**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE MEDEA**

**FACULTE DES SCIENCES**

# Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

**Spécialité :** Chimie pharmaceutique

**Par**

AZIRI Lila
HATTABI Nabila

**Thème**

# *L'étude cinétique de l'extraction de polyphénols à partir de la plante Punica granatum L (la grenade)*

Soutenue publiquement le : 20 /06 /2022, Devant le jury composé de :

| | | | |
|---|---|---|---|
| LAFNAOUI.S | Grade : Pr | Université de Médéa | Présidente |
| YAHOUM.M.M | Grade : MCA | Université de Médéa | Examinatrice |
| CHARDAOUI .D | Grade : MCB | Université de Médéa | Encadreur |
| BOUAZZA .F | Grade : MAA | Université de Médéa | Co-Encadreur |

Année universitaire : 2021/2022

# *Remerciements*

*Avant tout*

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

*Nos sincères remerciements et reconnaissances à nos parents*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à notre promotrice Mme GHARDAOUI.D pour son encadrement, sa disponibilité, son aide, ses précieux conseils et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire.*

*Nous tenons à exprimer ma très grande considération A notre Co-promotrice Mme BOUAZZA.F pour sa disponibilité, son aide, ses précieux conseils et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire.*

*Nous vous remercie, tout particulièrement, pour vos grandes qualités humaines ses connaissances scientifiques vous êtes modèle de compétence professionnelle.*

*Mes sincères remerciements s'adressent à la présidente du jury Mme LEFNAOUI.S de nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury*

*Nous tenons aussi à remercier également Mme ARBIA.W Pour son aide, son soutien moral et pour ses précieux conseils et orientations.*

*Sans oublier Mme MADANI.L et EULDJI.A.*

*Nous remerciements tout le personnel du laboratoire plus particulièrement Mme CHAHBAMOUNA.S pour leur gentillesse et pour leur aide durant la réalisation de cette étude notamment en nous fournissant les réactifs manquants.*

*En fin je tiens à exprimer, mes remerciements à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Merci à tous et toutes.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail qui n'aurait pu aboutir sans l'aide de Dieu à toutes les personnes que j'aime :*

*A la lumière de mes yeux, et le bonheur de ma vie. A ma mère*

*Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien qu'elle m'a donnés confiance, et sécurité.*

*A mon père Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras et pour son enseignement continu.*

*Mes chers parents que Dieu vous garde.*

*A mes chers frères : Kamal, Ahmed*

*A mes très chères sœurs: Sabrina, Fatiha, Linda*

*A toutes mes nièces et neveux*

*A mes tantes et oncles, et leurs enfants*

*A tous la famille AZIRI et DJADDOU*

*A mes fidèles amies : Karima, Imane, Zola, Youssra, Manel, Youssra*

*Ma très chère : Sarah*

*A mon chère ami : Walid*

*Ma très chère et mon binôme : Nabila*

*Mes chères amies : Hiba, Houda*

*A toutes mes amies. Avec vous je passe des bons moments et jours.*

*A tous mes enseignants tout au long de mes études.*

***Lila***

# *Dédicace*

*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail*

*A mes chers parents, qui ont été toujours à mes côtés et qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études. Je les remercie pour leurs sacrifices et leur soutien tout le long de mon parcours scolaire.*

*Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance*

*A mes sœurs : Aicha, Faiza, Salima*

*A mon frère : Mohamed, Walid, Rayane, Maissom*

*A mon binôme Lila*

*A toutes mes amies pour leur encouragement,*

*A tous mes collègues de la promotion*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

***Nabila***

# ملخص

هذا العمل هو المساهمة في تثمين ثلاث كتل حيوية وفيرة جدا في الجزائر ,وهي قشور الرمان (المدية) تم ترحيل استخلاص المركبات النشطة بيولوجيا باستخدام المذيبات الماء/الميثانول (75/25) على اساس مصفوفة تجريبية تقييم الدراسة الحركية لاستخلاص المركبات الفينولية مثل : حاصل الاستخلاص, النمذجة الحركية للاستخلاص من الرمان, النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص ومخففاته .

اوضحت الدراسة البرامترية للاستخلاص ان المحصول يزداد مع زيادة الوقت حتى يظل ثابتا .النتائج لا تتوافق مع طريقة هيرفاس. يبدو أن البيانات التجريبية تتوافق بشكل جيد مع النموذج الموصوف بواسطة ميلجوفي تصل نسبة الانتاج المطبقة الى 97% مقارنة بالانتاج النظري100 %

أظهر المستخلص أكثر تأثير مضاد للجراثيم ضد الاشريكية القولونية و كانديدا البيكان مقارنة بالسلالات الأخرى. يوضح اختبار التركيز المثبط الأدنى للسلالات المختلفة ان اقطار مناطق التثبيط لكل بكتيريا تتناقص.



**الكلمات المفتاح:** الرمان ، البوليفينول ، النمذجة الحركية ، النشاط المضاد للميكروبات.

# Résumé

Le présent travail est une contribution à la valorisation de trois biomasses très abondantes en Algérie ; à savoir les écorces de grenade (Médéa). L'extraction des composés bioactifs en utilisant comme solvants : eau/méthanol (25/75) a été relaissée sur la base d'une matrice expérimentale.

L'évaluation d'étude cinétique d'extraction des composés phénoliques tel que : le rendement d'extraction, modélisation cinétique d'extraction à partir de grenade, l'activité antibactérien d'extrait et leurs diluants.

L'étude paramétrique de l'extraction a montré que le rendement a augmenté avec l'augmentation de temps jusqu'à reste constante. Les résultats ne correspondant pas avec la méthode d'Hervas. Les données expérimentale s'avèrent bien correspondent au modèle décrit par Milojevi et al. Le rapport de production appliqué obtenir à 97% par rapport à la production théorique 100%.

L'extrait a montré un effet antibactérien le plus important vis-à-vis du Escherichia coli et Condida albicans par rapport aux autres souches. Le test de concentration minimale inhibitrice différent souches montre que diminution des diamètres des zones d'inhibition pour chaque bactérie.



***Mots clés :*** Grenade, polyphénol, modélisation cinétique, activité antimicrobienne.

# Abstract

This work is a contribution to the valorization of three very abundant biomasses in Algeria; namely pomegranate peel (Médéa).The extraction of the bioactive compounds using as solvents: water/methanol was relayed on the basis of an experimental matrix.

Evaluation of kinetic study of extraction of phenolic compounds such as: extraction yield, kinetic modeling of extraction from pomegranate, antibacterial activity of extract and their diluents.

The parametric study of the extraction showed that the yield increased with increasing time until it remained constant. The results do not correspond with the Hervas méthode. The expérimental data appear to correspond well to the model described by Milojevi and al. the applied production ratio gets to 97% compared to theoretical production 100%.

The extract showed the greatest antibacterial effect against Escherichia coli and candida albicans compared to other strains. The minimum inhibitory concentration test for different strains shows that the diameters of the zones of inhibition for each bacterium decrease.



**Keywords: pomegranate, polyphenol, kintic modeling, antimicrobial activity**

# Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumé (arabe, français et anglais)

Abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

**INTRODUCTION GENERALE**……1

**CHAPITRE I. GÉNÉRALITÉS SUR PUNICA GRANATUM L (LE GRENADE)**

I.1. Définition des plantes médicinales ……..2

I.1.1. Intérêt de l'étude des plantes médicinales ……....2

I.1.2. Domaines d'application des plantes médicinales……..2

I.1.3. Avantage des plantes médicinales…….....3

I.1.4. Inconvénients des plantes médicinales……..3

I.2. Présentation de la famille Lythraceae ……..…3

I.2.1. Généralités sur Lythraceae…….....3

I.2.2. Description botanique de la famille Lythraceae…..…… ……3

I.2.2.1. Appareil végétatif……...…3

I.2.2.2.Appareil reproducteur…….3

I.3. Etude botanique de grenade …...……..……...4

I.3.1. Origine de nom. ……..4

I.3.2. Noms vernaculaires……..…….5

I.3.3. Description botanique ……...5

I.3.3.1. Feuilles……6

I.3.3.2. Fleurs…….... ……..6

I.3.3.3. Fruits ……..7

I.3.3.4. Graine ……..……..7

I.2.3.5. Ecorce de fruit ….....8

I.3.4. Classification botanique ……....9

I.4. Compositions biologiques de grenade ……...10

I.4.1. Compositions biologiques ……..10

I.4.2. Compositions chimiques ……10

I.5. Utilisation de grenadier ……..11
I.5.1. Utilisation traditionnelle ……11
I.5.2. Utilisation de la grenade dans les produits cosmétique……...12
I.5.3. Utilisation en agroalimentaire ……12
I.5.3.1. Conservation des produits carnés ……...13
I.5.3.2. Stabilisation de l'huile de tournesol ……13
I.5.3.3. Formulation d'un jus moins sucré ……13
I.6. Propriétés thérapeutiques de grenadier ……..14
I.6.1. Propriétés anti-inflammatoires ……14
I.6.2. Propriétés antibactériennes ……14
I.6.3. Propriétés antioxydants ……...14
I.6.4. Propriétés antiseptiques ……..14
I.7. Propriétés pharmacologiques de grenade ……..14

**CHAPITRE II : MODELISATION ET SIMULATION D'ETUDE CINRTIQUE D'EXTRACTION DES POLYPHENOLS**

Introduction……...…….....18
II.1. Composés phénoliques..……..……..19
II.1.1. Définition ……...19
II.1.2. Structure des composés phénoliques…….19
II.1.3. Rôle des composés phénoliques……19
II.1.4. Propriétés chimiques des composés phénoliques…….……..20
II.1.5. Propriétés biologiques des composés phénoliques……20
II.1.5.1. Activité antibactérienne …..19
II.1.5.1. Activité antioxydant ……..20
II.1.6. Classification des composés phénoliques……..... 21
II.1.7. Principaux composés phénoliques…….…….. .23
II.1.7.1. Acides phénoliques……..23
II.1.7.2. Flavonoïdes …….....23
II.1.7.3. Tanins…….....24
II.2. Techniques d'extraction des polyphénols ……25
II.2.1. Techniques classiques……...25

II.2.1.1. Macération ……25
II.2.1.2. Extraction par Soxhlet ……..26
II.2.2. Techniques alternatives ……....26
II.2.2.1. Extraction assistée par micro-onde……27
II.2.2.2. Extraction assistée aux ultrasons……...28
II.3. Modèles Mathématiques de cinétique d'extraction……...29
II.3.1. Méthode d'Ana et al ……...29
II.3.2. Méthode d'Hervas et al ……30
II.3.3. Méthode de Milojevi et al ……31

**CHAPITRE II : PARTIE EXPERIMENTALE**

Introduction…….....33
III.1.Matériels et produits utilisés……..34
III.2.Matériel végétal ……35
III.2.1.Recolte de la matière végétale ……35
III.2.2.Préparation et caractérisation de la matière végétale……35
A. Séchage de la matière végétale ……35
B. Conservation ……36
C. Broyage ……36
III.3. Extraction des métabolites ……..36
III.3.1. Extraction par macération dans le méthanol ……36
III.3.2. Evaporation ……..37
III.3.3. Rendement des extraits secs ……38
III.4. Modélisation cinétique d'extraction des composés phénoliques……39
III.4.1. Résultats de rendement d'extraction……39
III.4.2. Modèle Mathématique de cinétique d'extraction……40
III.4.3. Résultats……40
III.5. Evaluation de l'activité antibactérienne ……..42
III.5.1. Mode opératoire ……...43
A) Préparation du milieu de culture ……43
B) Préparation de la suspension bactérienne ……...43
C) Ensemencement, application de disques et incubation ……44
D) Lecture ……...44
III.5.2. Résultats et discussions ……44

**Conclusion générale ……...48**
**Références bibliographique……50**
**Annexes**

## Liste des Abréviations et symboles

| Abréviation | Signification |
|---|---|
| s/l | Solide/liquide |
| R | Rendement |
| T | Température |
| T | Temps |
| $P_S$ | Polarité de solvant |
| $V_S$ | Volume de solvant |
| $v_c$ | Vitesse de centrifugation |
| $t_c$ | Temps de centrifugation |
| $P_{av}$ | Poids avant l'évaporation |
| $P_{ap}$ | Poids après l'évaporation |
| ES | Extraction par Soxhlet |
| MO | Extraction par Micro-onde |
| APGII | Classification phylogénétique d'angiosperme II |

## Liste des tableaux


| Tableau | Titre du tableau | Page |
|---|---|---|
| ***Chapitre I : Généralité sur les biomasses étudiée*** | | |
| Tableau I.1 | Classification du grenadier | **9** |
| Tableau I.2 | Propriétés pharmacologiques des différentes parties du grenadier | **15** |
| ***Chapitre II : Modélisation et simulation d'étude cinétique d'extraction des polyphénols*** | | |
| Tableau II.1 | Principales classes des composés phénoliques | **21** |
| **Chapitre III : Etude expérimentale : Résultats et discussions** | | |
| Tableau III.1 | Matériels et produits utilisés | **34** |
| Tableau III.2 | Résultats de rendement | **39** |
| Tableau III.3 | Résultats de variation de ln (1-R) expérimental et théorique | **40** |
| Tableau III.4 | Résultats de rendement expérimental et théorique | **41** |
| Tableau III.5 | Souches microbiennes | **43** |
| Tableau III.6 | Test de sensibilité des souches étudiées de l'extrait | **45** |
| Tableau III.7 | Test de sensibilité des souches étudiées de leurs diluants d'extrait | **45** |


## Liste des figures


| Figure | Titre de la figure | Page |
|---|---|---|
| ***Chapitre I : Généralité sur Punica granatum L*** | | |
| Figure I.1 | Arbre de grenadier | **5** |
| Figure I.2 | Feuilles du grenadier | **6** |
| Figure I.3 | Fleur de grenadier | **7** |
| Figure I.4 | Fruit de grenadier | **7** |
| Figure I.5 | Graines du grenadier | **8** |
| Figure I.6 | Ecorces du grenadier | **8** |
| Figure I.7 | Fleurs et fruits du grenadier | **10** |

| | | |
|---|---|---|
| Figure I.8 | Punica granatum L et ses différents parties | **11** |
| Figure I.9 | Usages traditionnels du grenadier | **12** |
| ***Chapitre II : Modélisation et simulation d'étude cinétique d'extraction des composés phénoliques*** | | |
| Figure II.1 | Structure du noyau phénol | **19** |
| Figure II.2 | Structure de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique | **23** |
| Figure II.3 | Structure de base des flavonoïdes | **24** |
| Figure II.4 | Structure de base des principaux flavonoïdes | **24** |
| Figure II.5 | Structure chimiques d'un tanin condensé (a) et d'un tanin hydrolysables (b) | **25** |
| Figure II.6 | Extraction de Soxhlet | **26** |
| Figure II.7 | Principe du chauffage par microondes | **27** |
| Figure II.8 | Représentation schématique du phénomène de cavitation acoustique | **28** |
| **Chapitre III : Etude expérimentale : Résultats et discussions** | | |
| Figure III.1 | Plantes utilisées dans cette étude | **35** |
| Figure III.2 | Matière végétale séchée | **35** |
| Figure III.3 | Broyage de la matière végétale | **36** |
| Figure III.4 | Macération à différentes temps | **37** |
| FigureIII.5 | Opérations de filtration et de centrifugation | **37** |
| Figure III.6 | Evaporation rotatif | **38** |
| Figure III.7 | Récupération par méthanol | **38** |
| Figure III.8 | la variation de rendement en fonction de temps | **39** |
| Figure III.9 | la variation de ln (1-R) en fonction de temps | **41** |
| Figure III.10 | la variation de rendement expérimental et théorique | **42** |
| Figure III.11 | Déférentes étapes d'antibiogramme | **43** |

# *Introduction générale*

# Introduction générale

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent, pour la fourniture des médicaments traditionnels dans le système de soins de santé et aussi comme une source de nourriture pour la classe sociale aux faibles revenus et pour les communautés rurales **[1].** Parmi ces plantes médicinales très utilisées, nous retrouvons le grenadier.

