …). Comme le montre le tableau I, les sources de stress oxydant peuvent avoir diverses origines endogènes et exogènes. **(J. Haleng, J. Pincemail, et al, 2007)**.

III. Activités biologiques de grenade:

La grenade approuvée comme aliment et médicament comme régime dans la convalescence après diarrhée. La partie officinale, l'écorce du fruit est astringente, digestive, cardiotonique. **(Sivarajan et Balachandran, 1994).**

La peau de grenade est riche en polyphénols comprenant les ellagitanins, les gallotanins, l'acide allagique, l'acide gallagique, l'acide féreulique et la quercétine. Ces polyphénols montrent de diverses activités biologiques, telles que l'élimination des radicaux libres, l'inhibition de l'oxydation et de la croissance microbienne, et la diminution du risque des maladies cardio- et cérébrovasculaires et quelques cancers. Beaucoup de chercheurs ont prouvé que les préparations

Contenant l'extrait de la peau de grenade peuvent être utilisées pour empêcher et / ou traiter m'athérosclérose, la diarrhée, L'ulcère gastrique, la maladie vénérienne, et les maladies relatives à l'œstrogène. **(BENDJABEUR Salah, 2012**).

III.1. Activité antioxydant:

Dans notre étude ont démontré que l'extrait de la peau de grenade diminue la peroxydation lipidique dans les tissus hépatique, cardiaque, et rénaux **(Parmar et Kar, 2008)** et a un effet facilitant sur les capacités de piégeage de l'anion peroxyde l'hydrogène **(Abdel Moneim, 2012)** a examiné l'extrait méthanolique de la peau de *Punica Granatum* pour son activité antioxydante de le cerveau des rats mâles adultes. Le traitement avec la peau de grenade a eu comme conséquence l'augmentation marquée de la plupart des paramètres antioxydants avec la réduction des oxydant.

L'efficacité d'un antioxydant est proportionnelle à la réduction de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 517 nm.

$$(DPPH) + H\text{-}A \rightarrow DPPH\text{-}H + A$$

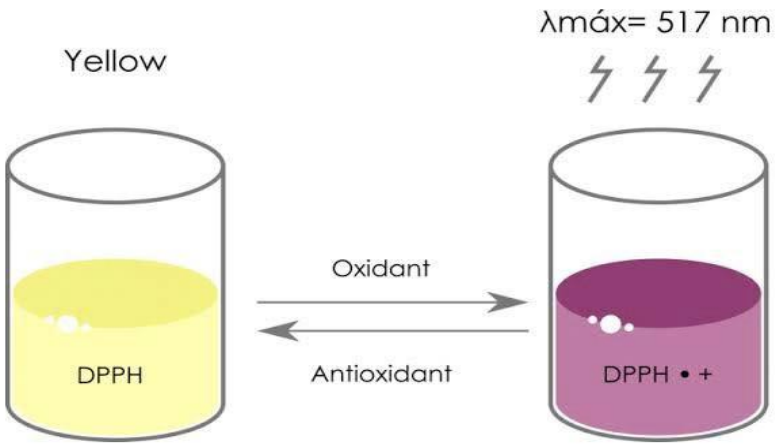


Figure 21: Réaction de test DPPH **(KF01 007).**

IV. Mode d'action des antioxydants:

Les antioxydants sont des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres. Ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaine de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur **(Berset et Cervelier, 1996).**

Antioxydants d'origine végétale :

Les métabolites secondaires agissent, entre autres, par l'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes.

IV.1. Terpènes antioxydants

Du moment qu'il y a une corrélation entre les antioxydants et les effets protecteurs contre les UV, l'activité antioxydante peut se traduire par l'absorbance des rayonnements UV. L'effet antioxydant est un mécanisme clé de l'activité photo protectrice d'extraits d'herbes. Le tocopherol (Vitamine E, terpenoides) absorbe les UVA. Les huiles essentielles de thym, de clou de girofle, de menthe, de coco et particulièrement l'huile d'olive. Le β-carotène, le Camphor, le 1,8-cinéol, l'α-pinène, le Bornéol, l'α-terpinéol et le Lycopène sont des piégeurs de radicaux libres.

IV.2. Polyphénols antioxydants Les composés phénoliques :

Représentent une source importante d'extraits naturels d'antioxydants. Les polyphénols (PP) interviennent lors de l'oxydation des lipides en donnant un atome d'hydrogène aux radicaux libres selon les réactions;

ROO° + PPH ---------- ROOH + PP°

RO° + PPH ---------- ROH + PP°

Ensuite les radicaux phenoxyl issus de ces réactions agissent également sur les radicaux libres:

ROO° + PP° ---------- ROOPP

RO° + PP° ---------- ROPP

La rutine, le kaempférol, la quercétine, l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide gallique et le resveratrol, réduisent l'absorbance des UVB et piègent les radicaux libres.

➢ ***Alcaloïdes antioxydants:***

La Boldine (principal alcaloïde de la feuille du boldo), la Purpurone, la Vindoline, laVindolidine, la Vindolicine et la Vindolinine. Les carbolines comme **l'Harmane, l'Harmine, l'Harmol, l'Harmaline** et **l'Harmalol** peuvent agir comme piégeurs d'espèces réactives de l'oxygène en inhibant la peroxydation lipidique et le remplacement du groupe hydroxyle par un groupe méthoxyle**. (Elkolli Meriem, 2017).**

V. Radicaux libres :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques possède un électron libre c'est-à-dire non apparié dans leur périphérique. Ces radicaux vont se stabiliser en acceptant un électron, en s'arrachant à une autre molécule qui devient alors déséquilibrée donc instable. Une réaction en chaine (déclencher par tel mécanisme) conduisant à la dégradation des molécules et à leur désintégration en molécules plus petites **(Morelle et esrael, 2003).**

La synthèse des espèces radicalaires est dans les organismes vivants. Cette synthèse peut être morbide et il va généralement de pair avec le métabolisme cellulaire de l'oxygène ainsi que les réactions d'oxydo-réduction **(Lliwell et Gutte, 1989).** On outre, il est susceptible de s'avérer endogène ou exogène**.**

III.2.1. Rôles biologiques des radicaux libres :

Les radicaux libres jouent des rôles essentiels dans le bon déroulement de la réaction immunitaire par l'activation de la NADPH oxydase, l'action des superoxydes dismutases (SOD) et la NO Synthase (NOS) qui aboutissent à l'O•-, H2O2, HO• et autres radicaux libres. La présence de chlore donnera la naissance à l'acide hypochlorique HOCl, c'est l'oxydant microbicide le plus puissant dans la phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires. Les radicaux libres peuvent aussi air en tant que molécules de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire et participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation **(Favier A., 2003)**

VI. Activités antifongiques :

Définition :

Les antifongiques sont des substances (naturelles) capables de détruire sélectivement ou non les différents champignons rencontrés en mycologie. Ils s'administrent par voie locale ou générale **(O'fel, 1982).** L'activité antifongique est également dépendante de la concentration des éléments fongiques, du temps de contact avec l'antifongique, du pH du milieu et de la température ambiante. Une échelle de mesure de l'activité antimicrobienne (des antibiotiques) a été mise par **(Meena et Sethi, 1994),** répartissant les diamètres des zones d'inhibition en 04 classes:

- Fortement inhibitrice: lorsque le diamètre de zone d'inhibition ≥ 28 mm.
- Modérément inhibitrice: le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre 16 mm et 28 mm.
- Légèrement inhibitrice: le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre 10 mm et 16 mm.
- Non inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est < 10 mm.

Partie 2 : Méthodologie

Chapitre 1 :
Matériel et Méthode

I. *Matériel et Méthode :*

Introduction:

Le but de ce travail est la valorisation des écorce d'une plante médicinale les (PAM) locales *punica granatum* dans la lutte contre les bioagresseurs des semences stockées d'une part et d'autre part, remplacer les pesticides chimiques par des pesticides naturels qui préservent l'environnement.

L'étude débute par la récolte des plantes (mois de septembre-octobre) puis l'extraction des substances naturelles (extraits végétaux), ensuite leur analyse phytochimique par spectrophotométrie infra rouge et enfin les tests d'efficacité pour l'évaluation de leurs effet antifongiques et antioxydants.

I.1. Méthode d'analyse:

Les matériels utilisés dans ce travail sont de trois ordres : (1) matériel végétal, constitué dans l'écorce du fruit du Grenadier (*Punica granatum*) ; (2) matériel biologique constitué de souches fongique phytopathogènes et (3) des équipements de laboratoire.

Le travail de recherche accompli dans la présente étude a été effectué au niveau du laboratoire de faculté de la science de l'université de Médéa.

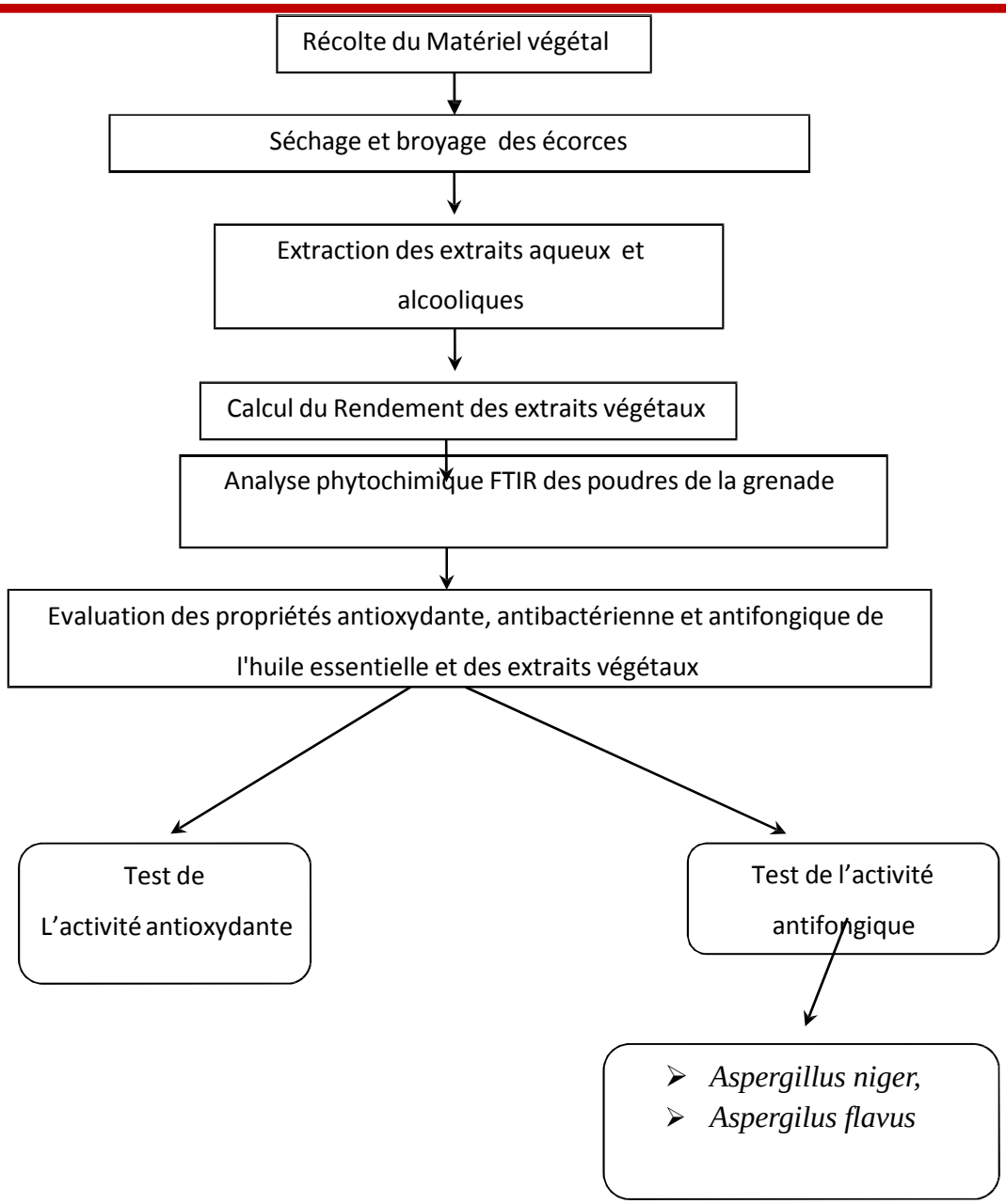
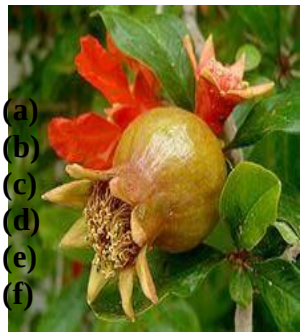


Figure 22: Organigramme des étapes d'étude des propriétés des différents Extraits l'écorce de la Grenade.

