

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences alimentaires

Spécialité/Option : Qualité des produits et sécurité alimentaire

Département : Biologie

Thème

Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries lactiques: Synthèse bibliographique

Présenté par :

HADDAD Marwa

NASRI Ouarda

MANSOURI Abir

Devant le jury composé de :

Président	: ZEBSA R.	M.A.B	Université de Guelma
Examinatrice	: BENHALIMA L.	M.C.B	Université de Guelma
Encadrant	: MEZROUA E.	M.C.B	Université de Guelma

Octobre 2020

Remerciements

Avant tout nous remercions « ALLAH » tout puissant qui nous a donné le courage, la santé, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous voudrions remercier Monsieur ZEBBA R., enseignant à l'Université 8 Mai 1945 Guelma d'avoir accepté de présider le jury de soutenance. Soyez assurée de mon plus profond respect.

Nous tenons à remercier aussi Madame BENHALIMA L., enseignante à l'Université 8 Mai 1945 Guelma d'avoir accepté d'examiner ce travail. Veuillez agréer ma sincère gratitude.

Nous remercions profondément Monsieur MEZROUA E. , enseignant à l'Université 8 Mai 1945 Guelma de nous avoir dirigé, conseillé et encouragé tout au long de ce travail. Il est aussi agréable de vous adresser un grand merci pour la sympathie, la confiance et la liberté dont j'ai bénéficié au cours de la réalisation de cette thèse.

Nous remercions également nos parents, nos amis et toute personne qui nous a aidé et encouragé pour réaliser ce travail.

Liste des figures

Figure 1 : Arbre du <i>Punica granatum</i>	04
Figure 2 : Les fleurs du <i>Punica granatum</i>	05
Figure 3 : Les feuilles du <i>Punica granatum</i>	06
Figure 4 : le calice du <i>Punica granatum</i>	06
Figure 5 : La corolle du <i>Punica granatum</i>	07
Figure 6 : Les étamines du <i>Punica granatum</i>	07
Figure 7 : Le fruit du <i>Punica granatum</i>	08
Figure 8 : Les grandes familles de composés phénoliques	17
Figure 9 : Evolution du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> des yaourts étuvés additionnés de l'extrait de l'écorce de <i>Punica granatum</i>	27
Figure 10 : Evolution du nombre de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> des yaourts étuvés additionnés de l'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i>	28

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification botanique du grenadier.....	03
Tableau 2 : Composition du jus de grenades en acides organiques, en sucres et e minéraux.....	09
Tableau 3 : Propriétés pharmacologiques des différentes parties du grenadier	14
Tableau 4 : Evolution du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> (N×10UFC/ml) des yaourts expérimentaux additionnés de l'extrait des écorces de grenade (<i>Punica granatum</i>).....	28
Tableau 5 : Evolution du nombre de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (N×103UFC/ml) des yaourts expérimentaux additionnés de l'extrait des écorces de (<i>Punica granatum</i>)	29

Sommaire

Introduction.....	01
Chapitre I : Généralités sur le grenadier	
1 . Historique.....	02
2 .Origine géographique.....	02
3 .Nomenclature.....	03
4.Classification.....	03
5 .Description botanique du grenadier	04
5.1. Les feuilles.....	05
5.2. Les fleurs.....	05
5.3. Le calice	06
5.4. La corolle	07
5.5. Le gynécée	07
5.6. Les étamines.....	07
5.7. Les fruits	08
5.7.1. Composition biochimique des différentes parties du fruit	09
5.8.Les grains	10
5.9.L'écorce du fruit	10
6. La culture du grenadier	11
7.Utilisation thérapeutique	11
Chapitre II : Les composés phénoliques	
1. Généralités	16
2 .Classification des polyphénols.....	16
2.1. Les acides-phénoliques	16
2.2. Flavonoïdes	18

2.3. Les tannins	18
2.4. Les lignanes	18
2.5. Les stilbènes.....	18

Chapitre III : Les bactéries lactiques

1. Généralités	20
2. Origine et Habitat	20
3. Caractéristiques générales des bactéries lactiques	21
3.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	21
3.2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	22
4. Intérêt des bactéries lactiques	22
4.1. Dans le domaine thérapeutique.....	22
4.2. Dans le domaine alimentaire.....	23
5. Propriétés technologiques des bactéries lactiques	23
5. 1. Activité acidifiante.....	23
5. 2. Activité protéolytique	24
5. 3. Activité lipolytique	24
5. 4. Production d'exopolysaccharides (EPS)	24
5. 5. Production de bactériocines	25
5. 6. Action probiotique	25

Chapitre IV : Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries lactiques

1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	27
2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	28
Conclusion	31
Références bibliographiques.....	32

Résumé

Introduction

Introduction

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

La grenade est l'un des produits les plus riches en polyphénols solubles, les tanins et les anthocyanes. Ces constituants présentent diverses activités biologiques telles que l'élimination des radicaux libres, l'inhibition de la croissance microbienne, la diminution des risques de maladies cardiovasculaires, de maladies cérébro-vasculaires et certains cancers (**Mena et al., 2011**). 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 et 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, 'Bagua' en Inde, 'Malas Yazdi' en Iran et 'Wonderful' aux USA (**Caliskan et Bayazit, 2012**).

Dans ce contexte général, notre travail a pour objectif de mettre en lumière l'effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries lactiques en réalisant une recherche bibliographique.

Pour ce faire, ce mémoire est constitué de quatre chapitres intitulés respectivement : généralités sur le grenadier, les composés phénoliques, les bactéries lactiques et l'effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries lactiques.

Chapitre I : Généralités sur la grenade

1. Historique

Les fruits du grenadier, avec leurs graines, écorces, fleurs et jus, ont été consommés durant des milliers d'années (**Smith, 2014**). Il est présent dans les anciens textes grecs, égyptiens, les textes bibliques, le Coran et dans les traditions populaires des différents pays bordant la Méditerranée.

En Egypte, la grenade était considérée comme le fruit des dieux. Le symbole de la fertilité et de la richesse, en raison de l'abondance de ses graines et de sa forme ronde (**Ruis, 2015**).

Les grenades étaient aussi un symbole commun de la fertilité dans les rites des mariages bédouins, chinois, grecs, indiens, perses et romains, entre autres. Les anciens Egyptiens préparaient un vin de grenade, le «shehan », obtenu en faisant fermenter les grains de grenade. De plus, les Egyptiens enterraient ce fruit avec les morts et le représentaient sur les murs des tombeaux.

Dans le temps de Salomon, les fleurs du grenadier ornaient les piliers ainsi que les parements brodés des vêtements sacerdotaux. Le grenadier poussait dans les jardins suspendus de Babylone (**Benzi, 1999**).

2. Origine

Le grenadier serait originaire d'Iran et d'Afghanistan, où il croît de façon spontanée depuis plus de 4000 ans. Il existe une multitude de formes spontanées et de variétés cultivées. On le retrouve également sur des bas-reliefs égyptiens datant de 2500 ans avant le Christ et au jardin botanique (**Camouretti et Comet, 1992**).

En Asie Mineure dans la région méditerranéenne, ainsi qu'en Afrique de Nord, l'espèce se serait naturalisée à la suite d'une très ancienne culture, et de sa dispersion par les oiseaux. (**Evreinoff, 1957**).

➤ Origine du Grenadier cultivé

La culture du Grenadier est considérée comme une domestication d'une espèce sauvage, elle n'a pas débuté dans la zone méditerranéenne comme on le supposait encore récemment

Chapitre 1 : Généralités sur la grenade

mais elle a pris naissance en Asie occidentale à l'époque préhistorique son extension dans l'antiquité vers l'Occident (zone méditerranéenne) d'abord puis vers l'Inde et la Chine. (Evreinoff, 1957).

3. Nomenclature

Selon Hmid (2013), la nomenclature de Grenadier est :

- Nom scientifique : *Punica granatum*
- Nom commun : Grenadier

4. Classification

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

Tableau 1 : Classification botanique du grenadier (Wald, 2009).