Le fruit du grenadier (Punica granatum L) est largement utilisé en médecine traditionnelle. L'extrait d'épicarpe de grenade est riche en composés phénoliques. Cette composition lui a attribué plusieurs propriétés aussi bien dans le domaine médical que dans le domaine agroalimentaire. En fait, des études pharmacologiques ont confirmé que les extraits phénoliques de la grenade exercent diverses activités biologiques telles que les activités antioxydant, anti-inflammatoire, antidiabétique, antimicrobienne et anti-cancérigène **[2].**

Donc, l'objectif de notre travail est l'utilisation des écorces de Punica granatum L pour d'extraction des composés phénoliques à partir de la plante de grenade puis modélisation cinétique.

Pour ce faire, notre étude est divisée en deux parties :

- La première partie représente une revue bibliographique sur espèce utilisée *Punica granatuim L* ainsi que sur les polyphénols et leur méthode d'extraction, sur les modèles mathématiques de cinétique d'extraction.
- La deuxième partie englobe les différentes méthodes suivi et matériels utilisées au cours de notre travail expérimental ainsi que les résultats obtenus avec leurs interprétations.

En fin, nous terminons par une conclusion générale et quelques perspectives.

# *Chapitre I*

# *Généralités sur Punica granatum L (le grenade)*

## I.1.Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales représentent une source importante pour les populations rurales qui les utilisent comme un mode de traitement traditionnel **[3].**

Une plante est dite médicinale lorsqu'elle possède dans une ou plusieurs de ses parties des substances pouvant être utilisés à des finis curatives ou qui sont des précurseurs dans l'industrie chimio-pharmaceutique **[4].** La plante médicinale porte sur deux origines. Les plantes spontanées dites "sauvages" et les plantes cultivées **[5].**

### I.1.1. Intérêt de l'étude des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus **[6].**

La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maitrisés **[7].** Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicinales, directement comme agents thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutique ment actifs **[8].**

### I.1.2. Domaines d'application des plantes médicinales

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

- Utilisation en médecines en tant que médicament pour l'homme ; exemple : réduisaient le risque de nombreuses maladies chronique comme le cancer, les accidents vasculaires cérébraux et les coronaropathies.
- Une action sur le système nerveux, la circulation sanguine, une action antibiotique,… etc.
- En alimentation : assaisonnements, des boissons, des colorants et des composés aromatiques. Les épices et les herbes aromatiques.

- En cosmétique : des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène. Des suppléments diététiques **[9].**

### I.1.3. Les avantages des plantes médicinales

Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable : c'est l'un de leurs principaux avantages. De plus, l'action synergique des divers constituants commence à être mieux comprise et acceptée scientifiquement **[8]**, contrairement à certaines croyances populaires, plusieurs plantes ont des effets pratiquement immédiats sur le métabolisme, Par contre, les médicaments de synthèses ont souvent une action plus directe et plus spectaculaire puisqu'ils sont formulés pour être immédiatement assimilés par l'organisme **[10].**

### I.1.4. Les inconvénients des plantes médicinales

Certaines plantes sont inoffensives, mais d'autre, comme de nombreuses espèces (digitale, belladone, colchique, etc…), sont toxiques et ne sont utilisées sous des formes bien contrôlées, exclusivement commercialisées en pharmacie. L'emploi inconsidéré de plantes cueillies dans la nature peut aboutir à des intoxications graves et mortelles **[11].**

## I.2. Présentation de la famille Lythraceae

### I.2.1. Généralités sur les Lythraceaes

La famille des Lythraceaes est une famille de plantes dicotylédones qui 620 espèces. Ce sont des arbres ou des vivaces ou annuelles, dont certaines sont aquatiques **[12].**

### I.2.2. Description botanique de la famille Lythraceae

#### I.2.2.1.Appareil végétatif

Ce sont des arbres, des arbustes (région tropicales) ou des herbes (région tempérées), à feuilles en général opposées ou verticillées, simples, entières, à nervation pennée, à stipules réduites ou nulles.

Tige et feuilles possèdent du phloème interne **[13].**

#### I.2.2.2. Appareil reproducteur

**A. Inflorescence**

C’est un épi lâche de petites cymes chez la salicaire.

**B. Fleur**

Elle est régulière ou parfois zygomorphe, à hypanthium bien développé, hermaphrodite, mais le genre Capuronia de Madagascar est dioïque.

- Le périanthe :
  - Les sépales sont au nombre de 4 à 8, libre ou légèrement soudés, valvaires, parfois épaissis.
  - La corolle possède 4 à 8 pétales, imbriqués, chiffonnés dans le bouton, mais parfois ils sont absents.
- L'androcée est en principe diplostémone, mais le nombre des étamines peut varier de 4 à beaucoup, avec des filets de longueurs différentes.
- La pollinisation est entomophile. Des nectaires sont fréquents à la base de l'hypanthium.
- Le gynécée comporte 2 à 6 carpelles, voire davantage, formant un ovaire généralement supère, à placentation axile. Le nombre d'ovules par loge est variable.
- Les fleurs de LYTHRACEAE sont remarquables par leur hétérostylie fréquente. Ainsi la Salicaire, Lythrum salicaire L. présente tous les types possibles d'associations entre étamines à filet court, moyen ou longe, avec des styles courts, moyens ou longe, ce qui laisse la possibilité à18 combinaisons.

**C. Fruit**

C'est en générale une capsule, à déhiscence variable, plus rarement une baie (cor tiquée chez punica, les Grenadier). La graine est plus ou moins aplatie, parfois ailée, ex albuminée. **[13]**

## I.3. Etude botanique de la grenade

### I.3.1. Origine de nom

La grenade (*Punica granatum L*) (PGL), en latins *Promus* et *Granatus*, ce qui signifie une tête de série ou de pomme granulaire, originaire de l'Iran à l'Himalaya dans le nord de l'Inde, où elle a été cultivée depuis des milliers d'années. Il y a plus de 1000 cultivars de *Punica granatum*, qui sont passés de l'Iran, à l'est en Chine et en Inde et à l'ouest par la région méditerranéenne, sur le sud-ouest américain, la Californie et le Mexique **[14]**.

La grenade est globalement cultivée dans de nombreuses régions géographiques, en répondant aux besoins nutritionnels et médicinales des populations des différents pays comme l'Iran, l'Inde, l'Egypte, la Chine, Israël, la Tunisie, la Syrie, le Liban, la Turquie, la Grèce

Chypre, l'Italie, la France, l'Espagne, le chili, le Portugal, les Etats-Unis, Oman et plus récemment en Afrique du Sud. **[15]**.

### I.3.2. Noms vernaculaires

La grenade est connue par plusieurs noms, parmi eux on cite **[16]**.

**En Arabe** : Romman

**En Français** : Grenadier « Fruit: Grenade»

**En anglais** : Pomegranate

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

**En espagnol** : Granado coltivado, Mangrano.

**En italien** : Granato.

**En chinois** : Ngan Che Lieou, Shi Liu.

### I.3.3. Description botanique

Le grenadier (*Punica granatum)* est un arbuste des régions méditerranéennes qui peut Atteindre 6m de haut (Figure I.1). Le grenadier peut être divisé en plusieurs compartiments anatomiques comme la graine, la peau, le jus, la fleur, la feuille, l'écorce et les racines, dont chacun a des activités pharmacologiques intéressantes **[17].** La composition chimique des fruits varie selon le cultivateur, la région de culture, le climat, la maturité, la pratique culturelle et le stockage.



**Figure I.1 : Arbre du grenadier**

### I.3.3.1. Feuilles

Les feuilles du grenadier sont opposées et peuvent avoir une disposition alternée sur les rejets ou être en touffes sur les pousses courtes. Elles sont glabres sur les deux faces. La face supérieure est d'un vert foncé et à nervure médiane nettement déprimée alors que la face inférieure est un vert clair, avec une nervure médiane très saillante (Figure I.2).

Ces feuilles entières, la ncéolées, assez coriaces et brillantes, présentent un limbe elliptique allongé, de 3 à 8 cm de long, de sommet obtus ou allongé et munies d'un court pétiole rougeâtre de 1 à 5 mm de long **[18].**



**Figure I.2 :** Les feuilles du grenadier

### I.3.3.2. Fleurs

Les fleurs axillaires, solitaires ou parfois disposées par deux, présentent un calice épais, Coriace, tubuleux et turbiné à 6 lobes triangulaires. La corolle d'un rouge éclatant est formée De 5 à 7 pétales ovales. Les étamines sont très nombreuses en plusieurs séries. L'ovaire est libre ou sommet, divisée dans sa partie supérieure en 6 à 7 loges rayonnantes et dans sa partie inferieure en 3 à 4 loges **[19].** Les fleurs de grenadier, simples dans le grenadier Sauvages, sont doubles dans le grenadier cultivé. Elles sont appelés aussi balaustes **[Cazin, 1868].** (Figure I.3).



**Figure I.3 : Fleur du grenadier**

### I.3.3.3. Fruits

Le fruit est arrondi de la grosseur d'une pomme, couvert d'une écorce d'une couleur brune rouge être contenant en grande quantité des substances pulpeuses **[20].**

(Figure I.4). Le fruit est couronné par le calice persistant. Le sommet de cette couronne est Presque fermée à largement ouverte, en fonction de la variété et du stade de maturation. Le fruit est relié à l'arbre par une courte tige **[21].**



**Figure I.4 : Fruit grenadier**

### I.3.3.4. Graines

C'est la partie comestible de la grenade. Les graines sont très nombreuses, anguleuses, à téguments externes épais charnues pulpeux, rougeâtres, sucrés et légèrement acide **[19].** Ces graines sont contenues dans des loges séparées par des cloisons (Figure I.5).



**Figure I.5 : graines de la grenade**

### I.3.3.5. Ecorce de fruit

L'écorce, appelée aussi malcicorium est la partie externe et dure du fruit. Généralement, elle est utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtres sur la face extérieure, brillants et jaunâtres sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient appliquées (Figure I.6). Son épaisseur est de 1 à 1.5 millimètre environ et sa saveur est amère **[22].**

Les flavonoïdes et les tanins sont plus abondants dans les écorces de fruits sauvages que dans Les fruits cultivés **[13].** 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).



**Figure I.6 : Les écorces du grenadier**

### I.3.4. Classification botanique

Le grenadier, *Punica granatum*, a été décrit par **Linné** et introduit dans sa classification en **1753**. Cette classification est décrite dans le tableau I.1 :

**Tableau I.1 :** Classification du grenadier

| | |
|---|---|
| **Embranchement** | Spermaphytes |
| **Sous-embranchement** | Angiospermes |
| **Classe** | Magnoliopsida |
| **Ordre** | Myrtales |
| **Famille** | Punicaceae |
| **Genre** | Punica |
| **Espèce** | Punica granatum |

Cette classification a été révisée en **2003**, donnant naissance à la classification phylogénétique **APGII,** qui comporte 457 familles réparties dans 45 ordres. Au sein de cette classification, la position du grenadier est décrite dans le tableau I.2 :

**Tableau I.1 :** Classification du grenadier

| | |
|---|---|
| **Embranchement** | Spermaphytes |
| **Sous-embranchement** | Angiospermes |
| **Classe** | Rosidées |
| **Ordre** | Myrtales |
| **Famille** | Punicaceae |
| **Genre** | Punica |
| **Espèce** | Punica granatum |

que la famille des Punicaceaes n'existe plus et le grenadier appartient alors à la famille des Lythracées, famille comportant 30 genres et 600 espèces **[3].**

## I.4. Compositions biologiques de grenade

### I.4.1.Compositions biologiques

Déjà au XIXème siècle, le *punica granatum L* suscite un intérêt chez les chercheurs qui, avec des moyens très rudimentaires, ont ainsi mis en évidence certains principes actifs de cet arbre, tels que la pelletiérine. Grâce aux relativement récents procédés d'analyse chimique, comme les techniques de chromatographie, de résonance magnétique ou encore de spectrométrie de masse, il a été possible d'identifier avec précision la composition des différents organes du grenadier **[22].**

