REPUBLIQUE ALGERIENNE DE MOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme **Master**
En sciences de la nature et de la vie
Spécialité : Microbiologie Appliquée.

Par :

LAHFAIR Fadhila.

OUKKAL Radjaa.

CHELALLI Zahia.

Evaluation des propriétés antimicrobienne d'un gel buvable à base d'hydrolat de grenade : Approche Microbiologique et Physicochimique

Soutenue Publiquement le : 25/06 /2024, devant le jury composé de :

CHAOUATI Karima	**MAA**	U. Médéa	Présidente
BOUCHIBANE Malika	**MAB**	U. Médéa	Examinatrice
TOUMI Selma	**MAB**	U. Médéa	Encadreur
GHERDAOUI Dehbiya	**MCB**	U. Médéa	Co-Encadreur
LEFNAOUI Sonia	**Pr**	U. Médéa	Invitée

2023-2024



Remerciements

Nous remercions Dieu de nous avoir donné le courage, la patience et la volonté nécessaires pour parachever ce travail.

Nos sincères remerciements et reconnaissances vont à nos parents pour leur soutien indéfectible.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre promotrice, ***Dr Toumi Selma****, Maître-assistante de classe B à l'université de Médéa, pour son encadrement, sa disponibilité, son aide, ses conseils avisés et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire. Nous tenons à souligner ses qualités humaines et ses compétences scientifiques exemplaires qui ont servi de modèle de compétence professionnelle.*

Nos remerciements vont également à Dr ***Gherdaoui Dehbiya****, Maître de conférences de classe B à l'université de Médéa, notre co-encadreur, pour son soutien indéfectible, ses encouragements constants et ses conseils éclairés tout au long de notre parcours.*

Nous adressons également nos remerciements à ***Pr Lefnaoui Sonia*** *de l'université de Médéa pour ses précieux conseils et son soutien continu. Son expertise et ses encouragements ont grandement contribué à la qualité de notre travail. Sa disponibilité et sa bienveillance ont été d'une aide précieuse tout au long de notre recherche.*

Nos sincères remerciements vont à ***Dr Chaouati Karima****, Maître-assistante de classe A à l'université de Médéa, pour avoir accepté de présider ce jury.*

Nos sincères remerciements s'adressent également à ***Dr Bouchibane Malika****, Maître-assistante de classe B à l'université de Médéa, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Enfin, nous souhaitons remercier toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail. Merci à tous et à toutes.

Dédicace

C'est avec gratitude et sincères mots que je dédie humblement ce projet à vous.

Mes chers parents,

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour éternel, ma gratitude et mon respect pour tous les sacrifices que vous avez convertis pour que je puisse être là.

À mon père

Dans l'ombre de ton absence, chaque succès est teinté de tristesse, car tu n'es pas là pour le partager. Mais aujourd'hui, plus que jamais, je sens ta présence à mes côtés. Ce projet qui marque la fin de mes études est un hommage à toi, mon guide silencieux dont l'amour et la force continuent de m'inspirer chaque jour. Je dédie ce triomphe à ta mémoire éternelle, avec l'espoir que, d'où tu es, tu puisses ressentir toute la fierté et l'amour que je garde pour toi.

Et à ma mère

Tu es la lumière qui a illuminé mon chemin depuis le premier jour, Tes sacrifices silencieux, ton amour infini et ta force inébranlable ont été mes plus grands exemples de courage et de dévouement. À travers les hauts et les bas de la vie, tu as été ma roche, ma confidente et mon inspiration. Tes mots doux et tes encouragements constants ont été les plus précieux trésors de mon cœur. Je t'exprime toute ma gratitude et mon amour éternels. Chaque ligne écrite est un hommage à ta présence aimante et à ton soutien indéfectible.

À mes précieux frères, {Amine et Ahmed}, et à ma sœur, {Chahira}, vous êtes mes compagnons de vie, mes alliés et mes plus grands supporters. Votre présence joyeuse et vos encouragements constants ont été une source d'inspiration et de réconfort tout au long de ce parcours. Que notre lien familial reste solide et indéfectible pour les années à venir.

À mon encadrant,

« Dr Toumi Selma », pour sa patience, sa diligence et sa réactivité lors de la préparation de ce mémoire.

À mon soutien durable du jeune âge, mes meilleures amies Nihad et Houda.

Sans oublier mon trinôme Radjaa et Zahia pour ses soutiens et leur patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Au grand Moi-même, tu es courageuse, forte et persévérante.

Cette dédicace est pour toute la famille Lahfair pour vous remercier de m'avoir soutenu tout au long de ce parcours.

Et finalement, à tous ceux qui ont cru en moi et m'ont encouragé sur ce chemin, je vous offre mes plus profonds remerciements.

Lahfair Fadhila

Dédicace

C'est avec une grande joie que je consacre ce petit travail :

À l'être le plus précieux de ma vie,

Ma mère et mon père

Son soutien, son affectation et la confiance qu'il m'accorda.

À mes chers frères

Mohamed, Abd El Razek, Khaled et Abd El Basset.

A ma sœur Razika.

À mon cher mari Mohamed, avec amour et gratitude pour toutes les aventures que nous avons vécues ensemble.

Une spéciale dédicace À Dr Toumi Salma

Et a mes amis Fadhila et Radjaa.

À tous mes amis de promotion de deuxième année de Master en Microbiologie appliquée, à toutes les personnes qui ont une place dans mon cœur.

Et à tout qui compulse ce modeste travail.

Chellali Zahia

Dédicace

D'abord je voudrais remercier Allah par qui tout est possible qui m'a donné la santé, le courage pour sur monter les difficultés rencontrées et la volonté de finaliser ce modeste travail.

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail à mes chers parents,

Qui on été toujours posse et motivé dans mes études, je les remercie pour leur sacrifies et leur soutient tout le long de mon parcours scolaire.

Je dédis également mes très chers frères:

{Adel et Ishaq} ma très chers sœur: Meriem, a toutes mes nièces et neveux.

À mon encadrant,

« Le Dr Toumi Selma », pour sa patience, sa diligence et sa réactivité lors de la préparation de ce mémoire.

A mon chers trinôme: Fadhila et Zahia.

Je tiens à remercier également tout les personnes qui mon idée et soute envie.

Oukkal Radjaa

Remerciements	
Dédicace	
ملخص	
Résumé	
Abstract	
Liste des tableaux	
Liste de figures	
Liste des abréviations et des symboles	
Introduction générale	**01**
Chapitre I : Partie bibliographique	
I. ETAT DE L'ART DES GELS BUVABLES	**03**
I.1. Introduction	**03**
I.2. Définition de gel	**03**
I.3. les type des gels	**04**
a. Gels hydrophiles et hydrophobes	**04**
b. Gels biologiques	**04**
c. Gels colloïdaux	**04**
d. Gels alimentaires	**05**
e. Gels pharmaceutiques	**05**
I.4 Définition de gel buvable	**05**
I.4.1. Composition des gels buvables	**05**
I.4.2. Avantages des gels buvables	**06**
I.4.2.Applications des gels buvables	**06**
II. GENERALITES SUR *PUNICA GRANATUM L* (LE GRENADE).	**07**
II.1. Les plantes médicinales	**07**
II.1.1. Histoire les plantes médicinales	**07**
II.1.2. Définition des plants médicinaux.	**07**
II.1.3. Domaines d'application des plantes médicinales	**08**
II.1.4. les avantages des plantes médicinales	**08**

II.1.5. Les inconvénients des plantes médicinales	**09**
II.2. Généralité	**09**
II.2. Présentation de la famille *Lythracease*	**09**
II.2.1.Description botanique de la famille *Lythraceae*	**09**
II.2.1.1. Appareil végétatif	**09**
II.2.1.2. Appareil reproducteur	**10**
a. Inflorescence	**10**
b. Fleur	**10**
c. Fruit	**10**
***II.3. Punicagranatum* (*hythracées*) Grenadier**	**10**
II.3.1. Description botanique du *punicagranatum*	**11**
II.3.1.1. Origine de nom	**11**
II.3.1.2. Noms vernaculaires	**11**
II.3.1.3. Description botanique de grenadier	**11**
II.3.1.3.1. Feuilles	**12**
II.3.1.3.2. Fleurs	**13**
II.3.1.3.3. Fruits	**13**
II.3.1.3.4. Graines	**14**
II.3.1.3.5. L'écorce de fruit	**15**
II.3.1.3.6. Structure de la grenade	**15**
II.3.1.4. Taxonomie et Classification	**16**
II.3.1.5. Composition de la grenade	**16**
II.3.1.5.1. Les antioxydants de la grenade	**17**
II.3.1.5.2.Les poly phénols	**18**
II.3.1.5.3. Les tannins	**19**
II.3.1.5.4. Les flavonoïdes	**19**
II.3.1.5.5. Les anthocyanines	**19**
II.3.1.6. Propriétés thérapeutiques de grenadier.	**20**
II.3.1.6.1.Effet sur les maladies cardiovasculaires	**20**
II.3.1.6.2. Effet hypotenseur	**20**
II.3.1.6.3.Effet sur les plaquettes sanguines	**21**

II.3.1.6.4.Effet sur les lipides sanguins et leur peroxydation	**21**
II.3.1.6.5.Effet sur le cancer de prostate	**21**
II.3.1.6.6. Effet sur le cancer du sein	**22**
II.3.1.6.7. Effet sur le cancer du poumon	**22**
II.3.1.6.8. Effet sur le cancer du colon	**22**
II.3.1.6.9.Effet sur le cancer de la peau	**22**
II.3.1.6.10.Effet sur la qualité du sperme	**22**
II.3.1.6.11.Effet protecteur neurologique	**23**
III. APPROCHE MICROBIOLOGIQUE POUR L'EVALUATION DES PROPRIETES ANTIMICROBIENNES DE GRENADE	**24**
III.1. Activités biologiques de l'extrait de l'écorce de grenade (Hydrolat)	**24**
1. Acides phénoliques	**24**
2. Acides cinnamiques	**24**
3. Flavonoïdes	**24**
4. Anthocyanes	**24**
5. Tanins	**25**
III.1.1. Activités antimicrobiennes de l'extrait d'écorce de grenade	**25**
III.1.1.1. Action antibactérienne	**25**
III.1.1.2. Activité antifongique	**26**
III.1.1.3. Activité antivirale	**26**
III.2. Etudes antérieures sur l'activité antimicrobienne d'écorce de grenade	**27**
IV.Conclusion	**28**
Chapitre II : Matériel et Méthodes	
II .1. Introduction	**29**
II .2.Appareillage et produits	**29**
II.2.1. Appareillage	**29**
II.2.2. Produits chimiques et microbiologiques	**29**
II.2.2.1. Bio polymère	**30**
II.2.3. Matières premières	**31**
II .2.3.1. Matériel végétal biologique	**31**
II .2.3.2.Méthodes et principes	**32**

II.2.3.2.1. Récolte de la matière végétale	**32**
II.2.3.2.2.Séchage	**32**
II.2.3.2.3.Broyage	**32**
II.2.3.2.4.Conservation	**33**
II .2.3.3.Extraction d'hydrolat de grenade	**33**
II .2.3.4.Formulation des gels buvables à base d'hydrolat de grenade.	**33**
II .2.3.4.1. Procédure de préparation	**34**
II.2.3.5. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES GELS A BASE D'HYDROLAT DE GRENADE	**35**
II.2.3.5.1. Caractère organoleptique (sensoriel)	**35**
II.2.3.5.2. Analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR)	**35**
II.2.3.5.3. Taux d'humidité	**36**
II.2.3.5.4.Analyse du pH	**37**
II.2.3.5.5. Caractérisation de gel à base d'hydrolat d'écorce de grenade	**37**
II.2.3.5.5.1. Aspect macroscopique et propriétés organoleptiques	**38**
II.2.3.5.5.2. Analyse du pH des gels formulés	**38**
II.2.3.5.5.3. La Viscosité	**38**
II.2.3.6. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DU GEL A BASE D'ECORCE DE GRENADE	**39**
Conclusion	**43**
Chapitre III : Résultats et discussion	
III.1. Introduction	**44**
III.2. Prétraitement de l'extrait végétal	**44**
III.2.1. Séchage d'écorce de Punica granatum L	**44**
III.2.2. Broyage et tamisage d'écorce de Punica granatum L	**45**
III.3. Caractérisation de poudre d'écorce de grenade	**46**
III.3.1.Caractère organoleptique (sensoriel)	**46**
III.3.2. Analyse FTIR	**47**
III.3.3.Taux d'humidité	**48**
III.3.4.Analyse du pH	**49**
III.4. Formulation des gels à base d'hydrolat d'écorce de grenade	**50**

III.4.1. Caractérisation physico-chimiques de gel à base d'hydrolat d'écorce de grenade	**50**
III.4.1.1. Aspect et propriétés organoleptiques	**50**
III.4.1.2. pH des gels à base d'hydrolat de grenade	**51**
III.4.1.3. Etude de la viscosité des gels	**52**
III.5. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DU GEL A BASE D'ECORCE DE GRENADE	**53**
III.5.1. Efficacité des Gels à l'Hydrolat de Grenade contre *Escherichia coli*	**53**
III.5.2. Efficacité des Gels à l'Hydrolat de Grenade contre *Staphylococcus aureus*	**54**
III.5. 3. Efficacité des Gels à l'Hydrolat de Grenade contre *Klebsiella oxytoca*	**55**
III.. CONCLUSION	**56**
Conclusion générale	**58**
Références bibliographiques	**66**

ملخص:

يهدف هذا العمل إلى تقدير قيمة قشور الرمان (*Punica granatum L.*) من خلال التحليل الفيزيائي-الكيميائي وتطوير تركيبات تمتلك خصائص مضادة للميكروبات للاستخدام عن طريق الفم. في البداية، تم تنفيذ عملية معالجة ما قبل العلاج للقشور، بما في ذلك الطحن والغربلة والتجفيف، مما أدى إلى الحصول على مسحوق ناعم يحتوي على نسبة رطوبة قدرها 4.7٪ وحجم حبيبي موحد قدره 30 ميكرومتر. ثم تمت إجراء تحليل FTIR لهذا المسحوق الذي أدى إلى تحديد المجموعات الوظيفية الموجودة. بعد ذلك، تم تركيب وتوصيف هلامات قائمة على مائة مصل لقشرة الرمان للاستخدام المحتمل عن طريق الفم. أظهرت هذه الهلامات تركيبة لزجة ومطيلة للعمل، بالإضافة إلى لون أحمر مميز. بالإضافة إلى ذلك، يشير الpH الذي يتراوح بين 6.9 و 7.2 إلى توازن حمضي-قاعدي متوافق مع التسامح المعوي. كشفت الانخفاض في اللزوجة تحت ضغط التشوه عن سلوك شبه سائل، مما يسهل استهلاكها بينما يحافظ على استقرار الهلام في السكون. وأخيرًا، كشفت اختبارات النشاط المضاد للميكروبات عن تثبيط كبير لنمو البكتيريا مثل الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*) والعنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*)وكليبسيلا أكسيتوكا(*Klebsiella oxytoca*) ، مع زيادة الفعالية عند تركيزات أعلى من المصل. تؤكد هذه النتائج على الإمكانات العلاجية القوية لتركيبات قشور الرمان للاستخدامات عن طريق الفم.

الكلمات المفتاحية:: الرمان*Punica granatum L* ، التوصيف، التركيب، الهلامات القابلة للشرب، العلاج النباتي، الخصائص المضادة للميكروبات

Résumé

Ce travail vise à valoriser les écorces de *Punica granatum L.* à travers une caractérisation physico-chimique et le développement de formulations présentant des propriétés antimicrobiennes pour une utilisation buvable. Tout d'abord, le processus de prétraitement des écorces, comprenant le broyage, le tamisage et le séchage, a été réalisé, permettant d'obtenir une poudre fine présentant un taux d'humidité de 4,7% et une granulométrie homogène de 30 µm. Cette poudre a ensuite été soumise à une analyse FTIR qui a permis d'identifier les groupes fonctionnels présents. Par la suite, des gels à base d'hydrolat d'écorce ont été formulés et caractérisés en vue d'une utilisation buvable potentielle. Ces gels ont montré une texture visqueuse et glutineuse, ainsi qu'une couleur rouge caractéristique. De plus, leur pH, situé entre 6,9 et 7,2, indique un équilibre acido-basique compatible avec la tolérance gastro-intestinale. La diminution de la viscosité sous contrainte de cisaillement a révélé un comportement pseudoplastique, ce qui facilite leur ingestion tout en maintenant la stabilité du gel au repos. Enfin, les tests d'activité antimicrobienne ont mis en évidence une inhibition significative de la croissance de bactéries telles *qu'Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella oxytoca*, avec une efficacité accrue à des concentrations plus élevées d'hydrolat. Ces résultats soulignent le fort potentiel thérapeutique des formulations à base d'écorces de *Punica granatum L.* pour des applications buvables.

Mots clés : *Punica granatum L,* Caractérisation, Formulation, Gels buvables, Phytothérapie, Propriétés antimicrobiennes

Abstract

This work aims to enhance the value of *Punica granatumL*. peels through physicochemical characterization and the development of formulations with antimicrobial properties for oral use. First, the pretreatment process of the peels, including grinding, sieving, and drying, was carried out, resulting in a fine powder with a moisture content of 4.7% and a homogeneous particle size of 30 µm. This powder was then subjected to FTIR analysis, which identified the functional groups present. Subsequently, gels based on peel hydrosol were formulated and characterized for potential oral use. These gels exhibited a viscous and gluey texture, as well as a characteristic red color. Additionally, their pH, ranging from 6.9 to 7.2, indicates an acid-base balance compatible with gastrointestinal tolerance. The decrease in viscosity under shear stress revealed pseudoplastic behavior, facilitating ingestion while maintaining the stability of the gel at rest. Finally, antimicrobial activity tests demonstrated significant inhibition of the growth of bacteria such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Klebsiella oxytoca*, with increased efficacy at higher concentrations of hydrosol. These results highlight the strong therapeutic potential of formulations based on *Punica granatum L*. peels for oral applications.