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

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

Chapitre 1 : Généralités sur la grenade

Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Sous embranchement	<i>Dicotylédones vraies</i>
Classe	<i>Rosidées</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Lythraceae</i>
Genre	<i>Punica</i>
Espèce	<i>Punica granatum</i>

Il convient donc de retenir que dans cette nouvelle classification, la famille des Punicacées n'existe plus. Le grenadier appartient à la famille des Lythracées, famille comportant 30 genres et 600 espèces (Wald, 2009).

5. Description botanique du grenadier

Le grenadier est un arbre ou arbuste buissonnant de 2 à 5 m de hauteur, légèrement épineux, au feuillage caduc et au tronc tortueux. Il croît majoritairement dans toute la région méditerranéenne, de façon subspontanée ou cultivée (Wald, 2009).



Figure 1 : Arbre du *Punica granatum* (Bakhtaoui, 2019).

5.1. Fleurs

La période normale de la floraison de différents cultivars de grenadier se produit généralement entre le mois de mars et de mai. Elle dure jusqu'à 10 –12 semaines et voire plus selon les variétés et les conditions géographiques (**Ben-Arie et Segal, 1984**).

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 (**Melgarejo et Salazar, 2000**).

La dominance revient généralement aux fleurs mâles avec un taux de 60 à 70 %. A l'heure actuelle, les principales techniques d'extraction utilisées sont le pressage à froid et l'extraction critique au CO₂ (**Spilmon, 2013**).

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 Desai, 1993**).



Figure 2 : Les fleurs du *Punica granatum* (**Spilmon, 2013**).

5.2. Feuilles

Les feuilles du grenadier sont opposées. Elles peuvent avoir une disposition alterne sur les rejets ou être en touffes sur les pousses courtes. Elles sont glabres sur les deux faces.

La face supérieure est verte foncée et à nervure médiane nettement déprimée. La face inférieure, verte claire, montre une nervure médiane très saillante. Elles ne possèdent pas de stipule, ces feuilles entières, lancéolées, assez coriaces et brillantes, présentent un limbe elliptique allongé, de 3 à 8 cm de long. Leur sommet peut être obtus ou allongé.

Chapitre 1 : Généralités sur la grenade

Elles sont munies d'un court pétiole, de 1 à 5 mm de long, qui est généralement rougeâtre dessus (**Godet, 1991**).



Figure 3 : Les feuilles du *Punica granatum* (**Athmen, 2019**).

5.3. Calice

Le calice est formé de 4 à 8 sépales courts, charnus, épais, d'une belle couleur rouge vif, persistants, d'abord dressés puis étalés après la fécondation (**Wald, 2009**).



Figure 4 : le calice du *Punica granatum* (**Athmen, 2019**).

5.4. Corolle

La corolle comprend 4 à 8 pétales minces alternant avec les sépales. Ces pétales sont généralement très colorés, souvent d'un rouge orangé vif, mais pouvant prendre de nombreuses autres teintes selon les variétés, tel que blanc, jaune pâle, crème ou saumon. Ils ont un aspect chiffonné.



Figure 5 : La corolle du *Punica granatum* (Wald, 2009).

5.5. Gynécée

Le gynécée est formé de 8 ou 9 carpelles soudés au tube du calice, disposés sur deux verticilles. L'ovaire, infère, est surmonté d'un style conique terminé par une tête stigmatique.

5.6. Etamines

Les étamines, libres et très nombreuses, tapissent la paroi interne du réceptacle floral, à partir de la corolle (Courchet, 1897).



Figure 6: Les étamines du *Punica granatum* (Athmen, 2019).

5.7. Fruit

Le grenadier, bien conduit entre en production à partir de la quatrième année. La période de maturité des grenades a lieu entre la fin du mois d'août et de décembre. Le fruit du grenadier est une baie ronde à écorce dure, sa taille est d'une pomme ou d'une orange, son diamètre varie entre de 2 à 12 cm (Chakass et Carbonnier Jarreau, 2007). Il est très coloré,

Chapitre 1 : Généralités sur la grenade

généralement de teint rouge vif, peut, selon les variétés, avoir une peau lisse de teinte blanc-jaunâtre, ou jaune foncé marbré de rouge ou encore violet très foncé de l'extérieur et d'un beau jaune à l'intérieur du fruit (Erkan et Kader, 2011).

La baie renferme de nombreuses graines angulaires ou arilles. Le fruit contient en moyenne 600 graines pulpeuses, contenues dans des loges, séparées par des cloisons ténues et nombreuses. Toutes ces graines de couleur rouge et de teinte variable possèdent un mésocarpe charnu et gélatineux, acidulé et sucré, représentant la partie comestible du fruit. Ces graines peuvent être classées d'après leurs qualités gustatives en trois groupes : Acide (acidité supérieur à 2%), sucré-acide (acidité entre 1 et 2%) et sucré (acidité inférieure à 1%), ce dernier présentant parfois des graines à téguments entièrement charnus (Evreinoff, 1957). Communément ces caractères sont considérés comme définissant trois variétés de la même espèce.

Toutefois, les arilles varient par la taille alors que les graines varient par leur dureté entre les différentes variétés. Les variétés connues sans pépins contiennent réellement des graines tendres (Holland et Hatib, 2009).



Figure 7 : Le fruit du *Punica granatum* (Ángel, 2009).

5.7.1. Composition chimique des fruits (grenade)

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

➤ Le jus de grenade

Le jus de grenade, comme de nombreux autres jus de fruits, se compose de sucres tels que le glucose, le fructose et le saccharose et d'acides organiques tels que l'acide citrique, l'acide ascorbique, l'acide gallique et l'acide ellagique (Melgarejo et Salazar, 2000).

Chapitre 1 : Généralités sur la grenade

Ainsi que d'acides aminés comme la valine, proline et méthionine. Il contient aussi des flavanols et des indole-amines comme la tryptamine, la sérotonine, neuromédiateur et thocyanidines, responsables de la couleur rouge des grenades.

Le tableau 2 montre les valeurs minimales et maximales obtenues pour les acides parmi les acides aminés trouvés dans la grenade, il y a la valine, proline et méthionine. D'autres études ont montré que le jus a une composition élevée en vitamines hydrosolubles dont le plus important est la vitamine C avec une concentration qui varie entre 4 et 6 mg/100g de proportion comestible selon le *codex alimentarius* en 2009.

Tableau 2 : Composition du jus de grenades en acides organiques, en sucres et en minéraux (mg/100 g de la partie comestible du fruit) (Melgarejo et Salazar, 2000).

	Composé	Quantité
Acides organiques	Acide citrique	0,09- 0,32
	Acide malique	0,10- 0,21
	Acide oxalique	0,01- 0,07
	Acide tartrique	0,01- 0,05
Sucres	Fructose	5,54- 8,24
	Glucose	5,53- 7,80
	Saccharose	0,01- 0,07
Minéraux et métaux lourds	Phosphore	0,30
	Fer	259,00
	Potassium	3,00
	Calcium	3,00
	Sodium	3,00
	Manganèse	0,12
	Magnésium	0, 15
	Cuivre	0,07
	Sélénium	0,60
Vitamine	Vitamine B1	0,03
	Vitamine B2	0,03
	Vitamine C	9,90- 17,60

5.8. Graines

L'huile obtenue à partir des graines de grenade (12 à 20% du poids des pépins) est composée à plus de 95% de triglycérides, eux-mêmes constitués majoritairement (>70%) d'un acide gras conjugué de l'acide linoléique (CLnA) : l'acide punicoïque (C 18:3 - 9cis, 11trans, 13cis). Le deuxième acide gras majoritaire est l'acide linoléique, puis on trouve les acides oléique, palmitique et stéarique en quantité très minoritaire.

Il a été mis en évidence l'existence d'hormones stéroïdiennes dans les graines de grenade. L'huile contient aussi des composés mineurs tels que des tocophérols, stérols, stéroïdes, et cérébrosides. Les pépins, sont composés d'une matrice rigide dont la composition est bien moins décrite. Elle comporte en majorité des lignines ($\approx 35,3\%$), des protéines ($\approx 13,2\%$), des pectines ($\approx 6\%$), des sucres (**Lansky et Newman, 2007**).