I.2 Matériel végétale :

La collecte du fruit de *Punica Granatum* a été effectuée dans deux régions différentes a savoir Médéa et Tlemcen, au cours du mois de novembre (mi-décembre), Nous avons utilisé les écorces de grenade séchée, pour préparer une poudre fine.

(a)
(b)
(c)
(d)
(e)
(f)







(a) **(b)** **(c)**

Figure 23 : Photo du fruit et de la fleur (a), de la plante (b) et de l'écorce de la grenade (c)



Figure 24 : carte de localisation de grenade dans la région de la wilaya de Médéa (Ben chicao 36.19.8573,2.848721), (Google Maps 2022)



Figure 25 : carte de localisation de grenade dans la région de la wilaya de Tlemcen (Google Maps 2022)

II.2.1. Séchage et broyage :

A température ambiante dans un endroit sec et à l'ombre pendant plusieurs jours (pour conserver les molécules sensibles à la chaleur de la lumière) puis broyage finement à l'aide d'un broyeur de graines de céréales (type FRITSCH, Germany).

Le broyage et tamisage de la plante nous donne une Poudre qui présente une plus grande surface de contact avec l'eau, permettant d'améliorer le rendement à l'extraction**.**



Figure 26: séchage et broyage des écorces du Grenadier **(Original, 2022)**

Mode opératoire:

I.2.1.1. Matériel d'extraction :

Le Tableau ci-dessous représente les différents matériels et les instruments utilisés pour la procédure d'extraction**.**

Tableau 2 : Listes des verreries, produits et appareilles utilisés pour l'extraction.

Verreries et Autres	*Solvant et Soluté*	*Appareils*
Bécher de 200 ml	L'eau distillé	Balance
Erlenmeyer	Éthanol	Agitateur
Papier filtre et Papier aluminium	Méthanol	Plaque chauffante
Entonnoir		

I.2.1.2. Méthode d'extraction :

I.2.1.2.1. Préparation de l'extrait aqueux :

Dans la préparation de l'extrait aqueux, nous dépendent à mélanger 20g de poudre de grenade avec 200ml d'eau distillée bouillie, puis lissez-le pendant 2heures à une température ambiante, la macération a été répétée 5 fois. L'extrait a été récupéré après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre et entonnoir. L'extrait a été conservé pour l'utilisation ultérieure.



Figure 27 : procédure d'extraction aqueux.

I.2.1.3.2.3. Préparation de l'extrait alcoolique :(éthanolique et Méthanolique)



Figure 28 : Protocole de préparation d'extrait méthanolique par macération

L'extraction a été faite selon le protocole de

Matkowski et Piotrowska, (2006)

Amélioré, (20g) de poudre a été macéré dans (200ml) du méthanol pendant 24h à température ambiante, la macération a été répétée 3 fois. L'extrait a été récupéré après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre. L'extrait a été conservé au refrigorateur a 4°c pour l'utilisation ultérieure. (Fig 28).

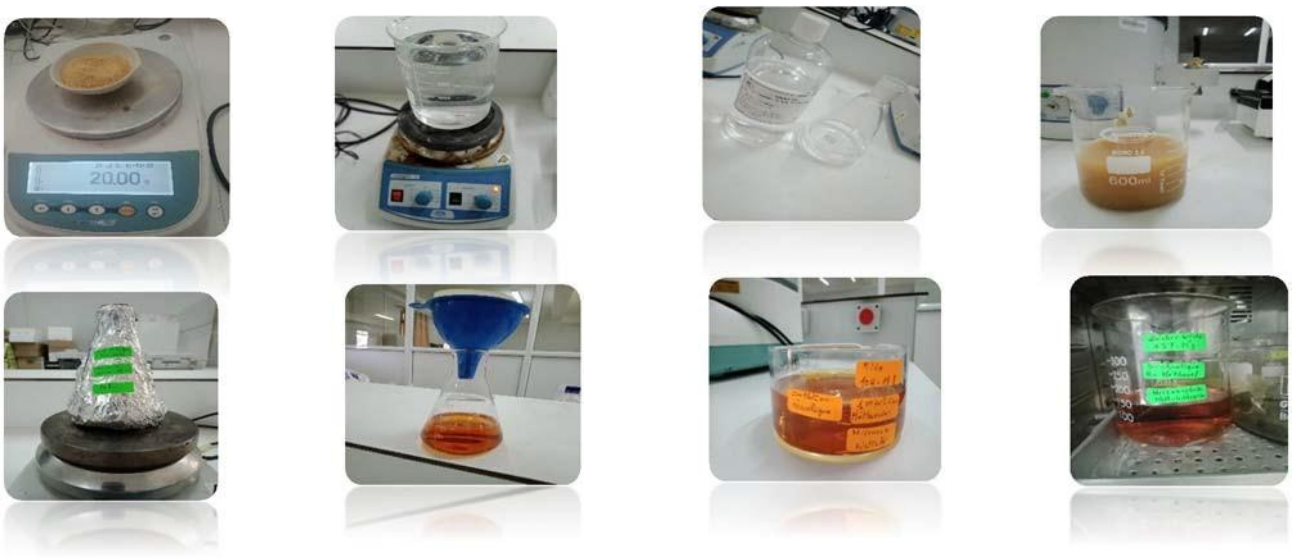


Figure 29 : procédure d'extraction alcoolique. (Original,2022).

Calcul du rendement d'extrait :

Le rendement en extrait a été déterminé par le rapport entre la masse d'extrait obtenue et celles de la matière sèche utilisée selon la formule suivante :

$$R\%=MES/M_0*100$$

R% : rendement en pourcentage

MES : masse de l'extrait sec

M_0 : masse de poudre

I.2.1.2. L'analyse phytochimique des extraits végétaux

II.2.1.2. Utilisation du FTIR : **(**de l'anglais ***F****ourier* ***T****ransform* ***I****nfra****R****ed spectroscopy*)

La **spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier** ou **spectroscopie IRTF** (ou encore **FTIR**, de l'anglais ***F****ourier* ***T****ransform* ***I****nfra****R****ed spectroscopy*) est une technique utilisée pour obtenir le spectre d'absorption. La résolution spectrale en nombre d'onde par cm est égale au réciproque du maximum de retard (différence de marche) en cm. Ainsi, une résolution de 4 cm^{-1} sera donné par un retard 0,25 cm.

Ces spectres sont réalisés à partir d'échantillon (poudre végétale de *Punica Granatum L*) dispersé dans une poudre de KBr (Bromure de potassium) qui sont modelés en forme de pastille fine et transparente puis introduite dans le spectrophotomètre IR situé au niveau du Laboratoire de chimie des Matériaux de l'université d'Oran. Les spectres IR sont enregistrés sur un appareil FTIR-8201 PC Spectromètre. Les principales bandes d'absorption sont donnés en cm-1.

I.2.1.3. Test d'activité antioxydante:

I.2.1.3.1. Matériel utilisé :

Tableau 3 : matériel utilisé pour l'activité antioxydante.

Verreries et Autres	*Solvant et réactifs*	*Appareils*
Les tubes à essayé	***DPPH***	***Spectrophotomètre***
Les flacons	***Méthanol***	***Vortex***
Micropipette	***Acide Ascorbique et Gallique***	
Les cuves	***DMSO***	
Les embouts jaune et bleue	***Les solutions mère***	

I.2.1.3.2. Méthode d'activité antioxydante :

I.2.1.3.2.1. Piégeage du radical DPPH :

La méthode de piégeage du radical de 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine (DPPH) a été décrite pour la première fois par **(Blois ,1958).**

I.2.1.3.2.2. Principe :

A température ambiante, le radical DPPH présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui est changée par la couleur jaune au contact d'une substance donneuse de protons H^+. Cette couleur est l'indicateur du pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical

Libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm **(Moon & Shibamoto, 2009)**.

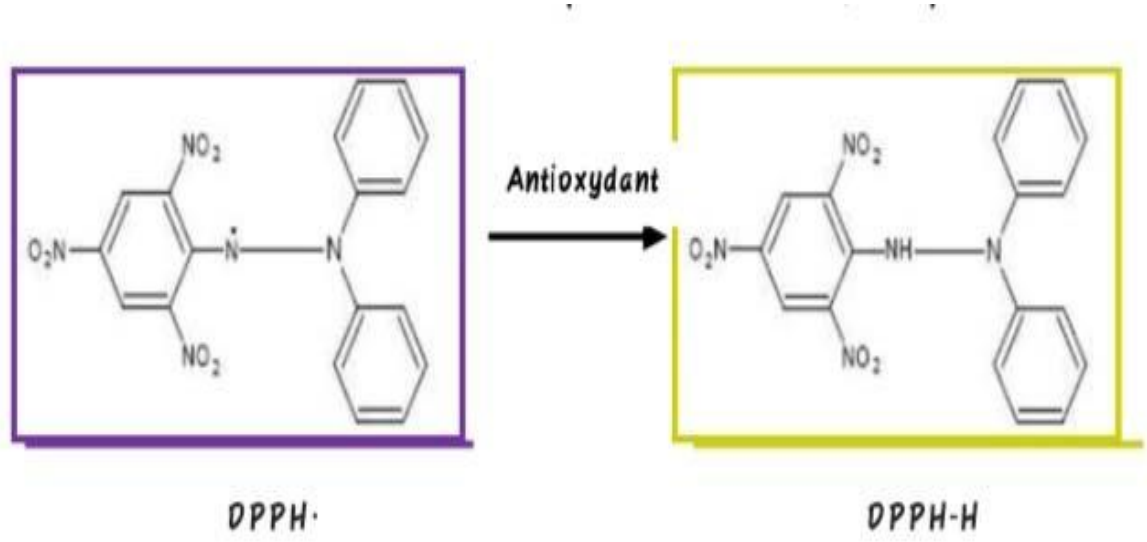


Figure 30: Réduction du radical DPPH par un antioxydant (**Endo *et al*., 2006).**

I.2.1.4. La méthode d'activité antioxydante:

Dans notre étude, ce test a été évalué suivant le protocole de Blois, M.S. en 1958. La solution du DPPH est préparée à l'avance par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Brièvement, 0,5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,2 mM) a été mélangé avec 1,5 ml de différentes concentrations des extraits de la plante (0,2 ;0,4 et 0,6mg/ml). Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes.

Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc composé de 0,5 ml de MeOH et de 1,5 ml de chaque extrait. Un contrôle négatif est composé de 1,5 ml méthanol et 0,5 ml de solution méthanolique de DPPH. Des solutions d'antioxydant de référence (acide ascorbique, acide gallique) sont également préparées dans les mêmes conditions pour servir de témoin positif. Les échantillons, les témoins (acide gallique, acide ascorbique) et le blanc sont préparés dans les mêmes conditions opératoires. Chaque test est répété trois fois, en suivant la méthode décrite par (**Ait Braham et Belhamel, 2016).**

Pourcentage de l'activité anti radicalaire est estimé selon l'équation ci-dessous :

% de l'activité anti radicalaire = (A1- A2 / A1) x 100 A1 : Absorbance du témoin négatif sans extrait

A2 : Absorbance en présence de l'extrait.

Evaluation du potentiel anti-radicalaire par le calcul de l'IC50

L'IC50 (Concentration inhibitrice 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les IC50 sont calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (Torres et al., 2006). La valeur d'IC50 la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l'IC50 est exprimée en µg/ml.

Pour toute l'expérimentation, chaque test est réalisé en triplicata et les résultats ont été calculés par la moyenne des trois essais. (3 répétitions pour chaque concentration).

En utilisant différentes concentrations des extraits : 0,5 ; 1 ; 2 ; et 2,5mg/ml, et de 0.2, 0.4, 0.6µg/ml de standard (acide gallique, acide ascorbique).