Keywords: *Punica granatum L*, Characterization, Formulation, Oral Gels, Phytotherapy, Antimicrobial Properties

	Chapitre I : Revue bibliographique	
Tableau I.1	Classification du grenadier	**16**
Tableau I.2	La composition chimique du fruit de grenadier	**17**
Tableau I.3	Composition phénolique du pur jus de grenade	**18**
	Chapitre II : Matériel et méthodes	
Tableau II.1	Différent appareils utilisés	**29**
Tableau II.2	Propriétés physico-chimiques de la gomme xanthane	**30**
Tableau II.3	Produits utilisés	**30**
Tableau II.4	Composition qualitative et quantitative du milieu Muller Hinton	**31**
Tableau II.5	Matrice de formulation des gels buvable a base d'hydrolat de grenade	**33**
Tableau II.6	Classification du genre d'Escherichia coli	**39**
Tableau II.7	Classification du genre Staphylococcus aureus	**40**
Tableau II.8	Classification du genre Klabsiellaoxytoca	**40**
	Chapitre III : Résultats et discussions	
Tableau III.1	Evaluation sensorielle de la poudre d'écorce de grenade	**47**
Tableau III.2	Caractéristique organoleptique des gels a base d'hydrolat d'écorce de grenade	**51**
Tableau III.3	Effet inhibiteur des différentes formules sur Escherichia coli	**54**
Tableau III.4	Effet inhibiteur des différentes formules sur Staphylococcus aureus	**55**
Tableau III.5	Effet inhibiteur des différentes formules sur Klebsiella oxytoca	**56**

Chapitre I : Partie bibliographique		
Figure I.1	Arbre du grenadier	**12**
Figure I.2	Les feuilles du grenadier	**12**
Figure I.3	Fleur du grenadier	**13**
Figure I.4	Fruit grenadier	**14**
Figure I.5	Grains de la grenade	**14**
Figure I.6	Les écorces du grenadier	**15**
Figure I.7	Schéma descriptif d'une grenade	**16**
Figure I.8	Structure de principaux poly phénols de la grenade	**19**
Figure I.9	Structure de principaux flavonoïdes de la grenade	**20**
Figure I.10	Propriétés thérapeutiques de grenadier	**23**
Chapitre II : Matériels et Méthodes		
Figure II.1	Plante utilisée dans cette étude (grenade)	**31**
Figure II.2	Ecorce de grenade séchée	**32**
Figure II.3	Broyat obtenus à partir des écorces de grenade	**32**
Figure II.4	Les étapes de formulation d'un gel buvable	**34**
Figure II.5	Gels à base d'hydrolat de grenade	**35**
Figure II.6	Schéma représentant le principe d'un spectromètre IR	**36**
Figure II.7	Ensemencement par écouvillonnage de la suspension bactérienne	**42**
Figure II.8	Zone d'inhibition	**43**
Chapitre III : Résultats et discussion		
Figure III.1	Cinétique de séchage d'écorces de grenade	**45**
Figure III.2	Distribution de la poudre de grenade après tamisage	**46**
Figure III.3	Spectre FTIR de la poudre des écorces de grenade	**48**
Figure III.4	pH de solution à base d'écorce de grenade à 0.1 et 1%	**49**
Figure III.5	Aspect macroscopique des gels à base d'hydrolat de grenade	**51**
Figure III.6	pH des gels formulés	**52**
Figure III.7	Courbe de viscosité des gels (F1 jusqu'à F5)	**53**

	Chapitre I : Revue bibliographique	
Tableau I.1	Classification du grenadier	**16**
Tableau I.2	La composition chimique du fruit de grenadier	**17**
Tableau I.3	Composition phénolique du pur jus de grenade	**18**
	Chapitre II : Matériel et méthodes	
Tableau II.1	Différent appareils utilisés	**29**
Tableau II.2	Propriétés physico-chimiques de la gomme xanthane	**30**
Tableau II.3	Produits utilisés	**30**
Tableau II.4	Composition qualitative et quantitative du milieu Muller Hinton	**31**
Tableau II.5	Matrice de formulation des gels buvable a base d'hydrolat de grenade	**33**
Tableau II.6	Classification du genre d'Escherichia coli	**39**
Tableau II.7	Classification du genre Staphylococcus aureus	**40**
Tableau II.8	Classification du genre Klabsiellaoxytoca	**40**
	Chapitre III : Résultats et discussions	
Tableau III.1	Evaluation sensorielle de la poudre d'écorce de grenade	**47**
Tableau III.2	Caractéristique organoleptique des gels a base d'hydrolat d'écorce de grenade	**51**
Tableau III.3	Effet inhibiteur des différentes formules sur Escherichia coli	**54**
Tableau III.4	Effet inhibiteur des différentes formules sur Staphylococcus aureus	**55**
Tableau III.5	Effet inhibiteur des différentes formules sur Klebsiella oxytoca	**56**

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE

Depuis des millénaires, l'homme a évolué en symbiose avec les plantes, apprenant à exploiter leurs propriétés médicinales et nutritives. Les produits naturels, prisés pour leurs bienfaits, sont devenus des matières premières essentielles dans divers secteurs tels que la cosmétique, la pharmacie, l'agroalimentaire, les produits phytosanitaires [1]. L'étude de la chimie des plantes, malgré son ancienneté, reste d'actualité en raison de la diversité des molécules bioactives que le règne végétal offre. Les plantes médicinales et les préparations à base de plantes connaissent un succès croissant, avec environ 80% de la population mondiale dépendant de la médecine traditionnelle [2].

Dans notre quête de remèdes naturels ayant des pouvoirs préventifs et curatifs avec le moins d'effets indésirables possibles, et pour valoriser la flore algérienne, nous nous sommes penchés sur une plante médicinale célèbre pour son fruit mais méconnue pour ses vertus thérapeutiques: la grenade (*Punica granatum L.*).

Les fruits, en général, sont riches en composés bioactifs aux potentiels antioxydants et médicinaux. Des études récentes ont mis en lumière les bienfaits pour la santé et les activités biologiques de fruits tels que la grenade et ses dérivés. Utilisée depuis des siècles dans diverses cultures, la grenade est un fruit ancien avec une histoire médicale riche, symbole de beauté, fertilité, immortalité et divinité. Originaire du Moyen-Orient, elle s'est propagée à travers la Méditerranée jusqu'en Chine, en Inde, et dans le Nouveau Monde en Californie et au Mexique [3]. Les différentes parties du grenadier, notamment le fruit, l'écorce et les fleurs, ont été utilisées depuis longtemps pour leurs activités thérapeutiques variées. Des recherches modernes indiquent que les produits dérivés de la grenade peuvent aider à prévenir et traiter certains cancers, comme ceux du poumon et de la prostate, et possèdent des propriétés antimicrobiennes [4].

L'objectif de ce travail est de valoriser les écorces de Punica granatum L. en développant des méthodes de formulation et de mise en forme pour une utilisation optimale par l'homme. Nous nous concentrons sur des applications orales sous forme de gels buvables, permettant de maximiser les bienfaits des écorces pour le système digestif.

Ce manuscrit est structuré en trois chapitres principaux:

Le premier chapitre présente l'état de l'art des gels buvables et offre un aperçu général des plantes médicinales, en particulier *Punica granatum L.* Il inclut également une approche microbiologique pour évaluer les propriétés antimicrobiennes de la grenade.

Le deuxième chapitre se concentre sur les protocoles de prétraitement et de caractérisation de l'écorce de Punica granatum L. Nous y décrivons en détail la fabrication et la caractérisation des gels à base d'hydrolat d'écorce de Punica granatum L., en utilisant diverses méthodes physico-chimiques. Une analyse détaillée des propriétés antimicrobiennes est également présentée.

Le troisième chapitre expose les résultats essentiels de l'analyse de l'écorce de Punica granatum L., incluant les caractérisations physico-chimiques pour identifier ses composés actifs. Nous y discutons des propriétés physico-chimiques des gels, telles que la texture, la viscosité et le pH, et analysons leur activité antimicrobienne contre diverses souches bactériennes.

Cette étude se conclut par une synthèse des résultats obtenus et propose des perspectives pour approfondir les recherches futures dans ce domaine prometteur.

Chapitre I :
Revue Bibliographique

I.ETAT DE L'ART DES GELS BUVABLES

I.1. Introduction

Les gels buvables, en tant que forme galénique, suscitent un vif intérêt dans le domaine pharmaceutique et médical en raison de leur remarquable facilité d'administration, leur stabilité accrue et leur capacité à encapsuler efficacement des principes actifs. Leur utilisation offre des avantages significatifs tant pour les professionnels de la santé que pour les patients, alliant praticité et efficacité thérapeutique.

Dès le XIXe siècle, les chimistes ont exploré divers systèmes, organiques et inorganiques, capables de former des gels. Les travaux novateurs de Thomas Graham ont notamment jeté les bases de notre compréhension actuelle des gels. Graham a non seulement rapporté sur les propriétés de diffusion inhabituelles des gels, mais il a également étudié le remplacement de l'eau par d'autres liquides dans les gels d'acide silicique, introduisant ainsi les termes "hydrosol" et "hydrogel" pour désigner respectivement le liquide et les hydrates de gélatine des acides siliciaux, ainsi que "alcosol" et "alcogel" pour leurs équivalents alcoolisés.

Cependant, malgré les avancées réalisées au fil du temps, la définition précise de ce qu'est un gel reste sujette à débat. Les différents types de gels, caractérisés par des structures diverses, sont étudiés par des scientifiques issus de divers milieux, tels que les physiciens, les chimistes, les ingénieurs chimistes, les biologistes et les chercheurs médicaux. Cette diversité de perspectives rend difficile l'établissement d'un consensus sur la nature exacte des gels, entravant ainsi la communication entre les chercheurs de différents domaines et compliquant la compréhension pour les étudiants cherchant à saisir la signification précise du terme "gel"[5].

Donc qu'est ce qui constitue « un gel »et quelle sont la voix d'administration des gels?

I.2. Définition de gel

Le manuel de chimie physique de P. W. Atkins propose la définition suivante du gel : "Un gel est une masse semi-rigide d'un sol lyophile dans lequel tout le milieu de dispersion a été absorbé par les particules du sol." Cette définition met l'accent sur la structure interne du gel, où le sol lyophile, généralement un polymère, retient tout le liquide dispersé [6].

D'autre part, l'Encyclopédie des sciences et de l'ingénierie des polymères définit un gel comme "un réseau polymère interconnecté gonflé dans un milieu liquide", soulignant ainsi l'importance du réseau polymère dans la formation du gel et de son interaction avec le liquide environnant [7].

Ces deux définitions mettent en lumière des aspects différents mais complémentaires de ce qu'est un gel, mettant en évidence l'importance de la structure et de la composition dans ses propriétés. Il est évident qu'une clarification de la nature des gels est nécessaire.

En outre, le New Twentieth Century Dictionary de Webster propose des définitions phénoménologiques pour différents types de gels. Par exemple, il définit "Jelly" comme "un aliment souple, résistant, partiellement transparent, semi-solide, gélatineux résultant du refroidissement du jus de fruits bouilli avec du sucre, ou du suc de viande cuit." Ces définitions se concentrent sur les caractéristiques observables et l'origine des gels dans des contextes spécifiques, comme l'alimentation [8].

I.3. les type des gels :

a) Gels hydrophiles et hydrophobes :

- **Gels hydrophiles :** Ces gels ont une affinité pour l'eau et sont constitués de polymères hydrophiles tels que les hydroxypropylméthylcelluloses (HPMC), les gommes, les algues, etc. Ils sont couramment utilisés dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires.
- **Gels hydrophobes :** Ces gels ont une faible affinité pour l'eau et sont constitués de polymères hydrophobes tels que les silicones, les polymères organiques, etc. Ils sont souvent utilisés dans les applications industrielles, comme les revêtements de surface et les matériaux d'étanchéité.

b) Gels biologiques :

- **Gels d'origine biologique :** Ces gels sont dérivés de sources biologiques telles que les protéines, les polysaccharides et les acides nucléiques. Par exemple, le gel d'agarose, dérivé des algues marines, est largement utilisé en biologie moléculaire pour la séparation et l'analyse des acides nucléiques.

c) Gels colloïdaux :

- **Gels lyophiles :** Ces gels sont formés par l'interaction entre les particules du sol et le liquide dispersé. Ils peuvent être réversibles ou irréversibles. Les gels d'hydrogels et les gels de sol-gel en sont des exemples courants.

- **Gels lyophobes :** Ces gels sont formés par l'agrégation de particules dans un liquide dispersant. Ils sont souvent instables et nécessitent l'ajout d'agents stabilisants pour maintenir leur structure. Les gels de silice colloïdale en sont un exemple.

d) Gels alimentaires :

Ces gels sont utilisés dans l'industrie alimentaire pour leur texture et leurs propriétés de rétention d'eau. Les gels de pectine, de carraghénane et de gélatine sont couramment utilisés comme agents gélifiants dans les produits alimentaires tels que les confitures, les desserts et les produits laitiers.

e) Gels pharmaceutiques :

Ces gels sont utilisés comme véhicules pour l'administration de médicaments par voie topique ou orale. Ils peuvent contenir des principes actifs, des agents gélifiants, des solvants et des additifs pour améliorer la stabilité et l'efficacité du médicament. Les gels buvables, les gels ophtalmiques et les gels dermatologiques en sont des exemples [9].

I.4 Définition de gel buvable

Un gel buvable est une forme galénique liquide à semi-liquide contenant des polymères gélifiants, des agents de viscosité et des solvants. Contrairement aux gels topiques, les gels buvables sont destinés à être ingérés par voie orale, offrant ainsi une méthode pratique et précise pour administrer des médicaments.Ces gels sont souvent utilisés pour leur capacité à offrir une libération contrôlée des principes actifs, améliorant ainsi l'efficacité thérapeutique et la biodisponibilité des médicaments [10].

I.4.1. Composition des gels buvables

Les gels buvables sont composés de plusieurs éléments clés, notamment :

Polymères gélifiants: Ces polymères, tels que : l'hydroxy propyl méthyl cellulose (HPMC), la carbomère, la gomme xanthane, etc., confèrent la viscosité et la consistance gélifiée au gel.

Agents de viscosité : Ils sont ajoutés pour ajuster la viscosité du gel selon les besoins spécifiques de l'administration et pour garantir une distribution uniforme des principes actifs.

Solvants : Les solvants tels que l'eau, les glycols et les alcools sont utilisés comme véhicules pour dissoudre les polymères et les principes actifs, assurant ainsi une distribution homogène dans le gel.

Principes actifs : Les médicaments, vitamines, minéraux ou autres substances thérapeutiques sont incorporés dans le gel pour être administrés efficacement au patient.

I.4.2. Avantages des gels buvables

Les gels buvables présentent plusieurs avantages, notamment [10] :

Facilité d'administration : Ils sont faciles à avaler et ne nécessitent pas de prise d'eau supplémentaire, ce qui les rend idéaux pour les patients ayant des difficultés à avaler des comprimés ou des capsules.

Précision de dosage : La forme liquide permet un dosage précis, adapté aux besoins individuels du patient, ce qui réduit les risques de surdosage ou de sous-dosage.

Libération contrôlée : La viscosité du gel permet une libération contrôlée des principes actifs, prolongeant ainsi leur action et améliorant leur efficacité thérapeutique.

Stabilité : Les gels buvables sont généralement stables sur le plan chimique et physique, ce qui garantit une conservation à long terme des médicaments.

1.4.3. Applications des gels buvables

Les gels buvables sont utilisés dans divers domaines thérapeutiques, notamment :

Médecine générale : Pour l'administration de médicaments tels que les analgésiques, les antipyrétiques, les antihistaminiques, etc.

Pédiatrie : Adaptés aux enfants et aux nourrissons, les gels buvables offrent une alternative pratique aux sirops et aux comprimés.

Gériatrie : Pour les patients âgés ayant des difficultés à avaler des comprimés, les gels buvables sont une option préférée.

Nutrition : Certains gels buvables contiennent des suppléments nutritionnels tels que les vitamines, les minéraux, les acides aminés, etc [10].

II.GENERALITES SUR*PUNICA GRANATUM L* (LE GRENADE).

II.1. Les plantes médicinales

II.1.1. Histoire les plantes médicinales

L'histoire de la découverte des plantes médicinales par l'homme remonte à des civilisations Anciennes. Les documents historiques révèlent que leur utilisation remonte à 5000 ans avant JC en Chine, 1600 avant JC par les Syriens, les Babyloniens, les Hébreux et les égyptiens Actuellement, de plus en plus de personne reconnaissent les vertus de ces plantes qui regain d'intérêt auprès du public. Elles sont utilisées aussi bien dans les pays développés que sous-développés et ce, en raison du rendement insatisfaisant et des coûts chers des médicaments modernes [11].

II.1.2. Définition des plants médicinales

Les plantes médicinales sont identifiées comme étant toute plante contenant une ou plusieurs substances à intérêt thérapeutique ou à usage médicinal dans la synthèse de médicaments utiles. Il est à noter qu'au moins 25% de tous les médicaments modernes dérivent soit directement, soit indirectement, de plantes médicinales [12].

La plante médicinale provient de deux origines : les plantes spontanées dites « sauvages » et les plantes cultivées [13]. Elles continuent d'être un élément essentiel des systèmes de santé humaine dans de nombreuses régions du monde, avec environ 80 % des soins de santé de la population mondiale dépendant uniquement des remèdes traditionnels [14]. Elles représentent également un élément important de la biodiversité mondiale [15]. Les populations vivant dans les pays en développement dépendent des produits végétaux comme principale source de soins de santé [16].

L'utilisation de la médecine traditionnelle ne se limite pas aux pays en développement. Au cours des deux dernières décennies, la pratique de la phytothérapie et l'utilisation de thérapies naturelles ont augmenté de manière significative dans les pays industrialisés [17].

Les établissements pharmaceutiques utilisent les plantes médicinales comme matière première pour la production de nombreuses substances pharmacologiquement actives semi-synthétiques, comme le démontrent de nombreux médicaments [18]. Environ trente pour cent des

médicaments vendus dans le monde contiennent des composés dérivés de matériel végétal [19], [20].

II.1.3. Domaines d'application des plantes médicinales

L'ethnopharmacologie aborde l'étude des médecines traditionnelles et de leurs pharmacopées sous un nouvel angle, en intégrant la richesse et la diversité des nombreuses disciplines qui la composent. Cette approche met en relation les savoirs ancestraux des médecines traditionnelles avec les connaissances scientifiques actuelles. En se situant à l'interface des sciences humaines telles que l'ethnologie, l'histoire et la linguistique, ainsi que des sciences de la nature comme la botanique, la pharmacologie, la pharmacognosie et la médecine, l'ethnopharmacologie respecte les traditions tout en embrassant l'innovation [21].

Dans le domaine médical, les plantes médicinales sont utilisées comme médicaments pour l'homme, réduisant ainsi le risque de nombreuses maladies chroniques telles que le cancer, les accidents vasculaires cérébraux et les coronaropathies. Elles peuvent agir en synergie et interagir avec d'autres agents dans les phytomédicaments, offrant ainsi diverses actions sur le système nerveux, la circulation sanguine, ou encore des propriétés antibiotiques, entre autres.

Par ailleurs, les plantes médicinales trouvent également leur place dans l'alimentation, que ce soit comme assaisonnements, dans la fabrication de boissons, de colorants ou de composés aromatiques. Les épices et les herbes aromatiques en particulier ont une longue histoire d'utilisation tant pour leurs qualités culinaires que pour leurs bienfaits thérapeutiques.

Pendant longtemps, les remèdes naturels, en particulier les plantes médicinales, ont été le principal, voire l'unique recours en matière de médecine. Aujourd'hui, la science reconnaît de plus en plus leurs propriétés thérapeutiques, notamment comme agents antimicrobiens. Des plantes telles que le thym (*Thymus vulgaris*), le myrte (*Myrtuscommunis*), l'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), le clou de girofle (*Syzygiumaromaticum*) et bien d'autres font désormais partie intégrante de notre pratique quotidienne [22].

II.1.4. les avantages des plantes médicinales

Les plantes médicinales offrent une panoplie d'avantages. Leur accessibilité et leur disponibilité abordables les rendent accessibles à de nombreuses personnes, surtout là où les services médicaux sont limités. Leur diversité thérapeutique permet de traiter une multitude de maux de manière naturelle. De plus, elles sont souvent associées à moins d'effets secondaires que les

médicaments synthétiques, ce qui en fait des options plus sûres pour beaucoup. Sur le plan environnemental, leur culture peut être réalisée de manière durable, contribuant à la préservation de la biodiversité. En favorisant l'autonomie en matière de santé et en préservant les traditions culturelles, les plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans la santé et le bien-être de nombreux individus [23].

II.1.5. Les inconvénients des plantes médicinales

Bien que les plantes médicinales offrent de nombreux avantages, elles présentent également certains inconvénients. Tout d'abord, leur efficacité peut varier en fonction de facteurs tels que la qualité de la plante, son origine géographique, et les méthodes d'extraction et de préparation utilisées. Cela peut rendre difficile la standardisation des doses et des traitements, ce qui peut affecter la fiabilité de leur utilisation. De plus, certaines plantes peuvent provoquer des interactions indésirables avec d'autres médicaments ou avoir des effets secondaires graves, surtout lorsqu'elles sont utilisées sans supervision médicale appropriée. Par ailleurs, leur utilisation incontrôlée ou leur exploitation excessive peut entraîner des risques pour la biodiversité, en mettant en péril certaines espèces végétales. Enfin, dans certains cas, les plantes médicinales peuvent être contaminées par des polluants ou des toxines environnementales, ce qui peut compromettre leur sécurité et leur efficacité [24].

