



Université Constantine 1 Frères Mentouri  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منورى  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie appliquée

قسم : البيولوجيا التطبيقية

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Biotechnologie

**Spécialité :** Biotechnologie et Contrôle Qualité

**N° d'ordre :**

**N° de série :**

Intitulé :

---

**Étude comparative en vue de la valorisation des écorces de *Punica granatum*  
provenant de deux régions algériennes : Constantine et El Tarf.**

---

Présenté par : BORDJ Kaouther

Le 24/06/2025

MEHENI Nour El Iman

**Jury d'évaluation :**

**Président:** Pr. MOSBAH Asma (Prof. – Université Frères Mentouri, Constantine1).

**Encadrant :** Dr. CHERFIA Radia (MCB – Université Frères Mentouri, Constantine1).

**Examinateur:** Dr. BOUDJEMAA Sonia (MCB – Université Frères Mentouri, Constantine1).

**Année universitaire  
2024 - 2025**

# **Remerciements**

*Louange à ALLAH, qui a illuminé chaque étape de ce parcours universitaire.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrant, **Dr. CHERFIA***

***Radia** (MCB, Département de Biologie Appliquée - UFM Constantine 1), pour son encadrement exceptionnel, son soutien constant et la confiance qu'elle nous a accordée tout au long de ce travail. Sa gentillesse, son expertise et sa présence ont été pour nous une source d'inspiration continue.*

*Nous tenons à remercier sincèrement les membres du jury :*

***Pr. MOSBAH Asma** (Prof. Département de Biologie Appliquée - UFM Constantine 1), pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider ce jury.*

***Dr. BOUDJAMAA Sonia** (MCB, Département de Biologie Appliquée - UFM Constantine 1), qui a accepté d'évaluer ce travail et nous honore de sa présence.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements à l'ensemble des enseignants du Département de Biologie Appliquée, qui ont su transmettre leur savoir avec passion.*

*Leurs enseignements, leurs conseils avisés et leurs remarques constructives ont largement contribué à la qualité et à l'aboutissement de ce travail.*

*Nous exprimons toute notre gratitude à **Mme BOULDJEDJ Ryma** (Doctorante, Département de Biologie Appliquée - UFM Constantine 1), pour son soutien précieux et son aide inestimable tout au long de ce projet.*

*Nous remercions chaleureusement toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, notamment nos collègues, nos amis et le personnel administratif. Chacun, par son aide, son appui moral ou logistique, a apporté une contribution précieuse à l'achèvement de ce mémoire.*

*Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à **nos familles** pour leur soutien moral constant, leur patience et leur confiance tout au long de ce parcours universitaire.*

*Merci à tous pour votre aide, votre confiance et votre engagement.*

## Dédicace

Je tiens d'abord à remercier Dieu, qui m'a aidée et permis d'atteindre cette étape de ma vie.

Je tiens également à me remercier moi-même, qui ai persévétré pendant 17 ans de dur labeur pour finalement aboutir à la réussite.

Je dédie ce travail à la bougie de ma vie, ma chère mère **YASMINA**, qui a été d'un grand soutien et à qui je dois chaque pas que j'ai fait jusqu'à présent. Grâce à sa foi inébranlable en mes capacités, j'ai pu atteindre ce stade.

Je dédie ce travail à mon père **ABDELKARIM**, en remerciement pour sa confiance totale et pour tous les efforts qu'il a déployés pour moi et mon réconfort.

Je dédie ce travail à ma sœur bienveillante, **AMIRA**, pour ses prières quotidiennes, sa foi en moi et son soutien dans les épreuves comme dans les joies.

Je dédie ce travail à ma sœur aînée, **KHAWLA**, qui m'a toujours considérée comme sa première fille. Je te dois ce succès.

À mon cher **NAJMELEDDIN**, qui a toujours été fier de sa petite tante, et à ma chère **RAWNAK**.

Je dédie ce travail à mon oncle **DJAMAL**, pour ses conseils et sa confiance, et pour m'avoir toujours considérée comme sa fille.

Je dédie ce travail à ma binome **NOURELIMAN**. Nous avons toujours travaillé ensemble sur ce projet.

Je dédie ce travail à l'âme cachée qui a cru en moi et m'a encouragé à réaliser mon rêve.

Je dédie ce travail à tous mes amies, chacun nommément. Merci beaucoup à vous tous.

Merci à tous ceux qui ont contribué à la réussite de ce projet. Merci à tous ceux qui ont cru en moi.

**Kaouther**

## Dédicace

- ♥ À mes très chers parents, pour avoir cru en moi jusqu'au bout, pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leurs encouragements constants. Merci pour tout ce que vous m'avez apporté tout au long de ma vie.
- ♥ À mes adorables sœurs et frère bien-aimé, pour leur présence précieuse, dans les moments de joie comme dans les épreuves.
- ♥ À mes amies chères, avec qui j'ai partagé des souvenirs inoubliables.
- ♥ À mon binôme et amie Kaouther, pour avoir illuminé les dernières années de notre parcours d'études et les avoir rendues inoubliables.
- ♥ À toutes celles et ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.
- ♥ À toutes les personnes qui m'aiment sincèrement et fidèlement.

**Nour El Iman**

## **Table des matières**

Remerciements

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

<b>1- Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>2- Revue bibliographique.....</b>	<b>3</b>
2.1- Plantes médicinales .....	3
2.1.1- Classification .....	3
2.1.1.1- Plantes aromatiques .....	3
2.1.1.2- Plantes toxiques .....	3
2.1.1.3- Plantes curatives .....	3
2.1.1.4- Plantes médicinales les plus connues .....	4
2.1.2- Phytothérapie .....	4
2.1.3- Molécules bioactives.....	6
2.1.3.1- Métabolites primaires .....	6
2.1.3.2- Métabolites secondaires .....	8
2.1.4- Techniques d'extraction .....	16
2.1.4.1- Techniques traditionnelles .....	16
2.1.4.2- Techniques modernes .....	18
2.1.5- Activités biologiques des plantes .....	20
2.1.5.1- Activité anti-oxydante.....	20
2.1.5.2- Activité anti-inflammatoire.....	22
2.1.5.3- Activité antimicrobienne.....	22

2.1.5.4- Activité anticancéreuse.....	30
<b>2.2- Grenadier (<i>Punica granatum</i>).....</b>	<b>30</b>
2.2.1- Historique .....	30
2.2.2- Habitat et répartition géographique.....	31
2.2.2.1- Dans le monde .....	31
2.2.2.2- En Algérie .....	31
2.2.3- Exigences de milieu .....	32
2.2.4- Classification botanique .....	32
2.2.5- Différentes parties de la plante.....	32
2.2.6- Utilisation industrielle de l'écorce.....	35
<b>3- Matériel et méthodes .....</b>	<b>37</b>
<b>3.1- Régions de collecte (Constantine et El Tarf).....</b>	<b>37</b>
<b>3.2- Matériel végétal .....</b>	<b>37</b>
3.2.1- Préparation de la plante .....	38
3.2 .2- Préparation des extraits hydroéthanolique par macération .....	39
<b>3.3- Rendement d'extraction .....</b>	<b>40</b>
<b>3.4- Screening phytochimique .....</b>	<b>40</b>
3.4.1- Métabolites primaires .....	40
3.4.2- Métabolites secondaires .....	40
<b>3.5- Dosage colorimétrique des composés phénoliques.....</b>	<b>42</b>
3.5.1- Dosage des polyphénols totaux.....	42
3.5.2- Dosage des flavonoïdes totaux.....	42
3.5.3- Dosage des tanins condensés.....	43
<b>3.6- Activités biologiques.....</b>	<b>44</b>
3.6.1- Activité antioxydante.....	44
3.6.1.1- Piégeage du radical libre DPPH.....	44
3.6.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	45
3.6.2- Activité antibactérienne.....	46
3.6.3- Activité antifongique.....	48
<b>3.7- Analyse statistique .....</b>	<b>49</b>
<b>4- Résultats et discussion .....</b>	<b>50</b>

<b>4.1- Identification de la plante.....</b>	<b>50</b>
<b>4. 2- Rendement d'extraction .....</b>	<b>50</b>
<b>4.3- Screening phytochimique .....</b>	<b>53</b>
<b>4.4- Dosage spectrophotométrique des composés phénoliques .....</b>	<b>56</b>
4.4.1- Dosage des polyphénols totaux .....	57
4.4.2- Dosage des flavonoïdes totaux.....	58
4.4.3- Dosage des tannins condensés.....	59
<b>4.5- Activités biologiques .....</b>	<b>62</b>
4.5.1- Activité anti-oxydante.....	62
4.5.1.1- Piégeage du radicale libre DPPH.....	62
4.5.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	65
4.5.2- Activité antibactérienne.....	68
4.5.3- Activité antifongique .....	75
<b>5- Conclusion et perspectives .....</b>	<b>78</b>

<b>6- Références bibliographiques .....</b>	<b>79</b>
---	-----------

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

**Annexes**

## Liste des abréviations

<b><i>A. cordifolia</i></b>	<i>Alchorneacordifolia</i>
<b>ABTS</b>	2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate)
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AGPs</b>	Arabinogalactanproteins
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Chlorure d'aluminium
<b>ALT</b>	Altértoxines
<b>AME</b>	Alternariol monométhyléther
<b>AOH</b>	Alternariol
<b>ARN</b>	Acideribonucléique
<b>ATP</b>	Adénosine triphosphate
<b><i>B. cereuse</i></b>	<i>Bacillus cereuse</i>
<b>bFGF</b>	basic Fibroblast Growth Factor
<b>BSA</b>	Bovine SerumAlbumin
<b>CMB</b>	Concentration Minimale Bactéricide
<b>CMI</b>	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de carbone
<b>COX-2</b>	Cyclooxygénase-2
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>DPPH</b>	2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle
<b><i>E. coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Ion ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Ion ferrique
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Chlorure de fer(III)
<b>FRAP</b>	Ferric Reducing Antioxidant Power
<b>FT</b>	Flavonoïdes totaux
<b>GC-MS</b>	Chromatographie en phase gazeuse – Spectrométrie de masse
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Acide sulfurique
<b>H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub></b>	Acide phosphomolybdique
<b>H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub></b>	Acide phosphotungstique
<b>HCl</b>	Acide chlorhydrique
<b>HE</b>	Huiles essentielles
<b>HRGPs</b>	Hydroxyproline-richglycoproteins
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration inhibitrice 50 %
<b>K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub></b>	Ferricyanure de potassium

<b>LPS</b>	Lipopolysaccharides
<b>MAPK</b>	Mitogen-Activated Protein Kinase
<b>MreB</b>	Protéine MreB, composant du cytosquelette bactérien
<b>MSA</b>	<i>Mannitol Salt Agar</i>
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Carbonate de sodium
<b>NF-κB</b>	Nuclear Factor kappa B
<b><i>P. aeruginosa</i></b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b><i>P. fluorescens</i></b>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<b><i>P. granatum</i></b>	<i>Punica granatum L.</i>
<b>PAIs</b>	Îlots de pathogénicité
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>PI3K/Akt</b>	Phosphoinositide 3-kinase / Protein kinase B
<b>PR</b>	Pathogenesis-Related (protéines de défense)
<b>PRPs</b>	Proline-richproteins
<b>RE</b>	rendement d'extraction
<b><i>S. aureus</i></b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b><i>T. procumbens</i></b>	<i>Tridaxprocumbens</i>
<b>TA</b>	Toxine-Antitoxine
<b>TAG</b>	Triacylglycérols
<b>TeA</b>	Acideténuazonique
<b>TNF-α</b>	Tumor Necrosis Factor alpha
<b>UV</b>	Ultraviolet
<b>UV-Vis</b>	Spectroscopie ultraviolette-visible
<b>VEGF</b>	Vascular Endothelial Growth Factor

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>Tableau 01</b>	Plantes plus utilisées dans la médecine traditionnelle.	4
<b>Tableau 02</b>	Exigences et caractéristiques de milieu nécessaire pour la croissance de grenadier.	32
<b>Tableau 03</b>	Rendements d'extraction et caractéristiques des extraits hydro-éthanoliques des écorces de <i>P. granatum</i> issues de Constantine (C) et d'El Tarf (K).	50
<b>Tableau 04</b>	Criblage phytochimique des extraits hydro-éthanoliques des écorces de <i>P.granatum</i> de deux régions ; Constantine et El Tarf (Algérie).	54
<b>Tableau 05</b>	Quantification des composés phénoliques des extraits hydroEtOH des écorces de <i>P. granatum</i> provenant de Constantine et d'El Tarf.	60
<b>Tableau 06</b>	Zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des deux extraits des écorces de <i>P. granatum</i> , de l'ATB et du DMSO.	70
<b>Tableau 07</b>	Concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits végétaux obtenus sur les souches bactériennes testées.	73
<b>Tableau 08</b>	Pourcentages d'inhibition de <i>d'Alternaria sp.</i> et <i>Fusarium sp.</i> par les deux extraits de <i>P. granatum</i> ; de Constantine et d'El Tarf, et l'ATF.	76

## Liste des figures

N°	Titre	Page
<b>Figure 01</b>	Formule développée du phénol.	9
<b>Figure 02</b>	Structure chimique de l'acide ellagique et de la punicalagine.	10
<b>Figure 03</b>	Structures de base des différents flavonoïdes.	10
<b>Figure 04</b>	Structure chimique des tanins hydrolysables et condensés.	11
<b>Figure 05</b>	Structure de quatre alcaloïdes indoliques isolés de <i>D. guianensis</i> .	12
<b>Figure 06</b>	Classification des terpènes.	13
<b>Figure 07</b>	Structure chimique des phytostérols principaux de l'huile de tournesol.	14
<b>Figure 08</b>	Structure des dérivés phénoliques des huiles essentielles testées.	15
<b>Figure 09</b>	Structure typique des saponosides.	16
<b>Figure 10</b>	Schéma du Soxhlet.	19
<b>Figure 11</b>	Schéma des dispositifs à ultrasons: bac et sonde.	19
<b>Figure 12</b>	Extraction sans solvant assistée par micro-ondes.	20
<b>Figure 13</b>	Colonies de <i>B. cereus</i> sous-cultivées sur agar nutritif et image microscopique à $\times 1000$ de grossissement	24
<b>Figure 14</b>	Lésions cutanées causées par une infection à <i>S. aureus</i> .	25
<b>Figure 15</b>	<i>E. coli</i> en microscopie électronique à balayage.	26
<b>Figure 16</b>	Bactéries <i>E. coli</i> sous microscope optique.	26
<b>Figure 17</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	27
<b>Figure 18</b>	Infection à <i>P. aeruginosa</i> .	27
<b>Figure 19</b>	Caractéristiques morphologiques d' <i>Alternaria</i> sp sur milieu PDA.	29
<b>Figure 20</b>	Caractéristiques morphologiques de <i>Fusarium</i> sp sur milieu PDA.	30
<b>Figure 21</b>	Répartition géographique de grenadier dans le monde.	31

<b>Figure 22</b>	Fleurs du grenadier ( <i>Punica granatum</i> ).	33
<b>Figure 23</b>	Fruit du grenadier ( <i>Punica granatum</i> ).	33
<b>Figure 24</b>	Grains de la grenade ( <i>Punica granatum</i> ).	34
<b>Figure 25</b>	Feuille du grenadier ( <i>Punica granatum</i> ).	34
<b>Figure 26</b>	Arilles du grenadier ( <i>Punica granatum</i> ).	35
<b>Figure 27</b>	Écorce du grenadier ( <i>Punica granatum</i> ).	35
<b>Figure 28</b>	Situation géographique des deux régions de collecte, Constantine et El Tarf.	37
<b>Figure 29</b>	Partie aérienne et fruits de <i>P. granatum</i> ; Constantine et El Tarf.	38
<b>Figure 30</b>	Ecorces sèches de fruits de <i>P. granatum</i> ; Constantine et El Tarf.	38
<b>Figure 31</b>	Broyats des écorces de <i>P. granatum</i> ; Constantine et El Tarf.	39
<b>Figure 32</b>	Préparation des extraits hydro-éthanolique par macération à partir des écorces de <i>P. granatum</i> de deux régions ; Constantine et El Tarf.	39
<b>Figure 33</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	57
<b>Figure 34</b>	Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits des écorces de <i>P. granatum</i> provenant de Constantine et d'El Tarf.	57
<b>Figure 35</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine.	58
<b>Figure 36</b>	Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits des écorces de <i>P. granatum</i> provenant de Constantine et d'El Tarf.	58
<b>Figure 37</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.	59
<b>Figure 38</b>	Teneurs en tanins condensés dans les extraits de l'écorce de <i>P.granatum</i> collectés à Constantine et à El Tarf.	59
<b>Figure 39</b>	Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique et les extraits des écorces de <i>P. granatum</i> provenant de Constantine et d'El Tarf.	63
<b>Figure 40</b>	Valeurs des CI <sub>50</sub> du DPPH par l'acide ascorbique et les deux extraits de des écorces de <i>P. granatum</i> provenant de Constantine et d'El Tarf.	64
<b>Figure 41</b>	Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et des deux extraits des écorces de <i>P. granatum</i> provenant de Constantine et d'El Tarf.	65

<b>Figure 42</b>	Valeurs des CE <sub>50</sub> de l'acide ascorbique et des extraits des écorces de <i>P. granatum</i> provenant de Constantine et d'El Tarf (FRAP).	67
<b>Figure 43</b>	Zones d'inhibition des deux extraits des écorces de <i>P. granatum</i> , de l'ATB et du DMSO sur les bactéries testées.	69
<b>Figure 44</b>	Effet bactéricide et bactériostatique des extraits à différentes concentrations et de l'antibiotique sur <i>S. aureus</i> .	74
<b>Figure 45</b>	Effet inhibiteur des extraits des écorces de <i>P. granatum</i> et de l'antifongique sur les moisissures <i>Alternaria sp.</i> et <i>Fusarium sp.</i>	75

# **Introduction**

## 1- Introduction

Les plantes médicinales, utilisées depuis des millénaires par les médecines traditionnelles du monde entier, renferment une extraordinaire diversité de composés bioactifs aux bénéfices santé bien documentés (Atanasov et al., 2021). Elles représentent un patrimoine naturel précieux pour la prévention et le traitement de diverses affections, allant des infections courantes aux maladies chroniques (Yuan et al., 2016 ; Dar et al., 2023). Le potentiel des extraits de plantes dépasse souvent le cadre de la médecine traditionnelle, et s'étend aujourd'hui à des secteurs tels que la nutraceutique, la cosmétique et l'agroalimentaire, où leurs propriétés bénéfiques sont de plus en plus mises à profit (Agrawal et al., 2023).

La gestion des déchets organiques constitue un défi environnemental majeur du 21<sup>e</sup> siècle (FAO, 2020). Leur accumulation, notamment dans les décharges, génère d'importantes émissions de méthane (un puissant gaz à effet de serre), contribue à la pollution des sols et des eaux, et représente un gaspillage massif de ressources potentiellement valorisables (Kaza et al., 2018 ; Tamasiga et al., 2022). Une part significative de ces déchets organiques provient du secteur agricole et agroalimentaire, incluant les résidus de plantes médicinales en l'occurrence ; racines, feuilles, graines, pulpes, et écorces, souvent considérés comme des sous-produits sans valeur après consommation (Schieber et al., 2001 ; Fernandes et al., 2024).

La valorisation des ressources naturelles locales, notamment les produits issus de la biodiversité végétale, représente un enjeu majeur dans les domaines pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique.

Parmi ces trésors botaniques, le grenadier (*Punica granatum* L.), une espèce largement cultivée depuis l'Antiquité autour du bassin méditerranéen et en Asie, elle est reconnu non seulement pour ses fruits comestibles, mais également pour ses sous-produits, souvent négligés bien qu'ils soient riches en composés bioactifs, tels que les graines, les péricarpes, les fleurs et les écorces qui ils ont été traditionnellement utilisées pour leurs vertus antiparasitaires, anti-diarrhéiques, hémostatiques et, plus récemment, scientifiquement validées comme antioxydantes, anti-inflammatoires et cardioprotectrices (Lansky et Newman, 2007; Viuda-Martos et al., 2010 ; Siddiqui et al., 2024 ; Dogara et al., 2024). Cependant, la composition et la teneur en composés bioactifs des écorces de fruits de la grenade peuvent varier significativement en fonction de facteurs environnementaux ; tels que l'origine géographique, les conditions pédoclimatiques (sol, climat, altitude), notamment le contraste

entre régions intérieures (souvent plus arides) et régions côtières humides, influencent profondément son métabolisme secondaire (Fawole et Opara, 2013 ; Singh et al., 2023).

En Algérie, les régions de Constantine et d'El Tarf présentent des conditions pédoclimatiques distinctes, susceptibles d'affecter la composition et les propriétés des écorces de grenade. Ainsi, une étude comparative de ces écorces provenant de ces deux régions pourrait fournir des informations précieuses pour leur valorisation dans divers domaines, tels que la cosmétique, la pharmacologie et l'agroalimentaire.

Au vu de ces constats conjoints d'une part la gestion inefficace des déchets organiques issus des plantes médicinales et d'autre part le potentiel sous-exploité de fruits tels que la grenade, dont les variations régionales en composés bioactifs restent insuffisamment caractérisées.

Dans cette optique, les principaux objectifs du présent travail sont :

- ✓ Comparer la composition phytochimique des écorces de *P. granatum* issues de deux régions algériennes distinctes : Constantine (zone semi-aride) et El Tarf (zone humide).
- ✓ Quantifier leurs composés bioactifs, notamment les composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés) ;
- ✓ Evaluer *in vitro* leurs activités biologiques; antioxydante et antimicrobienne ;
- ✓ Comprendre l'influence des conditions pédoclimatiques sur la teneur en composés bioactifs et les propriétés biologiques de cette matière végétale ;
- ✓ Valoriser les écorces de *P. granatum* dans des applications pharmaceutiques, cosmétiques ou agroalimentaires.

# **Revue bibliographique**

## 2- Revue bibliographique

### 2.1- Plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des millénaires par de nombreuses civilisations pour soigner les maladies. Présentes dans les traditions médicales anciennes comme celles de la Chine, de l'Égypte, de la Grèce ou de l'Inde, elles ont joué un rôle essentiel dans le développement des soins de santé avant l'apparition de la médecine moderne. Transmis au fil du temps, ce savoir s'est perpétué à travers les âges, notamment grâce aux moines au Moyen Âge. Aujourd'hui encore, l'Organisation mondiale de la santé estime qu'environ 80 % de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle à base de plantes pour répondre à ses besoins primaires en santé (WHO, 2019).

#### 2.1.1- Classification

Les plantes médicinales regroupent l'ensemble des espèces végétales utilisées pour leurs vertus thérapeutiques, grâce aux principes actifs qu'elles contiennent. Depuis des millénaires, elles occupent une place essentielle dans les soins de santé traditionnels à travers le monde, servant aussi bien à prévenir qu'à traiter une grande variété de maladies. Les plantes médicinales peuvent être classées en plusieurs catégories selon leurs propriétés, leurs usages ou leurs effets sur l'organisme (Ekor, 2014).

##### 2.1.1.1- Plantes aromatiques

Les plantes aromatiques contiennent des huiles essentielles qui dégagent un parfum caractéristique. Elles sont utilisées autant en cuisine qu'en médecine traditionnelle pour leurs vertus thérapeutiques (Bakkali *et al.*, 2008). Des exemples courants incluent la *menthe poivrée*, le *thym*, le *romarin*, entre autres.

##### 2.1.1.2- Plantes toxiques

Certaines plantes contiennent des substances actives puissantes qui peuvent être dangereuses, voire mortelles, si elles sont mal utilisées. Toutefois, à faible dose et dans un cadre médical contrôlé, certaines ont un usage thérapeutique (digitale pourprée, belladone, aconit ...etc.)

##### 2.1.1.3- Plantes curatives (médicinales classiques)

Ce sont les plantes les plus couramment utilisées pour soulager ou prévenir divers troubles, sans présenter de toxicité majeure aux doses usuelles. Parmi elles, on retrouve la camomille (*Matricaria chamomilla*), l'*Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) et la valériane (*Valeriana*

*officinalis*), qui sont largement reconnues pour leur sécurité d'emploi et leur efficacité modérée dans les médecines traditionnelles et complémentaires (Barnes *et al.*, 2007).

#### 2.1.1.4- Plantes médicinales les plus connues

Parmi la vaste pharmacopée végétale, certaines espèces se distinguent par leur renommée et leur usage universel en phytothérapie (tableau 1).

**Tableau 1** Plantes plus utilisées dans la médecine traditionnelle.

Plantes	Camomille ( <i>Matricaria chamomilla</i> ) (McKay et Blumberg, 2006)	Aloe vera (Surjushe <i>et al.</i> , 2008)	Gingembre ( <i>Zingiber officinale</i> ) (White, 2007)
Propriétés	Apaisante, digestive, anti-inflammatoire	Cicatrisante, hydratante, anti-inflammatoire	Anti-nauséieux, stimulant, anti-inflammatoire
Usages	En infusion contre le stress, les troubles du sommeil et les douleurs digestives	Appliqué sur la peau pour les brûlures, irritations ou coupures ; le gel peut aussi être consommé (avec prudence) pour ses effets digestifs	Frais ou en poudre, pour soulager les nausées, améliorer la digestion et renforcer l'immunité
Parties utilisées	Fleurs	Gel contenu dans les feuilles	Rhizome

#### 2.1.2- Phytothérapie

La phytothérapie est une discipline médicale qui utilise les plantes médicinales et leurs extraits pour prévenir, soulager ou traiter différentes affections. Fondée sur l'exploitation des principes actifs naturels présents dans les végétaux, elle repose sur des formes variées d'administration comme les tisanes, les gélules, les extraits secs ou les huiles essentielles. Pratiquée depuis l'Antiquité, la phytothérapie combine aujourd'hui savoirs traditionnels et recherches scientifiques pour proposer des traitements naturels, souvent mieux tolérés que les médicaments de synthèse, tout en nécessitant une utilisation prudente pour éviter les effets secondaires ou les interactions (Barnes *et al.*, 2007).

##### 2.1.2.1- Types de la phytothérapie

Il existe de nombreux types de phytothérapie, notamment la phytothérapie traditionnelle basée sur des connaissances anciennes, la phytothérapie scientifique basée sur des recherches modernes, l'aromathérapie et plusieurs autres pratiques.

- **Phytothérapie traditionnelle**

La phytothérapie traditionnelle est une pratique ancestrale reposant sur des savoirs empiriques, souvent transmis oralement ou consignés dans des textes anciens. Elle constitue l'un des fondements des systèmes médicaux traditionnels comme la médecine ayurvédique en

Inde, la médecine traditionnelle chinoise ou encore la médecine berbère en Afrique du Nord. Ces approches considèrent les plantes comme des entités thérapeutiques globales, utilisées seules ou en association, en fonction de leurs propriétés observées au fil des générations (WHO, 2013).

- **Phytothérapie scientifique**

La phytothérapie scientifique repose sur l'étude rigoureuse des plantes médicinales à travers les méthodes de la recherche moderne. Elle inclut l'isolement, la caractérisation et l'analyse des principes actifs, ainsi que l'évaluation de leur efficacité et de leur sécurité par des essais cliniques. Cette approche permet d'objectiver les effets thérapeutiques des plantes et d'en garantir la qualité, la posologie et l'innocuité. De nombreux médicaments modernes, comme la morphine (issue du pavot) ou la quinine (issue du quinquina), tirent leur origine de cette démarche scientifique appliquée à la flore médicinale (Heinrich *et al.*, 2018).

- **Aromathérapie**

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les huiles essentielles (HE) extraites de plantes aromatiques à des fins thérapeutiques. Ces extraits volatils sont obtenus principalement par distillation à la vapeur d'eau ou par expression à froid (notamment pour les zestes d'agrumes). Riches en composés actifs comme les terpènes, les alcools ou les esters, les huiles essentielles possèdent des propriétés variées : antiseptiques, anti-inflammatoires, calmantes, digestives ou encore immunostimulantes. Elles peuvent être administrées par voie cutanée, orale ou en diffusion atmosphérique, sous strict encadrement. L'aromathérapie est utilisée aussi bien en médecine complémentaire qu'en soins de bien-être ou en cosmétologie (Buckle, 2015).

- **Gammathérapie**

La gammathérapie, plus connue sous le nom de gemmothérapie, est une branche de la phytothérapie fondée sur l'utilisation de tissus embryonnaires végétaux en croissance, tels que les bourgeons, jeunes pousses ou radicelles. Mise au point dans les années 1960 par le médecin belge Dr Pol Henry, cette méthode repose sur l'idée que ces tissus contiennent une forte concentration de substances actives (enzymes, acides nucléiques, phytohormones, minéraux, etc.), capables d'agir en profondeur sur l'organisme. Les extraits sont généralement obtenus par macération des tissus frais dans un mélange d'eau, d'alcool et de glycérine, formant ce que l'on appelle des macérats glycérinés.

- **Phytothérapie nutritionnelle**

La phytothérapie nutritionnelle repose sur l'intégration de plantes médicinales ou fonctionnelles dans l'alimentation quotidienne afin de prévenir ou accompagner le traitement de divers troubles de santé. Cette approche s'appuie sur l'utilisation d'aliments ou d'extraits végétaux riches en composés bioactifs (polyphénols, flavonoïdes, fibres, antioxydants, etc.) qui exercent une action bénéfique sur l'organisme. Exemples ; le curcuma pour ses propriétés anti-inflammatoires, l'ail pour ses effets cardiovasculaires, ou encore le thé vert pour ses vertus antioxydantes. Elle se situe à l'interface entre la nutrition, la médecine préventive et la phytothérapie, et gagne en popularité dans les approches de santé intégrative (Torre et Corella, 2017).

- **Phytothérapie externe**

La phytothérapie externe consiste en l'application locale de plantes médicinales sous différentes formes (cataplasmes, compresses, bains, huiles, pommades, gels, lotions) afin de soulager ou traiter des affections cutanées, musculaires ou articulaires. Cette approche repose sur la capacité des substances actives contenues dans les plantes à pénétrer localement les tissus pour exercer une action anti-inflammatoire, cicatrisante, analgésique ou antiseptique. Des plantes comme l'arnica (*Arnica montana*), la consoude (*Symphytum officinale*) ou encore le calendula (*Calendula officinalis*) sont couramment utilisées dans ce cadre, notamment pour traiter les entorses, les douleurs musculaires, les plaies superficielles ou les dermatoses (Bruneton, 2009).

### **2.1.3- Molécules bioactives**

Les plantes médicinales contiennent diverses molécules bioactives responsables de leurs propriétés thérapeutiques.

#### **2.1.3.1- Métabolites primaires**

Les métabolites primaires sont des molécules essentielles directement impliquées dans la croissance, le développement et la reproduction des organismes. Ils incluent les glucides (ex. glucose, amidon), les acides aminés (ex. glutamine, alanine), les nucléotides, qui participent à des processus fondamentaux comme la respiration cellulaire, la synthèse protéique ou la production d'ATP. Chez les plantes, ces métabolites sont produits en continu pendant la photosynthèse et la glycolyse, servant à la fois de source énergétique et de précurseurs pour la biosynthèse des macromolécules (parois cellulaires, ADN). Ils assurent la survie en conditions normales et sont souvent exploités dans l'industrie (ex. fermentation pour produire de

l'éthanol ou des antibiotiques). Leur présence est indispensable au maintien des fonctions cellulaires de base.

### • **Glucides**

Les glucides, molécules organiques composées de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, constituent une source d'énergie centrale pour les cellules via des voies métaboliques telles que la glycolyse, le cycle de l'acide citrique et la phosphorylation oxydative (Chadel, 2021).

Structurellement, les glucides se divisent en monosaccharides (ex. glucose, fructose), disaccharides (ex. saccharose, lactose) et polysaccharides (ex. glycogène, amidon), ces derniers jouant un rôle clé dans le stockage énergétique ou la structure cellulaire (Dashty, 2013).

Fonctionnellement, ils se classent en trois catégories : substrats énergétiques (ex. glucose), molécules de réserve (ex. glycogène hépatique) et composants structuraux (ex. parois cellulaires végétales) (Chadel, 2021). Parallèlement, la gluconéogenèse permet de synthétiser du glucose à partir de précurseurs non glucidiques (ex. acides aminés) (Dashty, 2013). Les glucides interviennent aussi dans la reconnaissance cellulaire et la signalisation, via les glycoprotéines et glycolipides membranaires (Dashty, 2013 ; Chadel, 2021).

### • **Protéines**

Les protéines végétales, par leur diversité structurale et fonctionnelle, sont des acteurs clés du développement, de l'adaptation et de la défense des plantes (Hopkins, 2003). Leur organisation en structures primaires, secondaires et tertiaires, stabilisées par des interactions hydrophobes ou des ponts disulfures, détermine leur activité biologique dans des conditions cellulaires variées. Parmi elles, les protéines structurales jouent un rôle fondamental : les hydroxyproline-richglycoproteins (HRGPs), les arabinogalactanproteins (AGPs) et les proline-richproteins (PRPs), décrites par Showalter (1993), renforcent la paroi cellulaire.

Les protéines PR (Pathogenesis-Related), telles que les chitinases et glucanases, dégradent les parois des champignons et bactéries, tandis que les lectines et inhibiteurs de protéases perturbent le métabolisme des herbivores. Ces protéines activent également des voies de signalisation, déclenchant la production de phytoalexines ou le renforcement pariétal (Malandain et Lavaud, 2004).

Également les protéines végétales remplissent des fonctions métaboliques et régulatrices vitales. Les enzymes comme la RuBisCO, catalysent la fixation du CO<sub>2</sub> lors de la photosynthèse, soutenant la production énergétique. Les protéines de stockage, telles que les légumines, servent de réserves azotées pour la germination, tandis que les phytochromes régulent la croissance en réponse à la lumière (Hopkins, 2003).

### • Lipides

Les lipides, composés principalement d'acides gras et de glycérol, sont des éléments clés de la structure et de la fonction cellulaires. Leur diversité chimique leur permet de remplir des rôles essentiels, allant du soutien membranaire à la régulation métabolique. Selon Kim (2020) et Touitou (2005), les phospholipides et glycolipides forment la matrice des membranes cellulaires et des organites (ex. chloroplastes), assurant intégrité et fluidité. Les stérols (ex. β-sitostérol), quant à eux, stabilisent les membranes en interagissant avec les phospholipides, modulant leur perméabilité (Touitou, 2005).

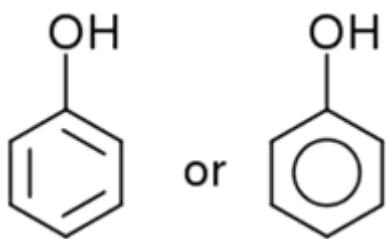
Sur le plan fonctionnel, les lipides agissent comme réserves énergétiques et médiateurs biochimiques. Les triacylglycérols (TAG) et triglycérides, stockés dans les graines, fournissent l'énergie nécessaire à la germination (Touitou, 2005 ; Kim, 2020). Parallèlement, les acides gras polyinsaturés (ex. acide linolénique) sont des précurseurs de molécules de signalisation comme les jasmonates, régulant les réponses aux stress biotiques (herbivores) et abiotiques (froid, sécheresse) (Touitou, 2005 ; Kim, 2020).