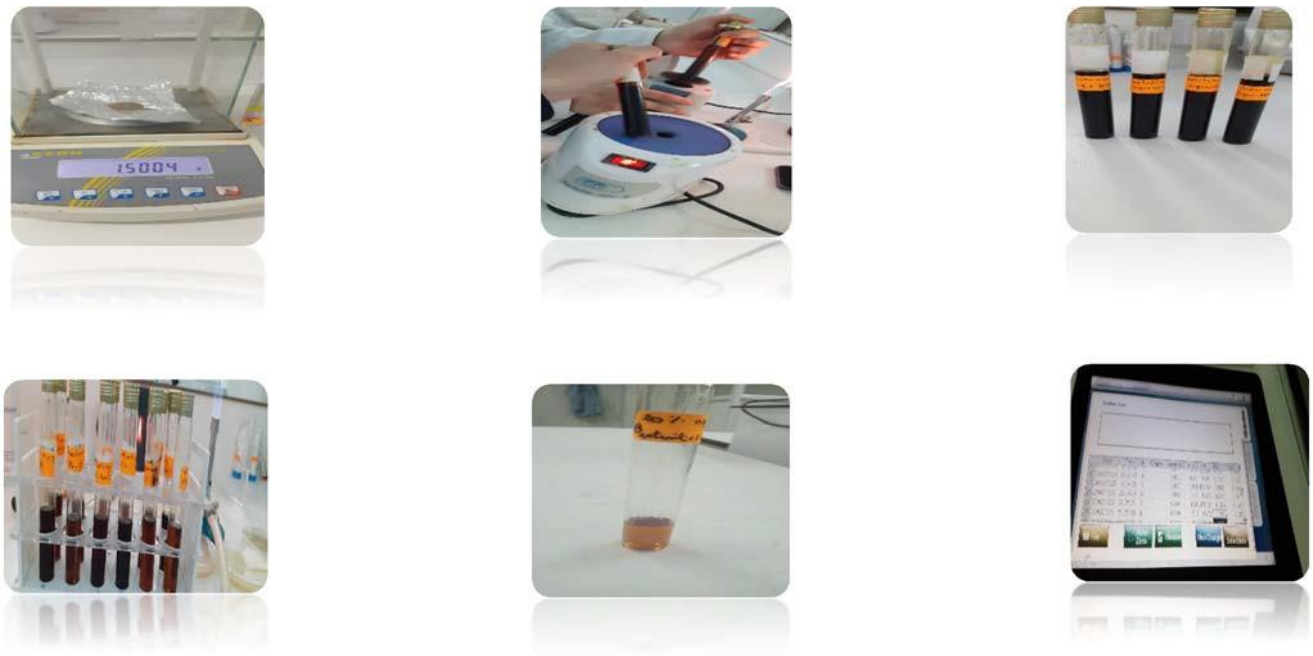


Figure31 : procédure de l'activité antioxydante.

I.2.1.4.1. Test d'activité antifongique:

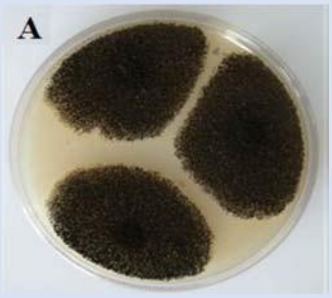
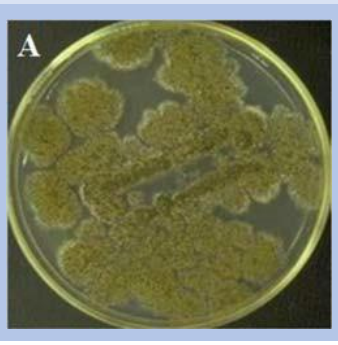
I.2.1.4.1. Matériel utilisé:

Tableau 4 : matériel utilisé pour l'activité antifongique

Verreries et Autres	*Solvant et réactifs*	*Appareils*
Les boite de pétri	***L'eau physiologique***	***Spectrophotomètre***
Micropipette pipette de pasteur	***Les souche de champignon***	***Balance de précision***
Les tube a essayé	***Milieu PDA***	***Bec benzène***
Pince	***Les solutions mère des extraits***	
Les disques d'un papier wattman	***DMSO***	
Les embouts jaune et bleu	***L'eau de javel***	
Une règle		

I.2.1.4.1. La méthode d'activité antifongique :

Tableau 5 : Caractéristiques des souches de aspergillus sur milieu PDA.

Genre, espèce	Caractéristiques	Pigmentation de la colonie	Photos
Aspergillus Niger	mycélium cloisonné et des vésicules globuleuses avec conidies globuleuses parfois légèrement aplaties	Noir	
Aspergillus Flavius	Conidiospore long et non cloisonné, hyalines. Les conidies sont globulaires	vert-jaune	

Les spores des jeunes cultures (cultures de 3 jours) de chaque souche sont récupérées par un lavage des boites de Pétri, avec un volume de 5 ml de l'eau physiologique stérile, à partir de cette suspension, qui est considérée comme suspension mère, on prépare les différentes dilutions dans des tubes à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile.

Après une bonne agitation de chaque tube, pour avoir une répartition homogène des spores dans l'eau physiologique, on procède à un comptage des spores à l'aide d'une cellule de Mallassez et le microscope électronique et à une évaluation de la densité optique (DO) de la suspension fongique à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 630 nm dans le but de standardiser la suspension de spores à 107 spores/ml. On estime qu'une DO de 0,04 correspond à une concentration de 107 spores/ml. L'aromatogramme est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis

d'une substance réputée antimicrobienne, dans notre cas c'est la détermination de la sensibilité des souches fongiques (***Aspergillus niger et aspergillus flavius).***

Ensemencement et Préparation des disques:

Etaler 100 µl de la suspension/boite de Pétri de 9 cm de diamètre, contenant le milieu gélosé PDA à partir des suspensions contenant 107 spores / ml, puis on les incube à 30 °C pendant 20 mn.

Des disques de papier Wattman de 6mm de diamètre sont stérilisés puis déposés sur la gélose séchée inoculée au préalable avec les suspensions fongiques, ensuite ces disques sont chargés d'extraits végétaux à tester (aqueux, methanolique et ethanolique à 5% et 10%). Les boites de Pétri sont à 4°C pendant 2h avant de les incuber à 25°C pour 3j.

L'activité antifongique est déterminée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques après 24h d'incubation à 37° C, **(Dorman *et al.*, 2000).**



Figure 32 : procédure d'activité antifongique.

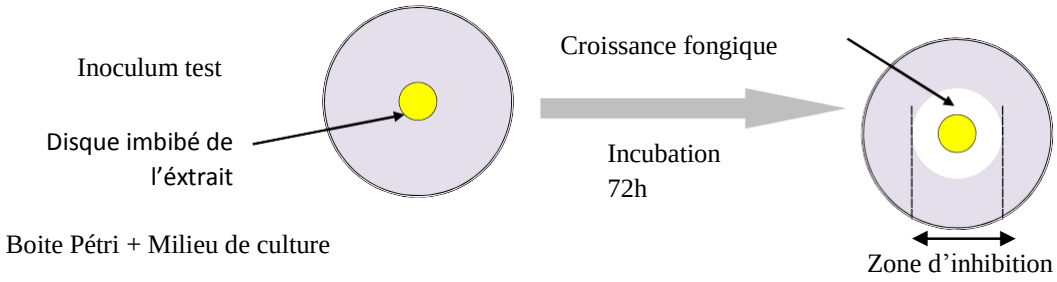


Figure 33 : Schémas de la méthode des aromatogrammes en boite de Pétri.

L'activité antifongique est déterminée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques après 24h d'incubation à 37° C, **(Dorman *et al.*, 2000).**

La lecture se fait par la mesure des diamètres d'inhibition avec une régle graduée **et p**our chaque dose, 3 répétitions sont réalisés. En fonction du témoin, on calcule l'indice antifongique (% d'inhibition) qui est donnée par la formule :

Méthode de **Fandohan (2004)** :

IA= (1-Da/Db) x 100), (Wang, 2005; (Belyagoubi, 2006).

(**Da:** diamètre zone de croissance de l'essai).

Db: diamètre zone de croissance du témoin).

Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne est calculé selon la formule de **Leroux et Credet,(1978)**

Ti (%) = (Do - Dc/Do) x100

L'estimation de l'activité antimicrobienne de l'HE en 5 classes selon l'échelle de **(Mutai et *Al.* 2009). (Tab.6).**

Tableau 6 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 5 classes

Classe	Diamètre de la zone d'inhibition	Effet inhibiteur
1	≤ 10mm	Peu ou non inhibitrice
2	entre 11-15mm.	- Modérément inhibitrice
3	entre 16-20mm.	Légèrement inhibitrice
4	entre 21-29mm.	Fortement inhibitrice,
5	supérieur à 30 mm	Très Fortement

5. Analyse statistique

Pour estimer les effets iantifongiques des extrait , une analyse de la variance (ANOVA) avec deux critères de classification a été effectuée avec le diametre d'inhibition enregistré en fonction des concentrations des éxtrait à l'aide du logiciel XLSTAT.

Chapitre 2 :
Résultat et discussion

I.2. Résultats et discussion :

I.1. Rendement d'extraction :

La préparation des extraits à partir d'écorces de la grenade de deux prévenance a été effectuée par les solvants suivant : méthanol, eau distillé et éthanol. Cette extraction a permis d'obtenir trois extraits bruts: l'extrait méthanolique, l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique. Exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la poudre d'écorces, le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique 37.07 % suivi par l'extrait éthanolique 22.26% et enfin l'extrait aqueux possède le plus faible rendement avec 10.78 % pour la variété de Médéa et 15.33% pour la variété de Tlemcen. Les extraits obtenus ont la même couleur et le même aspect.

Tableau 7 : rendement des différents extraits de l'écorce de la grenade (variétés Médéa et Tlemcen)

Extraits	*Rendement*
Aqueux (Médéa)	10,78%
Ethanol (Médéa)	22,26%
Méthanol (Médéa)	37,07%
Aqueux (Tlemcen)	15,33%

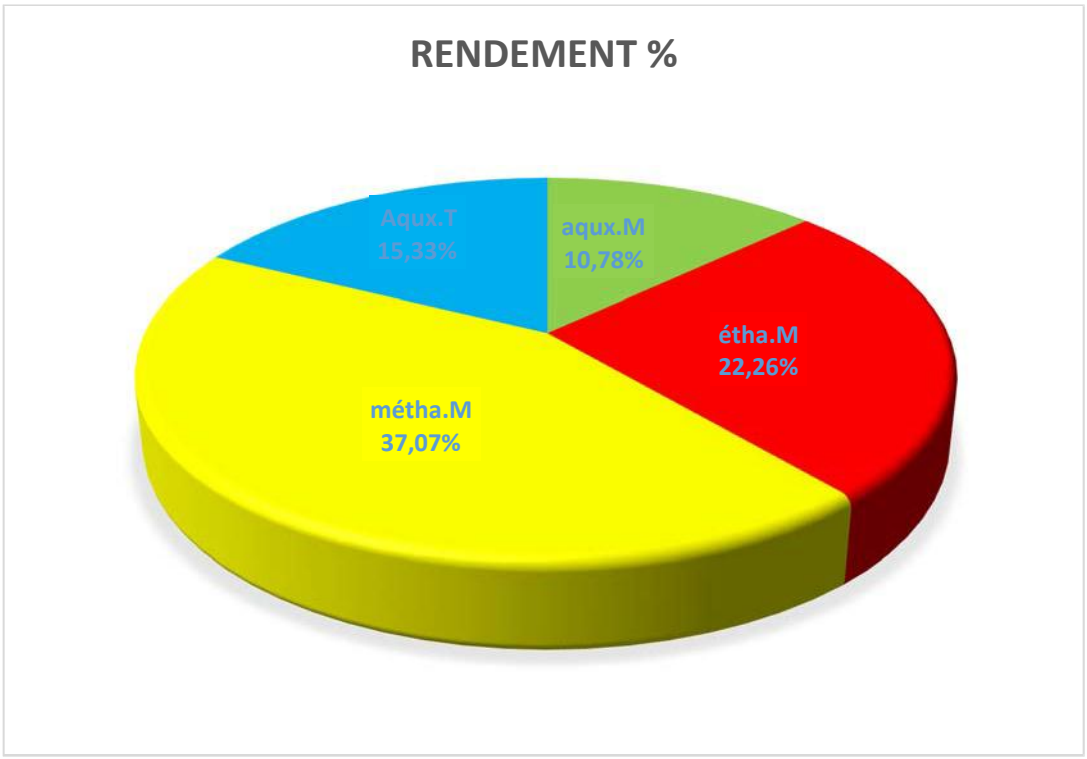


Figure 34 : Rendement des différents extraits de l'écorce de la grenade (variétés Médéa et Tlemcen).