II.2. Présentation de la famille *Lythracease*

II.2.1. Généralités sur les *Lythraceaes*

La famille des Lythracées comprend environ 32 genres et plus de 600 espèces de plantes à fleurs, principalement présentes dans les régions tropicales et subtropicales. Ces plantes se caractérisent par leurs feuilles opposées ou alternes et leurs fleurs régulières, souvent colorées et disposées en épis ou en grappes. Parmi les genres les plus connus figure Lythrum, comprenant des plantes herbacées utilisées à la fois comme plantes ornementales et pour leurs propriétés médicinales. Bien que diversifiée, cette famille est particulièrement appréciée pour sa contribution à l'horticulture et à la médecine traditionnelle [25].

II.2.1.Description botanique de la famille *Lythraceae*

II.2.1.1. Appareil végétatif

Les Lythraceae se présentent sous forme d'arbres, d'arbustes dans les régions tropicales ou d'herbes dans les régions tempérées. Leurs feuilles sont généralement opposées ou verticillées,

simples, entières, avec une nervation pennée et des stipules réduites ou absentes. La tige et les feuilles possèdent du phloème interne [26].

II.2.1.2. Appareil reproducteur

a) Inflorescence

Inflorescence Typiquement, l'inflorescence est un épi lâche de petites cymes, comme chez la salicaire.

b) Fleur

La fleur peut être régulière ou parfois zygomorphe, avec un hypanthium bien développé. Généralement hermaphrodites, cependant, le genre Capuronia de Madagascar est dioïque.

Le périanthe

- Les sépales sont au nombre de 4 à 8, parfois légèrement soudés, valvaires, et parfois épaissis.
- La corolle présente 4 à 8 pétales, imbriqués, parfois absents.

- L'androcée est normalement diplostémone, bien que le nombre d'étamines puisse varier de 4 à beaucoup, avec des filets de différentes longueurs. La pollinisation est principalement entomophile, avec des nectaires fréquents à la base de l'hypanthium.
- Le gynécée comporte généralement 2 à 6 carpelles, parfois plus, formant un ovaire généralement supère, avec une placentation axile. Le nombre d'ovules par loge varie.

Les fleurs de Lythraceae sont remarquables par leur hétérostylie fréquente, comme observé chez la salicaire (Lythrum salicaria L.), avec différents types d'associations entre étamines et styles, offrant jusqu'à 18 combinaisons possibles.

c) Fruit

Le fruit est généralement une capsule, avec une déhiscence variable, parfois une baie (comme chez Punica, le grenadier). Les graines sont souvent aplaties, parfois ailées, et généralement exalbuminées [26].

II.3. Punica granatum (*hythracées*) Grenadier

Le *Punicagranatum*, communément appelé grenadier, est un arbuste fruitier appartenant à la famille des *Lythraceae*. Originaire de la région méditerranéenne, cette plante est largement cultivée pour ses fruits, les grenades, appréciés pour leur goût unique et leurs propriétés médicinales [27].

II.3.1. Description botanique du *punicagranatum*

II.3.1.1. Origine de nom

La grenade, scientifiquement connue sous le nom de *Punicagranatum L*, dérive de "*Promus*" et "*Granatus*" en latin, signifiant respectivement une tête de série ou une pomme granulaire. Originaire de l'Iran jusqu'à l'Himalaya dans le nord de l'Inde, elle est cultivée depuis des millénaires. On répertorie plus de 1000 cultivars de Punicagranatum, s'étendant de l'Iran à l'est jusqu'en Chine et en Inde, et à l'ouest à travers la région méditerranéenne jusqu'au sud-ouest des États-Unis, en Californie et au Mexique [28].

Cultivée mondialement, la grenade répond aux besoins nutritionnels et médicinaux de populations dans diverses régions géographiques, notamment en Iran, en Inde, en Égypte, en Chine, en Israël, en Tunisie, en Syrie, au Liban, en Turquie, en Grèce, à Chypre, en Italie, en France, en Espagne, au Chili, au Portugal, aux États-Unis, à Oman, et plus récemment en Afrique du Sud[29] .

II.3.1.2. Noms vernaculaires

La grenade est connue par plusieurs noms, parmi eux on cite.

En Arabe : Romman

En Français : Grenadier « Fruit : Grenade»

En anglais : Pomegranate

En allemand : Grenadierbaum, Granatapfelbaum, Granatbaum, GemeineGranat, **Balluster.**

En espagnol : Granadocoltivado, Mangrano.

En italien : Granato.

En chinois : Ngan Che Lieou, Shi Liu.

II.3.1.3. Description botanique de grenadier

Le grenadier (*Punicagranatum*) est un arbuste originaire des régions méditerranéennes, pouvant atteindre jusqu'à 6 mètres de hauteur (Figure I.1). Il présente plusieurs compartiments anatomiques distincts, tels que la graine, la peau, le jus, la fleur, la feuille, l'écorce et les racines, chacun offrant des activités pharmacologiques intéressantes [30]. La composition chimique des

fruits peut varier en fonction du cultivateur, de la région de culture, du climat, du stade de maturité, des pratiques culturales et des conditions de stockage.



Figure I.1 : Arbre du grenadier

II.3.1.3.1. Feuilles

Les feuilles de grenadier, vertes et brillantes, sont généralement de forme oblongue à elliptique, avec des bords lisses ou légèrement dentelés. Elles sont disposées de manière opposée ou alternée le long des tiges de l'arbre. Les feuilles ont une texture coriace et sont souvent persistantes dans les climats chauds. Elles mesurent généralement entre 3 et 8 centimètres de longueur et sont lisses sur leur face supérieure, tandis que la face inférieure peut présenter une légère pubescence (figure I.2). Les feuilles sont riches en composés phytochimiques bénéfiques, notamment des tanins, des flavonoïdes et des acides phénoliques, qui leur confèrent diverses propriétés médicinales et antioxydantes [31].



Figure I.2 : Les feuilles du grenadier

II.3.1.3.2. Fleurs

Les fleurs de grenadier sont de couleur rouge vif à orange, bien que certaines variétés puissent également produire des fleurs blanches. Elles sont généralement solitaires ou regroupées en petites grappes à l'extrémité des branches de l'arbre. Les fleurs ont une forme tubulaire avec des pétales délicats qui s'ouvrent progressivement lors de la floraison. Elles sont souvent odorantes, avec un parfum sucré et floral. Les fleurs de grenadier sont riches en nectar, attirant ainsi les pollinisateurs tels que les abeilles et les papillons. Chaque fleur contient un pistil et de nombreuses étamines portant le pollen [32].



Figure I.3 : Fleur du grenadier

La floraison du grenadier se caractérise par la présence de fleurs hermaphrodites (bisexuelles) ainsi que de fleurs mâles fonctionnelles sur la même plante, une condition appelée andromonoécie. Les fleurs hermaphrodites présentent à la fois des organes mâles (anthères) et des organes femelles (stigmate, style, ovaire) bien développés, et sont souvent qualifiées de "fertiles", de "vase" ou de "bisexuées". Les fleurs hermaphrodites sont celles qui produisent les fruits, bien qu'il soit souvent incorrectement supposé qu'elles sont exclusivement féminines. En réalité, elles sont de nature mâle avec des parties féminines fonctionnelles. Dans des conditions agricoles spécifiques, il existe des ratios de fleurs mâles par rapport aux fleurs femelles dans la production de grenades.

II.3.1.3.3. Fruits

Les fruits du grenadier, communément appelés grenades, sont de forme ronde à légèrement ovale et mesurent généralement entre 5 et 12 centimètres de diamètre. Leur écorce épaisse et coriace varie en couleur, allant du jaune au rouge foncé, en passant par le rose et le violet, en fonction de la variété et du degré de maturité. Les grenades sont généralement couronnées par

un calice persistant à l'extrémité du fruit. À l'intérieur, les grenades sont divisées en plusieurs compartiments remplis de graines juteuses et entourées de pulpe comestible, appelée arilles. Les graines, enveloppées dans une membrane blanche, sont comestibles et riches en nutriments. Les grenades sont appréciées pour leur saveur sucrée-acide caractéristique et sont largement utilisées dans l'alimentation, la cuisine et la fabrication de jus et de produits dérivés [33].



Figure I.4 : Fruit grenadier

II.3.1.3.4. Graines

Les graines de grenadier, également appelées arilles, sont les petites graines juteuses et comestibles trouvées à l'intérieur du fruit. Elles sont entourées d'une pulpe charnue et translucide, généralement rouge ou rose, qui constitue la partie comestible de la grenade. Les graines sont enveloppées dans une fine membrane blanche et sont réputées pour leur saveur légèrement sucrée et acidulée. Riches en antioxydants, en vitamines et en minéraux, les graines de grenade sont appréciées pour leurs bienfaits pour la santé. Elles peuvent être consommées crues, ajoutées à des salades, utilisées comme garniture pour divers plats ou pressées pour extraire leur jus [34].



Figure I.5 : graines de la grenade

II.3.1.3.5. L'écorce de fruit

L'écorce du grenadier, également connue sous le nom de peau ou de rind, est l'enveloppe extérieure épaisse et coriace qui recouvre le fruit. Elle varie en couleur selon la variété et le degré de maturité du fruit, allant du jaune au rouge foncé, voire au violet. L'écorce est souvent utilisée à des fins médicinales ou culinaires en raison de ses propriétés potentiellement bénéfiques pour la santé. Elle peut être séchée et transformée en poudre pour une utilisation dans des préparations médicinales traditionnelles ou comme ingrédient dans des produits alimentaires. Certaines études suggèrent que l'écorce de grenadier peut contenir des composés aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, bien que davantage de recherches soient nécessaires pour confirmer ces effets [35].

Les flavonoïdes et les tanins sont plus abondants dans les écorces de fruits sauvages que dans Les fruits cultivés**.** Les principaux constituants chimiques isolés de la peau de grenade sont les acides hydroxy benzoïques (acide gallique, acide ellagique), les Acides hydroxy cinnamiques (acide caféique, acide chlorogénique, acide coumarique), les Acides cyclitol carboxyliques (acide coranique) et les ellagitannins (Punicalline, Punicalagin, la granatine A, la granatine B) [26].



Figure I.6 : Les écorces du grenadier

II.3.1.3.6. Structure de la grenade

La grenade est un fruit dont seulement une partie est consommable. En effet, seules les graines enrobées de pulpe, appelées arilles, sont consommées. La partie comestible représente 52% du poids du fruit et chaque arille est composé de 78% de pulpe et 22% de graines **[**36**]**.

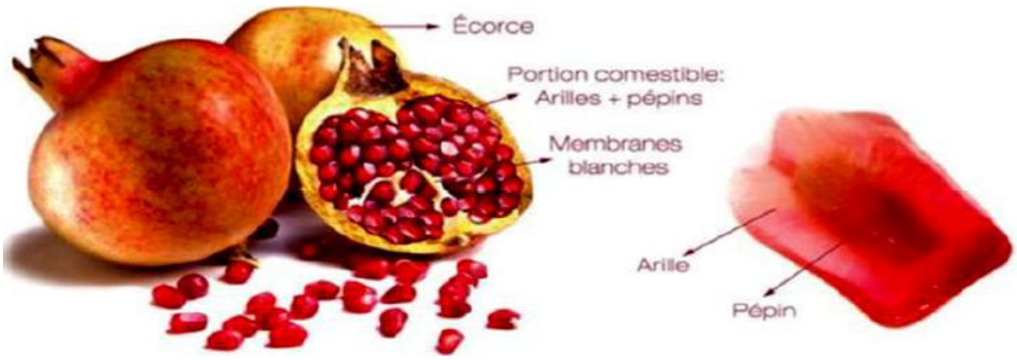


Figure I.7 : Schéma descriptif d'une grenade.

II.3.1.4. Taxonomie et Classification

*Punicagranatum*partage sa famille botanique, *Punicaceae*, avec *Punicaprotopunica*, une espèce endémique de l'ile yéménite de Socotra. Cependant les récentesétudes moléculaires recommandent la classification de ce genre dans la famille des *Lythraceae* (Tableau I.1**)** [37].

Tableau I.1 : Classification du grenadier

Règne	***Plantea*–Plantes**
Sous-règne	*Tracheobionta*– Plantes vasculaires
Super division	*Spermatophyta*– Plantes a graines
Division	*Magnoliophyta*– Plantes a fleurs
Classe	*Magniliopsida*– Dicotylédones
Sous-classe	*Rosidiae*
Ordre	*Myrtales*
Famille	*Lythraceae*
Genre	*Punica L.*
Espèce	*Punicagranatum*L.

II.3.1.5. Compostion de la grenade

La grenade est un fruit de valeur nutritionnelle élevée, elle est très juteuses et trèssucrée et aussi une source non négligeable de vitamine C, et vitamine B6. Elle renferme également de nombreux oligo-éléments et minéraux tels que le potassium, phosphore, calcium, magnésium, fer, zinc et cuivre, le tableau I.2. Illustre la composition chimique de la grenade pour 100 g de portion comestible.

Tableau I.2. La composition chimique du fruit de grenadier [38].

Constituants	Unité	Minimum	Moyenne	Maximum
Proportion Coméstible	%	35	56	**65**
Energie	Kcal/100g	/	60	/
Eau	g/100g	72,6	80,2	**84**
Protéines	g/100g	0,3	1	**1,6**
Lipidestotaux	g/100g	Traces	0,3	**0,9**
glucidesdisponibles	g/100g	/	13,7	/
Fructose	g/100g	/	6,3	/
Glucose	g/100g	/	7	/
Saccharose	g/100g	/	0,4	/
Amidon	g/100g	/	0	/
Fibresalimentaires	g/100g	3,1	3,5	**6,4**
Sodium	mg/100g	2	4	**7**
Potassium	mg/100g	200	247	**380**
Calcium	mg/100g	3	13	**28**
Magnésium	mg/100g	3	6	**11**
Fer	mg/100g	0,2	0,97	**2,1**
Cuivre	mg/100g	0,07	0,12	**0,17**
Zinc	mg/100g	/	0,4	/
Phosphore	mg/100g	8	25	**37**
β-caroténe	ug/100g	31	40	**65**
VitaminC	mg/100g	4	20	**29**
Thiamine	mg/100g	0,01	0,05	**0,09**
Riboflavine	mg/100g	0,01	0,03	**0,06**
Niacine	mg/100g	0,1	0,3	**0,5**
Acidepantothénique	mg/100g	0,6	0,6	**0,6**
VitamineB6	mg/100g	0,1	0,2	**0,3**
Acidemalique	mg/100g	100	170	**500**
Acidecitrique	**mg/100g**	**500**	**800**	**1700**

II.3.1.5.1. Les antioxydants de la grenade

Parmi les substances secondaires de la grenade, on trouve un taux très élevé de polyphénols glucoconjugués tels que: les acides carbo-phénoliques (acide ellagique, acide gallique, acide caféïque, acide chlorogénique), les ellagitanines (comme la punicalagine) et des flavonoïdes (comme la catéchine, la quercétine, le camphre, la lutéoline et les anthocyanes).

Dans le fruit comme dans le jus (Tableau I.3), les polyphénols présents sont liés essentiellement à des molécules de sucre pour être résorbés correctement par notre intestin et pouvoir déployer

leurs effets sur la santé, ces liaisons glycosidiques doivent êtrescindées et les molécules complexes liées aux sucres décomposées, dégradées en pluspetites molécules. Les ellagitannins quantitativement très importantes dans la grenade (molécules complexes d'acide ellagique) doivent d'abord être déstructurées par des enzymes [39].

Tableau I.3. Composition phénolique du pur jus de grenade **[39].**

Acidephénoliqus (mg/100gMF)		
Acidehydroxybenzoiques	**Acidehydroxycinnamiques**	
Acideellagique:2,06	Acide 5-caféylquinique:0,12	
Glucosided'acideellagique:3,97	Acidecaféique:0,07	
Acidegallique:0,45	Acideo-coumarique:0,01	
Galloyl glucose:4,81		
Punicalagine:43,60		
Flavonoides(mg/100gMF)		
Flavonols	**Anthocyanidols**	**Dihydrochalcones**
(+)-catéchol:0,37	(instable)	(sousforme hétéroside)
(-)-épicatéchol	Delphinidol	phloridzine:0,10
(-)-épigallocatéchol	Cyanidol	
(+)-gallocatéchine	Pélargonidol	
Proanthocyanidol	**Anthocyanosides**	**Flavonol**
Soligoméres	(pimentrouge)	quercétol:0,25
(mg/100gd'arille)	delphinidol3-glucoside:1,36	
(astringence	delphinidol3,5-diglucoside:1,56	
procyanidolB1:0,13	cyanidol3-glucosides:3,43	
procyanidolB3:0,16	cyanidol3,5-diglucoside:3,39	
	Pélargonidol3-glucoside:0,33	
	Pélargonidol3, 5-glucoside:0,06	

II.3.1.5.2.Les polyphénols

Les polyphénols constituent un des groupes les plus communs et largement répandus dans les plantes. Ils sont considérés comme des métabolites secondaires et ils n'ont pas de fonction métabolique spécifique dans les cellules végétales. Plus de mille polyphénols sont connus, ce sont des composés contenant un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyles, ils peuvent être divisés en 15 grandes classes selon leurs structures chimiques. Certaines de ces classes sont des composés avec C6 aromatique, d'autres avec la structure C6-C1, et d'autres avec des squelettes plus complexes [40].

II.3.1.5.3. Les tannins

Les tannins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres et des fruits (raisin, datte, café, cacao…). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation [41].

Les tannins confèrent un goût amer au jus de la grenade et aux membranes blanches qui entourent les graines. Il a été rapporté que la grenade possède deux tannins à savoir l'acide ellagique et punicalagine (Figure I.8) qui ont un rôle important dans l'activité antioxydante [42].

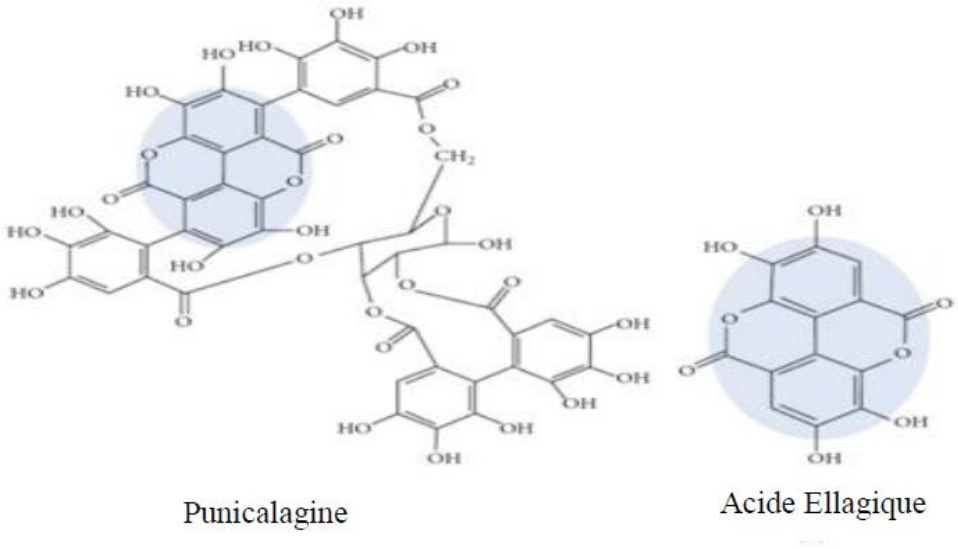
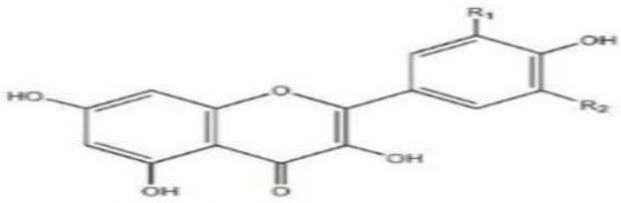


Figure I.8. Structure des principaux polyphénols de la grenade [42].

II.3.1.5.4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des polyphénols naturels et complexes, présents sous forme de dérivées glycosidiques dans de nombreux fruits et légumes [43].Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont des présents dans les cellules épidermiques de feuilles et ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements UV [44]. Il a été signalé que la grenade présente des principaux flavonoïdes à savoir la catéchine, la quercétrine, et le kæmpférole (Figure I.9), qui jouent un rôle important dans l'activité antioxydante [42].