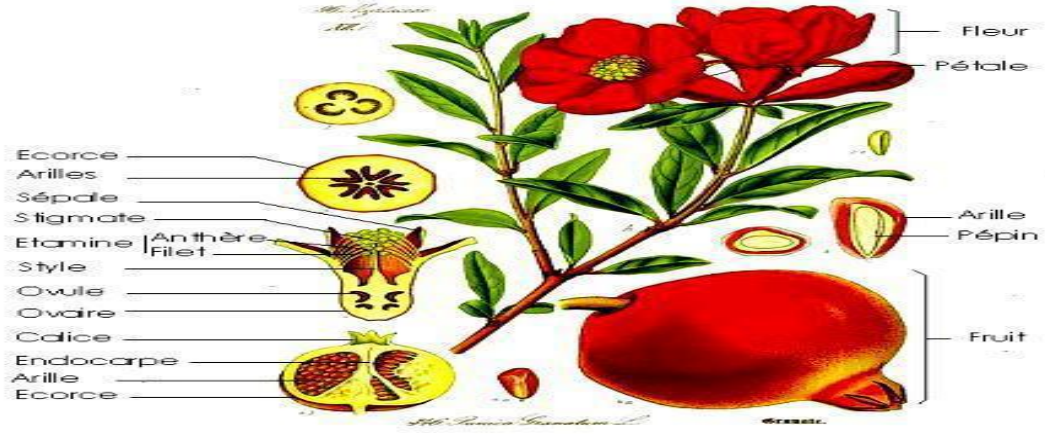



**Figure I.7 :** Les fleurs et fruits du grenadier (Punica granatum L).

### I.4.2.Compositions chimiques

L'écorce de grenade est une source très importante de composés bioactifs tels les polyphénols, les flavonoïdes, les ellagitanins (28% de l'épiderme du fruit), les proantocyanidines et les minéraux, essentiellement du potassium, de l'azote, du calcium, du phosphore, du magnésium et du sodium **[23].** L'écorce de grenade se compose également, d'acides gras, de catéchines, de quercétines et de rutines **[24].** Toutefois, les flavonoïdes et les tanins sont plus abondants dans l'écorce de fruit sauvage que dans celle des plantes cultivées **[25].**

En outre, l'écorce du fruit contient également deux importants acides hydroxybenzoiques, l'acide gallique et l'acide ellagique, Elle renferme aussi des molécules de coloration jaunes et des anthocyanidines ; responsables de la couleur rouge des grenades **[26].**

Cette composition lui a conféré plusieurs propriétés aussi bien dans le domaine médical que le domaine agroalimentaire **[27].**

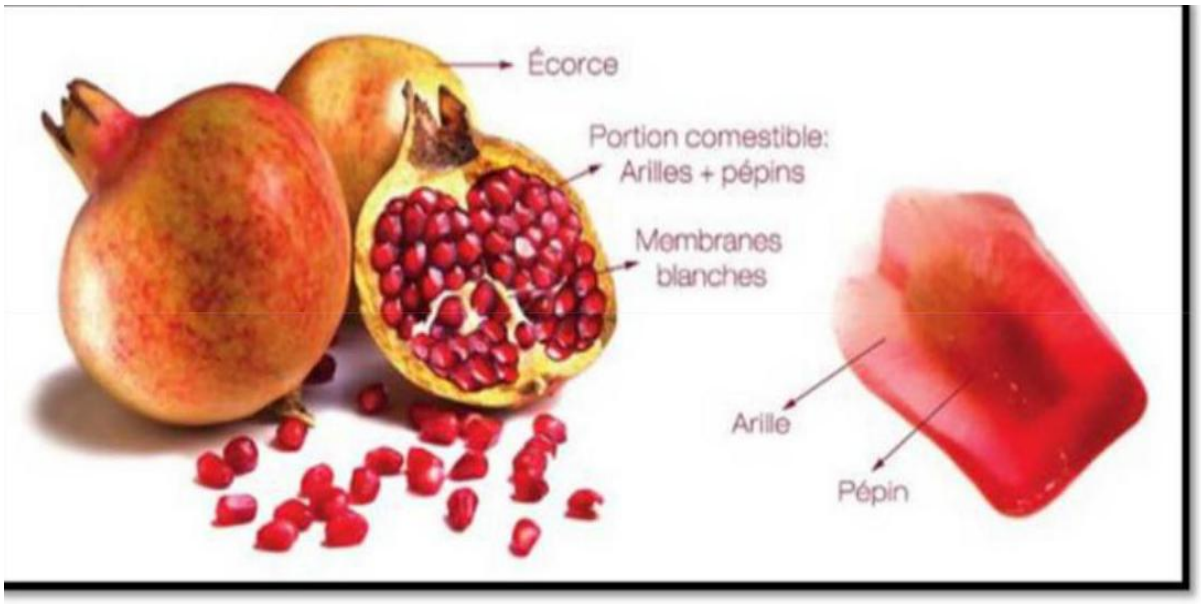



**Figure I.8 :** Le *Punica granatum L* et ses différentes parties

## I.5.Utilisation de grenadier

### I.5.1.Utilisation traditionnelle

A de soit traditionnellement utilisée dans l'alimentation courante, les différentes parties du grenadier sont utilisées en médecine traditionnelle dans plusieurs pays dans le monde depuis des centaines d'années. Grace aux recettes de grand-mères, cet arbre représente un candidat potentiel dans le cadre du développement de nouvelles stratégies préventives de l'apparition des diverses pathologies. D'autres utilisations sont également présentes comme les teintures naturelles, la décoration et en cosmétique **[33]** (Figure I.9).

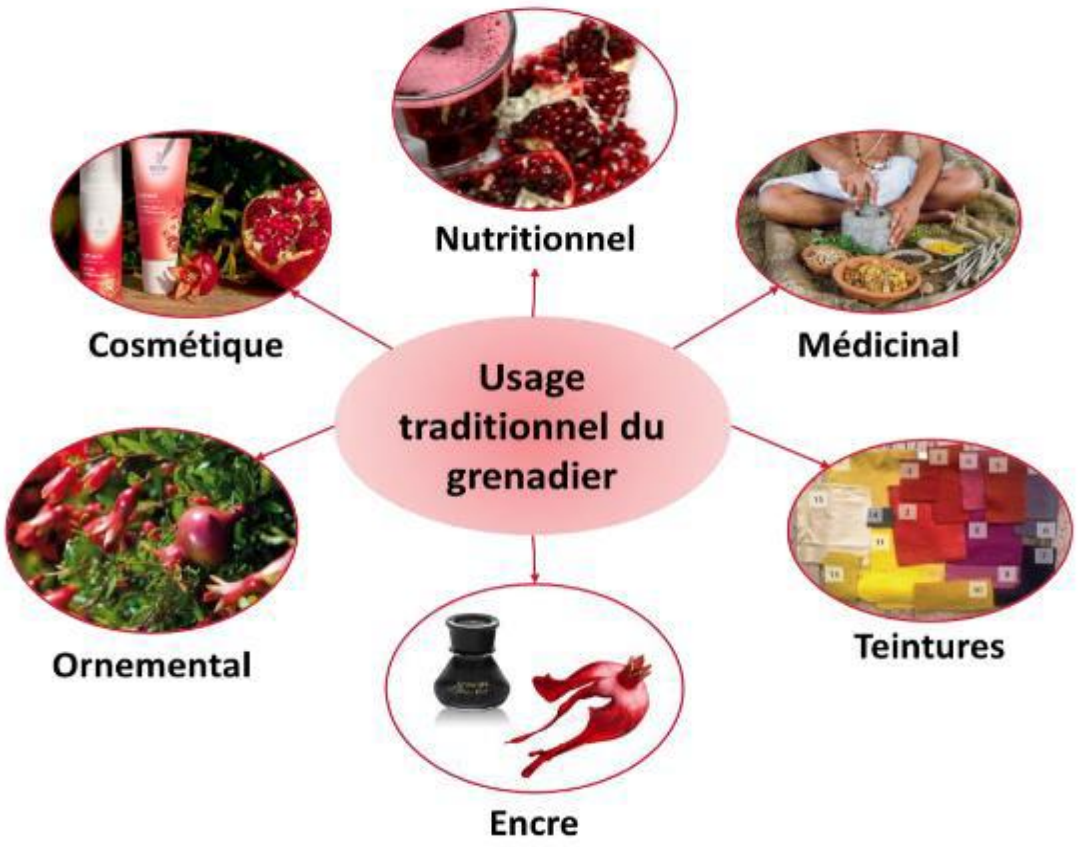



**Figure I.9 : usages traditionnels du grenadier**

### I.5.2.Utilisation de la grenade dans les produits cosmétiques

Plusieurs tests démontrent la capacité des polyphénols et particulièrement de l'acide ellagique et de ses dérivés, composés présents dans le jus et la peau des grenades, à lutter contre la pollution urbaine **[28].**

Une étude a permis de montrer que l'application d'un extrait d'écorce de grenade, suite à une coloration capillaire, tend à optimiser son maintien au cours de lavages successifs. Il semble que la richesse de l'écorce de grenade en tanins, environ 60% de l'extrait, soit responsable de cette capacité à préserver les couleurs et ainsi d'éviter l'usage trop fréquent de colorants sur les cheveux **[25]**.

Une étude, réalisée par une équipe de chercheurs indiens, **[29]**, a étudié les effets d'extraits méthanoïques de peau de grenades sur la cicatrisation de plaies cutanées chez des rats de la variété Wistar. Cette étude a montré que la peau de grenade permet d'aider à la cicatrisation de blessures cutanée.

### I.5.3. Utilisation en agroalimentaire

Nous citons ici quelques utilisations dans le domaine alimentaire.

#### I.5.3.1. Conservation des produits carnés

Des études expérimentales ont montré que l'extrait de la poudre de la peau de grenade (EPPG) peut être utilisé comme conservateur naturel dans les produits carnés. Dans ces études Listeria monocytogenes a été utilisée comme référence. Dans une évaluation préliminaire par la méthode de diffusion sur disques la peau de grenade a montré un effet inhibiteur contre les cinq espèces étudiées, la sensibilité de ces souches est classée par ordre croissant comme suit: Listeria monocytogenes, Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Escherichia coli et Staphylococcus aureus.

Aucune cellule viable de Listeria monocytogenes n'a été détectées après incubation dans un bouillon (BHI) en présence de (7,5% v/v) de la peau de grenade liquide, équivalent 24,7 mg de matière sèche peau de grenade par millilitre (PG/ml). Cette concentration a été considérée comme la Concentration minimale bactéricide de l'extrait de la peau de grenade testé **[30].**

#### I.5.3.2. Stabilisation de l'huile de tournesol

Une étude récente a démontré que l'extrait méthanoïque de la peau de grenade améliore la stabilité oxydative de l'huile de tournesol, à différentes concentrations. L'extrait de la peau de grenade à des Concentrations de 800 à 850 ppm, a une efficacité de stabilisation comparable aux antioxydants synthétiques classiques, à savoir le BHT à sa limite légale (200 ppm) **[31].**

#### I.5.3.3. Formulation d'un jus moins sucré

Une étude réalisée par [**32]** a porté sur la formulation d'un jus et d'une gelée de jus de grenade additionné d'un extrait de l'écorce. Les résultats montrent que la additionnée de l'extrait de l'écorce présente des propriétés rhéologiques similaires à celles des gelée commerciales. Ainsi, un jus de grenade moins sucré, pauvre en calories a été fabriqué, par l'ajout de l'extrait de l'écorce de grenade, ce jus est riche en antioxydants tout au long de la période de conservation (08 semaines).

## I.6.Propriétés thérapeutiques de grenadier

### I.6.1. Propriétés anti-inflammatoires

Les polyphénols de grenade présentent une activité anti-inflammatoire en modulant le métabolisme des eicosanoïdes qui sont des substances formées à partir des acides gras jouant un rôle pré-cancérigène et cancérigène et ceci en inhibant la synthèse des médiateurs pro inflammatoires intracellulaires come NF-KB et les MAP-Kinase qui sont responsables de L'arthrite rhumatoïde **[34].**

### I.6.2. Propriétés antibactériennes

L'étude réalisée par a révélé l'efficacité des extraits de *Punica granatum* sur les souches bactériennes telles que *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Eshirichea coli*. Ce résultat favorise l'utilisation de grenade dans la médecine traditionnelle **[35].**

### I.6.3. Propriétés antioxydants

La grenade possède un pouvoir antioxydant puissant responsable de la neutralisation des radicaux libres et la diminution du stress oxydatif. Ont démontré que le jus de grenade possède une activité antioxydante trois fois supérieure à celle du vin rouge et du thé vert en utilisant quatre méthodes d'évaluation différentes (DPPH, ABTS, DMPD et FRAP). Les anthocyanes, les dérivés d'acide ellagique et les tanins hydrosolubles ont été détectés et quantifiés dans le jus de grenade **[36].**

### I.6.4. Propriétés antiseptiques

Une autre étude publiée par **[37]**, a révélé l'efficacité de l'extrait éthanoïque de l'écorce de grenade dans le traitement des plaies infectées par des champignons chez les lapins, prouvant la propriété antiseptique de l'écorce de grenade. Egalement, l'extrait iso flavonoïdes de l'écorce de grenade peut avoir un effet significatif sur l'amélioration des paramètres reproductifs chez les males des lapins.

## I.7. Propriétés pharmacologiques de grenade

Toutes les parties du fruit du grenadier semblent avoir des propriétés thérapeutiques. Certaines études rapportent que l'écorce, les racines, les feuilles, les fleurs et le tronc ont des effets médicinaux bénéfiques sur certaines pathologies (Tableau I.3).