I. Interprétation de résultats d'extraction:

D'aprés les resultats de l'éxtraction on conclude que le methanol est le meilleurs solvent pour l'éxtraction descomposées biologique de l'écorce de la grenade pour les deux provenence .

En effet, l'extrait méthanolique donne le meilleur rendement d'extraction avec 37.07% suivi de l'extrait éthanolique 22.26%. Le rendement le plus faible est obtenu avec l'extrait aqueux pour les deux variétés (Médéa et Tlemcen) 10.78% et 15.33%.

La préparation des extraits à partir des écorces de la grenade a été effectuée par différents solvant (eau distillé méthanol Et éthanol). Exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la poudre d'écorces, le rendement était 10,78% ,22,26%, 37,07% ces valeurs sont proches à la littératures, **Douaouri (2017)** alors qu'on remarque une valeur élevée pour les extraits méthaonoliques par apport le résultat de **Safi et Banbrahim (2016)** qui a rapporté de rendement en EMPG. De 33,91%. Par contre, **Douaouri (2017)** à enregistré un rendement plus élevée comparativement à notre qui a trouvé un rendement de 71,32%.

II. Utilisation du FTIR

II.2. Résultats et interprétation :

Analyse phytochimique des extraits de l'écorce de Grenade :

Selon la figure de l'analyse par infra-rouge (FTIR) **de la poudre d'écorce de Grenade**, on constate plusieurs liaisons à fonctions variées

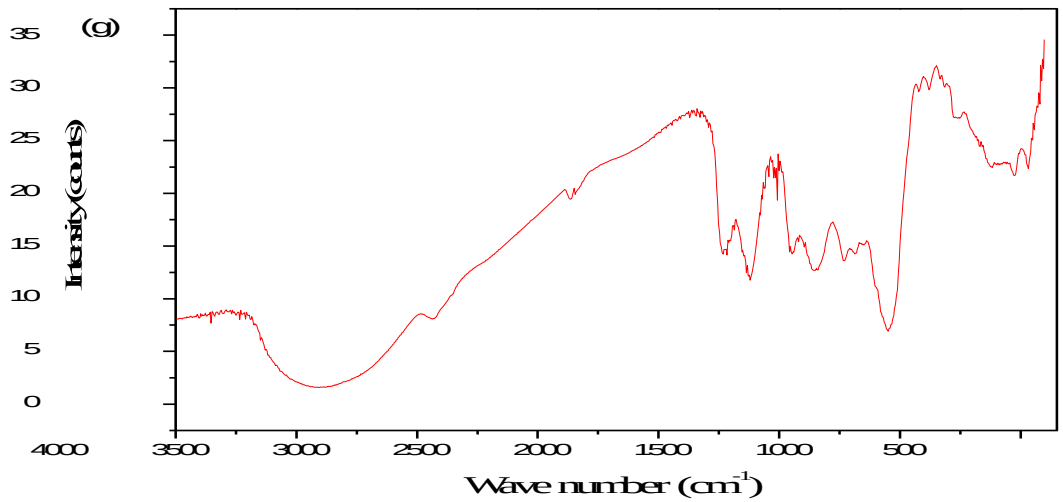


Figure 35: Analyse phytochimique de l'écorce de Grenade *(Punica granatum*) par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).

En effet, les bandes autour de 1100 cm-^{1} sont attribuées à la liaison C-H (fonction ester); les bandes autour de 1600 correspondent à la liaison C=O (fonction aldéhyde) ; les bandes étroites autour de 2900cm-^{1} correspondent à la liaisonCH (Fonction alcène); et enfin, les bandes larges autour de 3300 cm-^{1} sont dues à la vibration d'élongation de la liaison OH (fonction phénol), (**Tableau.2)**

Des résultats assez semblables ont été obtenus par **Kavtaradze *et al*. (2001) qui** a constaté la présence de cinq groupements fonctionnels : 3400 cm-1 (OH), 2940 cm-1 (OCH), 2840-2805 cm-1 (O-CH-), 1630-1520 cm-1 (aromatique), 1253 cm-1 (furane), 280, 1235, 1035 cm-1 (lignane).

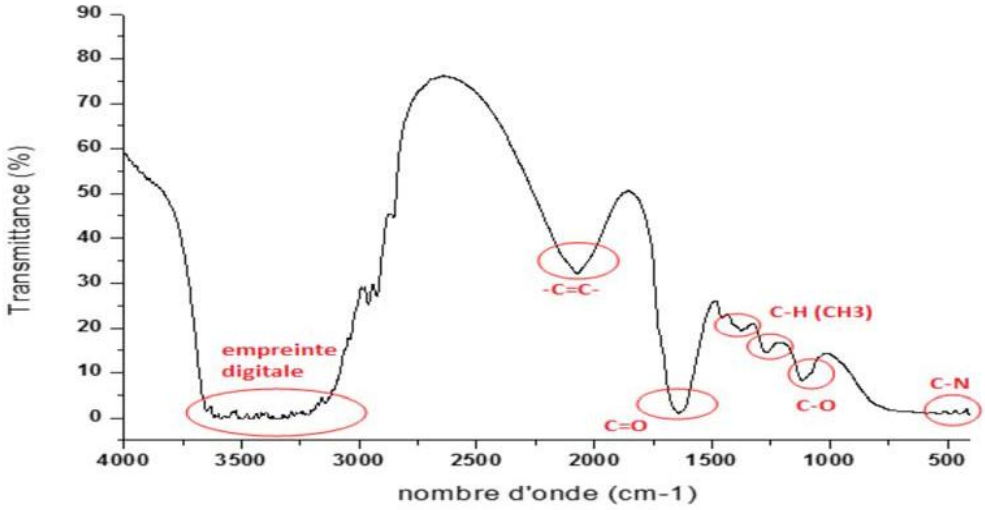


Figure 36 : Analyse phytochimique de l'écorce de Grenade *(Punica granatum*) par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) région Tlemcen.

L'analyse phytochimique de la poudre des écorces de la grenade par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier ou spectroscopie FTIR a révélé la présence de différentes familles de composés chimiques tels que les phénols (les composés cycliques) (**OH Ar-OH, C_6H_6, C-O- C ether oxyde, C-N, C-O phénol et C=O).** En effet, selon la figure 50, on note la présence de certains acides phénoliques dans les extraits végétaux tels que p-acide coumarique, l'acide ferulique, et **punicalagine,** principale responsable des propriétés antioxydantes de ce fruit. La punicalagine est un tanin hydrolysable et o-acide coumarique situés dans les fréquences entre 3200 et 3600, (Wave number (cm^{-1}). **(Medic-caric et al, 2004).**

Tableau 8: spectre phytochimique de la poudre de l'écorce de Grenade, réalisé par FTIR

S/N	Peak (Wave number cm-¹)	Intensité	Bond	Fonctionnel group assignement	Group frequency
1	595.85	3,25		-Unknown	
2	613.12	3,05	C-H	Alkenes	575-995
3	732.21	16,24	C-H	Alkenes	575-995
4	985.63	02,69	C-H	Alkenes	575-995
5	1515.45	10,35	Esters C-H	Alcohols, Carboxlic acids,	1050-1500
6	1634.35	06,50	C=O	fonction aldéhyde	1500-1600
7	2835.45	13,80	CH	fonction alcène	2850-2970
8	2902.22	09,53	CH	fonction alcène	2900-2970
9	3643.33	02,35	O-H	Alcohols, Phenols	3200-3600

II. L'activité antioxydante DPPH

Le radical DPPH est généralement l'un des composés le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical et la simplicité de l'analyse **(Bozin et *al.*, 2008).** Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution méthanolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron. La forme non radicalaire DPPH-H est formée, d'où l'évaluation de l'activité antioxydante en fonction de l'équivalence en acide gallique; la méthode consiste à comparer l'absorbance de nos échantillons à celle d'une droite d'étalonnage qui relie l'absorbance à la concentration.

D'après les résultats représentés **(figure)**, il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des différents extraits de la plante, donc l'activité anti-radicalaire est proportionnelle à la concentration de l'extrait.

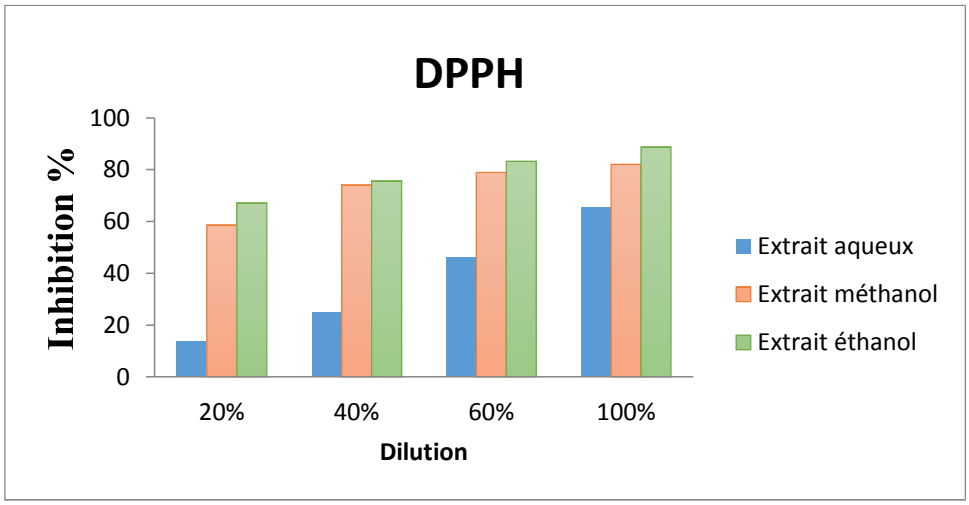


Figure 37: Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH• des antioxydants des extraits testés

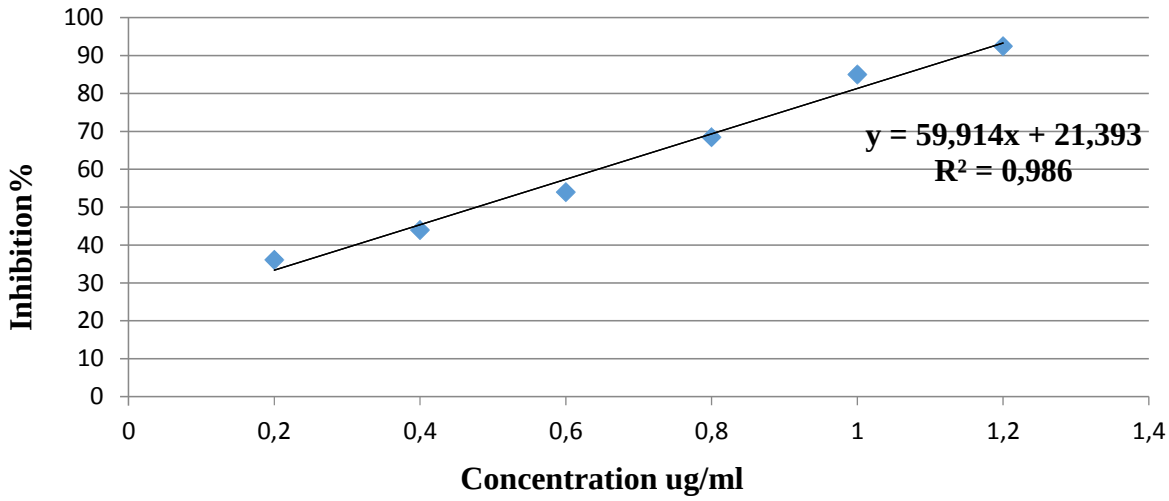


Figure 38 : Activité antioxydante de l'acide gallique vis-à-vis de DPPH.

Les résultats montrent que la dilution 60% de l'extrait éthanolique d'écorce inhibe **83,27%** du DPPH et l'extrait méthanolique inhibe **78,9%**, tandis que l'extrait aqueux affiche le plus faible pouvoir inhibiteur avec un pourcentage d'inhibition égale à **46,27%**. Donc, l'extrait éthanolique présente le pourcentage d'inhibition le plus élevé par rapport à l'extrait méthanolique, ainsi que l'extrait aqueux.

L'analyse des résultats a montré que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est influencé par le type du solvant choisie. Donc l'extrait éthanolique a une activité antioxydante la plus puissante par rapport aux autres extraits.