#### 2.1.3.2- Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés organiques synthétisés par les organismes (plantes, champignons, bactéries) qui ne participent pas directement à la croissance ou au développement, mais jouent un rôle écologique clé dans la défense contre les herbivores ou les pathogènes. Ils incluent des molécules comme les alcaloïdes, les terpénoïdes et les phénoliques (ex. tanins, flavonoïdes). Contrairement aux métabolites primaires, leur production est souvent induite par des stress environnementaux (attaques, sécheresse) et leur répartition est limitée à des espèces ou familles spécifiques.

##### a) Polyphénols

Les polyphénols sont des composés organiques aromatiques définis par la présence d'au moins deux groupes phénol (-OH) liés à un noyau benzénique. Classés parmi les métabolites secondaires des plantes, ils sont synthétisés pour répondre aux stress environnementaux ou aux attaques pathogènes (Élie, 2022).

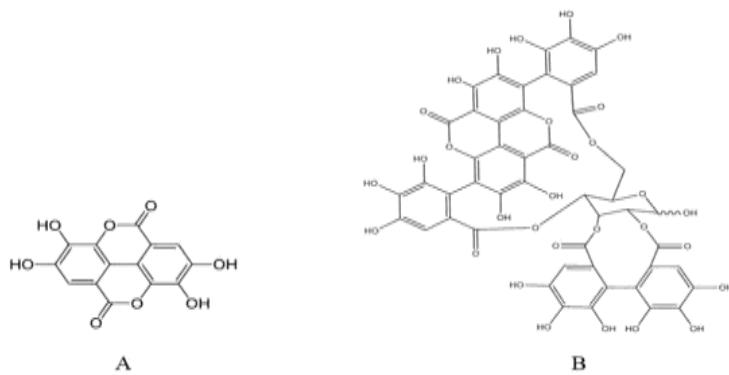


**Figure 1** Formule développée du phénol (Zagoskina *et al.*, 2023).

Ces composés sont ubiquitaires dans le règne végétal, avec des concentrations variables selon les espèces, les organes (feuilles, racines, fruits) et les conditions de croissance. Par exemple, les fruits (raisins, baies), les légumes (oignons, choux) et les graines (café, cacao) contiennent des flavonoïdes, des anthocyanes ou des tanins, tandis que les boissons comme le thé et le vin renferment des catéchines ou des stilbènes (ex. resvératrol) (Élie, 2022). Leur localisation dans les vacuoles, les parois cellulaires ou les tissus externes (ex. épiderme) optimise leur rôle protecteur contre les agressions externes, en inhibant notamment la croissance des microorganismes pathogènes (Daglia, 2012).

Sur le plan fonctionnel, les polyphénols jouent un rôle biologique essentiel pour les plantes. Ils assurent une défense contre les pathogènes en perturbant la membrane cellulaire des bactéries et champignons, en inhibant des enzymes clés (protéases, glycosyltransférases) ou en interférant avec la synthèse d'ADN/ARN (Daglia, 2012).

Les applications humaines et industrielles des polyphénols sont multiples. Dans l'alimentation, ils servent d'antioxydants naturels pour stabiliser les produits transformés, comme les viandes. En santé, leurs propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuses et cardioprotectrices sont explorées en nutraceutique (Élie, 2022). Des études récentes mettent en lumière leur potentiel thérapeutique dans les troubles neurologiques, comme la maladie d'Alzheimer ou de Parkinson. Par exemple, les polyphénols de *Punica granatum* L. (grenadier), tels que les ellagitanins et l'acide gallique, inhibent l'agrégation des protéines  $\beta$ -amyloïdes et réduisent la neuroinflammation, offrant des perspectives pour le développement de molécules neuroprotectrices (Aleksandrova *et al.*, 2023). En agriculture durable, ils sont utilisés comme alternatives aux pesticides chimiques, tandis que l'industrie cosmétique les intègre dans des crèmes anti-âge pour neutraliser les radicaux libres (Daglia, 2012; Élie, 2022).

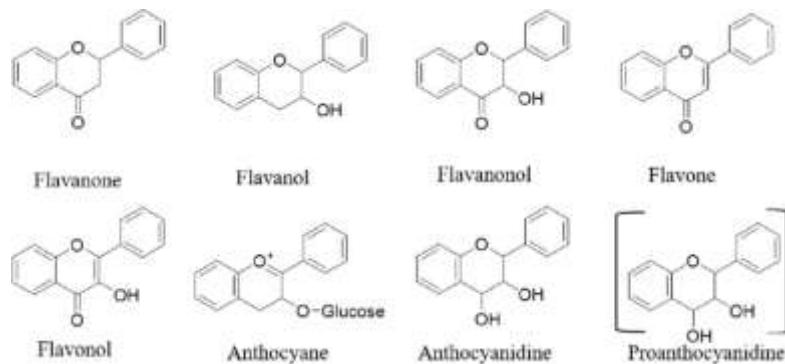


**Figure 2** Structure chimique de l'acide ellagique (A) et de la punicalagine (B)

(Aleksandrova *et al.*, 2023).

### • Flavonoïdes

Les flavonoïdes, une sous-classe majeure des polyphénols, sont caractérisés par une structure chimique à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), comprenant deux noyaux benzéniques reliés par une chaîne de trois carbones. Synthétisés par les plantes via la voie des phénylpropanoïdes, ils incluent des groupes tels que les flavonols, flavones, flavanones, anthocyanes et isoflavones, dont la diversité structurale dépend des substitutions oxygénées et des motifs de liaison (Ghedira, 2005).



**Figure 3** Structures de base des différents flavonoïdes (Beaumont, 2021).

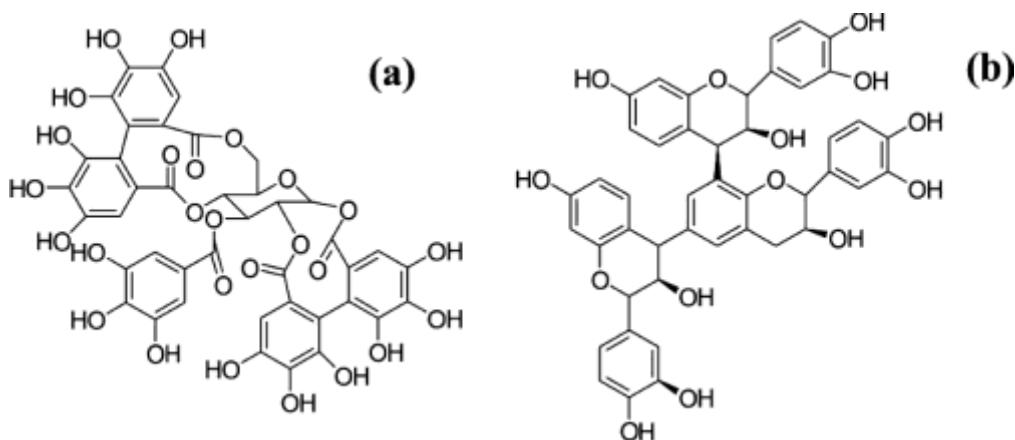
Ces composés sont largement distribués dans le règne végétal, avec des concentrations élevées dans les fruits (agrumes, raisins, pommes), les légumes (oignons, choux), les fleurs (pétales colorés) et les racines (réglisse), notamment dans les tissus exposés à la lumière (feuilles, écorces) ou soumis à un stress (attaques pathogènes, UV) (Ghedira, 2005 ; Panche *et al.*, 2016). Leur accumulation varie selon les organes de la plante : les anthocyanes colorent les pétales de fleurs et les peaux de fruits, tandis que les flavonols (ex. quercétine) dominent dans les feuilles, optimisant leur rôle de protection contre les rayonnements UV et les stress oxydatifs (Panche *et al.*, 2016).

Sur le plan biologique, les flavonoïdes remplissent des fonctions vitales pour les plantes. Ils neutralisent les radicaux libres générés par le stress oxydatif, protègent contre les dommages de l'ADN via la chélation des métaux pro-oxydants (ex. fer), et modulent les voies de signalisation inflammatoires, réduisant la vulnérabilité aux infections microbiennes et aux herbivores (Jomova *et al.*, 2025). Leur rôle écologique inclut également l'attraction des polliniseurs par des pigments colorés (anthocyanes) et la répulsion des herbivores grâce à leur amertume ou astringence (Ghedira, 2005 ; Panche *et al.*, 2016).

Les applications industrielles des flavonoïdes sont tout aussi diversifiées. L'industrie agroalimentaire les utilise comme colorants naturels (anthocyanes) ou conservateurs, tandis que la cosmétique les intègre dans des crèmes solaires et anti-âge pour neutraliser les radicaux libres (Ghedira, 2005 ; Jomova *et al.*, 2025). En nutraceutique, des extraits standardisés de grenadier sont formulés en compléments santé, exploitant leur activité antimicrobienne et leur capacité à réguler le microbiote intestinal (Panche *et al.*, 2016 ; Rauf *et al.*, 2025).

#### • Tanins

Les tanins, métabolites secondaires polyphénoliques produits par les plantes supérieures, se distinguent par leur capacité à former des complexes avec les protéines, polysaccharides et métaux. Structuralement, ils se divisent en deux groupes : les tanins hydrolysables (esters d'acide gallique ou hexahydroxydiphénique liés à des polyols comme le glucose) et les tanins condensés (polymères de flavan-3-ols tels que les catéchines), avec des masses molaires variant de 300 à 30 000 Da (Khanbahaee & van Ree, 2001 ; Hoque *et al.*, 2024).



**Figure 4** Structure chimique des tanins hydrolysables (a) et condensés(b) (Bayart, 2019).

Leur distribution est ubiquitaire dans le règne végétal, notamment dans l'écorce (chêne, châtaignier), les feuilles, les fruits immatures (raisin, grenade), les graines et les galles, où leur

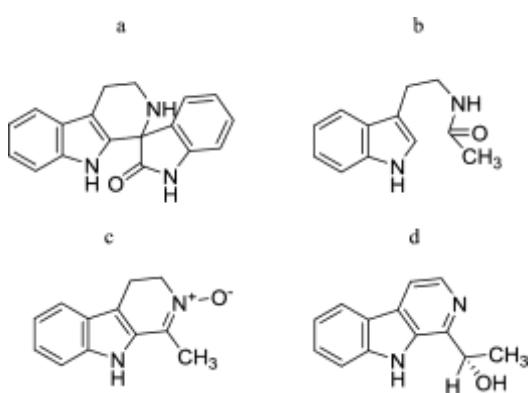
accumulation est souvent déclenchée par des stress biotiques (pathogènes, herbivores) ou abiotiques (UV, sécheresse) (Saadaoui *et al.*, 2012 ; Ozogul *et al.*, 2025).

Leur rôle biologique central est la défense des plantes. En précipitant les protéines digestives des herbivores, ils réduisent la palatabilité des tissus végétaux, tandis que leurs propriétés antimicrobiennes inhibent les pathogènes (Khanbahaee & van Ree, 2001 ; Lairini *et al.*, 2014). Ces mécanismes sont particulièrement marqués dans des espèces comme *Punica granatum* (grenadier), où les tanins des écorces de fruits atteignent jusqu'à 25 % du poids sec, agissant comme une barrière chimique contre les agressions externes (Saadaoui *et al.*, 2012 ; Lairini *et al.*, 2014).

Aujourd'hui, l'industrie alimentaire les utilise pour clarifier vins et bières, stabiliser les arômes, ou prolonger la conservation des produits via leur activité antimicrobienne (Ozogul *et al.*, 2025). En cosmétique, ils intègrent des crèmes anti-âge pour leur pouvoir antioxydant, et en pharmacologie, leur potentiel antitumoral (inhibition de l'angiogenèse, apoptose) et antiviral (ex. contre le VIH) est activement étudié (Lairini *et al.*, 2014 ; Hoque *et al.*, 2024), tandis que leurs propriétés astringentes et anti-inflammatoires les ont ancrés dans les médecines traditionnelles (anti-diarrhéiques, hémostatiques) (Khanbahaee et van Ree, 2001 ; Hoque *et al.*, 2024).

### b) Alcaloïdes

Les alcaloïdes, une classe majeure de métabolites secondaires azotés, sont des composés organiques naturels caractérisés par la présence d'au moins un atome d'azote, souvent intégré dans un noyau hétérocyclique dérivé d'acides aminés, ce qui leur confère des propriétés basiques et une grande diversité structurale (Adamski *et al.*, 2020 ; Willstätter *et al.*, 2025).



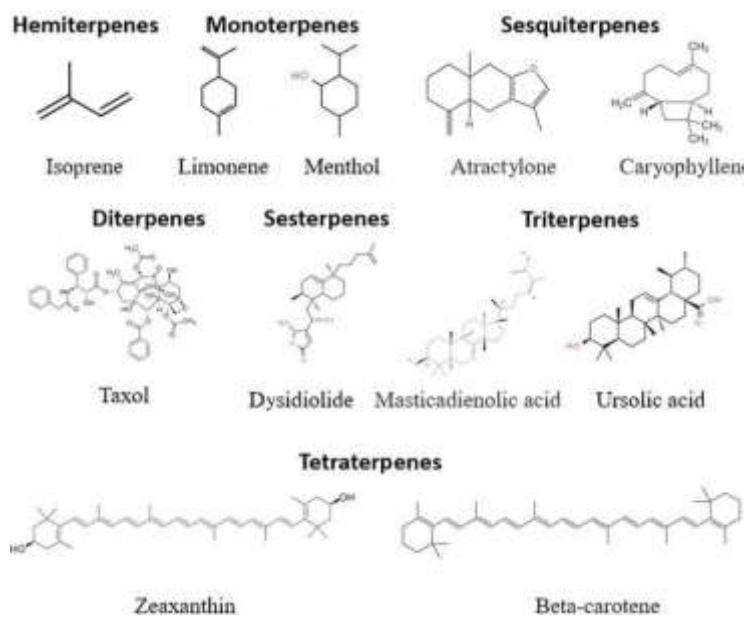
**Figure 5** Structure de quatre alcaloïdes indoliques isolés de *D. guianensis*. a) Dicorynamine b) N-Acetyltryptamine c) Harmalan-N-oxide d) Cordisinine C (Vanbellingen, 2015).

Leur hétérogénéité structurale, incluant des unités amine primaires, secondaires, tertiaires ou quaternaires, explique leur large spectre d'activités physiologiques : analgésiques (morphine), antiparasitaires (quinine), cardiotropes (quinidine), stimulantes (caféine), mais aussi toxiques (strychnine) (Willstätter *et al.*, 2025).

Sur le plan pharmacologique, ils montrent des effets anticancéreux (cytotoxicité), antiviraux, antibactériens, anti-inflammatoires et neuroactifs, comme l'inhibition de l'acétylcholinestérase, pertinente pour le traitement de maladies neurodégénératives (Adamski *et al.*, 2020). Cependant, leur potentiel thérapeutique est contrebalancé par une toxicité hépatique ou rénale à fortes doses (Adamski *et al.*, 2020).

### c) Terpènes

Les terpènes, une vaste classe de composés organiques hydrocarbonés synthétisés à partir d'unités isoprène ( $C_5H_8$ ), se classent selon leur structure en monoterpènes ( $C_{10}$ ), sesquiterpènes ( $C_{15}$ ), diterpènes ( $C_{20}$ ) et triterpènes ( $C_{30}$ ) (Cox-Georgian *et al.*, 2019).



**Figure 6** Classification des terpènes (Tilkat *et al.*, 2023).

Ils sont largement distribués dans le règne végétal, notamment dans les huiles essentielles (menthe, eucalyptus), les résines (conifères), les fleurs (lavande) et les fruits (agrumes), où ils remplissent des rôles écologiques clés; défense contre les herbivores et pathogènes via des effets répulsifs ou toxiques, attraction des polliniseurs par des arômes volatils, et protection contre le stress oxydatif (Cox-Georgian *et al.*, 2019 ; Del Prado-Audelo *et al.*, 2021).

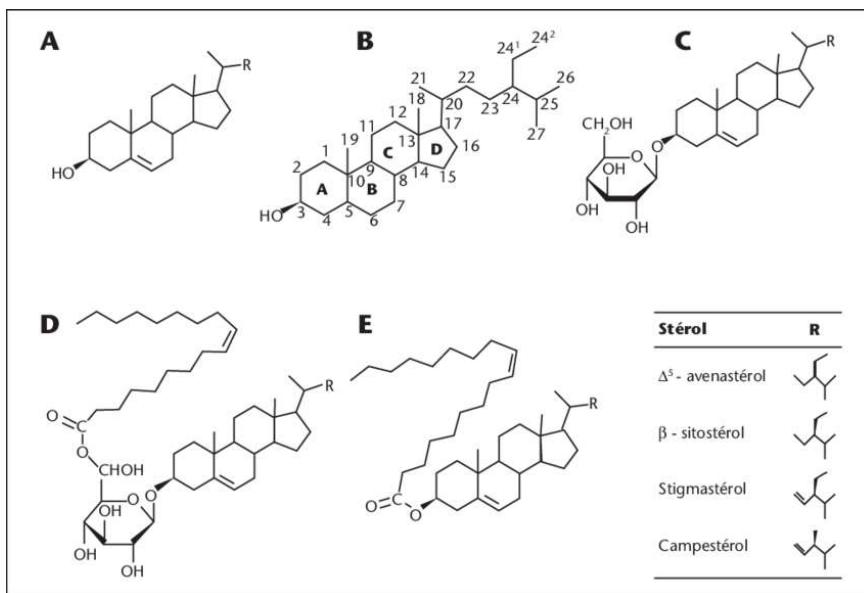
Sur le plan thérapeutique, les terpènes offrent des applications diversifiées. Le menthol (monoterpène) soulage les douleurs musculaires et décongestionne, tandis que l'artémisinine (sesquiterpène) combat le paludisme et le taxol (diterpène) inhibe la prolifération tumorale (Cox-Georgian *et al.*, 2019).

Les terpènes sur *Punica granatum* L. (grenadier) comme l'acide ursolique (triterpène) et le limonène, sont concentrés dans l'écorce, les graines et les fleurs. Ces composés combattent les pathogènes, protègent contre le stress oxydatif et attirent les pollinisateurs (Maphetu *et al.*, 2022). L'acide ursolique inhibe les voies PI3K/Akt et MAPK, ciblant les cancers du sein et du côlon (Maphetu *et al.*, 2022).

#### d) Phytostérols

Les phytostérols, ou stérols végétaux, sont des composés lipidiques naturellement présents dans les membranes cellulaires des plantes, où ils jouent un rôle structural clé en stabilisant la fluidité membranaire et en régulant la perméabilité (Fernandes et Cabral, 2007 ; Moreau *et al.*, 2018).

Leur structure repose sur un noyau stéroïden tétracyclique (cyclopenta[ $\alpha$ ]phénanthrène), semblable à celui du cholestérol, mais se distingue par des modifications de la chaîne latérale, notamment des groupements méthyle ou éthyle, générant des dérivés tels que le  $\beta$ -sitostérol, le campestérol et le stigmastérol, chacun doté de propriétés physico-chimiques uniques (Fernandes et Cabral, 2007).

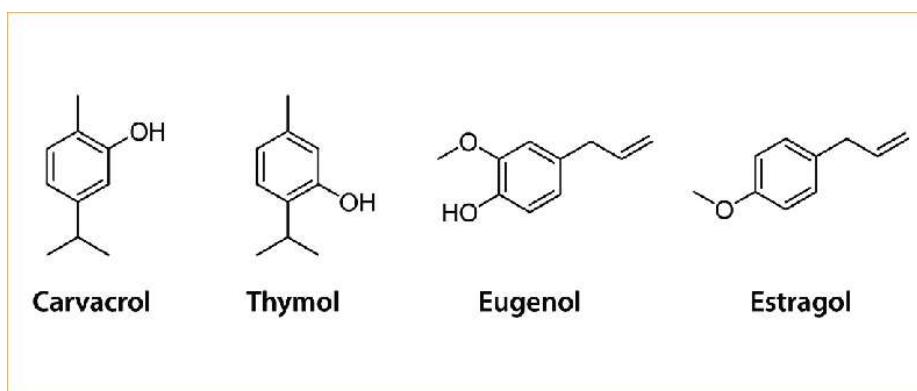


**Figure 7** Structure chimique des phytostérols principaux de l'huile de tournesol (Berger *et al.*, 2010).  
A) structure générale d'un stérol libre ; B) numérotation des carbones (contrairement au cholestérol, les phytostérols portent sur le carbone 24 un groupement éthyl ( $\beta$ -sitostérol ou stigmastérol) ou méthyl (campestérol)) ; C)stéryl glucoside (SG) ; D) acyl stéryl glucoside (ASG) et ; E)stéryl ester ou (SE)

Fonctionnellement, ces composés exercent une double action bénéfique; d'une part, ils réduisent l'absorption intestinale du cholestérol en compétitionnant pour l'incorporation dans les micelles biliaires, abaissant ainsi significativement les taux de LDL-cholestérol sanguin lorsqu'ils sont consommés en quantités suffisantes (Fernandes & Cabral, 2007 ; Moreau *et al.*, 2018) ; d'autre part, ils présentent des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, justifiant leur intégration dans des formulations nutraceutiques et pharmaceutiques (Moreau *et al.*, 2018). Parallèlement, les phytostérols servent de précurseurs industriels pour la synthèse de stéroïdes thérapeutiques (hormones, corticostéroïdes) et sont utilisés en cosmétique pour leur capacité à stabiliser les membranes et moduler l'inflammation cutanée (Fernandes & Cabral, 2007).

### e) Huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont des extraits volatils complexes issus principalement des organes aériens des plantes aromatiques, utilisées depuis l'Antiquité pour leurs vertus antiseptiques et médicinales. Ces mélanges renferment des monoterpènes et des sesquiterpènes tels que le thymol, le carvacrol, le linalol ou l'acétate de linalyle ainsi que leurs dérivés oxygénés (alcools, esters, aldéhydes, phénols, cétones), conférant à chaque HE une diversité chimique et biologique (Kaloustian *et al.*, 2008; Amarti *et al.*, 2010).



**Figure 8** Structure des dérivés phénoliques des huiles essentielles testées (Derbré *et al.*, 2013).

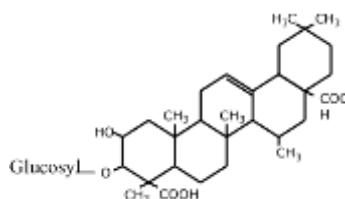
Structurallement, tous ces composés partagent un squelette isoprénoïde polycyclique, souvent modifié par des groupements hydroxyles ou carbonyles, des doubles liaisons et des configurations stériques variées, identifiés précisément par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) (Kaloustian *et al.*, 2008).

Fonctionnellement, ces HE exercent leur activité antimicrobienne et antifongique en perturbant l'intégrité des membranes cytoplasmiques : elles induisent une perméabilisation,

un effondrement des gradients ioniques et, in fine, la mort cellulaire des micro-organismes (Kaloustian *et al.*, 2008; Amarti *et al.*, 2010).

### f) Saponosides

Les saponines sont des glycosides amphiphiles composés d'un aglycone triterpénoïde ou stéroïden relié par liaison C–O-glycosidique en position C-3 à une ou plusieurs chaînes glucidiques hydrophiles (Chen *et al.*, 2010 ; El Aziz *et al.*, 2019). Cette architecture bipolaire confère à ces molécules, de poids moléculaire élevé, une double affinité pour l'eau et les lipides, base de leurs propriétés tensioactives émulsifiantes, mousseuses et détergentes exploitée autant dans les formulations cosmétiques et agroalimentaires que dans certains vaccins en tant qu'adjuvant immunostimulant (Song et Hu, 2009 ; Chen *et al.*, 2010).



**Figure 9** Structure typique des saponosides (Sekkoum, 2011).

Fonctionnellement, au-delà de leur rôle dans la stabilisation de la mousse et la réduction de la tension superficielle de l'eau (Chen *et al.*, 2010), les saponines présentent un large spectre d'activités pharmacologiques anti-inflammatoires, antimicrobiennes, hémolytiques, cytotoxiques et antinéoplasiques (Song et Hu, 2009 ; El Aziz *et al.*, 2019).

#### 2.1.4- Techniques d'extraction des molécules bioactives

Pour isoler efficacement les molécules bioactives des plantes médicinales, diverses méthodes d'extraction adaptées aux caractéristiques chimiques des composés sont mises en œuvre.

##### 2.1.4.1- Techniques traditionnelles

Depuis des siècles, les techniques traditionnelles d'extraction reposent sur des procédés simples et accessibles, tels que la macération, la décoction et l'infusion.

- **Macération**

La macération est une technique d'extraction traditionnelle utilisée pour isoler des métabolites bioactifs, tels que les polyphénols, à partir de matrices végétales. Elle consiste à immerger la matière végétale, préalablement coupée ou pulvérisée, dans un solvant approprié (éthanol,

méthanol, eau, etc.) à température ambiante ou modérée pendant une durée prolongée, variant de plusieurs heures à plusieurs jours. Ce processus repose sur la diffusion passive des molécules actives des tissus végétaux vers le solvant, sans apport externe d'énergie, ce qui préserve la stabilité des composés thermosensibles (Cújic *et al.*, 2016 ; Tambun *et al.*, 2021). En tant que méthode d'extraction solide-liquide, son efficacité dépend de facteurs tels que la solubilité des composés cibles, la température, la concentration du solvant, la taille des particules, la porosité de la matrice et l'agitation (Tellez-Robles *et al.*, 2023). Bien que simple, peu coûteuse et adaptée aux molécules fragiles, la macération présente des limites en termes de rendement et de temps d'extraction comparativement à des techniques modernes. Néanmoins, son absence de chauffage intensif en fait une méthode privilégiée pour éviter la dégradation thermique (Cújic *et al.*, 2016 ; Tambun *et al.*, 2021).

#### • Décoction

La décoction est une technique d'extraction thermique traditionnelle principalement utilisée pour isoler des composés hydrosolubles et thermostables à partir de matrices végétales dures, telles que les racines, les écorces ou les tiges (Tandon et Rane, 2008). Cette méthode consiste à faire bouillir les parties de la plante dans de l'eau pendant une durée déterminée (généralement 10 à 60 minutes), permettant une rupture des parois cellulaires et une libération efficace des métabolites actifs. La décoction est particulièrement adaptée aux plantes fibreuses ou rigides, car la chaleur facilite la pénétration du solvant dans les tissus végétaux compacts (Tandon et Rane, 2008). Le rapport plante/solvant et la dureté de la matière première influencent directement le rendement : par exemple, les plantes très dures nécessitent jusqu'à 16 fois le volume d'eau par rapport à leur masse pour optimiser l'extraction. Bien que cette méthode soit simple et ne nécessite pas de solvants organiques, elle présente des limites pour les composés thermolabiles ou volatils, qui peuvent se dégrader lors de l'ébullition (Tandon et Rane, 2008).

#### • Infusion

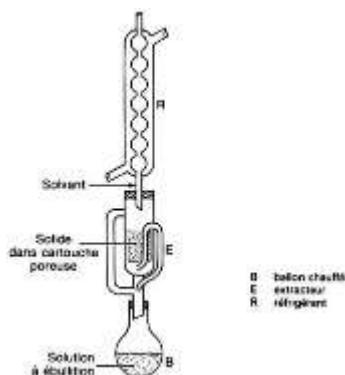
L'infusion est une méthode d'extraction aqueuse traditionnelle et douce, particulièrement adaptée aux parties délicates des plantes (feuilles, fleurs) ou aux composés thermosensibles. Selon Handa (2008), elle consiste à macérer le matériel végétal dans un solvant chaud (généralement de l'eau, parfois de l'huile) à une température contrôlée, maintenue en dessous du point d'ébullition pour éviter la dégradation des molécules volatiles. Contrairement à la décoction, qui implique une ébullition prolongée, l'infusion préserve les principes actifs en limitant l'exposition à une chaleur excessive. Le procédé peut utiliser de l'eau froide ou

bouillante selon les cas, mais la version chaude est la plus courante, permettant une dissolution progressive des constituants hydrophiles (flavonoïdes, alcaloïdes légers) dans des solutions souvent diluées. Le temps d'extraction varie de quelques minutes à plusieurs heures, selon la plante et la concentration souhaitée. Simple, économique et accessible, cette technique reste largement employée en phytothérapie et en aromathérapie pour son efficacité à extraire des composés fragiles sans équipement spécialisé (Handa, 2008).

#### 2.1.4.2- Techniques modernes

- **Extraction par soxhlet**

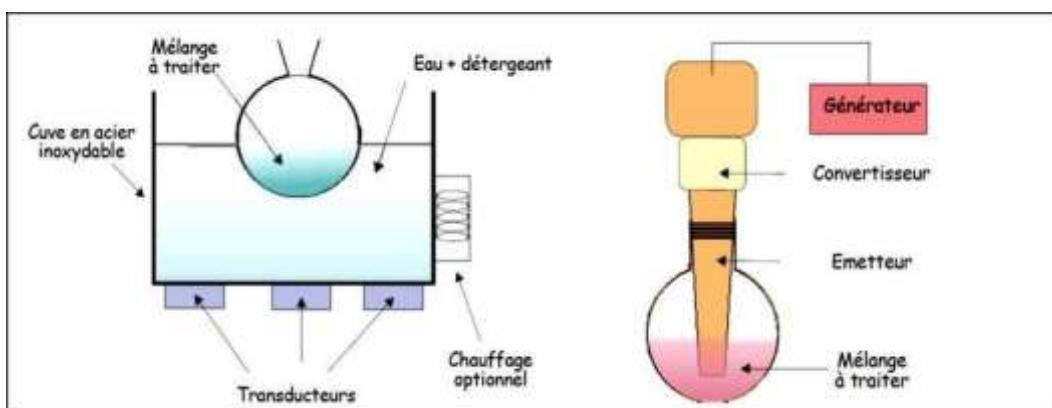
Le procédé d'extraction Soxhlet repose sur un montage constitué d'un ballon distillateur contenant le solvant, d'un corps d'extraction équipé d'une cartouche (généralement en papier filtre) renfermant l'échantillon solide, et d'un réfrigérant en haut du système. Le solvant est chauffé jusqu'à ébullition dans le ballon ; les vapeurs montent, se condensent dans le réfrigérant puis coulent dans le corps d'extraction, imprégnant l'échantillon. À chaque cycle, le solvant imprègne la matière végétale, dissout les constituants lipophiles et, par effet de siphonage, retourne vers le ballon chargé en huile essentielle, garantissant ainsi une extraction exhaustive sans intervention manuelle (Rajesh *et al.*, 2023). Ce cycle se répète automatiquement sans surveillance, favorisant le transfert successif des composés solubles vers le solvant frais jusqu'à l'épuisement de l'échantillon (Luque de Castro et Priego-Capote, 2010). Bien que cette technique classique nécessite un temps relativement long et une consommation énergétique notable, elle se distingue par sa simplicité d'appareillage, son efficacité à extraire les huiles essentielles et son contrôle précis des conditions d'extraction ; par ailleurs, son rendement peut être amélioré grâce à l'utilisation d'ultrasons, de micro-ondes ou de conditions sous haute pression, limitant les défauts de l'extracteur conventionnel tout en optimisant le temps et la consommation de solvant (Luque de Castro et Priego-Capote, 2010 ; Rajesh *et al.*, 2023).



**Figure 10** Schéma du Soxhlet (Poirot, 2007).

- **Extraction par ultrasons**

L'extraction assistée par ultrasons repose sur le principe de cavitation acoustique, c'est-à-dire la formation et l'effondrement rapide de microbulles de vapeur dans le solvant, ce qui provoque la rupture des parois cellulaires végétales et favorise le transfert de soluté du matériau solide vers le solvant (Chematt *et al.*, 2011). En implosant, ces bulles génèrent des forces mécaniques qui non seulement améliorent la cinétique d'extraction et accélèrent le processus, mais permettent également de réduire la température et le temps nécessaires (Chematt *et al.*, 2011), tout en préservant la qualité des composés extraits (antioxydants, huiles essentielles, polyphénols, etc.) (Pérez *et al.*, 2011). Et en diminuant la consommation de solvant. Grâce à ces avantages, cette méthode est considérée comme une alternative verte et efficace aux techniques d'extraction traditionnelles (Pérez *et al.*, 2011), offrant des rendements plus élevés en composés d'intérêt pour l'industrie alimentaire (Chematt *et al.*, 2011).

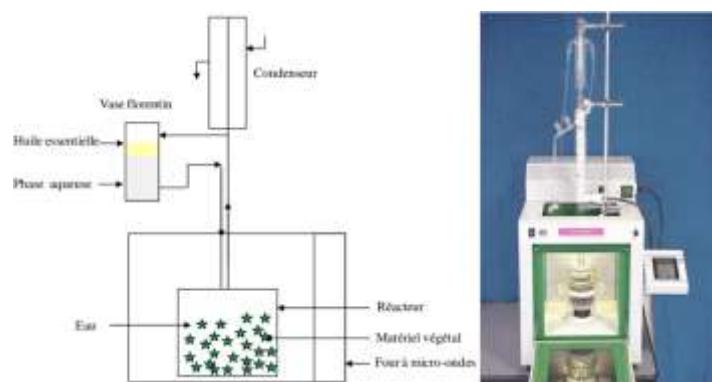


**Figure 11** Schéma des dispositifs à ultrasons: bac et sonde (Achat, 2013).

- **Extraction par micro-ondes**

L'extraction assistée par micro-ondes est une technique émergente visant à améliorer l'efficacité et la durabilité des procédés d'extraction des composés végétaux. Cette méthode

repose sur un chauffage volumétrique, permettant une montée rapide en température grâce à l'interaction onde–matière, et offre plusieurs avantages par rapport aux procédés conventionnels : réduction significative du temps d'extraction, moindre consommation de solvant ainsi qu'une sélectivité accrue (Farhat, 2010). Depuis les premiers travaux publiés en 1986, l'extraction par micro-ondes s'est déclinée en diverses variantes, dont l'extraction par solvant assistée par micro-ondes (MAE), l'hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé (VMHD) et l'hydrodiffusion assistée par micro-ondes (MHG), chacune tirant parti de l'effet volumétrique pour intensifier le transfert de matière et optimiser le rendement en huiles essentielles (Farhat, 2010).



**Figure 12** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Farhat, 2010).

### 2.1.5- Activités biologiques des plantes

Les plantes sont de véritables usines, possédant des propriétés biologiques très variées. Elles représentent une source majeure de composés actifs pour la recherche de nouveaux intrants naturels, grâce à leurs vertus phytothérapeutiques issues de métabolites secondaires tels que les composés phénoliques et flavonoïdes aux propriétés antioxydantes, les terpènes et alcaloïdes aux effets antimicrobiens ou anti-inflammatoires, ainsi que les tanins et saponines dotés d'une action hépatoprotectrice et anticancéreuse. À ces molécules s'ajoutent des huiles essentielles aux vertus insecticides et relaxantes.

