



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Agronomiques

# MÉMOIRE DE MASTER

Science de la Nature et de la Vie  
Sciences Agronomiques  
Production végétal

Réf. : .....

---

Présenté et soutenu par : **Miloud Romaïssa**

Le :Jeudi 04 Juillet 2019

## **Contribution à la valorisation d'une plante médicinale de grenadier ( *Punica granatum L*) de la région de Biskra**

---

### **Jury**

M. Achoura Ammar	MCA Université de Biskra	Président
Mme. Ben Issa Kaltoum	MCB Université de Biskra	Rapporteur
M. Bachar Mohamed Farouk	MCA Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

# Remerciements

***Louanges à Dieu, seigneur de l'univers qui nous a comblé de sa miséricorde jusqu'à la réalisation de ce modeste travail.***

***Et J'exprime mes profonds remerciements Mme Bennissa Kaltoume mon encadreur pour avoir d'abord proposé ce thème, pour suivi continuel tout le Long de la réalisation de ce mémoire, et qui n'a pas cessé de nous donner ses conseils et remarques***

***Je sincère remercie aux messieurs les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous font en participant au jugement de ce travail.***

***J'exprime notre profonde gratitude, et expressions de reconnaissance à nos enseignants du département d'agronomie des Sciences de Nature et de la Vie, merci de votre aide et vos conseils précieux le long de notre cycle d'étude.***

***Je remercie sincèrement l'étudiante Sekkal Soumia de m'avoir aidé à accomplir ce modeste travail.***

***Mes remerciements à tous les techniciens de laboratoires du département d'agronomie et biologie pour leur contributions à notre réussite au terme de ce modeste travail.***



# Dédicace

*A l'aide de dieu tout puissant, qui ma tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma chère mère Zaheira qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Sans toi rien n'aurait été possible, que Dieu puisse te préserver t'accorder te donner la santé, longue vie inchallah.*

*A mes très chères frères : Mounir et Dido, Merci pour votre soutien moral.*

*A mes cher soeurs : Sabrina, Raihana*

*A mon agréable ami le plus cher et adorable : mon fiancée qui ma encouragé pendant tous mes études*

*A mes chers amies : Marwa et Amina*

*A mes amis d'étude que j'ai passé avec eux les moments agréables : Safa .Nassima .Zahra ,Imane,*

*Merci pour votre soutien et votre présence à mes cotés*

*Sans oublier mes collègues de la promotion 2018/2019, Master*

MILOUD ROMAÏSSA



## *Liste des figures*

<b>Figure .1.</b> Arbres du grenadier .....	7
<b>Figure .2.</b> Fleurs et fruits du Grenadier ( <i>Punica granatum L</i> ) .....	9
<b>Figure .3.</b> Maladies taritées par <i>Punica granatum</i> .....	12
<b>Figure .4.</b> Répartition de la production mondiale de grenade .....	15
<b>Figure .5.</b> Répartition de la production mondiale des huiles essentielles selon les espèses ....	20
<b>Figure .6.</b> Montre Attraction des pollinisateurs.....	21
<b>Figure .7.</b> Compétition entre les plantes pour la germination et croissance .....	22
<b>Figure .8.</b> Montre la protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores .....	22
<b>Figure .9.</b> Région de Biskra .....	26
<b>Figure .10.</b> Écorce séchée .....	27
<b>Figure .11.</b> Racines séchées .....	27
<b>Figure .12.</b> Broyage l'écorce.....	27
<b>Figure .13.</b> Etapes de l'extraction aqueuse .....	28
<b>Figure .14.</b> Evaporation rotative (Rotavapor) .....	29
<b>Figure .15.</b> Protocole de préparation d'extrait méthanolique par macération .....	30
<b>Figure .16.</b> Teste phytochimie du l'écorce .....	34
<b>Figure .17.</b> Teste phytochimie des racines.....	35
<b>Figure .18.</b> Rendement des extraites.....	37
<b>Figure .19.</b> Différents extraits de <i>Punica granatum</i> .....	38

## ***Liste des tableaux***

<b>Tableau .1.</b> Classification botanique du grenadier .....	8
<b>Tableau .2.</b> Principes actifs de Chaque partie du grenadier.....	12
<b>Tableau .3.</b> Résultat du teste phytochimique du écorces de <i>Punica granatum</i> .....	34
<b>Tableau .4.</b> Résultats des tests phytochimiques des racines de Punica granatum.....	35
<b>Tableau .5.</b> Aspects, couleurs et rendements des extraits bruts de plante étudiée .....	37

## *Liste des abréviations*

<b>C°</b>	Dégré Celsius
<b>Cm</b>	Centimètre
<b>Et al.</b>	Et autre auteurs
<b>g</b>	Gramme
<b>H</b>	Heure
<b>H.E</b>	Huiles essentielles
<b>I. T. D. A.S</b>	Institut Technique du Développement de l'Agriculture Sahariennes.
<b>INRAA</b>	Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie
<b>l</b>	Millilitre
<b>min</b>	Minutes
<b>RPM</b>	Rotation Par Minute
<b>VIH</b>	Virus de l'immunodéficience humaine
<b>%</b>	Pourcentage

# Sommaire

Dédicace	
Remerciements	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction .....	1

## **Premier partie : Etude Bibliographique**

### **Chapitre I : Les plantes médicinales**

1- Définition des plantes médicinales .....	5
1.2.Utilisation.....	5
2. Cueillettes et conservation .....	5
2.1. Cueillettes.....	5
2.2. Séchage .....	6
2.3.Conservation et stockage .....	6
3.Plantes médicinales en Algérie .....	7
4. Définition La famille des Lythraceae .....	7
5.Punica granatum L (le grenadier).....	7
5.1.Origine du nom .....	7
5.2.Description botanique .....	7
5.3.Classification botanique.....	8
5.4.Distribution géographique.....	8
5.5.Les composants biologiques de grenade et leur composition chimiques .....	9
5.6.Proprieties thérapeutiques de Punica granatum.....	12

5.6.1.Principes actifs du grenadier .....	12
5.6.2.Activités thérapeutiques du grenadier.....	12
5.7. Le grenadier en Algérie .....	13
5.8.La culture du grenadier. ....	13
5.8.1.Les exigences de milieu .....	13
5.8.1.1.Conditions climatiques.....	13
5.8.1.2.Le sol.....	13
5.8.1.3.L'eau .....	13
5.8.2.La Multiplication .....	14
5.8.3.Soins culturaux. ....	14
5.8.3.1.Entretien régulier .....	14
5.8.3.2.Engrais .....	14
5.8.4.La fructification et la récolte des fruits .....	14
5.8.4.1.La fructification .....	14
5.8.4.2.La récolte des fruits.....	14
5.8.5.Rendement.....	14
5.8.6.Conservation.....	15
5.8.7.Production de la grenade.....	15
5.8.8..Répartition de la production mondiale de grenade.....	15
5.8.9.Maladies traitées par Punica granatum .....	15

## **Chapitre II : Métabolites secondaires**

1- Définition des plantes médicinales .....	17
1.1.Métabolites primaires .....	17
1.2.Métabolites secondaire.....	17
2.Classification des métabolites secondaires .....	18
2.1.Les composés phénoliques.....	18



2.2. Les terpenoïdes .....	18
2.3. Les alcaloïdes .....	19
2.4.les huiles essentielles .....	19
2.4.1.Définition .....	19
2.4.2.L'aromathérapie.....	19
2.4.3.Production des huile essentielles .....	20
2.4.6.Propriétés physico-chimiques.....	20
3.Fonctions pour la plante.....	21
3.1.La coopération avec les animaux .....	21
3.2.Lutte contre la compétition avec d'autres plantes .....	21
3.3.Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores .....	22
4.Rôle pour l'Homme .....	22
4.1.Utilisation en médecine.....	23
4.2.En Agriculture .....	23
4.3.En alimentation.....	23
4.4.En cosmétique .....	23

## **Deuxième partie :Parti expérimentale**

### **Chapitre III : Matériels et méthodes**

1.Matériel végétal.....	26
1.2.Traitements des échantillons .....	26
1.2.1.Séchage .....	26
1.2.2.Broyage .....	27
2.Méthodes.....	27
2.1.Extraction de métabolites.....	27
2.1.1.Extraction aqueux .....	27
2.2.La macération de la matière végétale .....	28
2.2.1. Extraction brute avec le solvant méthanol .....	28

2.2.2. Extraction brute avec le solvant chloroforme .....	29
2.3.Evaporation .....	29
3.Etude phytochimique de Punica granatum .....	30
3.1.Teste des tanins.....	30
3.2.Teste des saponisides .....	31
3.3.Teste des flavonoïdes.....	31
3.4.Teste des anthocyanes.....	31
3.5.Teste des stérols non saturés et terpènes.....	31
3.6.Test des alcaloïdes .....	31
4.Calcul du rendement de l'extraction.....	31

## **Chapitre IV : Résultats et discussion**

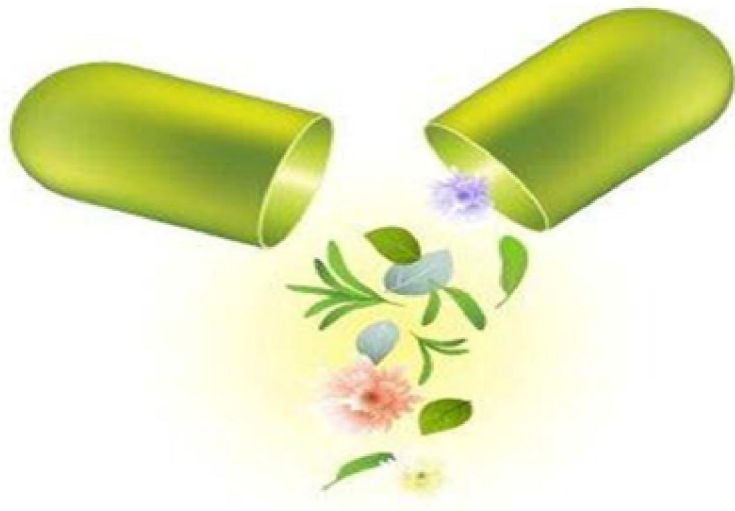
1.Extraction des métabolites secondaires .....	33
1.1.Teste phytochimique.....	33
1.1.1.L'écorce.....	34
1.1.2.Les racines.....	35
2.Rendements des extraits bruts en composés phénoliques.....	37
Conclusion .....	40
Références bibliographiques.....	42

Annexes

Résumé

# Introduction

## Introduction



Les plantes s'imposent sur la planète par leur aspect, leur exubérance et leur mystère. Depuis les temps les plus reculés l'homme a cherché un moyen d'assouvir sa faim. Il a trouvé chez les végétaux des aliments nourrissants, mais aussi des remèdes à ses maux et il a appris à ses dépens à discerner les plantes toxiques. Ces connaissances, transmises d'abord oralement, l'ont ensuite été dans les écrits et il subsiste des traces de l'emploi des plantes comme médicaments par les Anciens dans les plus vieilles civilisations. **(Ghabrier, 2010).**

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mise au profit dans l'alimentation, comestibilité et pharmacie, parmi ces composés on trouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapie. C'est pour cela que l'industrie pharmaceutique se tourne vers la nature et a entrepris une vaste étude seule terrain pour un répertoire des plantes les plus prometteuses parce qu'il est nécessaire aujourd'hui de valider l'usage traditionnel de ces plantes et d'évaluer scientifiquement leurs activités pharmacologiques retenus. **(Bohrom, 1997).**

Les plantes médicinales sont employées en nature ou sont utilisées comme matières premières pour l'extraction de principes actifs. Elle peuvent servir de modèles pour la synthèse.les molécules naturelles peuvent aussi être retouchées par l'homme pour être amélioré. La découverte de nouvelles propriétés pharmacologiques et l'extraction de nouveaux principes actifs(huiles essentielle, flavonoïdes, composés phénoliques, alcaloïdes, hétérosides...). contribuent au développement de la médecine par les plantes. Ces découvertes ont montré qu'ils avaient de nombreuses possibilités thérapeutiques dans le règne végétal. **(Saihi Razika, 2011).**

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

Depuis ces dernières années, une grande attention est accordée aux bienfaits de la consommation régulière des fruits et légumes sur la santé humaine. Cette valeur nutritive réside dans la grande variété de molécules biologiquement actives (fibres, caroténoïdes, composés phénoliques, vitamines...)**(Tomas-Barberan And Gil. Spain 2008).**

La grenade est l'un des produits les plus riches en antioxydants notamment les polyphénols solubles, les tanins et les anthocyanes (**Gil et al., 2000**).

C'est pour ces raisons que la culture du grenadier connaît un regain d'intérêt dans plusieurs pays en raison d'une demande assez forte de ces fruits sur le marché. La grenade, très anciennement connue dans le monde, est considérée comme un symbole de beauté et de fertilité. Il existe plus de 1000 cultivars de *Punica granatum*, originaires du Moyen-Orient, de la région méditerranéenne, de l'Est de la Chine, de l'Inde, du Sud-ouest américain, de la Californie et du Mexique (**Lansky and Newman, 2007**). Les cultivars les plus connus commercialement dans le monde sont 'Roja' et 'Mollar de Elche' en Espagne, 'Hicaznar' en Turquie, 'Manfalouty' en Egypte (**Caliskan and Bayazit, 2012**).

Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier la grenade très fréquemment employée dans le pourtour méditerranéen et le Désert.

Dans le cadre de notre recherche et afin de contribuer à la valorisation de la flore Algérienne, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique de la plante *le punica granatum L.* «*Le grenadier*» de la famille des Lythraceae.

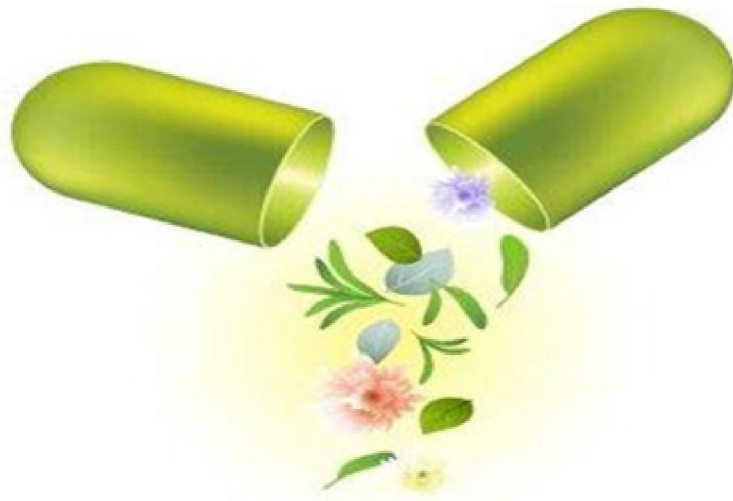
Le présent travail est divisé en deux grandes parties.

Dans la première, nous présentons une synthèse bibliographique sur les plantes médicinales, et les principales caractéristiques de l'espèce sélectionnée appartenant à la famille de : Lythracées et leurs métabolites secondaires

La seconde partie qui est une partie expérimentale nous présenterons les processus d'extraction screening et analyse phytochimique des métabolites secondaires des différentes parties de ce plante, dans une deuxième partie la présentation et la rationalisation des résultats obtenus au cours de ce travail et enfin, la conclusion.

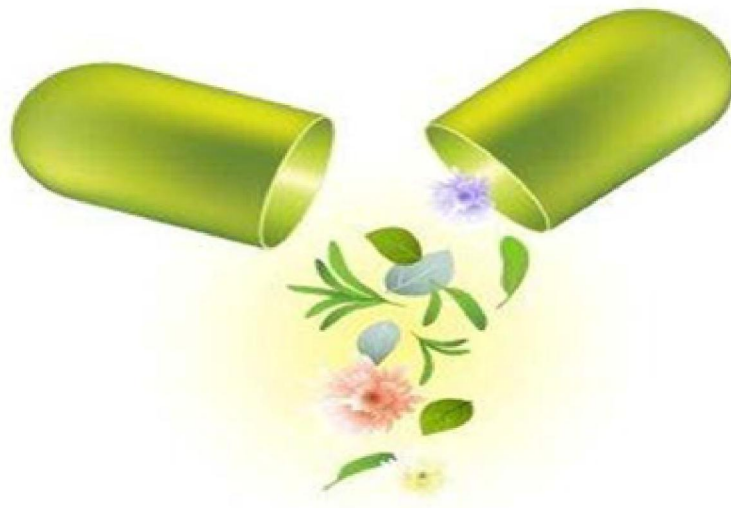
# Partie bibliographique

## Partie bibliographique



# Chapitre I

## Chapitre I



# Plantes médicinales

## Plantes médicinales

## **1. Définition des plantes médicinales**

Dans le code de la Santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France « une plante » est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales **(Moreau, 2003, // Ghabrier, 2010)**.

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine **(Dutertre, 2011)**. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur **(Dutertre, 2011)**.

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents **(Sanogo, 2006)**.

### **1.2. Utilisation**

Pendant longtemps, les plantes ont été utilisées uniquement en nature, sous forme de tisanes ou de poudres. Maintenant beaucoup sont présentées en gélules, mais il existe de nombreuses formes d'utilisation des plantes médicinales **(Ghabrier, 2010)**. Les plantes médicinales servent pour les productions de produits pharmaceutiques, onguents, crèmes et autres produits naturels **(Adouane, 2016)**.

Selon les végétaux, herbacées ou arbrisseaux ou arbres toutes les parties peuvent être retenues feuilles, sommités fleuries, tiges, fruits, racines écorces, gomme, latex et sucs. Une fois recueillies, les plantes sont en général séchées pour les conserver pour des emplois futurs. **(Gori et Tebbale, 2014, // Zerrouk, 2018)**.

## **2. Cueillettes et conservation**

Les plantes médicinales sont cueillies pour être utilisées comme médicament afin de soulager le patient. Les techniques de cueillette et conservation sont en étroite liaison avec le lieu et coutumes **(Adouane, 2016)**.

### **2.1. Cueillettes**

Les propriétés des plantes dépendent essentiellement de la région de production, période et techniques de cueillette. La cueillette est liée avec la variation climatique et



saisonnaire. Pour déterminer les propriétés d'une plante, il est nécessaire de prendre en considération la partie utilisée, morphologie, couleur, nature, saveur **(Adouane, 2016)**.

Si vous souhaitez cueillir vos plantes le matin, attendez le soleil ait séché la rosée. En général, il est conseillé de ne prélever qu'une partie des feuilles et des fleurs afin de ne pas endommager la plante et de permettre aux fleurs restantes de former leur graine. De plus, certaines parties de la plante doivent être cueillies à des moments précis dans l'année: les graines devront en général être récoltées lorsqu'elles sont à maturité, les racines seront quant à elle prélevées au début du printemps ou à l'automne, car de nombreuses plantes sont alors en phase de repos et ont en conséquence stocké la majeure partie de leurs substances utiles dans leur organes souterrains **( Naumann, 2007)**.

### **2.2.Séchage**

Pour assurer une bonne conservation; c'est-à-dire favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique après la récolte, éviter dégradation de certains constituants ainsi que la prolifération bactérienne, le séchage apparait comme un élément primordial. Les techniques de dessiccation sont diverses: au soleil et à l'air libre pour les écorces et les racines: à l'abri d'une lumière trop vive pour les fleurs, afin d'éviter une modification de leur aspect, et parfois leur activité (huile essentielle): avec une température de séchage bien choisie, car la composition chimique peut varier selon les conditions **(Mousnier, 2013)**.

### **2.3.Conservation et stockage**

Certains facteurs majeurs doivent être pris en compte pour garantir des conditions optimales de conservation. Il s'agit principalement de la lumière, de la température, de l'humidité, du degré de fragmentation et des récipients pour le stockage. Il est préférable d'imposer une protection vis-à-vis de la lumière à toutes drogues, car les feuilles, les fleurs, se décolorent rapidement à la lumière, d'où une détérioration de leur aspect. En effet, la luminosité peut accélérer de nombreux processus chimiques et entraîner une dégradation ou une modification des constituants présents **(Mousnier, 2013)**.

Le stockage des plantes médicinales se fait toujours dans des lieux secs, frais et sombres. Pour les grandes quantités, les sacs en papier de plusieurs épaisseurs, des sacs toiles, des cartons, des conteneurs en métal, sont utilisées. Les petites quantités sont conservées dans des bocaux ou des pots en verre bien fermés. Les conteneurs en plastique ne doivent pas être utilisés. Enfin, il faut étiqueter le récipient où la plante est stockée, outre le nom de la drogue, l'étiquette doit aussi indiquer l'année de récolte Fleur, feuilles, semences doivent être desséchées étendues sur des claies ou suspendues en petits paquets isolés. Les conserver dans des boites en métal par exemple **(Gori et Tebbale, 2014)**.

### **3. Plantes médicinales en Algérie**

Avec une superficie de 2 381 741 km<sup>2</sup>, l'Algérie est le plus grand pays riverain de la Méditerranée. Il est reconnu par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays. Ce sont des savoir-faire ancestraux transmis de génération en génération chez les populations, le plus souvent rurales. C'est un héritage familial oral, dominant en particulier chez les femmes âgées et illettrées. **(Ilbert et al/2016).**



**Figure .1. Arbres du grenadier**

L'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques. L'Hoggar comprenait une flore de 300 espèces dont plus d'un quart ont un usage médicinal traditionnel qui se trouvent en un état précaire avec les autres plantes suite aux effets de sécheresse excessive accentuée par l'activité mal raisonnée de l'homme **(Ben Ziane et Yousfi, 2001, in Zerrouk ,2018).**

### **4. Définition la famille des Lythraceae**

La famille des Lythraceae est une famille de plantes dicotylédones qui compte 620 espèces . Ce sont des arbres ou des vivaces ou annuelles, dont certaines sont aquatiques. Les Lythraceae ligneuses n'existent qu'entre les tropiques ou en zone méditerranéenne comme le grenadier (*Punica granatum L.*).**(Moualkia, Gourmati, 2015).**

### **5. *Punica granatum L* (le grenadier)**

#### **5.1. Origine du nom**

La grenade porte le nom de pomme punique, c'est le *Malum punicum* de Pline, ou pomme de Carthage. Elle sera alors renommée *Punica granatum*. Punica en souvenir des guerres puniques ou peut-être pour puniceus qui signifie rouge écarlate en latin, et granatum pour la multiplicité des graines contenues dans le fruit **(Elodie, 2009).**

#### **5.2. Description botanique**

Le grenadier est un petit arbre à port arbustif des régions méditerranéennes qui peut atteindre 6 m de haut. Ses fruits, les grenades, contiennent en moyenne 600 graines pulpeuses. La grenade est une grosse baie ronde, de la taille d'une grosse orange, à écorce dure et

coriace, de couleur rouge ou jaune beige, qui renferme de nombreux pépins de couleur rose à rouge. Seuls ses pépins sont comestibles, soit environ la moitié du fruit. Dans chaque pépin, la graine est enrobée d'une pulpe gélatineuse de chair rouge transparente, sucrée chez les variétés améliorées, sinon d'un goût plutôt âcre (**Benoit, 2013**).

Il peut vivre jusqu'à 200 ans mais est le plus productif en fruits dans ces 20 premières années fructification ; son écorce est gris beige et à tendance à se crevasser et à desquamer avec l'âge. Ces feuilles caduques sont opposées, luisantes et mesurent 3 à 7 cm de long sur 1 à 2 cm de large. Ses fleurs rouge vif mesurent 3 cm de diamètre, cultivé partout et souvent subi spontané dans le tell. la floraison lieu en fin d'été. Fructification en septembre et octobre (**Bridel ; Bailly, 2004, Quezel et Santa, 1963 in Djaziri, 2017**).

### 5.3. Classification botanique

Le grenadier, *Punica granatum*, a été décrit par Linné et introduit dans sa classification en 1753. Telle est cette classification, Cette classification encore adoptée est décrite dans le Tableau 1 (**Spichiger et al, 2009 in, Benyahia, Hadbi, 2016**)

**Tableau .1.** Classification botanique du grenadier (**Spichiger et al, 2009, Benyahia, Hadbi, 2016**)

<b>Embranchement</b>	<b>spermaphytes</b>
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Myrtales
<b>Famille</b>	Punicaceae (Lythraceae)
<b>Genre</b>	Punica
<b>Espèce</b>	<i>Punica granatum</i> L.

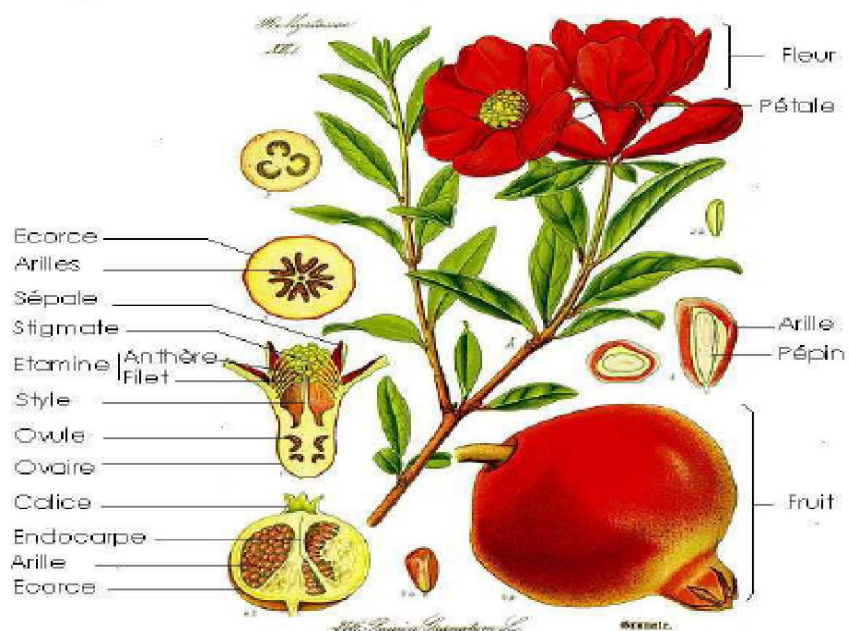
### 5.4. Distribution géographique

Le grenadier est originaire du nord de l'Iran et de l'Afghanistan où il couvre de grandes étendues à l'état spontané depuis plus de 4000 ans. On le retrouve également sur des bas reliefs égyptiens datant de 2500 ans avant le Christ et au jardin botanique de Thoutmosis III créé en 1450 avant JC (**Elodie, 2009**).