Negi et Jayaprakasha, (2003) ont rapporté que l'extrait d'écorces de la grenade présent une forte activité antioxydante dans le test de DPPH. **(mémoire univ mostaganem)**

Le résultat obtenu est en accord avec ceux rapportés par **Malviya *et al*. (2014).** En effet, il se situe entre 79,5% et 94,6%, qui représentent la capacité d'inhibition du radical libre (DPPH) de l'extrait méthanolique et hydro-éthanolique respectivement. Cependant, une autre étude de **Zahin *et al.* (2010)** a trouvé des pourcentages d'inhibition de 90,53%, 84,4% et 83,2% pour les fractions de méthanol, d'acétone et d'éthanol respectivement à une concentration de 80µg/ml. Ces résultats sont considérés comme supérieurs à celui de notre échantillon.

La teneur élevée en composés phénoliques contenue dans l'extrait de l'écorce de grenade peut expliquer sa forte activité antioxydante. Dans les investigations sur les activités antioxydantes de certains extrais de peau de fruit y compris la grenade et la banane, la peau de grenade a montré l'activité de piégeage du radical DPPH la plus élevée **(Okonogi *et al*., 2007).**

Les résultats de test de piégeage du radical libre DPPH suggèrent que les composants qui se trouvent dans l'écorce de la grenade sont capables de piéger les radicaux libres par l'intermédiaire des mécanismes de donation d'électrons ou d'hydrogène et pourrait donc être en mesure d'empêcher l'initiation des réactions en chaine des radicaux libres délétères induites dans les matrices sensibles comme les membranes biologiques. Ceci indique que les composants de l'écorce de grenade peuvent être des agents thérapeutiques utiles pour le

Traitement des dommages pathologiques liés aux radicaux **(Abdelazin *et al*., 2011).**

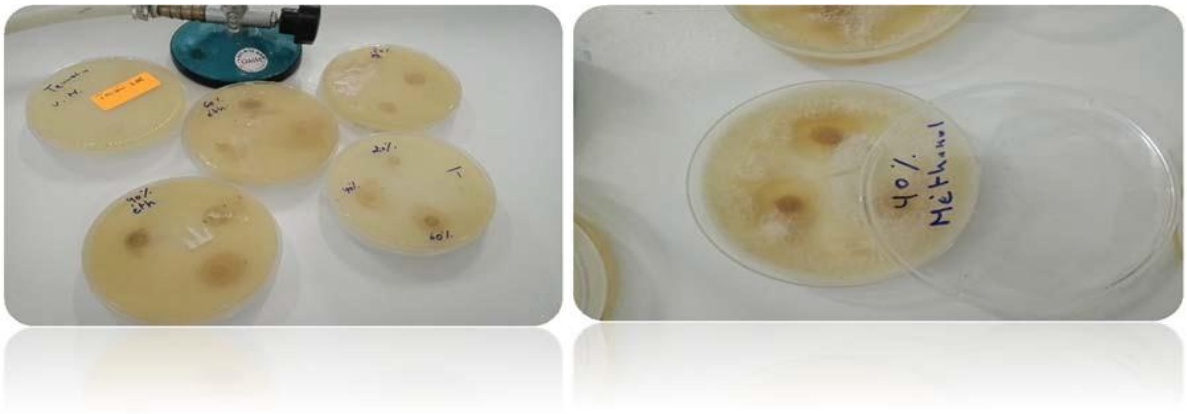
III. Interprétation des résultats d'activité antifongique :

III.1. *Effet fongicide des extraits aqueux et alcooliques de grenade sur aspergillus Flavius (variété Médéa) :*

Les résultats des tests d'activité antifongique des d'extraits aqueux et méthanolique de *Punica granatum* sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9 : Détermination du diamètre d'inhibition (mm) de l'extrait contre *aspergillus Flavius*

	Moyenne de diamètre		
Dilution	20%	40%	60%
Aqueux.M	15	22	26.33
étahanol.M	14	18.66	25
Méthanol	16	25	31.33



gure 39 : Résultats des tests antifongiques xtrait (aqueux, éthanolique et méthanolique l'écore de la grenade sur l'aspergillus Flavariété de Médéa). **(Original. 2022).**

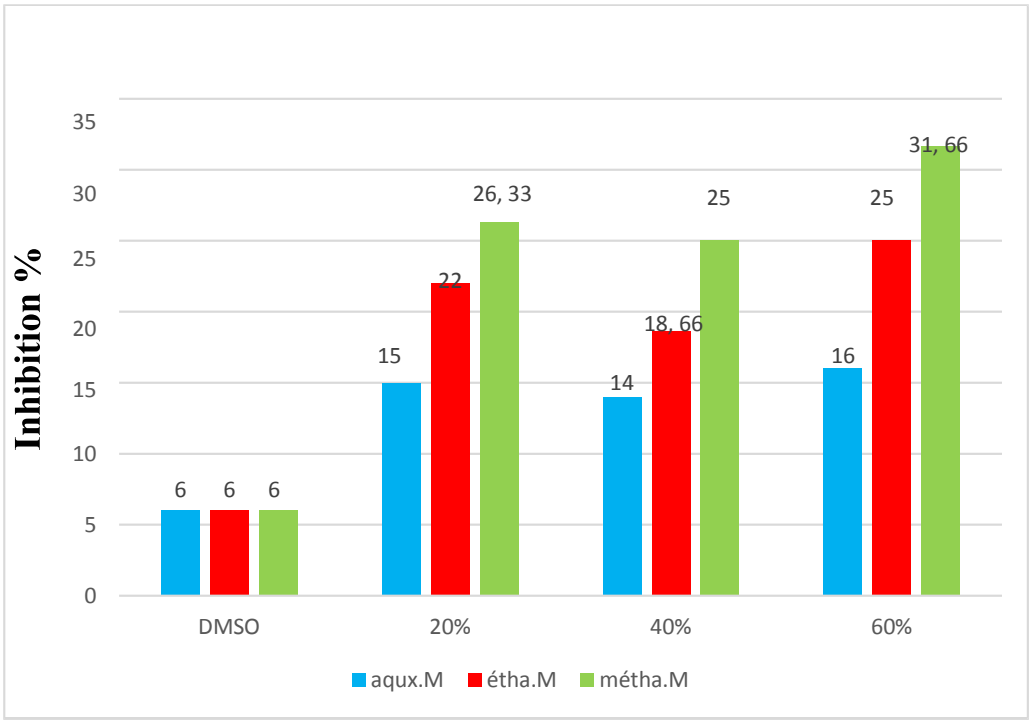


Figure 40 : Effet des extraits aqueux et alcooliques des écorces de la grenade sur champignon aspergillus Flavius (variété de Médéa).

D'après les résultats obtenus le diametre d'inhibition de la groissence fongique d'aspergilus flavius est proportionnel à la dose des extraits testées. Les essences étudiées réduisent de façon significatif (P=0.002) la durée de vie des adultes lorsque la concentration augmente de 20% à 60% de graine (figure 40) tableau10

L'extrait méthanolique de l'écorce de la plante *Punica granatum* possède un effet antifongique très fortement inhibitrice sur le champignon *aspergillus Flavius* dans tous les concentrations des extraits (20%, 40% et 60%). Environ (26,33mm à 31,33mm), par apport les extrait éthanolique est fortement inhibitrice, où la valeur de diamètre d'inhibition de croissance du champignon atteint (18,66mm à 25mm) et aqueuse donne un effet Modérément inhibitrice, environ (14mm jusqu'à 16mm). Ces résultats interprétés à partir le tableau suivant :

Tableau 10: Analyse de la variance du diametre d'inhibition de la croissence fongique en fonction de la concentration des éxtraits

ANOVA	DDL	SCE	CM	F	P
Intercept	1	1820,04	18200,04	3640,007	0,000000
Extrait	2	701,85	400,93	80,185	0,002
Concentrat	2	1303,63	651,81	130,363	0,000000
Ext*Conc	4	2655,48	66,37	13,274	0,0033
Erreur	18	90,00	5,00		
Total	26	2460,96			

L'analyse statistique (tableau10) confirme nos résultats puisque le coefficient devariation est inférieur à 50 % et ($p<0.001$).

III.2. Effet fongicide extrais de grenade sur aspergillus Niger (variété Médéa):

Tableau11: Détermination du diamètre d'inhibition (mm) de l'extrait contre *aspergillus Niger*.

	Moyenne de diamètre		
Dilution	20%	40%	60%
Aqueux.M	14	15,33	10
étahanol.M	18,66	21.33	18,66
Méthanol.M	19,66	25	31,66

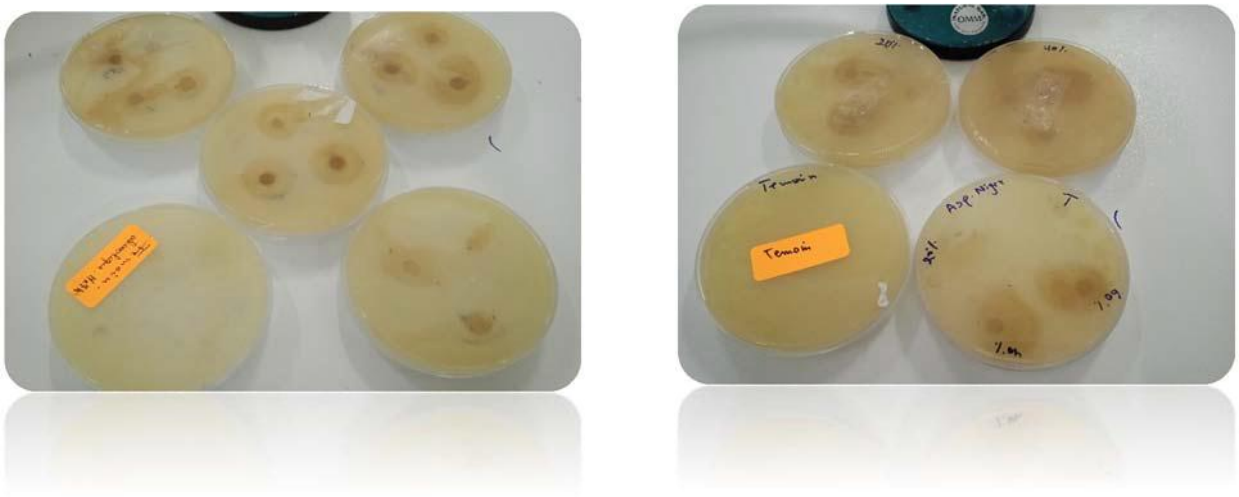


Figure 41 : Résultats des tests antifongiques de l'extrait (aqueux, éthanolique et méthanolique) de l'écore de la grenade sur l'aspergillus Niger **(variété de Médéa). (Original. 2022).**

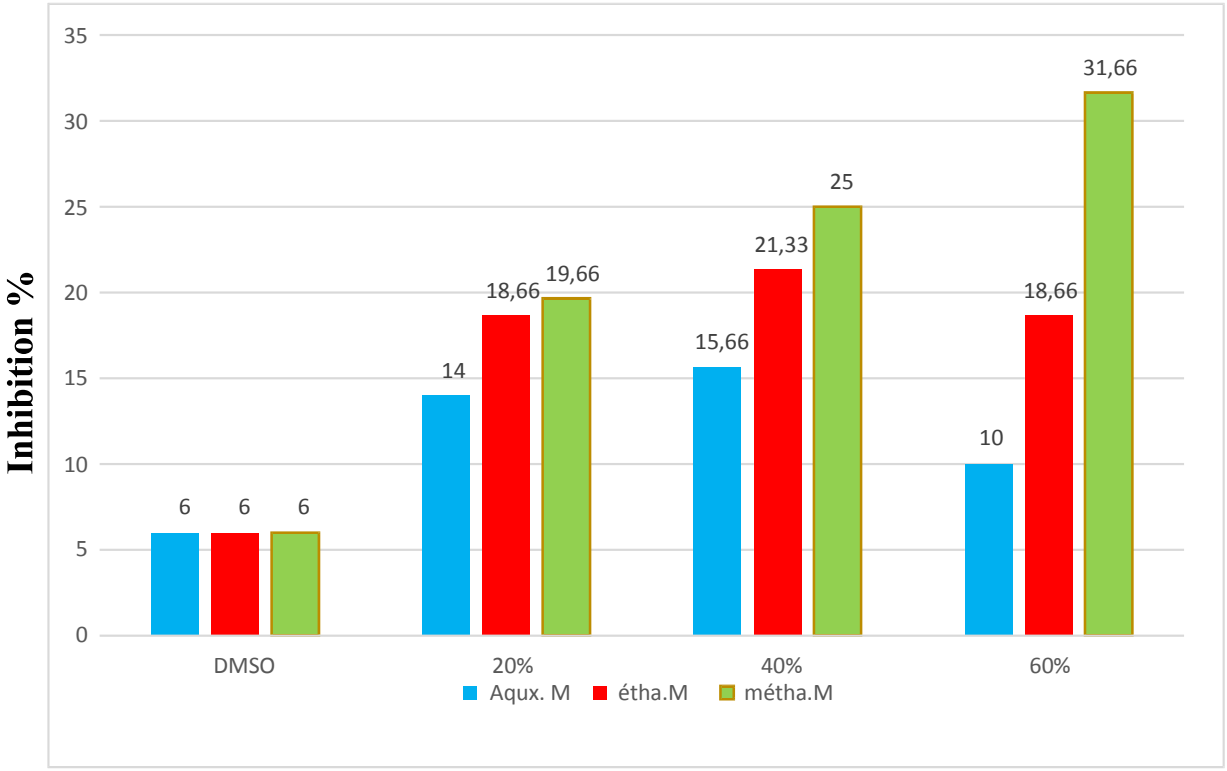


Figure 42 : Effet des extraits aqueux et alcoolique des écorces de la grenade sur champignon aspergillus Niger (variété de Médéa).

