



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques

Département Biochimie-Microbiologie

Mémoire

De fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de master II

En sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

Thème

**Extraction et bioactivité des
polysaccharides de l'écorce du fruit
du grenadier (*Punica granatum.L*)**

Réalisé par :

M^{elle} TEHARI Imene

&

M^{elle} MEDDOUR Dihia

Dirigé par :

M. LEFSIH Khalef

Maître de conférences de classe A(UMMTO)

Examiné par :

M. LIMANE ABDEL KRIM

Maître de conférences de classe A(UMMTO)

M. TITOUCHE YACINE

Maître de conférences de classe A(UMMTO)

Année universitaire : 2023 /2024

Remerciements



*Nous tenons à remercier chaleureusement notre directeur de mémoire monsieur **Lefsih Khalef** maitre de conférences à l'université de Mouloud Mammeri d'avoir accepté d'encadrer notre travail.*

Nous tenons à le remercier pour sa disponibilité, ses bons conseils, ses orientations son soutien, sa clairvoyance et de ses compétences qui nous ont été précieuses.

Nous remercions vivement les membres de jury

*Mr.**Limane Abdelkrim** maitre de conférences de classe A(UMMTO)*

*Mr.**Titouche Yacine** maitre de conférences de classe A(UMMTO)*

*Nous adressons également nos sincères remerciements aux doctorants **Moussa ; Lydia; Felicia et Samira** pour leurs efforts et leur aide .*





Dédicaces

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU De m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je tiens à dédier cet humble travail :

A mes chers parents, pour toutes leurs sacrifices, amour, tendresse, soutien et prières tout au long de mes études

A mes chers grands-parents pour leur gentillesse et leur amour

A mes chères sœurs SORAYA , SAFIA , AMEL pour leurs appui et leurs soutien moral

A mes chers frères RAFIK et CHAFIK pour leurs encouragement

A mon cher ami AHMED qui n'a jamais hésité de m'aider

A mes petits cousins AKSEL, AYLAN et ARIS

A tous les membres de ma famille spécialement mon oncle ALI et mes tante GHANIA et HAMIDA

A mes petits neveux HOUCINE et ADAM et mes nièces ANAÏCE et IMENE

A ma binôme DIHIA , qu'on s'y travaillée ensemble et on s'y tout partagée pour enfin arriver à réaliser ce travail .

Imene



Dédicaces

Avant tout, je remercie, DIEU de m'avoir donné la force, le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

Je tiens à dédier ce modeste travail :

A ma chère maman, qui ma soutenu et encouragé durant toutes mes années d'études.

Je suis extrêmement reconnaissant pour votre amour, vos sacrifices et votre gentillesse depuis ma naissance. Que Dieu vous accorde une bonne santé et une longue vie.

À mon cher père, qui serait heureux et fier de ce que j'ai accompli aujourd'hui s'il était ici, je prie pour sa miséricorde et son pardon.

A mon cher frère JUGURTHA qui es toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager tout au long de mon parcours.

A mes chères cousines pour leur encouragement et à qui je souhaite plus de succès.

A tous les membres de ma famille : tantes et oncles. Ainsi, mes copines, amis et proches.

A ma binôme IMENE, qu'on s'y travaillé ensemble pour arriver à accomplir ce travail.

Dihia

Liste Des Figures

Figure1 :Diagramme de classification des polysaccharides végétaux.....	17
Figure2 : Représentation schématique de la cellulose.....	18
Figure3 : Structure d'hémicellulose.....	18
Figure4 : Structure de pectine.....	19
Figure5 : Structure de la chitine.....	20
Figure 6 : Étapes ducycle de viedu virus (<i>noir</i>) - (i) fixation du virus, (ii) pénétration et décapsulage du virus (iii) biosynthèse (iv) assemblage viral (v) libération virale.....	26
Figure 7 : Arbre du grenadier commun.....	31
Figure8 :Feuilles de grenadier commun.....	32
Figure 9 :Fleure de grenadier commun.....	32
Figure 10 : Fruit de grenadier commun.....	33
Figure11 :Fruit et graines de grenadier commun.....	33
Figure12 : Préparation de la poudre d'écorce de grenade.....	39
Figure13 :Précipitation avec éthanol et dénaturation des protéines.....	40
Figure14 : Protocole d'extraction des polysaccharides par la méthode TPP.....	41
Figure15 : Incinération de la poudre de l'écorce de grenade.....	43
Figure16 : Préparation des dilution ½.....	44
Figure17 :Diagramme de dosage des protéines par la méthode de Bradford.....	44
Figure 18 :Dilution ½ de D glucose.....	45
Figure 19 :Dilution ½ de l'échantillon polysaccharidique.....	45
Figure20 : Dosage des sucres totaux par méthode de Phénol-Sulfurique acide.....	46
Figure21 : Schéma du principe d'un spectromètre FTIR.....	49
Figure 22 : Mécanisme de réduction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	51
Figure 23 : Dilutions ½ de l'extrait de polysaccharide.....	52
Figure24 : Diagramme de l'activité antioxydant par le dosage au DPPH.....	53