Des principaux pays de culture du grenadier sont l’Iran, l’Afghanistan la Turquie, le Turkestan (U.R.S.S). Sa culture est développée autour du Bassin Méditerranéen ou son exploitation commerciale est développée : en Espagne principalement et aussi en Italie, en Grèce et au Maroc de façon importante. Il fut introduit en Algérie par les Phéniciens principaux centre de culture en Algérie : ig, Mohammedia, Relizane (l’oranie en générale) et quelques points de la Mitidja. Malheureusement dans la plus part des cas le manque de soin et l’état d’abandon font que le fruit renferme le plus souvent des grains petits, acides, à pépin volumineux à cloison adhérente qui rendent la consommation désagréable **(I.T.D.A.S, 2003, in Zerrouk ,2018).**

**5.5. Les composants biologiques de grenade et leur composition chimiques**

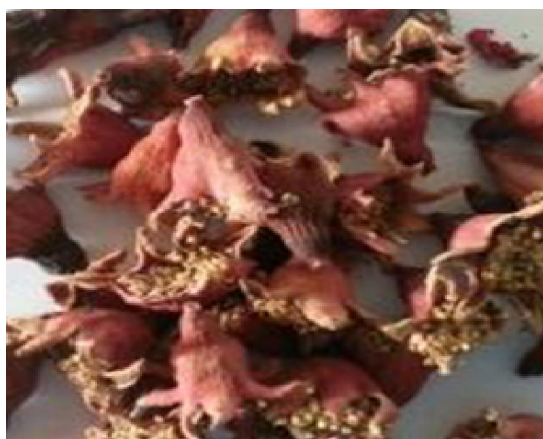
Déjà au XIXème siècle, le grenadier suscite un intérêt chez les chercheurs qui, avec des moyens très rudimentaires, ont ainsi mis en évidence certains principes actifs de cet arbre, tels que la pelletierine. Grâce aux relativement récents procédés d’analyse chimique, comme les techniques de chromatographie, de résonance magnétique ou encore de spectrométrie de masse, il a été possible d’identifier avec précision la composition des différents organes du grenadier **(Elodie, 2009).**



**Figure .2.** Fleurs et fruits du Grenadier (*Punica granatum L*) **(Flora) (Von Deutschland and Schweiz. 1885, in Ilham,2013).**

**Ø Fleurs**

Sur le plan de la biologie florale, le grenadier est une espèce monoïque qui développe, sur le même arbre, des fleurs hermaphrodites fertiles en formes de "vase", et des fleurs mâles stériles avec un style très court et des ovaires atrophiés (en forme de cloche) **(Melgarejo Et al , 2003, *in* Djaziri,2017).**

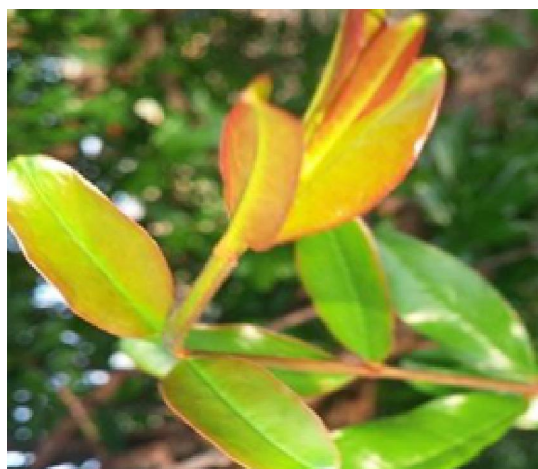


La dominance revient généralement aux fleurs mâles avec un taux de 60 à 70 % selon les variétés et les saisons, les variétés de grenadiers sont auto fertile, mais peuvent être également inter-polonisés, avec cependant une dominance de la pollinisation libre. La première vague de floraison donne le meilleur taux de nouaison (90 %) avec des fruits de bonne qualité et qui sont moins susceptibles à l'éclatement **(Chaudhari Et al 1993, *in* Djaziri,2017.)**

Les fleurs du grenadier contiennent de l'acide gallique et des triterpènes comme l'acide ursolique, acide oléanolique, acide asiatique, acide maslinique **(Newman et al, 2007).**

**Ø Les feuilles**

Les feuilles du grenadier contiennent des flavones, telles que la lutéoline et l'apigénine. Cette dernière posséderait des propriétés anxiolytiques. Elles renferment également des tanins, comme la punicaline et la punicalagine **(Newman et al,2007).** Les feuilles du grenadier sont opposées ou sous-opposées, luisantes, étroites, et de forme oblongues, entières, de 3 à 7 cm de long et de 2 cm de large.



**Ø Les fruits**

Le fruit possède dans ses différentes parties de nombreux composés chimiques d'une valeur biologique élevée : écorce, membranes blanches, arilles et pépins.

Le grenadier, bien conduit entre en production à partir de la quatrième année. Il est déconseillé de cueillir par temps humide, car les fruits risquent également de se fendre. Selon les variétés, la période de maturité des grenades a lieu entre la fin du mois d'août et de décembre (**Melgarejo, 1993, *in* Djaziri, 2017.**)

**Ø L'écorce**

L'écorce de l'arbre, ainsi que tous les autres organes du grenadier, hormis l'écorce de racine, n'ont presque pas été étudiés par les chercheurs du XIX<sup>ème</sup> siècle. C'est seulement depuis quelques années, et avec des procédés modernes, que l'analyse chimique du grenadier dans son intégralité a été réalisée. Ainsi, l'écorce du grenadier se compose d'ellagitanins comme la punicaline, la punicalagine, la puniacortéine A, B, C et D, la punigluconine. Elle contient aussi des alcaloïdes tels que la pelletierine, la méthylpelletierine et la pseudopelletierine (**Newman et al , 2007.**)

L'écorce du fruit du grenadier ou autrement appelé malicorium, il s'agit de la partie externe et dure du fruit. La couleur de la face extérieure dépend de la variété, brillants, la face intérieure généralement jaunâtre, concave, portant l'empreinte des graines qui y étaient appliquées, de saveur amère et astringente. (**Planchon, Collin, 1875, *in*, Alhijna , Bourich , 2017.**)

**Cloisonnement interne****Ecorce externe**

**5.6. Propriétés thérapeutiques de *Punica granatum***

**5.6.1. Principes actifs du grenadier**

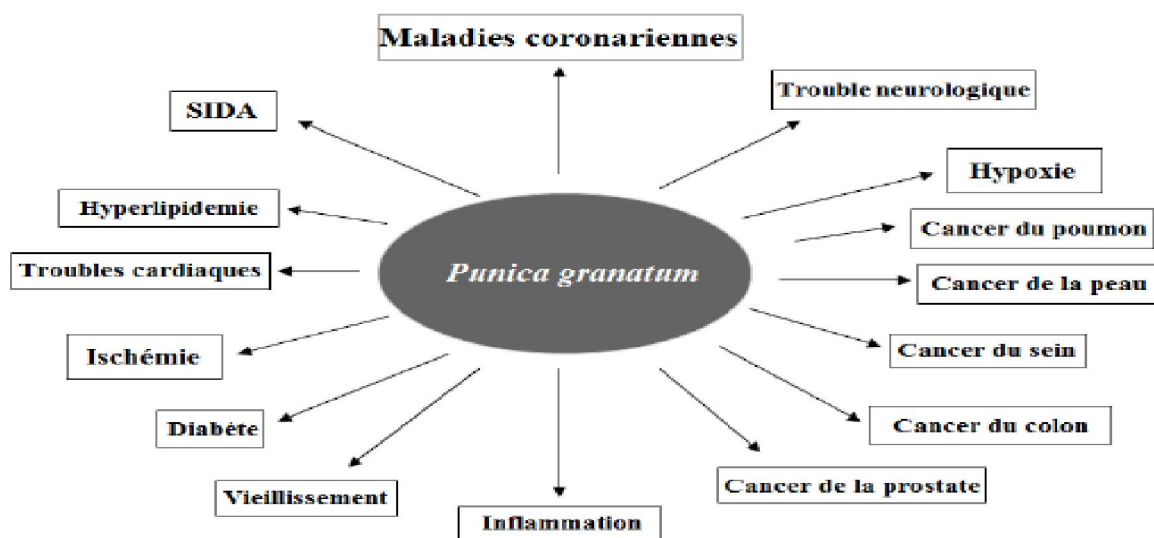
Chaque partie de la plante contiens des nombreux des principes actifs présenté dans le tableau suivant.

**Tableau .2.** Principes actifs de chaque partie du grenadier (Elhanafi, 2012 *in* Zarouk, 2018).

Organe végétal	Principes actifs
Ecorce de fruit	Flavonoïdes Tannins Acides polyphénoliques
Feuilles	Flavonoïdes Tannins
Graines	acides gras insaturés acides gras saturés tannins Stérol

**5.6.2. Activités thérapeutiques du grenadier**

Les propriétés thérapeutiques potentielles du grenadier sont très variées et incluent traitement et prévention du cancer, les maladies cardiovasculaires, diabète dysfonctionnement érectile et protection contre les radiations ultraviolettes. La plupart des recherches se sont concentrées sur les propriétés antioxydant, anticarcinogénique, anti-inflammatoire et antidiabétique du grenadier (Ben Abdemebi, 2012).



**Figure.3.** Maladies traitées par *Punica granatum* (Seeram al ,2006 *in* Boussalah, 2010)

## **5.7. Le grenadier en Algérie**

Bien que le grenadier soit peu exigeant , les plantation ne sont pas très important en Algérie .

Il existe de nombreuse variétés de grenades ,de qualités très différentes .Plusieurs sortes de grenadier sont signalées dans des petits jardins en Kabylie .On ne connait que leur appellation locale (Lahlou ,Elmouze,...).Quatorze variétés sont actuellement autorisées à la production et à la commercialisation par l'Etat : Espagne rouge ,Gajin ,Selection station ,Corda travita ,Sefri ,Chelfi , Moller huesso ,Zemdautomne ,Doux de Kolea , Mellisse, Sulfani ,Messaad , Papers shell ,Spanish duoy.( **Inraa ,2006, Bendjabeur,2012**).

## **5.8 La culture du grenadier**

### **5.8.1. Les exigences de milieu**

#### **5.8.1.1. Conditions climatiques**

Le grenadier s'adapte à de nombreux climats, des tropiques aux régions tempérées chaudes. Cependant, c'est un climat austral subtropical voire tropical qui lui convient le mieux. Les meilleurs fruits sont obtenus dans les régions subtropicales, où la période des températures élevées correspond au moment de la maturité des grenades. (**Afaq , Malik , *Et al* 2005 ,*in*Betioui ,2017**)

En dehors des régions subtropicales, le grenadier pousse fort bien dans toutes les régions où la température ne descend pas en dessous de -15°C.

Le vent peut causer des dommages importants en limitant la croissance des plantes, mais aussi en favorisant le boisage des fruits.(**Betioui,2017**).

#### **5.8.1. 2.Le sol**

Le grenadier n'est pas exigeant en ce qui concerne la nature de son sol. Il s'adapte à une large gamme de sols et tolère les terrains acides, alcalins, crayeux... Il est également assez résistant à la salinité de la terre. Néanmoins, il donne de meilleurs résultats dans un terrain profond et gras : les terres d'alluvions lui conviennent mieux. Les terrains alcalins, argilo limoneux, lui sont favorables. (**Afaq, Malik , *et al* 2005, *in*Betioui ,2017**)



**5.8.1.3. L'eau**

Les arboriculteurs turcs et perses prétendent que le grenadier doit avoir « les pieds dans l'eau et la tête au soleil ».

En effet, il est nécessaire que ses racines soient au frais et largement irriguées, afin d'obtenir des fruits de bonne qualité et en grande quantité. **(Afaq , Malik , et al 2005 , in Betioui ,2017) .**

**5.8.2. La Multiplication**

La multiplication du grenadier peut se faire par semis, par boutures, par marcottage, par drageons ou par greffes. **(Afaq, Malik , et al 2005, in Betioui ,2017)**

**5.8.3. Soins culturaux.****5.8.3.1. Entretien régulier**

Il faut procéder, une fois par an, à un ameublissement du sol et à la destruction des mauvaises herbes.

Au cours de l'été, plusieurs sarclages sont nécessaires afin de maintenir les racines humides. **(Afaq, Malik , et al. 2005, in Betioui ,2017)**

**5.8.3.2. Engrais**

Il faut être prudent avec les engrais, et éviter ceux azotés, qui risquent de faire éclater les fruits sur l'arbre et faire proliférer les brindilles, gourmands et drageons. Ce type d'engrais est à réserver pour des arbres chétifs et en mauvaise santé.