Le diametre de croissence des éspéces fongique est en fonction de l'extrait utulisée et de la concentration utulisé (p=0,0003).

L'extrait méthanolique de l'écorce de la plante *Punica granatum* possède un effet antifongique très fortement inhibitrice sur le champignon aspergillus Niger dans tous les concentrations des extraits (20%, 40% et 60%). Environ (19, 33mm à 31,66mm), par apport les extrait éthanolique est fortement inhibitrice, où la valeur de diamètre d'inhibition de croissance du champignon atteint (18,66mm à 21,33mm) et aqueuse donne un effet Modérément inhibitrice, environ (10mm jusqu'à 14mm). A partir de tableau

L'analyse statistique (annex 3) confirme nos résultats puisque le coefficient de variation est inférieur à 50 % et ($p<0.001$).

IV. *Effet fongicide d'extraits aqueuse de grenade sur aspergillus Flavus et Niger (variété Tlemcen)*

Tableau 12 : Détermination du diamètre d'inhibition (mm) de l'extrait contre Aspergillus *Flavus et Niger*

	Moyenne de diameter		
Dilution	***20%***	***40%***	***60%***
Asp Flv	17,33	19,33	25
Asp Niger	18,66	19,66	21, 33



Figure 43: Résultats des tests antifongiques de l'extrait (aqueux) de l'écore de la grenade sur l'aspergillus Flavus et Niger **(variété de Tlemcen). (Original. 2022).**

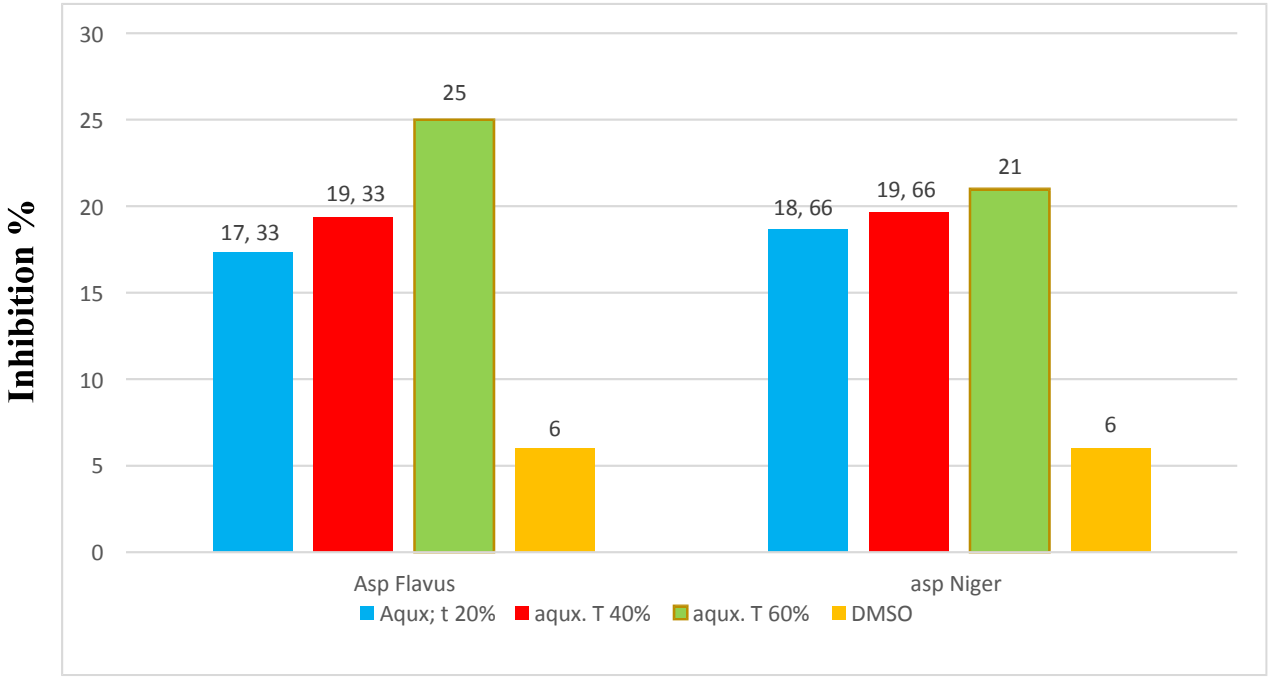


Figure 44 : Effet des extraits aqueux des écorces de la grenade sur champignon aspergillus Flavius et Niger (variété de Tlemcen).

L'extrait méthanolique de l'écorce de la plante *Punica granatum* possède un effet antifongique fortement inhibitrice sur le champignon aspergillus Flavus et Niger dans tous les concentrations des extraits (20%, 40% et 60%). Environ (21à 25 mm) pour l'aspergillus Flavus et Niger donne un effet antifongique Légèrement inhibitrice, (19,33 à 19,66 mm) pour, les deux champignons dans le cas des extraits éthanoliques et pour les extraits aqueux est donne un effet fongique aussi Légèrement inhibitrice où atteint (17,33mm jusqu'à 18 ,66mm).

Tableau 13: Analyse de la variance du diametre d'inhibition de la croissence fongique en fonction de la concentration des éxtrait

ANOVA	DDL	SCE	CM	F	P
Intercept	1	24420,15	24420,15	903,2110	0,000000
Extrait	2	6,74	3,37	0,1247	0,000000
Concentrat	2	2323,19	1161,59	42,9630	0,003315
Ext*Conc	4	459,26	114,81	4,2466	0,013562
Erreur	18	486,67	27,04		
Total	26	3275,85			

L'analyse statistique à deux critères de classification (centratration et éxtrait révèlent une différence très hautement significative pour le facteur extrait ($p<0.0001$) et une différence significative pour le facteur concentration ($p<0.001$).

Discussion général :

On tient à rappeler que le présent travail à un double objectif qui est d'un côté remplacer les pesticides de synthèse par des bioprotectants et de l'autre côté valoriser les déchets des fruits tels que l'écorce de Grenade par l'utilisation de certaines de leurs substances végétales.

Pour contribuer à cela, nous nous sommes intéressés d'abord à l'évaluation des activités biologiques (antifongique et antioxydante) d'extraits végétaux issus du fruit du grenadier utilisés dans l'alimentation et en médecine traditionnelle puis à l'étude de leur composition chimique par la spectroscopie infra rouge.

Ainsi, les rendements d'extraits des écorce de grenadier obtenus pour les trois types d'extraits: Aqueux, Ethanolique et Méthanolique démontrent que le méthanol est un bon solvant pour extraire les métabolites secondaires car la fraction Méthanolique représente le rendement le plus élevé suivit par la fraction Ethanolique et enfin la fraction Aqueuse.

La flore fongique parasite des cultures destinées à l'alimentation de l'Homme peut engendrer de graves conséquences sur la santé humaine (**Mishra and Dubey, 1994).** Ce développement fongique est favorisé par une humidité élevée dans le champ et lors du stockage de longue période. La dominance du genre *Aspergillus* dans la flore contaminant des céréales est citée dans plusieurs travaux avec *Aspergillus fumigatus* qui est l'espèce la plus fréquente suivit de *A. flavus et A. Niger*. **(Pibiri**, **2005).** D'autres souches appartenant à d'autres genres sont naturellement présentes dans les cultures au niveau des plantes et dans le sol, (**Molinie et Pfohl-Leszkowczh., 2003).**

Ainsi, sous l'effet des extraits végétaux, la croissance des organismes mycéliens est réduite voire inhibée à la concentration de l'extrait ethanolique à 60% et de l'extrait méthanolique à la même concentration. L'action dépressive des métabolites secondaires (**Macheix et Fleuriet, 2005)** du grenadier conduit, en particulier à une grande sensibilité surtout pour le genre *aspergillus* flavus en comparaison avec les genres *niger*. (**Mishra and Dubey,**

1994; Macheix et Fleuriet, 2005). L'effet réducteur du traitement par les extraits aqueux et alcooliques a été également rapporté par plusieurs auteurs chez d'autres espèces de plantes telles que *la lavande* (**Ouraïni et al, 2005**).

L'effet antimicrobien et antifongique est du essentiellement aux alcools terpéniques qui sont particulièrement actifs contre les cellules antifongique car solubles dans les milieux aqueux. Ils provoquent d'importants dégâts sur les parois cellulaires des microorganismes **(Eberhard *et al,* 2005)**. Les alcools possèdent une activité microbicide plutôt que microbiostatique (**Fouché *et al,* 2000)**

Les raisons de cette variabilité peuvent être principalement dues à la différence des facteurs écologiques et à la croissance des plantes, au génotype, au climat, à la géographie, à la saison de récolte, à l'organe étudié de la plante, au mode de séchage et au mode d'extraction.

Par ailleurs, les interactions entre les produits chimiques composants des extraits végétaux sont à considérer. La synergie et l'antagonisme entre les composants influencent les activités, ce qui suggère que les composants mineurs peuvent présenter un effet bioactif significatif (**Xavier, et al., 2012**).

En effet **Navarro et al., (2011), Viuda-Martos et al., (2009**) ont démontré que l'utilisation de l'extrait de l'écorce de fruit de ***Punica granatum*** comme condiment alimentaire améliore la qualité organoleptique et hygiénique des produits agroalimentaires par son effet antioxydant et inhibiteur des microorganismes nuisibles.

Ainsi, selon notre étude, on a constaté que le fruit du grenadier qui contient une quantité notable de polyphénols et de flavonoïdes, peut jouer un rôle majeur dans l'activité antioxydante et qu'il peut être utilisé comme source naturelle d'antioxydant.

Conclusion :

Dans le cadre de notre étude de la synthèse théorique « l'activité biologiques de *punica grenatum L* », nous nous sommes intéressés aux propriétés potentiellement thérapeutiques de la grenade qui sont très vastes, comprenant traitements et prévention contre plusieurs maladies, ces propriétés thérapeutiques qui sont dues aux activités biologiques de la grenade. En effet, l'activité antimicrobienne de la grenade et de ses dérivés a été démontrée dans de nombreuses études qui ont constaté l'inhibition de l'activité de nombreux microorganismes

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressées à l'estimation du potentiel antioxydant et antifongique de l'extrait méthanolique, éthanolique et aqueux, de l'écorce de grenade (*Punica granatum L*). L'évaluation de l'activité antioxydant de ces extraits est déroulé par deux les méthodes (piégeage du radical libre DPPH et pouvoir réducteur d'acide gallique et ascorbique). On remarque que la plante de *punica granatum* une forte activité antioxydante.

L'activité antifongique des extraits été testées sur 2 souches de champignons (*aspergillus Flavus et aspergillus Niger*) par la méthode de diffusion sur disque. Les zones d'inhibitions varient pour les deux champignons, selon les deux provenances (Médéa et Tlemcen), où on remarque une diamètre d'inhibition de croissance (15 mm à 31,66 mm) pour le champignon *aspergillus Flavus,* On remarque une similarité des résultats avec le champignon *aspergillus Niger*, dans le cas de prévenance de Médéa, ces résultats montrent que l'effet des extraits de l'écorce de la grenade est très fortement inhibiteur pour les deux champignons. Par apport la prévenance de Tlemcen l'effet des extraits est fortement inhibiteur pour les deux champignons. Ces résultats sont confirmée par les analyses statistiques réalisées ($p<0,0001$)

Ce potentiel inhibiteur peut être utilisé pour le traitement de certaines maladies infectieuses causées par les agents pathogènes. Extraits de carpe, d'écorce P. granatum Peut fournir d'excellentes sources de nouveaux produits naturels bioactifs qui peuvent servir de nouveaux agents pharmaceutiques pour répondre à des besoins thérapeutiques non satisfaits.