5.9. Ecorce de grenade

La peau de la grenade est composée à 80% d'eau, de polysaccharides complexes ($\approx 8\%$), dont des polysaccharides solubles ($\approx 5\%$), représentés par des pectines et de l'hémicellulose. Elle contient aussi des minéraux, dont le potassium, calcium, magnésium, phosphore et sodium (**Spilmon, 2013**).

L'écorce du fruit est très riche en flavonoïdes et en tanins (**Lansky et Newman, 2007**). Il contient environ 25% d'ellagitanins tels que la punicaline, la punicalagine, la corilagine, la granatine A et la granatine B, et des flavonoïdes tels que: lutéoline, quercétine et punicalin, spécifiques à la grenade (**Seeram et Schulman, 2006**).

L'écorce du fruit contient également deux importants acides hydroxybenzoïques, l'acide gallique et l'acide éllagique, elle renferme aussi des mol de nombreux ellagitanins sont aussi présents, tels que la punicaline, la punicalagine, la corilagine, la granatine A et la granatine B. écules sa coloration jaunes et anthocyanidine; responsables de la couleur rouge des grenades. L'écorce de grenade se compose également, d'acide gras, de catéchines, de quercétines et de rutines (**Hmid, 2013**).

6. Culture de grenadier

Le grenadier est un petit arbuste à longue durée de vie. Il est très résistant et s'acclimata très bien dans de nombreux milieux. Cependant, respecter au mieux ses exigences assurera au grenadier une bonne croissance et une bonne fructification (**Garnier et al., 1961**). La

Chapitre 1 : Généralités sur la grenade

multiplication du Grenadier se fait par semis, par boutures, par marcottes, par drageons et par greffe. C'est le bouturage qui est pratiquement le seul mode de multiplication (**Evreinoff, 1957**).

C'est par scions d'un an qu'est effectuée la plantation en place. On choisira de préférence des scions de 0,60 à 0,80 cm de haut, avec un système racinaire bien chevelu; les scions doivent présenter 3-5 rameaux latéraux déjà constitués. On peut planter en automne (novembre-décembre), ou au printemps (mars-avril). Le Grenadier n'a pas besoin d'être taillé, un élagage de temps en temps s'impose parfois.

7. Propriétés thérapeutiques

Toutes les parties du fruit du grenadier ont des effets médicaux bénéfiques sur certaines pathologies (Tableau 3).

En médecine Ayurvédique, le grenadier est considéré comme « une pharmacie en soi », il est utilisé pour soigner les maladies gastro-intestinales et les affections parasitaires. L'écorce et les racines sont utilisées traditionnellement pour traiter la dysenterie, les diarrhées, les ulcères et pour traiter les aphtes buccaux. Ils sont connus aussi pour leurs propriétés astringentes, vermifuges et anthelminthiques (**Lansky et Newman, 2007**).

Par ailleurs, certaines études démontrent l'efficacité du jus et des polyphénols présents dans le fruit du grenadier contre les infections virales d'origine alimentaires ainsi qu'un potentiel pour la prévention ou la réduction des infections à norovirus humains (**Su et al., 2010**). Le jus rafraîchissant du fruit de *Punica granatum* L. est recommandé pour guérir les maladies de la vésicule biliaire.

• Activité anti-cancérogène

Les extraits de jus de grenade ont une activité antiproliférative, antiangiogène et pro-apoptotique sur des cellules cancéreuses, qui permet de ralentir le développement de ces cellules et la formation de tumeurs prostatiques. L'acide ellagique, l'acide caféique, la lutéoline et l'acide punique sont des molécules présentes dans la grenade et elles sont testées en tant qu'inhibiteurs de la croissance *in vitro* de cellules cancéreuses humaines de prostate (**Hmid, 2013**).

D'autre part, ils semblent présenter d'intéressantes et multiples propriétés contre le cancer du sein et cancer du côlon.

Chapitre 1 : Généralités sur la grenade

L'huile des pépins de grenade, ainsi que les polyphénols présents dans le péricarpe et du jus fermenté supprimerait la prolifération et l'invasion de plusieurs cellules cancéreuses de la prostate. L'huile de pépins de grenade a un potentiel comme agent de chimio prévention topique contre le cancer de la peau, principalement en raison de sa haute teneur en acide punique (Albrecht *et al.*, 2004).

• Activité antimicrobienne

L'écorce du fruit de *Punica granatum* une activité antibactérienne. La combinaison unique des tanins et des alcaloïdes issus de cette écorce, ainsi que leur action synergique, explique probablement cette activité antibactérienne non retrouvée dans d'autres fruits également riches en tanins et alcaloïdes (Hmid, 2013).

Les polyphénols de grenade ont des effets antiviraux et antimicrobiens intéressants. Le jus de grenade contient des inhibiteurs d'entrée HIV-1. L'étude de ce complexe montre qu'il bloque la liaison du virus avec certains récepteurs cellulaires. Le fruit contient un tannin fort considéré comme une nutrition amère 80% de l'extrait méthanolique de l'écorce du fruit est un puissant inhibiteur de *Listeria monocytogenes* (Douaouri, 2018).

• Activité anti-inflammatoire

Il y a de nombreuses preuves scientifiques qui démontrent clairement la propriété anti inflammatoire de la grenade et de ses produits dérivés (Lansky et Newman, 2007).

Certains extraits de grenade, notamment les pépins pressés à froid, inhibent l'action des enzymes cyclo-oxygénases et lipo-oxygénases in vitro. La cyclo-oxygénase est une enzyme très importante pour la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines, qui sont des médiateurs importants de l'inflammation, de sorte que cet acide se trouve fortement inhibé par la consommation d'extraits de grenade. La lipo-oxygénase conduit à la transformation de l'arachidonique en leucotriènes, qui sont d'autres médiateurs de l'inflammation, qui est également inhibée par les extraits de pépins de grenade (Tomás-Barberán, 2010).

• Activité antidiabétique

Le diabète est la maladie métabolique la plus commune dans le monde, et elle affecte des millions de personnes. Le diabète occupe la troisième place en ordre d'importance.

Chapitre 1 : Généralités sur la grenade

C'est là que la grenade et ses produits dérivés peuvent jouer un rôle primordial, car il y a de nombreuses preuves scientifiques concernant les propriétés antidiabétiques de ce fruit (**Li et al., 2005**).

Le diabète est associé à un niveau élevé de stress oxydatif et au développement de l'athérosclérose; il paraît évident que les composés antioxydants de la grenade peuvent exercer une influence significative sur le diabète.

Par exemple : **Katz (2007)** a démontré l'activité hypoglycémique des fleurs, des pépins et du jus de grenade. Les mécanismes selon lesquels la grenade et ses produits dérivés exercent cet effet ne sont pas encore connus. Cependant, et bien que les hypothèses concernant ces mécanismes sont nombreuses, elles semblent toutes suggérer l'inhibition de certains marqueurs génétiques et de certains composés qui induisent le stress oxydatif. Par exemple, (**Li et al., 2005**) ont suggéré l'inhibition de l'enzyme glucosidase en tant que mécanisme pour la diminution du diabète, et en rapport avec des extraits de fleurs de grenade. **Parmar et Kar (2007)** ont démontré que la consommation d'extrait d'écorce de grenade normalise les effets adverses d'un composé induisant le diabète chez les souris. **Mcfarlin et Strohacker (2008)** ont étudié l'effet de l'huile de pépins de grenade sur l'accumulation de graisse chez les souris, et ils ont observé une amélioration de la sensibilité à l'insuline. Toutes ces preuves ajoutées à celles relatives aux maladies cardiovasculaires, suggèrent un effet bénéfique de la grenade et de ses produits dérivés sur le diabète ainsi que sur de nombreuses maladies cardiovasculaires chez des patients diabétiques, car cet effet a également été démontré sur les maladies coronaires.

Les composés phénoliques ont une influence sur la glycémie par le biais de nombreux mécanismes, parmi lesquels l'inhibition de l'absorption du glucose à travers l'intestin ou à travers les tissus périphériques. Le mécanisme le plus probable dans la diminution du diabète est l'inhibition de l'enzyme -glucosidase. D'autres mécanismes suggèrent l'inhibition de la glycémie due à une absorption par les tissus périphérique.