$R_1 = H$; $R_2 = H$: Kaempférole

$R_1 = OH$; $R_2 = H$: Quercétine

$R_1 = OH$; $R_2 =$OH: Myricetine

$R_1 = OCH_3$; $R_2 = H$: Isorhamnetine

Figure I.9: Structure des principaux flavonoïdes de la grenade.

II.3.1.5.5. Les anthocyanines

Les anthocyanines sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits (Bruneton, 1993). Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (lesanthocyanosides). Leurs génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylium**.** Ces pigments représentent des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs (insectes, oiseaux) [45].

La composition en anthocyanines est un paramétre important de qualité du fruit de la grenade, en raison de l'importance de ces derniers dans la couleur des jus respectifs. Les anthocyanines dans la grenade changent considérablement avec les cultivars, maturité, le secteur de production et conditions saisonnières [46].

II.3.1.6. Propriétés thérapeutiques de grenadier

II.3.1.6.1.Effet sur les maladies cardiovasculaires

L'Athérosclérose est la cause majeure de mortalité dans le monde occidental. Sa pathogenecite est due a plusieurs interactions complexes entre les cellules des paroisartérielles; les cellules sanguines et les lipoprotéines du plasma. Elle est le résultat de multiples facteurs de risque interactifs, y compris l'hypertension, l'activation des plaquettes sanguines, augmentations des concentrations de cholestérol LDL et des modifications oxydatives des LDL. La consommations de grenade a un effet sur ces facteurs et agit sur la maladie [47].

II.3.1.6.2. Effet hypotenseur

La grenade est très connue pour l'abaissement de la tension artérielle grâce à certains antioxydants comme la vitamine C, la vitamine E, la bêta-carotène et le coenzyme Q possédant

des propriétés hypotenseur. Comme le jus de grenade possède de très fortes propriétés antioxydantes, une étude a examiné l'effet de la consommation quotidienne de 50 mL de jus de grenade chez des patients souffrant d'hypertension. Au bout de deux semaines, la pression systolique avait baissé de 5% et l'activité sérique de l'angiotensin- converting enzyme (ACE) était réduite de 36%. Une réduction de l'activité sérique de l'ACE semble atténuer l'athérosclérose [48].

II.3.1.6.3.Effet sur les plaquettes sanguines

La formation de thrombose est importante dans les maladies cardio-vasculaires. Les plaquettes sont des fragments de cellules sanguines qui proviennent du cytoplasme des mégacaryocytes dans la moelle osseuse et circulent dans le sang. Elles jouent un rôle majeur dans le processus hémostatique et dans la formation de thrombus après une lésion endothéliale. Les plaquettes jouent également un rôle important dans le développement de l'athérogénicité. Des études récentes ont permis de mieux comprendre leurs fonctions. L'activation plaquettaire est attribuable à des Espèces Réactives Oxygénées (ERO) ainsi les antioxydants diminuent l'agrégationplaquettaires. Il est prouvé que le jus de grenade diminue l'agrégation plaquettaire In vivo et In vitro [47].

II.3.1.6.4.Effet sur les lipides sanguins et leur peroxydation

Il est considéré que les acides gras insaturés jouent un rôle de prévention naturelle des maladies cardiovasculaires et la réduction du cholestérol total, LDL et HDL. Le plasmahumain, obtenu chez des patients en bonne santé après 2 semaines de consommation du concentré de jus de grenade, a démontré une baisse de peroxydation lipidique des LDL, par rapport au plasma obtenu avant la consommation du jus [47].

II.3.1.6.5.Effet sur le cancer de prostate

Le cancer de prostate et l'un des cancers les plus répandus chez les hommes. Une étude In vivo sur une lignée de cellules du cancer de prostate PC-3 hautement agressive, a démontré que des extraits a cétoniques du fruit de grenade inhibent la prolifération cellulaire et induit l'apoptose. L'administration par voie orale d'un extrait de grenade a des souris aux quelles ses cellules cancéreuses de la prostate avaient été implantées, induit une inhibition significative de la croissance de la tumeur. De plus, le taux sérique de la SPA (antigène spécifique de la prostate) était réduit [37].

II.3.1.6.6. Effet sur le cancer du sein

Le cancer du sein est l'un des cancers les plus courants qui menace la femme ménopausée. L'œstrogène le plus puissant de l'organisme, le 17-bêta- œstradiol, joue un rôle important dans la genèse et le développement de cancers hormonaux dépendants à leur premier stade. Les composants polyphoniques de la grenade inhibent la prolifération de cellules d'une lignée cancéreuse du sein et la 17-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type, enzyme qui convertit l'œstrogène, l'œstrone, en son métabolite le plus actif, le 17- bêta-œstradiol. Une forte expression de cette enzyme peut être un indicateur de mauvais pronostic chez des femmes ayant des tumeurs du sein avec des récepteurs œstrogène positifs [49].

II.3.1.6.7. Effet sur le cancer du poumon

Le cancer du poumon reste l'un des cancers les plus mortels en dépit des avances scientifiques et médicales dans la radiothérapie et la chimiothérapie de ces dernières années. Des extraits du fruit de grenade ont diminué la viabilité des cellules cancéreuses humains du poumon sans affecter les cellules bronchiales saines et diminue la progression de la tumeur [50].

II.3.1.6.8. Effet sur le cancer du colon

Les composés phytochimiques de la grenade ont démontré un effet inhibiteur de la prolifération de cellules cancéreuses du colon et l'apoptose à travers la modulation de facteur de transcription cellulaire et protéique. Le jus de grenade inhibe la prolifération des cellules cancéreuses humaines de la lignée HT-29, et il est plus efficace que l'éllagitannin purifié de grenade et cela est dû à l'effet synergique des constituants du jus de grenade [51].

II.3.1.6.9.Effet sur le cancer de la peau

L'exposition excessive aux ultraviolets (UV-B) a des effets néfastes sur la santé telle que l'érythème, l'hyperplasia, l'hyperpigmentation, l'immunosuppression, la photo vieillissement, et le cancer de la peau. Des extraits de grenade ont un effet photochimio préventif et protecteur des kératinocytes, cellules épidérmales humaines, contre les radiations UV-B ET UV-A; ainsi que les effets chimiopréventifs et curatifs des lésions cutanées chez la rat [37].

II.3.1.6.10.Effet sur la qualité du sperme

Une étude menée sur des rats a démontré une relation positive entre la consommation de jus de grenade et les paramètres de qualité du sperme. Une augmentation significative de la concentration du sperme epididymaire, de la mobilité des spermatozoïdes, de la densité des

cellules spermatogénique, du diamètre des tubules séminifères et de l'épaisseur de la couche des cellules germinales; ainsi qu'une diminution du taux de spermatozoïdes anormaux. Cette amélioration de la qualité du sperme est due a la capacité antioxydante accrue du jus de grenade à protéger les spermatozoides sains contre les dommages de la peroxydation.

II.3.1.6.11.Effet protecteur neurologique

L'Alzheimer est la cause la plus courante de démence. Elle touche plus de 10% des adultes de plus de 65 ans; des études suggèrent que l'alimentation affecte le développement de cette maladie. Une étude mené sur des souris transgéniques alimentées par du jus de grenade, à démontré des effets bénéfiques sur les comportements et les signes neurologiques liés à la maladie d'Alzheimer. La consommation de jus de grenade pendant la gestation de la souris permet de protéger le cerveau du fœtus des lésions potentiel causé par un manque d'oxygène à la naissance.

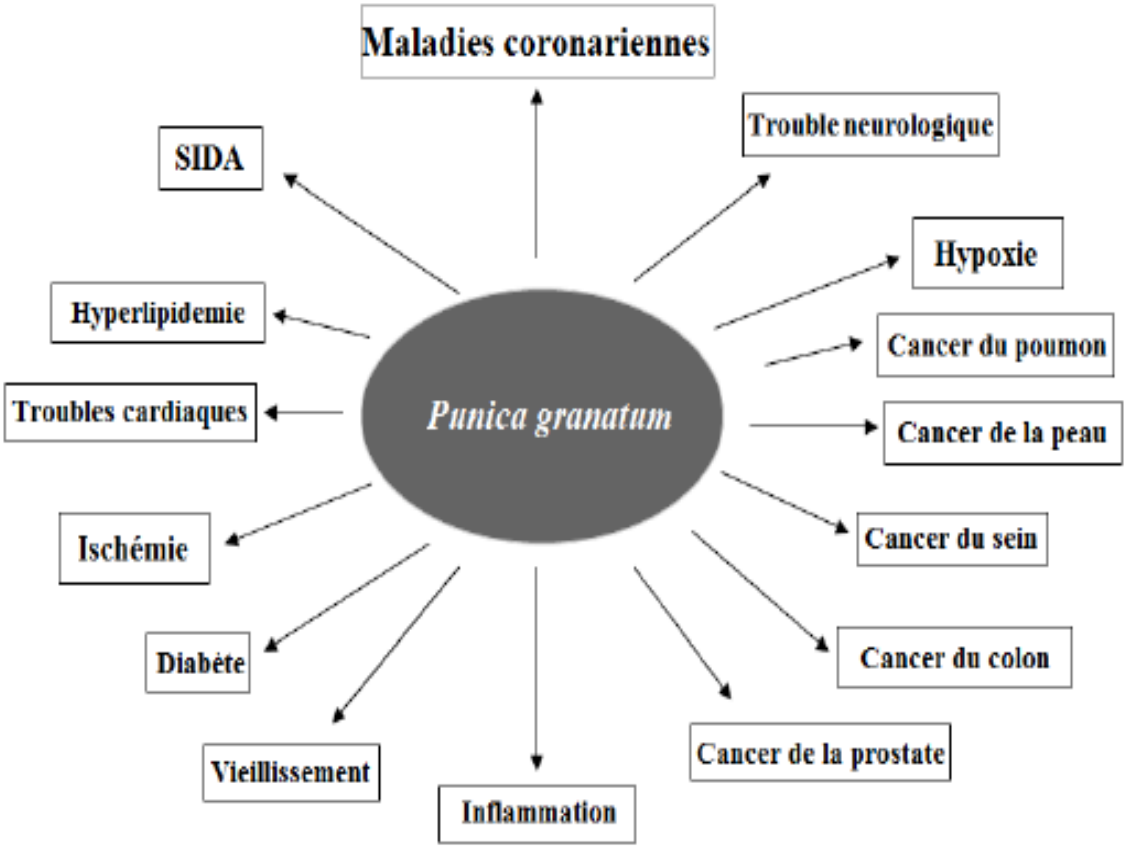


Figure.I.10. Propriétés thérapeutiques de grenadier

III. APPROCHE MICROBIOLOGIQUE POUR L'EVALUATION DES PROPRIETES ANTIMICROBIENNES DE GRENADE

III.1. Activités biologiques de l'extrait de l'écorce de grenade (Hydrolat)

L'écorce de grenade, utilisée pour extraire l'hydrolat, est riche en polyphénols, qui sont des composés bioactifs responsables de nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé. Parmi ces polyphénols, on trouve notamment :

2. Acides phénoliques

Les acides phénoliques, tels que l'acide ellagique et l'acide gallique, sont présents dans l'écorce de grenade et sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes. Ils jouent un rôle important dans la protection contre les dommages causés par les radicaux libres, aidant ainsi à prévenir le vieillissement prématuré et les maladies chroniques liées au stress oxydatif.

3. Acides cinnamiques

Les acides cinnamiques, comme l'acide caféique et l'acide p-coumarique, sont également présents dans l'écorce de grenade. Ils ont démontré des activités anti-inflammatoires et antioxydantes, contribuant ainsi à la réduction de l'inflammation et à la protection contre les maladies cardiovasculaires.

4. Flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent une classe importante de polyphénols présents dans l'écorce de grenade. Parmi eux, on trouve les flavonols, les anthocyanes et les tanins.

a) Flavonols :

Les flavonols, tels que la quercétine et la kaempférol, sont des antioxydants puissants qui peuvent aider à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs et à réduire le risque de maladies cardiovasculaires, de certains cancers et de troubles neurodégénératifs.

b) Anthocyanes :

Les anthocyanes donnent à la grenade sa couleur rouge caractéristique et ont démontré des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes. Ils peuvent aider à réduire le risque de maladies cardiovasculaires, à améliorer la santé cognitive et à protéger contre certains types de cancer.

c) Tanins :

Les tanins sont des composés phénoliques présents dans l'écorce de grenade qui ont montré des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Ils peuvent aider à protéger contre les infections, à réduire l'inflammation et à favoriser la santé digestive.

III.1.1. Activités antimicrobiennes de l'extrait d'écorce de grenade

III.1.1.1. Action antibactérienne

- **Perturbation de la membrane cellulaire**

Certains composés présents dans l'écorce de grenade, tels que les tanins, sont capables d'interagir avec les protéines et les lipides constituant la membrane cellulaire des bactéries. Par exemple, les tanins peuvent former des liaisons avec les protéines membranaires, provoquant des changements conformationnels et des altérations dans la structure membranaire. Cette perturbation de la membrane cellulaire peut entraîner une augmentation de la perméabilité membranaire, une fuite de composants cellulaires essentiels tels que les ions et les protéines, et finalement la mort cellulaire. Par exemple, des études ont montré que les tanins de l'écorce de grenade peuvent induire des lésions membranaires chez les bactéries Gram-positives telles que *Staphylococcus aureus* et les bactéries Gram-négatives telles qu'*Escherichia coli* [52].

- **Inhibition de la croissance cellulaire**

Certains polyphénols présents dans l'extrait d'écorce de grenade peuvent interférer avec les processus métaboliques des bactéries, entraînant ainsi une inhibition de leur croissance cellulaire. Par exemple, ces polyphénols peuvent inhiber sélectivement les enzymes impliquées dans la synthèse de l'ADN ou de l'ARN, ce qui entrave la réplication de l'ADN bactérien et la transcription de l'ARN messager nécessaire à la synthèse des protéines cellulaires. De plus, certains polyphénols peuvent perturber la fonction des enzymes cellulaires critiques, comme les enzymes impliquées dans la biosynthèse de la paroi cellulaire ou du métabolisme énergétique, ce qui compromet la viabilité et la croissance des bactéries. Par exemple, l'acide ellagique, un acide phénolique présent dans l'écorce de grenade, a été montré pour inhiber l'activité de certaines enzymes clés impliquées dans le métabolisme bactérien, entraînant ainsi une inhibition de la croissance bactérienne [52].

III.1.1.2. Activité antifongique

- **Altération de la membrane cellulaire**

Les composés bioactifs présents dans l'écorce de grenade ont la capacité de perturber la structure et la fonction de la membrane cellulaire des champignons. Par exemple, les tanins présents dans l'écorce de grenade peuvent interagir avec les composants de la membrane cellulaire fongique, tels que les protéines et les lipides, altérant ainsi leur intégrité et leur perméabilité. Cette interaction entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire, conduisant à une fuite de composants cellulaires essentiels tels que les ions et les métabolites. En fin de compte, cela peut entraîner une perturbation de l'homéostasie cellulaire et une perte d'intégrité cellulaire, conduisant à la mort cellulaire. Par exemple, des études ont montré que les tanins présents dans l'écorce de grenade peuvent induire des lésions membranaires chez des champignons pathogènes tels que *Candida albicans* et *Aspergillus spp* [52].

- **Inhibition de la croissance fongique**

Certains polyphénols et tanins présents dans l'écorce de grenade ont la capacité d'inhiber spécifiquement les enzymes essentielles impliquées dans la biosynthèse des parois cellulaires des champignons. Par exemple, ces composés peuvent cibler des enzymes clés impliquées dans la synthèse des composants structuraux des parois cellulaires, tels que la chitine et la glucane. En inhibant cette biosynthèse, ces composés affaiblissent la capacité des champignons à développer et à maintenir une paroi cellulaire intacte, compromettant ainsi leur intégrité structurale et leur capacité à se propager. Par exemple, des études ont montré que certains polyphénols présents dans l'écorce de grenade peuvent inhiber l'activité de la chitinase, une enzyme impliquée dans la synthèse de la chitine, chez les champignons pathogènes, réduisant ainsi leur capacité à se développer et à se propager. [52].

III.1.1.3. Activité antivirale

- **Inhibition de l'entrée virale**

Certains extraits d'écorce de grenade ont démontré leur capacité à inhiber l'entrée des virus dans les cellules hôtes en bloquant les interactions entre les protéines virales et les récepteurs cellulaires. Par exemple, des études ont montré que certains composés présents dans l'écorce de grenade peuvent interférer avec la liaison des protéines de surface virales aux récepteurs cellulaires spécifiques nécessaires à l'entrée virale. Cette interférence empêche le virus de pénétrer dans la cellule hôte et de commencer le processus de réplication virale. Par exemple, l'acide ellagique, un composé présent dans l'écorce de grenade, a été montré pour inhiber

l'entrée du virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1) en bloquant l'interaction entre la glycoprotéine virale et les récepteurs cellulaires [52].

- **Inactivation virale**

Certains composés bioactifs présents dans l'écorce de grenade peuvent agir directement sur la capside virale ou sur l'enveloppe virale, perturbant leur structure et leur fonction, ce qui entraîne une inactivation virale. Par exemple, des études ont montré que certains polyphénols présents dans l'écorce de grenade peuvent interagir avec la capside virale ou l'enveloppe virale, provoquant des modifications conformationnelles ou des altérations de la structure qui rendent le virus non infectieux. Ces composés peuvent également perturber les interactions entre les protéines virales et les acides nucléiques, bloquant ainsi la réplication virale. Par exemple, des études in vitro ont montré que l'extrait d'écorce de grenade peut inactiver efficacement le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) en perturbant l'enveloppe virale et en inhibant la fusion virale avec les cellules hôtes [52].

III.2. Etudes anterieuressur l'activité antimicrobienne d'écorce de grenade

Selon Machado et *al.* (2003), les ellagitanins isolés dans la grenade ont montré une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*méthicilline-résistant et méthicilline-sensible, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 62.5 µg/ml [53].

Les fractions de l'acide ellagique, de l'acide gallagique, des punicallines, et des punicalagines extraits à partir de la grenade ont révélé une activité antimicrobienne contre *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* méthicilline-résistant, et d'autres bactéries nocives (Reddy et *al.*, 2007) [54].

Braga et *al.* (2005) ont évalué l'effet de l'extrait méthanolique de fruit entier de grenade sur *S. aureus* et la production ultérieure de l'entérotoxine. Ils ont suggéré que les extraits de grenade ont pu être considérés comme une thérapeutique antibactérienne potentielle avec la capacité additionnelle d'inhiber la production d'entérotoxine. Ils ont ajouté que les propriétés antibiotiquesde l'extrait sont d'un intérêt extrême à la suite de la menace croissante des souches bactériennes développant une résistance aux antibiotiques conventionnels [55].

Endo et *al.* (2010) ont suggéré que la punicalagine isolé des peaux de grenade possède une forte activité contre *candida albicans*et *candida parapsilosis*de même la combinaison du punicalagine et du fluconazole a montré une action synergique très efficace [56].

Al-Zoreky (2009) a montré que l'extrait méthanolique 80% des peaux de grenade était un inhibiteur efficace contre *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* et *Yersinia enterocolitica* [57].

IV. Conclusion

Punica granatum est une plante aux multiples facettes, offrant non seulement des délices culinaires mais aussi des bienfaits thérapeutiques substantiels. Sa richesse en composés bénéfiques et ses applications variées en font une plante d'une importance considérable dans les domaines de la nutrition, de la santé et de la médecine. L'appréciation croissante de ses propriétés pourrait encore accentuer son utilisation et sa valorisation à l'échelle mondiale.

Chapitre II :
Matériel et Méthodes

II .1. INTRODUCTION

Ce chapitre expose en détail les produits, matériels et méthodes utilisés pour réaliser notre projet, mené conjointement au laboratoire de biologie de la faculté des sciences de l'université de Médéa et au laboratoire de Saidal à Médéa.