Perspectives :

L'importance indiscutable des extrait de plantes, leurs richesse en méthabolites secondaires , et la nature chimique de leurs constituants, leur confèrent de grandes perspectives d'application. Ainsi, à la fin de ce travail qui n'est qu'une contribution à la recherche scientifique dont l**es résultats obtenus restent incomplets, n**ous espérons que notre modeste contribution dans ce thème sera complétée par d'autres travaux qui porteront sur :

- Le choix du biocide naturel qui devra se baser sur un bioagresseur précis à combattre car il **a été prouvé que la réponse à l'intensité de la toxicité d'un produit est spécifique au** ravageur.
- La recherche de la méthode d'extraction la plus rentable.
- La recherche d'une formulation de biopesticide à base d'écorce de grenade (broyage - extraction - méthode technico-économique pour standardiser la préparation des émulsions stables avec leur pouvoir biocide pour une agriculture sans pesticides chimiques dans l'avenir)
- D'élargir l'échantillonnage sur tout le territoire national et d'augmenter le nombre d'échantillons de la plante étudiée afin de mettre en exergue sa nature chimique par rapport à son origine géographique.

Références bibliographiques:

AlMuammar, M. N. and F. Kan(2012). Obesity : the prevention role of the pomegrante (punica granatum) . Nutrition 28(6) : 595604.

AlSaid F.A., Opara U ;L AlYayai R.A. (2009). Physicochemica and textural quality attributes of pomagranate cultivars (punicagranatum L.) grownin the Sultanate of Oman. Journal of Food Engineering 90 :129134 ;

Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S., Tonogai, Y., 2000a. Determination of phenolic acids in fruit juices by isocratic column liquid chromatography. J. Chromatogr. 891, pp. 183–188.

BBartosz G., 2003. Generation of reactive oxygen species in biological systéms. Comments on toxicology , 9 :521.

Baudin, B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. mt cardio, volume 2, Bellakhdar J.2006. Plantes médicinales au Maghreb et soins de base, précis de phytothérapie moderne. Le Fennec, Casablanca Maroc. pp.1745.

Ben Abdennebi A.M., 2012. Le grenadier tunisien (Punica granatum) stimule le transport de glucose dans les cellules musculaires C2C12 via la voie insulinodépendante de l'Akt et la voie insulinoindépendante de l'AMPK. Diplôme – Maitrise en Pharmacologie, Université de **Montréal. Bendjabeur salah, 2012** ; Evaluaion du pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits végétaux (cas de grenade de punica granatum L) en vue de leur utilisation alimentaire

Benmeziane D. Bedja B, (2012). Effet de l'extrait de l'écorce de deux variétés de grenade (Quares et Lahlou) sur Candida albicans.

Berger M . (2006). Manipulation nutritionnelles du Stress oxydant : état de connaissances . Nutrition chimique et métabolisme 20 : 4853

Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by theuse of a stable free radical, Nature, 181: 1199

Bocco, A., Cuvelier, M.E. Richard, H., Berset, C. (1998). Antioxydant Activity and Phenol Composition of Citrus Pell and Seed Extracts. J. Agric. Food Chem, 46(6): 212323.

Bondet, V., BrandWilliams, W. and Berset, C. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activityusing the DPPH• free radical met

AlMuammar, M. N. and F. Kan(2012). Obesity : the prevention role of the pomegrante (punica granatum) . Nutrition 28(6) : 595604.

AlSaid F.A., Opara U ;L AlYayai R.A. (2009). Physicochemica and textural quality attributes of pomagranate cultivars (punicagranatum L.) grownin the Sultanate of Oman. Journal of Food Engineering 90 :129134 ;

Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S., Tonogai, Y., 2000a. Determination of phenolic acids in fruit juices by isocratic column liquid chromatography. J. Chromatogr. 891, pp. 183–188.

BBartosz G., 2003. Generation of reactive oxygen species in biological systéms. Comments onitoxicology , 9 :521.

Baudin, B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. mt cardio, volume 2, **Bellakhdar J.2006.** Plantes médicinales au Maghreb et soins de base, précis de phytothérapie moderne. Le Fennec, Casablanca Maroc. pp.1745.

Ben Abdennebi A.M., 2012. Le grenadier tunisien (Punica granatum) stimule le transport de glucose dans les cellules musculaires C2C12 via la voie insulinodépendante de l'Akt et la voie insulinoindépendante de l'AMPK. Diplôme – Maitrise en Pharmacologie, Université de **Montréal. Bendjabeur salah, 2012** ; Evaluaion du pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits végétaux (cas de grenade de punica granatum L) en vue de leur utilisation alimentaire

Benmeziane D. Bedja B, (2012). Effet de l'extrait de l'écorce de deux variétés de grenade (Quares et Lahlou) sur Candida albicans.

Berger M . (2006). Manipulation nutritionnelles du Stress oxydant : état de connaissances . Nutrition chimique et métabolisme 20 : 4853

Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by theuse of a stable free radical, Nature, 181:

1199 Bocco, A., Cuvelier, M.E. Richard, H., Berset, C. (1998).

Antioxydant Activity and Phenol Composition of Citrus Pell and Seed Extracts. J. Agric. Food Chem, 46(6): 212323.

S. Bendjabeur, Mémoire de Magistère, Evaluation de pouvoir antioxydante et antimicrobien des extraits végétaux (cas de la grenade punica granatum L.) en vue de leur utilisation alimentaire, Ecole nationale supérieure agronomique El-Harach-Alger,**2012**, p74

Ben Abdennebi A.M., 2012. Le grenadier tunisien (Punica granatum) stimule le transport de glucose dans les cellules musculaires C2C12 via la voie insulinodépendante de l'Akt et la voie insulinoindépendante de l'AMPK. Diplôme – Maitrise en Pharmacologie, Université de Montréal.

Cowan M.M. (1999) . Plant products as antimicrobial agents. Clinical Mrobiology Reviews. 12 : 564_582.

Lliwell, B., et Gutteridge, JMC. (1989). A consideration of atomic structure and bounding.

O'fel. A., 1982. Parasitologie, Mycologie : Maladies parasitaires et fongiques, Association des professeures de parasitologie. Paris : E.Crouan et Roques, p.p. 349.

HmidI.,(2013): Contribution àla valorisation alimentaire de la grenade marocaine (PunicaGranatumL.) : caracterisation physicochimique, biochimique et stabilite de leur jus frais. Alimentationet nutrition. Universitéd'Angers,françaisp27

Douaouri N,(2018): Contribution à une étude phytothérapeutique, anti-inflammatoire et antioxydante du grenadier (Punica granatum L.) –Etude in vivo.Thése de doctoratUniversité de Mostaganem P1

Alhijna D.,Bourich E ., (2017): Grenade de Beni Snous:étude et caractérisationchimique des extraits de pépins,évaluation de l'activité microbiologique.Thésede doctorat Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen –P1,P15.

Deramchi Sofiane2015, Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie Etude phytochimique de deux plantes steppiques : Punica Granatum.L et Ampélodesmos mauritanicus

Ilham HMID. Contribution a la valorisation alimentaire de la Grenade Marocaine (Punica Granatum L.): caracterisation physicochimique, biochimique et stabilite de leur jus 35 frais. Food and Nutrition [en ligne]. Thèse de doctorat. Nantes : université Nantes

Angers le mans, 2013, 180p

Seeram N.P., Adams L.S., Henning S.M., Niu Y., Zhang Y., Nair M.G.et Heber D. (2005). In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin,65 Références bibliographiques ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. J. Nutr. Biochem.,16: 360-367.

BAYOU Samiha & KERROUM Amina , 2020 Mémoire de Fin d'Etudes

Le grenadier (Punica granatum L) : Usage traditionnel, étude phytochimique et évolutions thérapeutiques récentes

Seeram N, Schulman R etal.,2006: Pomegranates. Ancient roots to modern medicine.Editions Taylor &Francis.p244.

Al-Muammar M.N, Khan F., 2012: Obesity:the preventive role of the pomegranate (Punicagranatum), Nutrition. 28, 595–604

Robert J., 2007: Les poisons du fuseau, Oncologie. 9 766–772

DOUAOURI N, 2018 : Contribution à une étude phytothérapeutique, anti-inflammatoire et antioxydante du grenadier (Punica granatum L.) – Etude in vivo .Thése de doctorat Université de Mostaganem P1

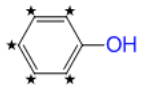
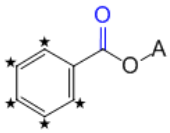
Tomas-Barberan FA., 2010 : Granada y salud: Aspectosfarmacológicos y terapéuticos de la granada. En: I Jornadasnacionalessobre el granado, 7-27 Octubre 2010, Elche, España (CD-ROM).

Haddad John J., Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)-sensitive transcription factors, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1999, 39, p. 67

Pincemail J, Vanbelle S, Gaspard U, et al.— Relationship between oxidative stress and the taking of oral contraceptives in women aged 40-48 years. Human Reprod, 2007, in press.

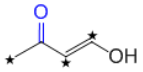
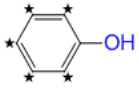
Miloud Romaissa 2019 Contribution à la valorisation d'une plante médicinale de grenadier (Punica granatume L) de la région de Biskra.

Annex

Nombre d'ondes (cm^{-1})	Attributions
3409.91	O-H Stretching hydrogen bonded  * – Tout attachement
1716.53	C=O stretching of carboxylic acid (asymmetric stretching)  A – Tout élément sauf H * – Tout attachement

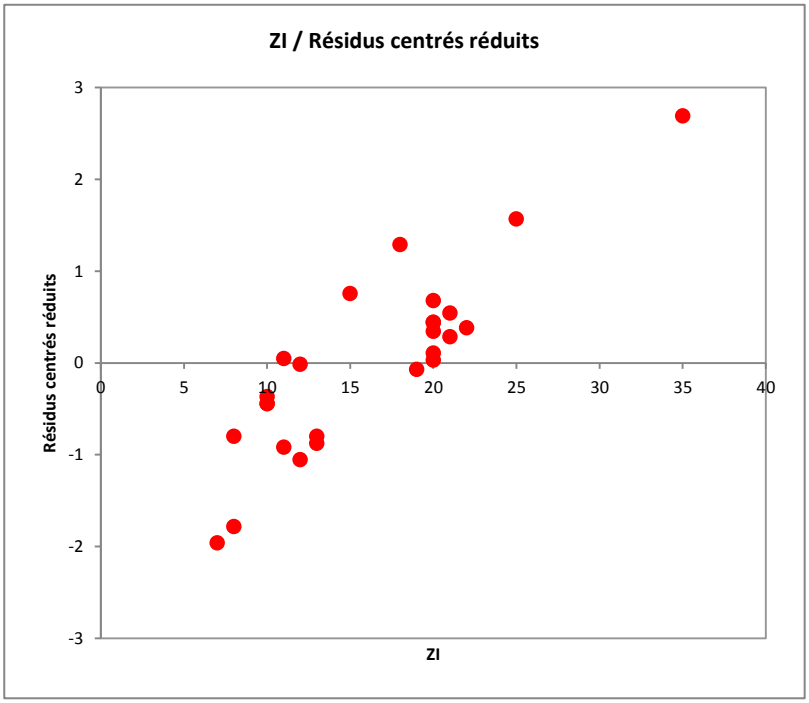
Annexe 1 :

