RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIR

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ MÉDÉA

FACULTÉ DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master en **:** Chimie

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Par :

MEZIANI Aicha

TOUNSI Bouchra

THÈME :

L'étude cinétique d'extraction de polyphénols de plante *à partir* d'une source végétale

Soutenu publiquement le 14/06 / 2023, devant le jury composé de :

YAHOUM.M.M	Grade : MCA	Université de Médéa	Président
FARCH.S	Grade : MCB	Université de Médéa	Examinatrice
GHARDAOUI.D	Grade : MCB	Université de Médéa	Encadreur
BOUAZZA.F	Grade : MAA	Université de Médéa	CO-Encadreur

Dédicace

Je remercie le bon Dieu pour tout puisant qui nous a donné la force et la volonté d'archiver cette réalisation.

Avec tous mes sentiments de respect, je dédie ce modeste travail :

A mon paradis, la source de ma joie et mon bonheur, ***mon grand-père.***

A celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour, ma moitié, à ma ***grand-mère.***

A m es très chers parents qui m'ont soutenue et encouragée et qui étaient toujours à mes côtés.

A mes sœurs : ***Zineb*** *et* ***Malika.***

A mes frères : ***Ayoub, Ishak.***

A tous mes oncles chaque un avec son nom et leurs femmes et mes tantes.

A mes très chères amies : ***Fatiha, Meriem, Zahra, Sanaa, Nacira*** *pour tous les moments passés ensemble.*

Sans oublier ma chère binôme ***Aicha*** *pour sa patience et sa compréhension tout long de ce travail.*

A mes encadreurs ***Dr. GHARDAOUI*** *et* ***Dr. BOUAAZA*** *pour avoir dirigé ce travail et leurs conseils et pour tous les bons moments qui nous avions partagés ensemble et qui resterons toujours dans ma mémoire et je suis fier en toute sincérité qu'un jour vous ayez étaient mes enseignantes.*

A tous mes collègues d promotion de 2ème Master chimie pharmaceutique.

A tous ce qui ont participé à ma réussite et tous qui m'aiment.

BOUCHRA



Dédicace

Tout d'abord, je remercie Dieu de m'avoir facilité ce travail et de m'avoir donné la force de le mener à bien.

J'adresse mes sincères remerciements à ceux qui ont été la raison de ma venue ici, ***à ma mère*** *bien-aimée que Dieu ait pitié d'elle et à* ***mon cher père*** *que Dieu le protège pour moi.*

A mes frères qui ont travaillé dur pour moi ***Mohammed, Younes, Abou Baker.***

A mes sœurs ***Safia, Hadjer.***

A ma petite nièce ***Afnan.***

A tous mes amis que j'ai connus.

A tous ceux qui sont entrés dans ma vie et ont laissé un bon impact.

Sans oublier ma chère binôme ***Bouchra.***

A mes encadreurs ***Mme GHARDAOUI*** *et* ***Mme BOUAZZA*** *pour avoir dirigé ce travail et leurs conseils.*

AICHA

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donnés la force et la volonté, le courage pour réaliser ce travail.

Nous remercions nos encadreurs ***Mme. GHARDAOUI*** *et* ***Mme. BOUAAZA*** *pour avoir encadré et dirigé ce travail, pour la confiance qui nous accordés et pour leurs suivis au tout long de ce travail et pour tout information qu'elles nous donnes.*

Nos sincères remerciements s'adressent à ***Mme YAHOUM.M*** *pour l'honneur qu'elle nous avoir fait en acceptant de présider le jury.*

Nos sincères remerciements s'adressent à ***Mme FARCH.S*** *d'avoir accepté d'examiner et juger notre travail.*

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont participé de près au loin à la réalisation de ce travail de recherche et que n'avons pas cité, nous vous présentons l'expression de nos remerciements les plus sincères.

Merci



BOUCHRA ET AICHA 2023

ملخص

يهدف البحث الحالي الى دراسة حركية الاستخلاص البوليفينول من لحاء الرمان عن طريق النقع باستخدام الماء/الميثانول (75/25) كمذيب.

تقييم الدراسة الحركية لاستخراج البوليفينول مثل محصول الاستخلاص . القياس الكمي للبوليفينول (البوليفينول الكلي.الفلافونويد. التانينات) . النمذجة الحركية للاستخلاص من الرمان

اوضحت الدراسة البارامترية للاستخلاص ان المحصول يزداد مع الزمن حتى بقي ثابتا (45.2%) . سمح لنا القياس الكمي للبوليفينول بواسطة طريقة القياس الطيفي بتحديد محتويات البوليفينول الكلي بواسطة طريقة فولين سيوكالتيو ومحتويات الفلافونويد بواسطة ثلاثي كلوريد الالومنيوم ومحتويات التانينات بالفانيلين .اظهرة النتائج التي تم الحصول عليها ان كميات البوليفينول في زيادة مستمرة حتى تبقى ثابتة (97560ميكروغرام EAG/غرام MS) ,(4416ميكروغرام EQ/غرامMS) ,(411.75ميكروغرام EC /غرامMS) على الترتيب ,وان رمان ولاية المدية غني جدا بالبوليفينول .

تجعل النمذجة الحركية من الممكن تحديد النوع الحركي المتبع لنمذجة حركية المردود وحركية المركبات الفينولية (البوليفينول الكلي ,الفلافونويد, التانينات) بحيث نجد ان جميع النماذج الحركية لعملنا وفقا للترتيب الحركي الثاني.

الكلمات المفتاحية **:** الرمان , البوليفينول, النمذجة الحركية.

Résumé

Le présent travail pour but d'étudier la cinétique d'extraction de polyphénols à partir d'écorce de grenade par macération en utilisant comme solvant eau/méthanol (25/75).

L'évaluation d'étude cinétique d'extraction de polyphénols tels que : Le rendement d'extraction, la quantification de polyphénols (polyphénols totaux, Flavonoïdes, Tannins), modélisation cinétique d'extraction à partir de grenade.

L'étude paramétrique de l'extraction a montré que le rendement a augmenté avec l'augmentation de temps, jusqu'à reste constant (45.2%) en 27 heures. La quantification des polyphénols par la méthode spectrophotométrique nous a permet de déterminer les teneurs en polyphénols totaux par la méthode de folin-ciocalteu, en Flavonoïdes par le chlorure d'aluminium et en tannins par la vanilline. Les résultats obtenus montrent que les quantités de polyphénols en augmentation continue jusqu'à reste constant (97560 **µg EAG/g MS**), (4416 **µg EQ/g MS),** (411.75 **µg EC/g MS)** respectivement, et que la grenade de la wilaya de Médéa est très riche en polyphénols.

La modélisation cinétique permet de déterminer le type cinétique qui est suivie pour modéliser la cinétique de rendement et la cinétique des composés phénoliques (polyphénols totaux,

Flavonoïdes, tannins) tels que on trouve que tous les modèles cinétiques de notre travail selon le type cinétique de deuxième ordre.

Mots clés : Le grenade, Les polyphénols, modélisation cinétique.

Abstract

Evaluation of kinetic study of polyphenols extraction such as: extraction yield, quantification of polyphenols (total polyphenols, Flavonoids, tannins), kinetic modeling of extraction from pomegranate. The parametric study of the extraction showed that the yield increased with increasing time, until it remained constant (45.2%). The quantification of polyphenols by the spectrophotometric methods allowed as to determine the contents of total polyphenols by the folin-ciocalteu method, of Flavonoids by aluminum tricolored and of tannis by vanillin. The results obtained show that the quantities of polyphenols in continuous increase until remaining constant (97560 **µg EAG/g MS**), (4416 **µg EQ/g MS),** (411.75 **µg EC/g MS)** respectively and that the pomegranate of the wilaya of Medea is very rich in polyphenols.

Kinetic modeling makes it possible to determine the kinetic type which is followed to model kinetic of yield and the kinetic of phenolic compounds (total polyphenols, Flavonoids, Tannins) such that we find that all the kinetic models of our work according to the second order kinetic type.

Key words: Pomegranates, polyphenols, kinetic modeling.

Liste des figures

Partie 01 :		
Chapitre 01 : Généralités sur les Lythracée.		
Figure 1	Les plantes médicinales	5
Figure 2	Fruit de grenade	11
Figure 3	Les écorces de grenade	12
Figure 4	Les grains du grenade	12
Figure 5	Fleurs du grenade	13
Figure 6	Feuilles de grenade	13
Figure 7	Arbre de grenade	14
Figure 8	Usage traditionnel du grenade	16
Chapitre 02 :Les composés phénoliques		
Figure 1	Structure du noyau phénol	21
Figure 2	Squelette de base des flavonoïdes	24
Figure 3	Structure des tannins hydrolysables	26
Figure 4	Structure des tannins condensés	27
Partie 02 :		
Chapitre 03 : Matériel et Méthodes		
Figure 1	Grenade	37
Figure 2	Préparation de poudre des écorces de grenade	38

Figure 3	Pesé de matière sèche, macération à différents temps, filtration, centrifugation	39
Figure 4	Evaporation rotatif et récupération par solvant	40
Figure 5	Mesure d'absorbance de divers dilutions d'extrait de 24 heurs	41
Figure 6	Spectres d'absorbance d'extrait (dilution 1/30) et (dilution 1/60)	41
Figure 7	Les extraits après la réaction de polyphénols totaux avec folin-ciocalteu	42
Figure 8	Les extraits après la réaction des Flavonoïdes avec la trichlorure d'aluminium	43
Figure 9	Les extraits après la réaction des tannins avec la vanilline	43
Chapitre IV: Résultats et discussion		
Figure	Rendement en fonction de temps	45
Figure 2	Histogramme de rendement d'extraction dans différents régions	46
Figure 3	Absorbance de différents dilution d'extrait de 24 heures en fonction de concentration d'acide gallique	47
Figure 4	Rendement globale par UV et par masse	49
Figure 5	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	50
Figure 6	Quantité de PPT en fonction du temps	52
Figure 7	Courbe d'étalonnage de quercétine	53
Figure 8	Quantité de Flavonoïde en fonction du temps	55
Figure 9	Courbe d'étalonnage de catéchiene	56
Figure 10	Quantité de tannins en fonction du temps	59
Figure 11	Corrélation entre t/R et le temps	61
Figure 12	Rendement théorique et expérimentale d'extraction	63
Figure 13	Corrélation entre t/PPT et le temps	64
Figure 14	Quantité de PPT théorique et expérimentale	66
Figure 15	Corrélation entre t/Flavo et le temps	67

Figure 16	Quantité de Flavonoïde théorique et expérimentale	69
Figure 17	Corrélation entre t/tanin et le temps	70
Figure 18	Quantité de tannin théorique et expérimental	72

Liste des tableaux

Partie 01 : ***Chapitre 01 :*** Généralités sur les Lythracée.		
Tableau 1	Classification des Lythracées à l'exclusion des séries sans nom**.**	9
Tableau 2	Classification de grenadier.	14
Tableau 3	Composition chimique de fruit de la grenade.	15
Chapitre 02 :Les composés phénoliques		
Tableau 1	Structure des squelettes des polyphénols.	22
Tableau 2	Quelques dérivés de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique.	23
Tableau 3	Différentes classes des flavonoïdes.	24
Partie 02 : ***Chapitre 03 :*** Matériel et Méthodes		
Tableau 1	Matériels et produits utilisés.	36
Chapitre 04: Résultats et discussion		
Tableau 1	Rendement d'extraction (%)	45
Tableau 2	Rendement globale par UV et par masse	48
Tableau 3	Absorbance et quantité de la matière de polyphénols.	51
Tableau 4	Absorbance et quantité de la matière de flavonoïde.	54
Tableau 5	Absorbance et quantité de la matière de tannin.	57
Tableau 6	Modèles mathématiques de cinétique d'extraction.	60

Tableau 7	Rendement théorique et expérimental.	61
Tableau 8	Quantité de PPT théorique et expérimentale.	65
Tableau 9	Quantité de flavonoïde théorique et expérimentale.	68
Tableau 10	Quantité de tannin théorique et expérimentale.	71

Liste des abréviations

PPT : Polyphénols totaux.