Une étude photochimique des espèces végétales commence par la récolte de la plante, suivie de son séchage et de sa conservation. Ensuite, la matière végétale est préparée, broyée et/ou extraite.

Nous décrivons également en profondeur la fabrication et la caractérisation des gels à base d'hydrolat de l'écorce de *Punica Granatum L*, en utilisant diverses méthodes physico-chimiques et rhéologiques.

Enfin, nous présentons une analyse détaillée des propriétés de l'activité antimicrobienne.

II .2.Appareillage et produits

II.2.1. Appareillage

L'ensemble des équipements utilisés dans cette présente étude sont cités dans le tableau II.1.

Tableau II.1. Différents appareils utilisés.

Appareils	Marque
Etuve	Binder BD23
Balance	Scout ohaus.
Broyeur	Minpress PR02
Évaporateur rotatif	Stuart
Viscosimètre	PCE RVI2
Autoclave	LPLS-200LD
Bain-marie	Memmert WTB
pH-mètre	Milwaukee.
Réfrigérant	LG
Spectrophotomètre UV-vis	Perkin Elmer
Bec Benzène	

II.2.2. Produits chimiques et microbiologiques

Les réactifs utilisés lors de cette étude sont purs, de grade analytique, conservés à l'abri de la chaleur et de la lumière (Tableau II.2).

II.2.2.1. Bio polymère

- **Gomme xanthane**

Les caractéristiques du polysaccharide utilisé dans cette étude sont résumées sur le tableau II.2.

Tableau II.2. Propriétés physico-chimiques de la gomme Xanthane**.**

Aspect	Poudre blanche ou blanc-jaune, à écoulement Fluide.
Solubilité	Soluble dans l'eau en donnant une solution Fortement visqueuse, pratiquement insoluble dans les solvants organiques.
pH	6,0 à 8,0
Synonymes	E415, Keltrol

- **Hydroxypropylméthyl cellulose**

L'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) est une cellulose partiellement O-méthylée et O-(2-hydroxypropylée). On la trouve sous forme pulvérulente ou sous forme de granulés blancs, blanc-jaune ou blanc-gris, hygroscopiques après dessiccation. Pratiquement insoluble dans l'eau chaude, dans l'acétone, dans l'éthanol anhydre et dans le toluène, l'hypromellose se dissout dans l'eau froide en donnant une solution colloïdale. L'HPMC est préparée par éthérification à partir d'une forme purifiée de l'alpha cellulose issue de la pulpe de bois rendue réactive par un traitement à la soude caustique qui conduit à une cellulose alcaline réactive ; cette dernière en présence du chlorométhane et l'oxyde de propylène à température élevée sera convertie en HPMC. L'HPMC utilisée a été fournie par l'entreprise Orkila (Algérie).

Tableau II.3. Produits utilisés

Produits
Glycérine
Sucrette 'stevia'.
Eau physiologie
Arome de grenade.

Le milieu de culture utilisée lors l'étude de l'activité antimicrobienne est le Mueller Hinton dont la composition chimique est regroupée dans le **Tableau II.4**.

Tableau II.4. Composition qualitative et quantitative du milieu Mueller Hinton.

Ingrédients	Composition (g/L)
Peptone	17,50
Extrait de viande	2,00
Amidon	1,50
Agar	17,00
pH final à 25°C	7,3 ± 0,1
Eau distillée	QSP

II.2.3. Matières premières

II .2.3.1. Matériel végétal biologique

La grenade, fruit du grenadier (*Punica granatum L*), constitue le sujet central de notre étude. Nous avons spécifiquement sélectionné la variété Lehlou (sweet) (Figure II.1.), récoltée dans la région de Médéa (Ben Chicao).

La région de Médéa, réputée pour son climat favorable à la culture des fruits, offre des conditions optimales pour la croissance et le développement de la grenade. La proximité de Ben Chicao avec la Méditerranée assure également une influence climatique bénéfique, favorisant la maturation et la qualité des fruits.



Figure II.1 : Plante utilisée dans cette étude (grenade)

II .2.3.2.Méthodes et principes

II.2.3.2.1. Récolte de la matière végétale

Le matériau végétal utilisé dans le cadre de cette étude comprend les fruits de grenade, qui ont été récoltés dans les régions de la wilaya de Médéa au mois d'octobre. Pour les besoins spécifiques de notre étude.

II.2.3.2.2.Séchage

Les écorces de grenade ont été soigneusement séchées à l'abri de la chaleur, dans un endroit bien ventilé et à l'ombre. Elles été séchées dans un étuve ventilée à 40˚C (Figure II.2). Cette étape est cruciale pour éliminer l'excès d'humidité et garantir la conservation des propriétés des écorces.



Figure II.2: Ecorce de grenade séchée

II.2.3.2.3.Broyage

À l'aide d'un broyeur adapté, les écorces de grenade ont été réduites en poudre fine, comme illustré dans la Figure II.3. Ce processus de broyage a été réalisé avec précaution afin d'obtenir une texture homogène et une granulométrie adaptée à nos besoins de recherche.



Figure II.3. Broyat obtenus à partir des écorces de grenade.

II.2.3.2.4. Conservation

Une fois obtenue, la poudre d'écorce de grenade a été soigneusement placée dans des sachets hermétiques afin de garantir son intégrité et sa protection contre l'humidité, la lumière et toute contamination extérieure.

II .2.3.3. Extraction d'hydrolat de grenade

L'extraction d'hydrolat de grenade commence par la préparation minutieuse des écorces de grenade fraîches, qui sont ensuite broyées pour obtenir une texture fine et homogène. À l'aide d'une balance de précision, 150g de poudre d'écorce et mélangés avec le double de poids en eau distillée, dans un bécher en verre. Cette solution est ensuite transférée dans un ballon de distillation et placée dans un montage d'hydrodistillation, où elle est soumise à une évaporation sous vide à une température constante de 70°C et à une vitesse de rotation de 160 tours par minute pendant 60 minutes. Après refroidissement, la masse du ballon est mesurée pour évaluer la quantité d'extrait d'hydrolat récupérée, qui est ensuite soigneusement transférée dans un flacon stérile préalablement stérilisé à l'autoclave. Une fois le flacon hermétiquement fermé, l'hydrolat de grenade est stocké dans des conditions optimales, à l'abri de la lumière et de l'humidité,

II .2.3.4.Formulation des gels buvables à base d'hydrolat de grenade.

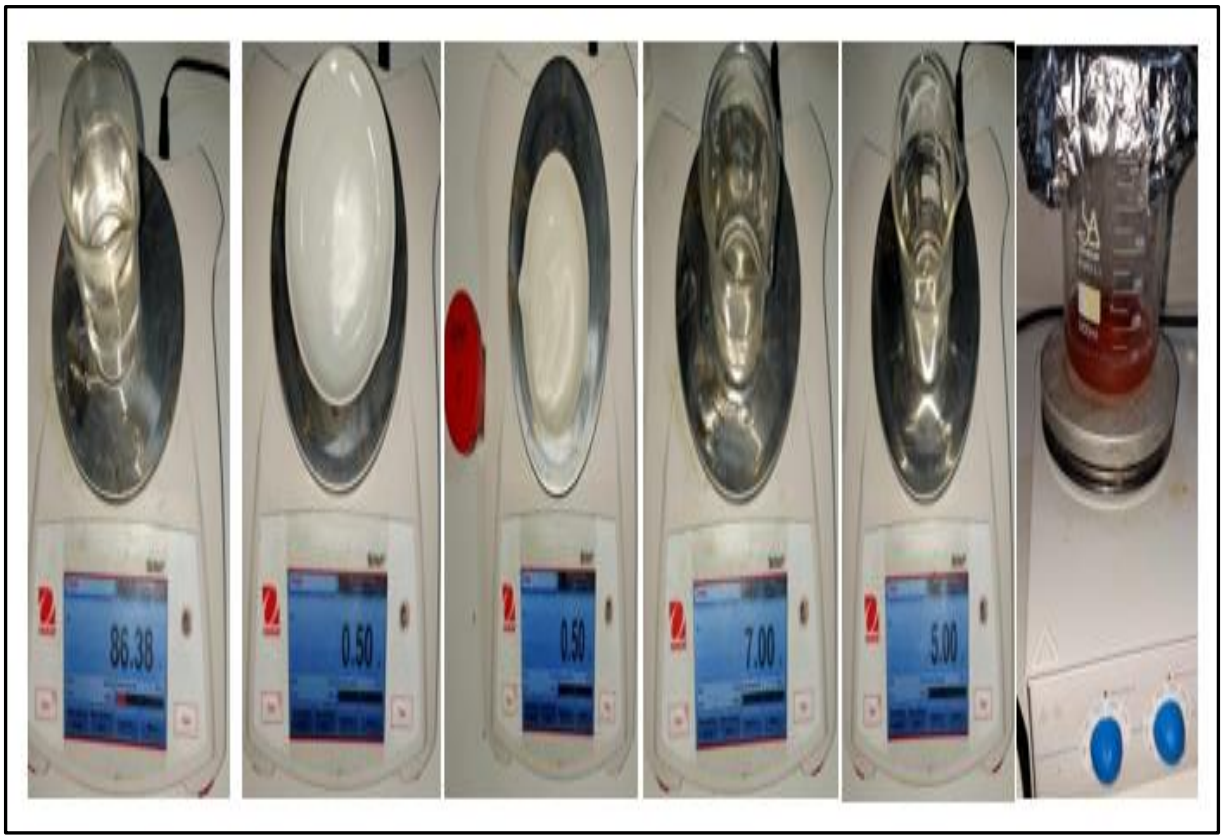
La formulation des gels à base de base d'hydrolat de grenade en seule étape.

Tableau II.5 : Matrice de formulation des gels buvables à base d'hydrolat de grenade

Composition (%, p/p)	F1	F2	F3	F4	F5
Hydrolat de Grenade	5	15	20	25	30
GX%	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
HPMC%	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Glycérine	7	7	7	7	7
Sucrette (stevia)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Arome	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Eau distillé (QSP)	86.4	76.4	71.4	66.4	61.4

II .2.3.4.1. Procédure de préparation

Le gel a été préparé par dispersion de 0,5 % (p/p) de gomme de xanthane (GX) avec 0,5 % d'HPMC dans l'eau distillée (qsp), portée à 35°C sous agitation magnétique pendant une heure jusqu'à l'obtention d'une solution homogène. Par la suite, 7 % de glycérine ont été ajoutés, suivis de 0,5 % de sucrette, puis enfin la quantité d'hydrolat de grenade, à laquelle 0,1g d'arôme de grenade ont été ajoutés. Cette séquence d'ajouts est essentielle pour assurer une distribution uniforme des ingrédients et pour obtenir une formulation cohérente. Une fois tous les composants ajoutés, le mélange est laissé dans l'agitateur pendant un certain temps jusqu'à ce qu'il atteigne une texture lisse et homogène, formant une gelée. Cette étape est cruciale pour garantir la formation d'une texture cohérente et pour assurer l'efficacité et la stabilité du produit final.



.

Figure II.4. Les étapes de formulation d'un gel buvables.



Figure II.5. Gels à base d'hydrolat de grenade.

II.2.3.5. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES GELS A BASE D'HYDROLAT DE GRENADE

II.2.3.5.1. Caractère organoleptique (sensoriel)

L'analyse sensorielle descriptive permet de décrire qualitativement et quantitativement les produits de manière objective, afin d'établir leur profil sensoriel. L'objectif de la caractérisation sensorielle est de décrire, avec un minimum de mots et un maximum d'efficacité, le produit à analyser, de manière à lui donner une carte d' identité précise, reproductible et compréhensible. L'analyse sensorielle du gel buvable a porté sur plusieurs aspects clés, notamment l'arôme, la couleur, la texture et le goût.

II.2.3.5.2. Analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR)

Le principe fondamental de la spectroscopie infrarouge (IR) réside dans l'interaction des molécules avec la lumière dans la région de l'infrarouge du spectre électromagnétique, où elles absorbent et convertissent cette lumière en vibrations moléculaires. Cette absorption est spécifique aux liaisons moléculaires présentes dans le matériau analysé. À l'aide d'un spectromètre (**Figure II.8**), cette absorption de rayonnement infrarouge par l'échantillon est mesurée en fonction de la longueur d'onde, généralement exprimée en nombres d'onde et s'étendant typiquement de 4000 à 500 cm-1. Le résultat obtenu est un spectre qui fournit une "empreinte chimique" distinctive, permettant la visualisation et l'identification des échantillons organiques et inorganiques.

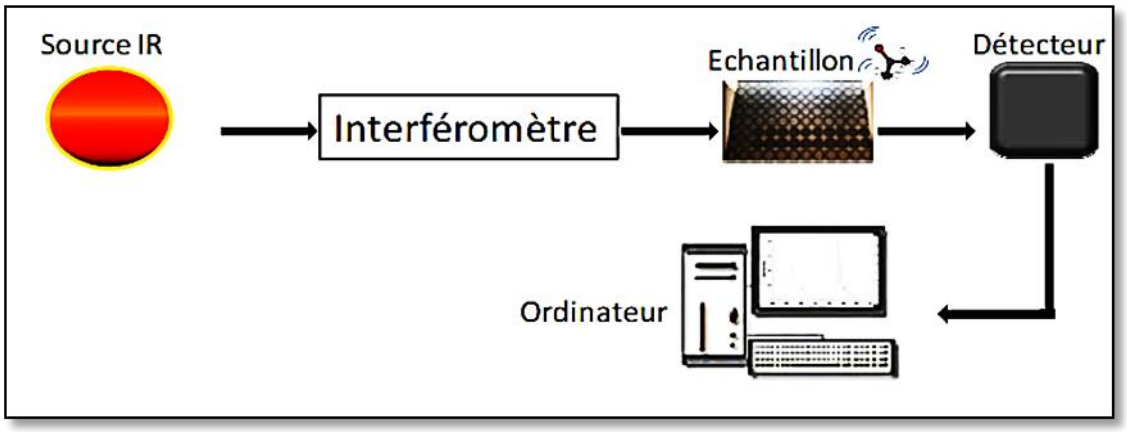


Figure II.6. Schéma représentant le principe d'un spectromètre IR.

Mode opératoire :

La poudre des écorces de grenade a été examinée à l'aide d'un Spectrophotomètre Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR), et les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés sur une plage de nombres d'onde allant de 500 à 4000 cm^{-1}.

II.2.3.5.3. Taux d'humidité

La mesure de l'humidité, également connue sous le nom de mesure de l'eau, est l'une des analyses les plus couramment effectuées dans les laboratoires du monde entier. Cette pratique est largement répandue en raison de l'importance cruciale de la teneur en eau dans de nombreux produits, influençant leur qualité, leur aptitude au traitement, ainsi que leur conservation et leur stabilité. Pour évaluer la teneur en eau de la poudre d'écorce de grenade, une méthode de séchage à l'étuve à 103°C pendant 2 heures a été employée.

Mode opératoire :

- On pèse une quantité de 2 g de la poudre de grenade.
- La teneur en eau est déterminée par séchage à l'étuve à 103° C, pendant 2 heures.
- Après 2h, l'échantillon est retiré de l'étuve et mis dans un dessiccateur pendant 30 min.
- On pèse le poids final de la poudre de CC après séchage.
- Le taux d'humidité (H%) est déterminé en utilisant la formule (Eq.II.1)

Le taux d'humidité est évalué selon la formule (Eq.II.1) suivante :

$$\mathbf{H\%} = \frac{m1-m2}{m1} \times 100 \qquad \textbf{(Eq.II.1)}$$

Avec

m1 : masse de l'échantillon avant dessiccation (g)

m2 : masse de l'échantillon après dessiccation (g)

H% : Teneur en eau

II.2.3.5.4.Analyse du pH

Le potentiel d'hydrogène noté pH est défini par la mesure de l'état acido-basique d'une solution contenant des ions oxonium [H_3O^+]. Il est lié à la concentration de ces derniers par la relation suivante :

$$pH = - \log [H_3O^+]$$

[H_3O^+] est exprimé en mol.L^{-1} et le « log » désigne le logarithme décimal.

Mode opératoire :

a) Solution de 1%:

- Une prise d'essai de 1g de la poudre d'écorce de grenade est soigneusement pesée et placée dans une fiole, puis compléter à 100ml avec de l'eau distillé.
- La fiole est placée sous agitation magnétique pendant 1h.
- La solution obtenue est filtrée sur un filtre en papier (0.45 μ m).
- Le pH de la solution filtrée est mesuré à l'aide d'un pH mètre (HANNA).

b) Solution de 0.1% :

- Une prise d' essai de 1g de la poudre d'écorce de grenade est soigneusement pesée et placée dans une fiole, puis compléter à 100ml avec de l'eau distillé.
- La fiole est placée sous agitation magnétique pendant 1h.
- La solution obtenue est filtrée sur un filtre en papier (0.45µm).
- Le pH de la solution filtrée est mesuré à l'aide d'un pH mètre.

II.2.3.5.5. Caractérisation de gel à base d'hydrolat d'écorce de grenade

La caractérisation d'un gel à base d'hydrolat d'écorce de grenade constitue une étape cruciale dans l'évaluation de ses propriétés et de son potentiel d'application. Cette étude vise à évaluer les propriétés physico-chimiques, la stabilité et les caractéristiques organoleptiques de ce gel, ainsi que son adaptabilité à différents domaines d'application.

II.2.3.5.5.1. Aspect macroscopique et propriétés organoleptiques

Les caractéristiques macroscopiques des gels ont été évaluées dès leur préparation et jusqu'à 30 jours après, en effectuant un contrôle visuel approfondi. Cette évaluation a porté sur des aspects tels que l'aspect général, la couleur, l'homogénéité et l'odeur. En analysant ces propriétés organoleptiques, nous avons pu observer toute évolution potentielle dans la qualité et la stabilité des gels au fil du temps, fournissant ainsi des indications précieuses sur leur durabilité et leur aptitude à être utilisés dans diverses applications.

II.2.3.5.5.2. Analyse du pH des gels formulés

Le pH des gels buvables à base d'hydrolat d'écorce de grenade a été déterminé à l'aide d'un pH-mètre. Cette mesure a été réalisée immédiatement après la préparation du gel et à intervalles réguliers tout au long de l'étude. Le pH est une caractéristique importante car il peut influencer la stabilité du produit, son goût et son effet sur l'organisme. En surveillant attentivement le pH du gel au fil du temps, il est possible d'assurer sa conformité aux normes de qualité et sa sécurité pour une consommation humaine.

II.2.3.5.5.3. La Viscosité

La viscosité des gels buvables à base d'hydrolat d'écorce de grenade a été déterminée à l'aide d'un viscosimètre approprié. Les mesures de viscosité apparente en fonction de la vitesse de rotation ont été effectuées pour les gels préparés à différentes vitesses de rotation (6, 12, 30 et 60 tr/min) en utilisant le mobile SP.5. La viscosité est une propriété cruciale à évaluer car elle influe sur la texture, la sensation en bouche et la facilité d'administration du produit. En surveillant de près la viscosité du gel, nous pouvons appréhender son comportement dans diverses conditions de stockage et envisager des optimisations afin de répondre aux besoins spécifiques des utilisateurs.

II.2.3.6. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DU GEL A BASE D'ECORCE DE GRENADE

- **Choix des Microorganismes à Tester**

L'estomac, en tant qu'organe crucial du système digestif, est sujet à diverses affections, comprenant des inflammations, des ulcères gastriques et duodénaux, des saignements digestifs hauts, ainsi que d'autres maladies. Parmi les multiples étiologies impliquées dans ces affections, les infections bactériennes jouent un rôle significatif.

Parmi les bactéries pathogènes potentielles, trois souches ont été sélectionnées pour évaluer leur sensibilité aux agents antimicrobiens : deux souches de référence, Escherichia coli et Staphylococcus aureus, ainsi qu'une souche isolée en milieu hospitalier, Klebsiella oxytoca.

❖ ***Escherichia coli (E. coli*) (ATCC 8739)**

Cette bactérie, présente dans le tractus gastro-intestinal humain, peut devenir pathogène et causer des infections, notamment des infections urinaires, des infections intestinales et des infections sanguines.