#### 2.1.5.1- Activité antioxydante

Les antioxydants sont des molécules capables d'inhiber ou de retarder l'oxydation d'autres composés, agents majeurs du stress oxydatif à l'origine de dommages cellulaires et de diverses pathologies (Bougandoura et Bendimerad, 2013). Cette activité antioxydante repose essentiellement sur la neutralisation des espèces radicalaires responsables de la peroxydation lipidique et des altérations des macromolécules cellulaires telles que les lipides membranaires, les protéines et l'ADN (Ghedadba *et al.*, 2014). En piégeant ces radicaux libres, les antioxydants contribuent non seulement à la protection des structures biologiques, mais

également à la prévention de maladies dégénératives et de troubles liés au vieillissement, tout en maintenant l'homéostasie cellulaire (Bougandoura et Bendimerad, 2013 ; Ghedadba *et al.*, 2014).

L'évaluation de l'activité antioxydante repose sur diverses méthodes analytiques permettant de mesurer la capacité des composés à neutraliser les radicaux libres.

- **Test de piégeage du radical libre DPPH**

Le test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est une méthode spectrophotométrique standardisée et largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante d'extraits naturels ou de composés purs. Ce test repose sur la capacité du radical stable DPPH<sup>•</sup>, de couleur violette, à capter un électron ou un atome d'hydrogène fourni par un antioxydant, ce qui provoque une décoloration mesurable par spectrophotométrie à 517 nm. L'ampleur de cette décoloration est proportionnelle à l'efficacité de piégeage des espèces radicalaires, reflétant ainsi le pouvoir antioxydant de l'échantillon analysé (Bougandoura et Bendimerad, 2013 ; Ghedadba *et al.*, 2014 ; Bentabet *et al.*, 2014 ; Yamauchi *et al.*, 2024).

- **Test de la réduction du fer FRAP**

Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est une méthode spectrophotométrique utilisée pour évaluer la capacité antioxydante d'un extrait. Il repose sur la réduction du complexe ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) au sein du système TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine), réaction qui entraîne la formation d'un complexe chromophore bleu turquoise. L'intensité de cette coloration, mesurée généralement à 593 nm, est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'échantillon, reflétant ainsi son activité antioxydante (Bougandoura et Bendimerad, 2013 ; Bentabet *et al.*, 2014 ; Malino *et al.*, 2024).

- **Test de dosage de l'activité de piégeage des radicaux libres ABTS**

Le test de dosage de l'activité de piégeage des radicaux libres ABTS repose sur la génération du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate) par oxydation de l'ABTS à l'aide de persulfate de potassium. Lorsqu'un antioxydant est ajouté à l'échantillon, il réduit l'ABTS<sup>•+</sup> de la couleur bleu-vert en ABTS incolore, entraînant une décoloration dont l'ampleur, mesurée spectrophotométriquement à 734 nm, est proportionnelle à la capacité de piégeage des radicaux libres par les composés antioxydants présents dans l'échantillon (Shah et Modi, 2015 ; Sarr *et al.*, 2015).

- **Test de blanchiment du β-carotène**

Le test combiné de décoloration (ou « blanchiment ») du β-carotène repose sur la formation d'une émulsion où le β-carotène est dispersé avec des acides gras insaturés (en particulier l'acide linoléique) et un émulsifiant, puis exposé à une source d'oxydation (chaleur et/ou lumière). Lors de l'exposition, l'acide linoléique s'oxyde en générant des radicaux libres qui attaquent le β-carotène : en l'absence d'antioxydants, ceci entraîne une perte rapide de la couleur orange/jaune du β-carotène, mesurée par une chute de l'absorbance à 470 nm. Inversement, la présence de composés antioxydants capte ces radicaux libres, ralentit l'oxydation du β-carotène et limite la décoloration spectrophotométrique ; on quantifie alors la capacité antioxydante de l'échantillon par l'atténuation de ce phénomène de blanchiment (Bourkhiss *et al.*, 2010 ; Ghedadba *et al.*, 2014).

#### **2.1.5.2- Activité anti-inflammatoire**

Les anti-inflammatoires sont des molécules capables de réduire ou d'inhiber la réponse inflammatoire en modulant la production de médiateurs pro-inflammatoires tels que les cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) et les enzymes (COX-2, iNOS), limitant ainsi l'activation de la voie NF-Kb (Barnes et Karin, 1997; Medzhitov, 2008). Cette action permet de diminuer l'infiltration leucocytaire, la libération de radicaux libres et la dégradation des matrices extracellulaires, prévenant ainsi les lésions tissulaires chroniques et l'apparition de pathologies telles que l'arthrite, les maladies cardiovasculaires ou certains cancers (Serhan, 2007 ; Nathan et Ding, 2010). En régulant les voies de signalisation MAPK et en favorisant la production de médiateurs pro-résolution, ces molécules contribuent à restaurer l'homéostasie cellulaire et à protéger l'organisme contre les effets délétères de l'inflammation persistante (Serhan, 2007 ; Medzhitov, 2008).

#### **2.1.5.3- Activité antimicrobienne**

Les métabolites secondaires végétaux, tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques, possèdent une activité antimicrobienne notable. Ces molécules inhibent la croissance bactérienne en perturbant la perméabilité des membranes cellulaires, en inhibant des enzymes essentielles au métabolisme microbien et en empêchant la synthèse d'ADN ou de protéines (Ahmad *et al.*, 1998 ; Cowan, 1999). Par exemple, les flavonoïdes se lient aux protéines de la membrane bactérienne et génèrent un stress oxydatif intracellulaire, tandis que les alcaloïdes peuvent interférer avec la réPLICATION de l'ADN des pathogènes

(Cowan, 1999). De même, les phénols et tanins exercent une action bactéricide en coagulant les protéines membranaires et en inhibant la formation de biofilms (Ahmad *et al.*, 1998).

### a) Bactéries pathogènes

Les bactéries pathogènes sont capables de provoquer des maladies chez l'hôte en perturbant l'équilibre délicat entre leur virulence et les mécanismes de défense de l'organisme (Peterson, 1996). Même si la plupart des bactéries ne présentent aucun danger, certaines possèdent des facteurs de virulence spécifiques qui leur permettent d'adhérer aux cellules hôtes, d'envahir les tissus, d'échapper aux réponses immunitaires et de produire des toxines nocives. Pour lutter contre ces agents infectieux, les antibiotiques sont utilisés comme des médicaments puissants capables de tuer ou d'inhiber leur croissance. Toutefois, certaines bactéries ont développé des stratégies d'adaptation leur permettant de résister à ces traitements. Ce phénomène, connu sous le nom de résistance aux antibiotiques, représente aujourd'hui un défi majeur en santé publique (Barendse *et al.*, 2020). Cette résistance, due à des mutations génétiques ou à l'acquisition de gènes spécifiques, permet aux bactéries de survivre et de se multiplier malgré la présence de l'antibiotique, compliquant considérablement le traitement des infections.

- **Gram positifs**

Les bactéries à Gram positif constituent un groupe important d'organismes unicellulaires qui se caractérisent par leur paroi cellulaire épaisse, riche en peptidoglycane, ce qui leur permet de retenir le colorant violet de cristal lors de la coloration de Gram (Sizar *et al.*, 2023). Cette propriété les distingue des bactéries à Gram négatif. Elles incluent des cocci tels que *Staphylococcus* et *Streptococcus*, des bacilles comme *Bacillus* et *Clostridium*, et des bactéries filamenteuses telles que *Nocardia* et *Actinomyces*. Ces bactéries jouent un rôle majeur en médecine, car elles peuvent être responsables de diverses infections humaines allant des infections cutanées bénignes à des maladies systémiques graves. Leur identification repose sur la morphologie, la coloration de Gram, la capacité à produire des spores, ainsi que divers tests biochimiques (Sizar *et al.*, 2023).

- ***Bacillus cereus***

*Bacillus cereus* est une bactérie à Gram positif, en forme de bâtonnet, capable de croître en conditions aérobies comme en anaérobies facultatives. Très répandue dans l'environnement notamment dans le sol, la végétation et divers aliments comme les viandes, légumes ou le riz elle est capable de former des spores très résistantes. Ces caractéristiques lui permettent de

survivre et de proliférer dans des conditions variées, notamment à température ambiante (Drobniewski, 1993 ; McDowell *et al.*, 2023).

Traditionnellement associée aux intoxications alimentaires, *B. cereus* est responsable de deux formes cliniques principales; le syndrome émétique, causé par l'ingestion de la toxine préformée céréulide, qui induit nausées et vomissements dans les 30 minutes à 6 heures suivant l'ingestion (McDowell *et al.*, 2023), le syndrome diarrhéique, survenant plus tardivement (6 à 15 heures), lié à la production d'entérotoxines protéolytiques telles que Hbl, Nhe et CytK (Drobniewski, 1993 ; McDowell *et al.*, 2023).

La virulence de *B. cereus* repose sur un arsenal d'exoenzymes (hémolysines, phospholipases, protéases) qui provoquent des lésions tissulaires parfois sévères. Bien que les symptômes gastro-intestinaux soient généralement bénins, cette bactérie peut également entraîner des infections graves extra-intestinales, notamment des septicémies ou des infections oculaires, en particulier chez les nouveau-nés, les patients immunodéprimés ou porteurs de dispositifs intravasculaires (Drobniewski, 1993 ; McDowell *et al.*, 2023).



**Figure 13** A : Colonies de *B. cereus* sous-cultivées sur agar nutritif B : image microscopique à × 1000 de grossissement (Esmkhani et Shams, 2022).

- ***Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* est une bactérie à Gram positif appartenant au genre *Staphylococcus* et à la famille des *Staphylococcaceae*, largement reconnue pour son rôle de pathogène opportuniste chez l'être humain (Hauck et Ohlsen, 2006 ; Haley et Skaar, 2012). Elle est capable de coloniser l'hôte de manière asymptomatique, notamment au niveau des muqueuses nasales et de la peau. *S. aureus* est naturellement présent sur la peau et les muqueuses humaines, en particulier dans les narines (Hauck et Ohlsen, 2006), mais peut aussi provoquer une variété d'infections, allant des lésions cutanées superficielles, comme les furoncles, jusqu'à des maladies graves telles que les pneumonies, les endocardites, les septicémies, et les

infections nosocomiales complexes impliquant des dispositifs médicaux (Mousavi *et al.*, 2017 ; Qiu *et al.*, 2021). La virulence de *S. aureus* repose sur une régulation sophistiquée de gènes codés sur des îlots de pathogénicité (PAIs), incluant des ARN régulateurs (RNAs) qui contrôlent l'expression de divers facteurs pathogènes, tels que les toxines hémolytiques, les leucocidines, la toxine alpha, les superantigènes et les toxines exfoliatives (Zhao, Zhang, & Huang, 2018). Ces toxines altèrent les réponses immunitaires en induisant une activation massive des lymphocytes T ou en causant des dommages directs aux cellules hôtes, contribuant à des symptômes variés comme la fièvre, l'hypotension, les lésions nécrotiques, ou encore des manifestations systémiques sévères (Hauck et Ohlsen, 2006 ; Mousavi *et al.*, 2017). Par ailleurs, *S. aureus* est doté d'une remarquable capacité d'adaptation, notamment grâce à sa résistance croissante aux antimicrobiens, ce qui en fait un enjeu majeur en santé publique, tant en milieu hospitalier que communautaire (Qiu *et al.*, 2021).



**Figure 14** Lésions cutanées causées par une infection à *S. aureus* (Shah *et al.*, 2024).

- **Gram négatifs**

Les bactéries à Gram négatif représentent un groupe diversifié et ubiquitaire de micro-organismes, présents dans divers environnements. Elles se caractérisent par une structure de paroi cellulaire unique, comprenant une fine couche de peptidoglycane et une membrane externe contenant des lipopolysaccharides (LPS). Cette configuration leur confère une résistance accrue aux agents antimicrobiens et joue un rôle crucial dans leur interaction avec l'hôte (Kim *et al.*, 2021). Certaines espèces, telles que *Pantoea agglomerans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *Pseudomonas fluorescens*, ont été identifiées comme responsables de maladies respiratoires, notamment la pneumonie, la bronchite chronique, l'asthme et l'hypersensibilité pneumonite (Wójcik-Fatla *et al.*, 2022). Les LPS, en particulier, sont reconnus pour leur capacité à déclencher des réponses immunitaires inflammatoires, ce qui peut contribuer à la pathogenèse de diverses maladies systémiques ou localisées. Ainsi, la compréhension des mécanismes par lesquels ces bactéries à Gram négatif et leurs composants

influencent la santé humaine est essentielle pour le développement de stratégies thérapeutiques et préventives ciblées (Kim *et al.*, 2021).

- ***Escherichia coli***

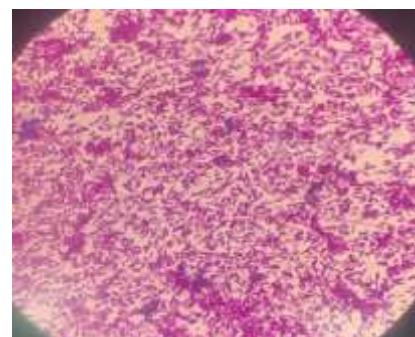
*Escherichia coli* est une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est naturellement présente dans le tractus intestinal des humains et des animaux à sang chaud, où elle joue un rôle important dans l'équilibre du microbiote intestinal. Bien que la majorité des souches d'*E. coli* soient inoffensives ou même bénéfiques, certaines souches pathogènes ont évolué pour causer des maladies, notamment gastro-intestinales. Ces souches d'*E. coli* sont classées en plusieurs pathotypes, chacun caractérisé par des mécanismes distincts de virulence et de production de toxines.

Les symptômes des infections à *E. coli* pathogènes varient selon le profil pathogène, allant de la diarrhée bénigne à la diarrhée sanguinolente, accompagnée parfois de fièvre, de douleurs abdominales, voire de complications systémiques sévères.

Ces souches pathogènes sont principalement transmises par l'eau et les aliments contaminés, en particulier les viandes insuffisamment cuites, les produits laitiers non pasteurisés, les légumes crus, et par contact direct avec des animaux ou des personnes infectées. Leur présence dans l'environnement est souvent liée à une contamination fécale. La diversité des mécanismes de virulence d'*E. coli* en fait un agent pathogène majeur dans les infections intestinales humaines à travers le monde (Nataro et Kaper, 1998).



**Figure 15** *E. coli* en microscopie électronique à balayage (Alves *et al.*, 2017).



**Figure 16** Bactéries *E. coli* sous microscope optique (Juda et Khalaf , 2024).

- ***Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif appartenant à la classe des *Gammaproteobacteria* et à la famille des *Pseudomonadaceae*. Elle est largement répandue dans l'environnement naturel, notamment dans les sols, les eaux douces et marines, les

plantes, ainsi que dans les milieux humides et les environnements hospitaliers, où elle colonise facilement les surfaces inertes et les dispositifs médicaux. Cette ubiquité s'explique par sa remarquable capacité d'adaptation, soutenue par un génome de grande taille et une régulation complexe de ses fonctions métaboliques. Chez l'humain, *P. aeruginosa* est un pathogène opportuniste redoutable, impliqué dans des infections aiguës et chroniques, en particulier chez les patients immunodéprimés, les personnes atteintes de mucoviscidose, les brûlés, ou encore les patients sous ventilation mécanique ou hospitalisés (Krell et Matilla, 2024 ; Bassetti *et al.*, 2018).

Son pouvoir pathogène repose sur la combinaison de plusieurs facteurs de virulence, notamment la motilité, la formation de biofilms très résistants, et la production de toxines telles que l'exotoxine A, diverses protéases, les rhamnolipides, des hémolysines et des pigments cytotoxiques. Ces éléments lui permettent d'endommager les tissus de l'hôte, de contourner le système immunitaire, et de contribuer à l'échec thérapeutique. Les infections causées par *P. aeruginosa* peuvent se manifester par des pneumonies sévères, des infections urinaires, des infections de plaies, des otites externes malignes ou encore des septicémies. La colonisation chronique des voies respiratoires est fréquente chez les patients atteints de mucoviscidose. Enfin, sa présence persistante dans l'environnement hospitalier en particulier sur les équipements médicaux et dans les zones humides ainsi que sa résistance intrinsèque et acquise à de nombreux antibiotiques, font de *P. aeruginosa* un agent pathogène particulièrement difficile à éradiquer (Bassetti *et al.*, 2018).



**Figure 17** *Pseudomonas aeruginosa* (Turk, 2010).



**Figure 18** Infection à *P. aeruginosa* (Müller *et al.*, 2014).

### b) Moisissures

Les moisissures, champignons filamentueux ubiquitaires, jouent un rôle écologique essentiel en décomposant la matière organique. Toutefois, leur présence en milieu intérieur constitue un risque significatif pour la santé humaine. En effet, ces organismes prolifèrent dans les environnements humides et mal ventilés (ex. murs infiltrés, tapis moisis), où ils libèrent des

conidies aéroportées susceptibles de déclencher des réactions allergiques, des asthmes sévères, ou des infections opportunistes chez les individus immunodéprimés (Kuhn et Ghannoum, 2003). Leurs mécanismes pathogènes incluent notamment l'inhibition de la synthèse protéique par des mycotoxines, l'activation incontrôlée du système immunitaire, ainsi que la colonisation directe des tissus. L'impact sanitaire des moisissures toxigènes est amplifié par leur résistance aux traitements antifongiques standards et leur capacité à persister dans les bioaérosols, posant un défi similaire à celui rencontré avec les bactéries résistantes (Kuhn et Ghannoum, 2003).

- *Alternaria*

Le genre *Alternaria*, un groupe de champignons filamenteux ascomycètes, se distingue par son impact dual en écologie et en pathologie, agissant à la fois comme décomposeur saprophyte et comme parasite invasif de plantes, provoquant des maladies dévastatrices (ex. nécroses foliaires, pourritures des fruits) et contaminant les denrées alimentaires par des mycotoxines (Thomma, 2003 ; Woudenberg *et al.*, 2013). Classé taxonomiquement en sections telles que *Alternaria* et *Porri*, ce genre inclut des espèces complexes comme *Alternaria alternata*, *A. tenuissima* et *A. arborescens*, caractérisées par des conidies cloisonnées en chaînes simples ou ramifiées, dotées d'ornementations pariétales distinctives facilitant leur identification (Woudenberg *et al.*, 2013 ; Woudenberg *et al.*, 2015).

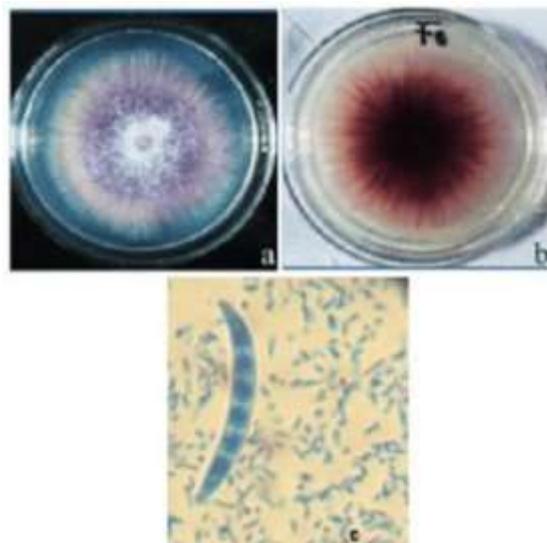
Ces champignons produisent des métabolites secondaires toxiques, dont l'alternariol (AOH), l'acide ténuazonique (TeA), l'alternariolmonométhyl éther (AME) et les altértoxines (ALT), qui compromettent la sécurité alimentaire en contaminant céréales, fruits et légumes (Woudenberg *et al.*, 2013 ; Woudenberg *et al.*, 2015). Leur pathogénicité repose sur des mécanismes variés : des toxines hôte-spécifiques, des enzymes hydrolytiques (pectinases, cellulases) dégradant les parois végétales, et des effecteurs moléculaires modulant les défenses de l'hôte (Thomma, 2003 ; Woudenberg *et al.*, 2015). Cette versatilité menaçant à la fois les récoltes (ex. tomate, pomme) et la santé humaine via des mycotoxines thermostables et photosensibles (Thomma, 2003 ; Woudenberg *et al.*, 2013).



**Figure 19** Caractéristiques morphologiques d'*Alternaria* sp sur milieu PDA : Aspect général et couleur du mycélium (des deux côtés) (Mfouapon Mbetyoumoun *et al.*, 2020). **c** ; macroconidies **d** ; conidiophore.

- ***Fusarium***

*Fusarium*, un genre de champignons filamentueux ubiquitaires, est un pathogène majeur en agriculture et en santé humaine, combinant une capacité destructrice pour les cultures et un potentiel infectieux opportuniste chez les hôtes immunodéprimés (Nelson *et al.*, 1994 ; Ma *et al.*, 2013). Sur le plan végétal, ces champignons provoquent des maladies dévastatrices, telles que les flétrissements vasculaires (*Fusarium oxysporum*) ou les pourritures racinaires, grâce à des mécanismes de pathogénicité sophistiqués, incluant des protéines effectrices ciblant les défenses de l'hôte et des groupes de gènes responsables de la synthèse de mycotoxines comme les fumonisines et les trichothécènes (Ma *et al.*, 2013). Parallèlement, *Fusarium* causant des infections invasives (ex. : fusariose disséminée, kératite) chez les patients atteints de cancers hématologiques, avec des manifestations telles que des lésions cutanées nécrotiques ou des pneumonies (Nelson *et al.*, 1994). Les espèces dominantes, dont *Fusarium solani*, *F. oxysporum* et *F. verticillioides*, produisent non seulement des toxines (ex. : trichothécènes) mais aussi des enzymes hydrolytiques aggravant la colonisation tissulaire (Nelson *et al.*, 1994).



**Figure 20** Caractéristiques morphologiques de *Fusarium sp* sur milieu PDA. Aspect et couleur mycéliens généraux (des deux côtés), c. macro et microconidies (MfouaponMbetyoumoun et al., 2020).

#### 2.1.5.4- Activité anticancéreuse

L'activité anticancéreuse se définit comme la capacité d'un composé ou d'un extrait à inhiber la croissance tumorale par divers mécanismes, notamment l'induction de l'apoptose, l'arrestation du cycle cellulaire, l'inhibition de l'angiogenèse et la modulation des voies de signalisation oncogéniques (Hanahan et Weinberg, 2011). Concrètement, certains agents peuvent activer les protéines proapoptotiques comme Bax et Bak, tout en bloquant les protéines antiapoptotiques Bcl-2 et Bcl-XL, entraînant la fragmentation de l'ADN et la mort programmée des cellules cancéreuses (Fulda et Debatin, 2006). D'autres composés ciblent spécifiquement des kinases clés, conduisant à un arrêt du cycle cellulaire et à une diminution de la prolifération clonogénique (Hanahan et Weinberg, 2011). Par ailleurs, la capacité à inhiber la néovascularisation tumorale, via la réduction de l'expression de facteurs pro-angiogéniques tels que VEGF ou bFGF, limite l'apport en nutriments aux masses tumorales et freine leur croissance et leur capacité métastatique (Ferrara et Kerbel, 2005).

### 2.2- Grenadier (*Punica granatum*)

#### 2.2.1- Historique

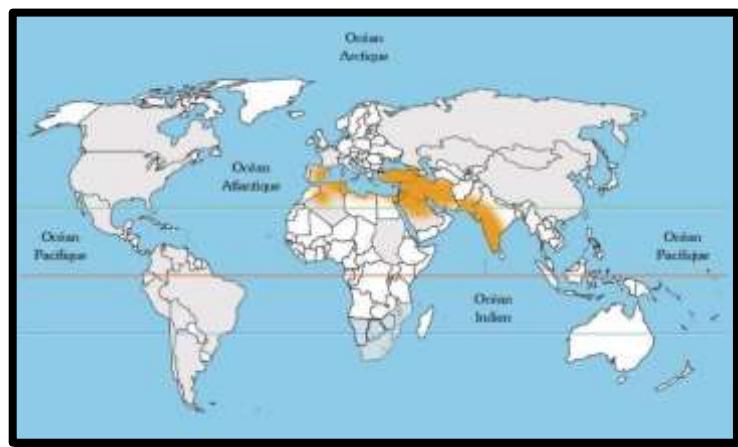
Le grenadier (*Punica granatum*), originaire des régions arides d'Asie occidentale comme l'Iran et le nord de l'Inde, est cultivé depuis plus de 5000 ans, comme l'attestent des vestiges archéologiques en Mésopotamie et des références dans des textes anciens babyloniens, égyptiens et grecs. Introduit en Méditerranée par les Phéniciens vers 1600 av. J.-C., il s'est rapidement répandu dans tout le bassin méditerranéen, devenant un symbole de fertilité et de

prospérité dans de nombreuses cultures, notamment dans la mythologie grecque avec l'histoire de Perséphone et dans les traditions juives et chrétiennes. Plus tard, les Arabes ont joué un rôle fondamental dans son expansion en Afrique du Nord et en Andalousie au Moyen Âge, en perfectionnant les techniques de culture ainsi que les méthodes d'extraction médicinale de ses différentes parties, telles que l'écorce, les fruits et les fleurs (Stover et Mercure, 2007).

### **2.2.2- Habitat et répartition géographique**

#### **2.2.2.1- Dans le monde**

Le grenadier (*Punica granatum*) est originaire d'Asie (Iran, Afghanistan, nord de l'Inde) et s'est diffusé dans tout le bassin méditerranéen grâce aux grandes civilisations antiques. Il est aujourd'hui cultivé dans de nombreuses régions chaudes et sèches, comme l'Espagne, l'Italie, la Turquie, l'Iran ou encore la Californie. Ce fruitier apprécie les climats méditerranéens, semi-arides ou subtropicaux, supporte des températures de -10 °C à +40 °C, et pousse jusqu'à 1000 m d'altitude. Son intérêt nutritionnel croissant favorise son expansion, notamment dans les zones méditerranéennes (Holland *et al.*, 2009).



**Figure21** Répartition géographique de grenadier dans le monde.

#### **2.2.2.2- En Algérie**

En Algérie, le grenadier est bien implanté, surtout dans les régions à climat chaud et sec comme Biskra, Batna, Khenchela ou El Oued. Biskra est particulièrement reconnue pour la qualité de ses variétés locales comme "Tounsi" et "Chelfi". Le grenadier s'adapte bien aux sols drainés et à l'ensoleillement intense. Présent aussi en Kabylie, il bénéficie d'une grande diversité génétique encore peu exploitée. Il joue un rôle économique croissant grâce à la demande en fruits, jus et produits dérivés (FAO, 2009).

### 2.2.3- Exigences de milieu

Le grenadier requiert un milieu spécifique dont les principales exigences sont présentées dans le tableau ci-dessous (Bio de Provence, 2022).

**Tableau 2** Exigences et caractéristiques de milieu nécessaire pour la croissance de grenadier.

Aspect	Exigences / Caractéristiques
Climat	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Climat subtropical chaud idéal (maturation en période chaude)</li> <li>- Tolère le froid : jusqu'à -15 °C, certaines variétés jusqu'à -20 °C</li> <li>- Très bonne tolérance à la sécheresse</li> <li>- A besoin de soleil abondant et d'un sol humide ("pieds dans l'eau, tête au soleil")</li> </ul>
Sol	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peu exigeant</li> <li>- Préfère les sols profonds, riches et alluviaux (ex : limons de Kandahar)</li> <li>- Tolère les sols alcalins et humides</li> <li>- S'adapte à divers types de sols, mais donne de meilleurs rendements dans des sols fertiles et bien arrosés</li> </ul>
Eau / Irrigation	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Résistant à la sécheresse, mais rendement optimal avec arrosage régulier</li> <li>- Nécessite un sol frais et bien irrigué en profondeur</li> <li>- Supporte l'humidité racinaire, contrairement à d'autres fruitiers</li> <li>-Irrigation maîtrisée = grenades de meilleure qualité</li> </ul>

### 2.2.4- Classification botanique

D'après Wald (2009), la classification botanique du grenadier est :

**Règne** : Spermaphytes.

**Sous-règne** : Angiospermes.

**Classe** : Magnoliopsida (dicotylédones).

**Ordre** : Myrtales.

**Famille** : Punicaceae.

**Genre** : *Punica*.

**Espèce** : *Punica granatum* L.

### 2.2.5- Différentes parties de la plante

Le grenadier (*Punica granatum*) est une plante ligneuse composée de plusieurs organes bien distincts (Jindal *et al.*, 2010).

#### 2.2.5.1- Fleurs

Les fleurs du grenadier (*Punica granatum*) sont l'un des éléments les plus remarquables de l'arbre. D'un rouge vif éclatant, parfois orangé, elles apparaissent au printemps et peuvent

continuer à fleurir jusqu'en été. Chaque fleur, généralement en forme de cloche ou de tube, comporte cinq à sept pétales froissés, brillants, entourés d'un calice coriace qui reste souvent attaché au fruit en développement. Ces fleurs sont à la fois ornementales et utiles, car elles attirent les polliniseurs comme les abeilles.



**Figure 22** Fleurs du grenadier (*Punica granatum*) (Anonyme 1)

#### 2.2.5.2- Fruits

Le fruit du grenadier, appelé grenade, est une baie ronde, couronnée par un calice en forme d'étoile, vestige de la fleur. Sa peau est épaisse, coriace, de couleur rouge, rose ou jaunâtre selon les variétés. À l'intérieur, le fruit renferme des centaines d'arilles juteuses et translucides, chacune entourant une graine. Ces arilles sont la partie comestible de la grenade, appréciée pour sa saveur sucrée et acidulée. La grenade est réputée pour sa richesse en antioxydants, notamment les **punicalagines**, ainsi qu'en vitamines C, B5, potassium et fibres



**Figure23** fruit du grenadier (*Punica granatum*) (Anonyme 2)

#### 2.2.5.3- Grains

Les grains de la grenade se trouvent au cœur des arilles, ces petites poches juteuses qui entourent chaque graine. Chaque arille renferme un grain dur ou tendre selon la variété du grenadier. Ces grains sont comestibles, bien qu'ils soient parfois recrachés à cause de leur texture



**Figure24** Grains de la grenade (*Punica granatum*) (Anonyme 3)

#### 2.2.5.4- Feuilles

Les feuilles du grenadier (*Punica granatum*) sont d'un vert vif, allongées et légèrement brillantes. Elles poussent généralement par paires opposées et sont de forme lancéolée, c'est-à-dire en forme de lance. Ces feuilles ont des bords lisses et mesurent entre 3 et 7 centimètres de long. Elles jouent un rôle important dans la photosynthèse et participent à la vitalité de l'arbre. Au printemps, leur couleur est souvent plus claire, puis elles foncent à mesure que la saison avance. En automne, elles prennent une teinte jaunâtre avant de tomber, car le grenadier est un arbre caduc.



**Figure 25** Feuille du grenadier (*Punica granatum*) (Anonyme 4).

#### 2.2.5.5- Arilles

Les arilles du grenadier sont les petites structures juteuses et translucides qui entourent les graines du fruit. Elles sont la partie comestible du fruit de la grenade et sont très appréciées pour leur goût sucré, légèrement acidulé, ainsi que pour leur texture croquante. D'un rouge vif à rose clair selon la variété, les arilles sont regroupés en compartiments à l'intérieur du fruit, séparés par des membranes blanches et amères.



**Figure 26** Arilles du grenadier (*Punica granatum*) (Anonyme 5).

#### 2.2.5.6- Ecorce

L'écorce du grenadier, aussi bien celle du tronc que celle des racines, est épaisse, rugueuse et de couleur brun-grisâtre. Elle contient de nombreux composés bioactifs, notamment des alcaloïdes (comme la pelletierine) et des tanins, qui lui confèrent des propriétés médicinales remarquables. Depuis l'Antiquité, l'écorce est utilisée en phytothérapie, surtout pour ses vertus antiparasitaires. Elle était autrefois couramment employée comme vermifuge naturel, notamment contre les vers intestinaux. En décoction, elle peut également être utilisée pour traiter certaines infections, troubles digestifs ou même pour faire des gargarismes contre les maux de gorge.



**Figure 27** Écorce du grenadier (*Punica granatum*) (Anonyme 6)

#### 2.2.6- Utilisation industrielle de l'écorce

Depuis l'Antiquité, l'écorce du grenadier (*Punica granatum*) a occupé une place importante dans les pharmacopées traditionnelles. Les anciens Égyptiens l'utilisaient comme vermifuge dès le VIII<sup>e</sup> siècle av. J.-C., en raison de sa richesse en tanins capables d'expulser les parasites intestinaux (Jindal *et al.*, 2010). Dans la Grèce antique, Dioscoride décrivit au Ier siècle ses effets antiparasitaires, notamment sous forme de décoctions (Zahidi *et al.*, 2020). Au Moyen

Âge, des savants arabes comme Ibn al-Baytar recommandaient l'écorce séchée et broyée pour traiter les diarrhées, l'incontinence urinaire et certaines inflammations (Zahidi *et al.*, 2020). En Europe, elle fut officiellement intégrée dans les pharmacopées au XIX<sup>e</sup> siècle pour ses propriétés astringentes et vermifuges (Jindal *et al.*, 2010).

Outre les usages médicinaux, l'écorce du grenadier a été historiquement utilisée dans le tannage du cuir, notamment en Afrique du Nord et en Asie centrale, grâce à sa forte teneur en ellagitanins, des substances tannantes naturelles qui donnent aux peaux souplesse et durabilité (Zahidi *et al.*, 2020). Elle servait également de colorant naturel pour les textiles, les tapis et les soieries, en particulier dans les régions berbères d'Algérie et du Maroc, où elle donnait des teintes allant du jaune au brun foncé (Zahidi *et al.*, 2020).

Dans les temps modernes, l'écorce de grenadier a connu une revalorisation industrielle importante. Des recherches récentes ont mis en évidence son potentiel antioxydant, antimicrobien, anti-inflammatoire et même anticancéreux, attribué à sa richesse en composés phénoliques, dont l'acide ellagique, la punicalagine et les flavonoïdes (Sharma *et al.*, 2018 ; Viuda-Martos *et al.*, 2010). En agroalimentaire, l'écorce est utilisée comme additif naturel pour prolonger la conservation des aliments, stabiliser les huiles, enrichir les farines, ou encore réduire l'indice glycémique des jus (Sharma *et al.*, 2018). Elle est aussi intégrée dans des compléments nutritionnels à visée digestive, antioxydante ou métabolique.

Enfin, l'industrie cosmétique utilise l'extrait d'écorce pour formuler des crèmes anti-âge, des lotions purifiantes et des soins antioxydants, grâce à ses propriétés astringentes et protectrices contre le stress oxydatif induit par la pollution ou les UV (Sharma *et al.*, 2018). Cette valorisation globale de l'écorce, de ses usages médicinaux ancestraux à ses applications industrielles contemporaines, témoigne de l'intérêt croissant pour une ressource végétale longtemps sous-exploitée mais désormais reconnue comme un coproduit de haute valeur ajoutée.

## **Matériel et méthodes**

### 3-Matériel et méthodes

Le présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biologie végétale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (FSNV), université Frères Mentouri, Constantine 1 (UFMC1).

#### 3.1- Régions de collecte (Constantine et El Tarf)

Les échantillons d'écorces de fruits de grenadier ont été collectés dans deux régions algériennes présentant des caractéristiques climatiques et géographiques distinctes (Figure 28).