Figure25 : Taux d'humidité de l'écorce de grenade.....	54
Figure26 :Teneur en cendres de l'écorce de la grenade.....	55
Figure27 : Courbe d'étalonnage de la BSA.....	55
Figure28 : Courbe d'étalonnage de D-glucose.	56
Figure29 : Résultats du développement des plaques CCM dans les différentes conditions d'hydrolyse et d'élution citées dans le tableau 2.....	57
Figure30 :Activité antioxydant de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis duradical DPPH.....	60

Liste Des Tableaux

Tableau 1 : Classification botanique du grenadier commun.....	34
Tableau 2 : Les différentes conditions suivies lors de la CCM.....	57
Tableau 3 : Les principaux pics des polysaccharides de l'écorce de la grenade.....	60

Table Des Matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Table de matières

Introduction Générale..... 13

Chapitre 1 Les polysaccharides

1.1. Généralités..... 16

1.2. Classification des polysaccharides..... 16

1.2.1. Les polysaccharides de structure..... 17

1.2.1.1. La cellulose 17

1.2.1.2. L'hémicellulose..... 18

1.2.1.3 La pectine..... 19

1.2.1.4. La chitine 20

1.2.2. Les polysaccharide de réserves 20

1.2.2.1. Amidon..... 20

1.2.2.2. Galactomanane..... 21

1.2.3. Gommés et mucilages..... 21

Chapitre 2 Activité biologique des polysaccharides

2.1. Activité immuno-modulatrice 23

2.2. Activité anti inflammatoire 24

2.3. Activité antivirale 25

2.4. Activité anti oxydante 27

2.5. Activité pré biotique 27

Chapitre 3 Le grenadier commun

3.1. Introduction 30

3.2. Description botanique 30

3.2.1. Le Grenadier 30

3.2.2. Les feuilles 31

3.2.3. Fleur..... 32

3.2.4. Fruit 33

3.2.5. Graines 33

3.3. Classification botanique 34

3.4.L'écorce de grenade 34

3.4.1.Composition chimique et activité biologique de l'écorce de grenade..... 34

3.4.2. Activité anti oxydante 35

3.4.3. Activité anti ulcéreuse 35

3.4.4. Activité anti probiotique	35
Chapitre 4 Matériels et Méthodes	
4.1. Matériels d'étude et réactifs	38
4.2. Extraction des polysaccharides	39
4.2.1. Préparation du matériel végétal.....	39
4.2.2. Délipidation et dépigmentation	39
4.2.3. Extraction solide-liquide	40
4.2.4. Précipitation avec éthanol.....	40
4.2.5. Dénaturation des protéines.....	40
4.2.6. Purification des polysaccharides par la méthode Three Phase Partitioning (TPP).....	41
4.2.7. Récupération des polysaccharides	41
4.3. Détermination de taux d'humidité	42
4.4. Détermination du taux de cendres.....	42
4.5. Dosage des protéines par méthode de Bradford	43
4.5.1. Préparation du réactif de Bradford	43
4.5.2. Préparation des étalons de l'albumine bovine (SAB).....	43
4.5.3. Préparation des étalons de l'échantillon.....	44
4.5.4. Dilution du réactif de Bradford	44
4.5.5. Mesure des absorbances.....	44
4.6. Dosage des sucres totaux par la méthode de Phenol-Sulfurique Acide	45
4.6.1. Préparation des étalons de Glucose	45
4.6.2. Préparation des concentrations de l'échantillon	45
4.6.3. Mesure des absorbances.....	46
4.7. Caractérisation des polysaccharides.....	47
4.7.1. Compositions monosaccharidiques : Chromatographie sur Couche Mince (CCM)....	47
4.7.2. Préparation des solutions standard monosaccharidiques.....	47
4.7.3. Préparation des phases mobiles sur la bases des différences de polarité	47
4.7.4. Préparation de la solution de révélation des plaques CCM.....	47
4.7.5. Développement et révélation des plaques CCM.....	48
4.8. Analyse FTIR (Spectroscopie infrarouge a transformée de fourier).....	48
4.8.1. Les principaux utilisation de l'FTIR pour les polysaccharides.....	49
4.9. Activité anti-oxydante	50
4.9.1. Test anti-radicalaire au 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH).....	51
4.9.2. Mode opératoire	52
4.9.2.1. Préparation de la solution de DPPH à 0.1 mM	52
4.9.2.2. Préparation des extraits de polysaccharides	52
4.9.2.3. Préparation de la solution d'acide ascorbique (témoin)	52
4.9.2.4. Préparation des tubes à essais pour mesurer les absorbances.....	52