• **Activité antioxydante**

Les résultats de plusieurs expériences conduisent le jus de grenade en tête des onze jus de fruits. D'une part, le jus de grenade présente la plus forte concentration en polyphénols. D'autre part, il possède le plus fort pouvoir pour inhiber l'oxydation des LDL. Enfin, il montre

Chapitre 1 : Généralités sur la grenade

la plus grande capacité à bloquer les radicaux libres. Le jus de grenade, réalisé à partir de fruits entiers, semble à être un très bon antioxydant.

Toutefois, ces activités thérapeutiques sont attribuées à différents mécanismes (Wald, 2009). Elles ont ainsi été investigués à grande échelle tant dans les modèles *in vitro* qu'*in vivo*. Cependant, les études chez l'homme restent peu nombreuses. La plupart des recherches se sont concentrées sur les propriétés antioxydantes, anti-carcinogéniques, anti-inflammatoires et antidiabétiques du grenadier.

Tableau 3 : Propriétés pharmacologiques des différentes parties du grenadier (Douaouri, 2018).

Partie de la plante	Activité / effet	Résultats de l'étude	Références
Feuilles	antidiabétique	L'extrait éthanolique des feuilles a montré un effet antidiabétique remarquable.	(Das et Barman, 2012).
Jus	Amélioration de la mobilité des spermatozoïdes	La consommation de jus a montré une augmentation de la concentration de spermatozoïdes dans l'épididyme, de la mobilité des spermatozoïdes et de la densité des cellules spermatogénèse.	(Türk <i>et al.</i> , 2008).
Graines et écorces	Antidiabétique	L'extrait des graines et d'écorces a montré une réduction de l'augmentation de la glycémie induite par l'alloxane. L'extrait d'écorce a présenté une activité significativement meilleure que l'extrait de graines.	(Das et Sama, 2009).
Supplément de grenade	Neuro-protecteur	Les enzymes liées à la membrane ont été modifiées dans les régions du cerveau de souris Tg2576 traitées avec un régime témoin, et la supplémentation en grenade rétablit les activités des	(Braidy <i>et al.</i> , 2013).

Chapitre 1 : Généralités sur la grenade

		enzymes à des niveaux comparables aux valeurs notées dans les contrôles.	
Ecorces	Protection contre la néphrotoxicité	L'administration d'écorce de fruits a montré une amélioration notable des anomalies liées à la néphrotoxicité.	(El Habib, 2013).
Fleurs	Protection contre la néphrotoxicité	L'extrait des fleurs du grenadier a un rôle protecteur et améliore la néphrotoxicité induite par la gentamicine.	(El Daly, 2016).

Chapitre II : Les composés phénoliques

1. Généralités

Les polyphénols, également appelés tanins végétaux, se trouvent dans une grande variété de produits alimentaires (**Haslam, 1989**). Les composés phénoliques interviennent dans un grand nombre de processus physiologiques chez la plante et dans les interactions avec leur environnement, leur structure leur conférant des fonctions très spécifiques. Ils constituent un groupe important de métabolites secondaires, environ 10 000 composés ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui. La plupart des molécules phénoliques sont formées à partir de deux acides aminés aromatiques : la tyrosine et surtout de la phénylalanine.

2. Classification des polyphénols

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants (**Hmid, 2013**).

Les composés phénoliques sont classés en plusieurs familles selon leurs structures: les acides phénoliques, les tanins, les lignanes, les flavonoïdes, les stilbènes, les coumarines et les curcuminoïdes (**Fessard, 2017**).

Les composés phénoliques sont de puissants antioxydants, ils sont capables de piéger les radicaux libres ou espèces réactives. Cette activité antioxydante dépend du nombre et de la position de leurs groupements hydroxyles.

2.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés simples formés par un seul noyau phénolique (**Amandine, 2016**). Les acides phénoliques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbone. Ils sont principalement présents dans la grenade par la présence de l'acide gallique et l'acide ellagique (**Hmid, 2013**).

Chapitre II : Les composés phénoliques

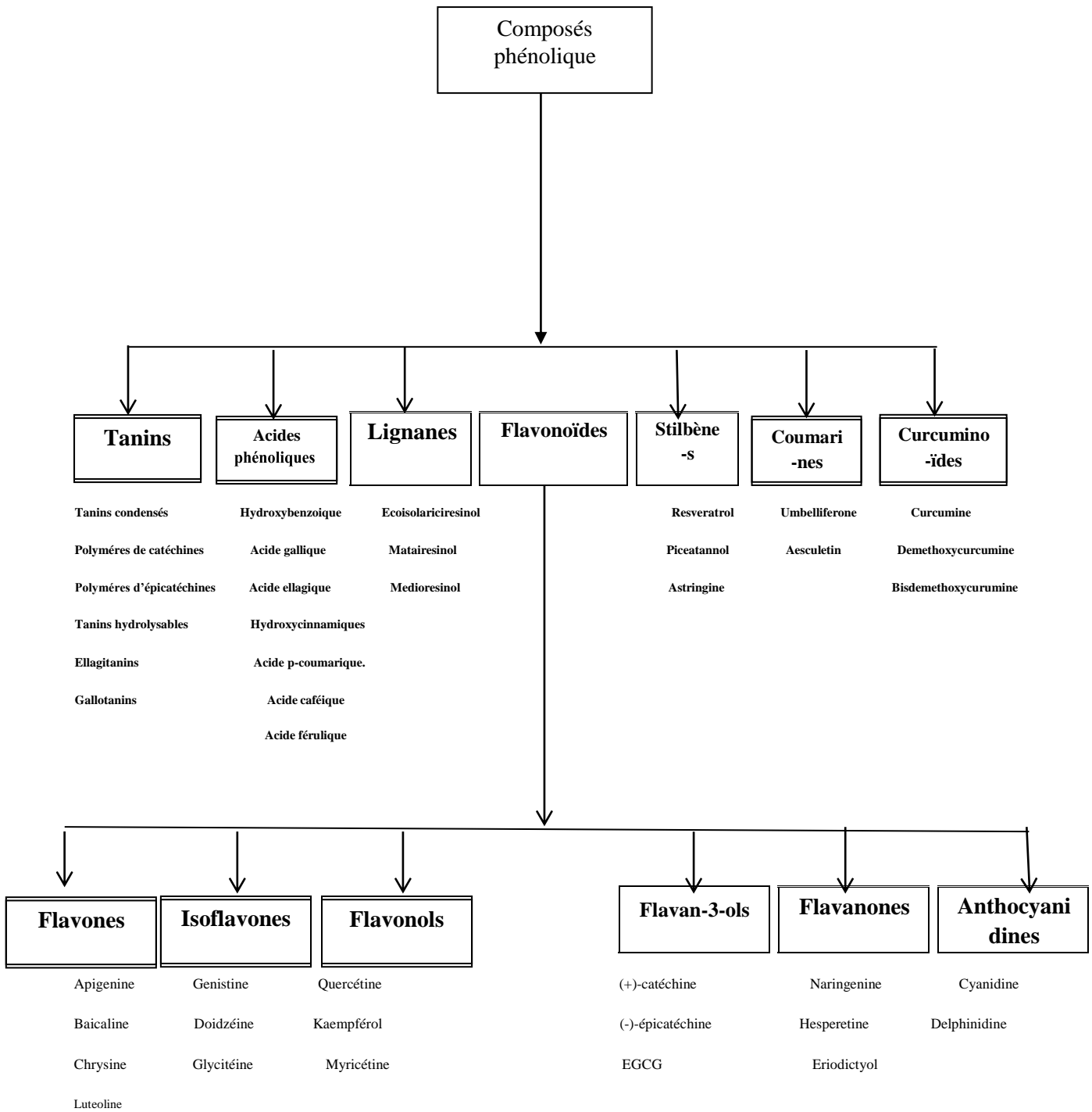


Figure 8 : Les grandes familles de composés phénoliques (Fessard, 2017).

2.2. Flavonoïdes

Le nom flavonoïde est issu du latin « Flavus » qui signifie jaune. Ce sont des pigments qui sont responsables de la coloration des fruits et des fleurs. Les différentes couleurs dépendent de la structure mais également du pH du milieu. Ils peuvent avoir comme rôle d'attirer les insectes pollinisateurs.