Flavo : Flavonoïdes.

µg EAG /g MS : Microgramme équivalente acide gallique par gramme par rapport au matière sèche.

µg EQ/g ES : Microgramme équivalent quercétine par gramme par rapport au extrait sec.

µg EC/g ES : Microgramme équivalent catechiene par gramme par rapport au extrait sec.

ES : Extrait sec.

MS : Matière sèche.

$\mathbf{P_{av}}$: Poids avant l'évaporation.

$\mathbf{P_{ap}}$: Poids après l'évaporation.

T : Température.

t : temps.

R : Rendement.

tr/min : tour par minutes.

UV-VIS : Ultraviolet-Visible.

Sommaire

Introduction Générale *1*

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les Lythracée

I.1. Les plantes médicinales *5*

I.1.1. Définition **5**

I.1.2. Intérêt des plantes médicinales **5**

I.1.3. Domaines d'applications des plantes médicinales **6**

I.1.4. Les avantages **6**

I.1.5. Les inconvénients **6**

I.2. Généralités sur les Lythracées *7*

I.2.1. Description botanique de la famille Lythracée **7**

I.2.2. Classification botanique **7**

I.3.1. Origine de nom **9**

I.3.2. Noms vernaculaires **9**

I.3.3. Description botanique **9**

I.3.3.1. Fruits 9

I.3.3.2. Ecorce de fruit 10

I.3.3.3. Graine 11

I.3.3.4. Fleurs 12

I.3.3.5. Feuilles 12

I.3.4. Classification botanique **13**

I.4.Composition chimique *14*

I.5. Utilisation de grenade *15*

I.5.1. Utilisation traditionnelle **15**

I.5.2. Utilisation thérapeutiques **16**

I.6.Propriétés thérapeutique *16*

I.6.1. Propriétés anti inflammatoires **16**

I.6.2. Activité antimicrobienne **16**

I.6.3. Activité antioxydant **17**

I.6.4. Propriété antiseptiques **17**

I.6.5. Toxicité de grenade **17**

I.7.Propriétés pharmacologique ***18***

Chapitre II : Les composés phénoliques

II.1. Définition ***21***

II.2. La structure des composés phénoliques ***21***

II.3. Classification des composés phénoliques ***21***

II.4. Principaux composés phénoliques ***23***

II.4.1. Acides phénoliques **23**

II.4.2. Flavonoïdes **24**

II.4.3. Tanins **25**

II.4.3.1. Tanins hydrolysables 26

II.4.3.2. Tanins condensés 26

II.5. Rôle des composés phénoliques ***27***

II.6. Propriétés chimiques ***28***

II.7. Propriétés biologiques ***28***

II.7.1. Propriété antioxydant **28**

II.7.2. Activité antimicrobienne **29**

II.8. Techniques d'extraction des composés phénoliques ***30***

II.8.1. Techniques classiques **30**

II.8.2. Macération **30**

II.8.3. Extraction par soxhlet **30**

II.8.4. Techniques alternatives **30**

II.8.5. Extraction assistée par ultrason **31**

II.8.6. Extraction assistée par micro-ondes 31

Partie 2 : Etude expérimentale

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Introduction 35

III.2. Matériels et produits 35

III .3. Mode opératoire 37

III.3.1. Récolte et préparation de matière végétale 37

III.4. Préparation des extraits 38

III.4.1. Extraction solide/liquide par macération 38

III.4.2. Evaporation 39

III.4.3. Rendement des extraits secs 40

III.5. Dosage de rendement par UV-Visible 40

III.6. Dosage des composés phénoliques 42

III.6.1. Polyphénols totaux 42

III.6.2. Flavonoïdes 42

III.6.3. Tannins 43

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1. Rendement 45

IV.2. Dosage de rendement par UV-Visible 47

IV.2. Quantification et étude cinétique des composés phénoliques 49

IV.2.1. Quantification et étude cinétique des polyphénols totaux 49

IV.2.1.1. Quantification des polyphénols totaux 49

IV.2.1.2. Etude cinétique de polyphénols totaux 50

IV.2.2. Quantification et étude cinétique des flavonoïdes 53

IV.2.2.1. Quantification de flavonoïde 53

IV.2.2.2. Etude cinétique des flavonoïdes 54

IV.2.3. Quantification et étude cinétique des Tannins 56

IV.2.3.1. Quantification des tannins 56

IV.2.3.2. Etude cinétique des tannins 57

IV.3. Modélisation cinétique *59*

IV.3.1. Les modèles mathématiques de cinétique d'extraction **59**

IV.3.2. Modélisation cinétique du rendement d'extraction **60**

IV.3.3. Modélisation Cinétique du polyphénols totaux **62**

IV.3.4. Modélisation cinétique du flavonoïde **65**

IV.3.5. Modélisation cinétique du tannin **68**

Conclusion générale **74**

INTRODUCTION GENERALE

Introduction Générale

Ces dernières années, une grande attention a été accordée aux bienfaits pour la santé humaine de la consommation régulière de fruits et légumes. Cette valeur nutritionnelle réside dans une grande variété de molécules biologiquement actives (fibres, caroténoïdes, composés phénoliques, vitamines, etc.) (Tomas-Barberan et Gil, 2008). La grenade est l'un des produits les plus riches en antioxydants, notamment les polyphénols solubles, les tanins et les anthocyanes (Gil et al, 2000). Ces composés présentent diverses activités biologiques, notamment l'élimination des radicaux libres, l'inhibition de la croissance microbienne, la réduction du risque de maladies cardiovasculaires et cérébrovasculaires et certains types de cancer (Mena et al, 2011). L'extrait de grenade peut également être utilisé pour prévenir ou traiter des affections liées aux œstrogènes telles que l'athérosclérose, la diarrhée, les ulcères gastriques et la maladie de Paget du mamelon (Holland et al, 2009).

Le fruit du grenadier, son écorce et ses fleurs sont utilisés depuis très longtemps par différentes civilisations anciennes pour leurs différentes activités thérapeutiques (Douaouri, 2018). Plusieurs chercheurs ont rapporté que les utilisations modernes des produits dérivés de la grenade comprennent maintenant la prévention et le traitement de certains types de cancer tels que le cancer du poumon et le cancer de la prostate (Amira, 2021).

Les composés phénoliques sont impliqués dans de nombreux aspects du système biologique de plante : mécanismes de pigmentation, de croissance et de reproduction, protection contre les prédateurs… ces composés d'intérêt biologique sont au moins un motif phénolique (greffé par un cycle aromatique) est présent. ou plusieurs groupes -OH). Leur effet positif est agit comme un antioxydant pour l'organisme humain Il est particulièrement reconnu dans le domaine de la médecine préventive. Les polyphénols sont en fait en plus des effets anticancéreux et capacité à lutter contre la carie dentaire et la diarrhée. Vous pouvez également participer à de grands événements conservation des certains aliments transformés comme l'huile d'olive en limitant l'oxydation lipides qu'il contient (Boubekri, 2014).

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des composés phénoliques des plantes médicinales pour but de désorption des molécules d'intérêt des sites actif de la matière végétale selon leur propriétés physico-chimiques. Parmi les méthodes d'extraction on site : extraction par macération, par décoction, extraction assisté par micro-ondes, par ultrason et par soxhlet.

Dans notre travail nous avons choisies la méthode d'extraction le plus utilisé par macération pour ça simplicité, moins chère et se déroule à température ambiante ce qui permettre d'éviter la dégradation des molécules fragiles (thermosensible).

La modélisation est la base pour développer le passage de l'échelle du laboratoire à l'échelle industriel parce qu'elle est permise de généraliser et d'ajuster les données expérimentales.

Afin de simuler la cinétique d'extraction des composés phénoliques par macération il y'a des modèles cinétiques qui sont correspondants à l'extraction comme (première ordre, deuxième ordre, diffusion Intra particulière, Elovich).

L'objectif de notre étude consiste à l'extraction des composes phénoliques à partir d'une source végétale qui sont les écorces de grenade et la détermination des rendements par les deux méthodes (la méthode classique et par UV-visible) et les teneurs en composés phénoliques puis la modélisation cinétique.

Donc, notre manuscrit divisé en deux parties :

Le premier est l'étude bibliographique qui porte deux chapitres, l'un sur les plantes médicinales dont *punica granatum L* et l'autre sur les composés phénoliques.

Le deuxième est l'étude expérimentale ce qui contient deux chapitres :

Le premier : On a décrit le matériels et les méthodes utilisés pour l'extraction et le dosage des composés phénoliques (poly phénols totaux, flavonoïdes, tannins) contenus dans notre extrait.

Le deuxième présente nos résultats et discussions sur :

- Le rendement de l'extrait d'écorce de grenade.
- Le dosage des composés phénoliques (poly phénols totaux, flavonoïdes, tannins).
- La modélisation cinétique.

A la fin, nous avons comparés nos résultats de rendement avec la bibliographie.

Partie 1 :

Etude bibliographique

Chapitre I :

Généralité sur Lythracées

I.1. Les plantes médicinales

I.1.1. Définition

Toute plante qui possède un ou plusieurs principes actifs ayant la capacité de prévenir, soulager ou guérir des maladies est considérée comme une plante thérapeutique (Schauenberg et Paris, 1977). Selon la définition de l'OMS, une plante médicinale est une plante ou une partie de celle-ci qui contient des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs pour la synthèse d'autres drogues utiles, dont les propriétés thérapeutiques ont été prouvées scientifiquement ou empiriquement dans la médecine traditionnelle (Amini, 2010).



Figure I.1 : plantes médicinale

I.1.2. Intérêt des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. En effet, elles présentent des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (Iserin, 2001). La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maitrisés (Bruneton, 2009). Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques,

mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs (Decaux, 2002).

I.1.3. Domaines d'applications des plantes médicinales

Il y un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effet secondaire défavorable.

Utilisation en médecines en tant que médicament pour l'homme ; exemple : Réduisaient le risque de nombreuses maladies chroniques comme le cancer, les accidents vasculaires cérébraux et les coronaropathies.

Une action sur le système nerveux, la circulation sanguine, une action antibiotique,...etc.

En alimentation, assaisonnements, des boissons, des colorants et des composés aromatiques. Les épices et les herbes aromatiques.

En cosmétique, des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène. Des suppléments diététiques (Barka et Ben Attallah, 2010).

I.1.4. Les avantages

Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable, c'est l'un de leurs principaux avantages. De plus, l'action synergique des divers constituants commence à être mieux comprise et acceptée scientifiquement (Decaux, 2002), contrairement à certaines croyances populaires, plusieurs plantes ont des effets pratiquement immédiats sur le métabolisme. Par contre, les médicaments de synthèses ont souvent une action plus directe et plus spectaculaire puisqu'ils sont formulés pour être immédiatement assimilés par l'organisme. Il est également plus facile de s'assurer de leur composition exacte, de leurs conditions de conservation (Simon et Mills, 2001).