**Tableau I.3 :** Propriétés pharmacologiques des différentes parties du grenadier

| Partie de la plante | Activité / effet | Résultats de l'étude | Références |
|---|---|---|---|
| Ecorces | Activité antimicrobienne | L'écorce du fruit de *Punica granatum* possède donc, *in vitro*, une activité antibactérienne. La combinaison unique des tanins et des alcaloïdes issus de cette écorce, ainsi que leur action synergique, expliquent probablement cette activité antibactérienne non retrouvée dans d'autres fruits également riches en tanins et alcaloïdes. | **[35]** |
| Graines et écorces | Activité Antidiabétique | L'extrait des graines et d'écorces a montré une réduction de l'augmentation de la glycémie induite par l'alloxane. L'extrait d'écorce a présenté une activité significativement meilleure que l'extrait de graines. | **[38]** |
| Ecorces | Protection contre la néphrotoxicité | L'administration d'écorce de fruits a montré une amélioration notable des anomalies liées à la néphrotoxicité. | [**39**] |
| Jus et graines | Activité antioxydant | Des études *in vitro* ont démontré que le jus de grenade et les extraits de graines du grenadier ont 2 à 3 fois la capacité antioxydante du thé vert ou du vin rouge enpiégeant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif des macrophages et la peroxydation lipidique chez les animaux. | **[40]** |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ecorce | Activité anti-inflammatoire | L'extrait de fruits de grenadier riche en polyphénols a montré son action inhibitrice de la production induite par la cytokine inflammatoire IL-1β de PGE2 et la production de NO dans les chondrocytes, cet effet inhibiteur c'est élargi sur l'activité enzymatique à la fois de COX-1 et COX-2 in vitro, mais l'effet a été plus prononcé sur l'activité enzymatique de l'enzyme COX-2. | **[41]** |
| Ecorce | Activité antiseptiques | l'efficacité de l'extrait éthanoïque de l'écorce de grenade dans le traitement des plaies infectées par des champignons chez les lapins, prouvant la propriété antiseptique de l'écorce de grenade. Egalement, l'extrait iso flavonoïdes de l'écorce de grenade peut avoir un effet significatif sur l'amélioration des paramètres reproductifs chez les males des lapins. | **[42]** |
| Ecorce | Activité antifongique | un pouvoir inhibiteur considérablement élevé a été attribué à l'extrait éthanolique de l'écorce de grenade contre l'ascocyhta rabiei (pass) labr. et fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici. | **[43]** |
| Jus | Activité anti-HIV | Le jus de grenade contient plusieurs ingrédients, comme l'acide caféique acide ursolique, catéchines et quercétine qui ont été déclarés avoir une activité anti-VIH (pouvoir inhibiteur de gp120-cd4). | **[44]** |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ecorce | Activité anti diarrhéique | L'extrait aqueux de l'écorce de la grenade est riche en tanins, flavonoïdes et alcaloïdes.il présente une activité contre la diarrhée, ce résultat a validé l'ancienne utilisation de l'écorce de grenade comme un anti diarrhéique naturel. | **[42]** |
| Ecorce; jus et pépins | Activité anticancéreux | L'acide ellagique, l'acide caféique, la luteoline et l'acide punicique, sont tous des composés avec des actions anticancéreuses connues. Le jus fermenté, l'écorce de grenade, et l'huile de pépins de grenade, lorsqu'ils sont combinés, cet ensemble Inhibe la prolifération, l'invasion et la sécrétion de phospholipase A2 (sPLA2) dans le cancer de la prostate. | **[45]** |

# *Chapitre II*

# *Modélisation et simulation d'étude cinétique d'extraction des composés phénoliques*

## Introduction

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal étant trouvé dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiée **[46]**.Allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins **[47]**. Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences).

Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) **[48]**.

De nombreuses études sont en faveur d'un impact positif de leur consommation sur la santé. En effet, les polyphénols pourraient permettre de prévenir de nombreuses pathologies comme le cancer **[49],** les maladies dégénératives et cardio-vasculaires **[50].** Un encouragement à la consommation d'aliments d'origine végétale riches en composés phénoliques constitue désormais une des principales recommandations en santé publique. Parmi les antioxydants végétaux, les composés phénoliques apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme **[51].**

# II.1. Composés phénoliques

## II.1.1 Définition

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénolique » regroupe un vaste en ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) **[52].**

## II.1.2. La structure des composés phénoliques

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) **[53].** Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés **[54].**

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Figure II.1), au quel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside **[55].**

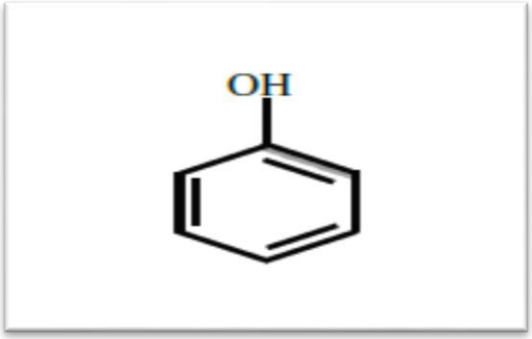



**Figure II.1:** Structure du noyau phénol **[56].**

## II.1.3. Rôle des composés phénoliques

Les composés phénoliques en particulier les flavonoïdes sont impliqués dans un certain nombre de fonctions **[57]**:

- ✓ Ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les pollinisateurs et les disperseurs de graine.
- ✓ Représentent un système de défense contre les organismes micro pathogènes,
- ✓ Protègent les plantes contre les radiations UV en absorbant à la fois ces radiations et les espèces réactives de l'oxygène formées.
- ✓ Interviendraient dans la fertilité des plantes et la germination du pollen.

### II.1.4. Propriétés chimiques des composés phénoliques

Les propriétés chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à celles des noyaux phénoliques. Ceux-ci sont généralement des noyaux riches en électrons, à cause des effets donneurs des groupements hydroxyles. Les propriétés chimiques qui en découlent sont diverses et variées : réaction de Pechman (formation d'une coumarine), réaction de Mannich (Formation d'amine) …etc. **[58]**.

### II.1.5. Propriétés biologiques des composés phénoliques

#### II.1.5.1. Activité antibactérienne

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéo-muqueux **[59]**. Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire **[60]**.

#### II.1.5.2. Activité antioxydant

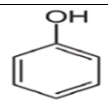
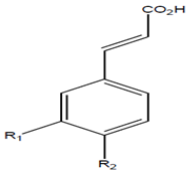
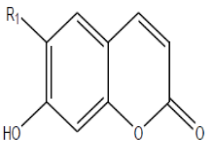
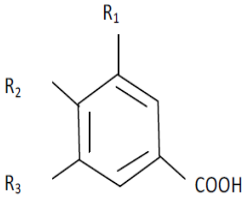
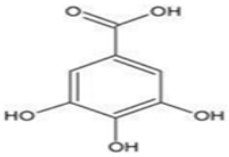
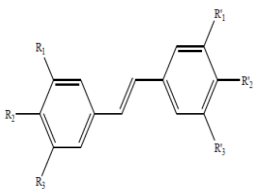
Comme la vitamine C et les caroténoïdes, les polyphénols ont la capacité de piéger les radicaux libres, générés en permanence par notre organisme ou formés en réaction à des agressions de notre environnement (tabac, polluants, infections …). Quand ils sont ingérés avec les aliments, ils renforcent nos défenses naturelles en protégeant nos cellules et nos tissus contre le stress oxydant **[61]**.

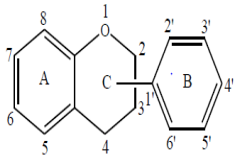
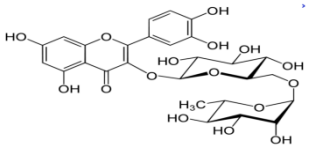
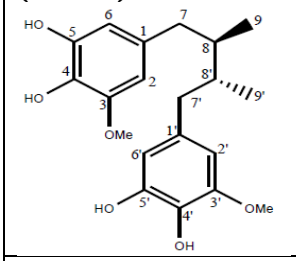
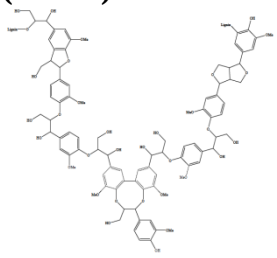
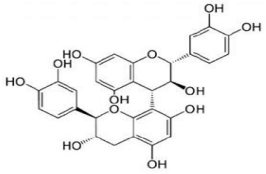
Les flavonoïdes, peuvent empêchés les dommages oxydatifs par différentes mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes **[62]** ; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres **[63].** Concernant le pouvoir antioxydant des tannins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols **[64]**. Les autres composés phénoliques qui possédant les activités antioxydants et anti radicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique **[65].**

### II.1.6. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols peuvent se regrouper en deux grands groupes : Les non flavonoïdes dont les principaux composés sont : les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les lignines les coumarines et les tanins **[66]** et les flavonoïdes**,** dont on caractérise principalement : les flavones, flavanones, flavonols, isoflavonones, anthocyanines, proanthocyanidines et flavanols **[67]**. Le Tableau II.1 représente les principales classes des composés phénoliques, où les symboles $R_i$ représentent des radicaux alkyles.

**Tableau II.1 :** Principales classes des composés phénoliques **[68]**.

| **Squelette Carboné** | **Classe** | **Exemple** | **Origine (exemple)** |
|---|---|---|---|
| **C6**  | Phénols simple | Catéchol | |
| **C6–C3** | Acides hydroxycinnamique  | Acide caféique, acide férulique | Pomme de terre Pomme |
| | Coumarines  | Scopolétine, esculétine | Citrus |
| **C6–C3**  | Acides hydroxybenzoïques | Acide gallique  | Ecorce de grenade |
| **C6-C2-C6**  | Silènes | Resvératrol | Vigne |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | Flavonoïdes<br>-Flavonols<br><br><br><br>-Anthocyanes<br>-Flavonals<br>-Flavanones<br>-isoflavonols | Rutine<br><br><br>Cyanidine, pélargonidine<br>Catéchine, épicatéchine<br>Naringénine<br>daidzéine | Fruits,légumes, fleurs<br><br><br><br>Fleurs, Fruits rouges<br>Pomme, raisin<br>Citrus<br>soja |
| **(C6-C3)2**<br> | Lignanes | Pinorésinol | Pin |
| **(C6-C3) n**<br> | Lignines | | Bois, noyau de fruits |
| **(C15)n** | Tanins | Tanins *condensés*<br><br><br>Tanins hydrolysables | Raisin rouge, Kaki |

### II.1.7. Principaux composés phénoliques

#### II.1.7.1. Les acides phénoliques

Le terme acide-phénolique regroupe tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique **[69].** Ces composés peuvent être divisés en deux types principaux, dont les acides hydroxybenzoiques et les acides hydroxycinnamique dont les structures de base sont respectivement de type C6 – C1 et C6 – C3 (Figure II.2) **[70].**

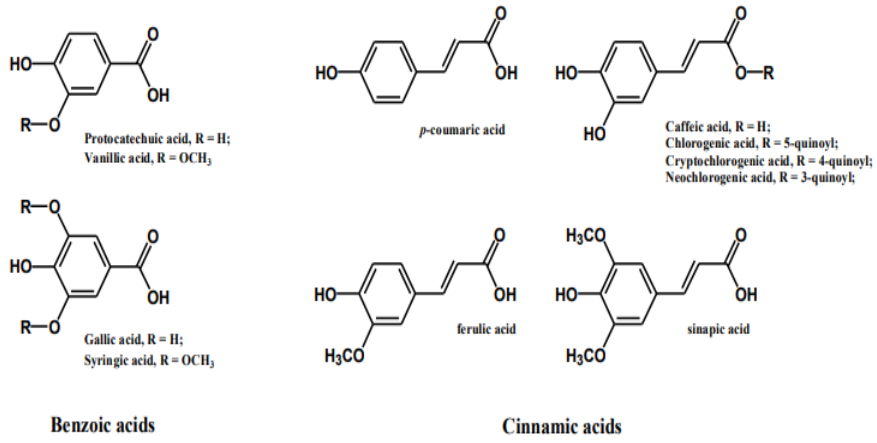



**Figure II.2 : Structure de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique [70].**

#### II.1.7.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composés poly phénoliques les plus abondants. Ils forment un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universelles chez les végétaux, et qui sont considérés comme des pigments responsables de couleur jaune **[71].**

Ces composés sont largement distribués dans l'alimentation quotidienne, dont les fruits, les légumes et le thé **[72].** Les flavonoïdes ont des structures composés de deux cycles aromatiques reliés par trois atomes de carbone dans un hétérocycle oxygéné (Figure II.3) **[73].**

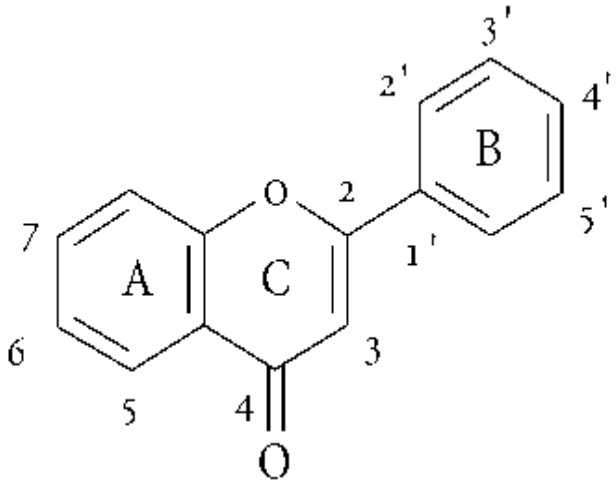



**Figure II.3 : Structure de base des flavonoïdes [70].**

Les classes des flavonoïdes diffèrent par le niveau d'oxydation et le modèle de substitution du cycle C, tandis que les différents composés au sein de chaque classe diffèrent par les modèles de substitution des cycles A et B **[74].** Ces substitutions peuvent inclure : la glycosylation, la methoxylation, l'hydroxylation et la sulfatation (Figure II.4) **[75].**

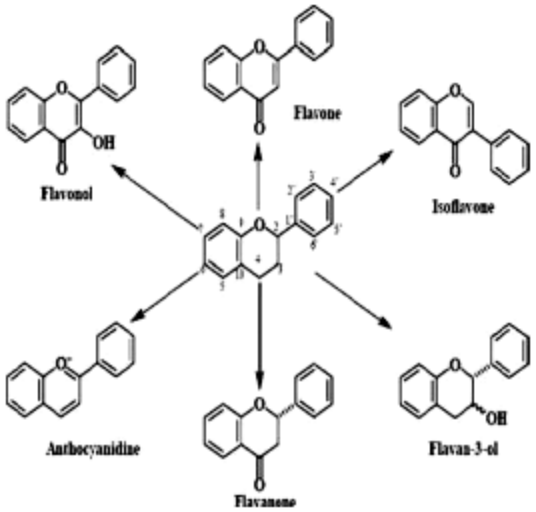



**Figure II.4** : **Structure de base des principaux flavonoïdes [75].**

### II.1.7.3. Tanins

Les tanins représentent un groupe de composés phénoliques polymériques ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da, et possèdent aussi la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les autres protéines **[76].**

Il existe deux classes des tanins (Figure II.5) **:**

✓ Les tanins hydrolysables qui sont constitués d'une molécule glucidique sur laquelle est estérifiée l'acide gallique ou un de ces dérivés (acide ellagique, acide m-digallique). L'hydrolyse des tanins hydrolysables se fait par voie enzymatique ou chimique **[77].**

✓ Les tanins condensés ou proanthocyanidols sont des polymères flavaniques constitués d'unité de flavan-3-ols **[78].**

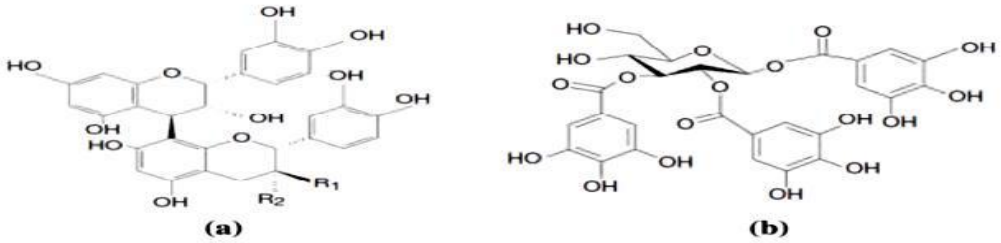



**Figure II.5 : Structures chimiques d'un tanin condensé (a) et d'un tanin Hydrolysables (b).**

## II.2. Techniques d'extraction des polyphénols

### II.2.1. Techniques classiques

Les techniques classiques pour l'extraction par solvants de molécules actives à partir des matrices végétales sont basées sur le choix du solvant couplé à la température et/ou à l'agitation. Les techniques classiques existantes permettant d'extraire ces principes actifs incluent : Soxhlet, l'hydrodistillation et la macération avec un mélange alcool-eau ou une graisse chaude **[79]**.