Les flavonoïdes sont classés en six classes : anthocyane, flavonol, flavone, flavanone, isoflavone, flavanol (**Douaouri, 2018**).

2.3. Tannins

Ils peuvent être classés en deux groupes: tanins hydrolysables et tanins condensés (également appelés tanins de catéchine ou proanthocyanidines). Les tanins hydrolysables peuvent être ensuite divisés en gallotanins, qui fournissent du sucre et de l'acide gallique à l'hydrolyse, et les ellagitanins qui, par hydrolyse, ne donnent pas seulement du sucre et de l'acide gallique, mais aussi de l'acide ellagique (**Douaouri, 2018**). Les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou proanthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaines, les tanins jouent un rôle important dans les qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits (**Hmid, 2013**).

2.4. Lignanes

Il s'agit de composés naturels, décrits la première fois par Haworth en 1936 comme un ensemble de deux molécules ayant un squelette phénylpropane.

Les lignanes sont en fait issus de l'union de deux unités monolignols. Les monolignols sont des dérivés de l'alcool cinnamique et ont en commun un squelette 1-phénylpropane.

Les lignanes sont répandus dans le règne végétal, c'est dans les graines de sésame et de lin que l'on en retrouve le plus : sésame 1000 à 2000 µg/g et lin 347 à 1140 µg/g (**Amandine, 2016**).

2.5. Stilbènes

Les stilbènes se différencient par le nombre et les positions des fonctions hydroxyles sur les cycles phénoliques, la conjugaison avec des sucres et des groupements fonctionnels divers

Chapitre II : Les composés phénoliques

(méthyles, méthoxyles...) et la formation d'oligomères résultant de la condensation oxydative des monomères.

Ces composés sont principalement retrouvés dans des familles comme les Melanthiaceae, Polygonaceae, Moraceae, Vitaceae... et sont également retrouvés dans le raisin, les fruits rouges, les cacahuètes ou la rhubarbe pour une teneur allant de quelques milligrammes à plusieurs centaines de milligrammes par kilogrammes de matière sèche (**Amandine, 2016**).

Chapitre III : Les bactéries lactiques

1. Généralités

Les bactéries lactiques, de très anciens micro-organismes, utilisés pour la fermentation des aliments depuis plus de 4000 ans, sans pour autant comprendre la base scientifique de leur utilisation. Ce n'est qu'à la fin du 19^{ème} siècle, époque des grandes découvertes de microbiologie, que le groupe des bactéries lactiques ou bactéries de l'acide lactique a été défini, plus précisément en 1919 par Orla-Jensen Il a réuni plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique (**Tredez et Louise, 2008**).

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes utiles à l'homme lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre important de ses aliments. Elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons (**Eufic, 1999**).

Ce sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Les bactéries lactiques sont un groupe de bactéries à Gram positives, immobiles, a sporulées, anaérobies mais aérotolérantes, dépourvues de catalase (certaines souches possèdent un pseudo catalase sur des milieux riches en hème) de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase (**Hélène, 2007**). Ces bactéries forment un groupe relativement divers, ayant des caractéristiques physiologiques et métaboliques communes (**Stiles et Holzapfel, 1997**).

Leur forme peut être coccoïde, coccobacillaire ou bacillaire, elles sont généralement mésophiles avec une température optimum de croissance entre 20°C et 30°C ou thermophiles entre 40°C et 45°. La majorité des souches se développent à pH 4.0-4.5, certaines sont en activité à pH 9.6 et d'autres à pH 3 (**Kotelnikava et Gelfand, 2002**).

2. Origine et Habitat

Les bactéries lactique sont des germes ubiquistes et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux (plantes, fruits, légumes, céréales), la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus

Chapitre III : Les bactéries lactiques

digestif. Elles ont été également retrouvées dans le sol, les engrais et les eaux d'égout (Givry, 2006).

A titre d'exemple, les espèces du genre *Streptococcus*, *Lactococcus* sont présentes chez l'homme et chez les animaux où elles sont isolées à partir de leurs peaux, de leurs matières fécales, et elles sont aussi isolées de l'ensilage du foin et des grains. Par ailleurs, les espèces du genre *Lactobacillus* sont encore plus répandues dans la nature; elles se trouvent sur les végétaux mais également dans l'intestin des animaux et de l'homme.

Même si elles se développent dans une variété d'habitats, les bactéries lactiques exigent des carbohydrates fermentescibles, des acides aminés, des acides gras, des sels et des vitamines pour leur croissance.

D'une façon générale, les bactéries lactiques sont présentes partout où il y a de fortes concentrations de glucides, de produits de dégradation des protéines, de vitamines et peu d'oxygène (Marteau et Seksik, 2005).

3. Caractéristiques générales des bactéries lactiques

3.1. *Streptococcus thermophilus*

Les bactéries de ce genre sont des cocci sphériques ou ovoïdes regroupées en paires ou en chaînettes, en générale immobiles et homofermentaires, elles produisent un certain nombre d'agents antimicrobiens (Larpent, 1997).

L'espèce thermophile *Sc. thermophilus* est la seule espèce non pathogène du genre *Streptococcus* appartenant au groupe des bactéries lactiques. Elle se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), et son caractère non pathogène. Du fait de ses propriétés technologiques, cette espèce est largement utilisée en tant que levain dans la fabrication des produits laitiers fermentés tel que le yaourt (en culture mixte avec *Lb. bulgaricus*) (Laurent et Federighi, 1998).

Le rôle principal de *S. thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique, et en plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés. Elle augmente la viscosité par production de polysaccharides (composé de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose; et de mannose) (Bergamaier, 2002).

3.2. *Lactobacillus bulgaricus*

L.bulgaricus est un bacille à Gram positif, immobile ; sporulé ; microaérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chainettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucres ; il est incapable de fermenter les pentoses.

L.bulgaricus est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ de 42°C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (**Marty et Kummar, 1995**).

4. Intérêt des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques jouent un rôle important que ce soit dans l'industrie alimentaire ou le domaine thérapeutique.

4.1. Dans le domaine alimentaire

L'implication des bactéries lactiques dans la fermentation et la bioconservation des aliments est connue depuis la nuit des temps. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Sterptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés. Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain au levain sont entre autres des produits de fermentation des bactéries lactiques.

L'utilisation de ces dernières a pour but l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et par conséquent augmenter la durée de leur conservation sans pour autant utiliser de conservateurs chimiques, et ce grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles produisent. Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, innocuité, facilité de culture, de conservation, et maintenance des propriétés désirables lors du stockage (**Essma, 2019**).

4.2. Dans le domaine thérapeutique

Les bactéries lactiques, considérées comme tant des probiotiques, confèrent des bénéfices à l'hôte en maintenant une balance de la microflore intestinale, différentes études ont démontré aussi bien le rôle préventif que curatif de ces bactéries sur différents types de diarrhées.

D'autres ont cité leur capacité à diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique

Cependant, depuis quelques années, l'usage des bactéries lactiques dans d'autres écosystèmes (vaginal, mammaire) est évalué, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives thérapeutiques (contre les métrites ou les mammites) également dans l'élaboration des vaccins, la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires à empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie, ainsi que des problèmes liés aux infections urinaires (Essma, 2019).

5. Propriétés technologiques des bactéries lactiques

Le champ d'application des bactéries lactiques est large et plusieurs de leurs propriétés sont importantes et influentes sur la qualité finale des produits alimentaires. Elles permettent d'assurer la qualité sensorielle des produits et de mieux maîtriser le processus de fermentation (Muthukumarasamy et Holley, 2006). L'utilisation des bactéries lactiques pour une application industrielle donnée est déterminée par leurs propriétés fonctionnelles et technologiques. Celles-ci recouvrent les propriétés suivantes :

5.1. Activité acidifiante

Le catabolisme fermentaire des hexoses conduit chez les bactéries lactiques à un fort abaissement du pH extracellulaire par la production d'acide lactique. Cette propriété est très recherchée en industrie alimentaire et particulièrement lors de la fabrication des produits laitiers. L'acidification du lait permet la coagulation du lait, l'augmentation de la synérèse du caillé et la participation aux propriétés rhéologiques du produit final. La diminution du pH peut empêcher la croissance des autres micro-organismes, en particulier les bactéries pathogènes (Piard et Desmazeaud, 1991).