I.1.5. Les inconvénients

Certaines plantes sont inoffensives. Mais d'autre, comme de nombreuses espèces (digitale, belladone, colchique, etc...) sont toxiques et elles ne sont utilisées sous des formes bien contrôlées, exclusivement commercialisées en pharmacie. L'emploi inconsidéré de plantes cueillies dans la nature peut aboutir à des intoxications graves et mortelles (Williamson ,2001)

I.2. Généralités sur les Lythracées

Les Lythracées constituent une famille de taille moyenne (Myrtales) qui, lorsqu'elle est largement délimitée, comprend environ 31 genres et 600 espèces présentes dans le monde entier (Graham et al. 1993a). Selon la définition traditionnelle (Koehne, 1903) la famille comprend 28 genres et est facilement reconnaissable. Comprend 28 genres et est facilement reconnaissable par une série des caractères: feuilles entières opposées ; tube floral persistant, périgyne, campanulé à tubulaire, persistant, avec des pétales froissés insérés au bord ; deux verticilles d'étamines insérés profondément dans le tube ; et un fruit capsulaire à plusieurs graines. Les genres sont clairement délimités et sont considérés comme monophylétiques à l'exception de trois paires de congénères possibles : Ammannia Nesaea, Lythrum Peplis (Graham et al. 1993a) et Ginoria Haitia (S. A. Graham, observation personnelle).

I.2.1. Description botanique de la famille Lythracée

La plupart des genres sont des arbustes ligneux ou de petits arbres, mais huit sont des herbes. Les quatres plus grands genres, Cuphea, Diplusodon, Lagerstroemia, et Nesaea, représentent les trois quarts de toutes les espèces, tandis que 17 genres, 61% de la famille sont mono- ou ditypiques. D'une certaine économique sont Lagerstroemia, le myrte cultivé, Lawsonia, la cultivée ; Lawsonia, source de teinture de henné ; et Cuphea, source d'huiles de graines spécialisées et d'horticulture, Cuphea, source d'huiles de graines spécialisées et de plantes horticoles.

I.2.2. Classification botanique

Koehne (1881) a divisé la famille étroitement circonscrite en deux tribus, chacune avec deux sous tribus (tableau I.1). La classification est très artificielle, les tribus et les sous-tribus étant délimitées par quelques caractères non exclusifs. Par quelques caractères non exclusifs. En outre, (Tobe et al, 1998) ont trouvé que la caractéristique définissant les tribus, la présence ou l'absence de parois septales complètes dans l'ovaire, était erronée. Les coupes anatomiques ont révélé des cloisons septales incomplètes à l'apex du placenta chez tous les genres, ce qui annule l'unique base de la division primaire de la famille. Une analyse cladistique morphologique des Lythracée n'a pas permis de retrouver des clades équivalents aux tribaux ou sous-tribaux, ni

produit de relations alternatives bien étayées relations alternatives bien étayées (Graham et al, 1993).

Sous famille des sonneratioideae	Sonneratia
Sous-famille duabangoideae	Duabanga
Sous-famille puncoideae	Punica
Sous-famille Lythroideae (Lythraceae sensu stricto)	Tribu des Lythracées
Sous-tribu Lythrinae	Rotala, Ammannia, (Hionanthera), Peplis, Didiplis, Lythrum, Woodfordia, Cuphea, Pleurophora
Sous-tribu Diplusodontinae	Galpinia, Pemphis, (Capuronia), Diplusodon, Physocalymma, Lafoensia.
Tribu Nesaeeae	Sous-tribu Nesaeinae: Crenea, Nesaea, Heimia, Decodon, Pehria, Adenaria, (Koehneria), (Lourtella), Tetrataxis, Ginoria, (Haitia)
Sous-tribu Lagerstroemiinae	Lagerstroemia, Lawsonia

Tableau I.1 : Classification des Lythracées à l'exclusion des séries sans nom (koehne, 1903).

I.3. Etude botanique de grenadier

I.3.1. Origine de nom

Le nom de l'espèce Granatum (en latin granum: grain) fait référence aux nombreux pépins du fruit. *Punica Granatum L*, fait partie de l'ordre des Myrtales et de la famille des Lythracées. *Punica Granatum* possède différents noms communs. Ainsi, grenadier est synonyme de : Balaustier, Miouganier, Arosse, Granatier, Migranier, Miougranié, Baloufié. De même, la fleur du grenadier est également appelée balauste. (Planchon; Collin, 1875). Aussi, le fruit, la grenade, porte quelquefois le nom de : Pomme vénitienne, Pomme grenade, Pomme de Carthage, Balauste, Miougane, Arosse, Granate, Migrane. Quant au mot malicorium, il désigne l'écorce du fruit de la grenade.

I.3.2. Noms vernaculaires

Le nom vernaculaire de *Punica granatum* varie. Ainsi le nom de cet arbre sera :

- En anglais : Pomegranate.

- En allemand : Grenadierbaum, Granatapfelbaum, Granatbaum, Gemeine Granat, Balluster.

- En espagnol : Granado, Mangrano.

- En italien : Granato.

- En chinois : Ngan Che Lieou, Shi Liu.

-En arabe : Shajarat al roman (شجرة الرمان)

I.3.3. Description botanique

I.3.3.1. Fruits

Le fruit du grenadier, est une baie ronde, cortiquée, c'est-à-dire à épicarpe cutinisé et dur, de taille d'une pomme ou d'une oronge, de 2 à 12 cm de diamètre. Très coloré, généralement de couleur rouge vif, peut avoir une peau de teinte blanc jaunâtre, ou jaune foncé ou encore violet très foncé. Elle est surmontée des restes du calice, forment une couronne dentée, qui la rend facilement identifiable. Son péricarpe, coriace et épais, est non comestible (Elodie, 2009). Cette

baie garde de nombreuses graines dans des loges, séparées par des cloisons ténues et membraneuses. Toutes ces graines possèdent un mésocarpe charnu et gélatineux, acidulé et sucré, représentant la partie comestible du fruit.

L'écorce du fruit du grenadier est appelée malicorium (Fig I.2). Il s'agit de la partie dure du fruit. Elle est utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtre à l'extérieur, un peu verruqueux, brillants, jaunâtres sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient appliquées. La saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente (Planchon et Collin, 1875).



Figure I.2 : Fruit de grenade

I.3.3.2. Ecorce de fruit

L'écorce de la grenade (ou malicorium) est la partie dure du fruit. Elle est généralement utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtre à l'extérieur, un peu verruqueux, brillants, jaunâtres sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient appliquées. La saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente (Planchon, 1875).



Figure I.3 : Ecorces de grenade

I.3.3.3. Graine

Cette baie renferme de nombreuses graines contenues dans des loges, séparées par des cloisons ténues et membraneuses. En tout, il y a à peu près 400 graines dans chaque fruit. Toutes ces graines possèdent un mésocarpe charnu et gélatineux, acidulé et sucré, représentant la partie comestible du fruit (Bärtels, 1998). Les graines, au tégument externe pulpeux et très succulent, possèdent un tégument Interne dur et coriace. Ces multiples graines, courtement funicules, deviennent plus ou moins anguleuses par compression réciproque. L'embryon, exalbuminé, est formé d'une courte radicule et de deux larges cotylédons auriculés, enroulés en spirale l'un sur l'autre (Courchet, 1897).



Figure I.4 : grains de grenade

I.3.3.4. Fleurs

Les fleurs sont très ornementales, elles sèches sont sans odeur. Elles sont une saveur âpre et astringente et donnent à la salive une couleur violacée. Les fleurs rouges, pourpres ou grenats sont solitaires à l'aisselle des feuilles ou réunies par groupe de 2 ou 3 (Fabre et Ermosilla, 2008).



Figure I.5 : Fleur du grenade

I.3.3.5. Feuilles

Les feuilles opposées à court pétiole, ovales, entières, vertes brillantes, sont opposées. Elles peuvent avoir une disposition alterne sur les rejets ou être en touffes sur les pousses courtes. Elles sont glabres sur les deux faces. La face supérieure est vert foncé et à nervure médiane nettement déprimée. La face inférieure, vert clair, montre une nervure médiane très saillante (Godet, 1991). Elles ne possèdent pas de stipule.



Figure I.6 : Feuilles de grenade

I.3.4. Classification botanique

Le grenadier « Punica granatum » est dérivé du latin « Malumgranatum » et signifie « Fruit à petits grains » (Cyr, 2017). Il a été décrit par Linné et introduit pour la première fois dans sa classification en 1753, qui a été révisée en 2003 par un groupe de botanistes, « Angiosperme Phylogénie Group » ou APG, donnant naissance à une nouvelle classification phylogénétique (Wald, 2009). Cette classification est décrite dans le tableau I.2 :

Tableau I.2 : Classification de grenadier.

Branchements	Angiosperm
Sous branchements	Dicotylédonsvraies
Classe	Rosidées
Ordre	Myrtales
Famille	Lytraceaée
Genre	Punica
Espèce	Punica granatum L



Figure I.7 : Arbre de grenade

I.4.Composition chimique

La composition chimique des fruits de la grenade est donnée dans le tableau I.3.

Tableau I.3 : Composition chimique du fruit de la grenade (Elodie, 2009)

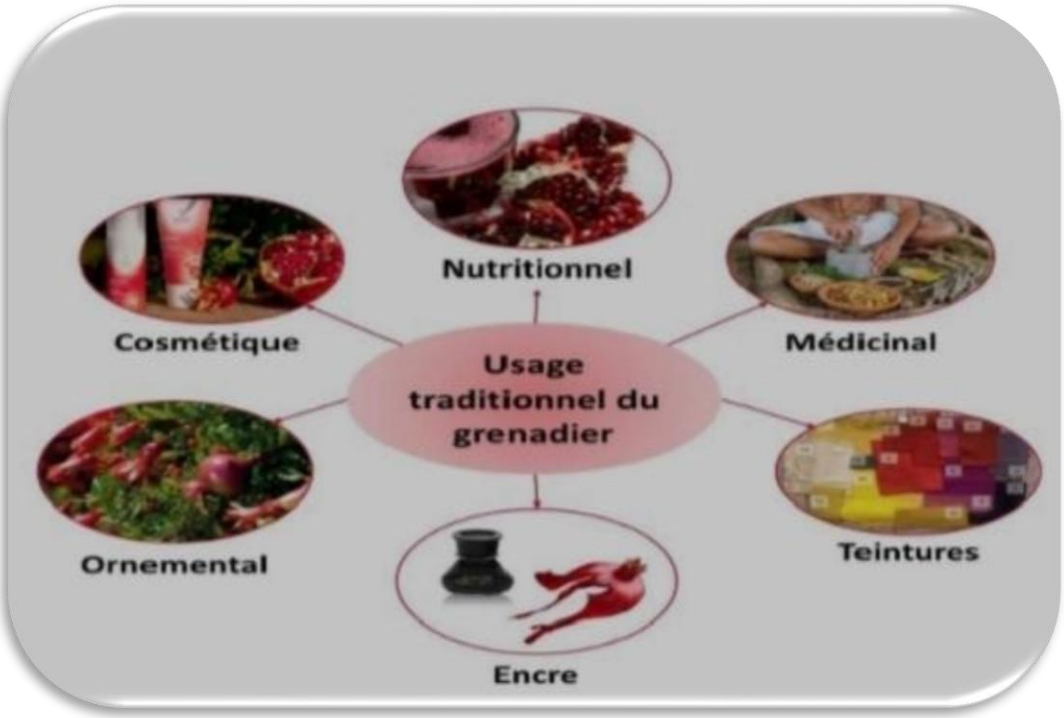
Partie du fruit	Compostions
L'écorce de la grenade	• **Acides hydroxy benzoïques :** l'acide gallique et l'acide ellagique • **Acides hydroxycinnamiques** • **Dérivés de flavones :** molécules de coloration jaune • **Anthocyanidines :** responsable de la couleur rouge des grenades • **Nombreux ellagitanins :** tels que la punicaline, la punicalagine , la corilagine la granatine A et la granatine B • **La pelletiérine** pourrait aussi se trouver dans la peau de grenade
Le jus de grenade	• **Sucres :** tels que le glucose, le fructose et le saccharose • **Acides organiques :** l'acide citrique, l'acide ascorbique,l'acide gallique et ellagique • **Acides aminés :** la valine ,proline et méthionine
	• **Flavonols et indole-amines :** la tryptamine , la sérotonine • **Anthocyanines :** puissantes molécules antioxydant, fournissant au jus de grenade sa couleur rouge, augmente jusqu'à maturité du fruits , et diminue après la pression du fruit