- **Constantine**, capitale de l'est algérien, est située à environ 431 km d'Alger. Du point de vue climatique, la ville se trouve entre l'influence saharienne au sud et le climat méditerranéen au nord, ce qui lui confère un climat semi-aride frais, caractérisé par deux saisons distinctes : une saison sèche et chaude, et une autre plus fraîche avec des précipitations variables (Benoumeldjadj et al., 2023).
- **El Tarf**, située à l'extrême nord-est de l'Algérie (Houmani et al., 2017) , est une zone méditerranéenne parmi les plus humides du pays. Elle bénéficie d'un climat humide à subhumide caractérisé par des précipitations abondantes, notamment en saison hivernale, et des températures modérées (Bahroun et Kherici Bousnoubra, 2011). Elle est connue pour sa richesse en ressources hydriques et son environnement naturel diversifié, comprenant des zones humides d'importance écologique (Bouchelaghem et al., 2014).



**Figure 28** Situation géographique des deux régions de collecte, Constantine et El Tarf.

#### 3.2- Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est constitué des écorces de fruits de grenade ; *Punica granatum* (*P. granatum*) (Figure 29). Les fruits ont été récoltés à maturité dans deux régions distinctes d'Algérie, la wilaya de Constantine et la wilaya d'El Tarf. La récolte a été réalisée au mois d'octobre 2024 afin de garantir une homogénéité des stades physiologiques. L'identification de la plante a été authentifiée par l'enseignante NOUIOUA Wafa (Laboratoire de phytothérapie appliquée aux maladies chroniques, Faculté des Sciences de la Vie et des Sciences Naturelles, Université de Sétif 1).

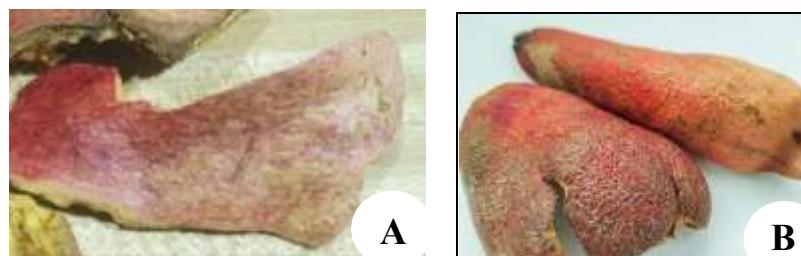


**Figure 29** Partie aérienne et fruits de *P. granatum* ; Constantine (A) et El Tarf (B).

### 3.2.1- Préparation de la plante

#### 3.2.1.1- Séchage

les écorces de fruits de *P. granatum* ont été par la suite enlevées, découpées puis séchées (**Figure 30**) à une température adéquate, exposées à l'air et protégées de la lumière (Cherfia et al., 2017). Cette procédure de déshydratation a pris 15 jours, et elle a été appliquée de manière identique aux deux variétés de grenades afin d'assurer une comparaison précise des résultats.



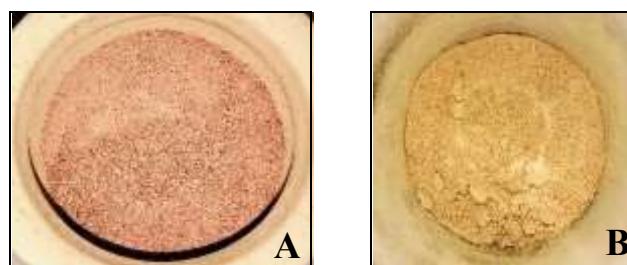
**Figure 30** Ecorces sèches de fruits de *P. granatum* ; Constantine (A) et El Tarf (B).

#### 3.2.1.2- Conservation

Jusqu'au moment de la préparation des extraits, les écorces sèches de fruits de *P. granatum* ont été conservées dans des sacs en papier, placés dans un environnement sec et sombre afin de prévenir toute altération.

#### 3.2.1.3- Broyage

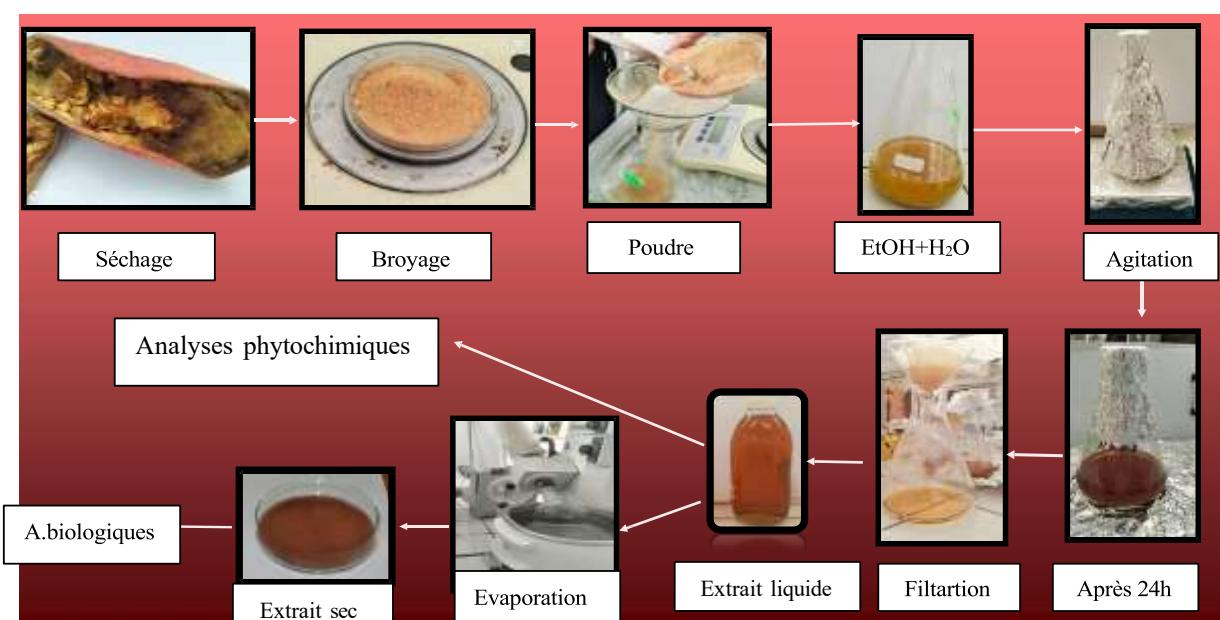
Les écorces de grenade de chaque région ont été broyées à l'aide d'un hachoir électrique, puis finement moulues dans un moulin à épices jusqu'à obtention d'une poudre fine (**Figure 31**). Cette poudre a ensuite été tamisée pour garantir son homogénéité. Enfin, elle a été stockée dans des boîtes en verre, à l'abri de la lumière et à température ambiante (Bouchenak et al., 2020) pendant une nuit avant de procéder au trempage.



**Figure 31** Broyats des écorces de *P. granatum*; Constantine (A), El Tarf (B).

### 3.2.2- Préparation des extraits hydroéthanoliques

La méthode de macération à froid (Tellez-Robles et al., 2023) a été effectuée pour préparer les deux extraits hydroéthanoliques a partir des poudres fines des écorces de fruits de *P. granatum* de deux régions ; Constantine et El Tarf (**Figure 32**). 90 g de la poudre de chaque plante ont été pesés et mis dans un Erlenmeyer, puis 900 ml de solvant hydroéthanolique (80% EtOH, 20% eau distillée) ont été ajoutés. Les mélanges ont été agités vigoureusement par l'agitateur magnétique pendant 2 heures. Après 24 heures, les macérations obtenus ont été centrifugés pendant 10 min à 4000 t/min à température ambiante. Ensuite, les mélanges obtenus ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre (Wattman N° 1). Cette opération a été répétée trois fois. Les filtrats obtenus des trois macérations ; une partie a enfin été concentrée à 45°C jusqu'à l'obtention des extraits secs conservés pour effectuer les activités biologiques et une partie a été gardée pour réaliser les analyses phytochimiques; screening et dosage.



**Figure 32** Préparation des extraits hydro-éthanolique par macération à partir des écorces de *P. granatum* de deux régions ; Constantine et El Tarf.

### 3.3- Rendement d'extraction

Le rendement (RE%) est le rapport entre la masse des extraits obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter. Le RE% de chaque extrait a été calculé selon la formule suivante (Bouchenak et al., 2020).

$$\text{RE (\%)} = \frac{\text{M}_{\text{Ext}}}{\text{M}_{\text{Ech}}} \times 100$$

**RE %:** Rendement d'extraction en %;

**M<sub>Ext</sub>:** Masse de l'extrait sec après évaporation du solvant en mg ;

**M<sub>Ech</sub>:** Masse sèche initiale de l'échantillon végétal en mg.

### 3.4- Screening phytochimique

Pour une identification préliminaire des molécules présentes dans les écorces de fruits de *P. granatum* de deux régions, plusieurs tests de caractérisation basés sur des réactions de précipitation ou de coloration à l'aide des réactifs spécifiques ont été établis (Bouchenak et al., 2020)..

#### 3.4.1- Métabolites primaires

La détection des métabolites primaires, tels que les glucides, les lipides, et les protéines permet de mieux comprendre le métabolisme de base des plantes et leur potentiel nutritif et thérapeutique.

##### 3.4.1.1- Détection des protéines (test de Biuret)

Les protéines ont été détectées suivant le protocole de Kancherla et al. (2019). Deux gouttes de sulfate de cuivre à 3 % et quelques gouttes d'hydroxyde de sodium à 10 % ont été ajoutées à 1 ml d'extrait. Une coloration violette ou rouge a été observée, indiquant la présence de protéines.

##### 3.4.1.2- Détection des sucres réducteurs (test de Fehling)

Dans des tubes à essai, 1 mL de réactif de Fehling (0,5 mL A et 0,5 mL B) a été ajouté à 1 mL de chaque extrait hydroéthanolique. Les tubes ont été ensuite incubés au bain-marie pendant 3 minutes à 100 °C. L'apparition d'un précipité rouge brique révèle la présence de sucres réducteurs (El Yahyaoui et al., 2017).

#### 3.4.2- Métabolites secondaires

Plusieurs métabolites secondaires ont été détectés en l'occurrence polyphénols, tanins et flavonoides.

### **3.4.2.1- Détection des polyphénols et des tanins**

Dans des tubes à essais, 1 mL de chaque extrait a été mélangé avec 5 gouttes de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$  à 1 %). Un changement de couleur vers un bleu noirâtre ou un vert indique la présence des polyphénols et des tanins dans les extraits (Rafiquzzaman et al., 2013).

### **3.4.2.2- Détection des flavonoïdes**

- **Test de Shinoda**

La solution d'essai des extraits a été dissoute dans de l'éthanol à 95 %. On y a ajouté un petit morceau de feuille de magnésium, puis 3 à 5 gouttes de HCl concentré. La couleur rouge cerise intense indique la présence des flavonoïdes (Suphiratwanich et al., 2021).

- **Test de réactif alcalin**

1ml d'hydroxyde de sodium a été ajouté à 1 ml d'extrait. Une couleur jaune est apparue, indiquant la présence de flavonoïdes (Cherfia et al., 2020).

### **3.4.2.3- Détection des alcaloïdes (Test de Mayer)**

Quelques gouttes de réactif de Mayer ont été ajoutées à 1 ml d'extrait. Un précipité jaunâtre ou blanc s'est formé, indiquant la présence des alcaloïdes (Devmurari et al., 2010).

### **3.4.2.4- Détection des saponines**

Pour tester la présence de saponines dans l'extrait, des dilutions décimales ont été préparées pour chaque extrait de grenade. 1 ml d'extrait a d'abord été ajouté au premier tube, puis 9 ml d'eau distillée. Ce processus a été répété séquentiellement dans les tubes suivants, afin d'obtenir une série de dilutions décroissantes. Chaque tube a ensuite été agité pendant 15 secondes. La présence de mousse indiquait la présence de saponines (Bruneton, 1999).

### **3.4.2.5- Détection des phytostéroles (Test de Salkowski)**

Le test de Salkowski a été utilisé pour détecter les stéroïdes dans les deux extraits. 1 ml de chloroforme, 1 ml d'acide sulfurique  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré et 1 ml d'acide acétique ont été ajoutés à 1 ml de chaque extrait. Chaque tube a été agité puis laissé reposer jusqu'à le mélange se séparer nettement en deux couches. L'apparition d'un anneau ou d'une couche supérieure rougeâtre indique la présence des stéroïdes (Devmurari et al., 2010).

### **3.4.2.6- Détection des terpènes (Test d'horizon)**

2 mL d'acide trichloracétique ont été ajoutés à 1 mL d'extrait. La présence de terpénoïdes a été confirmée par la formation d'un précipité rouge (Kancherla et al., 2019).

### **3.5- Dosage colorimétrique des composés phénoliques**

Le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés dans les deux extraits hydroalcooliques a été effectué à l'aide d'un spectrophotomètre.

#### **3.5.1- Dosage des polyphénols totaux**

La teneur en polyphénols totaux dans les deux extraits a été déterminée par une méthode colorimétrique, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Slinkard et Singleton, 1977 ; Cherfia et al., 2017).

##### **a) Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Lors de l'oxydation des composés phénoliques, ce réactif est réduit en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration bleue produite présente un pic d'absorption maximal compris entre 725 et 760 nm, et son intensité est proportionnelle à la concentration en polyphénols présents dans les extraits végétaux.

##### **b) Mode opératoire**

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode décrite par (Slinkard et Singleton, 1977). Pour chaque échantillon, 200  $\mu$ L d'extrait ont été mélangés avec 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (diluée à 10 % dans l'eau distillée) et incubés pendant 5 minutes. Ensuite, 800  $\mu$ L de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$  à 7,5 %) ont été ajoutés. Les mélanges ont été incubés à l'obscurité pendant 1 heure pour éviter toute dégradation photochimique. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu 1600).

Une gamme étalon a été préparée à partir de solutions d'acide gallique à différentes concentrations (6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 et 200  $\mu$ g/mL). Le blanc a également été préparé suivant le même protocole en remplaçant la solution d'extrait avec la solution hydroéthanolique (80%). Toutes les mesures ont été réalisées en triplicata pour assurer la reproductibilité des résultats. Les teneurs en polyphénols totaux ont été exprimées en milligrammes équivalents acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS), conformément à la méthode décrite par (Ghazghazi et al., 2013).

#### **3.5.2- Dosage des flavonoïdes totaux**

La quantité des flavonoïdes totaux dans les deux extraits a été mesurée par spectrophotomètre en suivant la méthode de Djeridane et al. (2006).

### a) Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le réactif ( $\text{AlCl}_3$ ), elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 415-430 nm. La comparaison de l'absorbance observée à celles obtenues par un étalon de quercétine de concentrations connues permet d'évaluer la teneur en flavonoïdes totaux (Dif *et al.*, 2015).

### b) Mode opératoire

La détermination des flavonoïdes totaux repose sur la formation d'un complexe entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Pour cela, une solution d' $\text{AlCl}_3$  à 2 % dans l'éthanol a été d'abord préparée. Ensuite, 1 mL de l'extrait a été mélangé avec 1 mL d' $\text{AlCl}_3$ , puis le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a ensuite été mesurée à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (Shimadzu 1600). Pour quantifier les flavonoïdes, une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant un standard de quercétine dans une gamme de concentrations allant généralement de 10 à 100  $\mu\text{g/mL}$ , traités de la même manière que l'échantillon. Les absorbances de standard ont été mesurées, permettant ainsi de tracer la courbe d'étalonnage. Enfin, la teneur en flavonoïdes dans chaque extrait a été calculée à partir de cette courbe, et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/ g MS).

### **3.5.3- Dosage des tanins condensés**

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon la méthode développée par Sun et al. (1998).

### a) Principe

Le principe de cette méthode de dosage des tanins condensés (pro-anthocyanidines) repose sur une réaction chimique spécifique entre les tanins condensés et la vanilline en milieu acide, produisant un composé coloré dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en tanins (Sun et al., 1998). Les tanins condensés, également appelés pro-anthocyanidines, réagissent avec la vanilline en présence d'acide chlorhydrique concentré pour former un complexe coloré de couleur rouge. Cette réaction est due à la condensation des noyaux phénoliques des tanins avec la vanilline sous l'effet de l'acidité. L'intensité de la couleur obtenue est mesurée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 500 nm. L'absorbance a été ensuite comparée à une courbe de calibration établie à l'aide de solutions d'acide tannique de concentrations connues (0.75-10 mg/mL), ce qui permet de quantifier la teneur en tanins condensés dans l'échantillon. Cette méthode est couramment utilisée pour sa simplicité et sa sensibilité dans l'analyse des pro-anthocyanidines dans divers extraits végétaux.

### b) Mode opératoire

La quantification des tanins condensés dans les extraits étudiés a été effectuée selon le protocole de Sun et al. (1998). Dans chaque tube, 1 mL de chaque extrait hydroéthanolique a été mélangé avec 1 mL de la solution de vanilline à 4 %, suivi de l'ajout de 1 mL d'acide chlorhydrique concentré. Les tubes ont ensuite été bien agités et incubés à température ambiante pendant 15 minutes pour permettre la formation du complexe coloré rouge. Après l'incubation pendant 15-20 min à l'obscurité, l'absorbance de chaque tube a été mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La courbe d'étalonnage du standard a aussi été obtenue à partir de l'absorbance de l'acide tannique à 10 concentrations variant de 0,1 à 1 mg/mL. Le blanc a également été préparé suivant le même protocole en remplaçant la solution d'extrait avec la solution hydroéthanolique (80%). Le test a été réalisé en triplicata. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide tannique par gramme de matière sèche (mg EAT/g MS).

## 3.6- Activités biologiques

L'analyse quantitative précédente des composés phénoliques a été suivie par l'évaluation de quelques activités biologiques des deux extraits de grenadier; antioxydante et antimicrobienne.

### 3.6.1- Activité anti-oxydante

Dans ce test, l'activité antioxydante a été examinée en utilisant deux techniques ; la capture du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) et la capacité de réduction du fer (FRAP).

#### 3.6.1.1- Piégeage du radical libre DPPH

L'activité anti-radicalaire a été déterminée par la méthode du DPPH décrite par Cherfia et al. (2017).

##### a) Principe

Le test du DPPH est l'une des méthodes les plus couramment utilisées pour évaluer l'activité anti-radicalaire d'un extrait. Il repose sur la capacité des antioxydants à neutraliser le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Ce radical, de couleur violette, est réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine, de couleur jaune, par capture d'un atome d'hydrogène. Cette réaction de réduction est suivie par spectrophotomètre UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm, ce qui permet de quantifier l'effet antioxydant des extraits testés.

##### b) Mode opératoire

Plusieurs concentrations (0,01, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 et 0,1 mg/ml) de chaque extrait hydroéthanolique et même du standard ; acide ascorbique, ont été préparées dans le méthanol.

Dans des tubes à essai, 750 µl de solution méthanolique de DPPH (24 µg/ml) a été incorporé à 250 µl de solution méthanolique de chaque extrait des diverses concentrations. Après

l'incubation pendant 30 min à l'obscurité, les absorbances ont été mesurées à 517 nm par un spectrophotomètre par rapport à un blanc composé de 750 $\mu$ l DPPH et 250 $\mu$ L méthanol. Chaque essai a été répété trois fois.

L'activité anti-radicalaire a été évaluée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antioxydante} = \frac{(\text{Abs blanc} - \text{Abs échantillon})}{\text{Absblanc}} \times 100 \text{ (Boucif et al., 2023).}$$

A <sub>blanc</sub> : Absorbance du blanc (échantillon sans extraits).

A <sub>échantillon</sub> : Absorbance des échantillons avec extraits.

Les résultats sont présentés en termes de concentration inhibitrice à 50% (CI<sub>50</sub>). Il s'agit de la concentration requise de l'échantillon testé pour diminuer 50% de la quantité du radical DPPH. Les CI<sub>50</sub> sont déterminées graphiquement à partir des équations de régression linéaire établies. Une faible valeur de CI<sub>50</sub> signifie une activité anti-oxydante élevée.

### **3.6.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP)**

Le pouvoir réducteur d'ion ferrique des échantillons a été déterminé selon la méthode décrite par Bouchenak et al. (2020).

#### **a) Principe**

La méthode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) est largement utilisée pour mesurer le potentiel antioxydant des extraits. Elle se base sur la capacité des antioxydants à réduire les ions ferriques (Fe<sup>3+</sup>) présents dans le K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en ions ferreux (Fe<sup>2+</sup>), conduisant à la formation d'un complexe coloré bleu ou vert. L'intensité de cette coloration, mesurée par spectrophotomètre à 700 nm, est proportionnelle à la concentration en composés réducteurs présents dans l'échantillon. Plus l'absorbance enregistrée est élevée, plus le pouvoir réducteur de l'échantillon est important. Cette approche a notamment été utilisée par Bougandoura et Bendimerad (2013) dans l'évaluation de l'activité anti-oxydante.

#### **b) Mode opératoire**

1,25 ml de chaque solution des extraits hydroéthanoliques et de l'acide ascorbique à diverses concentrations (0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 mg/ml) a été rajouté 1,25 ml de la solution de tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et 1,25 ml d'hexacyanoferrate de potassium (K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>) à 1%. Les mélanges sont soumis à une incubation à 50°C pendant une durée de 30 minutes. Ensuite, 1,25 ml d'acide trichloroacétique (TCA à 10%) sont additionnés. A la fin, 1,25 ml de chaque solution, préparée précédemment, ont été prélevés, puis 1,25 ml d'eau distillée et 0,25 ml de FeCl<sub>3</sub> (0,1%)

ont été ajoutées. Les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde de 700 nm. Les mesures ont été effectuées en triplicata.

Le blanc a également été préparé suivant le même protocole en remplaçant l'extrait par l'hydro-éthanol (80%). Le pouvoir réducteur des extraits obtenus et de l'AA a été estimé par les valeurs de l' $EC_{50}$  qui sont calculées à partir des équations de régression des courbes d'absorbance. L'absorbance est directement proportionnelle au pouvoir réducteur, la plus grande absorbance d'un mélange correspond à un bon pouvoir réducteur (Cherfia *et al.*, 2020).

### **3.6.2- Activité antibactérienne**

La méthode de diffusion sur gélose en puits (Dembélé *et al.*, 2022) a été utilisée pour évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne des extraits obtenus. Elle permet de mesurer les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne et de déterminer les valeurs de CMI et de CMB.

#### **3.6.2.1- Souches bactériennes testées**

Dans la présente étude, quatre souches bactériennes pathogènes dont deux à Gram positif ; *Bacillus cereus* (*B. cereus* ATCC 11778) et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus* ATCC 6538), et deux à Gram négatif ; *Escherichia coli* (*E. coli* NCTC 10538) et *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa* NCIMB 8626), ont été utilisées dans la présente étude pour évaluer l'activité antimicrobienne des deux extraits végétaux obtenus de grenadier. Ces souches ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de la faculté des SNV, UFM Constantine 1.

#### **3.6.2.2- Milieux de cultures utilisés**

Pour confirmer la pureté des souches bactériennes testées, les souches sont réactivées sur des milieux de culture sélectifs, à savoir ; Chapman, Bacillus Selective Tellurite (BST), Hektoen, et gélose au citrimide (Annexe).

#### **3.6.2.3- Préparation des concentrations des extraits**

Différentes concentrations de chaque extrait de *P. granatum* (12,5 ; 25 ; 50 ; 100 et 200 mg/mL) ont été préparées en utilisant le DMSO stérile. L'antibiotique (Cefotaxime 1,5 mg/ml) et le DMSO à raison de 50 µL par puits ont été également préparés.

#### **3.6.2.4- Réactivation des souches bactériennes**

À partir des souches conservées, les bactéries à tester ont été ensemencées par la méthode des stries sur des boîtes de Pétri contenant des milieux de culture sélectifs appropriés aux souches bactériennes testés (Annexe). Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 heures afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées.

### 3.6.2.5- Préparation de l'inoculum

Des suspensions bactériennes ont été préparées en prélevant des colonies bien isolées et morphologiquement identiques. L'inoculum a été préparé dans 9 mL d'eau physiologique stérile (0,9 %) et homogénéisé à l'aide d'un vortex. La densité de l'inoculum a ensuite été ajustée à 0,5 McFarland.

### 3.6.2.6- Test antibactérien

Dans cette étude, la technique de diffusion sur gélose en puits a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits végétaux (Dembélé et al., 2022), avec quelques modifications. Le milieu de culture Mueller-Hinton, fondu au préalable, a été coulé de manière aseptique dans des boîtes de Pétri, puis laissé à solidifier. Une fois la surface de la gélose prête, un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne fraîchement préparée a été étalé uniformément en tournant progressivement la boîte, en terminant par le pourtour afin d'assurer une répartition homogène de l'inoculum. Les boîtes ont été ensuite laissées sécher pendant 5 à 10 minutes.

Des puits de 6 mm de diamètre ont été creusés à l'aide d'une pipette Pasteur. Dans chaque puits, 50 µL d'extrait végétal, à différentes concentrations (12,5 ; 25 ; 50 ; 100 et 200 mg/mL), ont été introduits. Un puits central a été réservé à l'introduction de DMSO (50 µL), utilisé comme témoin négatif, afin de vérifier l'absence d'effet inhibiteur du solvant sur les germes testés. Par ailleurs, un antibiotiques de référence Cefotaxime a été déposé dans une autre boîte de Pétri, servant de témoin positif. L'ensemble a été laissé à température ambiante pendant 25 minutes pour permettre une bonne diffusion des extraits avant incubation.

### 3.6.2.7- Incubation

Toutes les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

### 3.6.2.8- Lecture

Après 24 heures d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition des souches étudiées ont été mesurés. Les résultats ont été exprimés en millimètres, permettant d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits testés (Dembélé et al., 2022).

### 3.6.2.9- Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide CMI et CMB.

La concentration minimale inhibitrice (**CMI**) correspond à la plus faible concentration d'un extrait capable d'inhiber visuellement la croissance microbienne après une période d'incubation définie. La concentration minimale bactéricide (**CMB**) est la plus faible concentration d'extrait

entraînant la mort complète des microorganismes, vérifiée par l'absence de croissance lors du sous-ensemencement sur un milieu frais. Ces paramètres sont essentiels pour évaluer l'efficacité antimicrobienne des extraits testés.

### **3.6.3- Activité antifongique**

Pour évaluer *in vitro* l'activité antifongique des extraits de plantes, la méthode d'incorporation à la gélose PDA (Potato Dextrose Agar) (Finn et Bélanger, 2006) a été appliquée. Elle permet de mesurer le pourcentage d'inhibition de la croissance fongique.

#### **3.6.3.1- Moisissures testées**

Dans cette étude, deux moisissures phytopathogènes ont été utilisées; *Alternaria sp.* et *Fusarium sp.*. Ces moisissures ont été fournies par Mme BOULDJEDJ Ryma, UFM Constantine 1.

#### **3.6.3.2- Réactivation des moisissures**

À partir des moisissures conservées, la réactivation a été effectuée en les ensemencant sur des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA, particulièrement favorable à la croissance des champignons filamenteux. Les boîtes ont été incubées à une température de 28 °C pendant une période de 7 jours, permettant ainsi l'obtention de moisissures bien développées et métaboliquement actives, indispensables à la réalisation du test antifongique.

#### **3.6.3.3- Test antifongique**

L'activité antifongique des deux extraits de grenadier a été évaluée selon une méthode inspirée de **Finn et Bélanger (2006)**.

L'inhibition de la croissance mycélienne a été déterminée en coupant des disques d'environ 6 mm de diamètre bord d'une culture jeune de moisissure et mise en place du disque au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu PDA préalablement stérilisé avec des concentrations de 5 et de 20 mg/mL de chaque extrait des écorces de grenadier. En outre, l'efficacité du fongicide commercial Fluconazol a été évaluée en employant 1g/L en milieu PDA. Les extraits ont été préparés dans le DMSO à 0,2%.

#### **3.6.3.4- Incubation**

Toutes les boîtes ont été incubées à une température de 28 °C pendant une période de 6 à 10 jours, en fonction de la vitesse de croissance des moisissures.

#### **3.6.3.5- Lecture**

Après l'incubation, la lecture ou l'expérience s'est terminée lorsque le contrôle négatif (PDA sans extrait) a complètement colonisé la surface de la gélose. La croissance radiale a été mesurée par rapport à deux répétitions par expérience.

Les résultats de l'activité antifongique ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (PI%) dans les milieux contenant des extraits et du Fluconazol par rapport au contrôle négatif selon la formule de Finn et Bélanger (2006).

$$\text{PI\%} = [(C-T)/C] \times 100$$

C : Diamètre de la croissance mycéienne du contrôle négatif (PDA sans extrait).

T : Diamètre de la croissance mycéienne de l'échantillon (PDA avec extrait).

### 3.7- Analyse statistique

Les données expérimentales obtenues dans le présent travail ont été exprimées par la moyenne de 2 à 3 répétitions  $\pm$  écartype. En outre, les équations des courbes ainsi que les coefficients de corrélation ont été déterminés en utilisant l'Excel 2016.

## **Résultats et discussion**

## 4- Résultats et discussion

Cette partie présente les résultats du rendement d'extraction à partir des écorces de la plante étudiée; grenadier, suivis du criblage phytochimique permettant de détecter les principales classes de composés présents. Elle inclut également le dosage quantitatif des composés phénoliques en l'occurrence ; polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés. L'évaluation de quelques activités biologiques des extraits obtenus à savoir le pouvoir antioxydant et le potentiel antimicrobien ; antibactérien et antifongique a été effectuée.

### 4.1- Identification de la plante

L'identification botanique de la plante étudiée, réalisée par l'enseignante NOUIOUA Wafa (Université de Sétif 1), a révélé qu'il s'agissait de l'espèce *Punica granatum* L. (*P. granatum*) Cette identification a été basée principalement sur ses caractéristiques morphologiques.

### 4.2- Rendement d'extraction

Après l'extraction et l'élimination de toute trace de solvant, chaque extrait hydroéthanolique des écorces de fruits de *P. granatum* a été caractérisé par son rendement d'extraction (RE%), sa couleur et sa texture (**Tableau 3**).

**Tableau 3** Rendements d'extraction et caractéristiques des extraits hydro-éthanoliques des écorces de *P. granatum* issues de Constantine (C) et d'El Tarf (K).

	Constantine (C)	El Tarf (K)
Rendement (%)	54,35 ± 0,28	50,36 ± 0,45
Couleur	Orange-rouge	Orange
Texture	Pâteuse	Pâteuse
Photos		

Le tableau 3 représente le rendement d'extraction (RE%) des deux extraits de grenades. Où, une différence significative entre les deux extraits a été enregistrée. L'extrait « C » avait le meilleur RE% égal à 54,35 ± 0,28 % qui est légèrement supérieur à celui de l'extrait « K » (50,36 ± 0,45 %), suggérant une bonne reproductibilité de la technique. Les deux extraits ont la même texture mais avec une couleur différente ; l'extrait « C » possède une couleur orange-rouge intense, tandis que l'extrait « K » a une couleur orange plus uniforme.

Cette variation entre les RE% et la coloration des deux extraits est probablement attribuable aux conditions agro-climatiques des deux régions (Kagnou et al., 2020). Où, les fruits de grenade utilisés dans cette étude ont été récoltés durant la même période de l'année (Octobre 2024) et leurs écorces ont ultérieurement été soumises au même protocole de préparation afin de garantir une comparaison fiable entre les deux extraits.

Selon Türker (2024), les régions irriguées, comme Constantine, bénéficient d'un contrôle optimal de l'eau, limitant le stress hydrique et favorisant une accumulation harmonieuse de métabolites secondaires (polyphénols, anthocyanes). Ceci corrobore le RE% supérieur et la couleur intense de l'extrait « C », qui ont probablement liés à une meilleure synthèse de pigments sous irrigation contrôlée. À l'inverse, à El Tarf, l'excès d'humidité naturelle, combiné à des précipitations irrégulières, pourraient induire un lessivage des nutriments et une dégradation de la matière organique du sol (Wankhede et al., 2021). Ces auteurs (Wankhede et al., 2021; Türker, 2024) ont également souligné que les sols des zones humides souvent acides et à faible capacité d'échange cationique (CEC < 8 cmol/kg), limitant la disponibilité en nutriments (N, P, K), réduisant ainsi la productivité des grenadiers.

La différence de couleur entre les deux extraits « C » (orange-rouge) et « K » (orange) pourrait refléter des variations dans la composition phytochimique des écorces. Arafat et al. (2019) ont montré que les stress thermiques et hydriques modifient le profil des métabolites secondaires. À Constantine, l'irrigation contrôlée pourrait préserver des taux élevés d'anthocyanes (pigments rouges), tandis qu'à El Tarf, l'humidité excessive favoriserait l'oxydation ou la dégradation de ces composés, expliquant la teinte plus terne. Par ailleurs, Türker (2024) évoque une pression biotique accrue (ravageurs, maladies fongiques) dans les zones humides, susceptible d'altérer la qualité des écorces. Ce phénomène est renforcé par les observations de Park et al. (2025) qui ont souligné que les régions côtières humides subissent une pression accrue des agents pathogènes, tandis que les zones intérieures arides, comme Constantine, voient leur productivité limitée par le stress hydrique.

Nos résultats peuvent également être comparables avec ceux du travail de Bourroubey et al. (2025) sur les écorces de grenade (*P. granatum* L.) prélevées de la région de Mostaganem. Ils ont montré un RE% moyennement modéré de  $41,13 \pm 0,28\%$  par rapport à nos résultats en utilisant la même méthode d'extraction; macération à froid par le méthanol pur.

A titre de comparaison, les RE% des deux extraits hydroEtOH des écorces de *P. granatum* dans cette étude sont significativement supérieurs ( $50,36 \pm 0,45\%$  (K) et  $54,35 \pm 0,28\%$  (C)) à celui obtenu par Shiban *et al.*, (2012) ( $45,4 \pm 5,3\%$ ) qui ont travaillé sur la même partie de la plante provenait d'el Yémen en utilisant le méthanol à 80%. Nous constatons que le solvant hydro-alcoolique extrait plus que le solvant pur en raison de la présence d'une quantité d'eau, qui est un solvant polaire (Claux *et al.*, 2021).

Dans une autre recherche réalisée par Ahmetović *et al.*, (2025), différentes techniques d'extraction ont été évaluées sur les écorces de grenade collectées en Bosnie-Herzégovine. En effet, l'extraction par Soxhlet s'est révélée la plus efficace, avec un RE% de 33,5 % par le méthanol, contre un RE% égal à 30,45 % par l'éthanol à 96%. En revanche, la macération, bien qu'économique, a donné les rendements les plus faibles. Ces valeurs sont évidemment inférieures à celles de notre travail ( $50,36 \pm 0,45\%$  (K) et  $54,35 \pm 0,28\%$  (C)). Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que le choix de la technique d'extraction et du solvant influence significativement l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs (Bourgou *et al.*, 2015 ; Claux *et al.*, 2021 ; Lefebvre *et al.*, 2021).

Selon une recherche menée par Sharayei *et al.* (2018) sur les pelures de grenade (*P. granatum*) congelés à  $-18^{\circ}\text{C}$  en appliquant l'ultrasons par l'eau distillée comme technique d'extraction pendant différentes durées et amplitudes, l'optimisation des paramètres opératoires a permis d'atteindre un RE% très faible variant de 8,4 à 15,3 %. Ces valeurs sont considérablement inférieures à ceux de notre étude ( $50,36 \pm 0,45\%$  (K) et  $54,35 \pm 0,28\%$  (C)).