Tableau II.6. Classification du germe *Escherichia Coli*.

Règne	*Bacteria*
Embranchement	*Proteobacteria*
Classe	*Gamma Proteobacteria*
Ordre	*Enterobacteriales*
Famille	*Enterobacteriaceae*
Genre	*Escherichia*
Nom binominal	*Escherichia coli*

❖ ***Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)**

S. aureus est une bactérie à Gram positif, souvent présente sur la peau et les muqueuses. Elle est responsable d'une gamme d'infections, allant des infections

cutanées mineures aux infections potentiellement mortelles, telles que la pneumonie et la septicémie.

Tableau II.7. Classification du germe *Staphylococus aureus*.

Règne	*Bacteria*
Division	*Firmicutes*
Classe	*Bacilli*
Ordre	*Bacillales*
Famille	*Staphylococcaceae*
Genre	*Staphylococcus*
Nom binominal	*Staphylococcus aureus*

❖ ***Klebsiella oxytoca***

Cette bactérie Gram-négative peut causer des infections opportunistes chez les patients immunodéprimés ou présentant des comorbidités. Elle est associée à diverses infections, notamment les infections urinaires, les infections respiratoires et les infections intra-abdominales.

Tableau II.8. Classification du germe *Klebsiella oxytoca*

Règne	*Bacteria*
Division	*Proteobacteria*
Classe	*Gammaproteobacteria*
Ordre	*Enterobacterales*
Famille	*Enterobacteriaceae*
Genre	*Klebsiella*
Nom binominal	*Klebsiellaoxytoca*

Le choix de ces souches bactériennes repose sur leur importance clinique et leur capacité à causer des infections gastro-intestinales graves. Cette sélection permettra d'évaluer l'efficacité potentielle du gel à base d'écorce de grenade dans le contrôle de la croissance de ces microorganismes pathogènes dans le contexte spécifique des affections gastro-intestinales.

Les tests de sensibilité et résistance antimicrobienne ont été effectués selon la méthode de diffusion sur milieu solide [58].

Le principe de l'activité antimicrobienne des gels à base d'hydrolat de grenade consiste à réaliser une culture microbienne sur milieu Muller- Hinton (MH), en présence de disques imbibés dans le gel. Si ces derniers ont une activité antimicrobienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque.

L'opération consiste à déterminer le diamètre d'inhibition des souches bactériennes: *Staphylococus aureus* et *Escherichia Coli et Klebsiella oxytoca).*

Des disques, sont imbibés dans les gels (F1, F2, F3, F4 et F5) dont on veut vérifier l'éventuelle apparition d'une activité antimicrobienne. Les disques sont placé dans une boite de Pétri contenant le milieu de culture et une souche bactérienne spécifique (*Staphylococus aureus, Escherichia Coli ou Klebsiella oxytoca).*

- ***Préparation de l'inoculum***

Chaque souche est préalablement ensemencée sur une gélose nutritive et incubée à 37°C pendant 24 heures pour obtenir une culture jeune. Ensuite, des suspensions microbiennes sont réalisées en prélevant 3 à 5 colonies jeunes, bien isolées et identiques. Elles sont ensuite plongées dans 5 ml d'eau physiologique stérile, puis agitées au vortex afin d'obtenir une turbidité cellulaire (de 10^6 à 10^8 UFC/ml) correspondant à une densité optique (DO) entre 0,08 et 0,12, mesurée à 625 nm.

- ***Préparation des milieux de culture***

La gélose de Müller-Hinton, un milieu spécifique pour la réalisation de l'antibiogramme chez les bactéries, prêt à l'emploi, est coulée en une quantité équivalente à 18 ml dans des boîtes de Pétri stériles. Les boîtes sont ensuite laissées entrouvertes devant la flamme jusqu'à ce qu'elles soient complètement solidifiées avant leur utilisation.

- ***Ensemencement par écouvillonnage***

Un écouvillon stérile, imprégné et agité dans la suspension bactérienne préalablement préparée, est essoré contre la paroi du tube à essai. L'ensemencement implique l'étalement par écouvillonnage d'un milieu Müller-Hinton. L'écouvillon doit être passé 2 à 3 fois sur toute la surface pour obtenir un ensemencement uniforme et une culture abondante. Les boîtes doivent être laissées à sécher pendant 10 minutes avant de placer les disques.

- ***Préparation des disques***

Des disques stériles en papier filtre de type Wattman N°1, d'un diamètre de 6 mm, sont délicatement déposés à l'aide d'une pince stérile sur la boîte ensemencée. Les disques sont préalablement imprégnés de 10 µl de chaque gel buvable à base d'hydrolat de grenade à la surface de la gélose Müller-Hinton. Les boîtes de Pétri sont ensuite placées à basse température (+4°C) pendant 2 heures pour permettre aux extraits de se diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier. Ensuite, les boîtes sont retirées du réfrigérateur et placées dans une étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C), pendant 24 heures.

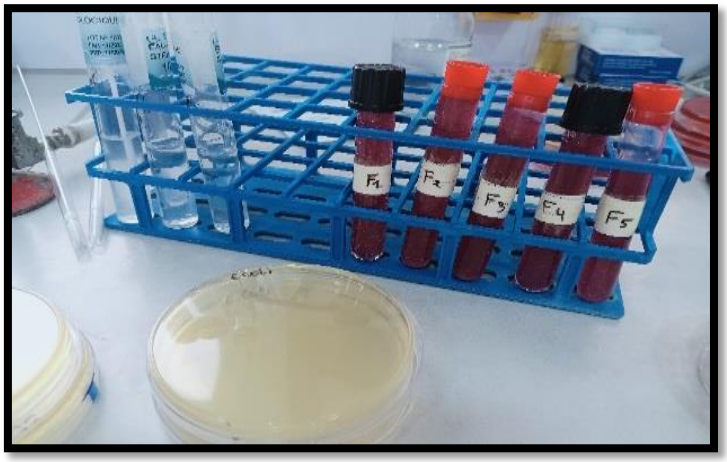


Figure II.7. Ensemencement par écouvillonnage de la suspension bactérienne

- ***Lecture des résultats***

Après 24 heures d'incubation, le diamètre de la zone d'inhibition des bactéries autour des disques est mesuré à l'aide d'une règle graduée. Le diamètre (en mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe à l'extrait végétal testé.

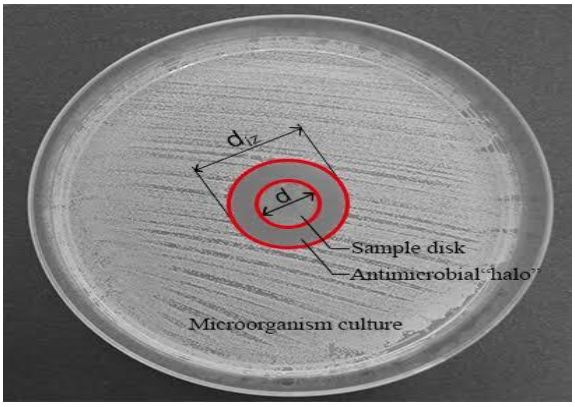


Figure II.8. Zone d'inhibition

Conclusion

En somme, ce chapitre offre un aperçu détaillé des méthodes, équipements et produits utilisés dans notre étude. Nous avons exploré en profondeur les différentes étapes, de la récolte des matières végétales à la caractérisation des gels à base d'hydrolat de grenade, en passant par l'étude de leur activité antimicrobienne. Ces recherches ouvrent la voie à de nouvelles perspectives dans le domaine de la médecine et de la pharmacologie, en offrant des solutions potentielles pour lutter contre les infections microbiennes.

Chapitre III :
Résultats et disscussion

III.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous examinerons attentivement les résultats obtenus lors de notre étude sur l'écorce de *Punica granatum L*. Nous analyserons ces résultats à la lumière des objectifs de notre recherche et les interpréterons en discutant de leur signification et de leurs implications. Nous présenterons les principaux résultats obtenus pour chaque paramètre étudié. Tout d'abord, nous détaillerons la composition chimique de l'écorce, en identifiant les principaux composés bioactifs. Ensuite, nous décrirons les formulations des gels à base d'hydrolat d'écorce de *Punica granatum L*. En outre, nous discuterons des propriétés physico-chimiques des gels, telles que la texture, la viscosité et le pH, et nous analyserons leur activité antimicrobienne contre diverses souches bactériennes.

III.2. Prétraitement de l'extrait végétal

III.2.1. Séchage d'écorce de *Punica granatum L*

Le séchage de l'écorce de *Punica granatum* L. avait pour objectif d'éliminer l'humidité résiduelle afin d'obtenir un produit sec et stable. Ce processus a révélé des informations cruciales sur les caractéristiques physiques de l'écorce. En utilisant une méthode spécifique de séchage, les échantillons ont été placés dans un environnement contrôlé, où la chaleur et la circulation de l'air étaient optimisées pour favoriser l'évaporation de l'eau. Après un certain temps, nous avons mesuré le poids des échantillons pour évaluer la quantité d'eau éliminée, jusqu'à obtenir un poids constant.

Les résultats ont montré que le séchage a efficacement réduit l'humidité de l'écorce, avec une diminution significative du poids, indiquant une évaporation réussie de l'eau. Ce processus est essentiel pour garantir des écorces conservées dans des conditions optimales. L'intérêt de cette analyse est multiple : elle assure la qualité et l'efficacité des produits dérivés de l'écorce, notamment pour la fabrication d'un gel buvable à activité antimicrobienne.

Le séchage empêche la croissance de micro-organismes et la dégradation enzymatique, assurant ainsi un produit stable et durable. En éliminant l'humidité, les composés bioactifs de l'écorce sont concentrés, augmentant l'efficacité de l'hydrolat utilisé dans le gel buvable. De plus, l'analyse du séchage permet de comprendre les modifications physiques de l'écorce, comme la densité et la texture, influençant la manipulation et la formulation du gel. Optimiser les conditions de séchage garantit non seulement l'efficacité du processus, mais aussi la

préservation des propriétés antimicrobiennes de l'écorce, essentielles pour les applications thérapeutiques.

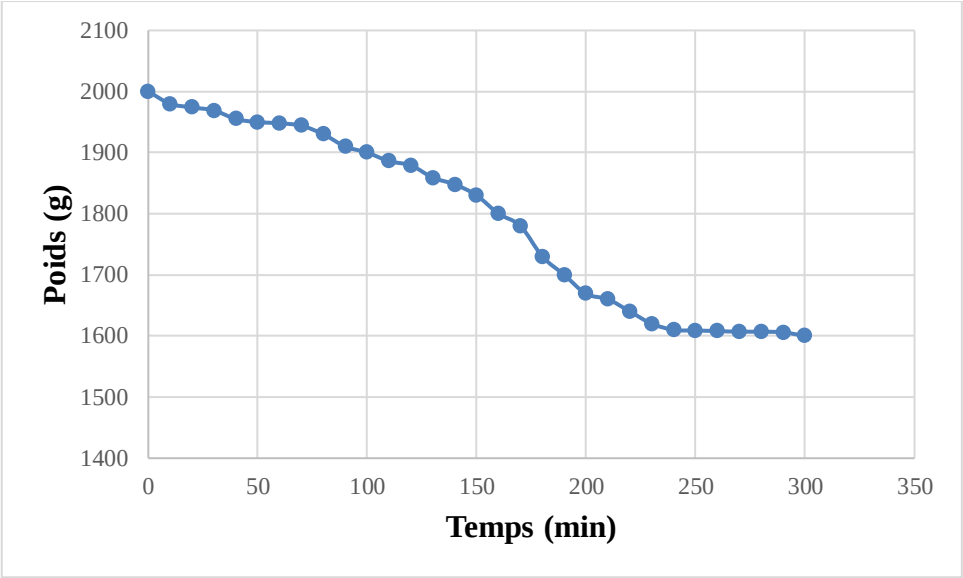


Figure III.1. Cinétique de séchage d'écorces de grenade

III.2.2. Broyage et tamisage d'écorce de *Punica granatum L*

Le broyage et le tamisage des écorces de *Punica granatum L*. revêt une importance cruciale pour plusieurs raisons. Tout d'abord, elle permet d'évaluer la granulométrie de la poudre obtenue, ce qui est essentiel pour déterminer son aptitude à l'extraction des composés bioactifs lors du processus d'hydrodistillation. En comprenant la distribution des particules dans différentes gammes de taille, il est possible d'anticiper les performances d'extraction et d'optimiser les paramètres du processus en conséquence. Les résultats de cette analyse indiquent une prédominance de particules dans les intervalles de 500 µm et 125 µm, ce qui est favorable pour assurer un bon contact entre le solvant et les composés bioactifs, augmentant ainsi l'efficacité de l'extraction. Cependant, la présence d'une proportion significative de fines (30 µm), représentant 33.3% du total, soulève des préoccupations quant à une éventuelle sur fragmentation lors du broyage, ce qui peut entraîner des défis lors de l'extraction, tels que des pertes de matière et des problèmes de filtration. Ainsi, l'optimisation du processus de broyage est indispensable pour obtenir une distribution granulométrique plus uniforme, minimisant ainsi les pertes de matière tout en maintenant une granulométrie propice à l'extraction. Ces ajustements pourraient inclure la réduction du temps de broyage ou l'utilisation de méthodes de broyage moins agressives. En résumé, cette analyse fournit des informations essentielles

pour optimiser le processus d'extraction des composés bioactifs de l'écorce de *Punica granatum L.*, contribuant ainsi à maximiser le rendement et la qualité des extraits obtenus.

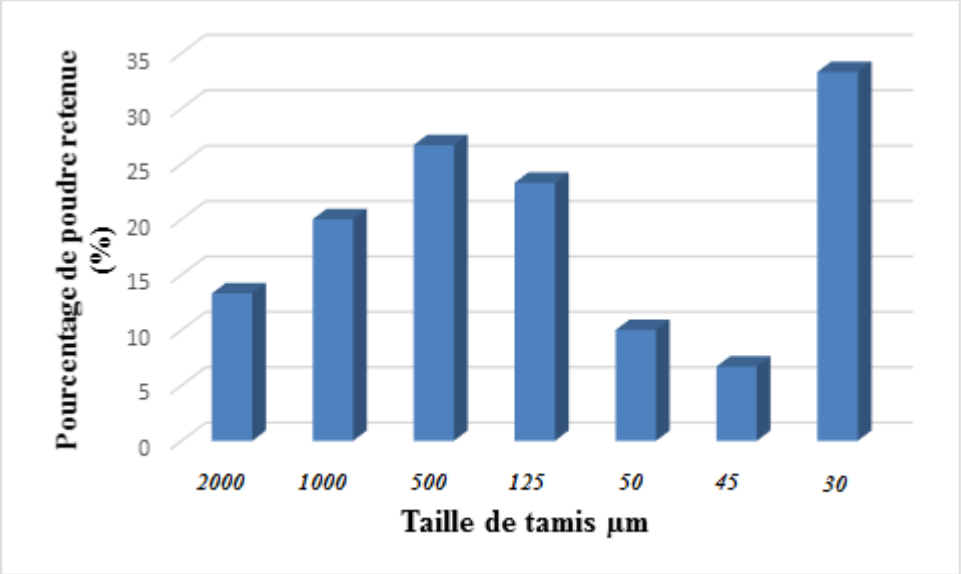


Figure III.2. Distribution de la Poudre de Grenade après Tamisage

III.3. Caractérisation de poudre d'écorce de grenade

Une caractérisation physico-chimique a été effectuée sur la poudre d'écorce de grenade afin de déterminer ses propriétés essentielles pour garantir sa qualité et son efficacité. Cette analyse est cruciale pour optimiser les processus de transformation et assurer la stabilité des produits dérivés, notamment l'hydrolat utilisé dans la formulation de gels buvables aux propriétés antimicrobiennes.

III.3.1.Caractère organoleptique (sensoriel)

Les caractéristiques organoleptiques de la poudre d'écorce de grenade sont cruciales pour évaluer sa qualité globale et son acceptabilité par les consommateurs. Visuellement, la poudre affiche une couleur brune uniforme. Olfactivement, elle exhale un arôme légèrement boisé et fruité. Son goût est astringent avec des nuances terreuses, tandis qu'au toucher, elle présente une texture fine et homogène. Ces attributs sensoriels sont essentiels pour garantir une bonne intégration dans les formulations cosmétiques et thérapeutiques, telles que les gels buvables antimicrobiens. Le tableau III.1 présente l'évaluation sensorielle de poudre d'écorce de grenade.

-La couleur de la croûte de fruits a toujours été un attribut important de la qualité de l'apparence, ce qui influence le comportement des consommateurs **(McGuire 1992)**, en particulier. [59].

Tableau III.1. Évaluation sensorielle de la poudre d'écorce de grenade

Paramètre	Description
Apparence	Couleur brune uniforme, Texture fine et homogène
Odeur	Arôme légèrement boisé et fruité
Gout	Astringent avec nuances terreuses

III.3.2. Analyse FTIR

Les spectres infrarouges de la poudre d'écorces de grenade, illustrés dans la figure III.3, révèlent des informations précieuses sur sa composition chimique. L'écorce de grenade renferme une variété de composés, dont certains peuvent être identifiés par spectroscopie infrarouge.

Le pic intense observé à 3425.69 cm^{-1} est caractéristique des vibrations de liaisons O-H des groupes hydroxyles présents dans les composés phénoliques, notamment l'acide ellagique, un composé bioactif majeur de l'écorce de grenade. De même, le pic à 2924.18 cm^{-1} correspond aux vibrations des liaisons C-H des groupes aliphatiques présents dans les lipides et les acides gras.

Un autre pic significatif à 1728.28 cm^{-1} est associé aux liaisons C=O des groupes carbonyles, suggérant la présence éventuelle d'acides gras ou d'esters dans l'écorce de grenade. Le pic à 1627.97 cm^{-1} est généralement observé dans les spectres infrarouges des composés phénoliques tels que les tanins et les flavonoïdes, abondants dans l'écorce de grenade, et est attribué aux vibrations des liaisons C=C dans les cycles aromatiques.

Enfin, le pic à 1064.74 cm^{-1} est associé aux liaisons C-O, fréquentes dans les sucres, les polysaccharides et les glycosides, indiquant la présence potentielle de glucides ou de composés apparentés dans l'écorce de grenade. Ces observations fournissent des indices précieux sur la composition chimique de la poudre d'écorce de grenade et sa diversité de composés bioactifs [60].

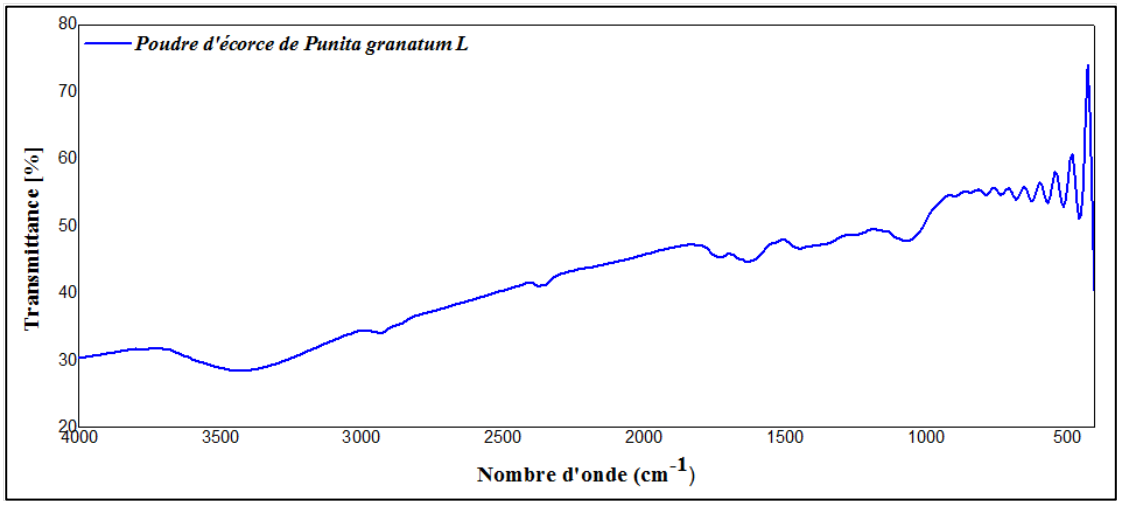


Figure III.3. Spectres FTIR de la poudre des d'écorce de grenade

III.3.3.Taux d'humidité

Le taux d'humidité, élément crucial dans l'analyse des matériaux organiques, joue un rôle déterminant dans divers domaines tels que les produits naturels et les extraits végétaux. Il représente la quantité d'eau contenue dans un échantillon et influence considérablement sa qualité, sa stabilité et ses performances dans différentes applications.