Chapitre 5 Résultats et discussion

5-1- Taux d'humidité	54
5-2-Teneur en cendre	54
5-3-Dosage des protéines par Méthode de Bradford	55
5-4-Dosage des sucres totaux par phénol sulfurique acide	56
5-5-Chromatographie sur couche mince	57
5-6-Spectroscopie infrarouge a transformée de fourier FTIR.....	59
5-7- Activité antioxydant.....	59

Conclusion et Perspectives

Références bibliographiques

Résumé

Introduction

Générale

Introduction générale

Le grenadier commun (*Punicagranatum L.*) est un arbre fruitier cultivé dans de nombreuses régions géographiques subtropicales et tropicales à travers le monde, est réputé pour ses propriétés médicinales. Son fruit est plus connu sous le nom de fruit du pouvoir de la nature, connu à travers le monde pour son goût agréable et ses nombreux avantages pour la santé (Singh et al., 2018). Ces dernières années, l'intérêt pour ce fruit en tant que produit nutritionnel ou médicinal a considérablement augmenté en raison de ses effets potentiellement positifs sur la santé, grâce à la présence d'antioxydants, qui peuvent préserver le corps humain des radicaux libres, des processus oxydatifs et de la progression de nombreuses maladies chroniques (Smaoui et al., 2019).

Toutefois, il est extrêmement intéressant de remarquer que l'apport nutritionnel de la grenade ne se limite pas aux parties comestibles. En réalité, les composants actifs présents dans les parties non comestibles (écorce, graines et fleurs) sont plus élevés que dans les parties comestibles. Par exemple, l'écorce de grenade présentait une quantité plus élevée d'antioxydants que la pulpe de grenade, ce qui en faisait une source idéale pour la production d'antioxydants de grande valeur (Lansky & Newman, 2007). Il est démontré qu'il y a une quantité considérable de pectines, de polyphénols et de polysaccharides dans l'écorce de grenade (Wu et al., 2019).

Les écorces de grenade représentent une ressource précieuse parmi les sous-produits de l'industrie alimentaire. Ces substances pourraient être utilisées dans le domaine médical, mais sont toujours perçues comme des déchets agro-industriels. Lorsqu'on fabrique du jus de grenade, 1 tonne de fruits frais génère 669 kg de déchets de grenade, dont 78 % sont des écorces et 22 % des pépins (Moorthy et al., 2015).

Cependant, il est important de noter que les écorces de grenade suscitent un intérêt scientifique considérable en tant que matière première pour la production de polysaccharides contenant de la pectine, un domaine encore largement inexploré et novateur. La recherche sur la structure des polysaccharides contenant de la pectine dérivés des écorces de grenade n'est pas encore exhaustive, malgré le potentiel de cette source peu coûteuse pour l'isolement de ces composés. En parallèle, l'analyse des caractéristiques structurales et chimiques des composants des fruits de grenade pourrait contribuer à développer une base scientifique solide pour leur valorisation, résolvant ainsi le défi de l'utilisation de ces résidus agro-industriels considérables (Shakhmatov et al., 2019).

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce présent travail, dont le but principal est de valoriser l'écorce de fruit de grenadine en étudiant les caractéristiques des polysaccharides et évaluer l'activité antioxydant de cette extrait.

La bibliographique nous a permis de mieux cerner quelques aspects sur les polysaccharides de paroi végétale ainsi que leur diversité structurale et leurs propriétés biologiques. Un second chapitre est dédié aux caractéristiques de cet arbre et ses utilisations .Un troisième chapitre ,matériels et méthodes, décrit les principales techniques et protocoles utilisés dans cette étude. Enfin, un dernier chapitre résultats et discussion présente et discute les résultats obtenus. Ces différents chapitres sont précédés d'une introduction et terminés par une conclusion.