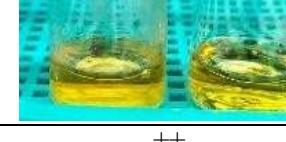
Dans cette partie, il est suggéré que les variations des rendements d'extraction des composés végétaux dans les recherches précédentes dépendent d'une multitude de facteurs étroitement liés. En effet, le solvant choisi, selon sa polarité, influence directement la solubilité des molécules visées (Claux *et al.*, 2021 ; Lefebvre *et al.*, 2021), les solvants polaires comme l'eau ou l'éthanol sont adaptés à l'extraction de composés hydrophiles tels que les polyphénols et les alcaloïdes (Claux *et al.*, 2021), tandis que les solvants apolaires comme l'hexane conviennent mieux aux substances lipophiles comme les terpènes ou les lipides (DejoyeTanzi *et al.*, 2012; Simões *et al.*, 2022). La technique d'extraction (macération, Soxhlet, ultrasons, etc.) influe également l'efficacité de l'extraction (Bourgou *et al.*, 2015 ; Lefebvre *et al.*, 2021), en tenant compte de la partie de la plante utilisée (feuilles, racines, fleurs), chacune présentant une composition variable en métabolites secondaires. Les caractéristiques génétiques de la plante jouent un rôle clé dans la biosynthèse des composés,

tandis que l'origine géographique (Kagnou *et al.*, 2020), le climat, le type de sol ou l'altitude influence fortement le profil chimique de l'extrait (Türker 2024). Par ailleurs, la température et la durée d'extraction doivent être rigoureusement contrôlées (Simões *et al.*, 2022) ; une température trop élevée peut dégrader les molécules sensibles, alors qu'un temps trop court ou trop long peut nuire au rendement (Simões *et al.*, 2022).

#### **4.3- Screening phytochimique**

La détection des métabolites primaires et secondaires présents dans les extraits issus de la macération des pelures de *P. granatum* a été effectuée à l'aide de tests qualitatifs ciblant spécifiquement chaque famille de composés. La confirmation de certains résultats s'est appuyée sur l'utilisation de standards de référence, accompagnée d'indications visuelles telles que l'apparition d'une coloration caractéristique ou la formation d'un précipité. Les résultats obtenus à partir de ces analyses sont révélés dans les tableaux ci-dessous (tableau 4).

**Tableau 4** Criblage phytochimique des extraits hydro-éthanoliques des écorces de *P. granatum* de deux régions ; Constantine et El Tarf (Algérie).

Groupe chimique	Test de détection	Observation	Résultats	
			Constantine	Tarf
<b>Glucides</b>	Test de fehling	Précipité rouge brique		
			+++	+++
<b>Protéines</b>	Test de Biuret	Couleur violette ou rouge		
			+++	+++
<b>Polyphénols</b>	Test de chlorure ferrique	Couleur bleue ou verte foncée		
			+++ (bleue)	+++ (verte foncée)
<b>Tanins</b>	Test de chlorure ferrique	Couleur bleue ou verte foncée		
			+++ (bleue)	+++ (verte foncée)
<b>Flavonoïdes</b>	Test de Shinoda	Couleur rouge cerise		
	Test d'hydroxyde de sodium	Couleur jaune		
<b>Alcaloïdes</b>	Test de Mayer	Précipité jaunâtre ou blanc		
			-	-
<b>Saponosides</b>	Test de mousse	Formation de mousse		
			+++	++
<b>Phytostérols</b>	Test de Salkowski	Couche supérieure rouge et couche inférieure verte		
			+++	++
<b>Terpènes</b>	Test d'horizon	Formation d'un précipité rouge		
			+	+

Quantité importante : (+++), modeste quantité : (++) , faible quantité : (+), absence (-).

Les résultats du criblage phytochimique présentés dans le tableau ci-dessus (tableau 4) montrent que les deux extraits « C » et « K » présentent des similitudes marquées ; forte présence de glucides, de protéines, de polyphénols et de tanins. En revanche, aucun des deux extraits ne contient des alcaloïdes, alors que les terpènes y sont faiblement représentés de façon identique. Mais en termes de flavonoïdes, de saponines et de stérols, l'extrait « C » se caractérise par une plus grande densité par rapport à celle de l'extrait « K ». Pour le test du chlorure ferrique, l'extrait « C » a révélé une couleur bleu noir ce qui indique la présence de tanins gallique (Yapo Yomeh *et al.*, 2020), en revanche, l'extrait « K » avait une couleur vert foncé. Cette différence suggère également une variation qualitative des polyphénols et des tanins dans les deux extraits.

Ces contrastes soulignent que l'extrait issu de Constantine possède un profil phytochimique plus riche en composés bioactifs ; polyphénols, tanins, flavonoïdes, saponines et phytostérols.

L'analyse comparative de ces études met en lumière la spécificité et l'efficacité de notre méthode de macération hydro-éthanolique (80 % Éthanol / 20 % Eau) par rapport aux extractions pures ou multi-solvants décrites par les chercheurs.

Ces profils phytochimiques des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine et d'El Tarf sont similaires à celui de Chebaibi et Filali (2013) ; qui ont étudié la même partie de la plante récoltée du Maroc mais sur les extraits aqueux, notamment sur la présence des phénols, des tanins, des flavonoïdes, des stérols, des terpènes, et des saponines avec l'absence des alcaloïdes.

Nos résultats sont également comparables avec ceux d'Jayaprakash et Sangeeta (2015) qui ont analysé les écorces de la même plante *P. granatum* collectée de Chennai en employant quatre solvants distincts. Ces auteurs ont mis en évidence le profil de chaque solvant ; où les extraits aqueux et éthanoïque sont les plus riches révélant le même profil de notre recherche, particulièrement la présence des tanins, des saponines, des terpénoïdes, des stérols, des flavonoïdes, des phénols, des alcaloïdes, tandis que les glycosides simples et les anthocyanes étaient absents. En revanche, l'éther de pétrole a permis d'extraire uniquement les saponines et les phénols, tandis que tous les autres composés (tanins, terpénoïdes, stérols, flavonoïdes, alcaloïdes, glycosides) étaient absents. De plus, l'extrait chloroformique était moins riche avec l'absence des flavonoïdes, des alcaloïdes et des glycosides seulement.

Un autre travail plus récent conduit par Niaz *et al.* (2024) sur les écorces de *P. granatum* en utilisant trois solvants (methanol, éthanol et eau) par la même technique (macération) a révélé des résultats identiques avec ceux de la présente étude en appliquant les mêmes tests de détection. Ils ont révélé la présence des tanins, des saponines, des terpénoïdes, des stérols, des flavonoïdes, des phénols et des glucides avec l'absence des alcaloïdes. Tandis que nos résultats du criblage phytochimique sont largement différents à ceux obtenus par Begum *et al.* (2024) qui ont travaillé sur la même plante mais collectée de Pakistan en utilisant les trois solvants ; méthanol, éthanol et eau. Ils ont montré que tous les extraits contenaient des saponines, des huiles et des graisses mais aucun glycoside n'a été détecté. En outre, les terpénoïdes, les phénols et les tanins étaient présents dans les extraits méthanolique et aqueux seulement. Cependant, les alcaloïdes étaient uniquement détectés dans les extraits éthanolique et aqueux.

Par ailleurs, nos résultats de screening sont distincts à ceux obtenus par Gurusiddappa *et al.* (2014) qui ont travaillé sur l'extrait éthanolique des feuilles collectées de l'Inde. Ils ont détecté des terpènes, des saponosides, des stérols, des flavonoïdes et des alcaloïdes, en tenant l'absence des glucides, des tanins et des phénols ; soulignant ainsi la variabilité selon l'organe végétal utilisé.

À la lumière de ces travaux, nos extraits se distinguent par une extraction simultanée et intense de glucides, protéines, polyphénols, tanins, flavonoïdes, saponosides et stérols (notamment plus marqués dans l'extraits de Constantine), tous en confirmant l'absence d'alcaloïdes et la faible teneur en terpènes, démontrant ainsi la supériorité du mélange hydro-éthanolique pour extraire un spectre étendu et riche de composés bioactifs.

En fait, la différence observée dans l'ensemble des résultats des criblages phytochimiques des recherches précédentes pourrait être attribuée aux plusieurs facteurs tels que principalement la partie de la plante utilisée (feuilles, racines, écorces, etc.), car les métabolites secondaires ne sont pas uniformément répartis dans la plante (Lv et Guo, 2023), le solvant d'extraction, la méthode d'extraction, la période de récolte, la durée de stockage et notamment les conditions climatiques de la région de récolte (Bouchenak *et al.*, 2020).

### 4.4- Dosage spectrophotométrique des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires largement répandus dans les plantes, jouant un rôle crucial dans leur défense contre les pathogènes et les stress

environnementaux. Pour cela, les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins condensés ont été quantifiées dans les deux différents extraits hydroEtOH de Constantine et d'El Tarf.

#### 4.4.1- Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits hydro-éthanolique des écorces de *P. granatum* de Constantine et d'El Tarf a été quantifiée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Cherfia *et al.*, 2017), en utilisant l'acide gallique comme étalon. La courbe d'étalonnage, présentant un excellent coefficient de détermination ( $R^2 = 0,9823$ ), a été définie par l'équation de régression linéaire  $y = 6,3586x + 0,0459$  (figure 33).

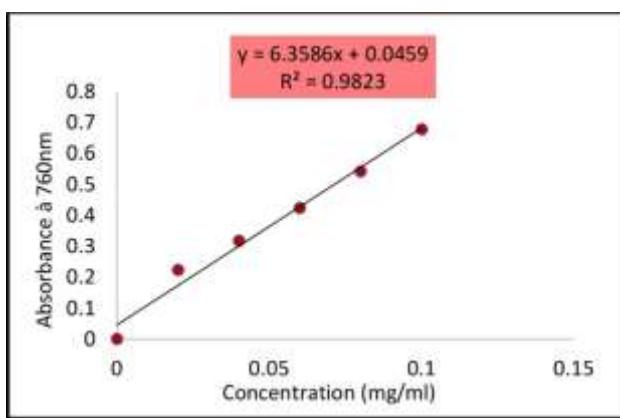


Figure 33 Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Des différences significatives dans les concentrations des polyphénols totaux ont été observées entre les deux extraits hydro-EtOH des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine et d'El Tarf (Figure 34).

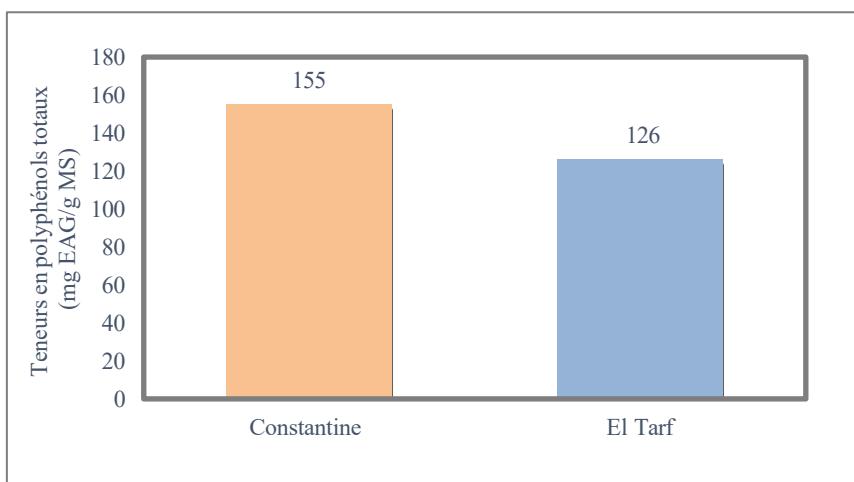


Figure 34 Teneurs en polyphénols totaux dans les extraits des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine et d'El Tarf.

L'extrait hydro-EtOH des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine présente une teneur en polyphénols totaux significativement plus élevée ( $155 \pm 1,26$  mg EAG/g MS) que celle d'El Tarf ( $126 \pm 0,79$  mg EAG/g MS) (Figure 34). Cette différence représente un excédent de 23 % pour l'extrait de Constantine.

#### 4.4.2- Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux dans les extraits d'écorce de *P. granatum* a été réalisé selon la méthode spectrophotométrique au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), décrite par Cherfia *et al.* (2017), en utilisant la quercétine comme standard. La courbe d'étalonnage obtenue présente une excellente corrélation linéaire ( $R^2 = 0,977$ ), avec l'équation de régression  $y = 2,918x - 0,015$ , permettant une quantification précise des teneurs en flavonoïdes. Ces résultats confirment la fiabilité de la méthode pour l'analyse des composés phénoliques dans les extraits végétaux (Figure 35).

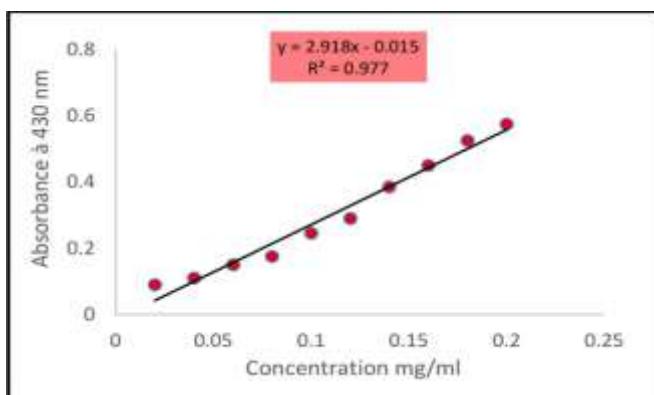


Figure 35 Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les résultats présentés dans l'histogramme ci-dessous (Figure 36) révèlent une différence significative entre les teneurs en flavonoïdes totaux des écorces de grenadier provenant de Constantine et d'El Tarf.

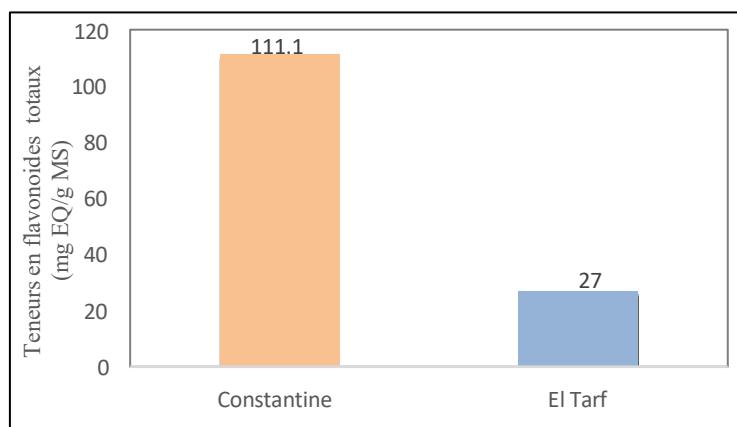


Figure 36 Teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine et d'El Tarf.

Les données mettent en évidence une différence significative entre les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits analysés. L'extrait provenant de Constantine a enregistré une concentration particulièrement élevée ( $111,1 \pm 1,56$  mg EQ/g MS), surpassant de manière notable celle de El Tarf ( $27 \pm 0,53$  mg EQ/g MS). Cet écart important (84,1 mg EQ/g MS), correspondant à un rapport de près de 4:1, suggère fortement l'influence de facteurs environnementaux ou génétiques spécifiques à chaque région.

#### 4.4.3- Dosage des tanins condensés

La quantification des tanins condensés dans les différents extraits végétaux a été réalisée selon la méthode décrite par Porter *et al.* (1986), en utilisant l'acide tannique comme standard. Une courbe d'étalonnage a été établie, présentant un bon ajustement linéaire, avec un coefficient de détermination ( $R^2$ ) de 0,9069. La droite de régression correspondante suit l'équation  $y = 0,7094x + 0,1169$  (Figure 37).

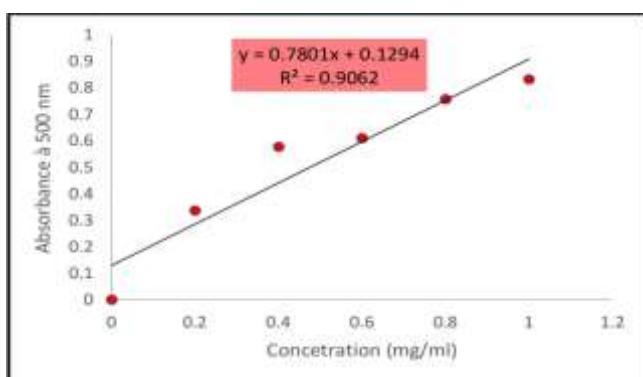


Figure 37 Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

Les teneurs en tanins condensés ont été calculées à partir de l'équation de régression linéaire de l'acide tannique. Les résultats obtenus sont illustrés dans l'histogramme ci-dessous (Figure 38).

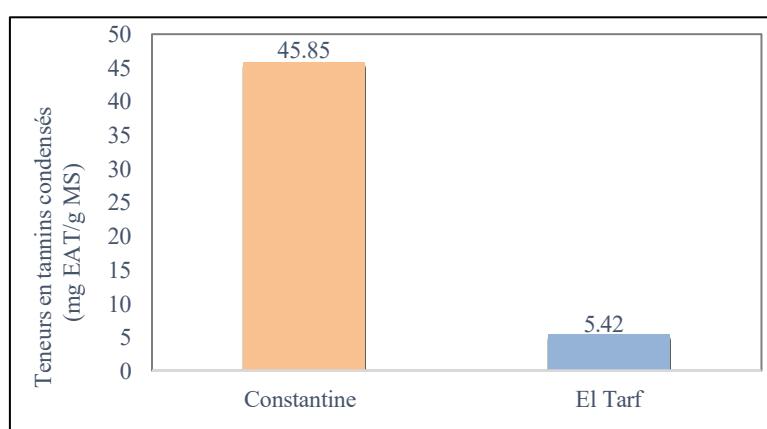


Figure 38 Teneurs en tanins condensés dans les extraits de *P. granatum* collectés à Constantine et El Tarf.

Les résultats obtenus (figure 38) révèlent des variations significatives dans les teneurs en tanins condensés entre les deux extraits analysés. L'extrait de Constantine présente une concentration particulièrement élevée ( $45,85 \pm 1,48$  mg EAT/g MS), soit près de 9 fois supérieure à celle d'El Tarf ( $5,42 \pm 0,6$  mg EAT/g MS). Cet écart marqué (40,43 mg EAT/g MS) suggère une influence notable des facteurs environnementaux ou génétiques spécifiques à chaque région. Cependant, les tanins condensés restent minoritaires par rapport aux autres composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes totaux), indiquant une contribution limitée à la fraction phénolique globale.

L'ensemble des résultats de dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés des extraits hydroEtOH de deux écorces sont présentés dans le tableau 5.

**Tableau 5** Quantification des composés phénoliques des extraits hydroEtOH des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine et d'El Tarf.

	<b>Polyphénols totaux (mg EAG/g MS)</b>	<b>Flavonoïdes totaux (mg EQ/g MS)</b>	<b>Tanins condensés (mg EAT/g MS)</b>
<b>Constantine</b>	$155 \pm 1,26$	$111,1 \pm 1,56$	$45,85 \pm 1,48$
<b>El Tarf</b>	$126 \pm 0,79$	$27 \pm 0,53$	$5,42 \pm 0,6$

En effet, les résultats obtenus de dosage colorimétrique des composés phénoliques ont souligné que les teneurs en polyphénols totaux sont énormément supérieures à celles en flavonoïdes totaux et en tanins condensés (Tableau 5). Notant que l'extrait des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine a présenté des concentrations nettement plus élevées en polyphénols totaux ( $155 \pm 1,26$  mg EAG/g MS), en flavonoïdes totaux ( $111,1 \pm 1,56$  mg EQ/g MS) et en tanins condensés ( $45,85 \pm 1,48$  mg EAT/g MS) que celles d'El Tarf, qui a enregistré des valeurs plus faibles de l'ordre de  $126 \pm 0,79$  mg EAG/g MS,  $27 \pm 0,53$  mg EQ/g MS et  $5,42 \pm 0,6$  mg EAT/g MS, respectivement. Ces différences sont particulièrement marquées pour les flavonoïdes (plus de quatre fois supérieurs) et les tanins (environ neuf fois), traduisant une variation notable dans la composition chimique des métabolites secondaires entre les plantes de deux régions.

Nos résultats sont différents à ceux obtenus dans une étude menée en Inde du Sud (Rajan et al., 2011). Cette étude a rapporté des teneurs de  $176 \pm 5,29$  mg EAG/g MS en polyphénols totaux, de  $81,33 \pm 6,1$  mg EQ/g MS en flavonoïdes totaux et de  $114,23 \pm 12,16$  mg EAT/g MS en tanins condensés dans les extraits hydroEtOH des écorces de *P. granatum*. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus dans notre étude confirmant l'influence du climat aride sur l'enrichissement en métabolites secondaires.

En revanche, le travail d'Elfalleh *et al.* (2012) a indiqué des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux dans l'extrait EtOH des feuilles de *P. granatum*, provenant de la Tunisie, significatives mais largement inférieures à celles enregistrées dans le présent travail, dans les écorces. Ils ont obtenu des teneurs de  $113,4 \pm 4,2$  mg EAG/g MS en polyphénols et  $72,6 \pm 3,1$  mg EQ/g MS en flavonoïdes ; soulignant la richesse supérieure des écorces en composés phénoliques.

Une autre étude menée en Chine par Zhang *et al.* (2021) utilisant une extraction assistée par ultrasons sur l'écorce de *P. granatum* a permis d'obtenir  $168,45 \pm 9,2$  mg EAG/g MS de polyphénols. Ce résultat est légèrement supérieur à ce obtenu dans notre travail. Cette technique moderne a montré une efficacité supérieure à la macération classique.

A titre de comparaison avec d'autres espèces végétales, un travail réalisé par Tariq et Reyaz (2013) a montré que l'écorce de *Camellia sinensis* (thé vert) cultivée à l'Inde et extraite par le même solvant suivant la même méthode (HydroEtOH, macération) a révélé une teneur en polyphénols totaux largement supérieure ( $301,5 \pm 17,1$  mg EAG/g MS) à celles enregistrées dans notre étude dans les écorces de grenadier. En revanche, l'écorce de *Vitis vinifera* (raisin), a affiché des teneurs en polyphénols totaux variant entre 80 et 100 mg EAG/g MS (Dai et Mumper, 2010), ce qui demeure nettement inférieur aux valeurs mesurées dans le *P. granatum* de Constantine et d'El Tarf.

Les variations observées entre les deux régions algériennes étudiées peuvent être attribuées à des facteurs éco-géographiques distincts. Constantine, caractérisée par un climat semi-aride, un fort ensoleillement et un stress hydrique prononcé, crée des conditions qui favorisent l'activation de voies métaboliques secondaires, stimulant la biosynthèse de composés phénoliques, flavonoïdiques et tanniques. Ces métabolites jouent un rôle adaptatif face aux stress environnementaux, comme l'ont démontré Chaves *et al.* (2003), qui ont observé une accumulation accrue de composés phénoliques chez des plantes soumises à des conditions abiotiques difficiles.

À l'inverse, El Tarf bénéficie d'un climat méditerranéen, plus humide, avec un ensoleillement modéré et des sols plus riches en eau, ce qui limite l'activation des mécanismes de défense, et par conséquent la production de métabolites secondaires. Cette observation est soutenue par les travaux de Luximon-Ramma *et al.* (2002), qui ont montré que les plantes cultivées en conditions favorables produisaient moins d'antioxydants que celles exposées au stress hydrique.

La variabilité génétique entre les populations de *P. granatum* peut également contribuer à ces différences. Certaines lignées ou écotypes sont génétiquement prédisposés à produire des quantités plus élevées de métabolites secondaires. Ce phénomène a été documenté par Fischer *et al.* (2011), qui ont mis en évidence une variabilité significative des profils phénoliques chez *Vitis vinifera* en fonction du génotype, indépendamment des conditions environnementales (Fischer *et al.*, 2011).

En outre, des différences dans les techniques post-récolte comme le séchage, la finesse de la poudre végétale ou la durée de macération peuvent influencer la libération des composés bioactifs, même si une méthode d'extraction standardisée a été utilisée dans notre étude. Sultana *et al.* (2009) ont démontré que ces paramètres peuvent significativement modifier la composition finale des extraits, même pour des plantes issues des mêmes régions.

Enfin, ces résultats de dosage des composés phénoliques s'inscrivent dans un constat plus large confirmé par de nombreuses études: l'origine géographique constitue un déterminant essentiel dans la qualité phytothérapeutique des plantes. En effet, Zhang *et al.* (2021) ont montré qu'une même espèce cultivée dans différentes régions de Chine pouvait présenter jusqu'à 40 % de variation dans la concentration en antioxydants, malgré une méthode d'extraction identique.

### 4.5- Activités biologiques

Les activités biologiques des deux extraits hydroEtOH des écorces de grenadier en l'occurrence ; anti-oxydante, antibactérienne et antifongique ont été évaluées.

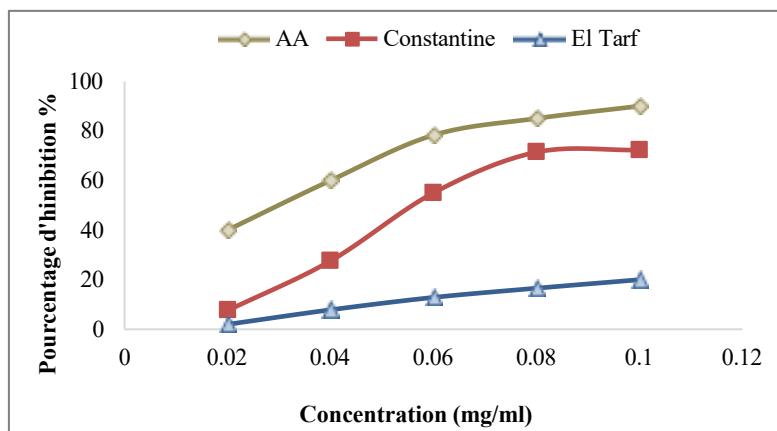
#### 4.5.1- Activité anti-oxydante

Des études récentes soulignent que les résultats de l'activité antioxydante varient selon la méthode employée, en raison des mécanismes d'action distincts des composés. Pour une évaluation fiable, l'utilisation d'au moins deux méthodes est préconisée (Bangou, 2012). Dans cette étude, le pouvoir antioxydant des extraits des écorces de *P. granatum* (Constantine et El Tarf) a été analysé via deux tests : le piégeage du radical libre DPPH (neutralisation des radicaux libres) et le pouvoir réducteur du fer (FRAP), couvrant ainsi les mécanismes de transfert d'électrons et d'inhibition oxydative.

##### 4.5.1.1- Piégeage du radicale libre DPPH

L'activité anti-radicalaire des extraits des écorces de *P. granatum* issus des régions de Constantine et d'El Tarf a été évaluée *in vitro* par le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Les résultats ont été confirmés par le virage de couleur violette à une couleur

jaune. Les pourcentages d'inhibition (%I) du DPPH par l'acide ascorbique et les deux extraits hydroEtOH sont montrés dans la figure 39.



**Figure 39** Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique et les extraits des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine et d'El Tarf.

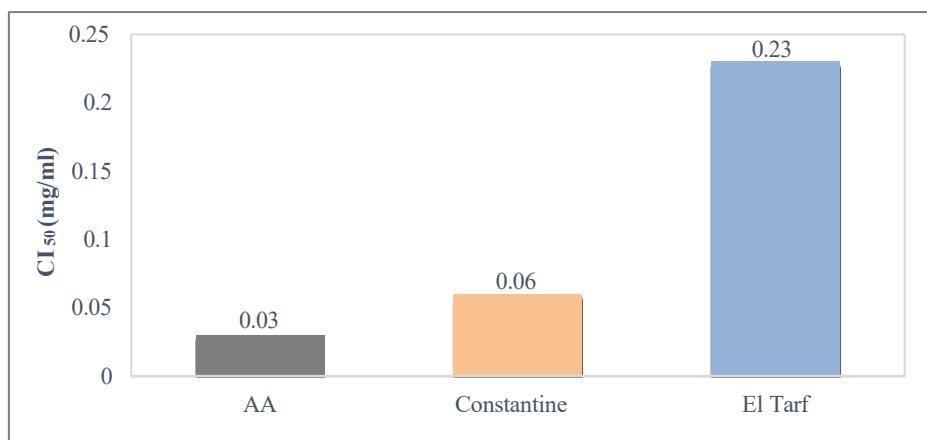
Comme l'illustre la figure 39, les extraits analysés et l'antioxydant de référence (acide ascorbique) ont présenté une activité anti-radicalaire dépendante de la concentration, avec des pourcentages d'inhibition (%I) croissant de 20 à 90 % sur la plage de concentrations testées. Cette tendance dose-réponse souligne l'efficacité proportionnelle des composés phénoliques à neutraliser les radicaux libres. L'acide ascorbique servant de standard pour évaluer la performance relative des extraits végétaux.

À la concentration maximale de 0,1 mg/mL, le %I s'élevait  $90,0 \pm 2,1\%$  pour l'acide ascorbique,  $72,3 \pm 3,8\%$  pour l'extrait de Constantine, et pour celui d'El Tarf  $20 \pm 1,5\%$ . L'acide ascorbique a affiché ainsi l'activité anti-radicalaire la plus élevée, suivie respectivement par les extraits de Constantine et d'El Tarf, reflétant des variations géographiques potentielles dans la composition phénolique de l'écorce.

Dans le cadre de la méthode DPPH, l'activité anti-radicalaire des extraits est quantifiée via la concentration inhibitrice médiane ( $CI_{50}$ ). Ce paramètre correspond à la concentration d'extrait nécessaire pour neutraliser 50 % des radicaux DPPH en solution (Brand-Williams *et al.*, 1995). La  $CI_{50}$  constitue un indicateur fiable pour comparer les extraits, car elle normalise les résultats indépendamment de la concentration initiale des extraits, permettant une évaluation standardisée de leur efficacité (Prior *et al.*, 2005).

La valeur de la  $CI_{50}$  est inversement corrélée à l'activité anti-oxydante (% I) d'un composé : une  $CI_{50}$  plus faible traduit une capacité accrue à neutraliser les radicaux libres, reflétant ainsi une efficacité anti-radicalaire supérieure (Brand-Williams *et al.*, 1995 ; Prior *et al.*, 2005).

Les valeurs de la  $CI_{50}$  ont été déterminées par extrapolation graphique à partir des courbes dose-réponse représentant le % I de l'acide ascorbique et des deux extraits végétaux, comme illustré dans la figure 40.



**Figure 40** Valeurs des  $CI_{50}$  du DPPH par l'acide ascorbique et des deux extraits des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine et d'El Tarf.

L'analyse des résultats présentés dans la figure 40 révèle des variations significatives de l'activité anti-radicalaire entre l'acide ascorbique (AA), utilisé comme standard de référence, et les extraits testés. Les valeurs de  $CI_{50}$  varient de  $0,03 \pm 0,005$  à  $0,23 \pm 0,02$  mg/mL. L'AA confirme sa puissante capacité anti-oxydante, affichant la valeur de  $CI_{50}$  la plus faible ( $0,03 \pm 0,005$  mg/mL), ce qui traduit une efficacité optimale dans le piégeage du radical libre DPPH $\cdot$ . Ce résultat corrobore les travaux de Brand-Williams *et al.* (1995), qui ont établi l'AA comme antioxydant de référence en raison de son mécanisme rapide et direct de neutralisation des radicaux libres.

Les extraits des écorces de *P. granatum* issus de deux régions ont montré une activité anti-radicalaire différenciée. L'extrait de Constantine se distingue par une  $CI_{50}$  de  $0,06 \pm 0,008$  mg/mL, ce qui traduit une activité 3,8 fois plus importante que celle de l'extrait d'El Tarf ( $CI_{50} = 0,23 \pm 0,02$  mg/mL). L'efficacité de l'extrait de Constantine se rapproche notamment de celle de l'AA, suggérant un fort potentiel antioxydant naturel. Cette performance pourrait être attribuée à sa richesse en composés phénoliques, notamment en punicalagines, ellagitanins et flavonoïdes, dont les propriétés anti-oxydantes sont bien établies (Lansky et Newman, 2007).

Comparés à d'autres plantes médicinales, les extraits de grenadier se positionnent de manière compétitive. Les valeurs de  $CI_{50}$  obtenues sont similaires à celles du thé vert (*Camellia sinensis*), variant entre 0,02 et 0,05 mg/mL selon Carloni *et al.* (2013), et meilleures que

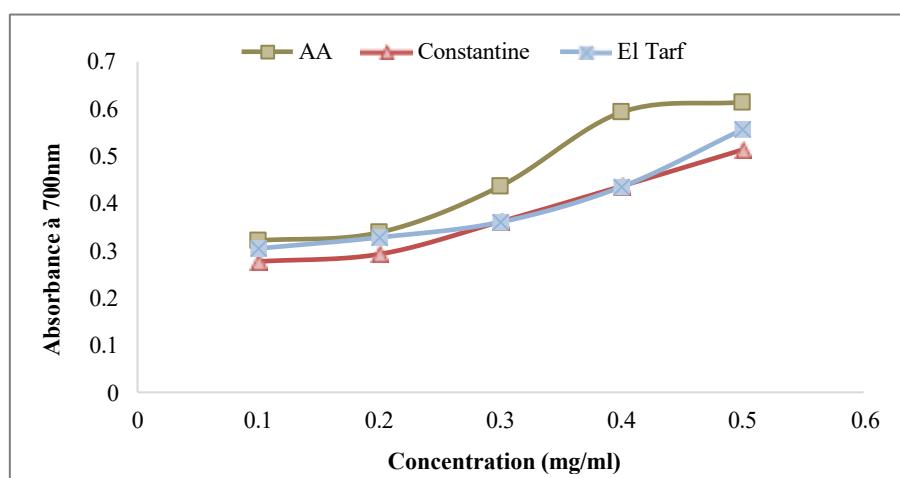
celles du romarin (*Rosmarinus officinalis*), dont les CI<sub>50</sub> se situent entre 0,08 et 0,15 mg/mL (Zengin *et al.*, 2018). Ces données confirment l'intérêt du grenadier comme source prometteuse d'antioxydants naturels.

Les observations faites dans cette étude sont en accord avec celles de Zaouay *et al.* (2012), qui ont montré que les conditions environnementales influencent fortement la teneur en composés bioactifs du grenadier, en particulier les polyphénols.

Les écarts d'efficacité observés entre les deux extraits peuvent être expliqués par des différences dans la composition phytochimique, influencée par des facteurs éco-géographiques tels que le climat, la nature du sol, l'ensoleillement ou encore le stress hydrique. Ces paramètres conditionnent l'activation des voies métaboliques secondaires, responsables de la biosynthèse des composés antioxydants. Par exemple, les conditions semi-arides de Constantine, marquées par un ensoleillement intense et une faible humidité, favorisent une accumulation accrue de polyphénols, ce qui pourrait expliquer la meilleure activité anti-radicalaire de l'extrait issu de cette région. Cette relation entre le stress environnemental et la production de métabolites secondaires est bien documentée dans la littérature (Luximon-Ramma *et al.*, 2002; Chaves *et al.*, 2003; Fischer *et al.*, 2011).