Les graines	• **Huile** : qui se compose : - **Acides gras insaturés :** l'acide punicique, les acides oléiques et linoléique et d'autre acides - **Acides gras saturés :** les acides palmitique et stéarique • **Hormones stéroïdiennes ,Nombreux stérols :**le cholestérol

I.5. Utilisation de grenade

I.5.1. Utilisation traditionnelle

A de soit traditionnellement utilisée 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'autres utilisations sont également présentes comme les teintures naturelles, la décoration et en cosmétique (Sitzia, 2009).



FigureI.8 : Usage traditionnel du grenade

I.5.2. Utilisation thérapeutiques

La grenade est utilisée en médecine naturelle et holistique pour traiter les maux de gorge, la toux, les infections des voies urinaires, l'indigestion, l'indigestion, les affections cutanées, l'arthrite et pour se débarrasser des ténias. Cependant, de nouvelles recherches suggèrent que la grenade peut aider à traiter des affections telles que le cancer de la prostate, le cancer de la peau, ainsi que l'arthrose et le diabète. Des études montrent que les graines de grenade aident à éliminer les graisses du système digestif. Des études cliniques ont montré que les grenades dans le cadre d'une alimentation saine peuvent aider à prévenir les maladies cardiaques, les crises cardiaques et les accidents vasculaires cérébraux. En effet, la grenade a la capacité de fluidifier le sang, d'augmenter la circulation sanguine et d'améliorer la qualité de l'air. Augmenter le flux sanguin vers le cœur, abaisser la tension artérielle, réduire la plaque dans les artères et le mauvais cholestérol, tout en augmente le bon cholestérol. La fleur de grenade est utilisée dans la médecine et ayurvédique comme traitement du diabète. Il a été démontré que l'extrait de grenade élimine les radicaux libres chez les animaux, réduit le stress oxydatif des macrophages et la peroxydation lipidique pour les animaux et améliore la capacité antioxydant du plasma chez l'homme. De petite essai clinique a montré qu'il inhibe l'ECA sérique et abaisse la pression artérielle systolique pour les patients hypertendus. (Kumari et al, 2012)

I.6.Propriétés thérapeutique

I.6.1. Propriétés anti inflammatoires

Des études in vivo ont montré que l'huile de pépins de grenade inhibe ses effets :

Cyclo-oxygénase et lipo-xygénase. La Cyclo-oxygenae, enzymes clés de la transformation Convertit l'acide arachidonique en prostaglandines (médiateurs inflammatoires majeurs).

Il a été inhibé de 37% par l'extrait d'huile de graines pressées. Les lipoxygénases catalysent la conversion de l'acide arachidonique en leucotriènes et sont également des médiateurs importants d'inflammation. Le même extrait a réduit l'inflammation de 75%. (Seeram et al, 2004).

I.6.2. Activité antimicrobienne

Par conséquent, l'écorce du fruit de *Punica granatum L* est active in vitro antibactérien. Cette écorce donne également une combinaison unique de tanins et d'alcaloïdes. Leur effet synergique

explique probablement l'absence de découverte de cette activité antibactérienne dans d'autres fruits sont également riches en tanins et en alcaloïdes (Esmaillzadeh et al, 2006).

I.6.3. Activité antioxydant

Des études in vitro ont montré que le jus de grenade et l'extrait de pépins des grenades ont deux à trois fois le pouvoir antioxydant du thé vert et du vin rouge en les emprisonnant les radicaux libres, et en réduit le stress oxydatif des macrophages et la peroxydation lipidique chez les animaux. (Bruneto J, 1999). Dans le jus de grenade, les ellagitanins et les anthocyanes sont les polyphénols antioxydants les plus importants.

Les ellagitanins représentent 92 % de l'activité antioxydant du jus de grenade. Il est concentré dans les écorces, la membrane et la pulpe du fruit. (Basu et Penugonda, 2009).

I.6.4. Propriété antiseptiques

Une autre étude publiée, par (Al-saeedet al, 2015) a révélé l'efficacité de l'extrait éthanoïque de l'écorce de grenade dans le traitement des plaies infectées par des champignons chez les lapins, prouvant la propriété antiseptique de l'écorce de grenade. Egalement, l'extrait iso flavonoïdes de l'écorce de grenade peut avoir un effet significatif sur l'amélioration des paramètres reproductifs chez les males des lapins.

I.6.5. Toxicité de grenade

La partie comestible de la grenade n'est pas toxique, par contre l'écorce riche en tannins peut être nuisible pour l'organisme. Beaucoup d'études ont prouvé que lorsque le contenu en tannins de la ration alimentaire dépasse 0,25% est cancérogène (Morton, 1987). Afin de mieux comprendre l'effet de la consommation de grenade ou des extraits de grenade sur l'organisme et leur rôle dans le traitement de certaines maladies, il est nécessaire de connaitre les substances bioactives et leurs propriétés. Il a été dit que la punicalagine, le tanin ellagique hydrosoluble et le polyphénol antioxydant très abondant dans le jus de grenade étaient toxiques pour le bétail. Une étude a donc été réalisée sur des rats Sprague-Dawley pour évaluer la toxicité potentielle de ce composé via un régime enrichi en punicalagine à hauteur de 6% administré sur une période de 37 jours. La quantité d'aliments ingérés, l'index d'utilisation alimentaire et le taux de croissance sont plus faibles chez les rats traités durant les 15 premiers jours sans effet adverse

significatif. Cela pourrait être dû à la plus faible valeur nutritionnelle de la ration enrichie en punicalagine ainsi qu'à sa moindre appétence. Aucune différence significative n'a été observée lors des analyses de sang, sauf pour l'urée et les triglycérides qui sont restés à des valeurs faibles durant toute l'expérience. L'analyse histopathologique du foie et des reins a confirmé l'absence de toxicité (Cerda et al, 2003).

I.7.Propriétés pharmacologique

L 'écorce du grenadier est considérée comme un remède spécifique du ver solitaire, ou ténia. En effet, les alcaloïdes contenus dans la peau et l'écorce contraignent ce parasite à se détacher de la paroi intestinale. Ensuite, si la décoction est prise avec un laxatif puissant, l'intrus est facilement expulsé. La peau et l'écorce sont également astringentes et permettent de traiter la diarrhée. En Espagne, on boit du jus de grenade pour améliorer la digestion ou lutter contre les flatulences (Iserin, 2001). D'après Bellakhdar (1997), Le fruit et son jus employés au Maroc comme pectoral et astringent. Le jus est utilisé, au Moyen-Orient, comme condiment acidifiant et astringen aussi comme diurétique. Les Feuilles étaient considérées comme fortement astringentes et connus comme antidiarrhéique. Selon Beloued (2005), ces feuilles fraîches ou sèches, donnent une tisane efficace contre la débilité de l'estomac, les nausées, la faiblesse, générale, la chlorose (Laghouiter, 2017). Les Fleurs, ou balaustes, de coloration rouge, étaient signalés en Algérie avant l'indépendance pour leur emploi comme astringent ; ces fleurs mises à macérer dans du lait de chamelle étiraient employées en usage externe pour traiter les dartres du visage en Afrique du Nord et en particulier au Maroc (Laghouiter, 2017). Les extraits de jus de grenade semblent pouvoir ralentir le développement des cellules cancéreuses et la formation de tumeurs prostatiques. D'autre part, ils semblent présenter d'intéressantes et multiples propriétés contre le cancer du sein, aussi bien dans un but préventif que dans un but thérapeutique (Laghouiter, 2017).

Chapitre II : Les composés phénoliques

II.1. Définition

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires spécifiques du règne végétal qui forment un très vaste ensemble de plus de 8000 molécules d'une extrême diversité (Edeas, 2007), allant de molécules phénoliques simple de bas poids moléculaire, tels les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tannins (Lugasi et al, 2003). L'élément structural fondamental qui caractérise toutes ces molécules est la présence d'au moins un noyau benzénique, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyl, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, héreroside (Bruneton, 1999).

II.2. La structure des composés phénoliques

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix et al, 2005). Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Martin et al, 2002).

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Druzynka et al, 2007).

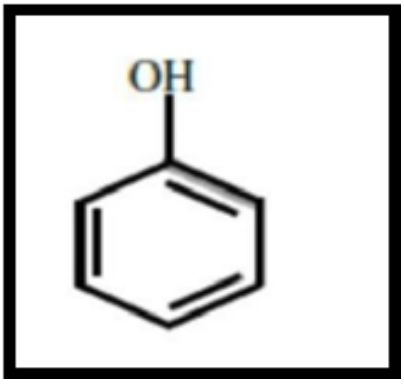
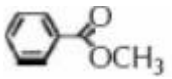
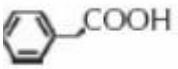
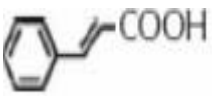
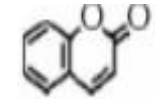
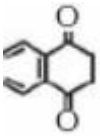
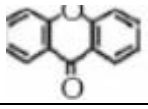
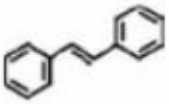
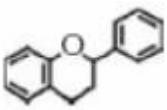


Figure II.1: structure du noyau phénol

II.3. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols forment un très vaste ensemble des substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (tableau II.1). Ces molécules sont généralement trouvées conjuguées aux sucres et les acides organiques.

Tableau II.1 : Structures des squelettes des polyphénols (Crozier et al, 2006).

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C_6-C_1	Acides phénols	Acide gallique	
8	C_6-C_2	Acétophénones	Gallacetophénone	
8	C_6-C_2	Acides phénylacétiqu	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C_6-C_3	Acides hydroxycinamiques	Acide p-Coumarique	
9	C_6-C_3	Coumarines	Esculitine	
10	C_6-C_4	Naphthoquinones	Juglone	
13	C_6-C_1-C_6	Xanthones	Mangiferine	
14	C_6-C_2-C_6	Stilbènes	Resvratrol	
15	C_6-C_3-C_6	Flavonoïdes	Naringénine	

II.4. Principaux composés phénoliques

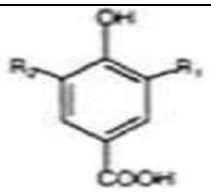
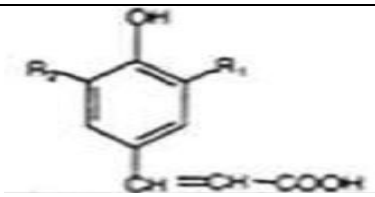
II.4.1. Acides phénoliques

Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques, possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Ribereau-Gayon, 1968). Ces acides phénoliques sont largement répandus chez les plantes. Ils dérivent principalement de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique (Daas Amiour, 2009).

• Acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique.

• Acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique (Nkhili, 2009).

Tableau II.2: Quelques dérivés de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique (Dacosta, 2003).

D.A.benzoiques			D.A. cinnamiques			
						
Acide	Radical		Acide	Radical		
	R1	R2		R1	R2	R3
Hydroxbenzoique	H	H	Cinnamique	H	H	H
Vanilique	H	OCH3	Férulique	OCH3	OH	H
Syringique			Sinapique	OCH3	OH	OCH3
Protocatéchique	OH	H	Caféique	OH	OH	H
			Coumarique	H	OH	H

II.4.2. Flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques (Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006), ce sont des pigments responsables à la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C_6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 **(Figure II.2)** (Lugasi et al, 2003).

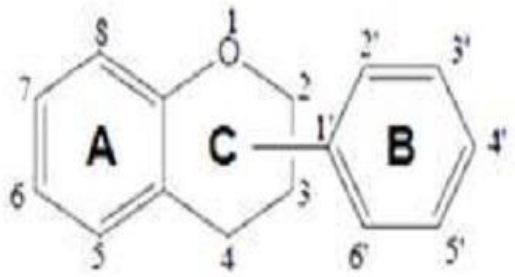
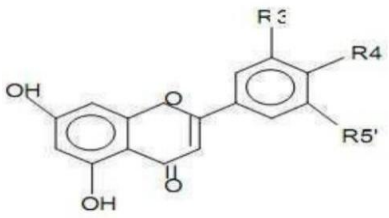
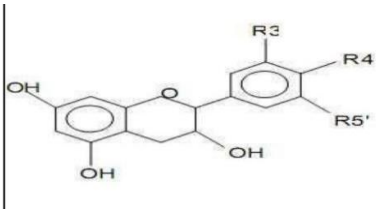
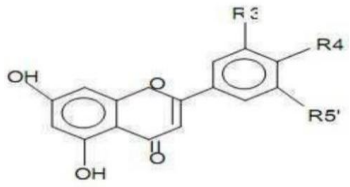
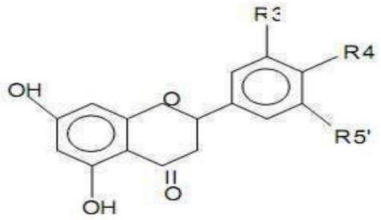
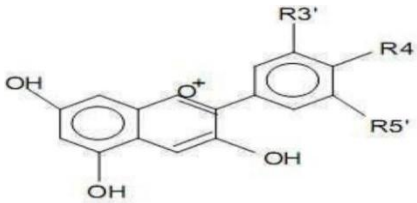
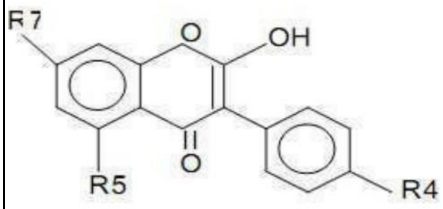


Figure II.2: Squelette de base des flavonoïdes (Ribereau – Gayon, 1968).

La cyclisation, le degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C conduisent aux diverses classes de flavonoïdes (Dehak, 2013), dont les plus importantes sont : Anthocyanes ; Flavones et flavonols ; flavonones et flavononols ; chalcones et aurones (Tableau II.3) (Collin et Crouzet, 2011).

Tableau II.3: Différentes classes des flavonoïdes (Narayana et al, 2001 ; Erdman et al, 2007).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemple
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine

Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
			OH	H	Eriodictyol
Anthocyani dines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4’	Exemple
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

II.4.3. Tanins

Les tanins ont la propriété de précipiter les protéines (Bruneton, 1999), que l’on trouve dans des nombreux végétaux tels que les écorces d’arbres et les fruits… etc. (Macheix et al, 2005).

On distingue deux types, les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Nkhili, 2009).

II.4.3.1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables (Figure II.3) sont des ester d'acide gallique ou un de ses dérivés (acide éllagique, chébulique ou vaonique) (Haslam, 1996), par hydrolyse enzymatique ou acide, ils donnent des sucres de l'acide gallique et ces différents dérivés parmi lesquels : l'acide ellagique est le plus importants (Djahra, 2015).

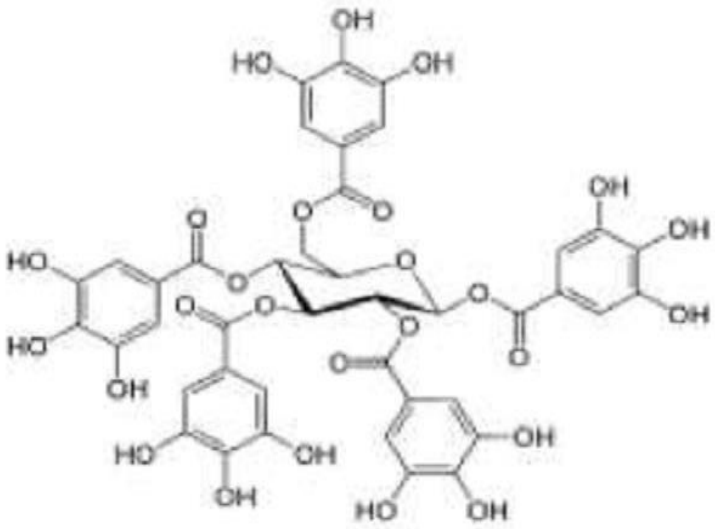


Figure II.3: Structure des tanins hydrolysables (Benslama, 2016).

II.4.3.2. Tanins condensés

Les tanins condensés (Figure II.4) sont désignés aussi sous le nom de "tanins catéchiques" et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides (Haslam, 1996).

Les tanins condensés ou prothocyanidols sont des polymères flavoniques, constitués d'unités de flavon-3-ols (catéchines) liées entre elles par des liaisons carbone-carbone, résultante du couplage entre le C-4 électrophile d'un flavonyle issu d'un flavon-4-ol ou d'un flavon-3,4-diol (leucoanthocyanidines) (Ribereau–Gayon, 1968). Ils ont tendance à se polymériser pour donner des produits de coloration rouge ou brune (Roux et Catir, 2007), de poids moléculaire élevé (de 1000 à 30 000) et une forte affinité pour les protéines (Jarrige et al, 1995). On les trouve dans la pellicule, les pépins et les rafls du raisin, ainsi que dans les parties périphériques des divers fruits ou légumes (Dacosta, 2003).

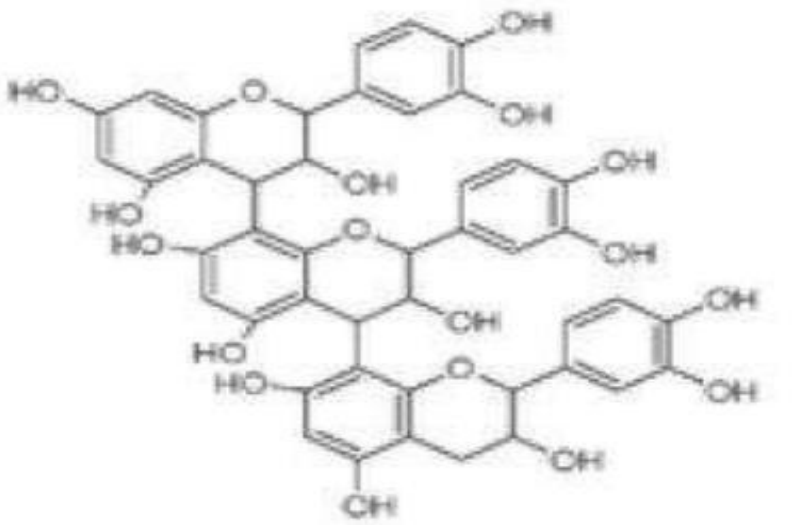


Figure II.4: Structure des tanins condensés (Benslama, 2016).

II.5. Rôle des composés phénoliques

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Ils peuvent en effet intervenir :

- ✓ Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...)
- ✓ Dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux.
- ✓ Dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par transformation.
- ✓ Dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini.

- ✓ Dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur inter-action possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydants. (Macheix et al, 2005).

II.6. Propriétés chimiques

Les propriétés chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à celles des noyaux phénoliques. Ceux-ci sont généralement des noyaux riches en électrons, à cause des effets donneurs des groupements hydroxyles. Les propriétés chimiques qui en découlent sont diverses et variées : réaction de Pechman (formation d'une coumarine), réaction de Mannich (Formation d'amine) …etc. (Sarni-Manchado et Cheynier , 2006).

II.7. Propriétés biologiques

II.7.1. Propriété antioxydant

C'est la capacité d'une molécule à réduire ou à supprimer l'oxydation des composés biologiques par les radicaux libres ou toutes molécules pro-oxydantes (Durand et al, 2003).

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substances biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensif (Tamimi et al, 2002).

L'activité antioxydant des composés phénoliques dépend du nombre et de la position des groupes hydroxyles sur le cycle aromatique, de la position de liaison, de la position des groupes hydroxyles sur le noyau aromatique et de type de substituant (Andjelkovic et al, 2006) et la glycosylation des molécules des flavonoïdes. La présence de certains groupes hydroxyles sur le noyau des flavonoïdes augmente l'activité antioxydant, les substituants dans les cycles A et B ainsi que la double liaison 2,3 (insaturation) et le groupe 4-oxo dans le noyau C affectent aussi l'activité antioxydant des flavonoïdes et la glycosylation des flavonoïdes diminue leur activité par rapport à l'aglycones correspondants (Conde et al, 1997 ; Cai et al, 2006).Plusieurs études et travaux ont montré que les composés phénoliques peuvent agir en tant qu'antioxydant par différents mécanismes d'action, tels que le piégeage des radicaux libres, la trempe de l'oxygène singulier, la chélation des métaux de transition et l'inhibition des enzymes oxydatives (Chirinos et al, 2008). Le radical libre peut obtenir un électron en le retirant d'une autre molécule, donné

par un atome d'hydrogène pour stabiliser la délocalisation du radical. D'autre part, la trempe de l'oxygène singulier est la désactivation de l'état excité de la molécule soit par un mécanisme chimique ou physique. Toutes ces réactions provoquent l'inhibition ou la réduction de la formation des radicaux libres. Elles interrompent la propagation des réactions en chaîne par radicaux libres, ou retarder le début ou réduire la vitesse de réaction (Andjelkovic et al, 2006).

Les métaux de transition ont un rôle majeur dans la génération des radicaux d'oxygène libre dans les organismes vivants. Le fer existe en deux états d'oxydation distincts (des ions ferreux et ferriques). Le fer ferrique (Fe3+) est une forme biologiquement inactive. Cependant, il peut être réduit à une forme active (Fe2+), en fonction des conditions, notamment de pH, et l'oxydation via la réaction de Fenton, avec la production des radicaux hydroxyles. La production de ces radicaux peut conduire à la peroxydation des lipides, modification des protéines et des dommages de l'ADN. Les composés phénoliques peuvent inactiver les ions métalliques et éventuellement inhiber les processus métaldépendantes. La capacité de chélation de métal des polyphénols est liée à la présence des polyphénols ortho-dihydroxylés, à savoir, les molécules portant des groupes catéchols ou galloyls (Andjelkovic et al, 2006).