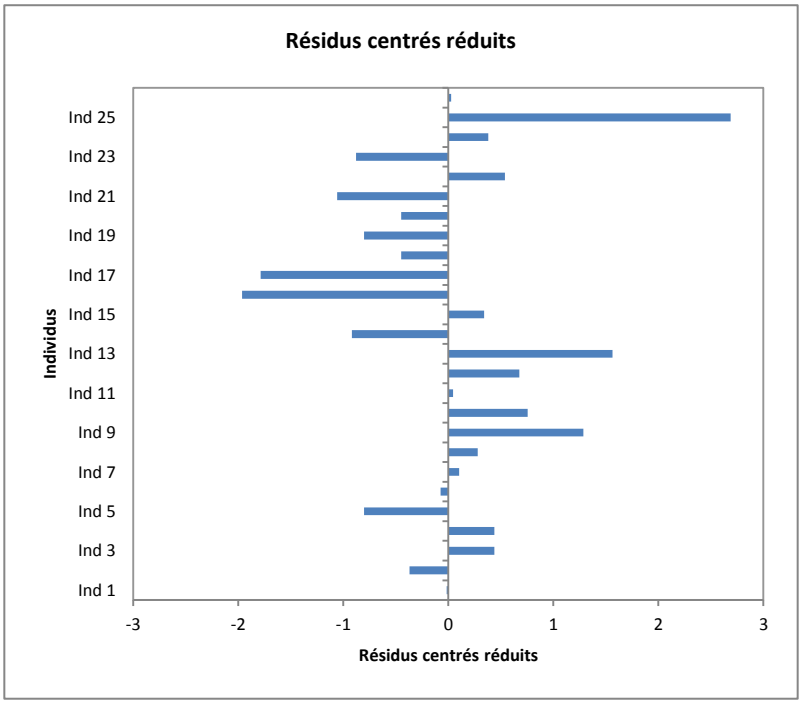
Tableau 1 3 : Attributions IR (g) poudre d'écorce de grenade

1620.09	C=O stretching beta diketones (enolic)  * – Tout attachement
1446.51	 O-H deformation A – Tout élément sauf H
1357.79	C=O stretching of carboxylic acid (symmetric stretching)  * – Tout attachement
1230.50	C-O stretching  * – Tout attachement
1049.20	C-O stretching  A – Tout élément sauf H
524.60	O-H deformation (solvent Impurit water vapor H_2O) 
466.74	O-H deformation (solvent Impurit water vapor H_2O) 

Annexe 2 : analyse statistique

XLSTAT version 6.0 - ANOVA – aspergilus flavus





Prédictions, résidus, et intervalles de confiance :

XLSTAT version 6.0 - ANOVA – aspergilus niger

Individus	Poids	ZI	ZI (Modèle)	Résidus	Résidus centrés réduits	F Borne inf. à 95 %	F Borne sup. à 95 %	t Borne inf. à 95 %	t Borne sup. à 95 %
Ind 1	1	12,000	12,091	-0,091	-0,016	5,992	18,189	-2,081	26,262
Ind 2	1	10,000	12,091	-2,091	-0,371	5,992	18,189	-2,081	26,262
Ind 3	1	20,000	17,525	2,475	0,439	11,921	23,129	3,559	31,491
Ind 4	1	20,000	17,525	2,475	0,439	11,921	23,129	3,559	31,491
Ind 5	1	13,000	17,525	-4,525	-0,803	11,921	23,129	3,559	31,491
Ind 6	1	19,000	19,414	-0,414	-0,073	13,810	25,018	5,448	33,380
Ind 7	1	20,000	19,414	0,586	0,104	13,810	25,018	5,448	33,380
Ind 8	1	21,000	19,414	1,586	0,281	13,810	25,018	5,448	33,380
Ind 9	1	18,000	10,747	7,253	1,286	5,143	16,352	-3,218	24,713
Ind 10	1	15,000	10,747	4,253	0,754	5,143	16,352	-3,218	24,713
Ind 11	1	11,000	10,747	0,253	0,045	5,143	16,352	-3,218	24,713
Ind 12	1	20,000	16,182	3,818	0,677	10,652	21,712	2,246	30,118
Ind 13	1	25,000	16,182	8,818	1,564	10,652	21,712	2,246	30,118
Ind 14	1	11,000	16,182	-5,182	-0,919	10,652	21,712	2,246	30,118
Ind 15	1	20,000	18,071	1,929	0,342	12,541	23,601	4,134	32,007
Ind 16	1	7,000	18,071	-11,071	-1,964	12,541	23,601	4,134	32,007
Ind 17	1	8,000	18,071	-10,071	-1,786	12,541	23,601	4,134	32,007
Ind 18	1	10,000	12,525	-2,525	-0,448	6,921	18,129	-1,441	26,491
Ind 19	1	8,000	12,525	-4,525	-0,803	6,921	18,129	-1,441	26,491
Ind 20	1	10,000	12,525	-2,525	-0,448	6,921	18,129	-1,441	26,491
Ind 21	1	12,000	17,960	-5,960	-1,057	12,430	23,489	4,023	31,896
Ind 22	1	21,000	17,960	3,040	0,539	12,430	23,489	4,023	31,896
Ind 23	1	13,000	17,960	-4,960	-0,880	12,430	23,489	4,023	31,896
Ind 24	1	22,000	19,848	2,152	0,382	14,319	25,378	5,912	33,785
Ind 25	1	35,000	19,848	15,152	2,688	14,319	25,378	5,912	33,785
Ind 26	1	20,000	19,848	0,152	0,027	14,319	25,378	5,912	33,785

ext *conc
erreur
Estimation des paramètres du modèle :

Paramètre	Valeur	Ecart-type
Constante	12,091	2,932
EA - EA	0,000	-
EA - EE	-1,343	2,997
EA - EM	0,434	2,997
C1 - C1	0,000	-
C1 - C2	5,434	2,997
C1 - C3	7,323	2,997

Individus	Poids	ZI	ZI (Modèle)	Résidus	Résidus centrés réduits	F Borne inf. à 95 %	F Borne sup. à 95 %	t Borne inf. à 95 %	t Borne sup. à 95 %
Ind 1	1	12,000	12,091	-0,091	-0,016	5,992	18,189	-2,081	26,262
Ind 2	1	10,000	12,091	-2,091	-0,371	5,992	18,189	-2,081	26,262
Ind 3	1	20,000	17,525	2,475	0,439	11,921	23,129	3,559	31,491
Ind 4	1	20,000	17,525	2,475	0,439	11,921	23,129	3,559	31,491
Ind 5	1	13,000	17,525	-4,525	-0,803	11,921	23,129	3,559	31,491
Ind 6	1	19,000	19,414	-0,414	-0,073	13,810	25,018	5,448	33,380
Ind 7	1	20,000	19,414	0,586	0,104	13,810	25,018	5,448	33,380
Ind 8	1	21,000	19,414	1,586	0,281	13,810	25,018	5,448	33,380
Ind 9	1	18,000	10,747	7,253	1,286	5,143	16,352	-3,218	24,713
Ind 10	1	15,000	10,747	4,253	0,754	5,143	16,352	-3,218	24,713
Ind 11	1	11,000	10,747	0,253	0,045	5,143	16,352	-3,218	24,713
Ind 12	1	20,000	16,182	3,818	0,677	10,652	21,712	2,246	30,118
Ind 13	1	25,000	16,182	8,818	1,564	10,652	21,712	2,246	30,118
Ind 14	1	11,000	16,182	-5,182	-0,919	10,652	21,712	2,246	30,118
Ind 15	1	20,000	18,071	1,929	0,342	12,541	23,601	4,134	32,007
Ind 16	1	7,000	18,071	-11,071	-1,964	12,541	23,601	4,134	32,007
Ind 17	1	8,000	18,071	-10,071	-1,786	12,541	23,601	4,134	32,007
Ind 18	1	10,000	12,525	-2,525	-0,448	6,921	18,129	-1,441	26,491
Ind 19	1	8,000	12,525	-4,525	-0,803	6,921	18,129	-1,441	26,491
Ind 20	1	10,000	12,525	-2,525	-0,448	6,921	18,129	-1,441	26,491
Ind 21	1	12,000	17,960	-5,960	-1,057	12,430	23,489	4,023	31,896
Ind 22	1	21,000	17,960	3,040	0,539	12,430	23,489	4,023	31,896
Ind 23	1	13,000	17,960	-4,960	-0,880	12,430	23,489	4,023	31,896
Ind 24	1	22,000	19,848	2,152	0,382	14,319	25,378	5,912	33,785
Ind 25	1	35,000	19,848	15,152	2,688	14,319	25,378	5,912	33,785
Ind 26	1	20,000	19,848	0,152	0,027	14,319	25,378	5,912	33,785

XLSTAT version 6.0 - ANOVA – aspergilus Flavus

Annexe 3 : activité antioxydantes

	20¨% R1	20¨% R2	20% R3	40% R1	40% R2	40% R3	60% R1	60% R2	60% R3	SM	SM	SM
Aqueux VT	0.345	0.490	0.150	1.175	0.850	1.257	0.393	0.715	1.063	1.533	0.890	1.043
VM	0.301	0.277	0.229	0.953	1.49	1.37	0.117	0.67	0.540	1.290	1.127	1.048
METHAN	0.103	0.125	0.129	0.295	0.625	0.395	0.980	0.606	0.269	0.960	0.950	1.22
ETHAN	0.540	0.270	0.301	0.625	1 .11	0.365	0.780	0.750	0.870	1.810	1.950	1.920

Acide ascorbique

	SM	SM	SM	**20%**	**20%**	**20%**	**40%**	**40%**	**40%**	**60%**	**60%**	**60%**
VT aq	0.455	0.475	0.499	0.640	0.645	0.495	0.830	1.340	0.932	0.280	0.295	0.450
VM aq	**0.595**	**0.620**	**0.632**	**0.526**	**0.577**	**0.632**	**0.219**	**0.293**	**0.374**	**0.564**	**0.674**	**0.688**
méthane	**0.810**	**0.830**	**0.877**	**0.536**	**0.590**	**0.632**	**0.332**	**0.380**	**0.410**	**0.660**	**0.710**	**0.745**
éthane	**0.850**	**0.890**	**0.950**	**0.101**	**0.195**	**0.220**	**0.585**	**0.615**	**0.685**	**0.745**	**0.785**	**0.790**

Acide gallique

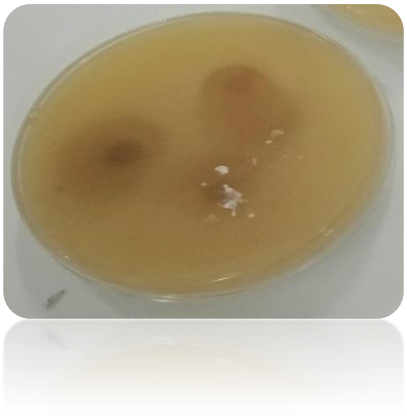
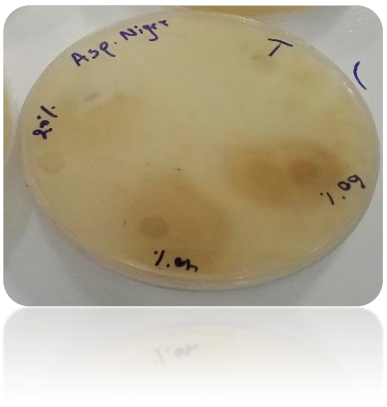
	SM	**SM**	**SM**	**20%**	**20%**	**20%**	**40%**	**40%**	**40%**	**60%**	**60%**	**60%**
VT	**0.475**	**0.490**	**0.560**	**0.676**	**0.500**	**0.276**	**0.900**	**0.990**	**0.997**	**0.520**	**0.282**	**0.276**
VM	**0.490**	**0.475**	**0.460**	**0.748**	**0.780**	**0.820**	**0.440**	**0.490**	**0.510**	**0.510**	**0.600**	**0.630**
Méthane	**0.814**	**0.865**	**0.890**	**0.220**	**0.290**	**0.310**	**0.430**	**0.490**	**0.510**	**0.615**	**0.680**	**0.710**
éthane	**0.867**	**0.890**	**0.910**	**0.462**	**0575**	**0.599**	**0.585**	**0.599**	**0.630**	**0.625**	**0.632**	**0.662**

VT : variété Tlemcen

VT : variété Médéa

SM : solution mère

Annexe 4 : resultats d'activité antifongique

Extrait	Concentration			Aspergillus Flavus	Aspergillus Niger
Aqueux. Médéa	20%	40%	60%		
Diamètre d'inhibition Maximale de chaque Dose	15	22	26,33		
Ethanol. Médéa	20%	40%	60%		
Diamètre d'inhibition Maximale de chaque Dose	15, 33	21,33	25		
Méthanol. Médéa	20%	40%	60%		
Diamètre d'inhibition Maximale de chaque Dose	16	25	31,66		
Aqueux. Tlemcen	20%	40%	60%		
Diamètre d'inhibition Maximale de chaque Dose	18,66	19,66	25		