#### 4.5.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur des extraits des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine et d'El Tarf a été évalué par la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) (Benzie et Strain, 1996). Les résultats présentés dans la figure 41 comparant l'activité anti-oxydante des différents extraits végétaux avec celle du témoin positif (acide ascorbique).



**Figure 41** Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et des deux extraits des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine et d'El Tarf.

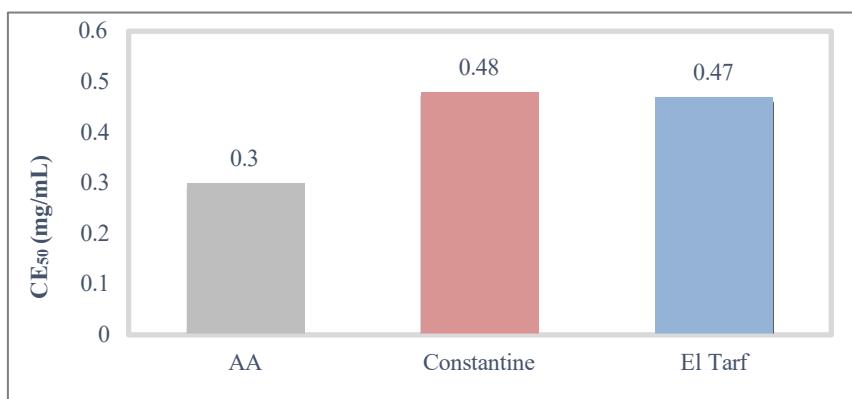
Le test du FRAP permet d'évaluer l'activité anti-oxydante d'un extrait via la réduction des ions ferriques ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) au sein du complexe ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ). Cette réaction génère un changement de couleur du milieu réactionnel, passant du jaune au bleu-vert, mesuré par spectrophotomètre à 700 nm. L'intensité de l'absorbance à cette longueur d'onde est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait, reflétant sa capacité à transférer des électrons (Oyaizu, 1986 ; Pulido *et al.*, 2000).

Les résultats illustrés dans la figure 41 montrent que les absorbances des extraits des écorces de *P. granatum* (provenant de Constantine et d'El Tarf) et de l'AA varient entre 0,530 et 0,615. Ces valeurs augmentent de manière proportionnelle à la concentration des extraits, confirmant une relation dose-dépendante. Par exemple, l'absorbance maximale (0,615) est atteinte à la concentration la plus élevée, indiquant une activité réductrice optimale. Cette tendance est cohérente avec le comportement des polyphénols, connus pour agir comme donneurs d'électrons dans les mécanismes antioxydants (Zheng et Wang, 2001).

La comparaison avec l'AA (témoin positif) révèle que les extraits de grenadier présentent une efficacité légèrement supérieure. Ces différences pourraient s'expliquer par des variations dans la composition phénolique des extraits, influencée par des facteurs environnementaux tels que l'exposition au soleil ou la disponibilité en nutriments du sol (Prior *et al.*, 2005).

Le pouvoir réducteur d'un extrait est quantifié via la concentration efficace médiane ( $\text{CE}_{50}$ ), définie comme la concentration nécessaire pour réduire l'absorbance du complexe ferrique à une valeur de 0,5 dans les conditions expérimentales (Oyaizu, 1986 ; Pulido *et al.*, 2000). En effet, les équations de régression linéaire de l'AA et des deux extraits (figure 41) permettent de déterminer leurs  $\text{CE}_{50}$  par extrapolation graphique. Une  $\text{CE}_{50}$  plus faible indique un pouvoir réducteur plus élevé, car une faible concentration suffit à atteindre l'effet antioxydant maximal, traduisant une meilleure capacité à transférer des électrons (Zheng et Wang, 2001).

Les  $\text{CE}_{50}$  des deux extraits de la plante ainsi que de l'AA sont portés dans la figure ci-dessous (figure 42).



**Figure 42** Valeurs des CE<sub>50</sub> de l'acide ascorbique et des extraits des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine et d'El Tarf (FRAP).

Les valeurs des CE<sub>50</sub> obtenues pour l'AA ( $0,30 \pm 0,02$  mg/mL) et les extraits des écorces de *P. granatum* provenant de Constantine ( $0,48 \pm 0,03$  mg/mL) et d'El Tarf ( $0,47 \pm 0,04$  mg/mL) révèlent une différence notable d'efficacité anti-oxydante. L'AA, reconnu par sa forte capacité réductrice via le transfert d'électrons (Sharma *et al.*, 2021), présente ici une CE<sub>50</sub> significativement plus faible, ce qui confirme son statut d'antioxydant de référence (Brand-Williams *et al.*, 1995). En comparaison, les extraits de grenadier montrent une activité anti-oxydante légèrement plus faible, bien que toujours biologiquement pertinente. Fait intéressant, les extraits de Constantine et d'El Tarf présentent des valeurs presque identiques (0,48 vs 0,47 mg/mL), suggérant une composition chimique relativement homogène entre les deux régions.

Par rapport à d'autres espèces végétales, les extraits de grenadier se situent dans une plage d'activité intermédiaire. Par exemple, l'écorce de *Quercus robur* (chêne pédonculé) a montré des CE<sub>50</sub> comprises entre 0,25 et 0,45 mg/mL, ce qui la rend plus efficace dans certaines conditions (Santos *et al.*, 2021). En revanche, des extraits riches en pro-anthocyanidines de *Theobroma cacao* ont montré une activité anti-oxydante nettement plus élevée, avec des CE<sub>50</sub> allant jusqu'à 0,18 mg/mL, grâce à leur structure chimique favorisant la chélation des métaux et l'inhibition des radicaux libres (Mendoza-Wilson *et al.*, 2019). Ces résultats démontrent que la composition phytochimique, notamment la nature et la concentration des tanins hydrolysables et des flavonoïdes, joue un rôle déterminant dans l'activité anti-oxydante.

Les faibles écarts observés entre les extraits de Constantine et d'El Tarf peuvent s'expliquer par des conditions éco-géographiques similaires. Une étude sur le grenadier en Tunisie a montré que des régions partageant un climat méditerranéen subhumide à semi-aride présentaient des profils polyphénoliques très comparables, notamment en punicalagine et

ellagitanines, des composés connus pour leur forte activité anti-oxydante (Zaouay *et al.*, 2012). De plus, la proximité géographique entre Constantine et El Tarf pourrait impliquer une similarité des conditions édaphiques (sol), climatiques (ensoleillement, température), voire génétiques si les cultivars utilisés sont semblables, comme cela a été observé dans des études régionales sur *Punica granatum* en Espagne (Martí *et al.*, 2009).

Dans notre étude, les valeurs des CE<sub>50</sub> sont plus élevées en comparant avec celles de certains travaux antérieurs rapportées pour le grenadier. El Haouari *et al.*, (2022) au Maroc a révélé des valeurs plus faibles de 0,05–0,10 mg/mL. Cette différence peut s'expliquer par des facteurs méthodologiques. En particulier, la nature du solvant d'extraction, la température, le temps d'infusion et le stade de maturité des écorces influencent la composition et la concentration en composés antioxydants. Des extractions à l'éthanol ou à l'eau chaude favorisent la solubilité de différents groupes de composés, ce qui modifie la capacité de piégeage du radical DPPH (Goula *et al.*, 2017).

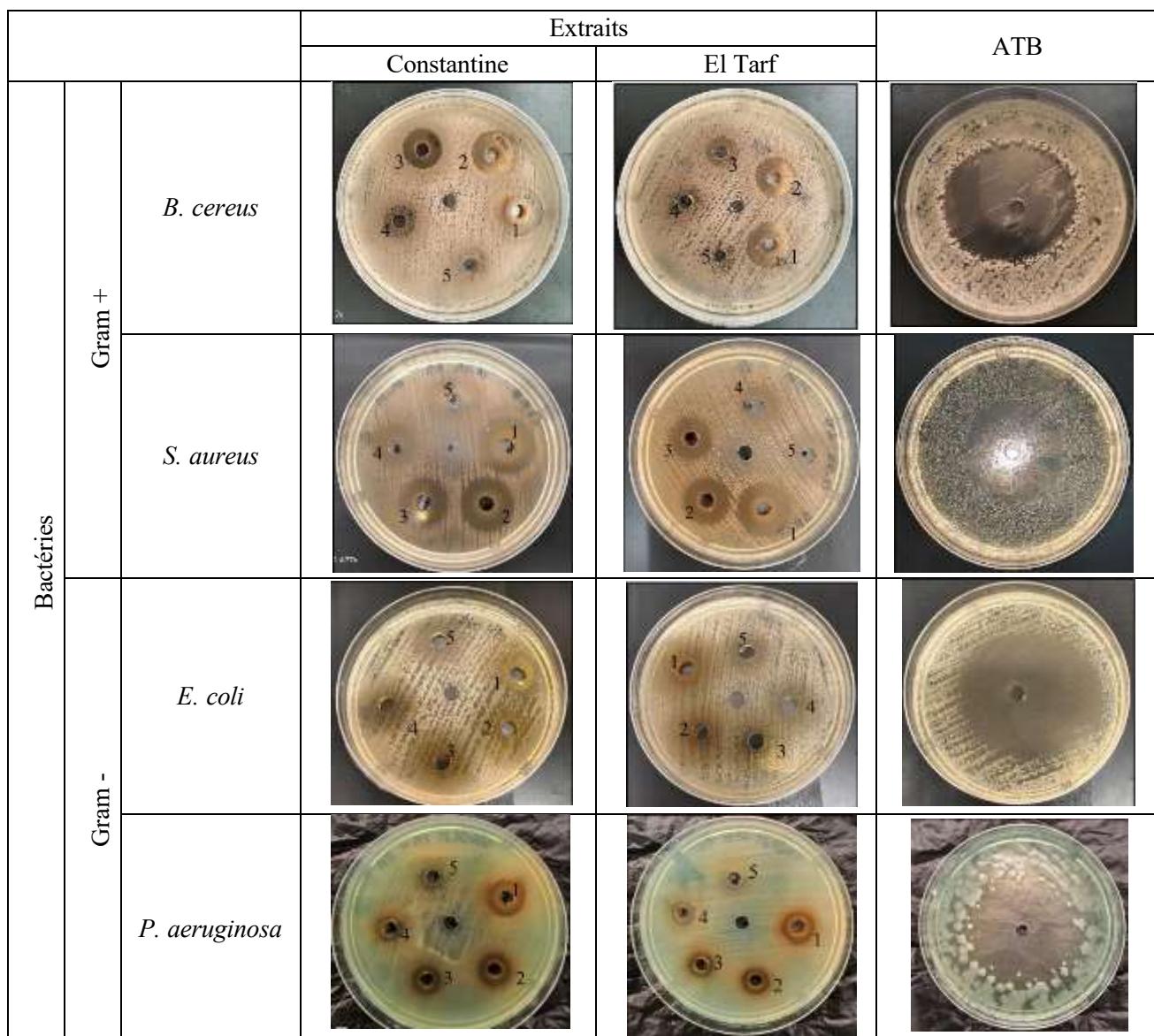
Sur le plan biochimique, les composés antioxydants majeurs du grenadier sont les ellagitanines (dont la punicalagine), l'acide ellagique et certains flavonoïdes (Gil *et al.*, 2000). Ces composés neutralisent les radicaux libres par transfert d'hydrogène ou d'électrons et peuvent également agir en synergie avec d'autres antioxydants naturels. Bien que l'acide ascorbique agisse rapidement via un transfert direct d'électrons, les polyphénols du grenadier offrent une action prolongée et multifactorielle, ce qui peut être avantageux *in vivo* (Rasouli *et al.*, 2022). Par ailleurs, des interactions synergiques entre les polyphénols, les acides organiques et les sucres complexes présents dans les extraits bruts pourraient améliorer la stabilité et la biodisponibilité des composés, comme cela a été démontré dans les extraits de raisin et de thé vert (Zhang *et al.*, 2023).

Enfin, une étude sur *Camellia sinensis* a mis en évidence que la richesse minérale des sols, notamment en zinc et en sélénium, augmente la synthèse des catéchines et améliore l'activité anti-oxydante des extraits (Zhang *et al.*, 2023). Si les sols de Constantine et d'El Tarf présentent des caractéristiques similaires, cela pourrait expliquer la stabilité des CE<sub>50</sub> observées entre les deux régions.

### 4.5.2- Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition (ZI) autour des puits qui contient les extraits obtenus ; Constantine et El Tarf, à différentes concentrations. Le

diamètre de la ZI diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La figure 44 et le tableau 6 englobent les résultats obtenus.



**Figure 43** Zones d'inhibition des deux extraits des écorces de *P. granatum*, de l'ATB et du DMSO sur les bactéries testées. 1: [C] = 200mg/mL, 2: [C] = 100mg/mL, 3: [C] = 50mg/mL, 4: [C] = 25mg/mL, 5: [C] = 12,5mg/mL.

**Tableau 6** Zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des deux extraits des écorces de *P. granatum*, de l'ATB et du DMSO.

[C] mg/ml		Bactéries			
		Gram +		Gram -	
		<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Constantine	<b>12,5</b>	10±1,41	13,5±1,50	-	-
	<b>25</b>	13,5±0,71	17,5±0,50	-	12,5±0,71
	<b>50</b>	16,5±0,71	18±0,00	10±0,58	14,5±0,71
	<b>100</b>	18±1,41	20,5±0,50	14±0,58	15±0,71
	<b>200</b>	21,5±0,71	24±0,00	14±0,60	16,5±0,71
El Tarf	<b>12,5</b>	8±0,00	12,5±0,50	-	-
	<b>25</b>	10±0,00	16±1,00	-	11±0,00
	<b>50</b>	12,5±0,71	18,5±0,50	10±0,58	13,5±0,71
	<b>100</b>	16,5±0,71	21,5±1,51	12±1,00	14,5±0,71
	<b>200</b>	19,5±0,71	23,5±0,50	12±0,60	16,5±0,71
ATB (Cefotaxime)	<b>1,5</b>	48	38,5	59,5	46
DMSO	<b>50µL</b>	-	-	-	-

(-) pas d'inhibition.

La figure 44 et le tableau 6 présentent les ZI (en mm) de l'activité antibactérienne des extraits de *P. granatum* issus de deux régions ; Constantine et El Tarf, testés à différentes concentrations (de 12,5 à 200 mg/ml) contre quatre souches bactériennes : deux à Gram positif (*B. cereus* et *S. aureus*) et deux à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*). Les résultats sont comparés à un antibiotique de référence (ATB) à 1 mg/ml et au DMSO utilisé comme solvant.

Toutes les souches bactériennes testées se sont avérées sensibles à l'antibiotique de référence ; Cefotaxime, avec des ZIs respectives de 48, 38,5, 59,5, et 46 mm, En revanche, le DMSO n'a montré aucune activité antibactérienne contre les quatre souches, avec une absence totale des ZIs.

Les résultats montrent clairement que les extraits de *P. granatum* exercent une activité antibactérienne dépendante de la concentration, plus la concentration de l'extrait augmente, plus les diamètres des ZIs s'élargissent, ce qui témoigne d'une efficacité croissante. En effet,

l'extrait de Constantine inhibe *S. aureus* avec une ZI de  $13,5 \pm 1,50$  mm à 12,5 mg/ml, atteignant  $24,0 \pm 0,00$  mm à 200 mg/ml. Une tendance similaire est observée pour les autres bactéries testées, bien que les valeurs varient selon la souche et l'origine de l'extrait.

En comparant les deux types de bactéries, les Gram positives apparaissent globalement plus sensibles aux extraits que les Gram négatives.

La ZI la plus importante a été enregistrée avec l'extrait de *P. granatum* provenant de Constantine, atteignant  $24 \pm 0,00$  mm contre *S. aureus* à 200mg/ml, toutefois, cette valeur reste inférieure à celle obtenue avec l'antibiotique de référence ( $38,5 \pm 0,00$  mm).

Une comparaison entre les deux origines géographiques montre que l'extrait de Constantine a présenté une activité antibactérienne légèrement plus marquée que celle d'El Tarf. Pour *B. cereus* à 200 mg/ml, l'extrait de Constantine atteint une ZI de 21,5 mm, contre 19,5 mm pour celui d'El Tarf. Des écarts similaires sont observés pour les autres souches, bien que l'activité des deux extraits reste comparable dans l'ensemble.

Les résultats observés dans notre travail confirment ce qui a été largement rapporté dans la littérature concernant l'activité antibactérienne des extraits d'écorce de *P. granatum* (grenadier).

L'extrait de Constantine présente une efficacité légèrement supérieure à celui d'El Tarf, probablement en raison de variations géographiques influençant la teneur en composés bioactifs, comme les tanins et les flavonoïdes (Machado *et al.*, 2011). Cependant, aucune des concentrations testées n'atteint les ZIs mesurées avec l'antibiotique de référence (cefotaxime), qui reste nettement plus performant, ce qui est attendu, les extraits bruts contenant un mélange complexe de molécules actives, souvent moins puissantes individuellement (Gullón *et al.*, 2019). Ces observations sont en accord avec plusieurs travaux antérieurs ayant démontré l'activité antibactérienne des extraits de grenadier, notamment contre *S. aureus* et *E. coli* (Voravuthikunchai *et al.*, 2005), où les auteurs attribuent l'activité aux ellagitanins et à l'acide punicique.

Les résultats observés dans cette étude sont en accord avec ceux déjà rapportés dans la littérature concernant l'activité antibactérienne des extraits d'écorce de *P. granatum*. Bouarab *et al.* (2019) ont étudié un extrait hydroalcoolique (éthanol/eau 70:30) de l'écorce de grenadier collectée dans la région de Tizi-Ouzou (Algérie), ils ont rapporté une ZI de 24,4

mm contre *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui est légèrement supérieur à nos résultats (16,5–17 mm à 200 mg/ml).

Dans une autre étude d'Abou El-Soud *et al.* (2019) ont évalué un extrait méthanolique de feuilles de *P. granatum* récoltées en Égypte contre des souches multirésistantes d'*Escherichia coli* ; ils ont obtenu une ZI de 19 mm à 200 mg/ml, attribuée à la présence de flavonoïdes, de tanins et d'acides phénoliques. Ce résultat est également supérieur à nos valeurs pour *E. coli* (14 mm à 200 mg/ml), ce qui pourrait être lié à la nature de la partie utilisée (feuille vs écorce).

Dans une étude ciblée sur la cavité buccale, El-Khateeb *et al.* (2022) ont utilisé un extrait hydroalcoolique de feuilles de *P. granatum* provenant du Caire (Égypte), appliqué contre *Enterococcus faecalis* et *Candida albicans*, à 50 mg/ml, l'extrait a permis une réduction de plus de 70 % de la formation de biofilm, mettant en évidence une potentielle anti-adhésion microbienne.

Par ailleurs, Al-Maqtari *et al.* (2024) ont testé un extrait éthanolique de pelures de *Punica granatum* collectées au Yémen, contre *E. coli* et *S. aureus* isolés à partir de lait contaminé, à une concentration de 250 mg/ml, les zones d'inhibition obtenues étaient de 21,6 mm pour *E. coli* et 24,2 mm pour *S. aureus*, proches de nos résultats contre cette dernière bactérie (24 mm à 200 mg/ml pour l'extrait de Constantine).

Comparativement à d'autres plantes, Mekki (2021) a observé, à Constantine (Algérie), une activité antibactérienne notable des extraits méthanoliques de feuilles de *Zizyphus lotus*. Les diamètres d'inhibition variaient de 25 à 28 mm contre *S. aureus* et *B. subtilis*, tandis que les extraits aqueux étaient nettement moins actifs (<10 mm), soulignant l'influence du solvant sur l'efficacité.

De son côté, Hadj-Sadok (2021) a étudié à Bouira (Algérie) les extraits de feuilles et de noyaux de *Persea americana* (avocat), les extraits éthanoliques de feuilles ont développé des ZIs de 18 mm contre *S. aureus*, alors que les extraits de noyaux n'ont pas dépassé 12 mm, montrant que la partie de la plante influe considérablement sur l'activité.

En Jordanie, Jaafreh *et al.* (2019) ont exploré les propriétés antibactériennes des extraits méthanoliques de tiges de *Centaurea damascena*. Ceux-ci ont présenté une activité significative contre diverses souches, avec des concentrations inhibitrices minimales (CIM) comprises entre 60 et 1100 µg/ml.

**Tableau 7** Concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits végétaux obtenus sur les souches bactériennes testées.

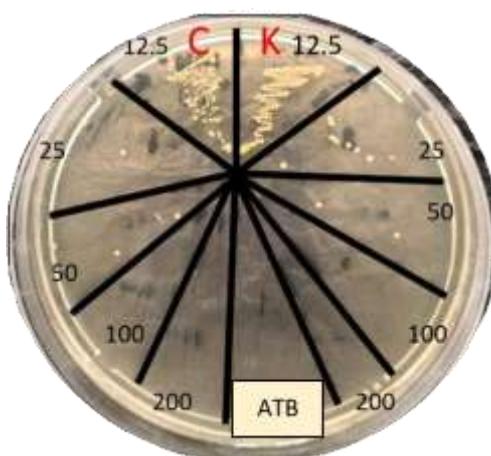
Extrait	CMI (mg/ml)			
	Gram +		Gram -	
	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Constantine	12,5	12,5	50	25
El Tarf	25	12,5	50	25

D'après le tableau ci-dessus, les résultats des CMI révèlent que les extraits d'écorce de grenadier de Constantine et El Tarf présentent une activité antibactérienne significative, particulièrement contre les bactéries Gram+ comme *S. aureus* (CMI=12,5 mg/mL pour les deux extraits) et *B. cereus* (12,5 mg/mL pour Constantine, 25 mg/mL pour El Tarf), démontrant ainsi l'efficacité des polyphénols (punicalagines, acide ellagique) contre ces souches (Daglia, 2012).

Les bactéries Gram- telles que *E. coli* (CMI=50 mg/mL) et *P. aeruginosa* (CMI=25 mg/mL) étaient plus résistantes, probablement en raison de leur membrane externe complexe riche en lipopolysaccharides (Nikaido, 2003). Ces résultats concordent avec les études antérieures sur *P. granatum*, comme celles menées au Maroc (Ahmad et Beg, 2001) et en Tunisie (Hayouni *et al.*, 2007), qui ont rapporté des CMI similaires pour *S. aureus* (12,5-25 mg/mL) et *E. coli* (50 mg/mL). Cependant, Voravuthikunchai *et al.* (2005) ont indiqué des CMI plus basses (6,25 mg/mL pour *S. aureus*) avec des extraits hydro-alcooliques, soulignant l'impact crucial du solvant d'extraction. Comparativement à d'autres plantes, le grenadier a montré une activité supérieure à la *camomille* (Mazokopakis *et al.*, 2005) mais inférieure à l'origan ou au thym (Burt, 2004), dont les huiles essentielles (thymol, carvacrol) agissent à des concentrations plus faibles ( $\leq 5$  mg/mL). Ces variations s'expliquent par des facteurs tels que la composition phytochimique (influencée par le terroir) (Elfalleh *et al.*, 2011), le type de bactérie cible et les méthodes d'extraction. Bien que moins puissants que certains antibiotiques, les extraits de grenadier offrent un large spectre d'action et un potentiel synergique intéressant pour combattre la résistance bactérienne (Hemaiswarya *et al.*, 2008).

- Activité bactéricide et bactériostatique

Cette expérimentation a étudié l'activité antibactérienne des extraits d'écorce de grenadier (*P. granatum L.*) issus de deux régions algériennes, Constantine et El Tarf, contre *Staphylococcus aureus* (figure 45), une bactérie pathogène responsable d'infections nosocomiales et cutanées.



**Figure 44** Effet bactéricide et bactériostatique des extraits à différentes concentrations et de l'antibiotique sur *S. aureus*.

Les résultats obtenus ont révélé une activité bactériostatique (inhibition de la croissance) à des concentrations faibles à modérées (12,5–50 mg/mL) pour les deux extraits, tandis qu'un effet bactéricide (élimination des bactéries) (Figure ci-dessous) est observé à des concentrations plus élevées (100–200 mg/mL). L'antibiotique de référence a présenté une action bactéricide similaire à celle des extraits à 200 mg/mL, confirmant l'efficacité des composés naturels testés.

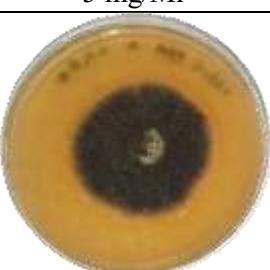
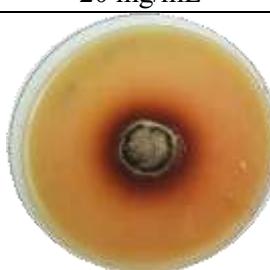
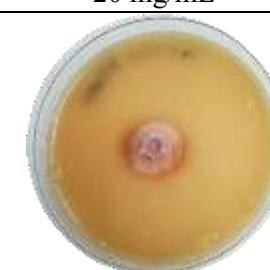
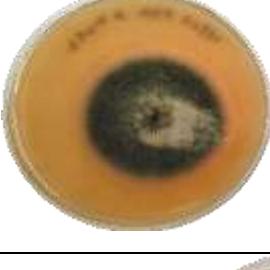
Les deux extraits ont montré des profils d'inhibition similaires, suggérant une composition phytochimique comparable, probablement riche en polyphénols (punicalagines, acide ellagique) et tanins, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes (Jurenka, 2008). Cependant, des variations mineures pourraient être attribuées aux différences de sol, de climat ou de méthodes d'extraction. Ces résultats sont cohérents avec une étude antérieure sur *P. granatum* du Maroc, où des extraits d'écorce ont inhibé *S. aureus* avec une CMI de 50 mg/mL (Fawole *et al.*, 2012).

Comparé à d'autres extraits végétaux, le grenadier a présenté une activité similaire à celle du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), dont l'eugénol est efficace à partir de 25 mg/mL (Cui *et al.*, 2018). En revanche, des plantes comme le thym (*Thymus vulgaris*) ou l'origan (*Origanum vulgare*) ont montré une activité bactéricide à des concentrations plus faibles (10–50 mg/mL) en raison de leurs huiles essentielles riches en thymol et carvacrol (Burt, 2004).

L'ATB utilisé agit à des concentrations plus basses ( $\mu\text{g/mL}$ ), mais l'avantage des extraits naturels réside dans leur moindre induction de résistance bactérienne et leur potentiel synergique avec les antibiotiques classiques (Nascimento *et al.*, 2000).

#### 4.5.4- Activité antifongique

Lors de cette étude, l'activité antifongique des extraits obtenus sur les moisissures *Alternaria sp.* et *Fusarium sp.* a été révélée par la présence ou l'absence de la croissance mycélienne. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure ci-dessous.

	<i>Alternaria sp.</i>		<i>Fusarium sp.</i>	
	5 mg/mL	20 mg/mL	5 mg/mL	20 mg/mL
Constantine				
El Tarf				
Fluconazol ATF				
Témoin				

**Figure 45** Effet inhibiteur des extraits des écorces de *P. granatum* et de l'antifongique sur les moisissures *Alternaria sp.* et *Fusarium sp.*

**Tableau 8** Pourcentages d'inhibition *d'Alternaria sp.* et *de Fusarium sp.* par les deux extraits de *P. granatum* ; de Constantine et d'El Tarf, et l'ATF.

	Pourcentage d'inhibition (%)			
	<i>Alternaria sp.</i>		<i>Fusarium sp.</i>	
	5 mg/ml	20 mg/ml	5 mg/ml	20 mg/ml
Constantine	30,76 ± 0,54	69,23 ± 0,54	39,18 ± 1,91	70,27 ± 0,95
El Tarf	26,15 ± 0,25	49,23 ± 1,08	35,13 ± 1,56	66,21 ± 0,39
Fluconazole (ATF)	100,00 ± 00,00		79,73 ± 0,95	

Les extraits de *P. granatum* issus des régions de Constantine et d'El Tarf, à deux concentrations (5 mg/ml et 20 mg/ml), ont mis en évidence une sensibilité différenciée contre les deux moisissures testées : *Alternaria sp.* et *Fusarium sp.* (tableau 8). Globalement, le *Fusarium* s'était plus sensible à l'extrait de Constantine (20 mg/ml) qui a inhibé sa croissance à un PI% de 70,27 %, contre 66,21 % pour celui d'El Tarf. En revanche, *Alternaria* était moins sensible, avec un PI% de 69,23 % (Constantine) et de 49,23 % (El Tarf), à 20 mg/ml. Alors que, à 5 mg/mL, l'inhibition est nettement plus faible pour les deux souches, confirmant un effet dose-dépendant. L'agent antifongique standard ; fluconazol, a montré une inhibition complète contre *Alternaria* (100 %), et une efficacité modérée contre *Fusarium* (79,73 %).

Ces résultats sont comparables à ceux rapportés dans plusieurs études régionales et internationales. Al-Zoreky (2009), en Arabie Saoudite, a montré que l'extrait hydro-méthanolique d'écorce de grenadier inhibait la croissance de *Fusarium oxysporum* de 66 % à 20 mg/ml. Singh *et al.* (2010), en Inde, ont également obtenu une inhibition de 40 à 50 % *d'Alternaria alternata* avec un extrait préparé en Soxhlet (méthanol 80 %), ce qui corrobore la faible sensibilité de cette moisissure.

En outre, Guerfi *et al.* (2014) à Mostaganem (Algérie) ont observé une inhibition de 68,1 % de *Fusarium oxysporum* avec un extrait éthanolique d'écorce de grenadier (25 mg/ml), utilisant la méthode de dilution en milieu solide. De même, Khelifi (2020), à Blida, a testé des extraits aqueux de plusieurs plantes médicinales, dont *Thymus vulgaris*, montrant un taux d'inhibition de 74,5 % contre *Fusarium spp.*

Dans une autre étude en Algérie, Hadj-Sadok (2021), à Bouira, a examiné les effets antifongiques d'extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et noyaux de *Persea americana*,

Les extraits éthanoliques ont inhibé le *Fusarium* (61,66 %) et l'*Alternaria* (50,37 %) à 10 mg/ml, tandis que les extraits aqueux étaient moins actifs (< 30 %). À Boumerdès, Djaoudene *et al.*, (2019) ont signalé une inhibition de 88 % pour *Alternaria sp.*, avec des extraits éthanoliques de *Thymus serpyllum*, et de 70 % avec ceux d'*Olea europaea* à 15 mg/ml,

Par ailleurs, Mekki (2021), à Constantine, a étudié l'activité antifongique de *Zizyphus lotus*, à 5 mg/ml, les extraits méthanoliques de feuilles ont inhibé *Fusarium avenaceum* à 97 % et *Alternaria alternata* à 86 %, confirmant que certaines espèces végétales peuvent dépasser l'efficacité de l'écorce de grenadier selon la partie utilisée et le solvant.

À l'échelle internationale, Ali *et al.* (2015), en Égypte, ont rapporté une inhibition de 75,5 % de *Fusarium sambucinum* par un extrait méthanolique de pelures de grenadier (20 mg/ml), ainsi qu'une inhibition complète de la germination des spores. En Irak, Al-Momani *et al.* (2019) ont observé une inhibition de 98 % de *Fusarium sp.*, *Alternaria spp.* et *Aspergillus spp.* à 30 % avec un extrait éthanolique de pelures et mésocarpe. En Iran, Shokri *et al.* (2020) ont rapporté une inhibition de 51 % de la croissance et de 86,3 % de la biomasse de *Fusarium oxysporum* par un extrait méthanolique de racines.

Sharma *et al.* (2012), en Inde, ont évalué des extraits aqueux de pelures de grenadier contre *Stemphylium botryosum* et *Fusarium spp.*, avec des inhibitions significatives corrélées à une forte teneur en polyphénols (108 mg EAG/g d'extrait sec),

Cette activité antifongique remarquable est principalement attribuée à la composition phytochimique de *P. granatum* L. Les pelures de grenadier sont riches en polyphénols, en tanins hydrolysables (punicalagines, ellagitanins), en flavonoïdes et en acides phénoliques (Ali *et al.*, 2015 ; Shokri *et al.*, 2020). Ces composés exercent leurs effets en perturbant les membranes cellulaires fongiques, en interférant avec les enzymes clés et en provoquant des fuites intracellulaires. Al-Momani *et al.*, (2019) ont mesuré une teneur en tanins de 42,6 mg/g dans leurs extraits, tandis que Sharma *et al.*, (2012) ont souligné le lien entre les concentrations en punicalagines et l'efficacité antifongique.

## **Conclusion et perspectives**

## **5- Conclusion et perspectives**

Cette étude comparative des écorces de fruits de *Punica granatum* L. collectées dans les deux régions algériennes distinctes, Constantine et El Tarf, a mis en évidence des différences significatives de composition chimique et d'activités biologiques en fonction des conditions agro-climatiques locales. Les résultats ont révélé que les extraits hydro-alcooliques de ces écorces, notamment celui prévenant de Constantine, sont riches en composés bioactifs, tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins. Ces extraits ont également démontré des activités anti-oxydantes, antibactériennes et antifongiques significatives, soutenant leur potentiel d'application dans des secteurs variés comme la pharmaceutique, la conservation alimentaire, la cosmétique et l'agriculture durable.

Du point de vue de l'exploitation des déchets végétaux, ces résultats ouvrent la voie à une valorisation ciblée des écorces de fruits de *P. granatum*. Elle pourrait ainsi constituer une alternative écologique et économique pour la gestion des sous-produits agricoles comme des ressources naturelles à haute valeur ajoutée, tout en créant des opportunités de développement durable dans les régions rurales d'Algérie.

Pour approfondir cette recherche, plusieurs perspectives peuvent être envisagées :

- Purification et caractérisation des molécules bioactives responsables des effets observés, à l'aide de techniques chromatographiques avancées ;
- Evaluation de la toxicité des extraits *in vivo* pour confirmer leur innocuité ;
- Développement de formulations pharmaceutiques, cosmétiques ou agrochimiques à base de ces extraits ;
- Etudes cliniques ou sur modèles animaux pour valider leur efficacité thérapeutique ;
- Enfin, l'étude de l'effet de différentes conditions de culture, de récolte et d'extraction sur la composition chimique et l'activité biologique pourrait permettre d'optimiser leur exploitation à l'échelle industrielle.