II.7.2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des composés phénoliques des végétaux et des plantes médicinales est largement étudiée contre un large éventail de micro-organismes. Parmi les polyphénols, les flavan-3-ols, les flavonols et les tanins ont reçu plus d'attention en raison de leur large spectre et leur forte activité antimicrobienne en comparaison avec d'autres polyphénols et au fait que la plupart d'entre eux sont capables de supprimer le facteur de virulence de certain nombre de microbes telles que l'inhibition de la formation de biofilm, la réduction de l'hôte ligands adhérence et la neutralisation des toxines bactériennes et montrent une synergie avec des antibiotiques (Daglia, 2012).

Les propriétés antimicrobiennes de certains types de polyphénols ont été proposés pour développer de nouveaux conservateurs alimentaires et d'éviter les conservateurs de synthèse ou pour développer des thérapies innovantes pour le traitement de diverses infections microbiennes, compte tenu de l'augmentation de la résistance microbienne contre la conventionnelle antibiothérapie (Daglia, 2012).

II.8. Techniques d'extraction des composés phénoliques

II.8.1. Techniques classiques

Les techniques classiques pour l'extraction par solvants de molécules actives à partir des matrices végétales sont basées sur le choix du solvant couplé à la température et à l'agitation. (Vandi, 2016).

II.8.2. Macération

La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide (Ignat et al, 2011) qui peut être de l'eau, des alcools ou des mélanges des solvants (Stalikas, 2007). Cette procédure, malgré les temps longs d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvants, est relativement peu coûteuse. En plus, elle se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégralité des molécules phénoliques qui sont sensibles aux changements de température.

II.8.3. Extraction par soxhlet

Extraction au soxhlet est une alternative à la technique classique d'extraction solide-liquide (Wang and Weller, 2006). Cette méthode est appréciée car elle permet de faire des extractions en continu et de gagner le temps de manipulation. En effet, une fois mis en marche, le montage n'as pas besoin d'être manipulé ni même surveillé jusqu'à son démontage. De plus, cette méthode requiert nettement moins de solvant que la méthode de macérations successives pour une même efficacité d'extraction. Cependant, les manipulations séquentielles, les longtemps d'extraction et le travail à des températures d'ébullition des solvants peuvent entrainer la dégradation thermique des substances cibles (De Castro and Garcıa-Ayuso, 1998 ; Luque de Castro and Priego-Capote, 2010).

II.8.4. Techniques alternatives

L'extraction de molécules issues du matériel végétal ou ligneux par les techniques conventionnelles se révèle être une étape souvent délicate et très longue qui nécessite une consommation importante de solvant. Cela a pour conséquence d'engendrer des dégradations des matières traitées (à chaud par exemple) et de diminuer le rendement d'extraction. Une demande croissante de nouvelles techniques d'extraction permettant de réduire à la fois, le temps

d'opération, la consommation de solvant et la quantité d'effluents. Les techniques modernes telles que l'extraction assistée par micro-ondes ou ultrasons, l'extraction par fluide supercritique et l'extraction par solvant accélérée sont des techniques rapides et efficaces pour extraire des composés chimiques des matrices solides de plantes. Ces techniques peuvent fonctionner à haute température et/ou haute pression améliorant nettement le but de palier la cinétique d'extraction (Sereme et al, 2008).

II.8.5. Extraction assistée par ultrason

L'extraction assistée par ultrason consiste à traiter sous des irradiations ultrasons un solide (matière végétale) en contact avec un solvant. Les effets mécaniques des ultrasons induit une grande pénétration de solvant dans la matière végétale. Ils peuvent perturber les parois cellulaires de la plante et faciliter la libération de contenu (Wang et Weller, 2006 ; Esclapez et al, 2011). Cette méthode est simple, efficace et peu coûteuse. Par rapport à une extraction classique, elle offre une augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Elle est facile à mettre en œuvre. Comme le soxhlet, l'extraction assistée par ultrasons permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels. Cependant, l'effet de l'extraction par ultrasons sur le rendement et la cinétique d'extraction est lié à la nature de la matrice végétale. La présence d'une phase dispersée mène à l'atténuation des ondes ultrasonores et les zones actives dans l'extracteur restent à proximité de l'émetteur d'ultrasons (Wang et Weller, 2006).

II.8.6. Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes est une alternative intéressante aux techniques traditionnelles appliquées pour l'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale. Cette technique permet la réduction de temps d'extraction lors de l'application des micro-ondes. Cela peut être principalement attribué à la différence de performance de chauffage employé par la microonde et les techniques de chauffage classiques. Dans le chauffage classique, une période déterminée de temps est nécessaire pour chauffer le récipient avant que la chaleur est transférée à la solution, tandis que les micro-ondes chauffent directement la solution (Eskilsson et Björklund, 2000). Dans la matière végétale, les micro-ondes sont absorbées par l'eau puis convertie en chaleur. Il en résulte une soudaine augmentation de la

température à l'intérieur du matériel, jusqu'à ce que la pression interne dépasse la capacité d'expansion des parois cellulaires ce qui améliore la récupération des produits naturels (Wang et Weller, 2006).

En outre, l'extraction assistée par micro-onde permet une réduction significative dans la consommation des solvants organiques (Eskilsson et Björklund, 2000).

Partie 2 :

Etude expérimentale

Chapitre III :

Matériel et Méthodes

III.1. Introduction

Notre travail a été effectuée au niveau du laboratoire de chimie de la faculté de science de l'université de Médéa est basé sur l'extraction solide/liquide des dans l'objectif de :

- Quantification des composés phénoliques et la comparaison avec différentes régions.
- La détermination du temps pour prendre optimale rendement.
- Utilisation d'UV-Visible pour déterminer le rendement global.
- Quantification et la cinétique des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, Tannins).
- Modélisation cinétique pour trouver le modèle adéquat (1^{er} ordre, $2^{ème}$ ordre).

III.2. Matériels et produits

Dans notre travail, les produits et le matériel que nous avons utilisés sont présentés dans le (tableau III.1).

Tableau III.1 : matériels et produits utilisés.

Matériels	Produits
- Mortier - Balance - Capsule - Spatule - Earlen-mayer - Pipette gradué - Poire - Agitateur magnétique - Barreau magnétique - Chronomètre - Papier filtre - Centrifugeuse - Rota-vapeur - Spectrophotomètre UV mini-1240 (SHIMADZU) - Etuve - Fiole jugé - Tubes à essais - Micro pipette - Pince stérilisée - Rota-vapeur - Vortex	- Méthanol (pureté 100%) - Eau distillé - Folin-ciocalteu (dilué 10 fois) - Bicarbonate de sodium Na_2CO_3 (7.5%) - Chlorure d'aluminium (10%) - Nitrat de sodium (5%) - Vaniline (4%) - Hydroxyde de sodium (1M)

III .3. Mode opératoire

III.3.1. Récolte et préparation de matière végétale

La matière végétale utilisée dans notre étude expérimentale est la grenade (*punica granatum L*).



Figure III.1 : grenade

La récolte de l'échantillon du fruit de la grenade a été effectué dans la wilaya de Médéa au cours de mois d'octobre 2022.

Les écorces de grenade ont été séchées à l'air libre dans l'obscurité, puis elle est broyée pour obtenir une poudre fine homogène. Cette poudre est conservée dans une boite en verre à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation (Figure III.2).



. **Figure III.2**: Préparation de poudre des écorces de grenade.

III.4. Préparation des extraits

III.4.1. Extraction solide/liquide par macération

On a fait une extraction des composés phénoliques par macération à différents temps.

Selon le protocole ci-dessous :

- On a préparé le solvant (eau/méthanol) (25/75).

- On a pesé 2 gramme de poudre d'écorces de grenade à l'aide d'une balance.
- Mettre cette poudre dans un Erlenmeyer, et on ajoute 10 ml de solvant.
- Faire une agitation avec un agitateur et barreau magnétique à température ambiante à différents temps.
- Après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre, le filtrat est centrifugé à un vitesse 4500tr/min pendant 5 minutes (Figure III.3).

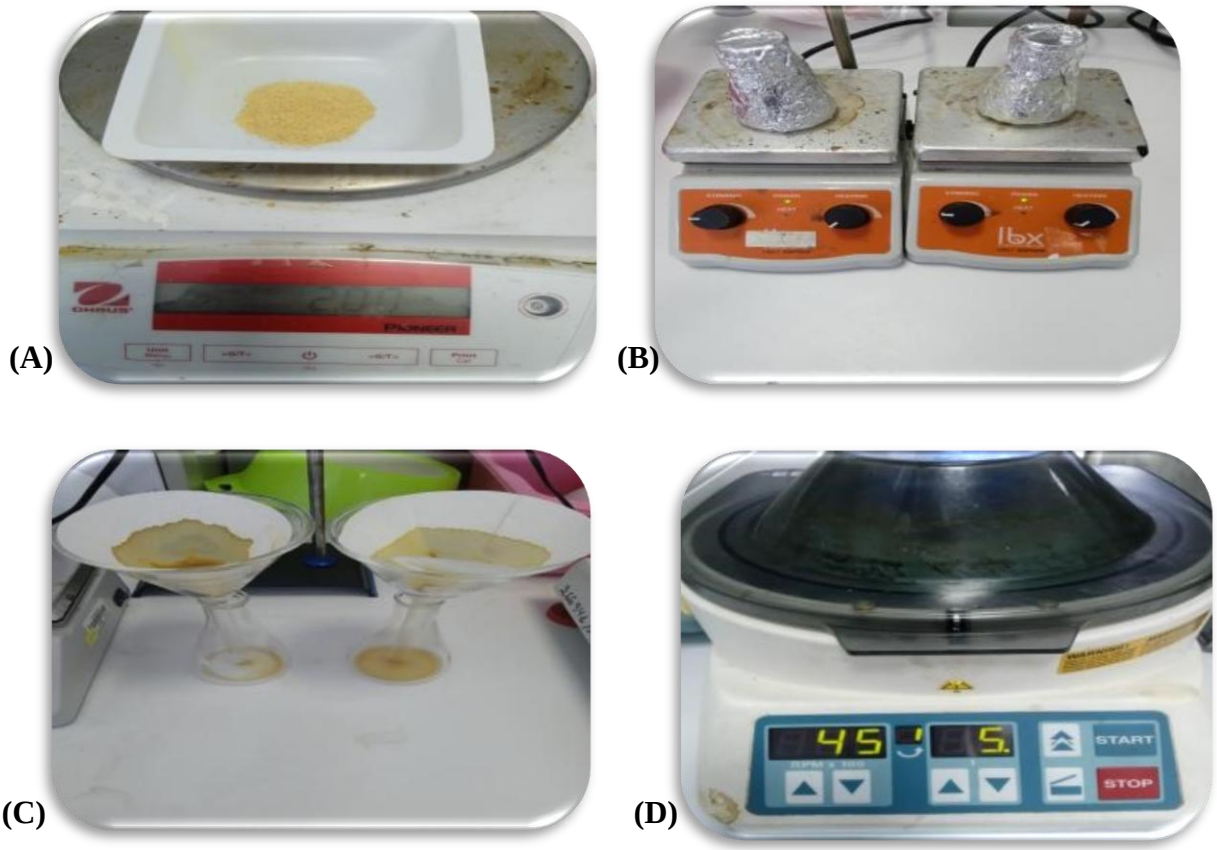


Figure III.3 (A) Pesé de matière sèche, (B) macération à différents temps, (C) filtration, (D) centrifugation.