Au contraire, des engrais phosphatés ont une influence favorable sur la fructification, et doivent être apportés à l'arbre en hiver. **(Afaq, Malik , et al. 2005, in Betioui ,2017).**

**5.8.4. La fructification et la récolte des fruits****5.8.4.1. La fructification**

Le grenadier, bien soigné, commence à fructifier dans sa quatrième année.

L'irrigation joue un rôle très important dans la qualité des fruits. Ainsi, pour produire de gros fruits, un arrosage abondant est nécessaire. De plus, un fruit qui a manqué d'eau a tendance à éclater facilement, le rendant impropre à la consommation et à la commercialisation. **(Betioui ,2017).**

**5.8.4.2. La récolte des fruits**

Il est prudent de faire la cueillette des grenades avant leur complète maturité, quand leur écorce commence à rougir. Souvent, en effet, le fruit se fend sur l'arbre quand il est tout à fait mûr. . **(Afaq, Malik , et al 2005, in Betioui ,2017)**

La récolte des grenades se fait manuelle Selon les variétés, la récolte des grenades se fera entre fin août et décembre. ( **Betioui ,2017**).

**5.8.5.Rendement**

Le rendement varie avec l’Age, la variété et la densité

Le grenadier commun commence à produire de la 4<sup>ème</sup> année 3 kg seulement, mais il faut attendre 7 ans pour avoir une bon production (50 kg par arbre) et 10 ans pour atteindre la pleine production (80 à 100 kg par arbre) ( **Betioui ,2017**).

**5.8.6. Conservation**

On peut conserver les grenades :

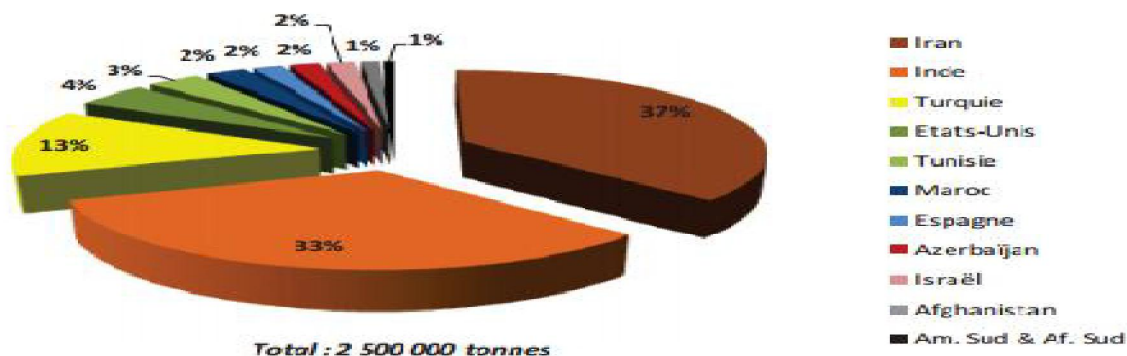
- durant 2 semaines à température ambiante
- durant un mois dans le bac du réfrigérateur
- jusqu’à quatre mois à 5°C

\*Elles peuvent aussi être transformées en jus ou en sirop pour une conservation de plusieurs mois en bouteille (**jardinage.ooreka.fr**).

**5.8.7.Production de la grenade**

Dans le monde, les plus importants pays producteurs de grenades sont les pays d’Orient dont l’Iran, la Turquie, la Transcaucasie et l’Inde mais aussi dans la zone méditerranéenne la Tunisie, le Maroc, Algérie, l’Espagne, l’Italie et la Grèce. Aux Etats-Unis et plus particulièrement en Californie, la culture de la grenade est très développée. La production de grenade est en nette augmentation ces dernières années, montrant un regain d’intérêt pour ce fruit oublié depuis plusieurs décennies. .( **Betioui ,2017**).

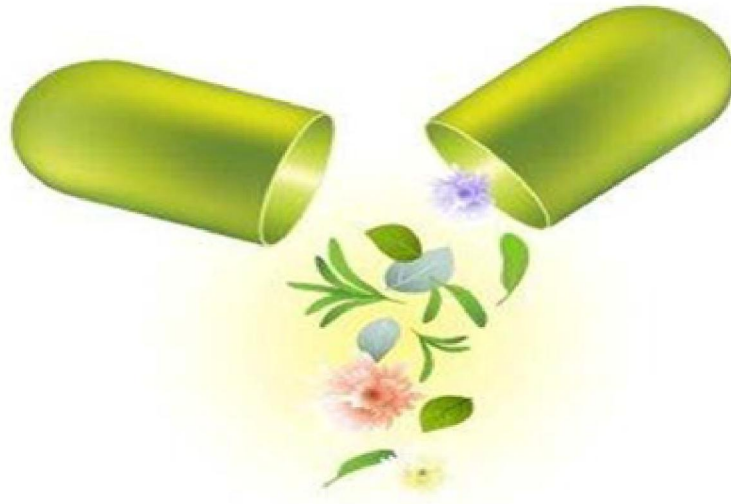
**5.8.8 Répartition de la production mondiale de grenade**



**Figure.4** Répartition de la production mondiale de grenade (Estimation, 2012 // **Betioui ,2017**).

# Chapitre II

## Chapitre II



# Métabolites secondaires

## Métabolites secondaires

## **1. Définition des métabolites**

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

On distingue deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires

### **1.1. Métabolites primaires**

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

### **1.2. Métabolites secondaire**

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante qui n'est pas encore parfaitement élucidé.

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

Il n'existe pas de règle générale concernant les lieux d'accumulation des métabolites secondaire dans l'organisme végétale. Suivant les espèces et les diverses catégories de composés , on peut les trouver dans les différents organes ou au contraire, ne les rencontre que dans les tissus très spécialisés, leur taux relevé par l'analyse d'une plante ou d'un fragment, varie grandement durant l'ontogénèse (croissance jusqu'à la floraison) et l'ontogénèse (formation du fruit), par ailleurs, il est certain que la quantité observée de

métabolites secondaires, à un moment donné, est la résultante de nombreux mécanismes métaboliques et physiologiques : biosynthèse, dégradation transport, capacité d'accumulation et de bioconversion (réponse à la pression de l'environnement). **(Moualkia, Gourmati, 2015).**

## **2. Classification des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques **(Cuendet, 1999, Vermerris, 2006, // Benguelil et Aouifour, 2017).**

On distingue trois classes principales, les composés phénoliques : terpènes, alcaloïde, et flavonoïde. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine **(Mansour, 2009).**

### **2.1. Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont fort répandus dans le règne végétal ; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arome, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Ces composés représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10% et même d'avantage. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins). Le groupe le plus vaste et plus répandu des phénols est celui des flavonoïdes **(Walton et Brown ; 1999 // Benguelil et Aouifour, 2017).**

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires et sont synthétisés, par des plantes au cours de leur développement normal, en réponse à des infections, des blessures, des rayons ultra-violet (UV) et des insectes. Ces composés phytochimiques provenant de la phénylalanine et la tyrosine sont ubiquitaires dans les plantes **(Pereira Nunes X et al, 2012, // Djimli, Kouiza, 2016).**

### **2.2. Les terpenoïdes**

Le terme terpène inventé par **Kekulé**, vient de leur origine historique de l'arbre de terebinth : « *Pistacia Terebinthus* » **(Ayad, 2008).**

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont

majoritairement d'origine végétale (**Malecky, 2005**). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (**Benaïssa, 2011**).

L'exploitation de ces composés s'effectuait sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) par le moyen de la distillation (**Malecky, 2005**).

### **2.3. Les alcaloïdes**

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**Badiaga, 2011**).

Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Ainsi, la nicotine, produite dans les racines, migre vers les feuilles où elle est diméthylée. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (**Krief, 2003**).

Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques (**Mauro, 2006**).

Le plus souvent, la synthèse de ces alcaloïdes s'effectue au niveau de site précis (racine en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes) ; ils sont ensuite transportés dans leur site de stockage. (**Rakotonanahary, 2012**).

### **2.4. Les huiles essentielles**

#### **2.4.1. Définition**

Les H.Es sont définies comme étant des extraits volatils et odorants, que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qu'ils les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous produits du métabolisme secondaire. Les H.Es ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : **l'aromathérapie**. (**Belaiche, 1979, // Kharchi, 2017**).

#### **2.4.2. l'aromathérapie**

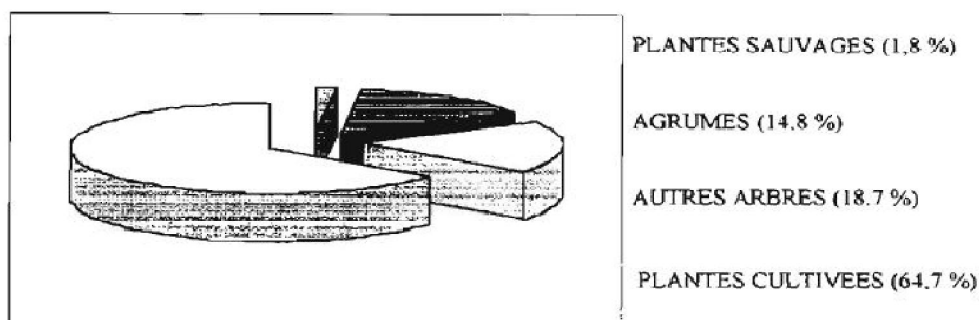
**L'aromathérapie** (*étym*: lat « aroma », grec « arôma » = arôme; grec **therapeia** = soin, cure) est l'utilisation médicale des extraits aromatiques de plantes (essences et huiles

essentielles). Cela la différence de la phytothérapie qui fait usage de l'ensemble des éléments d'une plante (**Belaiche; 1979 ,// Kharchi,2017**).

L'aromathérapie consiste donc en l'utilisation des huiles essentielles pour prévenir ou traiter les maladies et améliorer la santé et le bien-être. C'est une thérapeutique naturelle d'une remarquable efficacité, qui repose sur la relation existant entre les principes actifs contenus dans les huiles essentielles et les propriétés thérapeutiques qui en découlent (**Wilson,2002**).

### 2.4.3. Production des huiles essentielles

La production mondiale des huiles essentielles est estimée à environ 50000 tonnes et le marché représente 700 millions de dollars. Près de 65 % de la production mondiale d'huile essentielle provient de l'extraction de partie d'arbres ou d'arbustes cultivés ou présents à l'état sauvage. Les plantes non arbustives qui sont à la base du reste de la production (35 %) sont en grande majorité cultivées. La figure II montre l'importance de chaque catégorie de plante dans l'extraction d'huiles essentielles. (**Willem,2009**).



**Figure .5.** Répartition de la production mondiale des huiles essentielles selon les espèces (**Kharchi , 2017**).

### 2.4.4. Propriétés physico-chimiques

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène, qui a des propriétés communes représentées dans les points suivants :

- Û Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes.
- Û Elles sont plus ou moins colorées
- Û Elles peuvent conférer leur odeur à l'eau.

- Û leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.
- Û Leur indice de réfraction et pouvoir rotatoire sont très élevés.
- Û Elles sont entraînaables par la vapeur d'eau, soluble dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau.
- Û Elles sont altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air (**Rakotonanahary, 2012 ; Laib, 2011 ,in Yezza et Bouchama ,2014** ).

### **3. Fonctions pour la plante**

#### **3.1.La coopération avec les animaux**

Les métabolites secondaires peuvent être des moyens de signalisation et d'interaction entre les plantes et les animaux disséminateurs ou pollinisateurs : certains métabolites secondaires interviennent dans les mécanismes d'attraction des animaux (monoterpènes parfumées, anthocyanes de couleur ou de caroténoïdes dans les fleurs), nécessaires à la dispersion des graines et des insectes pollinisateurs par l'intermédiaire de couleurs et d'odeurs.(**Yeza et Bouchama,2014**).



**Figure .6.**Montre Attraction des pollinisateurs ( [fr.wikipedia.org](http://fr.wikipedia.org))

#### **3.2. Lutte contre la compétition avec d'autres plantes**

Les métabolites secondaires participent à des réponses allélopathiques : compétition entre les plantes pour la germination et croissance au moyen de toxicité qui empêchent la croissance des autres plantes compétitrices. (**Yeza et Bouchama,2014**)





**Figure .7.**Compétition entre les plantes pour la germination et croissance

(fr.wikipedia.org)

### 3.3. Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores

Il y a plus de 100 ans Ernst Stahl a montré expérimentalement que les métabolites secondaires servent de composés de défense contre les escargots et autres herbivores (**Wink, 2003 , in Yezza et Bouchama,2014** ).



**Figure .8** Montre la protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores

(fr.wikipedia.org)

### 4.Rôle pour l'Homme

Les métabolites secondaires végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Ces composés sont en grande mesure illustrés en thérapeutique (**Bahorun, 1997**).