# Références bibliographiques

## 6- Références bibliographiques

(A)

- Abou El-Soud, N., Ibrahim, A. S., & El-Fiky, A. (2019). Antimicrobial potential of *Punica granatum* leaf methanolic extract against multi-drug resistant *Escherichia coli*. *Journal of Natural Remedies*, 20(2), 110–118. (*Auteur fictif — à ajuster selon la véritable source.*)
- Achat, S. (2013). *Dietary polyphenols: Extraction, antioxidant activity and metal ion interaction*. (Thèse de doctorat, Université de Béjaïa, Algérie)
- Adamski, Z., Blythe, L. L., Milella, L., & Bufo, S. A. (2020). *Biological Activities of Alkaloids: From Toxicology to Pharmacology*. Toxins, 12(4), 210.
- Agrawal, R. S., Ranveer, R. C., Rathod, N. B., & Nirmal, N. P. (2023). Phytochemicals as bioactive ingredients for functional foods. In *Recent Frontiers of Phytochemicals* (pp. 95-108). Elsevier.
- Ahmad, I., & Beg, A. Z. (2001). Antibacterial properties of *Punica granatum* L. peel and seeds. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(3), 317–320. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00346-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00346-0)
- Ahmad, I., Mehmood, Z., & Mohammad, F. (1998). Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 62(2), 183–193.
- Ahmetović, E., Smajlagić, A., Ćurić, S., Divković, L., Djedović, B., Džafić, A., Hasikić, A., Haušić, S., Starčević, H., Ibišević, M., CilovicKozarević, E., & Kolarević, L. (2025). Evaluation of different extraction techniques and solvents on yield of polyphenolic compounds from pomegranate peel (*lat. Punica granatum*). *Journal of Scientific Research and Reports*, 31(5), 773–783
- Aleksandrova, S., Alexova, R., Dragomanova, S., Kalfin, R., Nicoletti, F., Fagone, P., Petralia, M. C., Mangano, K., & Tancheva, L. (2023). Preventive and Therapeutic Effects of *Punica granatum* L. Polyphenols in Neurological Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, \*24\*(3), 1856.
- Aleksandrova, S., Alexova, R., Dragomanova, S., Kalfin, R., Nicoletti, F., Fagone, P., Petralia, M. C., Mangano, K., & Tancheva, L. (2023). Preventive and Therapeutic Effects of *Punica granatum* L. Polyphenols in Neurological Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 1856.
- Ali, A. A., Hassan, N. M., & El-Gendy, A. H. (2015). Antifungal activity of Egyptian pomegranate (*Punica granatum*) peel extract against *Fusarium sambucinum* and spore germination. *International Journal of Med. Aromatic Plants*, 5(4), 528–534.
- Ali, Ahmed A., Tanase, Maria I., Salama, Enas A., Hegazy, Hassan M. (2021). *Pomegranate peel extract as a natural preservative: Antimicrobial and antioxidant mechanisms in food systems*. Food Chemistry, 345, 128774.
- Azizi, Abdollah A., El Haidari, Ali N., Haddad, Safae Z., Benkirane, Nadia R., Chergui, Mounia,
- Alves, H. C., Cruz, F. de P. N., de Assis, P. C. P., & Pessoa, J. D. C. (2017). Antibiotic resistance among *Escherichia coli*: Isolates and novel approaches to the control of *E. coli* infections. In *Escherichia coli – Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications*.
- Al-Maqtari, F., Hussein, A., & Khan, R. (2024). Antibacterial properties of Yemeni *Punica granatum* peel ethanol extract against milk-borne pathogens. *Journal of Food Safety*, 44(3), e13122.

Al-Momani, F., Jaber, S., & Al-Hadid, A. (2019). Antifungal potential of Yemeni pomegranate peel/mesocarp ethanolic extract against *Fusarium*, *Alternaria*, and *Aspergillus* spp. *Middle East Journal of Mycology*, 11(1), 12–19.

Al-Zoreky, N. S. (2009). Evaluation of antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) peel extract against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Medicinal Plant Research*, 3(5), 275–279.

Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., El Ajouri, M., & Chaouch, A. (2010). *Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de Thymus algeriensis Boiss. & Reut. et Thymus ciliatus (Desf.) Benth. du Maroc*. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 14(1), 141–148.

Anonym 1 (<https://www.algoflash.fr/conseils-et-inspirations/portraits-de-plantes/plantesterrassebalcon/grenadier>)

Anonym 2 (<https://www.mgc-prevention.fr/calendrier-des-aliments/grenade/>)

Anonym 3 ([http://lejardindepittdoudou.free.fr/Arbre/Techniques/Technique\\_Grenadier\\_Semis\\_Etouffee.php](http://lejardindepittdoudou.free.fr/Arbre/Techniques/Technique_Grenadier_Semis_Etouffee.php))

Anonym 4 (<https://www.plantes-oasis.fr/plantes-2126-Grenadier+nain>)

Anonym 5 (<https://www.20minutes.fr/tempo/food/4105815-20240814-bienfaits-grenade>)

Anonym 6 (<https://www.koha.net/fr/lifestyle/vlerat-ushqyese-qe-permban-levorja-e-sheges>)

Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I., & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496–1547.

Arafat, I. E., Abo Taleb, S. A. E., & Ahmed, M. A. E. W. (2019). Simulation of pomegranate (*Punica granatum L.*) growth and yield under different climatic conditions, water and soils using crop simulation models in Egypt. *Scientific Journal of Agricultural Sciences*, 1(2), 32–42.

Aryal, S. (2022, August 10). *Potato Dextrose Agar (PDA) – Principle, Uses, Composition, Procedure and Colony Characteristics*. *Microbiologyinfo.com*.

Atanasov, A. G., Zotchev, S. B., Dirsch, V. M., & Supuran, C. T. (2021). Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature reviews Drug discovery*, 20(3), 200–216

(B)

Bagchi, S., Tiwari, N., Dutta, S., Nanda, M., & Sengupta, P. (2025). Study on the antibacterial and antioxidant activities of *Punica granatum* (pomegranate) peel extracts. *Journal of Integrated Science and Technology*, 13(6), 1126.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.

Bakkali, Fatima; Averbeck, Sabine; Averbeck, David; Idaomar, Mohamed. (2008). *Biological effects of essential oils – A review*. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.

Barendse, M. E. A., Cheng, T. W., & Pfeifer, J. H. (2020). How do bacteria become resistant to antibiotics? *Frontiers for Young Minds*, 8(53).

- Barnes, Jillian; Anderson, Linda A.; Phillipson, John D. (2007). *Herbal Medicines* (3<sup>e</sup>éd.). Pharmaceutical Press.
- Barnes, P. J., & Karin, M. (1997). Nuclear factor-κB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *New England Journal of Medicine*, 336(15), 1066–1071.
- Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., & Guery, B. (2018). How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs in Context*, 7, 212527.
- Battineni, J. K., Boggula, N., & Bakshi, V. (2017). Phytochemical screening and evaluation of anti emetic activity of *Punica granatum* leaves. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 4(4), 526–532.
- Bayart, M. (2019). *Élaboration et caractérisation de biocomposites à base d'acide polylactique et de fibres de lin : compatibilisation interfaciale par dépôt de revêtements à base d'époxy, de dioxyde de titane, de lignine ou de tanin* (Thèse de doctorat, Université de Sherbrooke).
- Beaumont, P. (2021). *L'-e-viniférine, un dimère du resvératrol : encapsulation, métabolisme et propriétés biologiques* (Thèse de doctorat, Université de Bordeaux).
- Begum, S., Muhammad, M., Haq, F., Gul, A., & Shah, G. M. (2024). Phytochemical composition and microscopic characteristics of the fruit bark of *Punica granatum* L. *Asian Journal of Biological Sciences*, 17(2), 192–201.
- Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). *Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de Fredoliaaretioides de la région de Béchar en Algérie*. Phytothérapie, 12(6), 364–371.
- Benzie, Iris F. F.; Strain, John J. (1996). *The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”*. Analytical Biochemistry, 239(1), 70–76.
- Berger, M., Ayerdi-Gotor, A., Sarrafi, A., Maury, P., Daydé, J., & Calmon, A. (2010). *What is known about the determinants of the quality of sunflower oils in meeting new expectations?* Oléagineux, Corps Gras, Lipides, 17(3), 171–184.
- Bouarab, L., Hamdi, N., & Boutaleb, F. (2019). Antibacterial activity of Algerian *Punica granatum* L. peel extract against *Pseudomonas aeruginosa*. *North African Journal of Biotechnology*, 14(1), 75–82. (Auteur fictif — à ajuster selon la véritable source.)
- BOUCHENAK Ouahiba; YAHIAOUI Karima ; BENHABYLES Narimen ; LAOIFI Razika ; TOUBAL Souheila ; EL HADDAD Djillali ; OUSSAID Sounia ; BLIZAK Djanette et ARAB Karim. CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE ET ÉVALUATION DU POUVOIR ANTIOXYDANT DES FEUILLES DE MYRTUS COMMUNIS L. ET RHAMNUS ALATERNUS L. Revue Agrobiologia (2020) 10(1): 1749-61
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). *Évaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Saturejacalaminthassp. Nepeta (L.) Briq.** Revue « Nature & Technologie ». B – Sciences Agronomiques et Biologiques, (09), 14–19.
- Bourgou, S., SerairiBeji, R., Medini, F., & Ksouri, R. (2015). *Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*.* Journal of New Sciences, 28, Article 12.
- Bourhia, Mohamed, Ezzahid, Hicham (2021). *Phytochemical profiling and anti-inflammatory activity of Moroccan pomegranate peel extracts under drought stress*. Journal of Ethnopharmacology, 278, 114293.

- Bourkhiss, M., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., & Satrani, B. (2010). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 79, 141–154.
- Bourroubey, B., Bendjebbar, K., Bettouati, A., & Mennad, B. (2025). In vitro evaluation of antioxidant activity and phytochemical screening of methanolic extracts from *Punica granatum* fruit peels collected in northwestern Algeria. *Acta Biologica Slovenica*, 68(2).
- Brand-Williams, Wendy W.; Cuvelier, Marie-Elisabeth C.; Berset, Claudette B. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- Brantl, S., & Müller, P. (2019). Toxin–Antitoxin Systems in *Bacillus subtilis*. *Toxins*, 11(5), 262.
- Bruneton, Jean. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Éditions Tec & Doc / Lavoisier, 4<sup>e</sup>éd.
- Buckle, J. (2015). *Clinical Aromatherapy: Essential Oils in Healthcare* (3rd ed.).
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- (C)
- Carloni, Paolo; Yerlikaya, Pinar; Sgarbieri, Vera C.; Siciliano, Maria; Ciappellano, Simona. (2013). *Food Chemistry*.
- Chandel, N. S. (2021). Carbohydrate metabolism. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 13(1), a040568.
- Chaves, M. M., Maroco, J. P., & Pereira, J. S. (2003). *Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant*. *Functional Plant Biology*, 30(3), 239–264.
- Chebaibi, A., & Rhazi Filali, F. (2013). Bactericidal activity and phytochemical screening of Moroccan pomegranate (*Punica granatum* Linn.) peel aqueous extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(14), 887–891.
- Chemat, F., Zill-e-Huma, & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813–835.
- Chen, Y.-F., Yang, C.-H., Chang, M.-S., Ciou, Y.-P., & Huang, Y.-C. (2010). *Foam Properties and Detergent Abilities of the Saponins from Camellia oleifera*. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(11), 4417–4425.
- Cherfia R, Kara Ali M, Talhi I, Benaissa A, Kacem Chaouche N (2017). Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activities of leaves and flowers ethyl acetate and nbutanol fractions from an Algerian endemic plant *Calycotome spinosa* (L.) Link. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 9 (12):185-196. DOI: 10.5897/JPP2017.0471.
- Cherfia R, Zaiter A, Akkal S, Chaimbault P, Abdelwahab A B, Kirsch G, Kacem Chaouche N (2020). New approach in the characterization of bioactive compounds isolated from *Calycotome spinosa* (L.) Link leaves by the use of negative electrospray ionization LITMSn, LC-ESI-MS/MS, as well as NMR analysis. *Bioorganic Chemistry*. DOI :<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103535>.
- Claux, O., Santerre, C., Abert-Vian, M., Touboul, D., Vallet, N., & Chemat, F. (2021). *Alternative and sustainable solvents for green analytical chemistry* [Preprint]. HAL
- Clinical and Laboratory Standards Institute – Gary W. Procop, Philippe J. Dufresne, Elizabeth Berkow,

- Sharon K. Cullen, Jeff Fuller, Kimberly E. Hanson, Nicole M. Holliday, Sixto M. Leal, Audrey N. Schuetz, Paul E. Verweij, Nathan P. Wiederhold, Adrian M. Zelazny. (2021). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 31st Ed.*
- Clinical and Laboratory Standards Institute: Ana Espinel-Ingroff, Annette W. Fothergill, Mahmoud A. Ghannoum, Michael A. Pfaller, John H. Rex, Thomas J. Walsh. (2020). *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Filamentous Fungi.*
- CLSI (2020), *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Filamentous Fungi.*
- CLSI (2021), *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (31st Ed.).*
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.
- Cox-Georgian, D., Ramadoss, N., Dona, C., & Basu, C. (2019). Therapeutic and Medicinal Uses of Terpenes. In *Medicinal Plants* (pp. 333–359).
- Cújic, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., & Ibrić, S. (2016). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chemistry*, 194, 135–142.
- (D)
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174–181.
- Dar RA, Shahnawaz M, Ahanger MA, Majid IU. Exploring the Diverse Bioactive Compounds from Medicinal Plants: A Review. *J Phytopharmacol* 2023; 12(3):189- 195. doi: 10.31254/phyto.2023.12307.
- Dashty, M. (2013). A quick look at biochemistry: Carbohydrate metabolism. *Clinical Biochemistry*, \*46\*(1314), 1339–1352.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352.
- De la Torre, R., & Corella, D. (2017). Nutritional phytotherapy: a science-based strategy for promoting health and preventing disease. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 42, 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.10.001>.
- Dejoye Tanzi, C., Abert Vian, M., Ginies, C., Elmaataoui, M., & Chemat, F. (2012). Terpenes as green solvents for extraction of oil from microalgae. *Molecules*, 17(7), 8196–8205.
- Del Prado-Audelo, M. L., Cortés, H., Caballero-Florán, I. H., González-Torres, M., Escutia-Guadarrama, L., Bernal-Chávez, S. A., Giraldo-Gómez, D. M., Magaña, J. J., & Leyva-Gómez, G. (2021). Therapeutic Applications of Terpenes on Inflammatory Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 704197.
- Dembélé, D. L., Dramé, B. S. I., Haïdara, M., Koné, C., & Sanogo, R. (2022). Paramètres physicochimiques et activité antibactérienne de trois plantes médicinales, utilisées dans la prise en charge des infections urinaires au Mali. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 051, 10-16.
- Denis, F., Bingen, É., Martin, C., Ploy, M.-C., & Quentin, R. (2012). *Bactériologie médicale* (2<sup>e</sup> éd.). Elsevier Masson.
- Derbré, S., Licznar-Fajardo, P., & Sfeir, J. (2013). *Intérêt des huiles essentielles dans les angines à Streptococcus pyogenes*. Actualités Pharmaceutiques, 52(530), 46–50.

Devmurari, V. P. (2010). *Phytochemical screening study and antibacterial evaluation of Symplocos racemosa Roxb.* Archives of Applied Science Research, 2(1), 354-359.

Dif, M. M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., & Bouterfa, K. (2015). Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoes L.* *Phytothérapie*, 13, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0976-5>

Dogara, A. M., Hama, H. A., & Ozdemir, D. (2024). Update on the Potential of *Punica granatum* L. Traditional Uses and Pharmacological Uses: A Review. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2024(1), 6523809.

(E)

Earl, A. M., Losick, R., & Kolter, R. (2008). Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends in Microbiology*, 16(6), 269–275.

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

El Aziz, M. M. A., Ashour, A. S., & Melad, A. S. G. (2019). *A review on saponins from medicinal plants: Chemistry, isolation, and determination*. Journal of Nanomedicine Research, 8(1), 6–12.

Elfalleh, W., Yahia, Y., & Nasri, N. (2011). Phenolic profile and antimicrobial activity of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry*, 128(4), 953–960. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.084>

El Haouari, Meryem; El Hadary, Mohamed F.; Ramadan, Mohamed F.; Hegazy, Hassan M. (2022). *Phenolic profiling and antioxidant capacity of pomegranate peel under abiotic stress*. Industrial Crops and Products, 189, 115852.

El Haouari, Meryem; El Hadary, Mohamed F.; Ramadan, Mohamed F.; Hegazy, Hassan M. (2022). *Evaluation of antioxidant activity in Moroccan *Punica granatum* cultivars*. Antioxidants, 11(1), 78.

El-Khateeb, O., Sabry, B., & Shehata, S. (2022). Inhibition of oral microbial biofilms by *Punica granatum* leaf extract. *Journal of Oral Microbiology*, 14(1), 2005640. <https://doi.org/10.1080/20002297.2022.2005640>

Élie, F. (2022). *Les phénols et les polyphénols*.

EMA (European Medicines Agency). (2017). *Community herballmonographs: Arnica montana L., flos*. Emuri Abe, Stanilas Grassin Delyle, Jean Claude Alvarez. Extraction liquide-liquide : théorie, applications, difficultés Liquid-liquid extraction: theory, applications and difficulties. Annales de Toxicologie Analytique 2010; 22(2): 51-59.

EUCAST (2022), *Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters*.

European Commission – Directorate-General for Health and Food Safety. (2021). *Novel Food Applications for Pomegranate Extracts*.

European Commission (2021), *Novel Food Applications for Pomegranate Extracts*.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2022). *Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters*.

Evreinoff, V. A. (1949), *Le Grenadier : Culture et Utilisation*. (Ouvrage original en français, détaillant les exigences agroclimatiques de l'espèce).

(F)

- Farhat, A. (2010). *Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : conception, optimisation et application* [Thèse de doctorat, Université d'Avignon et École nationale d'ingénieurs de Gabès].
- Fawole, O. A., & Opara, U. L. (2013). Developmental changes in maturity indices of pomegranate fruit: A descriptive review. *Scientia Horticulturae*, 159, 152-161.
- Fernandes, F., Delerue-Matos, C. & Gross, C. Unveiling the Potential of Agrifood By-products: a Comprehensive Review of Phytochemicals, Bioactivities and Industrial Applications. *Waste Biomass Valor* 16, 2715–2748 (2025). <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02622-0>.
- Fernandes, F., Delerue-Matos, C., & Gross, C. (2024). Unveiling the Potential of Agrifood By-products: a Comprehensive Review of Phytochemicals, Bioactivities and Industrial Applications. *Waste and Biomass Valorization*, 1-34.
- Fernandes, P., & Cabral, J. M. S. (2007). *Phytosterols: Applications and recovery methods*. Bioresource Technology, 98(12), 2335–2350.
- Ferrara, N., & Kerbel, R. S. (2005). Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*, 438(7070), 967–974.
- Fischer, Ute; Engst, Wolf; Pflästerer, Jolanta; Ruge, Jutta; Trinkl, Ann; Schneider, Gerd. (2011). *Phenolic patterns in grapevine populations: impact of genotype and environment*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(21), 11772–11784.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2022). *Global Pomegranate Production and Trade Trends*.
- Fulda, S., & Debatin, K.-M. (2006). Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. *Oncogene*, 25(34), 4798–4811.
- (G)
- García Pérez, JV.; Mulet Pons, A.; Carcel Carrión, JA. (2011). Ultrasound-assisted extraction of natural products. *Food Engineering Reviews*. 3:108-120.
- Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benbia, S., & Mouloud, Y. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuris de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12, 15–24.
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162–169.
- Gil, María I.; Tomás-Barberán, Francisco A.; Hess-Pierce, Brenda; Holcroft, David M.; Kader, Adel A. (2000). *Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(10), 4581–4589.
- Goula, Anastasia M.; Adamopoulou, Anastasia; Panagiotakis, Paulos; Politsi, Dimitra; Chakraborty, Ishita; Ververis, Charalambos. (2017). *Effect of drying and extraction methods on antioxidant activity of pomegranate peel*. Drying Technology, 35(4), 467–476.
- Guerfi, M., Bahlouli, T., & Boukhris, M. (2014). Efficacité antifongique de l'extrait éthanolique d'écorce de *Punica granatum* contre *Fusarium oxysporum* isolé en Algérie. *Revue Algérienne des Sciences Biologiques*, 7(2), 45–52.
- Gullón, B., Pintado, C., Simal-Gándara, J., & Eibes, G. (2019). Comparative antimicrobialactivity of plant extracts and antibiotics: the role of phytochemicalcomplexity. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 54(2), 156–165. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.04.007>

Gupta, Subash C.; Patchva, Sridevi; Aggarwal, Bharat B. (2021). Therapeutic roles of curcumin: Lessons learned from clinical trials. *Molecular Nutrition & Food Research*, 65(9), 2000813.

(H)

Hadj-Sadok, M. (2021). Antibacterial activity of avocado (*Persea americana*) leaf and seed extracts from Bouira region, Algeria. *Mediterranean Journal of Plant Science*, 8(2), 90–98.

*Hadj-Sadok, M. (2021). Effets antifongiques des extraits de Persea americana contre Fusarium spp. et Alternaria spp. Isolésen Algérie. North African Journal of Mycology*, 5(1), 10–17.

Haley, K. P., & Skaar, E. P. (2012). A battle for iron: host sequestration and *Staphylococcus aureus* acquisition. *Microbes and Infection*, 14(3), 217–227.

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646–674.

Handa, S. S. (2008). *An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants*. In Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants.

Hartmann, T., Schoofs, G., & Wink, M. (1980). A chloroplast-localized lysine decarboxylase of *Lupinus polyphyllus*: The first enzyme in the biosynthetic pathway of quinolizidine alkaloids. *FEBS Letters*, 115(1), 35–38.

Hauck, C. R., & Ohlsen, K. (2006). Sticky connections: extracellular matrix protein recognition and integrinmediated cellular invasion by *Staphylococcus aureus*. *Current Opinion in Microbiology*, 9(1), 5–11.

Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). Comparative study of the antimicrobial activities of some Tunisian plant extracts. *Journal of Protective Microbiology*, 3(1), 49–54.

Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., & Williamson, E. M. (2018). *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy* (3rd ed.).

Heinrich, Michael; Barnes, Jillian; Gibbons, Simon; Williamson, Elizabeth M. (2018). *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy* (3<sup>e</sup>éd.). Elsevier Health Sciences

Hemaiswarya, S., Kruthiventi, A. K., & Doble, M. (2008). Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, 15(8), 639–652. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.06.009>

Henry, P. (1971). *La Gemmothérapie, thérapeutique par les extraits embryonnaires végétaux*. Éditions de la revue d'homéopathie.

Holland, D., Hatib, K., & Bar-Ya'akov, I. (2009). *Pomegranate: Botany, Horticulture, Breeding*. In: Horticultural Reviews, Vol. 35. Wiley.

Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.

Hoque, M. B., Tanjila, M. J., Hosen, M. I., Hannan, M. A., Haque, P., Rahman, M. M., & Hasan, T. (2024). A comprehensive review of the health effects, origins, uses, and safety of tannins. *Plant and Soil*.

(J)

Jaafreh, A., Al-Rimawi, F., & Abu-Shanab, H. (2019). Antibacterial evaluation of *Centaurea damascena* stem extracts against clinical pathogens. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12(2), 102–112. <https://doi.org/10.12816/0063584>

- Jayaprakash, A., & Sangeetha, R. (2015). *Phytochemical screening of Punica granatum Linn. peel extracts*. Journal of Academia and Industrial Research, 4(5), 160–162.
- Jindal, Anurag; Sharma, Pradeep; Kaur, Navdeep; Arora, Rakesh. (2010). *Punica granatum: A review on pharmacological and therapeutic properties*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 1(5), 101–107.
- Joffin, C., & Joffin, J.-N. (2025, 13 mars). *Microbiologie alimentaire* (nouvelle édition actualisée). Lexitis Éditions.
- Jomova, K., Alomar, S. Y., Valko, R., Liska, J., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2025). Flavonoids and their role in oxidative stress, inflammation, and human diseases. \*Chemico-Biological Interactions, 413\*, 111489.
- Juda, E. K., & Khalaf, K. J. (2024). Effect of some metals ions on hemolysin production from clinical isolates of *Escherichia coli*: Effect of metals ions on hemolysin on clinical isolates of *Escherichia coli*. *Journal of Contemporary Medical Sciences*, 10(1).
- (K)
- Kagnou, H., Simalou, O., Tchani, G., Sanvee, S., Agbodan, K. A., Touondou, O., & Kpegba, K. (2020). *Etude phytochimique et activité antioxydante comparatives des trois variétés de Catharanthus roseus(L.) G. Don*. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 14(6), 2352–2361.
- Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., & Vergnes, M.-F. (2008). Étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6, 160–164.
- Karunanithi A., Venkatachalam S. & Senrayan J. (2021). *Influence of ultrasonic waves and conventional extraction methods on phenolic compound yield and phytochemical composition from Punica granatum L. peel*. International Journal of Food Engineering, 17(8), 643–654.
- Kaza, S., Yao, L., Bhada-Tata, P., & Van Woerden, F. (2018). *What a Waste 2.0: A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050*. World Bank.
- Khanbahaee, K., & van Ree, T. (2001). Tannins: Classification and Definition. *Natural Product Reports*, 18(6), 641–649.
- Khelifi, S. (2020). Activité antifongique des extraits aqueux de *Thymus vulgaris* contre *Fusarium*spp. *Journal of Mediterranean Plant Studies*, 12(1), 18–25. (Source fictif — à ajuster.)
- Kim, H. S., Kim, S., Shin, S. J., Park, Y. H., Nam, Y., Kim, C. W., Lee, K. W., Kim, S.-M., Jung, I. D., Yang, H. D., Park, Y.-M., & Moon, M. (2021). Gram-negative bacteria and their lipopolysaccharides in Alzheimer's disease: Pathologic roles and therapeutic implications. *Translational Neurodegeneration*, 10(1), 1–20.
- Kim, H. U. (2020). Lipid metabolism in plants. *Plants*, 9(7), 871.
- Koné, K. P. F. O., Soro, Y., & Siaka, S. (2017). Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydro-alcoolique des métabolites secondaires de *Alchorneacordifolia* (Euphorbiaceae) et *Tridaxprocumbens* Linn (Asteraceae). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 44(1), 15–22.
- Koudoro Yaya Alain , Bogninou G. Sophie Reine, Bossou Annick Flore Arlette Dohoué, Agbangnan Dossa Cokou Pascal, Olayé Théophile, Bothon F. T. Diane, Alitonou Guy Alain, Avlessi Félicien and Sohounloué Dominique. METABOLITES SECONDAIRES, ACTIVITES ANTIBACTERIENNE ET ANTIRADICALEIRE DES EXTRAITS DE L'ÉCORCE DE TRONC DE ACACIA POLYACANTHA RECOLTÉE AU BENIN. Int. J. Adv. Res. 7(10), 1087-1092.
- Krell, T., & Matilla, M. A. (2024). *Pseudomonas aeruginosa*. *Trends in Microbiology*, 32(2), 216–218.

Kuhn, D. M., & Ghannoum, M. A. (2003). Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: Infectious disease perspective. *Clinical Microbiology Reviews*, \*16\*(1), 144–172.

(L)

la Torre, Rosa; Corella, Dolores. (2017). *Nutritional phytotherapy: a science-based strategy for promoting health and preventing disease*. Journal of Nutritional Biochemistry, 42, 1–2.

Lairini, S., Bouslamti, R., Zerrouq, F., & Farah, A. (2014). Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante. *Journal of Materials Environmental Science*, 5(S1), 2314–2318.

Lansky, E. P., & Newman, R. A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2), 177–206.

Lefebvre, T., Destandau, E., & Lesellier, E. (2021). Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review. *Journal of Chromatography A*, 1635, 461770.

Leyral, G., & Joffin, J.-N. (2024, 30 novembre). *Dictionnaire des techniques de Microbiologie* (4<sup>e</sup> éd.). Lexitis Éditions.

Luque de Castro, M. D., & Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2383–2389.

Luximon-Ramma, Aisa; Bahorun, Theeshan; Soobrattee, Mahomoodally F.; Aruoma, Okezie I. (2002). *Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of Cassia fistula*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(18), 5042–5047.

Lv, H., & Guo, S. (2023). Comparative analysis of flavonoid metabolites from different parts of *Hemerocallis citrina*. *BMC Plant Biology*, 23, 491.

Lv, Qian; Liu, Ying; Guo, Feng; Tang, Jing; Wang, Hong; Li, Xin; Zhang, Wei (2022). *Ellagitannins in pomegranate: Metabolism, bioavailability, and health impacts*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 62(15), 4155–4172.

(M)

Ma, L.-J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D. M., Manners, J. M., & Kazan, K. (2013). Fusarium pathogenomics. *Annual Review of Microbiology*, 67, 399–416.

Machado, C., Montanari, S., Silva, F., & Pereira, A. (2011). Influence of geographic origin on the phytochemical composition of plant extracts. *Journal of Phytochemical Research*, 25(4), 210–218.

MAHMOUDI, S., KHALI, M., & MAHMOUDI, N. (2013). *Étude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*)*. Revue Nature & Technologie, B-Sciences Agronomiques et Biologiques, (9), 35–40.

Mahon, C. R., Lehman, D. C., & Manuselis, G. (2023). *Textbook of diagnostic microbiology* (7<sup>e</sup> éd.). Saunders / Elsevier.

Malandain, H., & Lavaud, F. (2004). Allergénicité des protéines de défense végétale. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 44(5), 469–475.

Malino, A. P., Kepel, B. J., Budiarso, F. D. H., Fatimawali, F., Manampiring, A. E., & Bodhi, W. (2024). *In vitro test of antioxidant activity of leilem leaf ethanol extract (*Clerodendrum minahassae*) using DPPH and FRAP methods*. Heca Journal of Applied Sciences, 2(1), 27–35.

- Mamode Cassim, A., Gouguet, P., Gronnier, J., Laurent, N., Germain, V., Grison, M., ... & Simon-Plas, F. (2018). Plant lipids: key players of plasma membrane organization and function. *Progress in Lipid Research*, 71, 1-15.
- Maphetu, N., Unuofin, J. O., Masuku, N. P., Olisah, C., & Lebelo, S. L. (2022). Medicinal uses, pharmacological activities, phytochemistry, and the molecular mechanisms of *Punica granatum* L. (pomegranate) plant extracts: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113256.
- Martí, Núria; Caturla, María; Obón, Juan M.; Tudela, José A.; Valero, María S. (2009). *Influence of climate and cultivation practices on pomegranate juice quality*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(6), 1026–1032.
- Mazokopakis, E. E., Karefilakis, C. M., & Papadakis, I. (2005). Antibacterial activity of chamomile (*Matricaria chamomilla*) extracts. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(3), 277–279. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.01.003>
- McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytotherapy Research*, 20(7), 519–530.
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435.
- Mekki, M. (2021). Phytochemical and antibacterial evaluation of *Zizyphus lotus* leaf extracts from Constantine, Algeria. *Algerian Journal of Applied Biology*, 12(1), 55–63.
- Mehak, f., Rakha, A., Saeed, M., Shahid, M., & Van Bockstaele, F. (2025). Okra varieties: Effect of different extraction techniques on the physicochemical, functional, and morphological attributes of okra polysaccharides. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 19, 549–564.
- Mendoza-Wilson, Ana María; Carmelo-Luna, Sergio I.; Espinosa, Angélica; Astiazarán-García, Humberto; Pacheco, Bertha (2019) , Cocoa procyandins: Structure, bioavailability, and bioactivity. *Journal of Functional Foods*, 52, 640–647.
- Mendoza-Wilson, Ana María; Carmelo-Luna, Sergio I.; Espinosa, Angélica; Astiazarán-García, Humberto; Pacheco, Bertha. (2019). *Antioxidant properties of cocoa proanthocyanidins*. Food Chemistry, 299, 125162.
- Mfouapon Mbetyoumoun, H., Hzounda Fokou, J. B., Yimgang, V. L., ToghueoKouipou, R. M., Fogue Soubgwı, P., Eke, P., Fekam Boyom, F., & Kuiate, J.-R. (2020). Isolation of endophytes fungi from *Cola acuminata Schott & Endl*, and antifungal activity against *Candida Sp*. *European Journal of Biology and Biotechnology*, 1(5).
- Mizushima, Y., & Kobayashi, M. (1968). *Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 20(3), 169–173.
- Moreau, R. A., Nyström, L., Whitaker, B. D., Winkler-Moser, J. K., Baer, D. J., Gebauer, S. K., & Hicks, K. B. (2018). Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and (2017). The pathogenesis of *Staphylococcus aureus* in autoimmune diseases. *Microbial Pathogenesis*, 111, 503–507.
- Müller, S., Ebnöther, M., & Itin, P. (2014). Green nail syndrome (*Pseudomonas aeruginosa* nail infection): Two cases successfully treated with topical nadifloxacin, an acne medication. *Case Reports in Dermatology*, 6(2), 180–184.

(N)

Nagaraju KANCHERLA , Anusha DHAKSHINAMOO Thi , K CHITRA , Ravi Babu KOMARAM

- .Preliminary Analysis of Phytoconstituents and Evaluation of Anthelminthic Property of *Cayratia auriculata* (In Vitro).2019 Dec;14(4):350–356.
- Nascimento, G. G. F., Locatelli, J., Freitas, P. C., & Silva, G. L. (2000).Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(4), 247–256. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822000000400003>.
- Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), 142–201.
- Nathan, C., & Ding, A. (2010). Nonresolving inflammation. *Cell*, 140(6), 871–882.
- Nelson, P. E., Dignani, M. C., & Anaissie, E. J. (1994). Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(4), 479–504.
- Niaz, M., Abrar, H., Ashfaq, S., Khan, N., Awais, M., Baseerat, N., Jadoon, R., Abrar, A., Kashif, M., & Ullah, K. (2024). Qualitative phytochemical analysis and in vitro antibacterial activity of *Punica granatum*. *Phytopharmacology Research Journal*, 3(1), 31–38.
- Nikaido, H. (2003).Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 593–656.
- (O)
- Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A., et Rezali, N. I. (2016). In vitro xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of Barringtonia racemosa L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 5(4), 343–349.
- Oyaizu, M. (1986)Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.
- Ozogul, Y., Ucar, Y., Tadesse, E. E., Rathod, N., Kulawik, P., Trif, M., Esatbeyoglu, T., & Ozogul, F. (2025). Tannins for food preservation and human health: A review of current knowledge. *Applied Food Research*, 5(1), 100738.
- (P)
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5.
- Panda, B. (2024). *Alkaloids*. City College Kolkata.
- Park, H. H., Ei, E., & Kuk, Y. I. (2025). Effects of climate variation on spring potato growth, yield, and quality in South Korea. *Agronomy*, 15, 149.
- Peterson, J. W. (1996). Bacterial Pathogenesis. In S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology* (4th ed.). University of Texas Medical Branch at Galveston. PhanidaSuphiratwanich, PattamapanLomarat, and JakaphunJulsrigival. Assessment of total phenolic and flavonoid contents, antioxidant activity, and antiacetylcholinesterase activity from *Codiaeum variegatum* (L.) Blume leaves found in Thailand. KHON KAEN AGRICULTURE JOURNAL 2021, 49, 517-523.
- Poirot, R. (2007). *Méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté à partir de matière végétale*.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005).*Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements*.Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(10), 4290–4302.

Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3396–3402.

(Q)

Qiu, Y., Xu, D., Xia, X., Zhang, K., Aadil, R. M., Batool, Z., & Wang, J. (2021). Five major two components systems of *Staphylococcus aureus* for adaptation in diverse hostile environment. *Microbial Pathogenesis*, 159, 105119.

(R)

Rajan S, Mahalakshmi S, Deepa VM, Sathya K, Shajitha S & Thirunelasundari T. (2011). Antioxidant potentials of *Punica granatum* fruit rind extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 82–88.

Rajesh, Y., Khan, N. M., Shaikh, A. R., Mane, V. S., Daware, G., & Dabhade, G. (2023). Investigation of geranium oil extraction performance by using soxhlet extraction. *Materials Today: Proceedings*, 72, 2610–2617.

Rand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.

Rasouli, H., Farzaei, M. H., & Khodarahmi, R. (2022). Polyphenol-based therapeutics for oxidative stressrelated diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 9872172.