5.2. Activité protéolytique

Les bactéries lactiques ont des protéases et des peptidases nécessaires à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés. Ceux-ci peuvent alors être transformés en alcools et en acides. Cette activité protéolytique intervient de ce fait sur le rendement fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristiques du produit final.

Chapitre III : Les bactéries lactiques

Il existe chez la majorité des bactéries lactiques des protéases extracellulaires ou protéase de paroi et entre une dizaine et une vingtaine de peptidases intracellulaires qui diffèrent à la fois par leur spécificité de substrat et leur mécanisme catalytique. Outre, l'impact sur la texture, l'action principale des enzymes impliquées dans la protéolyse conduit à la libération des peptides et des acides aminés libres et des composés d'arôme (plusieurs familles de composés aromatiques volatiles sont formées via l'action enzymatique, en utilisant des acides aminés comme substrats).

Les peptidases utilisent des peptides comme substrats et libèrent des plus petits peptides et acides aminés libres. Leur concentration dans un produit a été liée à l'intensité de sa saveur. Dans une deuxième phase, les décarboxylases, désaminases et transaminases produisent des aldéhydes, α -cetoacides, des alcools, des amines et des acides gras libres à partir des aminoacides. Bien entendu, ces composés aromatisants volatils sont d'une grande importance sur la saveur globale du produit final (Essma, 2019).

5.3. Activité lipolytique

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques. Les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *Sc. thermophilus* et les lactobacilles. Elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères.

D'une manière générale on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C2-C8) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (>C8), ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides (Serhan *et al.*, 2009).

5.4. Production d'exopolysaccharides (EPS)

Certaines souches de bactéries lactiques ont la capacité de synthétiser et d'excréter, au cours de leur croissance, des polymères de sucre appelés polysaccharides exocellulaires ou EPS, qui permettent d'améliorer la texture et la viscosité du produit fini (Dupont, 1998).

En général, la présence de polysaccharides dans des produits fermentés, tels les yaourts, permet d'augmenter l'homogénéité du produit et rend sa présentation plus agréable.

Chapitre III : Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques produisant des EPS ont été utilisées dans la production de yaourt et de certains laits fermentés. L'utilisation de souches productrices d'EPS comme ferment du yaourt améliore la rétention d'eau pour diminuer la synérèse, améliore la viscosité et peut remplacer la matière grasse. En production de yaourt, les EPS synthétisés durant la fermentation du lait ont la capacité d'influencer tant les propriétés rhéologiques qu'organoleptiques du produit fini. Les exopolysaccharides interviennent non seulement dans le maintien des propriétés physico-chimiques du lait (texture, viscosité, arômes ...etc.) mais ils présentent aussi des effets curatifs dans les traitements de certaines maladies gastro-intestinales (**Desmazeaud, 1983**).

5.5. Production de bactériocines

Les bactériocines des bactéries lactiques sont les plus abordées dans la recherche. Il s'agit de substances de nature protéique qui ont un pouvoir antibactérien dirigé contre des bactéries taxonomiquement proches du micro-organisme producteur. Ces peptides antibactériens ont une action contre les bactéries à Gram positif associées à l'altération de la qualité hygiénique des aliments et à certaines pathologies humaines.

Le mécanisme de biosynthèse des bactériocines fait appel à un système complexe, en effet, la biosynthèse dépend d'un ensemble de gènes de structure qui codent pour le peptide et son transport ainsi que l'immunité de la bactérie productrice. Cet opéron transcrit un peptide non actif qui sera actif en milieu extracellulaire. La cellule doit s'immuniser contre sa propre bactériocine (**Daoudi, 2006**).

5.6. Action probiotique

Les bactéries lactiques sont de plus en plus utilisées en alimentation humaine et animale pour leurs effets probiotiques. Parmi ces effets on peut citer, les bactéries lactiques ayant des propriétés antitumorales qui pourraient être due à l'inactivation ou l'inhibition des composés carcinogènes dans le tractus gastro-intestinal et/ou à la réduction des activités enzymatiques des bactéries intestinales telle que la β -glucoronidase, l'azoréductase et la nitroréductase; la prévention et traitement des diarrhées dues aux infections gastro-intestinales; la diminution de la cholestérolémie par réduction de l'absorption intestinale du cholestérol endogène et la diminution de sa synthèse dans le foie (**Givry, 2006**).

Chapitre III : Les bactéries lactiques

Certaines souches probiotiques, notamment des lactobacilles excrètent la β -galactosidase souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte et facilitent la digestion du lactose. Elles stimuleraient l'activité enzymatique des microorganismes endogènes, permettant ainsi une meilleure assimilation des aliments. Elles stimuleraient également les activités lactase et invertase des cellules épithéliales du tractus digestif (**Larpen, 1997**).

Chapitre IV : Effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries lactiques

L'écorce de la grenade est un sous-produit intéressant connu par ses effets thérapeutiques, mais ce produit peut être utilisé dans d'autres domaines tels que l'industrie cosmétique et l'industrie agroalimentaire. Dans la littérature scientifique, il existe peu des recherches sur l'effet d'écorce de la grenade sur les bactéries lactiques.

1. *Streptococcus thermophilus*

Bakhtaoui a incorporé l'extrait d'écorce de la grenade à différentes doses 2%, 4 % et 6 % dans le yaourt étuvé. D'après cette chercheuse, l'addition d'extrait d'écorce de la grenade à différentes doses favorise le développement de *Streptococcus thermophilus* dans le yaourt étuvé (Figure9).

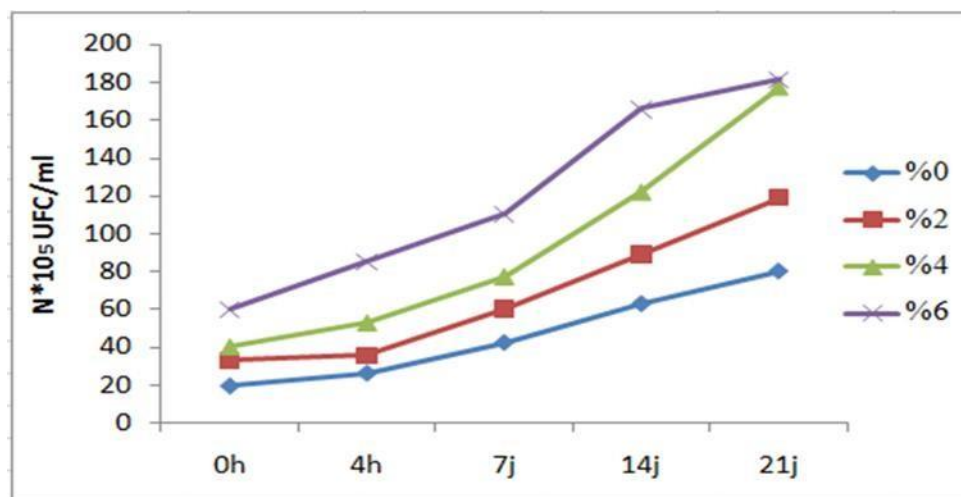


Figure 9 : Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* des yaourts étuvés additionnés de l'extrait de l'écorce de *Punica granatum* (Bakhtaoui, 2019).

Tableau 4: Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* (N×10UFC/ml) des yaourts expérimentaux additionnés de l'extrait des écorces de grenade (*Punica granatum*).

Période	Temps	Taux d'incorporation d'extrait de grenade				Moyenne
		0%	2%	4%	6%	
Période de fermentation	0h	20 ± 0,894	33,333 ± 1,862	53 ± 1,789	60 ± 0,894	41,583
	4h	26,667 ± 1,862	36 ± 0,894	40,333 ± 1,366	110 ± 0,894	53,250
Période de poste acidification	7j	42,667 ± 1,862	60,333 ± 1,366	77,333 ± 1,862	85 ± 0,894	66,333
	14j	63,667 ± 1,366	119 ± 0,894	122 ± 0,894	165,667 ± 1,862	117,417
	21j	80 ± 0,894	82 ± 1,789	177,333 ± 1,366	181,333 ± 1,366	131,917

Chaque résultat constitue la moyenne des trois valeurs obtenues (n=3) plus ou moins

écarts types. H : heures ; J : jours.