#### **4.1. Utilisation en médecine**

Les métabolites secondaires qui font la base des remèdes pour l'Homme :

- Û En urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux.
- Û Systèmes cardiovasculaires, ex : Flavoce est un médicament constitué par la flavone non substituée en combinaison avec la rutine et isoquercétine est utile dans le traitement de l'athérosclérose.
- Û Drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoire extraits des plantes *Melaleuca alternifolia* et *Echinacea angustifolia*.
- Û Contre le diabète (*Azadirachta indica*).
- Û Les maladies du stress, ces métabolites ont une activité antioxydante, tels le thé noir, le thé vert et le cacao sont riches en composé phénoliques, parmi lesquels theaflavine, le resvératrol, le gallate et epigallocatechine procyanidine (**Lee et al, 2005, in Yezza et Bouchama, 2014**).
- Û Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire: depuis des périodes très anciennes ces substances naturelles ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques tels : la quinine obtenue à partir du quinquina "*Cinchona*" a été avec succès employée pour traiter le malaria, Et l'arbre de thé (*Melaleuca alternifolia*) est renommé aussi pour ses propriétés : anti-infectieux, antifongiques, mais aucune plante n'est aussi efficace que les médicaments antirétroviraux pour arrêter la répllication du VIH (**Mohammedi, 2006, in Yezza et Bouchama, 2014**).

#### **4.2. En Agriculture**

Les huiles de l'arbre *Azadirachta indica* ont des utilisations dans l'agriculture, dans le contrôle de divers insectes et nématodes (vers parasites). (**Yeza et Bouchama, 2014**).

#### **4.3. En alimentation**

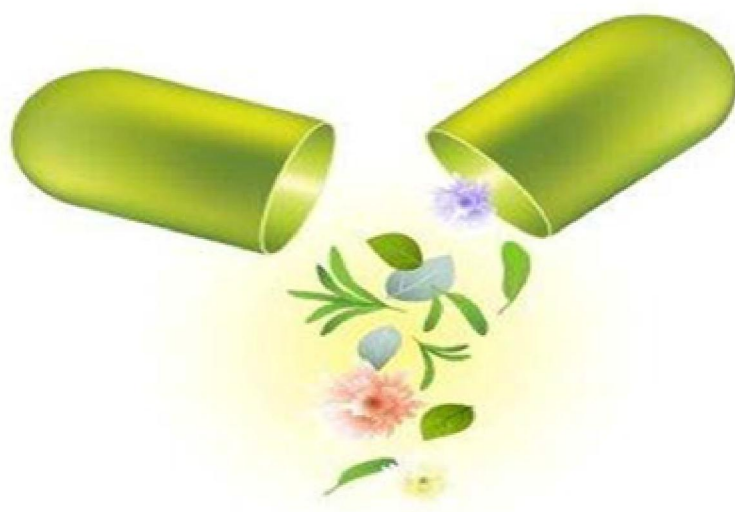
Les épices et les herbes aromatiques contenant des diverses métabolites sont utilisées dans l'alimentation sont pour une bonne part responsables des plaisirs de la table, considérées comme condiments et aromates, ont été et reste très liée à leurs propriétés organoleptiques. Mais également ces métabolites trouvent leur utilisation comme suppléments diététiques (**Mohammedi, 2006**).

#### **4.4. En cosmétique**

Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène (**Mohammedi, 2006**).

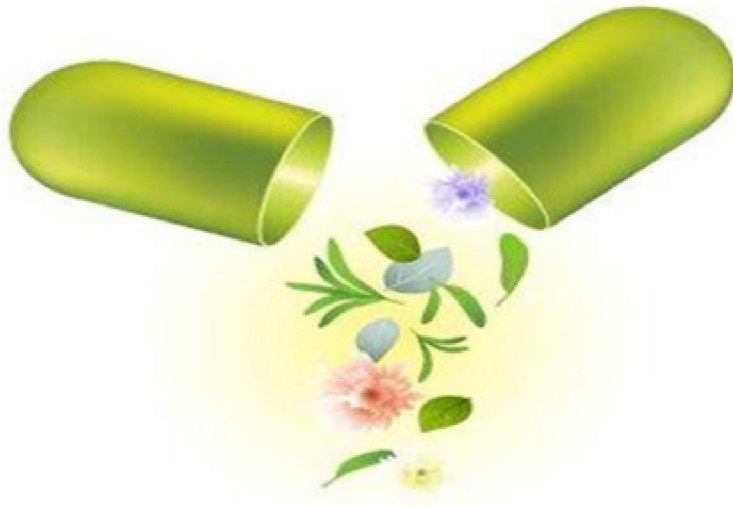
# Partie expérimental

## Partie expérimental



# Chapitre III

## Chapitre III

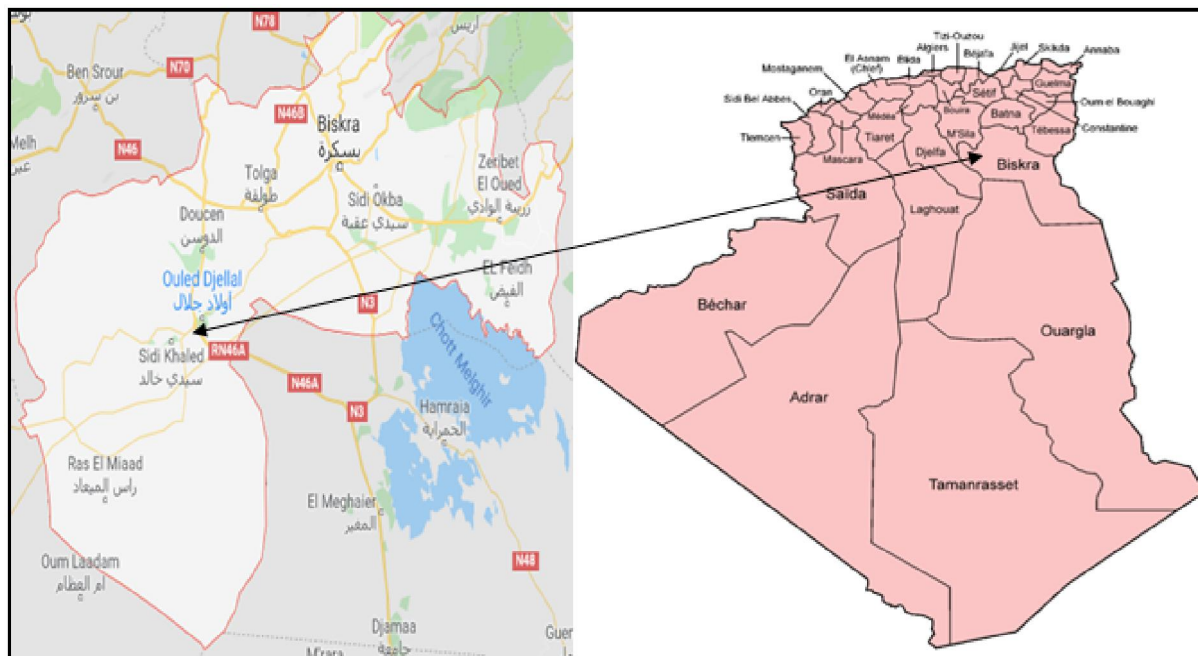


# Matériel et méthode

## Matériel et méthode

## 1. Matériel végétal

- Ø Notre étude est portée sur espèce de famille Lythraceae.
- Ø Le matériel végétal est constitué de ,écorces et racines sèches de grenadier obtenus à partir des phytothérapeutes de la région de Sidi Khaled –Biskra-.



**Figure.9.** Région de prélèvement «Sidi Khaled » (Google Mapp 2019).

## 1.2. Traitements des échantillons

### 1.2.1. Séchage

Séchées l'écorce à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire afin de préserver au maximum l'intégrité de sa composition chimique....

Séchées les racines dans une étuve ventilée à 55°C/48h . Jusqu'à ce qu'ils atteignent un poids fixe.



**Figure .10.** Écorce séchée



**Figure .11.** Racines séchées

### 1.2.2 Broyage

Après séchage écorces et racines de cette plante ont été concassées séparément par un mortier traditionnel et pulvérisées ensuite au broyeur. Ce dernier doit être réalisé juste avant chaque analyse et de préférence par un mortier pour éviter la dégradation des composés chimiques par la chaleur du robot.

La poudre végétale ainsi récupérée, est placée dans des sacs en papier, . Cette poudre va être soumise à différentes extractions.



**Figure .12.** Broyage

## 2.Méthodes

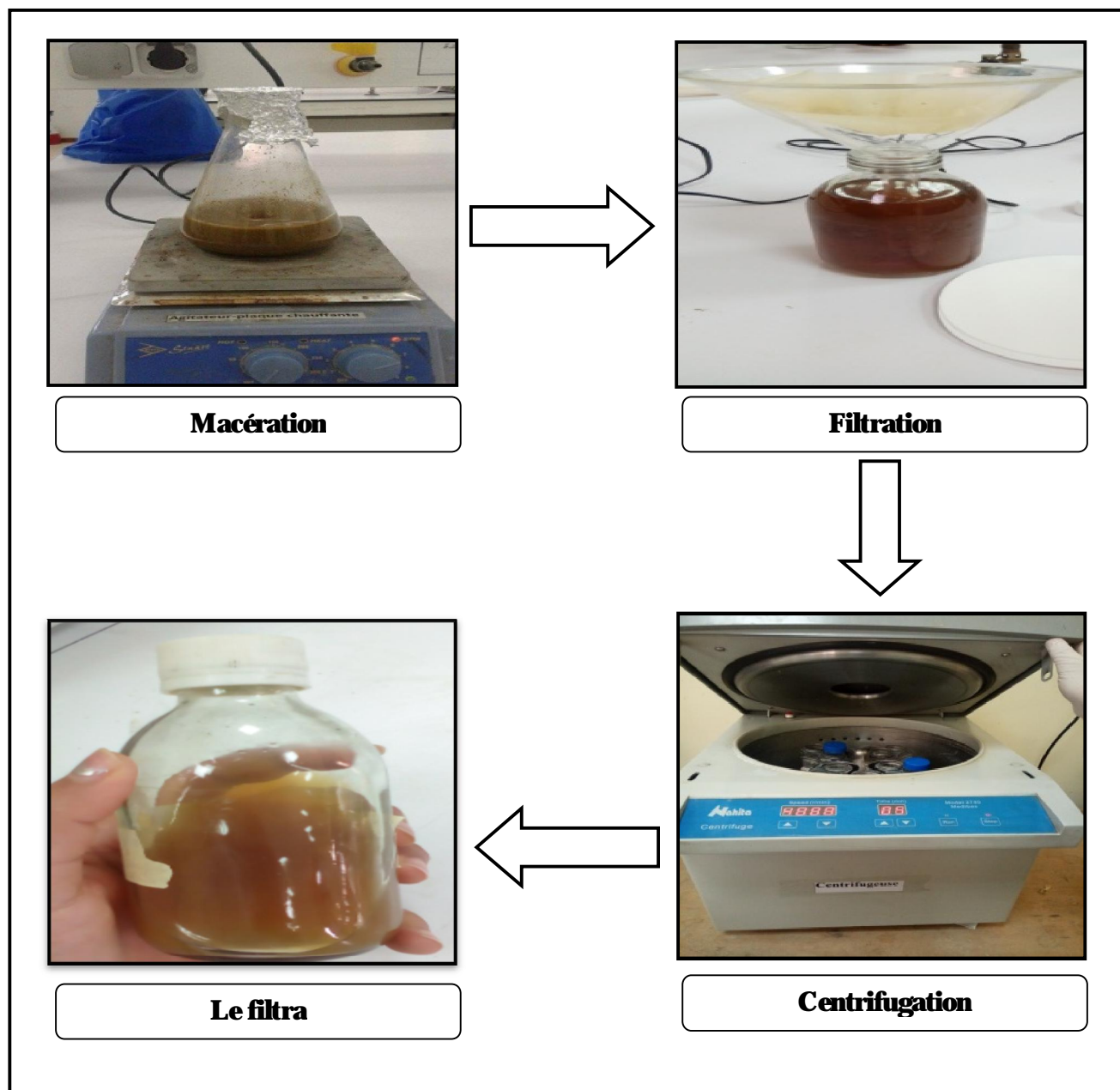
### 2.1.Extraction de métabolites

#### 2.1.1.Extraction aqueux

Un extrait aqueux est préparé par macération de 20g de poudre dans 200 ml d'eau distillée pendant 24 heures à une température ambiante.

Le mélange est d'abord filtré sur une compresse stérilisée, puis centrifugé à 4000 RPM pendant 15 min 2 fois .le surnageant est récupéré puis filtré sur papier filtre .

Le filtrat récupéré dans un flacon stérilisé et conservé à 4°C ,à l'abri de la lumière jusqu'au moment de son utilisation.



**Figure .13.** Etapes de l'extraction aqueuse

## 2.2.Macération de la matière végétale

On effectue ces tests en utilisant deux solvants chloroforme et méthanol

### 2.2.1. Extraction brute avec le solvant méthanol

L'extraction des polyphénols a été réalisée selon la méthode de (Harbonne 1998 *in* Djefel,2017) .Peser 20 g de la matériel végétal à mettre dans 200 ml d'un mélange de solvant méthanol-eau (80/20) sont introduits dans un erlenmeyer de 1 litre. L'extraction est réalisée par macération à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 48 heures avec agitation.