#### II.2.1.1. Macération

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voire plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Egalement utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude **[80]**. Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition **[81]**.

### II.2.1.2. Soxhlet

L'extraction par l'appareil Soxhlet (nous allons l'appeler simplement Soxhlet) est une méthode simple et convenable nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée (Figure II.6) **[82]**. Cependant, le Soxhlet possède quelques désavantages comme, par exemple, le temps d'extraction relativement long, la possibilité de dégradation des composés à cause d'une surchauffe locale, le choix limité du solvant, les difficultés d'utilisation de mélanges de solvants, etc.

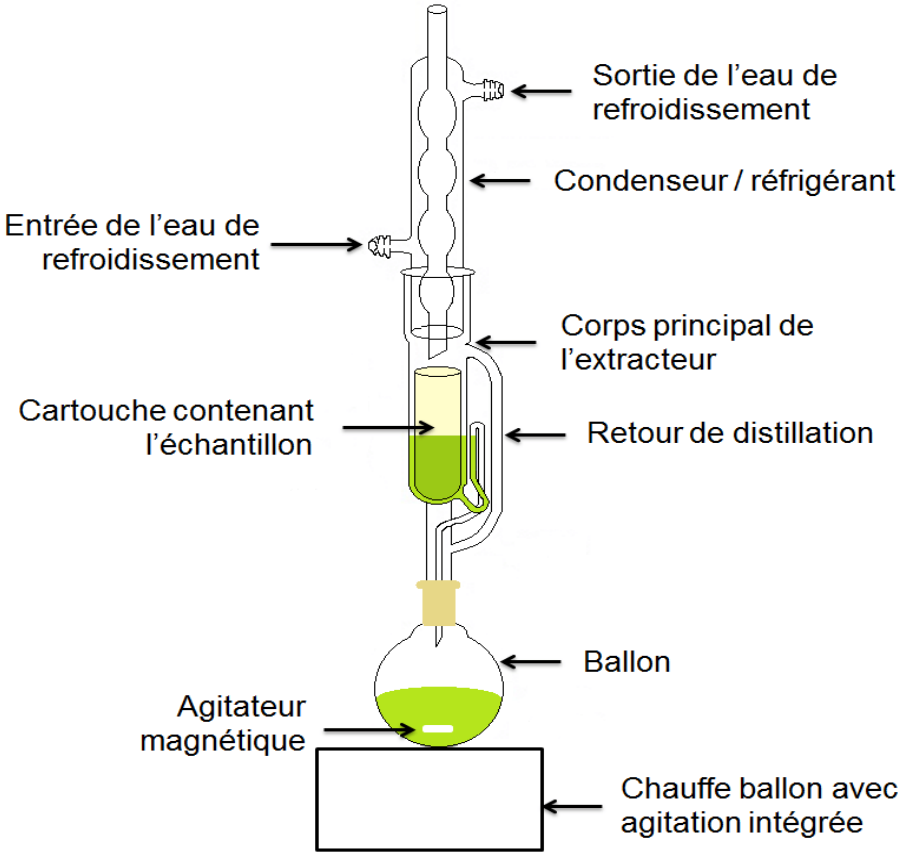



**Figure II.6:** Extracteur de Soxhlet

### II.2.2 Techniques alternatives

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

Une demande croissante de nouvelles techniques d'extraction permettant de réduire à la fois, le temps d'opération, la consommation de solvant et la quantité d'effluents. Les techniques modernes telles que l'extraction assistée par micro-ondes ou ultrasons, l'extraction par fluide supercritique et l'extraction par solvant accélérée sont des techniques rapides et efficaces pour extraire des composés chimiques des matrices solides de plantes. Ces techniques peuvent fonctionner à haute température et/ou haute pression améliorant nettement le but de palier la cinétique d'extraction **[80]**.

### II.2.2.1. Extraction Assistée par Micro-onde (EAM)

L'EAM est une nouvelle technique d'extraction utilisée pour extraire des polyphénols et des tanins, et pour extraire les acides phénoliques et les flavonoïdes (Figure II.7). Son principe consiste en la propagation des radiations électromagnétiques dans le matériau, pour atteindre les molécules polaires présentes dans la matière d'extraction. Ces molécules génèrent de la chaleur qui chauffe le matériau à cœur. Les radiations se propagent sous forme de vagues avec des fréquences allant de 0,3 à 300 GHz **[83].** La pression élevée provoque la rupture des cellules, ce qui facilite la pénétration du solvant **[84].** L'EAM présente l'intérêt d'être une source d'énergie contrôlable de façon instantanée et réglable avec précision. Elle permet d'accélérer la cinétique d'extraction et de réduire le ratio solvant/charge, ce qui permet de préserver les composés les plus thermolabiles des réactions de dégradation traditionnelles. De plus, en raison de la rapidité du procédé, il y a une augmentation de la sélectivité de l'extraction par rapport à la méthode traditionnelle **[85]**.

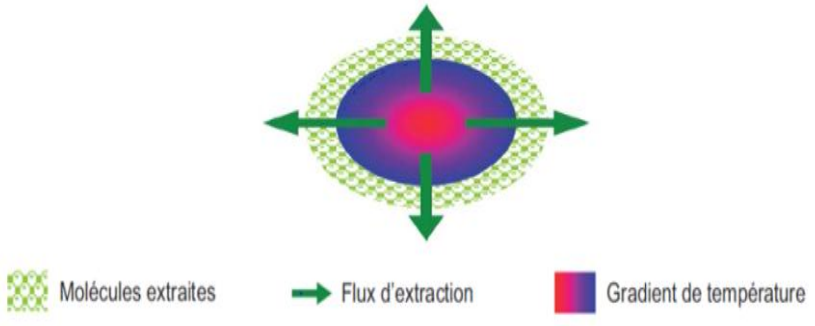



**Figure II.7 :** Principe de chauffage par microondes **[86]**

### II.2.2.2. Extraction assistée aux ultrasons

L'extraction par ultrasons est une méthode simple, efficace et peu couteuse. Ses avantages les plus significatifs sont liés à l'augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique par rapport à une extraction classique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Cette technique est facile à mettre en œuvre. Comme le Soxhlet, l'extraction par ultrasons permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels.

Cependant, l'effet de l'extraction par ultrasons sur le rendement et la cinétique d'extraction est lié à la nature de la matrice végétale **[87]**.Le principe de cette procédure est illustré dans (la figure II.8).

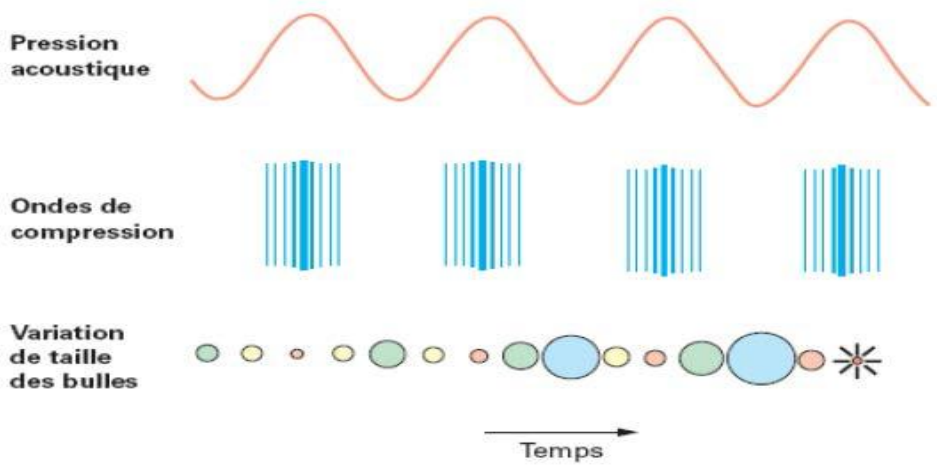



**Figure II.8 :** Représentation schématique du phénomène de cavitation acoustique **[88].**

L'ultrason fait référence aux ondes sonores qui génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. À la différence des ondes électromagnétiques, les ondes sonores peuvent se propager dans une matière et elles impliquent des cycles d'expansion et de compression lors de la propagation dans le milieu. L'expansion peut créer des bulles qui se forment, se développent et s'effondrent dans un liquide. Près d'une surface solide, l'effondrement de cavité est asymétrique et produit un jet de liquide à grande vitesse **[89]**. Ce phénomène est appelé la cavitation acoustique.

## II.3. Modèles Mathématiques de cinétique d'extraction

### II.3.1. Méthode d'Ana (2007)

Dans cette étude, la cinétique d'extraction liquide solide proposée par Ana et al **[90]** a été étudiée comme le montre de l'équation (6)

$$C(t) = C_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 t} \quad (6)$$

Où :

$C(t)$ : Le poids de l'huile essentielle produite au temps t.

t : Le temps d'extraction en heures.

$C_0$ : le poids initial de l'huile essentielle au temps t=0

K : la constante de la capacité d'extraction puisque la valeur de $C_0$ dans toutes les séries expérimentales a été supposée être nulle. L'équation (7) a été utilisée sous la forme finale :

$$C(t) = \frac{t}{K_1 + K_2 t} \quad (7)$$

La constante de vitesse d'extraction $K_1$ est reliée à la vitesse d'extraction $(B_0)$ au point de temps intérieur (t= $t_0$)

$$B_0 = \frac{1}{K_1} \quad (8)$$

La constante de capacité d'extraction $K_2$ est relative au maximum du rendement d'extraction, la concentration d'équilibre de l'huile essentielle extraite $C_0$ ; lorsque$t \to \infty$. L'équation (9) est donnée une relation entre la concentration d'équilibre et la constante$K_2$.

$$C_0 = \frac{1}{K_2} \quad (9)$$

Ainsi ; le coefficient de vitesse d'hydro distillation peut être écrite comme dans l'équation (10)

$$k = \frac{K_2}{K_1} \quad (10)$$

### II.3.2. Méthode d'Hervas (2006)

De plus, le mécanisme cinétique propose par Hervas et al **[91]** a également été utilisé pour étudier le processus d'extraction dans des condition d'équilibre, comme le montre l'équation (11).

$$\frac{dC}{dt} = k(C_0 - C) \quad (11)$$

Où :

$C$ : Le poids d'huile essentielle produite

t : Le temps d'extraction en heures

$C_0$ : L'huile essentielle initiale présente

k : Le coefficient de diffusion effectif

L'intégration de l'équation (11) entre le moment initial et un instant donné t, lieu donne à l'équation (12).

$$C = C_0(1 - e^{-kt}) \quad (12)$$

Pour l'analyse des données, l'équation (12) a été linéarisée, comme le montre de l'équation (13).

$$\ln\left(1 - \frac{C}{C_0}\right) = -kt \quad (13)$$

### II.3.3. Méthode de Milojevi (2008)

Le mécanisme proposé pour décrite le processus d'hydro distillation de Z cassumunar est similaire à celui présenté par Milojevi et al **[92]**. Le transport massique de l'huile essentielle à travers les particules végétales pendant le processus d'hydro distillation se produit sous forme de diffusion à l'état instable. Ainsi, un processus d'hydro distillation

discontinue n'impliquant aucune réaction chimique peut être simulé en utilisant la seconde loi de Fick à l'état instable pour une géométrie de rectangle unidimensionnel, comme le montre l'équation (1)

$$\frac{\partial \boldsymbol{q_p}}{\partial \boldsymbol{t}} = D_{eff} \frac{\partial^2 \boldsymbol{q_p}}{\partial \boldsymbol{x}} \quad (1)$$

Où :

$q_p$ : Représente la concentration moyenne d'huile essentielle

t : Temps

x : La distance long de la direction de diffusion

$D_{eff}$ : Le coefficient de diffusion effectif

La condition initiale était

$q_{p=}q_0$ à t=0

Et la condition limite

$q_{p=}$q à t=t

Pour les cas géométriques simples, comme un cylindre ou une sphère la solution est la suivante :

$$\frac{q_0 - q}{q_0} = A.e^{-kt} \quad (2)$$

Où :

$q_0$ : L'huile essentielle présente dans les rhizomes.

q : L'huile essentielle produite à l'instant t.

A : Constant.

k : la constante cinétique, y compris le coefficient de diffusion effectif.