Pour évaluer le taux d'humidité, nous avons adopté une méthode de séchage à l'étuve à 102°C. Des échantillons de poudre d'écorce de grenade ont été sélectionnés et soumis à un processus de séchage contrôlé, éliminant ainsi l'humidité présente dans la poudre. Une fois le séchage terminé, le poids de la poudre a été mesuré pour calculer le taux d'humidité, en tenant compte de la différence de poids avant et après le processus de séchage.

Les résultats ont initialement révélé un taux d'humidité relativement élevé dans la poudre d'écorce de grenade, indiquant une rétention d'eau même après le prétraitement. Toutefois, après le processus de séchage, une diminution significative du taux d'humidité a été observée, témoignant d'une évaporation efficace de l'eau initialement présente dans la poudre, et aboutissant à un taux d'humidité final de 4,7%.Ce taux d'humidité de 4,7% est considéré comme relativement bas, suggérant que la poudre d'écorce de grenade a été correctement séchée et conditionnée pour préserver sa qualité. Cependant, il est essentiel de reconnaître que l'optimum en matière d'humidité peut varier selon l'application spécifique de la poudre. Ainsi, bien que ce résultat indique une qualité satisfaisante, il est impératif de surveiller et de réguler régulièrement ce paramètre pour garantir la qualité des produits finis.

En conclusion, le taux d'humidité de 4,7% souligne la qualité du processus de séchage de la poudre d'écorce de grenade et sa pertinence pour une gamme d'applications. Toutefois, cela met également en lumière l'importance de maintenir une surveillance attentive de ce paramètre pour assurer la qualité et la constance des produits finis.

III.3.4.Analyse du pH

L'évaluation du pH des solutions préparées à partir de la poudre d'écorce de grenade a été entreprise afin d'analyser l'impact de la concentration sur le pH de la solution. Les résultats ont révélé que la solution à 1% présentait un pH de 4,41, tandis que la solution à 0,1% affichait un pH de 5,9. Cette observation met en évidence l'influence significative de la concentration de la poudre d'écorce de grenade sur le pH de la solution. En effet, une concentration plus élevée de la poudre d'écorce de grenade entraîne une diminution du pH de la solution.

Cette variation du pH peut être attribuée à la présence de composés acides dans la poudre d'écorce, qui réagissent avec l'eau pour libérer des ions H+, induisant ainsi une baisse du pH de la solution aqueuse. Des études antérieures menées par Martinez et al. (2006) ont rapporté des plages de pH allant de 3,5 à 4,28 pour l'écorce de grenade, ce qui concorde avec nos observations [61]. De même, selon Shwartz et al. (2009), l'écorce de grenade renferme divers acides organiques, notamment l'acide citrique [62], ce qui pourrait contribuer à la baisse du pH de la solution.

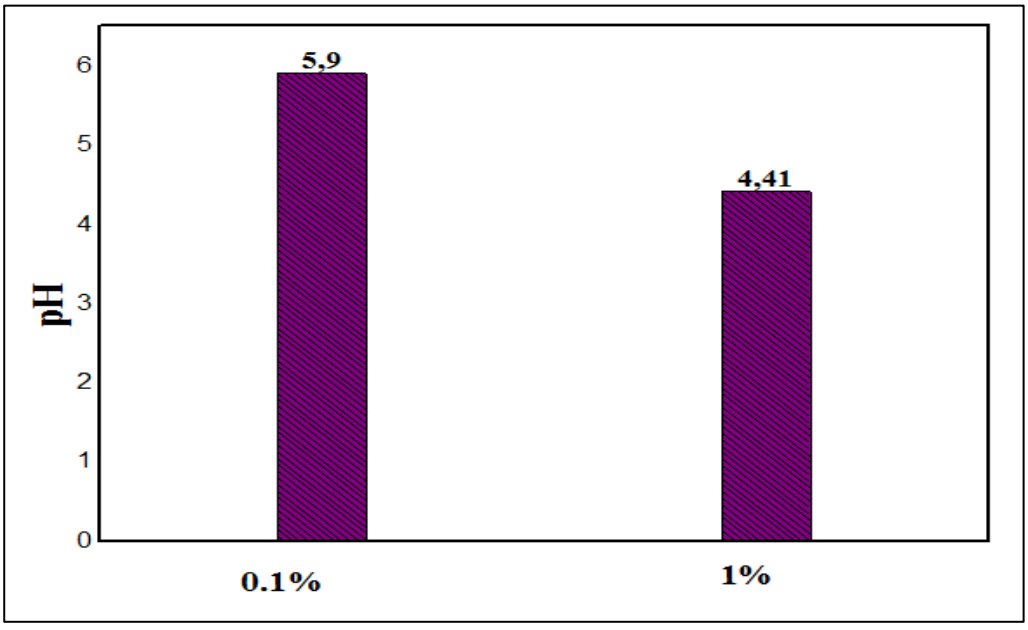


Figure III.4. pH de solutions à base d'écorce de grenade a 0.1 et 1%.

III.4. Formulation des gels à base d'hydrolat d'écorce de grenade

L'élaboration de gels buvables à partir d'hydrolat d'écorce de grenade représente une démarche innovante dans le domaine de la formulation de produits naturels à visée antimicrobienne. Cette approche combine les propriétés thérapeutiques reconnues de l'écorce de grenade avec les avantages des formulations buvables, offrant ainsi un moyen pratique et efficace de bénéficier des bienfaits de cette plante médicinale. En exploitant les propriétés antimicrobiennes de l'hydrolat d'écorce de grenade, cette formulation vise à proposer une solution naturelle et sûre pour renforcer le système immunitaire et lutter contre les infections.

III.4.1. Caractérisation physico-chimiques de gel à base d'hydrolat d'écorce de grenade

Dans cette section, nous explorons la caractérisation approfondie du gel à base d'hydrolat d'écorce de grenade, offrant un aperçu détaillé de ses propriétés physico-chimiques, de sa stabilité et de ses caractéristiques organoleptiques. Notre analyse met en lumière les résultats obtenus à travers une série d'études approfondies, visant à comprendre la composition et le comportement de ce gel. En examinant attentivement ces aspects, nous sommes en mesure de mieux appréhender le potentiel de ce produit innovant dans le domaine de la santé.

III.4.1.1. Aspect et propriétés organoleptiques

Après la préparation initiale, une analyse visuelle minutieuse des propriétés macroscopiques de chaque formulation de gel à base d'hydrolat d'écorce de grenade a été entreprise. Cette évaluation méticuleuse a permis de capturer les caractéristiques distinctives de chaque gel, offrant ainsi un aperçu détaillé de leur apparence et de leurs qualités sensorielles. Les résultats de cette évaluation sont présentés de manière concise et organisée dans le Tableau III.2



Figure III.5. Aspect macroscopique des gels à base d'hydrolat de grenade.

Tableau III.2. Caractéristiques Organoleptiques des Gels à Base d'Hydrolat d'Écorce de Grenade

Paramètre	Description
Aspect	Visqueuse, glutineuse.
Couleur	Le Rouge du grain de la grenade.
Gout	Sucré de grenade.
Odeur	Aromatique fraiches et fruitées du fruite du grenade.

III.4.1.2. pH des gels à base d'hydrolat de grenade

L'analyse du pH des gels buvables à base d'hydrolat de grenade fournit en effet des indications cruciales sur leur compatibilité avec le milieu physiologique et leur stabilité. Le pH, en tant que mesure de l'acidité ou de la basicité d'une solution, revêt une importance primordiale dans la formulation des produits buvables, influençant notamment leur goût, leur stabilité chimique et leur efficacité thérapeutique.

Les résultats de l'analyse de pH, indiquant que l'ensemble des formulations présentent un pH compris entre 6,9 et 7,2, sont cohérents avec une plage de neutralité. Cette observation suggère que les gels buvables sont bien équilibrés en termes d'acidité et de basicité, ce qui peut favoriser leur tolérance par le système gastro-intestinal.

En effet, l'estomac est l'organe initial où les produits administrés par voie orale entrent en contact avec les liquides gastro-intestinaux. Sa forte acidité est cruciale pour la digestion et la

désinfection des aliments ingérés. Cependant, pour certains médicaments, une acidité excessive peut compromettre leur efficacité et leur sécurité lorsqu'ils sont administrés par voie orale. Ainsi, des produits ayant un pH neutre, comme observé dans nos résultats, peuvent être plus favorables car ils sont moins susceptibles d'être affectés par l'acidité gastrique.

De plus, il est important de noter que le pH dans le tractus gastro-intestinal varie le long du tube digestif, avec un pH légèrement acide dans l'intestin. Cette variation du pH peut influencer l'absorption et l'efficacité des médicaments administrés par voie orale. Alors les gels buvables présentant un pH neutre peuvent être mieux adaptés pour garantir une absorption optimale des composés actifs tout au long du tractus gastro-intestinal [63, 64].

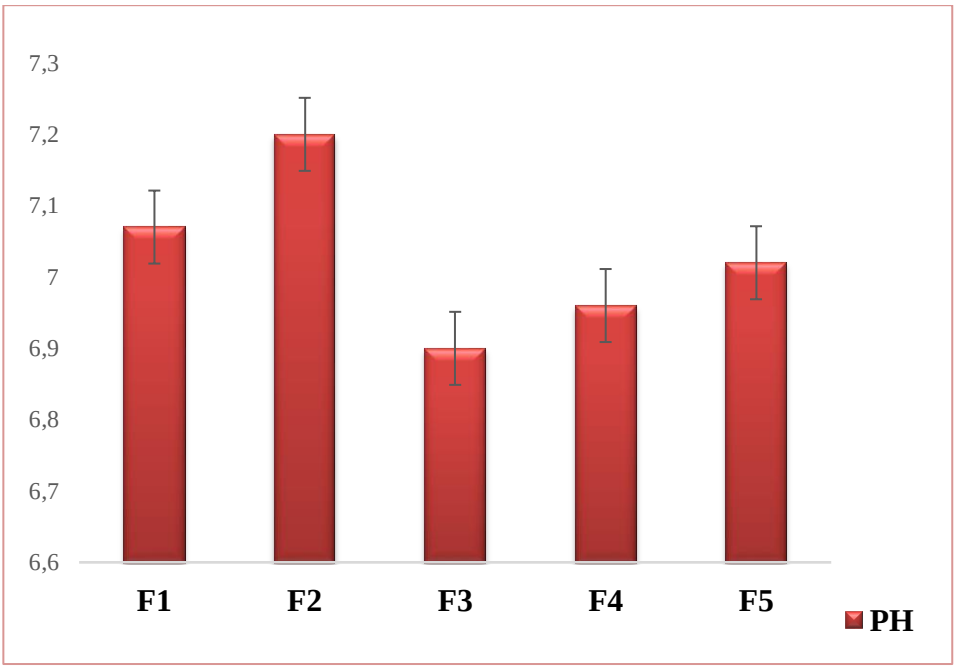


Figure III.6.pH des gels formulés

III.4.1.3. Etude de la viscosité des gels

L'étude de la viscosité des gels buvables à base d'hydrolat de grenade est essentielle pour évaluer leur comportement rhéologique et leur performance lors de l'utilisation. La viscosité, qui mesure la résistance d'un fluide à l'écoulement, joue un rôle crucial dans la stabilité, l'application et l'acceptabilité des gels buvables. Les courbes d'écoulement des gels, décrivant la variation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement, sont représentées dans la figure III.7. On observe clairement que la viscosité diminue lorsque la vitesse de rotation augmente, indiquant un comportement pseudo plastique typique. Cela signifie que les gels deviennent moins visqueux sous une contrainte de cisaillement plus

élevée, ce qui est bénéfique pour leur application buvable, facilitant ainsi l'ingestion tout en assurant une stabilité adéquate lorsqu'ils sont au repos.

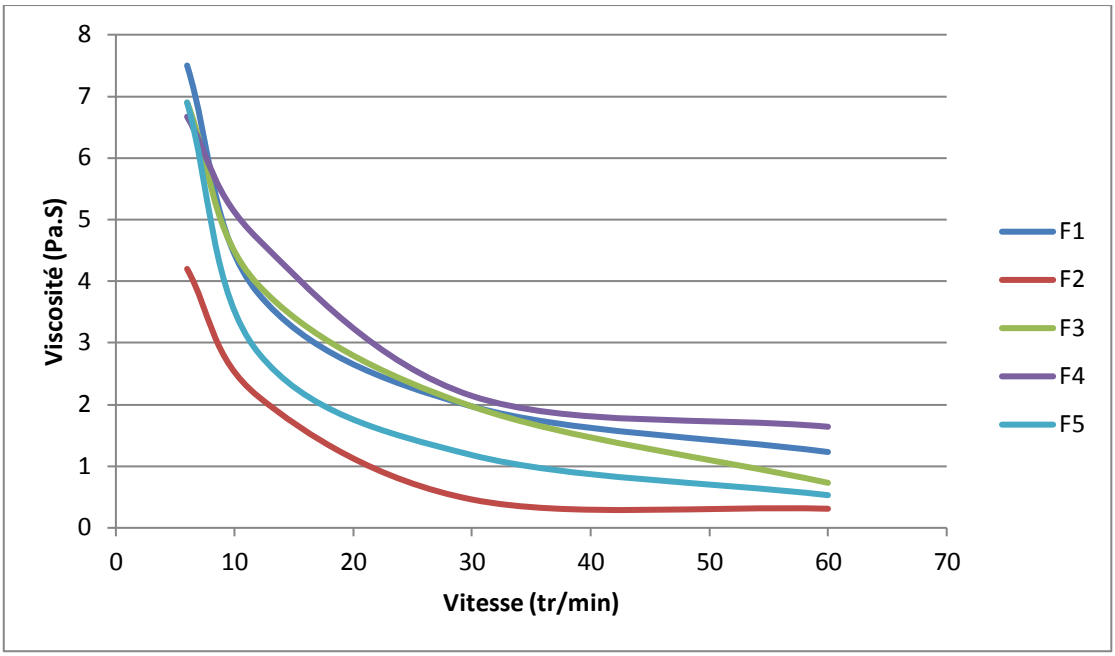


Figure III.7. Courbes de viscosité des gels (F1, F2, F3, F4 et F5)

III.5. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DU GEL A BASE D'ECORCE DE GRENADE

L'étude de l'activité antimicrobienne des gels à base d'hydrolat de grenade a été menée sur trois souches bactériennes : deux souches de référence (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus)*, ainsi qu'une souche isolée en milieu hospitalier (*Klebsiella oxytoca*.) Les tests ont été effectués pour évaluer l'efficacité des différentes formulations des gels en termes de diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne. Les résultats détaillés de cette étude sont présentés dans les tableaux III.3, III.4 et III.5, illustrant les variations de l'activité antimicrobienne selon chaque formulation.

III.5.1. Efficacité des Gels à l'Hydrolat de Grenade contre *Escherichia coli*

Les résultats de notre étude sur l'efficacité des gels buvables à base d'hydrolat de grenade contre *Escherichia coli* révèlent des nuances intéressantes dans l'activité antimicrobienne de ces formulations. Les diamètres d'inhibition obtenus pour les différentes formules (F1 à F5) varient de manière significative, indiquant des niveaux d'efficacité variables. Cette variabilité peut être attribuée aux concentrations différentes d'hydrolat de grenade dans chaque

formulation, ce qui impacte directement la quantité de composés actifs présents. En effet, l'hydrolat de grenade est riche en divers composés bioactifs tels que les poly phénols, les flavonoïdes et les acides phénoliques, qui sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Ainsi, les formulations avec des concentrations plus élevées en hydrolat de grenade (comme F4 et F5) présentent des diamètres d'inhibition plus importants, ce qui suggère une activité antimicrobienne renforcée. En revanche, les formulations avec des concentrations plus faibles (comme F1 et F2) montrent des diamètres d'inhibition plus modestes. Ces résultats sont cohérents avec des recherches antérieures démontrant l'efficacité de l'hydrolat de grenade contre Escherichia coli. Comparativement aux études précédentes menées par Moualkia et Gourmati (2014), qui ont observé des diamètres d'inhibition de 12.5 mm pour *Escherichia coli* [65], nos résultats démontrent une efficacité antimicrobienne nettement supérieure. Cette différence peut être due à des variations dans les méthodes d'extraction de l'hydrolat de grenade, les concentrations utilisées dans les formulations, ainsi que les conditions de test.

Tableau III.3. Effet Inhibiteur des Différentes Formules sur *Escherichia coli* (Diamètre d'Inhibition en mm)

Formule	Diamètre d'inhibition (mm)
F1	0
F2	10.3± 1.4
F3	10.9±1.7
F4	11.3±.0.9
F5	11.8±2

III.5.2. Efficacité des Gels à l'Hydrolat de Grenade contre *Staphylococcus aureus*

Les résultats de notre étude sur l'activité inhibitrice des gels sur *Staphylococcus aureus* révèlent une variation significative de l'efficacité antimicrobienne en fonction de la concentration en hydrolat. En comparaison avec des recherches antérieures, nos observations semblent démontrer des diamètres d'inhibition plus marqués, suggérant potentiellement des concentrations en hydrolat de grenade plus élevées dans nos formulations. Safi et Benbrahim (2016) ont rapporté des diamètres d'inhibition de 12.5 mm, 14.5 mm et 15.5 mm pour

Staphylococcus aureus avec des concentrations d'hydrolat de grenade de 20 mg/ml et 40 mg/ml [66]. De même, Moualkia et Gourmati (2014) ont observé des diamètres d'inhibition de 9.5 mm pour *Staphylococcus aureus* en utilisant un extrait d'écorce de *Punica granatum* par la méthode de diffusion sur disque[65].

Dans notre étude, la Formule F1 n'a présenté aucun effet inhibiteur, probablement en raison d'une concentration insuffisante en hydrolat de grenade. Les Formules F2, F3 et F4 ont montré des diamètres d'inhibition croissants, indiquant une augmentation progressive de l'activité antimicrobienne avec une concentration accrue en hydrolat de grenade. Enfin, la Formule F5 a affiché le plus grand diamètre d'inhibition, suggérant une concentration d'hydrolat de grenade la plus élevée parmi les formulations testées.

Tableau III.4. Effet Inhibiteur des Différentes Formules sur *Staphylococcus aureus* (Diamètre d'Inhibition en mm)

Formule	Diamètre d'inhibition (mm)
F1	0
F2	9.8±1.8
F3	10.6±2
F4	11.2±1.1
F5	13.4±2.1

III.5. 3. Efficacité des Gels à l'Hydrolat de Grenade contre *Klebsiella oxytoca*

Les résultats du tableau III.5 fournissent des informations cruciales sur l'efficacité des gels buvables à base d'hydrolat de grenade contre *Klebsiella oxytoca*, une bactérie souvent associée à des infections graves et potentiellement mortelles, en particulier dans les milieux hospitaliers. La formule F1 se distingue avec le plus grand diamètre d'inhibition, dénotant une forte activité antimicrobienne contre cette souche pathogène. Cette observation suggère que la concentration en hydrolat de grenade dans cette formule est probablement plus élevée, ce qui confère une meilleure capacité à inhiber la croissance bactérienne. En revanche, les formules F2, F3 et F4 présentent des diamètres d'inhibition plus modestes, ce qui peut indiquer des

concentrations d'hydrolat de grenade relativement plus faibles. La formule F5 se situe quelque part entre ces extrêmes, affichant une activité antimicrobienne intermédiaire. Ces résultats mettent en évidence l'importance cruciale de la concentration en hydrolat de grenade dans la formulation des gels buvables pour assurer leur efficacité contre *Klebsiella oxytoca*. De plus, la variabilité observée dans les performances des différentes formules soulève des questions sur la stabilité de ces produits et souligne le besoin de méthodes de fabrication robustes pour garantir une efficacité antimicrobienne constante. En résumé, cette étude offre des indications précieuses pour l'optimisation des formulations de gels buvables à base d'hydrolat de grenade dans le contexte de la lutte contre les infections bactériennes, en particulier celles impliquant *Klebsiella oxytoca*.