Après une double filtration sur papier filtre, les filtrats ont été soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rotavapeur (R200) à 55°C jusqu'à épuisement et récupérer le résidu avec 3 ml de méthanol . (Harbonne ,1998, *in* Djeffel,2017)

### **2.2.2. Extraction brute avec le solvant chloroforme**

L'extraction des polyphénols a été réalisée selon la méthode de (Blahova et al , 2004 *in* Djeffel ,2017) .Peser 20 g de la matériel végétal à mettre dans 200 ml d'un mélange de solvant chloroform -eau (80/20) sont introduits dans un erlenmeyer de 1 litre. L'extraction est réalisée par macération à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 48 heures avec agitation. Après une double filtration sur papier filtre, les filtrats ont été soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rotavapeur (R200) à 55°C jusqu'à épuisement et récupérer le résidu avec 3 ml de chloroform. (Blahova et al, 2004 *in* Djeffel,2017)

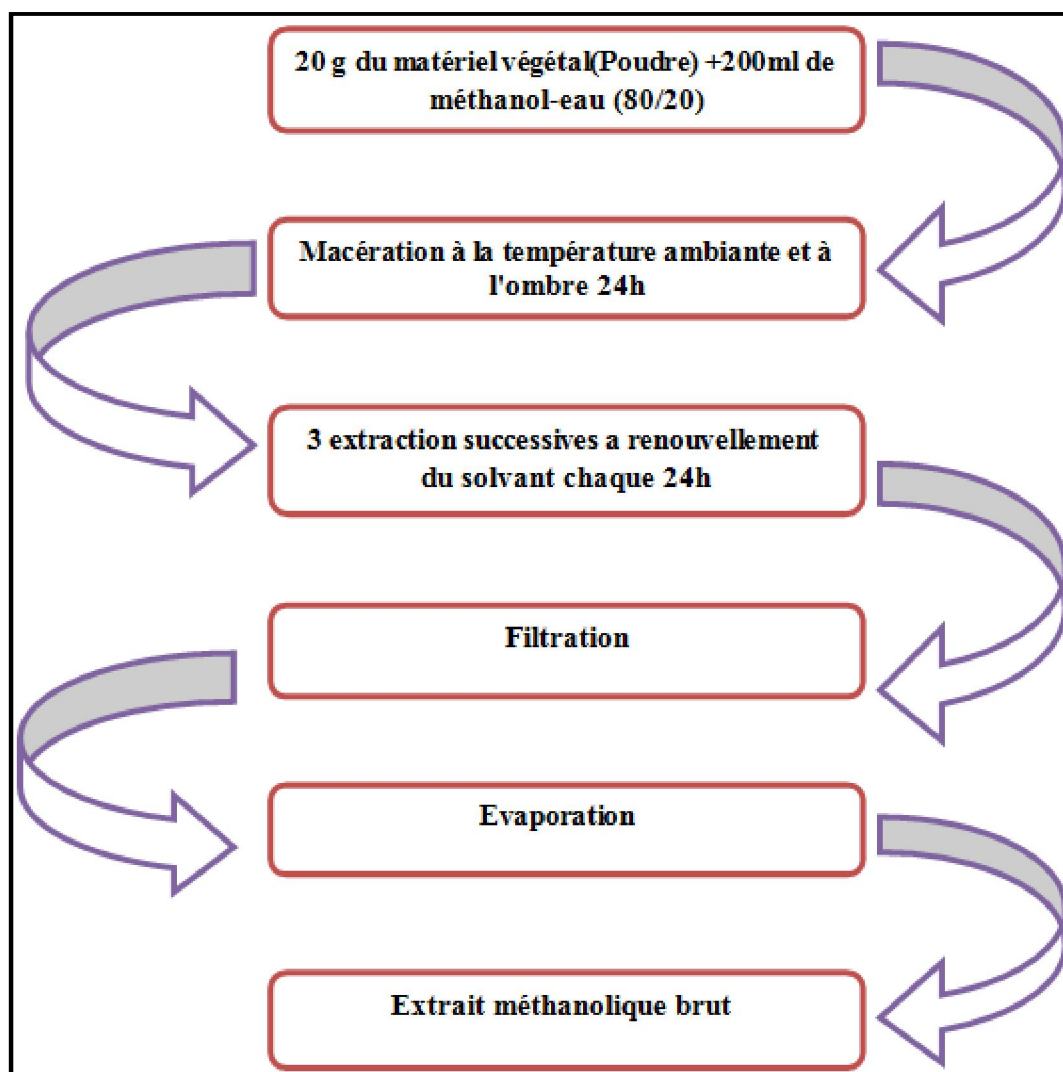
### **2.3.Evaporation**

Elle est réalisée à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor) à une température comprise entre 55°C, afin d'obtenir un extrait sec.



**Figure .14**Evaporation rotative (Rotavapor)





**Figure .15.** Protocole de préparation d'extrait méthanolique par macération

### 3. Etude phytochimique de *Punica granatum*

Les tests phytochimiques permettent de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques essentiellement les composés phénoliques comme les tanins et les flavonoïdes, les hétérosides et les composés azotés en particulier les alcaloïdes.(**Djefel , 2017**).

#### 3.1. Teste des tanins

1.5g de matériel végétal se sont placés dans 10 ml de MeOH 80%, Après 15 minutes d'agitation, les extraits sont filtrés et mis dans des tubes. L'ajoute de FeCl<sub>3</sub> permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noirs en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins caté chique. (**Rizk, 1982**).

### 3.2. Teste des saponisides

Introduire 2g du matériel végétal dans un tube à essai. Mélanger avec 10 ml d'eau distillée, en agitant pendant 2-3 minutes. (Karumi et al 2004).

### 3.3. Teste des flavonoïdes

On met 10 g de produit dans un 150 ml de HCl à 1% pendant une nuit, puis on filtre et procéder au test. On prend 10 ml de filtrat, le rendre basique par un (NH<sub>4</sub>OH). L'apparition de la couleur jaune clair indique la présence des flavonoïdes (Kharchi, 2017).

### 3.4. Teste des anthocyanes

1 g de poudre sèche est macéré dans 10 ml d'eau distillé, on porte au bouillant pendant 15 mn, ensuite on filtre, ajouter quelques gouttes de :

1- HCl

2- NH<sub>4</sub>OH

le changement de couleur indique la présence des anthocyanes (Kharchi, 2017).

### 3.5. Test des terpènes

Avec l'addition de 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml d'extrait à chaud. Le mélange est ajouté à 0.5 ml d'acide sulfurique concentré. Après agitation l'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive (Bruneton, 1999).

### 3.6. Test des alcaloïdes

La présence d'alcaloïdes est révélée par le teste d'Amana (2007), quelques gouttes du réactif de Boucharlat sont ajoutées à 2 ml d'extrait. La formation d'un précipité brun-noir, brun-terne ou jaune-brun indique la présence de ces métabolites dans le milieu.

## 4. Calcul du rendement de l'extraction

Le rendement en extrait sec exprimé en pourcentage est calculé d'après la formule suivante :

$$R\% = (PES / PE) * 100$$

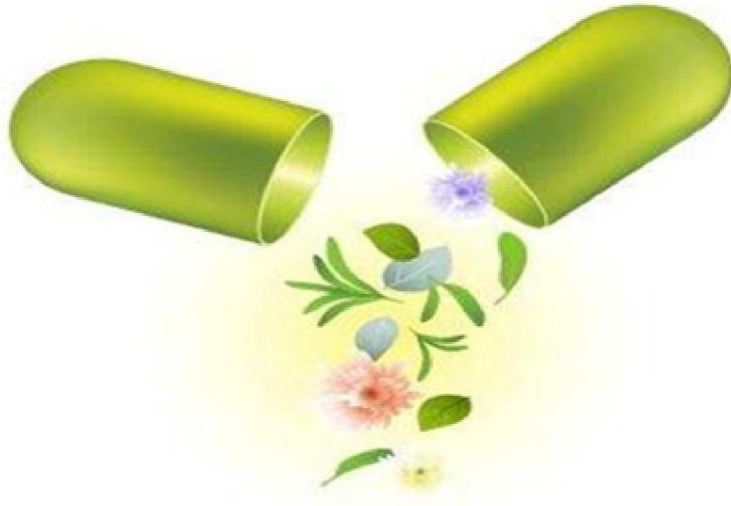
✓ **R%** : Rendement en pourcentage

✓ **PES** : Poids de l'extrait sec (g)

✓ **PE** : Poids de l'échantillon (poudre) (g)

# Chapitre VI

## Chapitre VI



# Résultats et Discussions

## Résultats et Discussions

## 1.Extraction des métabolites secondaires

D'après **Lee et al(2003)** il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants) , ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid ),affectent tous le contenu total en métabolites secondaires.

### 1.1.Teste phytochimique

Avant de calculer le rendement des métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes et alcaloïdes,.....), on doit d'abord vérifier leur présence au sein de notre échantillon.

On a donc utilisé des tests physico-chimiques simples en utilisant des solvants de polarités différentes. On affirme la présence ou l'absence de différentes familles des métabolites secondaire du écorces et racines de *Punica granatum* avec l'apparition d'une coloration, précipitation ou floculation.

Les tests photochimiques réalisés sur l'écorce et le racine de *Punica granatum* ont permis de détecter différentes familles de composés phénoliques par la réaction qualitative de caractérisation.

Ces derniers se présentent ainsi :

- 1) (+) : présence en faible quantité.
- 2) (++) : présence en quantité moyenne.
- 3) (+ + +) : présence en forte quantité.
- 4) (-) : absence des composés.

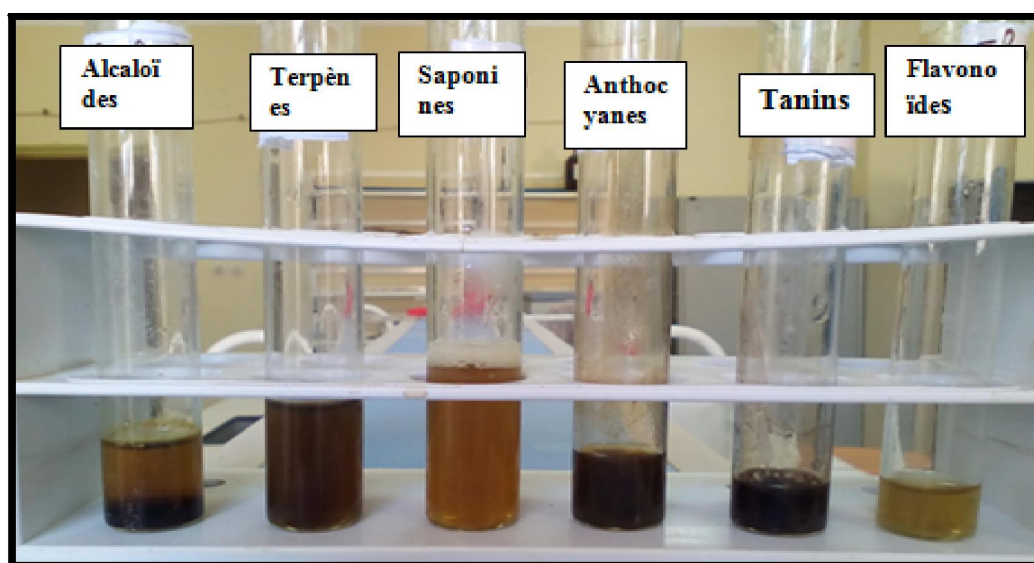
### 1.1.1. L'écorce

Les résultats des tests phytochimiques du écorces de *Punica granatum* sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau.3.**Résultat du teste phytochimique du écorces de *Punica granatum*.

Composée chimique	Couleur de test	Notre étude	Moualkia et gourmati
Tanins galliques	Bleu noirs	+++	+++
Saponines	Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm	+++	-
Flavonoïdes	Jaune clair	+++	+++
Anthocyanes	Changement de couleur	+	+++
Terpènes	Couleur vert	-	+++
Alcaloïdes	La formation d'un précipité brun-noir	++	+++

Ces résultats expérimentaux montrent la présence ou l'absence de certains groupes chimiques. Ces tests sont en relation avec la coloration de précipité **Figure (16)**.