Chapitre 1

Les polysaccharides

1.1. Généralités

Les polysaccharides sont les polymères macromoléculaires naturels les plus abondants, obtenus à partir de biomasse végétale telle que les algues, les plantes, ainsi que de micro-organismes tels que les champignons et les bactéries (Darge, Andrgie et al. 2019). Avec d'autres biomolécules comme les protéines et les acides nucléiques, les polysaccharides jouent un rôle fondamental et accomplissent diverses fonctions au sein du système biologique, notamment la structure, la médiation de la communication entre les cellules, l'adhésion cellulaire et la reconnaissance moléculaire dans le système immunitaire (Yang and Zhang 2009).

Les polysaccharides ou polyosides ou glycanes sont de longues chaînes complexes d'hydrates de carbone composées de monomères de sucres neutres et/ou d'acides uroniques reliés entre eux par des liaisons glycosidiques (Hazourli, Ziati et al. 2007). Leur formule brute générale $(\text{CH}_2\text{O})_n$ (Chouana 2017) et leur degré de polymérisation est supérieur à 10.

Ils sont impliqués dans des processus biologiques, tels que le développement embryonnaire et d'immunité cellulaire contre les infections virales et bactériennes (Hazourli, Ziati et al. 2007). Ils jouent un rôle crucial dans de nombreux processus physiologiques différents, ils peuvent fournir une structure, une protection, une adhésion et une réactivité aux stimuli, ils ont également des rôles cruciaux dans le système immunitaire, la coagulation sanguine, la fécondation, la prévention de la pathogenèse et l'efficacité thérapeutique (Mohammed, Naveed et al. 2021).

1.2. Classification des polysaccharides

La structure des polysaccharides est très complexe. Les polysaccharides sont des macromolécules composées de multiples unités de sucres, appelées monosaccharides, liées entre elles par des liaisons glycosidiques. Si un polysaccharide ne contient qu'un seul type de molécule de monosaccharide, il est appelé homopolysaccharide ou homoglycane, comme l'amidon, la cellulose et le glycogène. En revanche, ceux qui contiennent plus d'un type de monosaccharide sont des hétéro polysaccharides (Figure 1) (Gomez d'Ayala, Malinconico et al. 2008).