Au temps t=0

$$q=q_w \text{ et } \frac{q_w}{q_0} = b \quad (3)$$

Où :

$q_w$ : L'huile essentielle produite à t=0

b : La quantité relative d'huile cassumunaire Z extraire à t=0

La deuxième étape est caractérisée par une augmentation exponentielle lente du rendement en huile avec le progrès de l'hydro distillation. En combinant les équations 2 et 3. L'équation cinétique de base pour l'huile essentielle peut être dérivée comme suit :

$$\frac{q_0-q}{q_0} = (1-b).e^{-kt} \quad (4)$$

La forme linéarisée de l'équation peut être utilisée pour calculer les paramètres des équations 4 et affiché comme suit :

$$\ln\left(\frac{q_0-q}{q_0}\right) = \ln(1-b) - kt$$

# *Chapitre III*
# *Etude expérimentale*

## Introduction

Ce travail, qui a été réalisé au niveau du laboratoire de biologie de la faculté des sciences de l'université de Médéa, a pour objectif l'extraction des composés phénoliques à partir de matière végétale récoltées de la wilaya de Médéa. Il s'agit des écorces de grenade.

Une étude photochimique des espèces végétales passe généralement par la récolte de la plante, le séchage et sa conservation, ensuite la matière végétale est broyée et/ou préparée pour l'extraction. Enfin le matériau est prêt pour l'étude cinétique d'extraction des composés phénoliques.

Pour ce faire, notre partie expérimentale est structurée comme suit :

- Etudier le rendement des composés phénoliques
- Extraction des métabolites secondaire (polyphénol, flavonoïdes, tanin) de l'écorce de punica granatum L.
- Modélisation cinétique d'extraction de composés phénoliques.
- Etudier l'activité antibactérienne.

## III.1. Matériels et produits

Les matériels et les produits utilisés au cours de ce travail, sont regroupés dans le (tableau III.1).

**Tableau III.1** : Matériels et produits utilisés

| **Matériels et appareils** | **Produits** |
|---|---|
| - Agitateur magnétique<br>- Centrifugeuse<br>- Etuve<br>- Bain-marie<br>- barreau magnétique<br>- Balance<br>- Autoclave<br>- Bec Benzène<br>- Disques vides stériles<br>- Pince stérilisée | - Méthanol (pureté 100%)<br>- Eau distillée<br>- Eau physiologique<br>- Milieu de culture Mueller- Hinton |

## III.2. Matériel végétal

Notre étude expérimentale porte sur l'utilisation d'espèces végétale à savoir : la grenade (*Punica granatum* L) (Figure III.1).



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

### III.2.1. Récolte de la matière végétale

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est :

- Les écorces de grenade : ces dernières ont été obtenues à partir des fruits de grenade récoltés en régions de la wilaya de Médéa en moins d'octobre.

### III.2.2. Préparation et caractérisation de la matière végétale

#### A. Séchage de la matière végétale

Les écorces de grenade ont été séchées à l'abri de la lumière. Elles été séchées dans un étuve ventilée à 40˚C (Figure III.2).

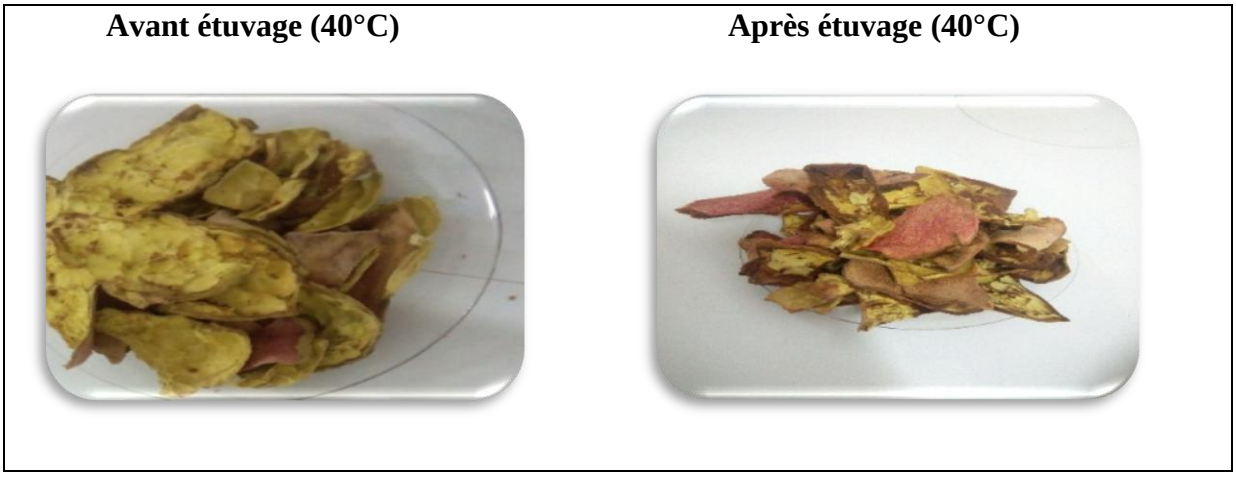



**Figure III.2**: Matière végétale séchée

### B. Conservation

IL excite diverses méthodes de conservation, les plus courantes et les plus simples étant le séchage à l'aire ou au four, ensuite conservées dans des sacs en plastique dans des endroits secs jusqu'à utilisation.

### C. Broyage

Après séchage, les matières végétales utilisées ont été broyées dans un mortier en porcelaine (figure III.3). Et le broyat obtenu a été conservé dans des sachets en papier à température ambiante, dans un endroit sec à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.



**Figure III.3 :** Broyage de la matière végétale

## III.3. Extraction des métabolites

### III.3.1. Extraction par macération dans le méthanol (extraction solide/liquide)

Le protocole expérimental de l'extraction des polyphénols par une macération à différentes temps en utilisant le solvant [eau, méthanol (75/25)]% est résumé comme suit :

- ✓ 2 gramme de la matière végétale est introduite dans un erlenmeyer.
- ✓ 10 ml du solvant d'extraction est ajouté.
- ✓ L'ensemble est ajouté sur balance à une température ambiante à différentes de temps (voir figure III.4).
- ✓ A la fin de l'extraction, le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whitman, et le filtrat obtenu est centrifugé à une vitesse 4500 tr/min pendant 5min (voir figure III.5).



**Figure III.4 :** Macération à différentes temps

A)  B) 

**Figure III.5** : Opération de filtration: centrifugation (A) et extrait de grenade (B)

### III.3.2. Evaporation

Les solutions obtenus ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif, le (figure III.6) qui permet a éliminé le solvant sous vide. Le protocole d'évaporation est résumé comme suit :

- Mesurer le ballon avant l'évaporation puis placer la solution dans le ballon d'évaporation
- Procéder jusqu'à disparition complet du solvant (T°=65°C pendant 5 min et vitesse de rotation 27)
- Attendre qu'il soit froid puis mesurer le ballon après l'évaporation
- Récupérer l'extrait par le méthanol (figure III.6).



**Figure III.6** : Evaporation rotatif



**Figure III.7** : Récupération par méthanol

### III.3.3. Rendement des extraits secs

Nous avons déterminé le rendement en extrait sec, en calculant le rapport entre le poids de l'extrait sec (poudre) en gramme, et le poids du matériel végétal utilisé pour l'extraction en gramme ; selon l'équation suivante:

$$\mathbf{R(\%) = [(P1 - P2) / P0].100}$$

**P1 :** poids du ballon après évaporation.

**P2 :** poids du ballon avant évaporation.

**P0:** poids de la matière végétale initial.

## III.4. Modélisation cinétique d'extraction des composés phénoliques

### III.4.1. Résultats de rendement d'extraction

Les valeurs du rendement d'extrait en différents de temps sont données dans le tableau III.2

**Tableau III.2.** Résultats de rendement (en %)

| t (h) | $P_{av}$ (g) | $P_{ap}$ (g) | $R_{exp}$ (%) |
|---|---|---|---|
| 0 | 24,314 | 24,739 | 26 |
| 1 | 24,470 | 25,041 | 28,5 |
| 3 | 21,995 | 22,637 | 32,1 |
| 6 | 24,280 | 24,982 | 35,1 |
| 18 | 24,334 | 25,185 | 42,5 |
| 21 | 24,190 | 25,066 | 43,8 |
| 24 | 24,801 | 22,705 | 45,2 |
| 26 | 23,142 | 24,048 | 45,2 |
| 29 | 23,146 | 24,05 | 45,2 |
| 42 | 23,766 | 22,670 | 45,2 |

La valeur du rendement d'extraction a augmenté avec l'augmentation du temps jusqu'à 24 heures. Au ce point le rendement reste constante, comme le montre dans le figure III.8

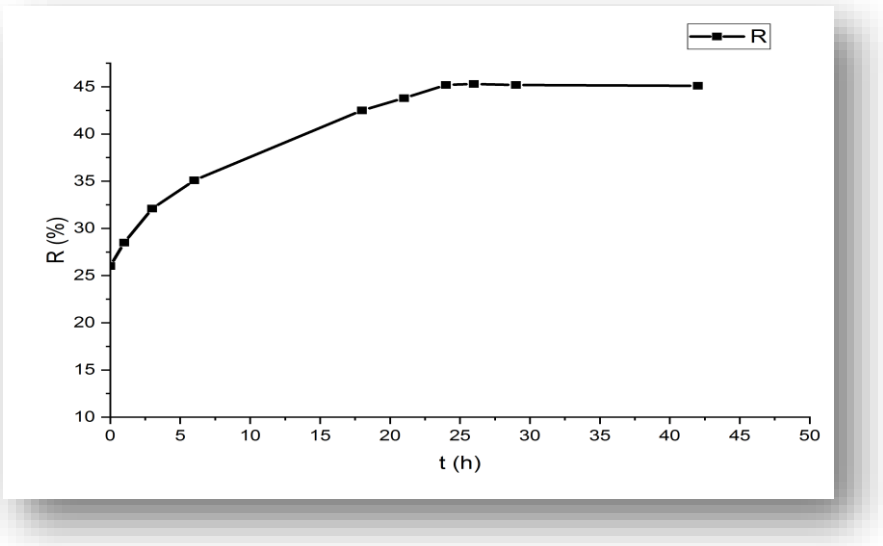



**Figure III.8** : Les résultats de rendement en fonction de temps

Notre étude cinétique ne correspond pas avec la méthode d'Hervas. L'étude cinétique d'extraction des polyphénols à partir de plante de la grenade a été montrée selon la méthode du Milojevi. Au ce méthode est justifiée que le graphe ne passe pas de l'origine.

### III.5.2. Modélisation mathématique de cinétique d'extraction

- **Méthode de Milojevi et al**

Le mécanisme proposé pour décrite l'extraction de polyphénols à partir de grenade est similaire à celui présenté par Milojevi et al.

L'équation cinétique de base pour l'extraction de polyphénols à partir de grenade peut être dérivée comme suit :

$$(1 - R) = (1 - b).e^{-kt}$$

La forme linéarisée de l'équation peut être utilisée pour calculer les paramètres des équations et affiché comme suit :

$$\ln(1 - R) = \ln(1 - b) - kt$$

### III.5.3. Résultats

Les résultats de la variation de ln (1-R) que données expérimentales et théoriques obtenus dans le tableau III.3, comme le montre dans la figure III.9

**Tableau III.3.** Résultats de variation du ln (1-R) expérimental et théorique

| t(h) | Pratique | Théorique | Erreur |
|---|---|---|---|
| 0 | -0,238 | -0,312 | 0,074 |
| 1 | -0,335 | -0,324 | -0,011 |
| 3 | -0,387 | -0,348 | -0,039 |
| 6 | -0,432 | -0,384 | -0,048 |
| 18 | -0,553 | -0,528 | -0,025 |
| 21 | -0,576 | -0,564 | -0,012 |
| 24 | -0,601 | -0,6 | -0,001 |

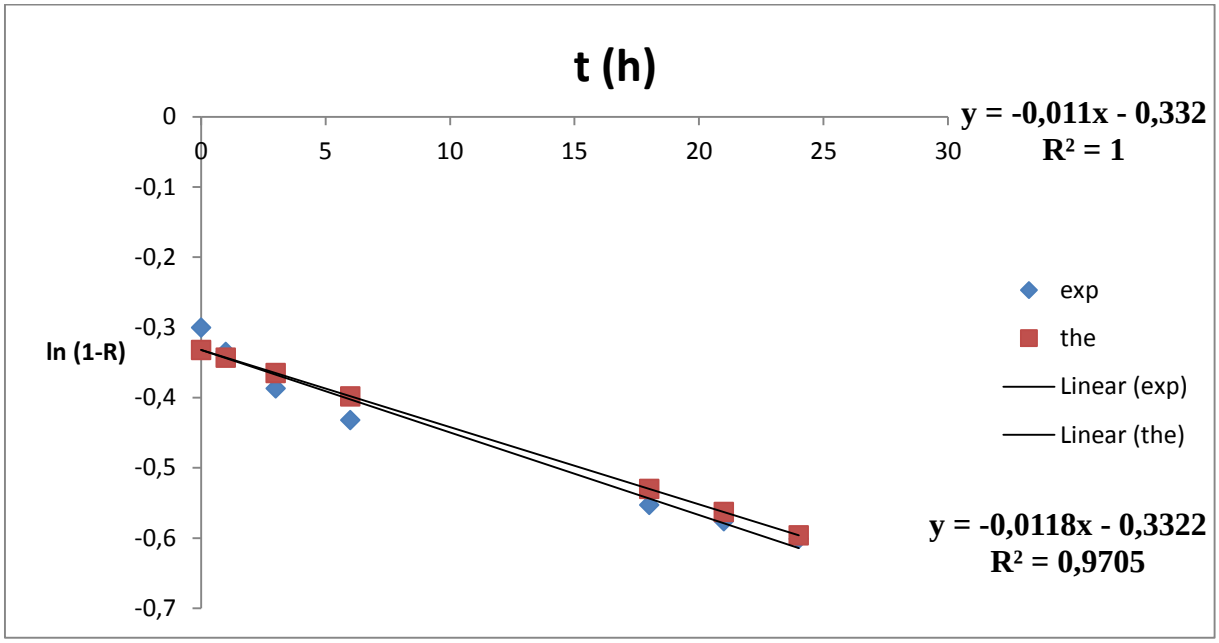



**Figure III.9** : La variation de ln (1-R) en fonction de temps (Milojevi)

Les résultats de rendement que données expérimentales et théoriques obtenus dans le tableau III.4, comme le montre dans la figure III.10