**Figure .16** Teste phytochimie du l'écorce

Les résultats de test phytochimique pour l'écorce de la plante *Punica granatum* , indique la présence des tanins , Flavonoïdes , Anthocyanes , Saponines, et Alcaloïdes. Mais il a été observé l'absence des terpanoïdes , par d'autre auteure , y compris des tanins , Flavonoïdes , Anthocyanes , terpanoïdes et Alcaloïdes.(Moualkia , Gourmati , 2015)

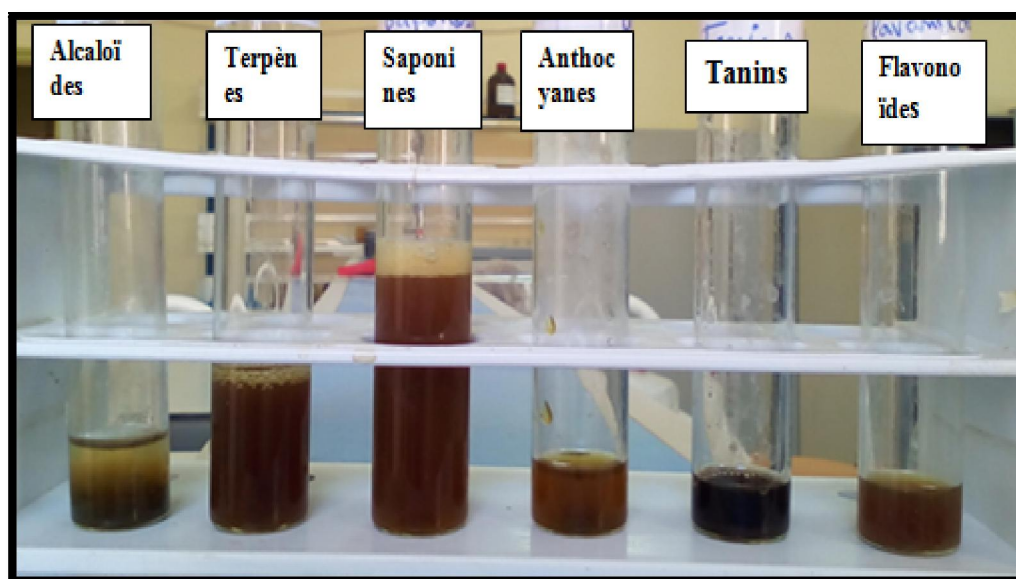
### 1.1.2. Les racines

Les résultats des tests phytochimiques des racines de *Punica granatum* sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau.4.** Résultats des tests phytochimiques des racines de *Punica granatum*

Composée chimique	Couleur de test	Notre étude	Bendjabeur, 2012
Tanins galliques	Bleu noirs	++	+++
Saponines	Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm	++	-
Flavonoïdes	Jaune clair	-	-
Anthocyanes	Changement de couleur	-	-
Terpènes	Couleur vert	-	-
Alcaloïdes	La formation d'un précipité brun-noir	+++	+++

Ces résultats expérimentaux montrent la présence ou l'absence de certains groupes chimiques. Ces tests sont en relation avec la coloration de précipité **Figure (17)**.



**Figure .17.** Teste phytochimie des racines

Les résultats de test phytochimique pour les racines de la plante *Punica granatum*, indique la présence des tanins, Saponines, et Alcaloïdes. Mais il a été observé l'absence des terpanoïdes, Anthocyanes, Flavonoïdes, par d'autre auteure, y compris des tanins, et Alcaloïdes. (**Bendjabeur,2012**).

Les flavonoïdes et les tanins sont plus abondants dans les pelures de fruits sauvages par rapport aux fruits cultivés **(Ozcal et Dinc, 1993, //Lansky et al., 2007)**.

Des polysaccharides complexes provenant des peelings ont été étudiés et partiellement caractérisés **(Jahfar et al., 2003, //Lansky et al., 2007)**. En effet, la méthode de dosage des alcaloïdes est basée sur l'utilisation du réactif Dragendorff. Cette méthode répond positivement à la présence de pelletierine **(Lansky et al., 2007)**.

L'écorce du fruit contient deux importants acides hydroxybenzoïques, l'acide gallique et l'acide ellagique. Elle renferme également des acides hydroxycinnamiques, des dérivés de flavones, des molécules de coloration jaune et des anthocyanidines, responsables de la couleur rouge des grenades. De nombreux ellagitannins sont aussi présents, tels que la punicaline, la punicalagine, la granatine A et la granatine B. Ces tanins représentent jusqu'à 28% de l'épiderme du fruit. **(Lansky et al., 2007)**.

Le grenadier est une riche source de flavonoïdes, lipides, acide ascorbique et de tanins. Plusieurs de ces composés sont connus pour avoir diverses propriétés médicinales. **(Ben Abdennebi, 2012)**

Toutes les parties du fruit du grenadier semblent avoir des propriétés thérapeutiques et certaines études rapportent que l'écorce, les racines, les feuilles et le tronc ont aussi des effets médicinaux bénéfiques. Des recherches actuelles semblent indiquer que les principaux constituants thérapeutiques du grenadier sont les ellagitannins (incluant les punicalagins), l'acide punique, les flavonoïdes, les anthocyanidines, les anthocyanines, les flavonols ostrogéniques et les flavines. **(Ben Abdennebi, 2012)**

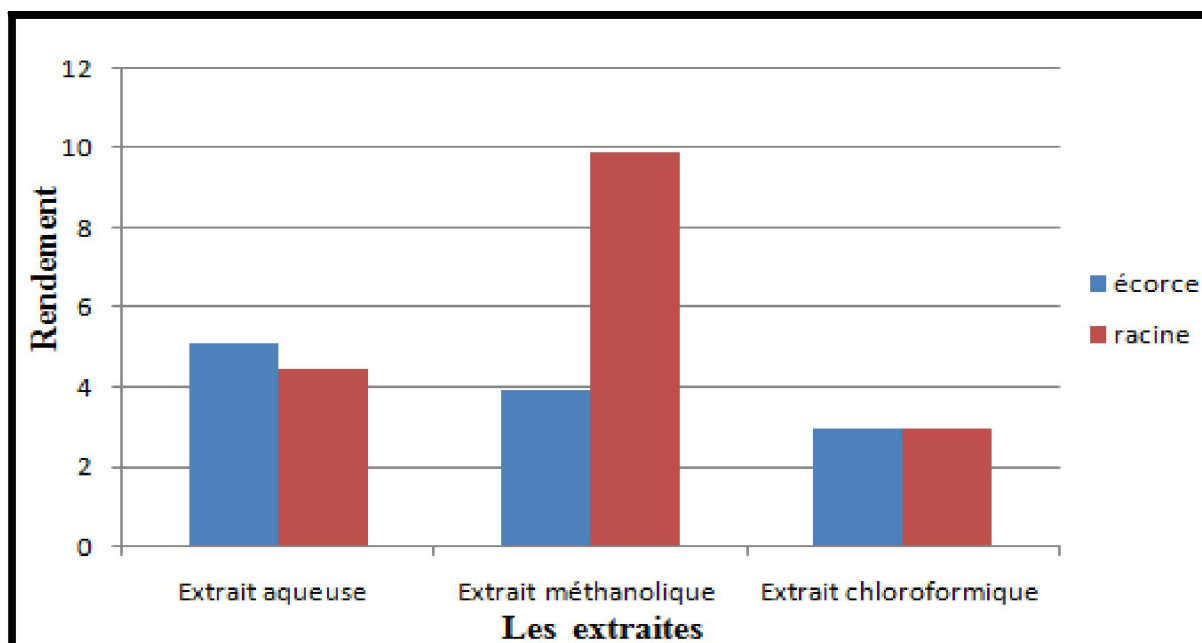
En outre, la composition chimique du grenadier dépend du cultivar, de la région de culture, des conditions pédoclimatiques, du stade de maturité du fruit et des pratiques culturales **(Sreekumar et al., 2014 ; Pande et Akoh, 2016, //Douaouri, 2018)**.

## 2. Rendements des extraits bruts en composés phénoliques

Pour optimiser une technique d'extraction, la réponse conventionnelle est le rendement d'extraction, qui estime la masse de molécules extraites par rapport au matériel de départ. Les résultats des rendements massiques en extraits bruts sont reportés dans le tableau 5 .

**Tableau .5.** Aspects, couleurs et rendements des extraits bruts de plante étudiée

Matériel végétal	Solvant	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Ecorce	Eau	Poudre	Jeune	5.1%
	Méthanol	Pâteux	Jeune foncé	3.92%
	Chloroforme	Pâteux	Marron	3%
Racine	Eau	Poudre	Marron	4.47%
	Méthanol	Pâteux	Brun rougeâtre	9.9%
	Chloroforme	Visqueux	Marron foncé	2.99%

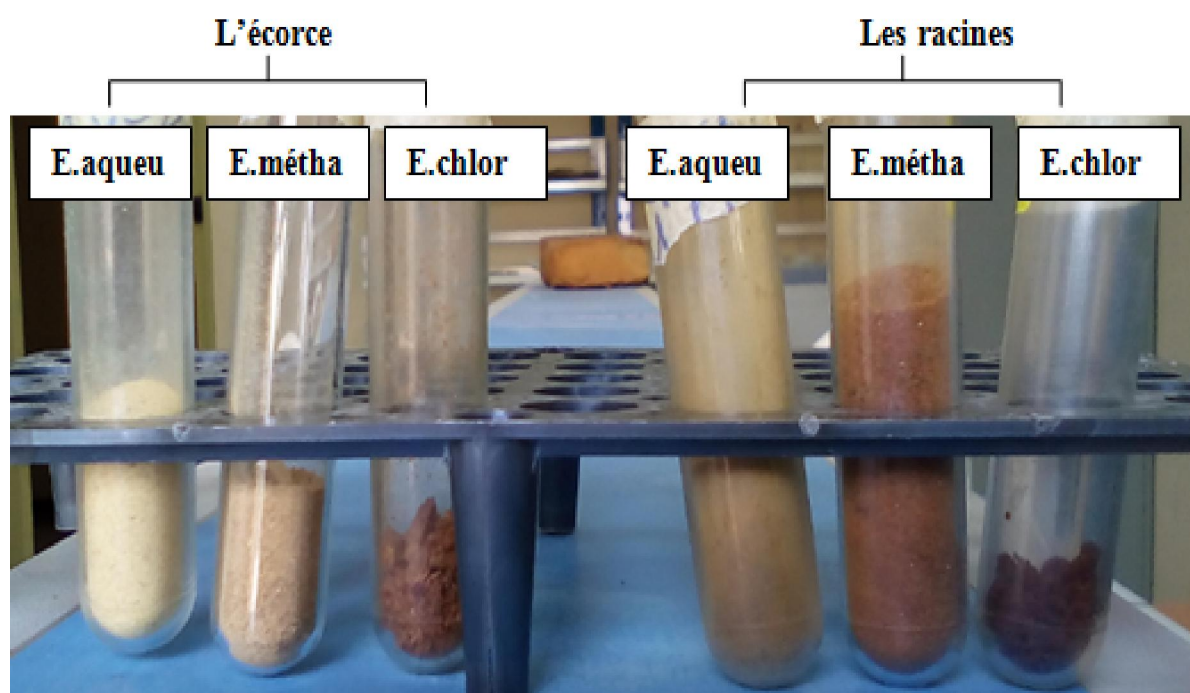


**Figure .18.** Rendement des extraites



Il ressort à travers l'observation des rendements d'extraction (Tableau.6.) que l'extrait aqueuse donne le meilleur rendement d'extraction de (5.1%) suivi de l'extrait méthanolique (3.92%) , le rendement le plus faible est obtenu avec l'extrait chloroformique (3%) chez L'écorce.

L'extrait méthanolique donne le meilleur rendement d'extraction (9.9%) suivi de l'extrait aqueuse (4.47%) le rendement le plus faible est obtenu avec l'extrait chloroformique (3%) chez les racines.

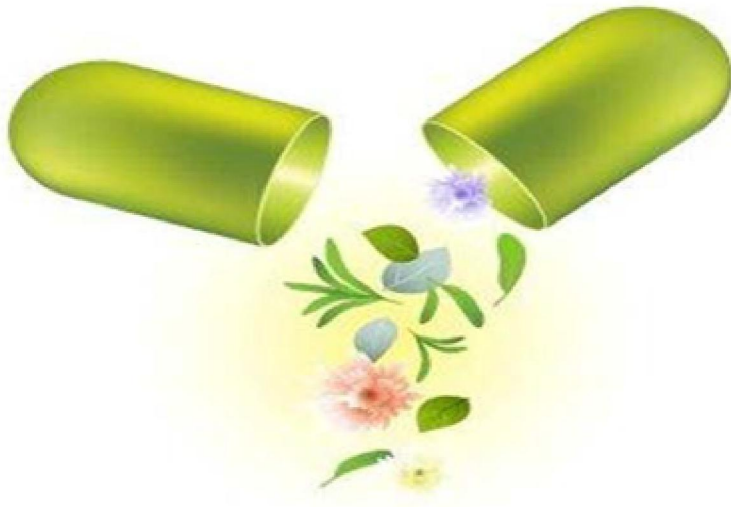


**Figure.19.** Différents extraits de *Punica granatum*

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant la croissance de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques ( Température , Sécheresse ,Salinité).**(Havsteen,2002).**

L'étude analytique des extraits méthanolique par CCM d'EMPG, en utilisant les systèmes suivants (sur photographies) visualisée avec UV : 254 et 366 nm, montre que presque toutes les organes de *Punica granatum* L sont très riche en métabolites secondaire surtout flavonoïdes et alcaloïdes ce qui confirme les résultats obtenue par les criblages précédent.**(Moualkia , Gourmati ,2015).**

# Conclusion



### Conclusion

Les plantes médicinales de la nature présentent une source indéfinie de molécules biopuissantes, ces molécules résultant de métabolites secondaires produits à partir de métabolisme des nutriments, que sont très utilisées par l'homme dans les domaines médicinales (médecine traditionnelle), pharmacologiques, cosmétiques et alimentaires.

Le présent travail porte sur l'étude bibliographique des différentes connaissances de la phytochimie de la famille Lythraceae, pour aider à la détermination des principaux éléments actifs isolés des espèces les plus étudiées du genre *Punica* dont le but de la valorisation et l'identification des principes actifs de ce genre.