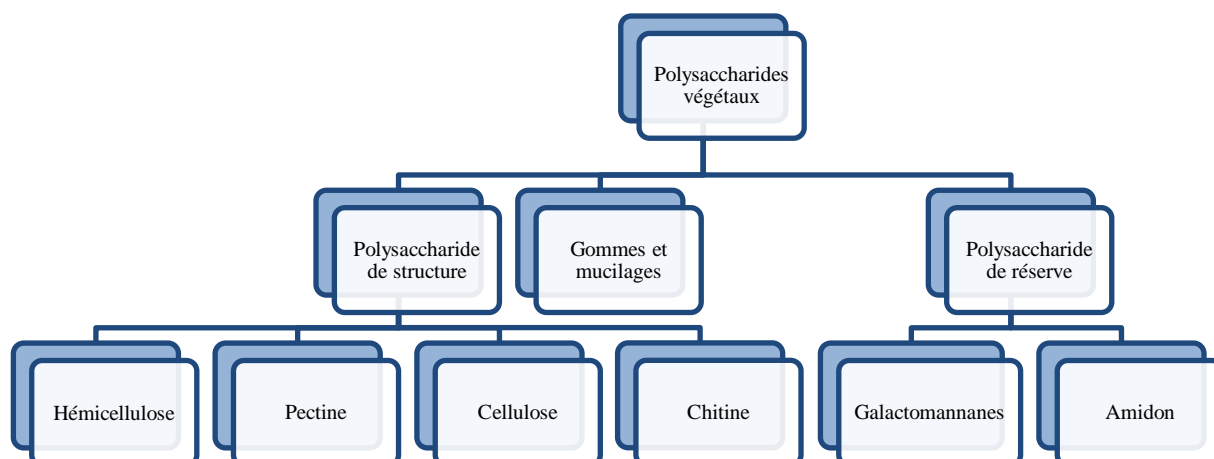


Figure1 : Diagramme synthétique de classification des polysaccharides végétaux

1.2.1. Les polysaccharides de structures

1.2.1.1. La cellulose

La cellulose est un polymère linéaire et très ordonné, avec un poids moléculaire élevé de 10^6 Da ou plus. Elle a été découverte et isolée à partir de plantes vertes par Payen (1838) (**Bacakova, Novotná et al. 2014**). Elle contient de résidus de D-glucose unis par des liaisons β (1 \rightarrow 4)-glycosidique (**Le Floch, Jourdes et al. 2015**) (**Figure 2**). Elle est insoluble dans la plupart des solvants. Sa structure cristalline en découlant des propriétés mécaniques de résistance, et un arrangement des chaînes de cellulose en fibrilles qui apporte également une grande flexibilité. L'ensemble de ces propriétés physico-chimiques et mécaniques, en plus de sa grande abondance et disponibilité, font de la cellulose l'un des polysaccharides le plus étudié. Elle est un des polysaccharides les plus exploités dans différents domaines tels que l'agroalimentaire, l'industrie chimique, la pharmacie, les biocarburants et pour la production de matières plastiques telles que la cellophane (**Chouana 2017**).

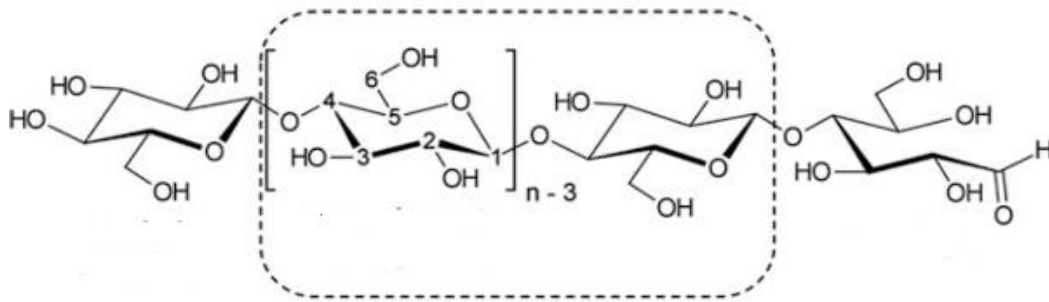


Figure2 :Représentation schématique de la cellulose; n= degré de polymérisation (dp)(Vega, Wondraczek et al. 2015)

1.2.1.2.L'hémicellulose

L'hémicellulose est le deuxième polysaccharide le plus abondant après la cellulose. Elle constitue entre un quart et un tiers de la plupart des matières végétales et, au cours des vingt dernières années, les hémicelluloses ont été utilisées comme matière première pour la production de sucres (Singh 2011). Les hémicelluloses constituent un groupe de polysaccharides complexes qui se caractérisent par leur solubilité dans des solutions alcalines (par exemple KOH 1M) et leur insolubilité dans l'eau. Les hémicelluloses sont définies structurellement comme des polysaccharides dont le squelette est composé de résidus β-(1-4)-D-pyranose. Elles sont divisées en quatre groupes : xylanes, mannanes, β-glucanes mixtes et xyloglucanes (Figure 3). Les xylanes sont les principaux composés hémicellulosiques de la paroi secondaire, ils représentent environ 20–30 % de biomasse des plantes dicotylédones (Angone, Nguema-Ona et al. 2010).

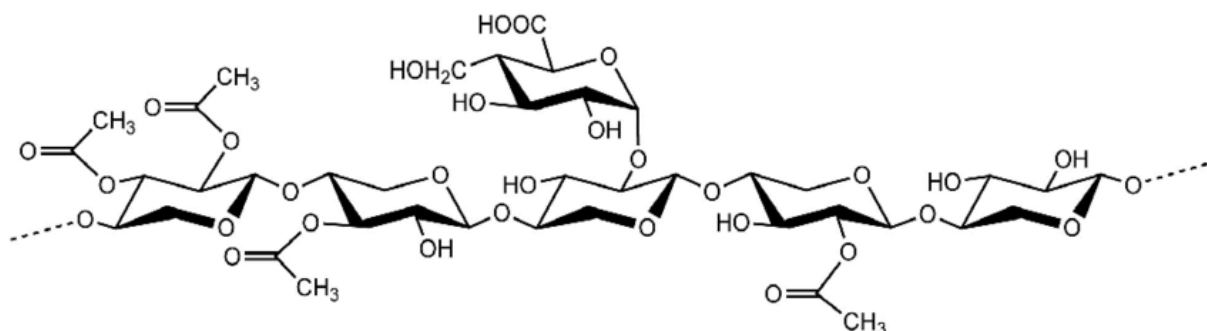


Figure3 : structure d'hémicellulose (Kulkarni and Bioenergy 2024)