2. *Lactobacillus bulgaricus*

Selon **Bakhtaoui (2019)**, le nombre des germes *Lactobacillus bulgaricus* a multiplié dès le début de la fermentation au 21^{ème} jour de la conservation. Par ailleurs, le nombre des *Lactobacillus bulgaricus* a connu au cours de ces périodes une hausse proportionnelle aux taux d'extrait d'écorce de *Punica granatum* incorporés dans les échantillons de yaourt (Figure10).

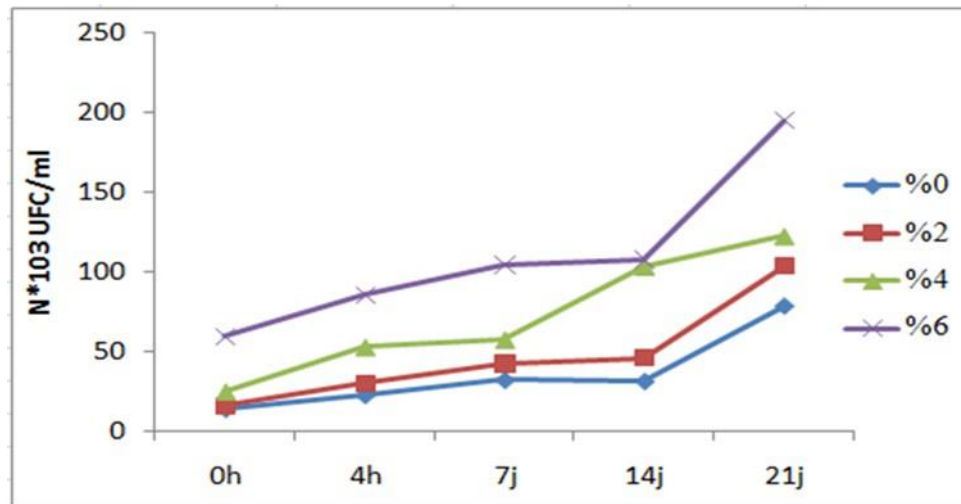


Figure10 : Evolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* des yaourts étuvés additionnés de l'extrait d'écorce de *Punica granatum* (Bakhtaoui, 2019).

Tableau5: Evolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* (N×103UFC/ml) des yaourts expérimentaux additionnés de l'extrait des écorces de *Punica granatum*.

Période	Temps	Taux d'incorporation d'extrait de grenade				Moyenne
		0%	2%	4%	6%	
Période de fermentation	0h	14 ± 0,894	16,667 ± 1,862	25 ± 0,894	60 ± 0,894	28,917
	4h	22,667 ± 1,862	30,667 ± 1,366	53 ± 1,789	85 ± 0,862	48
Période de poste acidification	7j	32 ± 0,894	43 ± 1,789	57,667 ± 1,366	104,667 ± 1,366	59,334
	14j	31,333 ± 1,366	46,667 ± 1,366	103,667 ± 1,862	108 ± 1,789	72,417
	21j	78,333 ± 1,366	104 ± 1,789	122,667 ± 1,862	195 ± 1,789	125

Chaque résultat constitue la moyenne des trois valeurs obtenues (n=3) plus ou moins écarts types. H : heures ; J : jours.

Selon **King et Young (1999)**, l'extrait aqueux de *Punica granatum* a un effet antimicrobien sur les microorganismes. Cette activité antimicrobienne est due à la présence des polyphénols. Les extraits phénoliques des écorces de grenade ont stimulé la prolifération de la flore lactique (**King et Young, 1999**).

Conclusion

L'écorce de la grenade peut être valorisée grâce à son exploitation comme additifs alimentaires dans les différents aliments tels que le yaourt afin d'obtenir un aliment fonctionnel à caractère nutritionnel et thérapeutique.

La poudre d'écorce de la grenade constitue une source importante de polyphénols. Ces constituants présentent diverses activités biologiques. Cela justifie son utilisation comme ingrédient fonctionnel dans l'industrie alimentaire. Toutefois, du fait du goût astringent de la poudre d'écorces de grenade, cette dernière doit être purifiée avant son incorporation dans les préparations alimentaires.

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes utiles à l'homme lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre important de ses aliments. Elles sont présentes partout où il y a de fortes concentrations de glucides, de produits de dégradation des protéines, de vitamines et peu d'oxygène.

L'extrait aqueux de *Punica granatum* a une activité antimicrobienne, par ce qu'il est riche en polyphénols. Les extraits phénoliques des écorces de grenade ont stimulé la prolifération des bactéries lactiques.

Références bibliographiques

A

Albrecht M., Jiang W., kumi Diaka J., Gommersall L.M., Patel A.,Campbell M.J., 2004. Pomegranate extracts potently suppress proliferation, xenograft growth, and invasion of human prostate cancer cells. *Medicinal Food*. 7:274-283.

Amandine G., 2016. Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de Doctorat. Université de Réunion. 101 pages.

Ángel A., 2009. Punicalagine antioxydant naturel de la grenade. Propriétés et Bienfaits Pour la Santé. 9:24-28.

B

Ben Arie R., Segal N., 1984. The maturation and ripening of the 'Wonderful' pomegranate. *Agricultural Sciences*. 109 : 898-902.

Braidy N., Selvaraju S., Essa M.M., Vaishnav R., Al Adawi S., Al Asmi A., Guillemin G. J., 2013. Neuroprotective effects of a variety of pomegranate juice extracts against MPTP-induced cytotoxicity and oxidative stress in human primary neurons. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 201: 1- 12.

Benzi F., 1999. L'histoire des plantes en Méditerranée : art et botanique. Ed. Actes Sud. 175 pages.

Bergamaier D., 2002. Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *Lactobacillus rhammosus* RW-959M dans un milieu à base de permeat de lactosérum. Thèse de Doctorat. Canada. 201 pages.

C

Camouretti M.C., Comet G., 1992. Les techniques des hommes et des plantes : plantes méditerranéennes, vocabulaire et usages anciens. Mémoire de Magister. Paris. 174pages.

Références bibliographiques

Chakass M.A., Carbonnier Jarreau M.C., 2007. Étude palynologique de trois variétés du grenadier (*Punica granatum*) au Liban. Acta Botanica Gallica. 154 : 27-42.

Chaudhari S.M., Desai U.T., 1993. Effects of plant growth regulators on flower sex in pomegranate (*Punica granatum L.*). Agricultural Sciences. 63 : 34-35.

Courchet L. (1897). Traité de botanique : comprenant l'anatomie et la physiologie végétales et les familles naturelles à l'usage des candidats au certificat d'études physiques Chimiques et naturelles des étudiants en médecine et en pharmacie. Ed. Baillière. 1023 pages.

D

Desmazeaud M., 1983. Comment les bactéries lactiques se comportent elles dans le lait ?. Technique laitière. 976 : 11-14.

Dupont I., 1998. Identification moléculaire de souches de Lactobacillus productrices d'exopolysaccharides et comparaison de la production d'exopolysaccharides par trois de ces souches. Thèse de Doctorat. Canada. 219 pages.

Das S., Barman S., 2012. Antidiabetic and antihyperlipidemic effects of ethanolic extract of leaves of *Punica granatum* in alloxan-induced non-insulin-dependent diabetes mellitus albino rats. Pharmacology. 44 : 201-219.

Daoudi A., 2006. Qualité d'un fromage local à base de lait de chèvre. Mémoire de Magister. Chlef. 226 pages.

Das S., Sama G., 2009. Antidiabetic action of ethanolic extracts of *Punica granatum*. Pharmaceutical Sciences. 2 : 14-21.

Douaouri N.E., 2018. Contribution à une étude phytothérapeutique, anti-inflammatoire et antioxydante dugrenadier (*Punica granatumL.*).Thèse de Doctorat. Mostaganem. 203 pages.