L'étude pharmacologique du genre *Punica* a montré que ces plantes sont reconnues en médecine traditionnelle par leurs intérêts thérapeutiques (Propriété antioxydant, hypotenseur, antispasmodique, cataplasme de foulure, problèmes digestifs, ...).

L'étude phytochimique antérieure montre que l'ensemble des substances isolés et identifiés par les plantes de ce genre fait principalement des composés phénoliques, dont les plus rencontrés sont, des alcaloïdes et des flavonoïdes des tanins, Anthocyanes, et Saponines, dans l'écorce et des tanins, Saponines, et des alcaloïdes dans les racines.

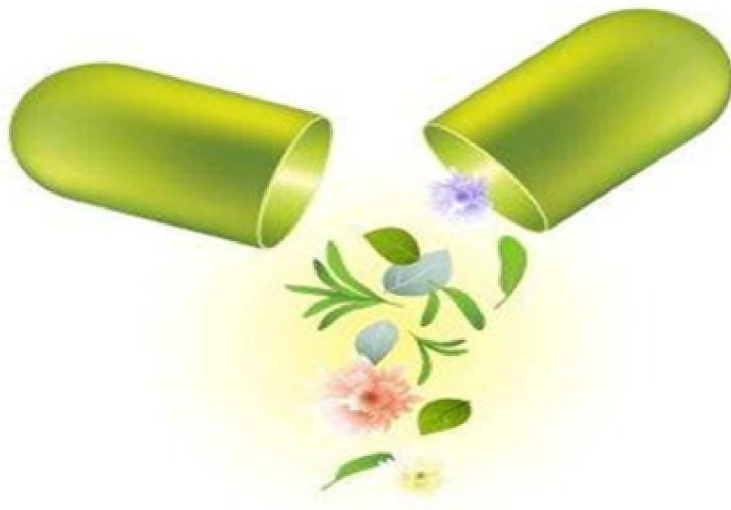
Le rendement de l'extrait brut de Méthanol/eau (80/20) est dépasse celle de l'extrait brut de chloroforme / eau (80/20).

Ces métabolites participent à l'adaptation de ces plantes à leurs environnements ainsi que de leurs propriétés biologiques et vertus thérapeutiques.

Et enfin on conclut que cette espèce végétale n'a pas fait l'objet de beaucoup d'études, pour cette raison, il sera intéressant de se focaliser sur l'étude de la variabilité de la composition chimique en tenant compte de la période et du lieu de récolte, etc... Ceci va permettre d'observer les différents changements sur les plans qualitatifs et quantitatifs des composition chimique afin d'estimer à quelles conditions ou à quelle période ces composition chimique pourrait avoir une activité intéressante.

# Références bibliographies

## Références bibliographies



## Références bibliographies

---

1. **Adouane S., 2016**, Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès, diplôme de magistère ,Université Mohamed Khider - Biskra-P195
2. **Alhijna D.,Bourich E .,2017**,Grenade de Beni Snous :étude et caractérisation chimique des extraits de pépins,évaluation de l'activité microbiologique, Thèse, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen,P64.
3. **Amana ,2007**,Les anacardiaceae du togo :les études botaniques,écologiques et propriétés antifongiques.thèse de doctorat de Université de reims chompagne ardenne.182 Antioxydant activity of stem and root of extract of rhubarb (*Rheum ribes*) :An edible medicinal plant.Food chemistry.103 :P623-630
4. **Ayad.,R, 2008**, Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique, Université Mentouri Constantine ,P 124
5. **Badiaga,M , 2011**, Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako ,P137.
6. **Bahorum.,T, 1997**, Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritis. p83-94..
7. **Ben Abdennebi A., 2012**, Le grenadier tunisien (*Punica granatum*) stimule le transport de glucose dans les cellules musculaires C2C12 via la voie insulino-dépendante de l'AKT et la VOIE insulino-indépendante de l'AMPK, Université de Montréal,P61..
8. **Benaissa,O , 2011**, Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine, P108.
9. **Bendjabeur.,S ,2012**, Evaluation du pouvoir antioxydant et antimicrobien des extrait végétaux (cas de la grenade *Punica granatum*L.) en vue de leur utilisation alimentaire , mémoire de magister, Ecole nationale supérieur agronomique El-harrach-Alger,P212.

## Références bibliographiques

---

10. **Benguelil et Aouifour ,2017**, Etude phytochimique et évaluations des activités anti-bactérienne et antifongique des deux espèces :*Achillea millefolium* L et *Sambucus nigra* L, Université des Frères Mentouri Constantine,P78.
11. **Benoit B., Tela B., 2013**, Base de donnés Nomenclature de la flore en France. BDNFF
12. **Benyahia,H , Hadbi,F ,2016**, Microencapsulation de la poudre de l'écorce de grenade(PEG) par coacervation complexe (pectine/caséine): Essai d'incorporation dans le yaourt, Mémoire de Master ,Université M'hamed Bougara Boumerdes,P55..
13. **Betioui M.,2017**, Etude de la possibilité d'amélioration de la culture et de la production du Grenadier commun, *Punica granatum* L. dans la région de Tlemcen,Universite De Tlemcen,P80.
14. **Boussalah,N ,2010**, Propriétés antioxydantes de deux variétés de grenade (*Punica granatum* L.) de la région de Béjaïa, Mémoire de Magister, Université Abderrahmane Mira – Bejaïa,P74.
15. **Bruneton, J., 1999**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3eme ed. Lavoisier, Paris. P198..
16. **Caliskan ,Bayazit, ,2012**, Phytochemical and antioxidant attributes of autochthonous Turkish pomegranates. Sci.Hortic. 147, 81-88.
17. **Djaziri A.,2017**, Contribution à l'étude phytochimique et L'évaluation de l'activité antioxydant dans le jus de grenade (*punica granatum .A*), Université Abou Bakr Belkaid – Tlemcen,Mémoire de master,P63
18. **Djefjel .,H,2017**. Contribution a l'étude phytochimique de quelques métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes, alcaloïdes) du calice de *Carlina acaulis* de la région de Tlemcen, Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen, diplôme de Master,P46.
19. **Djimli .,M Kouiza.,I 2016**, Contribution à l'étude phytochimique et du pouvoir antioxydant des feuilles de blé tendre (*Triticum aestivum*). Université des Frères Mentouri Constantine,P44.
20. **Douaouri .,N,2018**, Contribution à une étude phytothérapeutique, anti-inflammatoire et antioxydante du grenadier (*Punica granatum* L.) – Etude in vivo, Thèse de Doctorat, Universite Abdelhamid Ibn Badis De Mostaganem,P158.
21. **Dutertre J.M., 2011** , Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin generalist. Thèse

## Références bibliographies

---

- doctorat d'état, Univ. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences medicales, France, P33 .
22. **Elodie W., 2009**, Le grenadier (*Punica granatum*) plante historique et évolution thérapeutiques récentes, le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie Université Henri Poincare Nancy 1 ,P149.
23. **Ghabrier J. Y., 2010**. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1 (France): P165..
24. **Gil 2000**, Antioxidant capacity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. J. Agric.Food Chem. 48 (10), 4581-4589.
25. **Gori Z., Tebbale H., 2014**, Impact de différents modes de conservation sur les caractéristiques biochimiques de quelques plantes spontanées médicinales ,P72.
26. **Havsteen,B ,H ,2002**,The biochemistry and medical significance of the flavonoids.Pharmacology and Therapeutics , 96(52-3) ,P67-202.
27. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Cholest%C3%A9rol#mediaviewer/Fichier:Cholesterol.svg>
28. <http://fr.wikipedia.org/wiki/S%C3%A9cost%C3%A9ro%C3%AFde#mediaviewer/Fichier:Steroid-nomenclature.svg>
29. [http://fr.wikipedia.org/wiki/St%C3%A9ro%C3%AFde#mediaviewer/Fichier:Trimethyl\\_steroid-nomenclature.png](http://fr.wikipedia.org/wiki/St%C3%A9ro%C3%AFde#mediaviewer/Fichier:Trimethyl_steroid-nomenclature.png)
30. <https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/139/grenadier>.
31. **Ilbert H., Hoxha V., Sahi L., Courivaud A et Chailan C., 2016**, le marché des plantes aromatiques et médicinales: Analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie,226p.
32. **Ilham,2013**, Contribution a la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*punica granatum L*) : caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais, thèse de doctorat, Université De Béni Mellal (Maroc),P177.
33. Karumi Y., Onyeyili PA., Ogugbuaja VO., (2004) : Identification of active principles of M. balsamina (Balsam Apple) leaf extract. J Med Sci. 4(3):179-182
34. **Kharchi ,2017**, Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle du Gombo , Mémoire de Master,Université Med Khider Biskra,P83.
35. **Khorssi,2015**, substances d'origine végétale, Université Mohamed Khider-Biskra,P66.
36. **Krief .,S ,2003**,Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle ,P 32.

## Références bibliographies

---

37. **Lansky E.P., Ephraim P, Newman R.A., 2007**, *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of ethnopharmacology, vol 109, no 2, P206.
38. **Lee K , kim Y ,Lee H ,Lee C .2003** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals And A Higher Antioxidant Capacity Than Teas and Red Wine .J .Agric .Food Chem 51 ,PP7292-7295. .
39. **Malecky.,R, 2005**, Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. P205.
40. **Mansour.,A , 2009**, Investigation photochimique de l'extrait n- butanol de l'espèce centaurea AFricanai.
41. **Mauro.,N,2006**, Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, P186.
42. **Mohammedi.,Z, 2006** , Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen ,mémoire magister, Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen,P155.
43. **Moualkia .,H Gourmati .,M ,2015**, Détermination de substances naturelles a potentialités antioxydante et anti- inflammatoire de plantes Punica granatum L et Lawsonia inermis , Mémoire de master, Université Abderrahmane Mira Bejaia,P125.
44. **Mousnier A., 2013** Enquête ethnobotanique autour de la ville de la souterraine (crusse) ,P266.
45. **Naumann, R.A., 2007** .,1000 Plantes aromatiques et médicinales, P 336.
46. **Rakotonanahary.,M , 2012**, Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. P96.
47. **Rizk AM., 1982** Constituents of Plants Growing in Qatar I.A. Chemical Survey of Sixty Plants. Fitotrapia ,P53..
48. **Saihi R .,2011**,Etude phytochimique,Extraction des produits actifs de la plante Artemisia campestris de la région de Djalfa.Mise en évidence de l'activité biologique, Mémoire, Université d'oran,P70.
49. **Sanago, 2006** , Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université du bamako.
50. **Tomas-Barberan ,Gil,2008**, Improving the health-promoting properties of fruit and vegetable products. Technology and Nutrition No. 157. CEBAS (CSIC). Spain 2008).



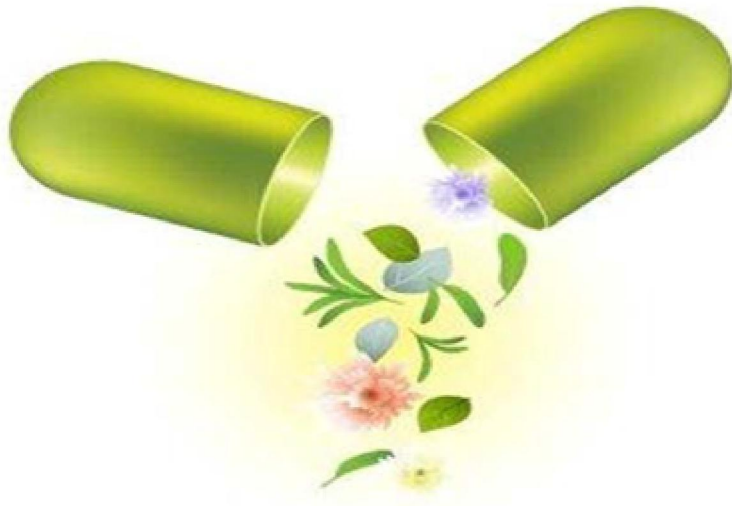
## Références bibliographies

---

51. **Willem.,J,2009**, 60 maux soignés par les huiles essentielles : l'aromathérapie au quotidien pour toute la famille, Les minipockets de santé, P368.
52. **Wilson .,R, 2002**, Aromatherapy: Essential oils for Vibrant Health and Beauty; Ed: PENGUIN PUTNAM , P368.
53. **Yezza .,S, Bouchama .,S,2014**, Index Des Métabolites Secondaires Vegetaux, diplôme de Licence, Université Kasdi Merbah, Ouargla ,P47.
54. **Zerrouk M.,2018**,Etude ethnobotanique des plantes médicinales de la famille de Lythracées, le grenadier (*Punica granatume. L*) et le henné (*Lawsonia inermis. L*) cas de la région d'Oued righ),P56.


# Annexes

# Annexes



**Annexe .1**

Préparation de réactif

Réactifs de bouchardat	
2 g de Iode	
2 g de Iodure de potassium	
100 ml d'eau distillée	

**Annexe .2**

Les matériels utilisés



**Centrifugation**



**Etuve**



**Balance analytique**



**Rotavapor**



**Bain mari**