**Tableau III.4.** Résultats de rendement expérimental et théorique (en %)

| Temps | $Rdt_{expremental e}$ | $Rdt_{théoirique}$ |
|---|---|---|
| 0 | 26 | 28 |
| 1 | 28,5 | 29 |
| 3 | 32,1 | 30 |
| 6 | 35,1 | 32 |
| 18 | 42,5 | 41,1 |
| 21 | 43,8 | 43,05 |
| 24 | 45,2 | 43,9 |
| 26 | 45,2 | 44,9 |
| 29 | 45,2 | 44,9 |
| 42 | 45,2 | 44,9 |

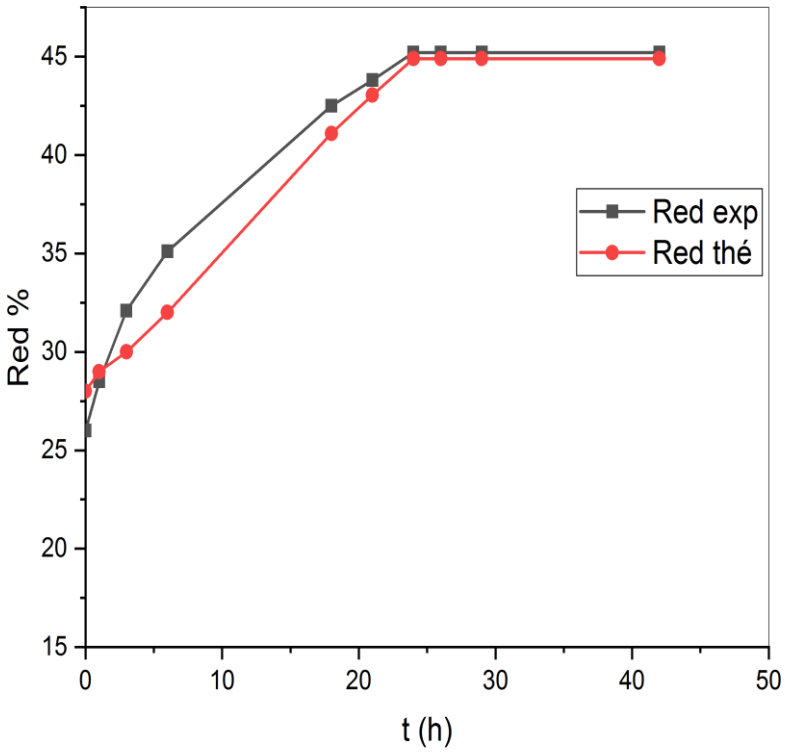



**Figure III.10** : Les résultats de rendement expérimental et théorique en fonction de temps

L'étude cinétique d'extraction des composés phénoliques à partir de l'écorce de grenade, les données expérimentale s'avèrent bien correspondent au modèle décrit par Milojevi et al. Le rapport de production appliqué obtenir à 97% par rapport à la production théorique 100%.

## III.6. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits testés a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose (antibiogramme). Elle repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide. L'effet du produit antimicrobien (l'extrait) sur la cible (microorganisme) est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Ainsi, dans cette méthode il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit à tester **[93]**. Les souches testées dans cette étude sont données dans le tableau III.5.

**Tableau III.5.** Souches microbiennes

| Souches | Gram | Source |
|---|---|---|
| *Escherichia coli* | Négatif | Urine humaine (EPSP) |
| *Staphylococcus aureus* | Positif | Urine humaine (EPSP) |
| *Candida albicans* | / | Urine humaine (EPSP) |
| *Bacillus subtilis* | Positif | Urine humaine (EPSP) |

### III.6.1. Mode opératoire

Toutes les manipulations du test antimicrobien ont été faites dans une zone stérile selon les étapes suivantes :

**A) Préparation du milieu de culture**

- 38 gramme du milieu de culture Muller-Hinton dans un 1000 ml de l'eau distillée.
- Liquéfier et stériliser le milieu de culture Muller-Hinton dans un autoclave.
- Couler les boites de pétrie avec le milieu (figure III.10.a).

**B) Préparation de la suspension bactérienne**

- Prélever quelques colonies isolées et les incorporer dans l'eau physiologique.
- Agiter et homogénéiser la suspension avec vortex.
- 3 tubes correspondant aux quatre souches utilisées ont été préparés.

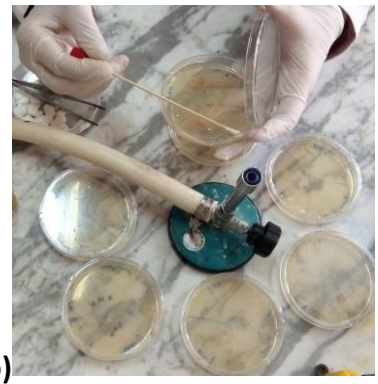
**a)**  **b)**  **c)** 

**Figure III.10 :** Différentes étapes d'antibiogramme

**C) Ensemencement, application de disques et incubation**

- Ensemencer aseptiquement avec un écouvillon stérile la totalité de la surface gélosée par la souche appropriée (Figure III.10.b).
- Imbiber les disques avec l'extrait et les diluants d'extrait (½, ¼, ⅙, ⅛, ⅒) à l'aide d'une pince stérile, puis les déposer délicatement sur la surface des boites Pétri (Figure III.10.c).

| Facteurs | ½ | ¼ | ⅙ | ⅛ | ⅒ |
|---|---|---|---|---|---|
| $V_m$(extrait) | 5 | 2,5 | 1,66 | 1,25 | 1 |
| $V_m$(méthanol) | 5 | 7,5 | 8,34 | 8,75 | 9 |

- Incuber les boites Pétri dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

**D) Lecture**

- Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle graduée.
- L'absence de la zone claire : inhibitrice négative (-).
- La présence de la zone claire : inhibitrice positive (+).

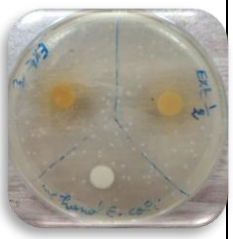
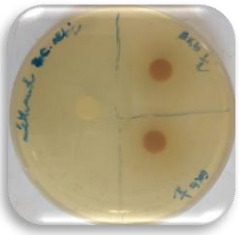
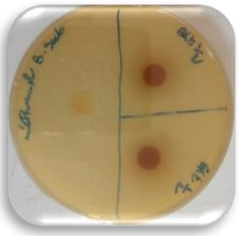
### III.6.2. Résultats et discussions

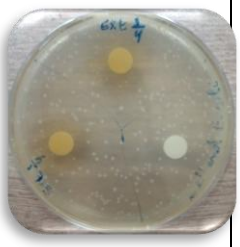
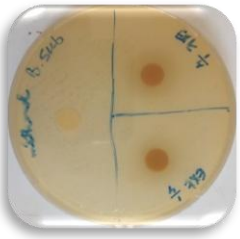
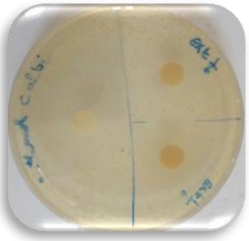
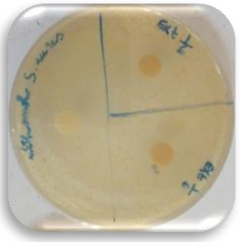
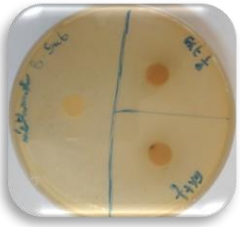
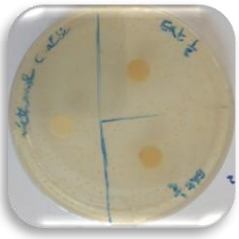
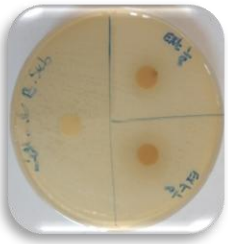
Le test antimicrobien a été effectué sur l'extrait et leurs diluants présentant les plus élevées en composés phénoliques et flavonoïdes. Les résultats obtenus pour l'extrait et leurs diluants (½, ¼, ⅙, ⅛, ⅒) sont donnés dans les tableaux III.6, III.7 respectivement.

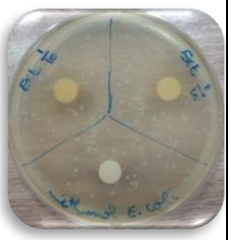
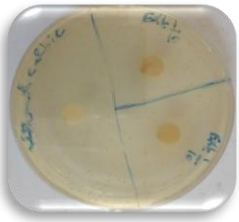
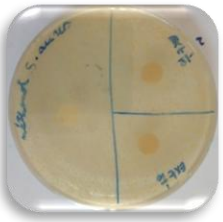
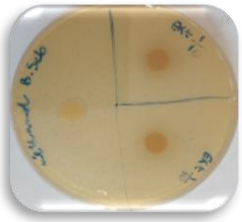
**Tableau III.6 :** Test de sensibilité des souches étudiées de l'extrait

| | **Souches bactériennes** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ***Escherichia coli*** | ***Candida albicans*** | ***Staphylococcus aureus*** | ***Bacillus subtilis*** |
| Extrait | 24 | 24 | 21 | 16 |
| |  |  |  |  |

**Tableau III.7 :** Test de sensibilité des souches étudiées de leurs diluants d'extrait

| | **Souches bactériennes** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ***Escherichia coli*** | ***Candida albicans*** | ***Staphylococcus aureus*** | ***Bacillus subtilis*** |
| Extrait diluant (½) | 16 | 23 | 20 | 15 |
| |  |  |  |  |
| Extrait diluant (¼) | 15 | 20 | 15 | 13 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| |  |  |  |  |
| Extrait diluant (⅙) | 12 | 19 | 15 | 12 |
| |  |  |  |  |
| Extrait diluant (⅛) | 11 | 17 | 14 | 11 |
| |  |  |  |  |
| Extrait diluant (⅒) | 10 | 16 | 14 | 11 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| |  |  |  |  |

L'analyse des résultats donnés sur les tableaux III.5, III.6 a permis de soulever les points suivants :

- Les résultats d'antibiogramme obtenue à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton révèlent que l'activité antibactérienne d'extrait et leurs diluants testés est en fonction de la bactérie cible.
- Pour les échantillons testés, l'extrait et leurs diluants présentent les effets antibactériens les important par rapport le méthanol.
- L'extrait de grenade possède une activité antibactérienne vis-à-vis *E.coli* dont les diamètres des zones d'inhibition variés entre 23 mm et 25 mm pour l'extrait
- L'extrait de grenade possède une activité antibactérienne vis-à-vis *C.albicans* dont les diamètres des zones d'inhibition variés entre 23 mm et 25 mm pour l'extrait
- L'extrait de grenade montre aussi une activité antibactérienne vis-à-vis *S.aures* avec des diamètres des zones d'inhibition variés entre 20 mm et 21mm pour l'extrait
- L'extrait de grenade montre aussi une activité antibactérienne vis-à-vis *B.subtilis* avec diamètre de zone d'inhibition 16 mm
- Quand toutes les souches testées ont montré une bonne résistance mais les deux souches (E-Coli et C-albican) aux extraits avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 23 mm à 25 mm
- Quand toutes les souches testées ont montré une bonne résistance mais les deux souches *(candida albicans* et *Staphylococcus aureus) aux diluants d'extrait.*

- Les résultats d'analyse du test de concentration minimale inhibitrice différents souches montre que diminution des diamètres des zones d’inhibition pour chaque bactérie.

# *Conclusion générale*

# Conclusion générale

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles qui existent en Algérie et plus précisément dans la wilaya de Médéa. Dans ce contexte, on s'est intéressé à étudier l'extraction des composés phénoliques à partir de la plante de grenade et modélisation cinétique des composes phénoliques . Les parties étudiées sont l'écorce de grenade.

L'extraction des composés phénoliques par macération à différentes temps en utilisant le solvant (eau, méthanol)

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont résumés comme suit :

- Rendement d'extraction :
  - ✓ Le rendement a augmenté avec l'augmentation de temps jusqu'à 24 heures. Au ce point il reste constante.
  - ✓ Nos résultats ne correspondant pas avec la méthode d'Hervas.
  - ✓ Les données expérimentales bien correspondent au modèle décrit par Milojevi
  - ✓ Le rapport de production appliqué à 97% par rapport la production théorique.
- Activité antibactérienne :
  - ✓ Les extraits de grenade possèdent une bonne activité antibactérienne vis-à-vis du *Escherichia coli* et Candida albicans par rapport les autres souches bactériennes.
  - ✓ Le test de concentration minimale inhibitrice différente souches montre que diminution des diamètres des zones d'inhibition pour chaque bactérie.

Afin d'élargir cette étude entamée sur l'espèce grenade, d'autres aspects peuvent être développés dans le futur tels que :

- Améliorer les méthodes d'extraction (microonde, ultrason,…..) et optimiser les conditions opératoires dans les solvants aqueux pour éviter la toxicité des solvants organiques.

- Etudier les différentes activités biologiques pour ouvrir d'autres possibilités d'exploitation en biotechnologie et en médecine.

# *Références bibliographiques*

**[1] Bouzid, A., Chadli, R., &Bouzid, K. (2016).** Étude ethnobotanique de la plante médicinale Arbutusunedo L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. Phytothérapie, 15(6), 373–378. Doi:10.1007/s10298-016-1027-6.

**[2] Krimat, S; Metidji, H; Tigrine, C; Dahmane, D; Nouasri, A (2019).** Phytothérapie; Heidelberg Vol. 17, N° 2, 58-65. DOI: 10.3166/phyto-2019-0137.

**[3] Hasni, I ; Moumine, Y. (2020).** Etude photochimique et valorisation des extraits bruts de l'écorce de fruit de grenadier d'Ain T'émouchent « Punica granatum L » par l'étude de son activité antioxydant.

**[4] Sofowara, A., (2010)**.Plante médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique (traduit par felicitascepleanu) Karthala Edition.