III.4.2. Evaporation

Pour récupérer les extraits secs, on élimine le solvant par évaporation rotatif selon le protocole :

- On mesure le ballon avant l'évaporation puis on introduit la solution dans ballon d'évaporation jusqu'à la disparition du solvant (T°= 72°C).
- Nous avons attendus certaines minutes, puis on mesure le ballon après évaporation.

- On récupère l'extrait par le solvant (Figure III.4).



Figure III.4: Evaporation rotatif et récupération par solvant.

III.4.3. Rendement des extraits secs

Le rendement de l'extrait sec est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de matériel végétale (en gramme)

Selon l'équation suivante :

$$R\ (\%) = ((P_{ap} - P_{av}) / P_0) * 100 \ \ldots\ldots\ldots (1)$$

P_{ap} : Poids du ballon après évaporation.

P_{av} : Poids du ballon avant évaporation.

P_0 : Poids de la matière sèche.

III.5. Dosage de rendement par UV-Visible

On mesure l'absorbance par UV-Visible de l'extrait de 24 heures (solution mère), et on trouve que sa concentration très élevée (3.9999), donc nous sommes dirigés vers la dilution.

Après plusieurs dilutions de l'extrait on observe que le spectre contient de 2 λ_{max} la première correspondant à 365 **nm** et la deuxième correspondant à 307 **nm**, tel que la valeur d'absorbance à 307 **nm** supérieure à la valeur d'absorbance à 365 **nm.**

Pour réaliser la courbe d'étalonnage qui correspondant de λ =307 **nm**, on a fait une étude d'absorbance pour différentes dilutions. (Figure III.5).

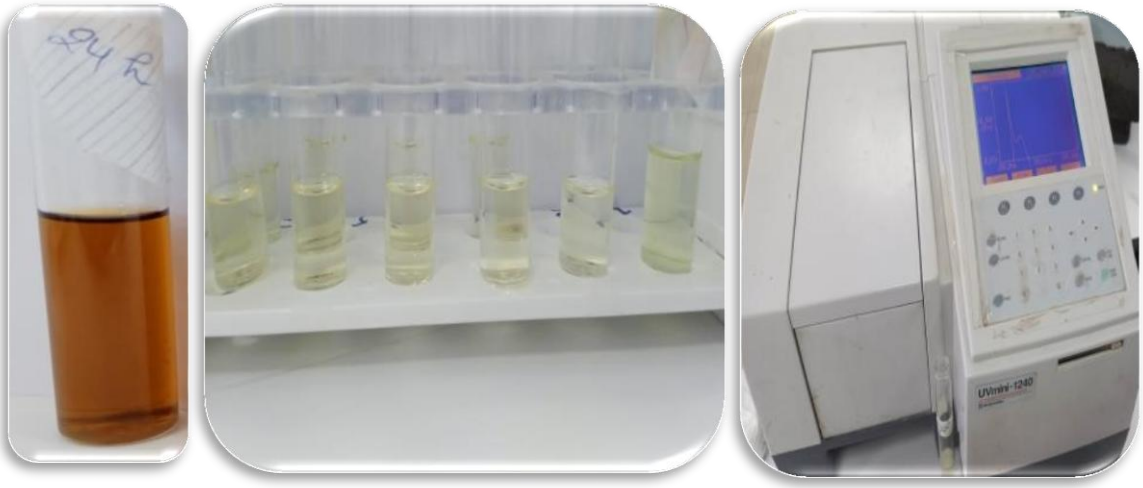


Figure III.5: Mesure d'absorbance de diverses dilutions d'extrait de 24 heure.

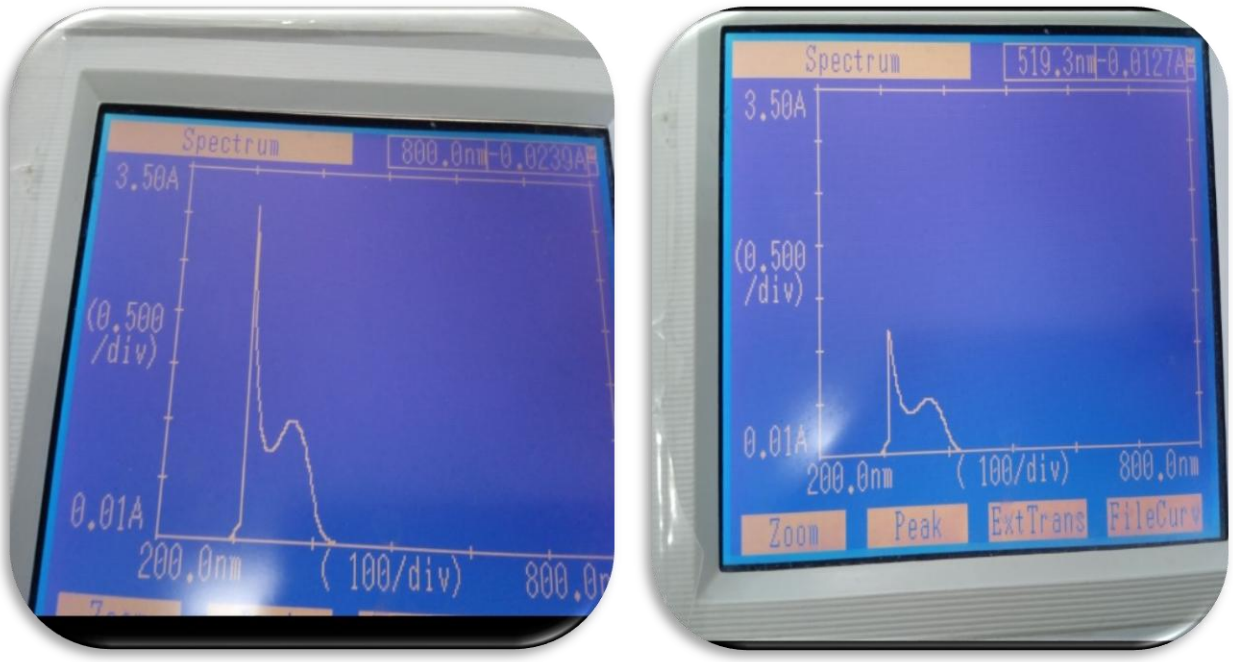


Figure III.6 : spectres d'absorbance d'extrait (dilution 1/30) et (dilution 1/60).

III.6. Dosage des composés phénoliques

III.6.1. Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon le protocole :

Dans un tube à essai en verre, un volume de 200 µl de chaque extrait a été ajouté à un mélange de 1ml de réactif folin-ciocalteu dilué 10 fois et 800 µl d'une solution de carbonate de sodium à 7.5% les tubes sont agités et conservées pendant 30 min. L'absorbance est lue à 750 **nm** (Figure III.7). On réalise la courbe étalonnage de différentes concentrations d'acide gallique pour déterminer la teneur de polyphénols en équivalente d'acide gallique.

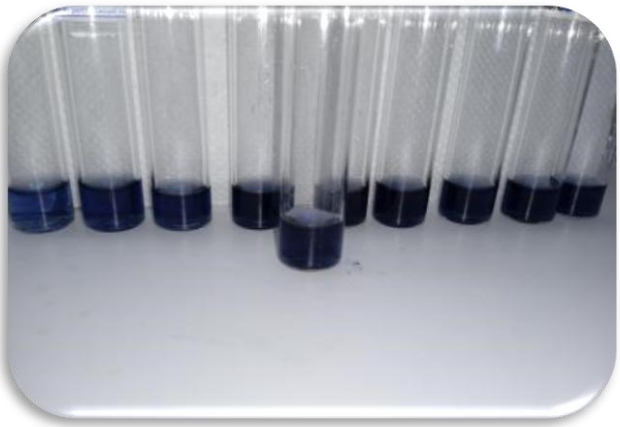


Figure III.7: Extraits après la réaction des polyphénols totaux avec le folin-ciocalteu.

III.6.2. Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon le protocole :

Dans un tube à essai, 400 µl d'extrait, a été ajouté à 120 µl de $NaNO_2$ à 5 %. Après 5 minutes, 120 µl d'$AlCl_3$ à 10% ont été additionnés, après 6 minutes on ajoute 800 µl de NaOH à 1 M a été ajouté au mélange. L'absorbance est lue immédiatement à 510 **nm** (Figure III.8)**.** On réalise la courbe d'étalonnage de différentes concentrations de quercetine pour déterminer la teneur de flavonoïde en équivalente de quecetine.

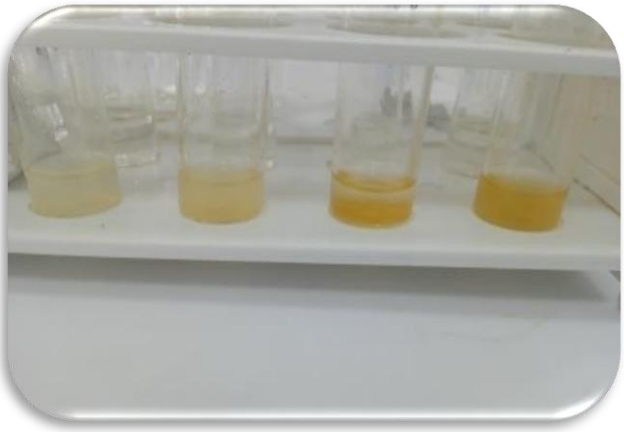


Figure III.8 : Extraits après la réaction des flavonoïdes avec trichlorure d'aluminium.

III.6.3. Tannins

Le dosage des tanins a été réalisé selon le protocole :

Dans un tube à essai en verre, 50 µl de chaque extrait a été ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol à 4 %. Puis mélangé vigoureusement. Ensuit un volume d 750 µl de l'acide HCl a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 minutes. L'absorbance est mesurée à 550 **nm** (Figure III.9). On réalise la courbe étalonnage de différentes concentrations de catechiene pour déterminer la teneur de tannins en équivalente de catechine.



Figure III.9 : Extraits après la réaction des tannins avec la vanilline.

Conclusion générale

Conclusion général

L'usage des plantes médicinales constituent une vraie importance de l'être humain. Leur importance réside dans qu'ils contiennent des molécules ayant des activités biologiques intéressantes. Les plus précisément les métabolites secondaires des plantes en raison de leurs importances dans plusieurs domaines.

Dans notre travail, nous sommes intéressés à l'extraction des composés phénoliques de *punica granatum L* par macération, et la détermination de leurs teneurs par la méthode spectrophotométrique, la modélisation mathématique des résultats à l'aide des modèles cinétique. La partie étudiée sont les écorces de grenade.

L'extraction des composés phénoliques des écorces de grenade permet de déterminer leurs rendements tels que nous avons obtenus en 27 heures un bon rendement (45.2%) et cette valeur est très importante par rapport la bibliographie.

La méthode d'UV est adéquate pour quantifier le rendement globale d'extrait et cette méthode peut donner des valeurs sans faire l'évaporation.