E

El Daly A., 2016. Pomegranate peels extract protects cadmium-induced nephrotoxicity in albino mice. Bioscience and Applied Research. 2: 362-375.

El Habib E.M., 2013. Renoprotective effects of *Punica granatum* (pomegranate) against adenine- induced chronic renal failure in male rats. Life Science. 10: 2059-2069.

Références bibliographiques

Erkan M., Kader A.A., 2011. Pomegranate (*Punica granatum L.*). Thèse de Doctorat. Paris. 313pages.

Essma G., 2019. Modelisation mathematique de quelques activites a interet technologique chez des souches de bacteries lactiques isolees de lait fermente "l'ben" algerien. Thèse de Doctorat. Oran. 195 Pages.

Evreinoff V., 1957. Contribution à l'étude du Grenadier. Agriculture Tropicale et de Botanique Appliquée. 4: 124-138.

F

Fessard A., 2017. Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante. Thèse de Doctorat. Paris. 173 Pages.

G

Godet J.D., 1991. Arbres et arbustes aux quatre saisons. Les guides pratiques du naturaliste. Editions Delachaux et Niestlé. 199 Pages.

Givry S., 2006. Optimisation de procédés de fermentation lactique sur sirop de son de blé et purification et caractérisation d'une arabinose isomérase de *Lactobacillus bif fermentans*. Microbiologie industrielle. Reims. 198 pages.

H

Hélène C., 2007. Carnobactérium maltaromaticum: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère . Mémoire de Magister. Cameroun. 209 pages.

Halima B., 2019. Effet des extraits ohénolique des écorces de grenade (*Punica granatum*) sur l'évolution des paramètres physicochimique et microbiologique d'un lait fermenté de type yaourt. Mémoire de Magister. Mostaganem. 111 pages.

Références bibliographiques

Hmid I., 2013. Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica granatum*): caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais. Thèse de Doctorat. Maroc. 180 pages.

K

Katz S., 2007. *Punica granatum*: heuristic treatment for diabetes mellitus. Med Food. 203: 213- 217.

King A., Young G. 1999. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. The American Dietetic Association. 99: 213-218.

Kotelnikava E., Gelfand M., 2002. Bacteriocin production by gram positive bacteria and the mechanisms of transcriptional regulation. Genetics. 64: 628-641.

L

Larpent J.P., 1997. Microbiologie alimentaire. Technique et Documentation. 24: 10-72.

Laurent S., Federighi M., 1998. Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 308pages.

Li Y., Wen S., Kota B., Peng G., Li G., Yamahara J., Roufogalis B., 2005. *Punica granatum* flower extract, a potent alpha-glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. Ethnopharmacol. 99: 239–244.

Lansky E.P., Newman R.A., 2007. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Ethnopharmacology. 77: 177- 206.

M

Marteau P., Seksik P., 2005. Place des probiotiques dans la prévention et le traitement des diarrhées postantibiotiques. Thèse de Doctorat. France. 376 pages.

Marty D.S., Kummer K.A. 1995. Traditional uses of sorghum and millets. sorghum and millet: chemistry and technology. Ed. Dendy. Canada. 376 pages.

Références bibliographiques

Muthukumarasamy P., Holley R.A., 2006. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate microencapsulated *lactobacillus reuteri*. Food Microbiology. 111: 164-169.

McFarlin B., Strohacker K., 2008. Pomegranate seed oil consumption during a period of high- fat feeding reduces weight gain and reduces type 2 diabetes risk in CD-1 mice. Brith Nutr . 64: 554- 59.

Melgarejo., Salazar D., 2000. Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. Food Res. 60: 185-190.

P

Parmar H., Kar A., 2007. Antidiabetic potential of citrus sinensis and *Punica granatum* peel extracts in alloxan treated male mice. Biofactors. 311 : 7-24.

Piard J.C., Desmazeaud M., 1991. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria: 1. Oxygen metabolites and catabolism end-products. 71: 525-541.

R

Ruis A.R., 2015. Pomegranate and the mediation of balance in early medicine. Critical Food Studies. 15: 22-33.

S

Serhan M., Cailliez Grimal C., Revol Junelles A.M., Hosri C., Fanni J., 2009. Bacterial diversity of darfiyeh a lebanese artisanal raw goat's milk cheese. Food Microbiology. 26: 645-652.

Seeram N., Schulman R., 2006. Pomegranate. Ancient roots to modern medicine. Ed. Taylor and Francis . France. 244 pages.

Spilmon M., 2013. Intérêt de la grenade dans la prévention nutritionnelle de l'ostéoporose : rôle des fractions lipidiques et polyphénoliques, approches physiologiques, cellulaires et moléculaires. Thèse de Doctorat . france. 173 pages.

Références bibliographiques

Smith R. E., 2014. Pomegranate: Botany, Postharvest Treatment, Biochemical Composition and Health Effects. Nova Science Publisher. 97: 1-173.

Stiles M. E., Holzapfel W.H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Food Microbio. 36: 1-29.

T

Türk G., Sönmez M., Aydın M., Yüce A., Gür S., Yüksel M., Aksoy H., 2008. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality. Spermatogenic Cell Density. 26: 645- 652.

Tomás Barberán F., 2010. Granada y salud: Aspectos farmacológicos y terapéuticos de la granada En: Jornadas nacionales sobre el granado. Clinical nutrition 27: 289-296.

Tredez M., Louise H., 2008. Méta- analyse des effets protecteurs des probiotiques sur la cancérogenèse colorectale chez les rongeurs. Thèse de Doctorat. Canada. 106 pages.

W

Wald E., 2009. Le Grenadier (*Punicagranatum*): Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Thèse de Doctorat. France. 158 pages.

Résumé

L'écorce de *Punica granatum L.* est un sous-produit qui mérite d'être valorisé à l'échelle industrielle. Ce travail vise à mettre en lumière l'effet d'extrait d'écorce de la grenade sur les bactéries lactiques. Les extraits naturels des plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Les bactéries lactiques sont depuis des millénaires un moyen de bioconservation efficace de nombreux produits alimentaires et ce grâce à leur métabolisme. L'ajout d'extrait phénolique des écorces de grenade, aux produits laitiers notamment le yaourt, a exercé un effet stimulant sur la croissance des bactéries lactiques telles que *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Mots clés : *Punica granatum*, écorce de grenade, composés phénoliques, bactéries lactiques.

Abstract

The bark of *Punica granatum L.* is a by-product that deserves to be upgraded on an industrial scale. This work aims to shed light on the effect of pomegranate bark extract on lactic acid bacteria. Natural plant extracts contain a variety of phenolic compounds to which various biological activities are attributed. Lactic acid bacteria have been an efficient means of biopreservation of many food products for thousands of years, thanks to their metabolism. The addition of phenolic extract from pomegranate peels, to dairy products in particular yogurt, had a stimulating effect on the growth of lactic acid bacteria such as *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*.

Key words: *Punica granatum*, pomegranate bark, phenolic compounds, lactic acid bacteria.

ملخص

لحاء *Punica granatum L.* منتج ثانوي يستحق ترقيقته على نطاق صناعي.

يهدف هذا العمل إلى إلقاء الضوء على تأثير مستخلص لحاء الرمان على بكتيريا حمض اللاكتيك. تحتوي المستخلصات النباتية الطبيعية على مجموعة متنوعة من المركبات الفينولية التي تنسب إليها أنشطة بيولوجية مختلفة. لطالما كانت بكتيريا حمض اللاكتيك وسيلة فعالة للحفاظ البيولوجي للعديد من المنتجات الغذائية لألاف السنين ، وذلك بفضل عملية التمثيل الغذائي.

إضافة المستخلص الفينولي من قشور الرمان إلى منتجات الألبان وخاصة الزبادي كان له تأثير محفز على نمو بكتيريا

حمض اللاكتيك مثل المكورات العقدية. *Lactobacillus bulgaricus*.

الكلمات المفتاحية: *Punica granatum* ، لحاء الرمان ، مركبات الفينول ، بكتيريا حمض اللاكتيك.