**[5] Bezanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M., (1986)**. Les plantes dans la thérapeutique moderne, 2ème édition révisée, Ed. Maloine éditeur

**[6] Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. 2émeédition. Londres: Larousse.

**[7] Bruneton J. (1993)**. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2ème Ed. Lavoisier, Paris

**[8] Decaux I. (2002).** Phytothérapie: Mode d'emploi. Ed: le bien public. P: 6.

**[9] Barka S. et Ben Attallah S. (2010).** L'effet de deux plantes médicinales sur quelques Bactéries pathogènes. Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla),P : 3, P :13.

**[10] Simon Y. (2001).** _Mills, Evidence for the clinician -a pragmatic framework for phytotherapy, The European Phytojournal -ESCOP, Issue 2.

**[11] Williamson EM. (2001)**. Synergy and other interaction in phytomedicines

**[12] Harki .A (2020).** Effet du stress salin sur la germination de Henné (*Lawsonia inermis L)*

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

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

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

**[16] FatopeM.O.,AlBurtomani S.K.S., Takeda Y. (2002).**Monoacylglycerol from PunicagaranatumSeed Oil. J. Agric, Food Chem, 50 (2): p 357-360.

**[17] Chebaibi, A., RhaziFilali, F., Amine, A., & Zerhouni, M. (2011)**. Effet bactéricide (in vitro) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (Punica granatum L) sur des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. Phytothérapie, 9(3), 158–164.doi:10.1007/s10298-011-0626-5 p2.

**[18] Godet. J. (1991).** Arbres et arbustes aux quatre saisons- Les guides pratiques du naturaliste. Editions Delachaux et Niestlé. (p : 96 et 170).

**[19] Evreïnoff, V. (1957).** Contribution à l'étude du Grenadier-. Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée. 124-138.

**[20] Cazin. F. (1868).**Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes et acclimatées. Editions de l'envol. 497-501.

**[21] Holland,D., Hatib,K,.& Bar-Ya'akov,I**. **(2009).** Pomegranate: Botany,Horticulture, Breeding. Agricultural ResearchOrganizationPO Box 1021Ramat Yishay, 30095, Israel.

**[22] Planchon G., (1875)**. Traité pratique de la détermination des drogues simples d'originevégétale, F. Savy.

**[22] Houatis Ch. klalibe Ra (2021).** Détermination des paramètres influençant sur le rendement hydroalcolique de métabolite secondaire de plante Punica granatum L.

**[23] Calin, S.A., et Carboneli, B.A.A. (2005).** La grenade cultivées en Espagne Punicalagine anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans les l'aliment fonctionnelle du fruit. Livre. Natural ontioxydant granatum, université Miguel Hernandez (EDS), Murcia Espagne, 77p.

**[24] Benyahia H., Hadbi F (2016).** Microencapsulation de la poudre de l'écorce de grenade(PEG) par coacervation complexe (pectine/caséine): Essai d'incorporation dans le yaourt : p15.

**[25] Wald, E. (2009)**. Le grenadier *Punica granatum*, plante historique et évolutions thérapeutique récentes. Thèse de Docteur en Pharmacie, Université Henrie Poincaré, Nancy1.

**[26] Hmid, I. (2014).** Contribution à la valorisation alimentaire de la Grenade marocaine (*Punica granatum*) : caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leurs jus vrais. Food and nutrition, archives ouvertes de l'université d'Anger.

**[27] Lairini, R., Bouslamti, F., Zerrouq et A., Farah. (2014).** Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante. *J. Master.Environ. Sci.* 5(S1): 2314-2318, ISSN: 2028-2508

**[28] Juliano C et Magrini G.A. (2017).** Cosmetic ingredients as emerging polluants of environmental and health concern. Cosmetics, 4 (2): 11

**[29] Murthy K.N., Reddy V.K., Veigas J.M. et Murthy U.D. (2004).** Study on wound healing activity of Punica granatum peel. Journal Medicine Food, 7 (2), 256-259.

**[30] Hasmik, H., Wilma, C., Hazeleger-Rijikelt, R., Beumer. (2012).** Inhibition de Listeria monocytogenes par l'extrait de l'écorce de grenade (Punicagranatum) dans la viande à différentes températures. Control des aliments, 23(2012) 66-72

**[31] Shahid, I., Saba, H., Mubeena, A., Muhammad, Z-U.H, Jamshed, A. (2008).** Efficacité de l'extrait de l'écorce de Grenadier dans la stabilisation d'huile de Tournesol sous des conditions accélérées. Recherche international des aliments 41(2008)-194-200

**[32] Janeth, V., Francisco Alarcon, A., Ruben Ruben, R., Efrain Campos, S., Maria L. Reyes-Vega, V., Boone-Villa, D., Edgar Ivan Jasso, V., Cristobal, N., Aguilar. (2013).** Qualité et propriétés antioxydants de jus de Grenade moins sucré, avec l'extrait aqueux de l'écorce de grenade. Chimie des aliments. 136 (2013) 109-115.

**[33] SitziaG., (2009).** La grenade, une bombe de jeunesse.

**[34] Bidri, M., &Choay, P. (2016).** Regain d'intérêt pour la grenade, un fruit majestueux Aux multiples propriétés. Phytothérapie, 15(2), 91–103. Doi:10.1007/s10298-016-1055-2.

**[35] Prashanth.D et Asha.M.K. (2001).** Antibacterial activity of Punica granatum. Fitoterapia. N°72. P. 171-173.

**[36] Gil M. I. Tomas-Berberan A. Hess-Pierce B. Holcroft D. M. & Kader A. A. (2000).** Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. J. Agric. Food Chem., 48: 4581–4589

**[37] AL-Saeed, M.H., Othman,R.M., AL-Saeed, A.H.(2015).** L'effet de l'extrait éthanoïque de l'écorce de Punicagranatum sur la guérison des plaies infectées de champignons chez les lapins ». AL-Qadisiya Journal of Vet. Med. Sci, Vol. 14 No.1

**[38] Das S., Sama G. (2009).** Antidiabetic Action of Ethanolic Extracts of *Punicagranatum*Linn.inalloxan-inducedDiabeticAlbino Rats. Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences, vol 2, no 1: p 14-21.

**[39] El-Habibi E.M. (2013).** Renoprotectiveeffects of *Punicagranatum*(pomegranate) againstadenine-inducedchronicrenalfailure in male rats. Life Science Journal, vol 10, no 4, p. 2059-2069.

**[40] Basu A, Penugonda K. (2009).**Pomegranate juice: a heart-healthy fruit juice. NutrRev.67 (1): p49-56.

**[41] Shukla M. (2008).** Bioavailable constituents/metabolites of pomegranate (Punicagranatum L) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1beta-induced PGE 2 production in human chondrocytes *in vitro*. Journal of inflammation.

**[42] AL-Saeed, M.H., Hadi, N.S. (2015)**. Etude de l'effet des iso flavonoïdes extraits de l'écorce de *Punica granatum* sur la fertilité et les caractéristiques du sperme chez les males des lapins ». Université de Basrah, Iraq.

**[43] Kanoun K. (2004).** Etude de l'efficacite de l'extrait ethanolique d'ecorces de punica granatum linn sur deux souches phytopathogenes: assocyhta rabiei (pass.) labr. Et fusarium oxysporum f. sp. Radicis-lycopersici . European Scientific Journal.

**[44] Neurath A. (2005).** Punicagranatum (Pomegranate) Juice Provides an HIV-1 Entry Inhibitor and Candidate Topical Microbicide. Annals of the New York Academy of Sciences. P 311-327.

**[45] Lansky E. (2005**). Pomegranate (Punicagranatum) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel™ Investigational new drugs. P 121-122.

**[46] Waksmundzka-Hajnos M., &Sherma, J. (2011).** High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical ience. Chromatographic Science Series, p 477-478.

**[47] Dai J.,et Mumper R. J. (2010).** Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Proprieties. *Molecules,* **15**(10): p7313-52.

**[48] Visioli F., Borsani L., et Galli, C. (2000).** Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. *Cardiovascular Research*, **47**: p 419–425.

**[49] Brown, J. E., Khodr H., Hider, R. C. ET Rice-Evans, C. (1998).** Structural dependence of flavonoid interactions with Cu2+ ions. *Biochem. J*. 330: 1173-1178.

**[50] Paganga, G., Miller, N., Rice-Evans, C. A. (1999).** The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. Free Radic Res. 30: 62-153.

**[51] Gee, J.M. ET Johnson, I.T. (2001).** Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*. 8: 1-182.

**[52] Hennebelle T. Sahpaz S. and Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif photothérapie, 1 :3-6

**[53] Macheix, Jj., Christian, Ja. & Allemand, J. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Collection biologique, press polytechniques et universitaires, Romandes, 1-192.

**[54] Martin, S. & Andriantsitohaina, R. (2002).** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de Cardiologie et d'Angiologie*, 51, 304-315.

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

**[56] Balasundram, N., Sundram, K. & Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203.

**[57] Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Edition : Tec & Doc Lavoisier. Paris. 1120 p.

**[58] Sarni-Manchado, P. & Cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. *Ed Tec ET Doc Lavoisier*, 02-11.

**[59] Stalikas C. D. (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic

acids and flavonoids Review. J. Sep. Sci. 30, p 3268 – 3295.

**[60] Dangles O. (2006).** *The physico-chemical properties of polyphenols* (Tech & Doc). *Lavoisier*, *17*: p 64.

**[61] Kaufmann S. (1997).** Host response to intracellular pathogens, Ed. Springer ; R.G. Landes, NewYork Austin, p. 345.

**[62] Cowan M. M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents,ClinMicrobiol, Rev, 12: p 564-582.

**[63] Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C. & Jimenez L. (2005).** Dietary polyphénols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 287-306

**[64] Hodek, P., Trefil, P. & Stiborov, A. M. (2002).** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact*, 139, 1–21.

**[65] Van Acker, S., Van Balen, G.P., Van Den, Berg D.J. & Van Der, Vijgh W.J.F. (1996).** Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol*, 56, 935– 943.

**[66] Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A. & Del Rio, J.A. (1997)**. Uses and properties of *Citrus* flavonoids. *J. Agric. Food Chem*, 45, 4505-4515.

**[67] Rahman, I., Biswas, S.K. & Kirkham, P.A. (2006).** Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol*, 72, 1439-1452.

**[68] Bossokpi, I.P.L. (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloïdes* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, *Bamako*, 133p.

**[69] HoffmannD. (2003).** Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine. Edition Inner Traditions / Bear& Co., p 90.

**[70] Pincemail J., Degrune F., Voussure S., Malherbe C., Paquot N. &Defraigne J.-O. (2007).** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. Nutrition clinique et métabolisme, 21:p 66–75.

**[71] Chérifa BOUBEKRI. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat. Université Mohamed Khider – Biskra.

**[72] Brunteno j. (2009)**. Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales 4eme édition Lavoisier, paris France.

**[73] Tsao, R. (2010).** Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. Nutrients, 2(12), 1231–1246. Doi:10.3390/nu2121231.

**[74] Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phototherapies, 3(4), 162–169. Doi: 10.1007/s10298-005-0096-8.

**[75] DiCarlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., &Capasso, F. (1999).** Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sciences, 65(4), 337–353. Doi: 10.1016/s0024-3205(99)00120-4

**[76] Stoclet, J.-C., &Schini-Kerth, V. (2011).** Flavonoïdes alimentaires et santé humaine. Annales Pharmaceutiques Françaises, 69(2), 78–90. doi:10.1016/j.pharma.2010.11.004.

**[77] Pietta, P.-G. (2000).** Flavonoids as Antioxidants. Journal of Natural Products, 63(7), 1035–1042. Doi:10.1021/np9904509.

**[78] Bendjabeur, S. (2012).** Evaluation du pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits végétaux (cas de la grenade *Punica granatum* L.) en vue de leur utilisation alimentaire. Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de Magister en Sciences Agronomiques. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie d'Alger.

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

**[80] Sereme, A., Millogo-rasolodimby, J., Guinko, S.,& Nacro,M.(2008).** Proprietes thrapeutiques des plantes a tanins du Burkina Faso. Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines ; 15 : 41 – 49.

**[81] Brunteno j. (2009).** Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales 4eme édition Lavoisier, paris France.

**[82] Luque de Castro, M.D.,et Garcia-Ayuso, L.E. (1998).**"Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future.″ AnalyticaChimicaActa, 369: p 1-10.

**[83] Kraft, K. & Hobbs, C. (2004).** Pocket Guide to Herbal Medicine. Thieme, Stuttgart, New York. 16 p.

**[84] Baba-Aïssa, F. (2000).** Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Librairie Moderne Rouiba, EDAS, Algérie. 368p.

**[85] Penchev, P.I. (2010).** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat, université de toulouse. 229p.

**[86] Al-Harahsheh M. etKingman S.W. (2004).** Microwave-assisted leaching-a review. Hydrometallurgy., 73(3-4) : p 189-203.

**[87] Kiriamiti K.H. (2003).** Extraction de pyréthrines par CO2 liquideetsupercritique, PhDThesis, INP Toulouse.

**[88] Draye M., Estager J., Malacria M.,Goddard J.P., Ollivier C. (2009).** Sonochimie Organique (K1250). Editions Techniques de l'Ingénieur, France.

**[89] Benamor B. (2008).** Maitrise de l'Aptitude Technologique de la Matière Végétale dans lesOpérations d'Extraction de Principes Actifs; Texturation par Détente Instantanée ContrôléeDIC. Thèse de Doctorat, Université de La Rochelle.

**[90] Ana, B. K., Mirela, P., Srecko, T., Mate, B. & Darko, V. (2007).** Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *J. Food Eng.*, 81, 236–242.

**[91] Hervas et al. (2006).** Study of the extraction kinetic of glycosaminoglycan from raw sheepskin trimmings. Proceedings of International United of Environment Commission of IULTCS, Chengdu, China, and 14–16 October.

**[92] Milojevi, S. Z., Stojanovi, T. D., Palic, R., Lazic, M. L. & Veljkovic, V. B. (2008).** Kinetics of distillation of essential oil from comminuted ripe juniper (*Juniperus communis* L.) berries. *Biochem. Eng. J.*, 39, 547–553.

**[93] Broadasky T. F., Lewis C., Eble T. E. (1976)** Bio autographic thin layer chromatophic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal, I Clindamycin in the rat, J, Chromatogr, 123: p 33-44.