Tableau III.5. Effet Inhibiteur des Différentes Formules sur *Klebsiella oxytoca* (Diamètre d'Inhibition en mm)

Formule	Diamètre d'inhibition (mm)
F1	10.5± 1.2
F2	10.9.2±2
F3	11.1±1.4
F4	11.3±2.3
F5	12.6±1.8

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons exploré en détail les résultats de notre étude sur l'écorce de *Punica granatum L*. Nous avons examiné la composition chimique de l'écorce, détaillé les formulations des gels à base d'hydrolat d'écorce de grenade, discuté des propriétés physico-chimiques de ces gels, et analysé leur activité antimicrobienne contre différentes souches bactériennes.

Le prétraitement de l'extrait végétal, notamment le séchage et le broyage, s'est révélé crucial pour optimiser l'efficacité de l'hydrolat utilisé dans la formulation des gels. Le séchage a permis d'éliminer l'humidité résiduelle, concentrant ainsi les composés bioactifs

de l'écorce. Le broyage a joué un rôle essentiel en facilitant l'extraction des composés bioactifs lors de l'hydrodistillation, bien que des ajustements puissent être nécessaires pour obtenir une distribution granulométrique plus uniforme.

La caractérisation physico-chimique de la poudre d'écorce de grenade a fourni des informations précieuses sur sa composition et ses propriétés, notamment son taux d'humidité et son pH. Ces caractéristiques sont essentielles pour garantir la qualité et l'efficacité des produits dérivés de l'écorce.

La formulation des gels à base d'hydrolat d'écorce de grenade représente une approche innovante dans le domaine de la formulation de produits naturels à visée antimicrobienne. L'analyse approfondie des propriétés physico-chimiques et organoleptiques de ces gels a permis de mieux comprendre leur comportement. Enfin, l'étude de l'activité antimicrobienne des gels contre différentes souches bactériennes a mis en évidence l'importance de la concentration en hydrolat de grenade dans la formulation pour assurer leur efficacité. Ces résultats offrent des perspectives prometteuses pour le développement de nouveaux produits antimicrobiens à base d'écorce de grenade.

En conclusion, cette étude apporte une contribution significative à la compréhension des propriétés et des applications de l'écorce de *Punica granatum L.*, ouvrant la voie à de nouvelles opportunités dans le domaine de la phytothérapie et de la formulation de produits naturels.

Conclusion générale

L'écorce de *Punica granatum L.*, couramment appelée grenade, est reconnue depuis des siècles pour ses multiples bienfaits sur la santé. Riche en composés bioactifs tels que les polyphénols, les tanins et divers acides phénoliques, elle présente des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes remarquables. Utilisée dans les médecines traditionnelles, elle a prouvé son efficacité dans la prévention et le traitement de nombreuses infections et contribue à la santé de la peau. Ces propriétés font de l'écorce de grenade un ingrédient précieux pour le développement de produits thérapeutiques naturels et innovants.

Notre étude avait pour objectif principal d'explorer les propriétés et les caractéristiques de l'écorce de *Punica granatum* L. Pour ce faire, nous avons mené une série d'analyses, en commençant par la caractérisation de l'écorce de *Punica granatum L,* puis par la formulation et la caractérisation de gels à base de cette écorce en vue d'une utilisation buvable.

Les analyses physico-chimiques effectuées sur la poudre d'écorce de *Punica granatum L*. ont permis de caractériser le produit actif végétal obtenu. Le prétraitement des écorces, incluant le broyage, le tamisage et le séchage, a permis d'obtenir une poudre fine avec un taux d'humidité de 4,7 % et une granulométrie homogène de 30 µm. L'analyse FTIR de la poudre d'écorce a permis d'identifier les groupes fonctionnels présents, fournissant ainsi une compréhension détaillée de sa composition chimique.

La formulation des gels à base d'hydrolat d'écorce a été une approche visant à atteindre une meilleure application buvable pour un effet antimicrobien. Les gels obtenus présentaient une texture visqueuse, glutineuse et une couleur rouge rappelant le grain de la grenade, avec un goût sucré caractéristique et une odeur aromatique fraîche et fruitée. Les résultats de l'analyse du pH, indiquant que l'ensemble des formulations avaient un pH compris entre 6,9 et 7,2, sont cohérents avec une plage de neutralité, suggérant que les gels buvables sont bien équilibrés en termes d'acidité et de basicité, ce qui peut favoriser leur tolérance par le système gastro-intestinal. La diminution de la viscosité sous contrainte de cisaillement indique un comportement pseudoplastique typique, ce qui signifie que les gels deviennent moins visqueux sous une contrainte plus élevée, facilitant ainsi l'ingestion tout en assurant une stabilité adéquate lorsqu'ils sont au repos. Les tests d'activité antimicrobienne, réalisés par diffusion sur disque, ont révélé une inhibition significative de la croissance de bactéries telles qu'*Escherichia coli, Staphylococcus aureus* et *Klebsiella oxytoca,* avec une activité accrue à des concentrations plus élevées d'hydrolat.

En somme, les résultats obtenus démontrent que l'écorce de *Punica granatum L*. possède des propriétés chimiques intéressantes et un potentiel thérapeutique élevé, soutenant ainsi son utilisation dans le développement de produits naturels innovants et efficaces pour la santé, grâce à ses propriétés antimicrobiennes favorables.

Plusieurs perspectives peuvent être proposées pour la poursuite de ce travail de recherche, tel que :

- Améliorer les formulations des gels buvables pour maximiser leur efficacité antimicrobienne et leur stabilité à long terme, en explorant différentes concentrations d'hydrolat et d'autres excipients naturels.
- Conduire des essais cliniques pour évaluer l'efficacité et la sécurité des gels buvables à base d'écorce de *Punica granatum L*. chez l'humain, en particulier dans le traitement et la prévention des infections gastro-intestinales.
- Investiguer les mécanismes d'action des composés bioactifs présents dans l'écorce de grenade, pour mieux comprendre comment ils interagissent avec les bactéries et les cellules humaines.
- Développer une gamme de produits thérapeutiques à base d'écorce de *Punica granatum L.*, incluant des crèmes topiques, des compléments alimentaires, et des solutions buvables pour diverses applications médicales.
- Comparer l'efficacité antimicrobienne des extraits d'écorce de *Punica granatum L*. avec d'autres sources naturelles et synthétiques, afin de positionner ce produit dans le cadre plus large des traitements antimicrobiens.
- Étudier les propriétés bioactives d'autres parties de la grenade, telles que les graines et les feuilles, pour identifier de nouveaux composés thérapeutiques potentiels.
- Utiliser des techniques de nanotechnologie pour améliorer la biodisponibilité et l'efficacité des composés bioactifs de l'écorce de grenade, en les incorporant dans des nanoparticules ou des systèmes de libération contrôlée.
- Étudier les interactions synergiques entre l'écorce de grenade et d'autres plantes médicinales pour développer des formulations à base de plantes combinées offrant des bénéfices thérapeutiques améliorés.

Références bibliographiques

[1] **Lubbeet, A., &Verpoorte, R. (2011)**. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. Industrial Crops and Products, 34(1), 785-801.

[2] **Rawat, R. B. S. (2006).** Plant based traditional knowledge for improved health care delivery system. In Approaches towards Evaluation of Medicinal Plants prior to Clinical Trials (p. 14).

[3]**Alhijna, D., &Bourich, E. (2017).** Grenade de Beni Snous : étude et caractérisation chimique des extraits de pépins, évaluation de l'activité microbiologique (Thèse de doctorat, Université Abou BakrBelkaid Tlemcen, p. 1, p. 15).

[4] **Sharma, P., McClees, S. F., &Afaq, F. (2017).** Pomegranate for prevention and treatment of cancer: An update. Molecules, 22(1), 177.

[5] **Graham, T.(1864),**On the properties of silicicacide and other analogous colloidal substances. J. Chem. Soc. Lond., 17 318-27.

[6] **Atkins, P.W (1990).**, Physical Chemistry, (4e éd.). Oxford University Press, Oxford, UK, p. 706.

[7] **Tanaka, T. (1987).** Gels. Dans A. Klingsberg& R. Piccininni (Éd.), Encyclopedia of Polymer Science and Engineering (Vol. 7). John Wiley & Sons.

[8] **Mc Kechnie, J. L. (Ed.). (1966).** Webster's New Twentieth Century Dictionary (2e éd.). The Publishers Guild, Inc, New York, USA.

[9] **P. G. de Gennes (1979)**.Concepts de mise à l'échelle en physique des polymères, Cornell UniversityPress. Ithaque, New York.

[10] **Thomas Boulanger Pharmacien** IFSI – Mercredi 24 septembre 2014.

[11] **YOUNES, I., & MEFTAHI, C. (2020).** Etude de l'activité anti-inflammatoire in vitro, des extraits d'écorce du fruit de grenadier «Punica granatum» d'Ain Témouchent, sur la stabilité membranaire du globule rouge.

[12] **Badiaga, M. (2011).** *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali* (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).

[13] **Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., & Cheng, S. (2006).** Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, *96*(2), 254–260.

[14] **Ekor, M. (2014).** The growing use of herbal medicines: Issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 177.

[15] **Lambert et al, 2005** ; Alves et Rosa, 2007 ; Howes Et coll., 2020). Plus de quatre milliards de personnes (80 % de la population mondiale).

[16] **Ekor, M. (2014).** The growing use of herbal medicines: Issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 187.

[17] **Van Andel et Carvalheiro, 2013** ; Ekor, 2014 ; Oyebode et coll., 2016 ; James et coll., 2018 ; Welz et coll., 2018 ; Tangkiatkumjai et al, 2020.

[18] **Cragg et Newman, 2005** ; Arceusz et al, 2010 ; Hao et Xiao, 2020 ; Newman et Cragg, 2020 ; Salmer.Sur-ManzanoEtcoll. 2020.

[19] **Zakaria, F. A. D. I. (2011).** Le romarin; Rosmarinus officinalis LF boni procédé d'extrAction pour un effet thérapeutique optimal.

[20] Islam, M., Inamullah a, & Ahmad, I.(Date non spécifiée). Medicinal plants resources of Western HimalayanPalasValley, Indus Kohistan, and Pakistan: Their uses and degrees of risk of extinction.

[21**] Fleurentin, J., &Balansard, G. (2002).**L'intérêt de l'ethnopharmacologie dans le domaine des plantes médicinales, Médecine Tropicale 62, 23-8.

[22] **Boukechira, L., Delileche, H., Boufenissa, S., & Encadreur Boussouf, L. (2007).** L'utilisation des plantes médicinales dans le domaine de la microbiologie. Université de Jijel.

[23] **Bhattacharya, P., Prasad, R., Bhattacharyya, R., &Asokan, A. (2008**). Vers la certification des plantes médicinales et aromatiques sauvages dans quatre États de l'Inde. Dans Déforestation, changement d'affectation des terres et REDD (p. 35).

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

[25] **Lahouel, M. (2022).** Contribution à l'étude des ressources génétiques du Grenadier (Punicagranatum L.; Punicaceae/Lythraceae) de la région de Messaad (Wilaya de Djelfa). Université Mouloud MAMMERI Tizi-Ouzou.

[26] **J.Saint-Hilaire. (1805).** Livre de botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs p 497.

[27] Comparative proteomics analysis of pomegranate seeds on fruit Maturation period (Punicagranatum L).

[28] **Lansky, E.P., & Newman, R. A. (2007).** Punicagranatum(pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of Ethno pharmacology,109(2), 177–206. doi:10.1016/j.jep.2006.09.006.

[29] **Al-Said F.A., Opara U.L. Al-Yahyai R.A. (2009).**Physico-chemical and textural quality Attributes of pomegranate cultivars (Punicagranatum L.) grown in the Sultanate of Oman. Journal of Food Engineering 90: p 129-134.

[30] Of Arils Juice and Peel Decoction of Fifteen Varieties of Punicagranatum L.: A Focus on Anthocyanins, Ellagitannins and Polysaccharides), 15 February 2020.

[31] **Mehta, D., &Mehta, M. (Date non spécifiée).**Punicagranatum L. (Punicaceae): Lifeline for Modern Pharmaceutical Research.

[32] **Evreinoff, V. A. (2001).** Les grenadiers PunicaGranatum Linné.

[33] **Mehta, D., &Mehta, M. (Date non spécifié**e). Punicagranatum L. (Punicaceae): Lifeline for Modern Pharmaceutical Research.

[34] **Melgarejo, P., Núñez-Gómez, D., Legua, P., Martínez-Nicolás, J. J., & Almansa, M. S. (2020).**Pomegranate (Punicagranatum L.): a dry pericarp fruit with fleshy seeds. Trends in Food Science & Technology, 102, 232-236.

[35] **Suhr K.I. et Nielson P. V. (2003).** Antifungal activity of essential oil evaluated by two different application technique against rye bread spoilage fungi. Journal of Applied Microbiology. 94:174177.

[36] **Yildiz, H., Obuz, E. &Bayraktaroglu, G. 2006**.Pomegranate: Its Antioxidant Activity and Its Effects on Health. In Proceedings of the First International Symposium on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits, Adana, Turquie. Pp265-270.

[37] **Boussalah, N., Merzouk, H. &Chibane, M. 2012**. Caractéristiques morphologiques, physicochimiques et proprietiésantioxydantes. La Grenade fruit divin. Ed. Université Européenes. Pp 1-141.

[38] **Favier, J.C, Ireland-ripert, J., Laussuq, C. & FEINBERG, M., 1993.** Répertoire général des aliments: table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique. Tome3. Ed. Orstom. pp 1-213.

[39] **Reguieg, Y.A. 2019**. L'effet de *Punicagranatum sur la flore gastrique; Etude in vitro* et *in vivo chez le rat*phytothérapie et santé Thèse de Doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis.Moustaganame. pp 118.

[40] **Bennick, A.2002**. Interaction of polyphénols with salivary Proteins. Critical Reviewsin Oral Biologiy and Medicin, 13(2): 184-196.

[41] **Hemingway, R. W. 1992.**Structural variation in proathocyanidins and their derivatives. In: Lpant polyphenols: synthesis, properties, significande. *Hemingway R W, Laks P. E. New York.*

[42] **Amjad, H. 2005.** Pomegranate: Anatomy of A Driving Remedy. Ed. Lulu.com. pp1-126.

[43] **Alais C., Linden G. Miclo L.2003.** Biochimie alimentaire, 6éme édition de l'abrégé.*Edition: Dunod. Paris,* pp 41-68.

[44] **Hadi, M. 2004.** La quercetine et ses dérivés: molécules à caractères po oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat en pharmaco-chimie, Université de Louis Pasteur Strasbourg I. pp, 98-10124.

[45] **Hadi, M. 2004.** La quercetine et ses dérivés: molécules à caractères po oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat en pharmaco-chimie, Université de Louis Pasteur Strasbourg I. pp, 98-10124.

[46] **Gil, M., Tomas-Barberan, F. 2000.**Antioxydant activity of pomegranatejuice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 4581-4589**.**

[47] **Fuhrman B .etAviramM., 2006**. Protection against cardiovascular diseases .In: pomegranates Ancient Roots to Modern Medicine.

[48] **Seeram, N. P., Risa, N. S. & Heber D. 2006.** Pomegranates Ancient Roots to Modern Medicine. Ed. CRC Press Taylor & Francis Group Medicinal and aromatic plants-industrial profiles. pp 1-263.

[49] **Kim, D. O., Jeong, S. W. & Lee, C.Y. 2003**. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plum. *Food Chemistry*, 81: 321-326.

[50] **Sayed D .N.,AfaqF .et Mukhtar H. 2007.** Pomegranate derived products for cancer chemoprevention. Seminars in Cancer Biology, 17: pp 377 – 385.

[51] **Seeram, N. P., Zhang, Y., Reed, J. D., Krueger, C. G. et Vaya, J. 2006.** Pomegranate Phytochemicals. In "Pomegranates Ancient Roots to Modern Medicine".[52] **Rani, A., Sharma, A., Kumar, S., et Gupta, R. C. (2016).** "Biological Activities and Phytochemical Profile of the Punica granatum L. Peel Extracts." Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 5(4), 01-07.

[53] **Machado TB., Pinto AV., Pinto MCFR., Leal ICR., Silva MG., Amaral ACF.,Kuster RM., Netto-dos Santos KR., 2003.***In vitro* activity of Brazilianmedicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analoguesagainst methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. International Journal of Antimicrobial Agents 21.Pp279-284.

[54] **Reddy M. K., Gupta S. K., Jacob M. R., Khan S. I., & Ferrira, D., 2007.** Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from Punicagranatum L. Planta Medicine, 73(5), 461–467.

[55] **Braga, L. C., Shupp, J. W., Cummings, C., et al. (2005)**. "Pomegranate extract inhibits Staphylococcus aureus growth and subsequent enterotoxin production." Journal of Ethnopharmacology, 96(1-2), 335-339.

[56] **Endo E.H., Cortéz D.A.G., Ueda-Nakamura T., Nakamura C.V., Filho B.P.D., 2010.**Potent antifungal activity of extracts andpure compound isolated from pomegranate peels andsynergism with fluconazole against Candida albicans, Res.Microbiol., 161: 534-540**.**

[57] **Al-ZorekyNS., 2009.** Antimicrobial activity of pomegranate (PunicagranatumL.) fruit peels. International Journal of Food Microbiology 134, 244-248.

[58] **Rota M.C, Herrera A, Martinez R.M, Sotomayor J.A, Jordan M.J.** ***(2008).*** Antimicrobial activity and chemical composition of Thymus vulgaris, Thymus zygis and Thymus hyemalis essential oils. Food control. 19.p : 681-687.

[59] **McGuire, R. G. (1992).** Reporting of objective color measurements *HortScience*, *27*(12), 1254-1255.

[60] **Ismail, A., Fathilah, M., Samad, M., &Khatib, M. (2012).** Chemical characterization and bioactivity of different extracts from Punica granatum L. peel. Food Chemistry, 132(4), 1457-1464.

[61] **Martinez, J. J., Melgarejo, P., Hernandez Fa., Salazar, D. M., & Martinez, R. (2006).** Seed characterisation of five new pomegranate (Punica granatum L.) varieties. Scientia Horticulturae, 110, 241–246.

[62] **Shwartz, E., Glazer, I., Bar-Ya'akov, I., Matityahu, I., Bar-Ilan, I., Holland, D., & Amir, R.**

[63] **Vertzoni, M., Augustijns, P., Grimm, M., et al. (2019)**. Impact of regional differences along the gastrointestinal tract of healthy adults on oral drug absorption: An UNGAP review. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 134, 153-175. doi:10.1016/j.ejps.2019.04.013

[64] **Claereboudt, M., &Jangoux, M. (1985)**. Conditions de digestion et activité de quelques polysaccharidases dans le tube digestif de l'oursin Paracentrotuslividus (Echinodermata). BiochemicalSystematics and Ecology, 13(1), 51-54.

[65] **Moualkia, H., &Gourmati, M. (2014).** Détermination de substances naturelles à potentialités antioxydantes et anti-inflammatoires de plantes Punica granatum L. et Lawsoniainermis. 1200.

[66] **Safi Ahlem et benbrahim(2016).**étude de l'activité antioxydant et antimicrobienne des composés phénoliques d'extrait des écorces de p*unicagranatum* (grande).