La quantification des polyphénols par la méthode spectrophotométrique nous a permet de déterminer les teneurs en polyphénols totaux par la méthode de folin-ciocalteu, en Flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium et en tannins par la vanilline. Les résultats obtenus montrent que la grenade de la wilaya de Médéa est très riche en polyphénols totaux et marque une teneur importante en Flavonoïde et en tannins.

La modélisation cinétique permet de déterminer le type cinétique qui est suivie pour modéliser la cinétique de rendement et la cinétique des composés phénoliques (polyphénols totaux, Flavonoïdes, tannins) tels que on trouve que tous les modèles cinétiques de notre travail selon le type cinétique de deuxième ordre.

Références bibliographiques

-A-

AL-Saeed, M. H., Othman, R. M., & AL-Saeed, A. H. (2015). L'effet de l'extrait éthanoïque de l'écorce de Punica granatum sur la guérison des plaies infectées de champignons chez les lapins». AL-Qadisiya Journal of Vet. *Med. Sci*, *14*(1).

Amini, R. (2010). Analyse chimique et activité bactérienne de trois plantes médicinales antituberculeuses à Kisangani. Monographie, inédite, faculté des sciences, UNIKIS, 24.

Amira, B. Z. R. B. (2021). Punica granatum L. un arbre historique, évolutions thérapeutique récentes et activités biologiques (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).

Andjelkovic, M., et al. (2006). Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. Food Chem., 98(1), 23-31.

-B-

Barka, S., & Ben Attallah, S. (2010). L'effet de deux plantes médicinales sur quelques Bactéries pathogènes. *Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université d'Ouargla), P3-P13*, *49*.

Bärtels, A. (1998). *Guide des plantes du bassin méditerannéen*. E. Ulmer.

Basu, A., & Penugonda, K. (2009). Jus de grenade : un jus de fruit bon pour le cœur. Revues nutritionnelles , 67 (1), 49-56.

Benslama, A. (2016). Substances d'origine végétale. Université Mohamed Khider-Biskra, Alger.

Boubekri, C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes Médicinales. Lavoisier 4e éd, revue et augmentée, Tec & Dac-Editions médicinales internationales, Paris, 1288 p.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed. Paris: Tec & Doc Lavoisier, p. 207-211.

Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales* (No. 581.634 B7).

-C-

Cai, Y. Z., Mei, S., Jie, X., Luo, Q., & Corke, H. (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. Life Sci., 78(25),2872-88.

Cerdá, B., Cerón, J. J., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2003). Repeated oral administration of high doses of the pomegranate ellagitannin punicalagin to rats for 37 days is not toxic. *Journal of agricultural and food chemistry*, *51*(11), 3493-3501.

Chirinos, R., Campos, D., Warnier, M., Pedreschi, R., Rees, J.-F., & Larondelle, Y. (2008). Antioxidant properties of mashua (Tropaeolum tuberosum) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. Food Chem., 111(1), 98-105.

Collin, S.,& Crouzet, J. (2011). Polyphénols et procédés. Lavoisier.

Conde, E., Cadahía, E., García-Vallejo, M. C., Fernández de Simón, B., & González Adrados, J. R.(1997). Low Molecular Weight Polyphenols in Cork of Quercus suber. J. Agric. Food Chem., 45(7),2695-2700.

Courchet, L. (1897). *Traité de botanique, comprenant l'anatomie et la physiologie végétales et les familles naturelles, à l'usage des candidats au certificat d'études physiques, chimiques et naturelles, des étudiants en médecine et en pharmacie* (Vol. 1). JB Baillière et fils.

Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence,Structure and Role in the Human Diet. Blackwell Publishing Ltd.

Cyr A. (2017). Grenade (la petite histoire de la grenade) [en ligne]. In:Encyclopédiedesaliments. https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=grenade_nu (consulté le : 22.01.2023).

-D-

Daas Amiour, S. (2009). Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de trois variétés de dattes (Phoenix dactylifera L.) et évaluation in vitro de leur activité biologique. Mémoire Présenté Pour l'obtention de diplôme de Magister en Biologie Option Biochimie appliquée. Université El-Hadj Lakhdar, Batna, Alger.

Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta.

Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. Curr. Opin. Biotechnol., 23(2), 174-181.

De Castro, M. L., & Garcıa-Ayuso, L. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. Anal. Chimi. Acta., 369(1), 1-10.

Decaux, I. (2002). Phytothérapie: mode d'emploi. *Le Bien Public*, 6-7.

Dehak, D. K. (2013). Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles: Polyphénols. Doctorat de Chimie: Analyse physicochimique et réactivité des espèces moléculaires. Université de Kasdi Merbah Ouargla, Alger.

Djahra, A. B. (2015). Cours Phytochimie II 2ème Année Master II, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Alger.

Druzynka, B., Stepniewska, A., & Wolosiak, R. (2007). The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. Acta Scientarum Polonorum Technologia Alimentaria, 6, 27-36.

Durand, G., Polidori, A., & Pucci, B. (2003). La vectorisation de pièges à radicaux libres: Nouvelle stratégie thérapeutique. Actual. Chim., 11-12, 26-29.

-E-

Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, *5*(5), 264-270.

Elodie W . (2009). Le grenadier (punicagranatum) : Plante historique et évolutions thérapeutique écentes. Faculté de pharmacie , université HenripoincareNancy1.

Esclapez, M. D., García-Pérez, J. V., Mulet, A., &Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. Food Eng. Rev., 3(2), 108-120.

Eskilsson, C. S., & Björklund, E. (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. J.Chromatogr. A, 902(1), 227-250.

Esmaillzadeh, A., Tahbaz, F., Gaieni, I., Alavi-Majd, H., & Azadbakht, L. (2006). Effet hypocholestérolémiant de la consommation de jus de grenade concentré chez les patients diabétiques de type II atteints d'hyperlipidémie. Journal international de recherche sur les vitamines et la nutrition , 76 (3), 147-151.

-F-

Fabre B. Ermosilla V . (2008). Uses of pomegranate tree extract for hear color retention. U.S patent.

-G-

Gil, MI, Tomás-Barberán, FA, Hess-Pierce, B., Holcroft, DM et Kader, AA (2000). Activité antioxydante du jus de grenade et sa relation avec la composition phénolique et le traitement. Journal of Agricultural and Food chemistry , 48 (10), 4581-4589.

Godet, J.-D. (1991). Arbres et arbustes aux quatre saisons. Delachaux et Niestlé.

Graham, S. A., Crisci, J. V., & Hoch, P. C. (1993). Cladistic analysis of the Lythraceae sensu lato based on morphological characters. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *113*(1), 133.

-H-

Haslam, E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs possible modes of action.Journal of Natural Products, 59, 205-215.

Holland, D., Hatib, K., & Bar-Ya'akov, I. (2009). Grenade : botanique, horticulture, élevage. Revues horticoles , 35 , 127-191.

-I-

Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food Chem., 126(4), 1821-1835.

Iserin, P. (2001). encyclopédie des plantes médicinales. 2émeédition, larousse, londres.

-J-

Jarrige, R., Ruckebusch, Y., Demarquilly, C., Farce, M. H.,& Journet, M. (1995). Nutrition des ruminants domestique: ingestion et digestion. Quae.

-K-

Koehne, E. (1881). Lythraceae monographice describuntur. *Bot. Jahrb., 1,* 142-157.

Koehne, E. (1903). Lythraceae. In A Engler (Ed.), Das Pflanzenreich. Heft 17 (IV.216) (pp. 1326).Engelmann.

Kumari, A., Dora, J., Kumar, A. et Kumar, A. (2012). Grenade (Punica granatum)—aperçu. Int. J.Pharm. Chim. Sei , 1 (4), 1218-1222.

-L-

Laghouiter H. (2017). Etude de l'activité biologique des extraits aqueux de Punica granatum L. (Punicaceae) et Lawsonia inermis L. (Lythraceae) récoltées dans le Sahara Algérien. Mémoire master en Ecologie et environnement, université de Ghardaïa.

Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K., & Biro, L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Journal of Actualité Biologique, 47, 119-125.

Luque de Castro, M. D.,& Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. J. Chromatogr. A, 1217(16), 2383-2399..

-M-

Macheix, J. J., Annie, S., & Christan, J. A. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses Polytechniques et Universitaire Romandes.

Martin S., Andriantsitohaina R. (2002). Cellular mechanism of vasculoprotection induced by polyphenols on the endothelium. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie, 51, 304-315.

Mena, P., García-Viguera, C., Navarro-Rico, J., Moreno, DA, Bartual, J., Saura, D., & Martí, N. (2011). Caractérisation phytochimique à usage industriel des cultivars de grenade (Punica granatum L.) cultivés en Espagne. Journal des sciences de l'alimentation et de l'agriculture , 91 (10), 1893-1906.

Morton J. (1987). Pomegranate. In: Fruits of warm climates. Miami, Florida. p. 352-355.

-N-

Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R., & Krishna, D. R. (2001). Bioflavonoids: classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian Journal of Pharmacology, 33, 2-16.

Nkhili, E. (2009). Polyphénols de l'alimentation: extraction, interaction avec les ions de fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse doctorat Universités CADI AYYAD Semlalia-Marrakech.

-P-

Planchon, G. (1875). *Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale* (Vol. 2). F. Savy.

-R-

Riberreau-Gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod.

Roux, D., & Catier, O. (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. Groupe Liaisons.

-S-

Sarni-Manchad, P., & Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Éd Tec & Doc. Coll. Sci. & Techn. Agroaliment., Lavoisier, Paris.

Schauenberg, P., & Paris, F.(1977). Guide to medicinal plants. Guildford, LutterworthPress (p. 349).

Seeram, NP, Lee, R. et Heber, D. (2004). Biodisponibilité de l'acide ellagique dans le plasma humain après consommation d'ellagitanins de jus de grenade (Punica granatum L.). Clinica chimica acta , 348 (1-2), 63-68.

Sereme, A., Millogo-rasolodimby, J., Guinko, S., & Nacro, M. (2008). Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso. Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines, 15,41-49.

Simon Y., & Mills. (2001) .Evidence for the clinician -a pragmatic framework for phytotherapy, The European Phytojournal -ESCOP, Issue 2.

Sitzia G.,(2009). La Grenade, une bombe de jeunesse.

Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. J. Sep. Sci., 30(18), 3268-3295.

-T-

Tamimi, R., Lagiou, P., Adami, H. O., & Trichopoulos, D. (2002). Prospects for chemoprevention of cancer. J. Intern. Med., 251(4), 286-300.

Tobe, H., Graham, S. A., & Raven, P. H. (1998). Floral morphology and evolution in Lythraceae sensu lato. *Reproductive biology*, 329-344.

Tomas-Barberan, F.A., Gil, M.I., 2008. Improving the health-promoting properties of fruit and vegetable products. Technology and Nutrition No. 157. CEBAS (CSIC). Spain.

Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2006). The contribution of flavonoid curing on DPPH free radical scavenging efficiency, acinetic approach for 3',4'-hydroxy substituted members. Innovat Food Sci. Technique, 7, 140-146.

-V-

Vandi, D. (2016). Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre Lavandula: aspects évolutifs et physiologiques. Biologie végétale. Université Jean-Monnet - Saint-Etienne.Français. NNT: 2010STET4008.

-W-

Wald, E. (2009). *Le grenadier Punicagranatum: Plante historique et evolution thérapeutiquerécentes. Universite Henri Poincare* (Doctoral dissertation, Thése. 158p).

Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants.Trends in Food Science & & Technology, 17(6), 300-312.

Williamson, E. M. (2001). Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine*, *8*(5), 401-409.