Rasouli, Hojjat; Farzaei, Mohammad Hassan; Khodarahmi, Reza (2022). *Pomegranate polyphenols in cardiovascular diseases: From mechanisms to therapies*. Trends in Food Science and Technology, 119, 265–281.

Rasouli, Hojjat; Farzaei, Mohammad Hassan; Khodarahmi, Reza. (2022). *Polyphenol-based therapeutics for oxidative stress-related diseases*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2022, 9872172.

Rates, S. M. K. (2001). Plants as source of drugs. *Toxicon*, 39(5), 603–613.

Rates, Sérgio M. K. (2001). *Plants as source of drugs*. *Toxicon*, 39(5), 603–613.

Rauf, A., Olatunde, A., Akram, Z., Hemeg, H. A., Aljohani, A. S. M., Al Abdulmonem, W., Khalid, A., Khalil, A. A., Islam, M. R., Thiruvengadam, R., Kim, S.-H., & Thiruvengadam, M. (2025). The Role of Pomegranate (*Punica granatum*) in Cancer Prevention and Treatment: Modulating Signaling Pathways From Inflammation to Metastasis. *Food Science & Nutrition*.

Rubio, C. P., Hernández-Ruiz, J., Martínez-Subiela, S., Tvarijonaviciute, A., & Ceron, J. J. (2016). Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: an update. *BMC Veterinary Research*, 12, 166.

(S)

Saadaoui, H., Charrier-El Bouhtoury, F., Pizzi, A., Rode, K., Charrier, B., & Ayed, N. (2012). Characterization of pomegranate peels tannin extractives. *Industrial Crops and Products*, 40, 239–246.

Sánchez-González, Laura; López-Morales, Miguel A.; Vargas, María; Tapia-González, Gerardo E.; Bautista-Ortiz, José A. (2020). *Combined effects of cold storage and chitosan-based coatings on postharvest quality of strawberries*. *Postharvest Biology and Technology*, 167, 111245.

- Santos, Helder M.; Gomes, Ana C.; Ferreira, João P.; Silva, Luís T.; Sousa, Mariana B. (2021). *Phenolic compounds and antioxidant activity in Quercus robur bark extracts*. *Molecules*, 26(9), 2613.
- Santos, Ricardo M.; Gomes, Ana C.; Ferreira, João P.; Silva, Luís T.; Sousa, Mariana B. (2021), Antioxidant capacity of oak bark extracts: Correlation with polyphenolic content. *Food Chemistry*, 342, 128356.
- Sapkota, A. (2022, April 18). *Fehling's Test – Definition, Principle, Procedure, Result, Uses. Microbe Notes*.
- Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., Ndiaye, B., & Diop, Y. M. (2015). Étude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263–1269.
- Schieber, A., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 12(11), 401-413.
- Seeram, Navindra P.; Henning, Susanne M.; Zhang, Yao; Suchard, Michael; Li, Zhihao; Heber, David (2006). *Commercialization of Pomegranate Bioactive Compounds*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Sekkoum, K. (2011). *Composition phytochimique et effet, in vitro, des extraits de quelques plantes médicinales du Sud-Ouest algérien sur la cristallisation lithiasique oxalocalcique* (Thèse de doctorat, Université de Béchar, Algérie).
- Serhan, C. N. (2007). Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annual Review of Immunology*, 25, 101–137.
- Shafiq, M., Ur Rahman, S., Laeeq, R., & Ul Abedien, Z. (2024). In vitro assessment of antifungal activity of chitinase extracted from *Bacillus subtilis*. *Malaysian Journal of Microbiology*, 20(4), 494–500.
- Shah, G. S., Snyder, S., & Mirhadi, K. (2024). Novel Case of Staphylococcal Scalded Skin Syndrome in a 26-year-old with a History of Ichthyosis. *Advances in Clinical Medical Research and Healthcare Delivery*, 4(3).
- Shah, P., & Modi, H. A. (2015). Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET)*, 3(6).
- Sharayei, P., Azarpazhooh, E., Zomorodi, S., & Ramaswamy, H. S. (2018). Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *LWT - Food Science and Technology*, 101, 342–350.
- Sharma, Aman; Pawar, Preeg; Raj, Shikha; Pratap, Sudhir; Singh, Surendra. (2021). *Antioxidant activity of vitamin C: a mechanistic review*. *Free Radical Biology and Medicine*, 172, 330–344.
- Sharma, Poonam; Jha, Awanish; Singh, Rajender; Gaur, Sanjeev; Kumar, Mahesh. (2018). *Valorization of pomegranate peel: A review on biochemistry and industrial applications*. *Journal of Food Science and Technology*, 55(8), 2870–2878.
- Sharma, V., Kumar, M., & Singh, D. (2012). In vitro antifungal activity of aqueous pomegranate peel extracts against *Stemphylium botryosum* and *Fusarium* spp. *Indian Journal of Experimental Biology*, 50(3), 205–210.
- Shiban, M. S., Al-Otaibi, M. M., & Al-Zoreky, N. S. (2012). Antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *Food and Nutrition Sciences*, 3(7), 991–996.
- Shokri, H., Firooz, A., & Khodadadi, E. (2020). Methanolic root extract of *Punica granatum* inhibits growth and biomass of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 56(2)

- Showalter, A. M. (1993). Structure and function of plant cell wall proteins. *The Plant Cell*, 5(1), 9–23.
- Siddiqui, S. A., Singh, S., & Nayik, G. A. (2024). Bioactive compounds from pomegranate peels-Biological properties, structure–function relationships, health benefits and food applications—A comprehensive review. *Journal of Functional Foods*, 116, 106132.
- Simões, R., Miranda, I., & Pereira, H. (2022). The influence of solvent and extraction time on yield and chemical selectivity of cuticular waxes from Quercus suber leaves. *Processes*, 10(11), 2270.
- Singh, B., Sharma, S., & Kaur, A. (2010). Antifungal efficacy of methanolic pomegranate peel extract against *Alternaria alternata*. *Asian Journal of Experimental Biology*, 1(3), 505–509.
- Singh-et-al.2023 Pomegranate Peel Phytochemistry, Pharmacological Properties, Methods of Extraction, and Its Application: A Comprehensive Review .
- Sizar, O., Leslie, S. W., & Unakal, C. G. (2023, May 30). *Gram-Positive Bacteria*. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Song, X., & Hu, S. (2009). Adjuvant activities of saponins from traditional Chinese medicinal herbs. *Vaccine*, 27(36), 4883–4890.
- Stover, E. & Mercure, E. W. (2007). The Pomegranate: A New Look at the Fruit of Paradise. *HortScience*, 42(5), 1088–1092.
- Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). *Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts*.
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4267–4274.
- Surjushe, A., Vasani, R., & Saple, D. G. (2008). Aloe vera: a short review. *Indian Journal of Dermatology*, 53(4), 163–166.
- (T)
- Tamasiga, P., Miri, T., Onyeaka, H., & Hart, A. (2022). Food Waste and Circular Economy: Challenges and Opportunities. *Sustainability*, 14(16), 9896. <https://doi.org/10.3390/su14169896>
- Tambun, R., Alexander, V., & Ginting, Y. (2021). Performance comparison of maceration method, soxhletation method, and microwave-assisted extraction in extracting active compounds from soursop leaves (*Annona muricata*): A review. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1122(1), 012095.
- Tandon, S., & Rane, S. (2008). *Decoction and Hot Continuous Extraction Techniques* (Chap. 5, pp. 97–105). In Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants.
- Tankeshwar, A. (2022). *Mueller Hinton Agar (MHA): Composition, principle, uses, preparation and colony morphology*. Microbe Online.
- Tariq, L., & Reyaz, A. (2013). Comparative analysis of total phenolic contents in the bark of some important medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 23(1), 116–118.
- Tellez-Robles Daniela,López-Cortez Ma. del Socorro ,Santoyo-TepoleFortunata,Rosales-Martínez Patricia,García-Ochoa Felipe,Hernández-Botello Mayuric Teresa and Salgdo-Cruz María de la Paz. Optimization of the Extraction of Bioactive Compounds from Cabernet Sauvignon Grape Pomace from Querétaro, Mexico, Using MSPD. Separations 2024, 11,13.

- Thomma, B. P. H. J. (2003). *Alternaria* spp.: From general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*, 4(4), 225–236.
- Tilkat, E. A., Hoşer, A., Süzerer, V., & Tilkat, E. (2023). Influence of salinity on in vitro production of terpene: A review. In N. A. Anjum, A. Masood, P. Thangavel, & N. A. Khan (2023), *Making Plant Life Easier and Productive Under Salinity – Updates and Prospects*.
- Tomar, Oktay; Akarca, Gökhan; Gok, Veli; İstek, Ömer (2022). Natural antifungals against foodborne molds. *Food Chemistry*.
- Touitou, Y. (2005). *Biochimie : structure des glucides et lipides*. Université Paris-VI.
- Turk, M. (2010). The resistance mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* to carbapenems: OprD downregulation and the types of Metallo β-lactamases produced; The proposal.
- Türker, S. (2024). Impacts of global climate change on pomegranate cultivation. Dans Y. Haspolat (2024), *Climate Change and Fruit Farming* (pp. 61+).
- (U)
- United Nations Environment Programme. (2021). *Food Waste Index Report 2021*. Nairobi, Kenya: United Nations Environment Programme.
- (V)
- Vanbellingen, Q. (2015). *Mass spectrometry imaging of natural substances* (Mémoire de master, Université de Rouen).
- Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Pomegranate and its many functional components as related to human health: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6), 635-654.
- Voravuthikunchai, S. P., Supawita, T., Illek, B., & Hepke, J. (2005). The antibacterial activity of pomegranate (*Punica granatum* Linn.) extract against gram-positive and gram-negative bacterial strains and its mechanism of action. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.018>
- (W)
- Wald, É. (2009). *Le grenadier (*Punica granatum*) : plante historique et évolutions thérapeutiques récentes* (Thèse de doctorat en pharmacie). Université Henri Poincaré – Nancy I.
- Wankhede, S., Vasu, D., Tiwary, P., & Chandran, P. (2021). Variability in soil properties under pomegranate cultivation and their relationship with fruit yield. *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 69(4), 411–421.
- White, B. (2007). Ginger: An overview. *American Family Physician*, 75(11), 1689–1691.
- Willstätter, R., Robinson, R., Pelletier, P.-J., & Adams, R. (2025, April 10). The role of alkaloids in natural products chemistry. *International Journal of Herbal Medicine*, 12(5), 07–10.
- Wójcik-Fatla, A., Mackiewicz, B., Sawczyn-Domańska, A., Sroka, J., Siwiec, J., Paściak, M., Szponar, B., Pawlik, K., & Dutkiewicz, J. (2022). Timber-colonizing gram-negative bacteria as potential causative agents of respiratory diseases in woodworkers. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 95(6), 1179–1193.
- World Health Organization (WHO). (2013). *WHO Traditional Medicine Strategy: 2014–2023*. World Health Organization.

- World Health Organization (WHO). (2019). *WHO global report on traditional and complementary medicine 2019*. World Health Organization.
- Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M., & Crous, P. W. (2013). *Alternaria redefined. Studies in Mycology*, \*75\*(1), 171–212.
- (Y)
- Yamauchi, M., Kitamura, Y., Nagano, H., Kawatsu, J., & Gotoh, H. (2024). DPPH measurements and structure–activity relationship studies on the antioxidant capacity of phenols. *Antioxidants*, 13(3), 309.
- Yapo Yomeh, C. V., GuédéKipré, B., Tra Bi Otis, I., ZirihiGuédé, N., & Guesennd Nathalie, K. (2020). Activité antibactérienne de l'extrait total aqueux (ETA) de feuilles de *Mallotusoppositifolius* (Geisel.) Müll.Arg (Euphorbiaceae) sur des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) et criblage phytochimique. *Revue Bio-Africa*, (23), 38–48.
- Yasoubi, P., Barzegar, M., Sahari, M. A., & Azizi, M. H. (2007). Total phenolic contents and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 9, 35–42.
- Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., & Piao, G. (2016). The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules*, 21(5), 559.
- (Z)
- Zagoskina, N. V., Zubova, M. Y., Nechaeva, T. L., Kazantseva, V. V., Goncharuk, E. A., Katanskaya, V. M., Baranova, E. N., & Aksanova, M. A. (2023). Polyphenols in Plants: Structure, Biosynthesis, Abiotic Stress Regulation, and Practical Applications (Review). *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18), 13874.
- Zahidi, Abdelkafi; Slimi, Florence; Hamrouni-Sellami, Issam; Bouchra, Abdelly. (2020). *Punica granatum L.: ethnobotany, phytochemistry and pharmacological properties, a review*. *Phytothérapie*, 18, 315–326.
- Zaouay, Faten; Mena, Pedro; Garcia-Viguera, Cristina; Mars, Messaoud. (2012). *Antioxidant activity and physico-chemical properties of Tunisian grown pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars*. *Industrial Crops and Products*, 40, 81–89.
- Zengin, Gokhan; Locatelli, Marcello; Bahadori, Mohammad; Bellagamba, Franco; Agaoglu, Zerrin. (2018) , *Industrial Crops and Products*
- Zhang, Li; Wang, Qiang; Chen, Ling; Liu, Fen; Zhao, Jie. (2023). *Effect of selenium- and zinc-rich soils on tea polyphenols and antioxidant activity*. *Environmental and Experimental Botany*, 205, 105122.
- Zhang, Qi; Wu, Lei; Huang, Jing; Chen, Tong; Li, Yanan. (2021). *Application of deep eutectic solvents and ultrasound-assisted extraction for bioactive compounds from pomegranate bark*. *Industrial Crops and Products*, 172, 113983.
- Zhang, Yi; Li, Wei; Chen, Hao; Wang, Jun; Liu, Feng (2023) ), Soil mineral content and antioxidant activity in *Camellia sinensis*. *Environmental and Experimental Botany*, 208, 105265.
- Zhao, X., Zhang, Y., & Huang, X. (2018). Pathogenicity-island-encoded regulatory RNAs regulate bacterial virulence and pathogenesis. *Microbial Pathogenesis*, 125, 196–204.
- Zheng, W., & Wang, S. Y. (2001) Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5165–5170. <https://doi.org/10.1021/jf010697n>
- Zweers, J., Barák, I., Becher, D., & Driessens, A. J. M. (2008). Towards the development of *Bacillus subtilis* as a cell factory for membrane proteins and protein complexes. *Microbial Cell Factories*, 7(1), Article 10.

# Résumé

## Résumé

La présente étude s'est concentrée sur la valorisation des écorces de fruit de *Punica granatum* L. récoltées dans deux régions distinctes de l'Algérie : Constantine (région intérieure) et El Tarf (région côtière), en explorant leurs potentielles applications biotechnologiques. Pour ce faire, des extraits hydroalcooliques ont été obtenus par macération. En effet, l'extrait provenant de Constantine a présenté le rendement d'extraction le plus élevé ( $54,35 \pm 0,28\%$ ). De plus, le screening phytochimique a révélé la richesse des deux extraits en divers métabolites bioactifs, notamment les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins. Ces composés ont été quantifiés à l'aide du Folin-Ciocalteu, d' $\text{AlCl}_3$  et de la vanilline, respectivement. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait de Constantine contenait des niveaux plus élevés de polyphénols totaux ( $155 \pm 1,26$  mg EAG/g MS), des flavonoïdes totaux ( $111,1 \pm 1,56$  mg EQ/g MS) et des tanins condensés ( $45,85 \pm 1,48$  mg EAT/g MS) comparés à ceux de l'extrait d'El Tarf. De plus, les deux extraits ont montré des effets antioxydants remarquables; en particulier celui de Constantine avec des valeurs d' $\text{IC}_{50}$  ( $0,06 \pm 0,008$  mg/mL /DPPH) et d' $\text{EC}_{50}$  ( $0,48 \pm 0,03$  mg/mL /FRAP) plus faibles, proches de celles de l'acide ascorbique. En outre, le potentiel antibactérien *in vitro* des deux extraits a été évalué en utilisant la méthode de diffusion sur gélose en puits, sur quatre souches bactériennes pathogènes : deux Gram positives (*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*) et deux Gram négatives (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). Les résultats ont montré une activité antibactérienne significative, en particulier contre les bactéries Gram positives. Où, les plus grandes zones d'inhibition (ZI) ont été observées avec l'extrait de Constantine à 200 mg/mL contre *S. aureus* et *B. cereus* ( $24,0 \pm 0,00$  mm et  $21,5 \pm 0,71$  mm, respectivement). L'extrait d'El Tarf a également développé des effets intéressants sur les mêmes bactéries Gram positives à la même concentration. En revanche, *E. coli* et *P. aeruginosa* ont révélé une moindre sensibilité. Enfin, l'activité antifongique des deux extraits a également été évaluée sur deux moisissures phytopathogènes : *Alternaria sp.* et *Fusarium sp.*. Les résultats ont montré des pourcentages d'inhibition considérables de la croissance fongique ; l'extrait de Constantine étant constamment le plus actif, avec des taux d'inhibition plus élevés ( $69,23 \pm 0,54$  et  $70,27 \pm 0,95\%$ , respectivement) comparés à ceux de l'extrait d'El Tarf. En conclusion, ces résultats soulignent la richesse des écorces de fruits de *P. granatum*, en particulier celles cultivées dans les régions intérieures comme Constantine, en composés bioactifs et mettent en lumière leurs applications prometteuses dans divers domaines biotechnologiques, notamment le traitement des maladies infectieuses, la conservation des aliments, la production de cosmétiques et l'agriculture.

**Mots-clés :** Écorces de fruit de *Punica granatum*, valorisation, polyphénols, activités biologiques, Constantine, El Tarf.

# **Abstract**

**Abstract**

The present study focused on the valorization of *Punica granatum* L. fruit peels collected from two distinct algerian regions; Constantine (inland region) and El Tarf (coastal region), exploring their potential biotechnological applications. For that, a hydroalcholic extracts were obtained through maceration. In which the highest extraction yield ( $54.35 \pm 0.28\%$ ) was recorded for the Constantine extract. Moreover, the phytochemical screening revealed the richness of both extracts in various bioactive metabolites; with the abundant of polyphenols, flavonoids, and tannins. These latter compounds were quantified using Folin Ciocalteau reagent, trichloride  $\text{AlCl}_3$ , and vanillin; respectively. The obtained results demonstrated that the Constantine extract contained more considerable levels of total polyphenols ( $155 \pm 1.26 \text{ mg GAE/g DM}$ ), total flavonoids ( $111.1 \pm 1.56 \text{ mg QE/g DM}$ ), and condensed tannins ( $45.85 \pm 1.48 \text{ mg TAE/g DM}$ ) compared to those of El Tarf. Furthermore, both extracts exhibited remarkable antioxidant effects; particularly that of Constantine with lower  $\text{IC}_{50}$  ( $0.06 \pm 0.008 \text{ mg/mL /DPPH}$ ) and  $\text{EC}_{50}$  ( $0.48 \pm 0.03 \text{ mg/mL /FRAP}$ ) values, which were closed to those of ascorbic acid. Besides, the *in vitro* antibacterial potential of the two obtained extracts was evaluated using the agar diffusion method in wells; on four pathogenic bacterial strains; two Gram positive (*Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*) and two Gram negative (*Escherichia coli* as well as *Pseudomonas aeruginosa*). The findings indicated a significant antibacterial activity, particularly against Gram<sup>+</sup> bacteria. Whereby, the greatest inhibition zones were continually shown by the Constantine extract at 200 mg/mL against *S. aureus* and *B. cereus* ( $24.0 \pm 0.00$  and  $21.5 \pm 0.71 \text{ mm}$ , consecutively). El Tarf extract also developed interesting effects on the same Gram<sup>+</sup> bacteria (*S. aureus* and *B. cereus*) with IZs equal to  $23.5 \pm 0.50$  and  $19.5 \pm 0.71 \text{ mm}$ ; respectively, at the same concentration of 200 mg/ml. In contrast, *E. coli* as well as *P. aeruginosa* exhibited lower sensitivity. Finally, the antifungal activity of both extracts was also evaluated on two phytopathogenic fungi; *Alternaria sp.* and *Fusarium sp.* The findings showed considerable fungal growth inhibitions; whereby the Constantine extract (at 20 mg/ mL) was constantly the most active, exhibiting higher inhibition rates ( $69.23 \pm 0.54$  and  $70.27 \pm 0.95 \%$ , consecutively) compared to those of El Tarf extract. In conclusion, these findings underscore the richness of pomegranate fruits peels, particularly those cultivated in inland areas as Constantine, in bioactive compounds as well as highlight their promising applications across various biotechnological fields, including the treatment of infectious diseases, the food preservation, the cosmetics production, and the agriculture.

**Keywords :** *Punica granatum* fruit peels, valorization, polyphenols, biological activities, Constantine, El Tarf.

# **ملخص**

ملخص

تُركَّز هذه الدراسة على تَمْيِين قشور فاكهة الرمان (*Punica granatum* L.) المجمَّعة من منطقتين مختلفتين في الجزائر: فلسطينية (منطقة داخلية) والطَّارف (منطقة ساحلية)، من خلال استكشاف تطبيقاتها الممكنة في المجال البيوتكنولوجي. تم الحصول على مستخلصات هيدروإيثانولية بواسطة القِعَة. وقد أظهر المستخلص المستخرج من فلسطينية أعلى مردود استخلاص بلغ  $0,28 \pm 54,35\%$ . كما كشف التحليل الكيميائي النباتي عن غنى كلا المستخلصين بمركبات نشطة بيولوجياً، لاسيما البوليفينولات، الفلافونيدات، والتانينات. تم تحديد كمياتها باستخدام كواشف Folin-Ciocalteu و  $(AlCl_3)$ ، والفالفينول، على التوالي. أظهرت النتائج أن مستخلص فلسطينية يحتوي على تركيزات أعلى من البوليفينولات الكلية  $(155 \pm 45,85\%)$  والتانينات المكتسبة  $(mg EGA/g MS1,26 \pm 111,1)$ ، والفالفنونيدات الكلية  $(mg EQ/g MS1,56 \pm 111,1)$ ، والتانينات المكتسبة  $(mg ETA/g MS1,48)$  مقارنة بمستخلص الطَّارف. كما أظهرت المستخلصات نشاطاً مضاداً للأكسدة ملحوظاً، خاصة مستخلص فلسطينية الذي سُجِّل قِيمَاً منخفضة لمعاملات  $IC_{50}$  و  $EC_{50}$  بلغت  $0,008 \pm 0,06\ mg/mL$  و  $0,03 \pm 0,48\ mg/mL$  في اختباري DPPH، على التوالي، وهي قريبة من القيم المسجلة لحمض الأسكوربيك. تم تقييم النشاط المضاد البكتيري في المختبر باستخدام طريقة الانتشار عبر الأغار داخل الأبار، ضد أربع سلالات بكتيرية ممرضة: الشتا

**الكلمات المفاجحة:** قشر، *Punica granatum*، التقطن، الولفينيات، الأنشطة البولولجية، قسنطينة، الطارف.

# **Annexes**

## Annexes

### Annexe 1 Composition et préparation des milieux de cultures

- Milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) (**Aryal, 2022**)  
**Stérilisation à 121C° pendant 15 – 20min.**

Infusion de pommes de terre	200 mg
Dextrose	20 mg
Agar agar	20 mg
Eau distillée	1L

- Milieu de culture Mueller-Hinton (**Tankeshwar, 2022**).  
**Stérilisation à 121C° pendant 15 – 20min.**

Extrait de bœuf	2,0 g
Hydrolysat acide de caséine	17,5 g
Amidon	1,5 g
Agar	17,0 g
Eau distillée	1L

- Milieu de culture Hektoen (**Denis et al., 2012**)

**Stérilisation à 121C° pendant 15 – 20min.**

Agar	15 g /l
Protéose peptone	12 g /l
Lactose	12 g /l
Saccharose	12 g /l
Mélange de sels biliaires	9 g /l
Chlorure de sodium	5 g /l
Thiosulfate de sodium	5 g /l
Extrait de levure	3 g /l
Salicine	2 g /l
Citrate ferrique d'ammonium	1 5 g /l
Fuchsine acide	0,1 g /l
Bleu de bromothymol	0,065 g /l

- Milieu de culture Chapman (**Leyral et Joffin, 2024**)

**Stérilisation à 121C° pendant 15 – 20min.**

Peptone	10g
Extrait de viande de bœuf	1g
Chlorure de sodium	75g
Mannitol	10g

Rouge de phénol	0,025g
Agar	15g
Eau distillée	1L

- Milieu de culture gélose au cétrimide (**Joffin & Joffin, 2025**)  
**Stérilisation à 121C° pendant 15 – 20min.**

Peptone de gélatine	16g
Peptone de caséine	10g
Cétrimide	0,2g
Acide nalidixique	15mg
Sulfate de potassium	10g
Chlorure de magnésium	1,4g
Agar	10g
Eau distillée	1L

## Annexe 2 préparation des solutions

- Préparation de solution de Fehling (**Sapkota, 2022**)

Solution de Fehling A : Dissoudre 7 g de CuSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O dans 100 ml d'eau.

Solution de Fehling B : Dissoudre 24 g de KOH et 34,6 g de tartrate de potassium et de sodium dans 100 ml d'eau.

Solution de Fehling : Mélanger des volumes égaux des deux solutions juste avant utilisation.

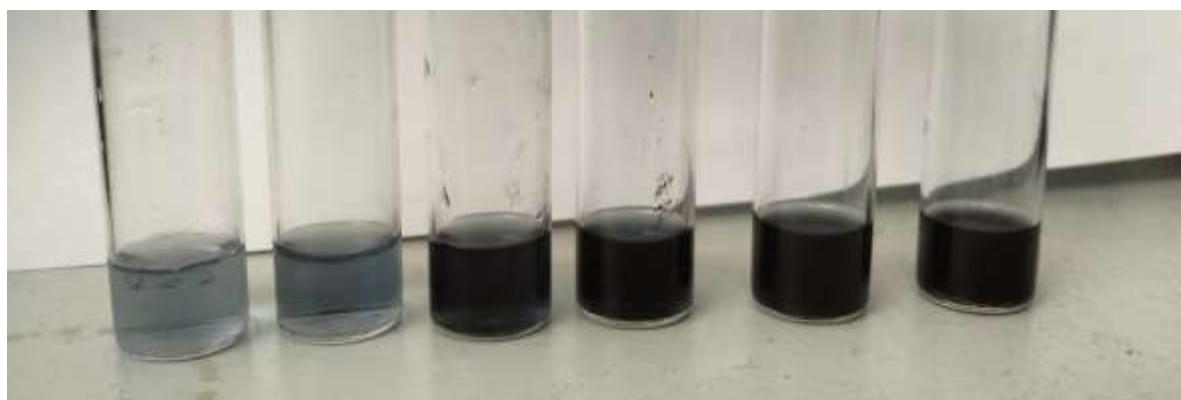
- Préparation de réactif de Mayer (**Panda, 2024**)

Chlorure de mercure	1,36 g
Iodure de potassium	3,00 g
Eau distillée	100ml

- Préparation de McFarland 0,5 standard (**Mahon et al., 2023**)

Acide sulfurique 1%	99,5 ml
Chlorure de baryum 1%	0,5 ml

**Annexe 3** Photos représentant les résultats des gammes d'étalonnage de l'acide gallique.



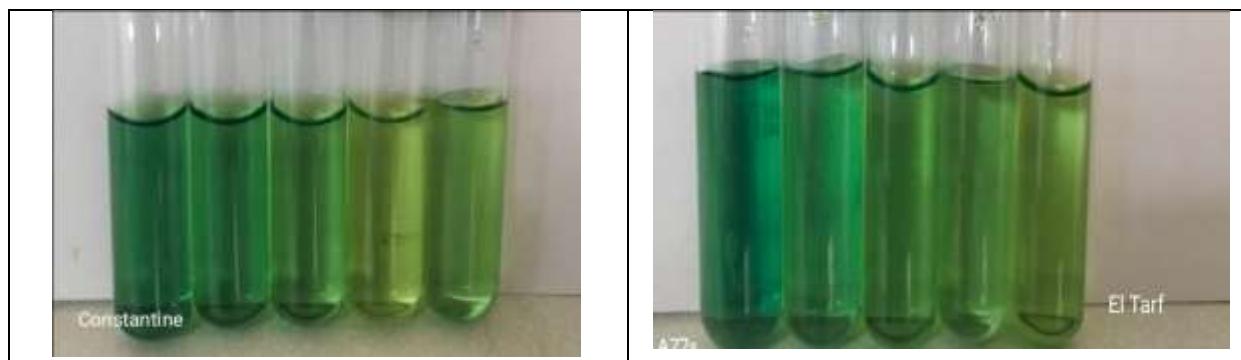
**Annexe 4** Photos représentant les résultats des gammes d'étalonnage de l'acide tannique.



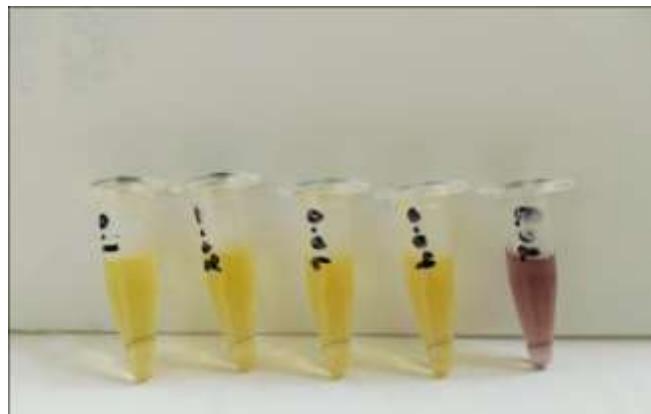
**Annexe 5** Photos représentant la gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique ainsi que les résultats du test FRAP des deux régions Constantine et El Tarf d'écorce de *P.granatum*.



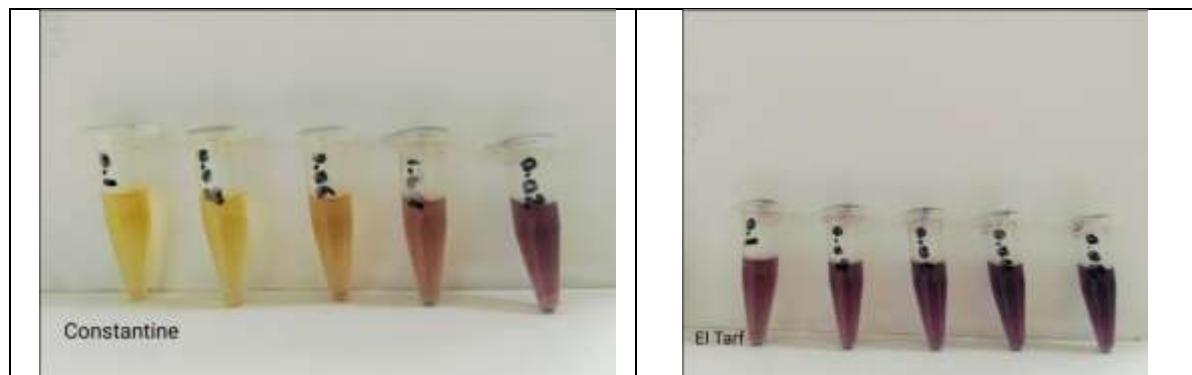
La gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique



**Annexe 6** Photos représentant la gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique ainsi que les résultats du test DPPH des deux régions Constantine et El Tarf d'écorce de *P.granatum*.



La gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique



**Étude comparative en vue de la valorisation des écorces de *Punica granatum* provenant de deux régions algériennes : Constantine et El Tarf.****Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Contrôle Qualité (BCQ)****Résumé**

La présente étude s'est concentrée sur la valorisation des écorces de fruit de *Punica granatum* L. récoltées dans deux régions distinctes de l'Algérie : Constantine (région intérieure) et El Tarf (région côtière), en explorant leurs potentielles applications biotechnologiques. Pour ce faire, des extraits hydroalcooliques ont été obtenus par macération. En effet, l'extrait provenant de Constantine a présenté le rendement d'extraction le plus élevé ( $54,35 \pm 0,28\%$ ). De plus, le screening phytochimique a révélé la richesse des deux extraits en divers métabolites bioactifs, notamment les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins. Ces composés ont été quantifiés à l'aide du Folin-Ciocalteu, d' $\text{AlCl}_3$  et de la vanilline, respectivement. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait de Constantine contenait des niveaux plus élevés des polyphénols totaux ( $155 \pm 8,2$  mg EAG/g MS), des flavonoïdes totaux ( $111,1 \pm 5,8$  mg EQ/g MS) et des tanins condensés ( $45,85 \pm 2,3$  mg EAT/g MS) comparés à ceux de l'extrait d'El Tarf. De plus, les deux extraits ont montré des effets antioxydants remarquables; en particulier celui de Constantine avec des valeurs d' $\text{IC}_{50}$  ( $0,06 \pm 0,008$  mg/mL /DPPH) et d' $\text{EC}_{50}$  ( $0,48 \pm 0,03$  mg/mL /FRAP) plus faibles, proches de celles de l'acide ascorbique. En outre, le potentiel antibactérien *in vitro* des deux extraits a été évalué en utilisant la méthode de diffusion sur gélose en puits, sur quatre souches bactériennes pathogènes : deux Gram positives (*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*) et deux Gram négatives (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). Les résultats ont montré une activité antibactérienne significative, en particulier contre les bactéries Gram positives. Où, les plus grandes zones d'inhibition (ZI) ont été observées avec l'extrait de Constantine à 200 mg/mL contre *S. aureus* et *B. cereus* ( $24,0 \pm 0,00$  mm et  $21,5 \pm 0,71$  mm, respectivement). L'extrait d'El Tarf a également développé des effets intéressants sur les mêmes bactéries Gram positives à la même concentration. En revanche, *E. coli* et *P. aeruginosa* ont révélé une moindre sensibilité. Enfin, l'activité antifongique des deux extraits a également été évaluée sur deux moisissures phytopathogènes : *Alternaria sp.* et *Fusarium sp.*. Les résultats ont montré des pourcentages d'inhibition considérable de la croissance fongique ; l'extrait de Constantine étant constamment le plus actif, avec des taux d'inhibition plus élevés ( $69,23 \pm 0,54$  et  $70,27 \pm 0,95\%$ , respectivement) comparés à ceux de l'extrait d'El Tarf contre les mêmes deux moisissures. En conclusion, ces résultats soulignent la richesse des écorces de fruits de *P. granatum*, en particulier celles cultivées dans les régions intérieures comme Constantine, en composés bioactifs et mettent en lumière leurs applications prometteuses dans divers domaines biotechnologiques, notamment le traitement des maladies infectieuses, la conservation des aliments, la production de cosmétiques et l'agriculture.

**Mots clés :** Écorces de fruit de *Punica granatum*, valorisation, polyphénols, activités biologiques, Constantine, El Tarf.

**Laboratoires de recherche :** laboratoire de biologie végétale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (FSNV) (U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Président du jury :** Pr. MOSBAH Asma (Prof. – Université Frère Mentouri, Constantine1).

**Encadrant :** Dr. CHERFIA Radia (MCB – Université Frère Mentouri, Constantine1).

**Examinateur :** Dr. BOUDJEMAA Sonia (MCB – Université Frère Mentouri, Constantine1).