1.2.1.3. La pectine

Les pectines constituent une famille de polysaccharides complexes qui contiennent des résidus d'acide α -D-galactosyluronic liés en 1,4. Elles sont présentes dans la plupart des parois cellulaires primaires et dans les parties non ligneuses des plantes terrestres. En raison de leur mécanisme de déglification simple et cyto compatible, les pectines ont récemment été exploitées pour diverses applications biomédicales, y compris l'administration de médicaments et de gènes, la cicatrisation des plaies et l'ingénierie tissulaire (Bacakova, Novotná et al. 2014). Ainsi, les pectines sont une source d'oligogalacturonides (OGAs) susceptibles d'être libérés après une attaque d'agent phytopathogène. Ils peuvent alors agir en tant qu'éliciteurs des réactions de défense de la plante induisant des réponses incluant l'augmentation du pH extracellulaire, la libération de composés antifongiques tels que des espèces réactives de l'oxygène ou encore la libération d'enzymes de dégradation de la paroi fongique (Lee, Huang et al. 2002) (Osorio, Castillejo et al. 2008). Ils jouent un rôle important dans la physiologie végétale, y compris en termes de défense, de morphogénèse et de signalisation. (Ridley, O'Neill et al. 2001, Willats, McCartney et al. 2001, Mohnen 2008).

La pectine est un composant essentiel dans le processus initial de croissance et de maturation des fruits et est souvent un déchet de l'industrie alimentaire et de la transformation des fruits (Ridley, O'Neill et al. 2001).

Le rhamnogalacturonane 1 et le rhamnogalacturonane 2 sont des composants importants de la pectine, chacun ayant une structure et une fonction distinctes dans la matrice de la paroi cellulaire. Ils sont principalement composés de résidus de galacturonate (un type d'acide uronique) liés à des résidus de rhamnose (Figure 4). Ils constituent l'armature centrale de ces polysaccharides et confèrent des propriétés structurales et fonctionnelles spécifiques à chacun d'eux (TILLY 2010).

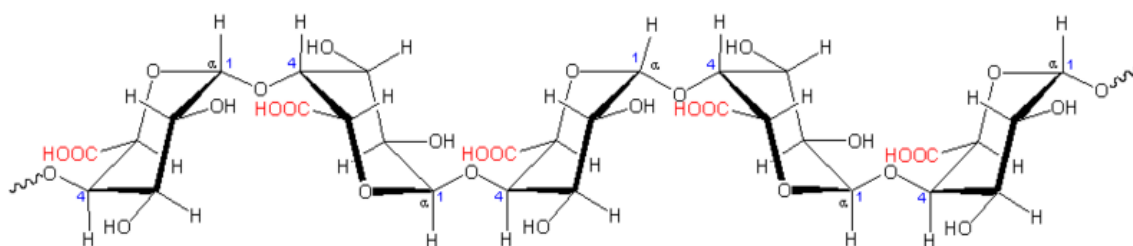


Figure 4 : Structure de pectine (TILLY 2010)

1.2.1.4. La chitine

La chitine est un polysaccharide naturel largement répandu dans la nature en tant que constituant structurel des champignons et des levures, ainsi que des exosquelettes des insectes et des crustacés. C'est un polysaccharide azoté blanc, dur et inélastique. C'est le deuxième biopolymère le plus abondant après la cellulose. (Figure 5) On le trouve dans l'exosquelette des arthropodes (Shu, Lu et al. 2022), dans les parois cellulaires de champignons et de levures mais aussi chez d'autres plantes inférieures ainsi que dans les structures internes des invertébrés (Crini, Badot et al. 2009). Il s'agit d'un polymère linéaire de résidus N-acétylglucosamines et de résidus glucosamines liés en $\beta(1\rightarrow4)$. La chitine existe sous trois isoformes α , β , et γ (Khoushab and Yamabhai 2010). La chitine possède un bon nombre d'applications pharmaceutiques ou biomédicales. Bien que le chitosane ait été principalement utilisé comme diluant dans la fabrication des comprimés, il a également été proposé comme liant, lubrifiant ou agent de désintégration potentiel. (Felt, Buri et al. 1998, Singla and Chawla 2001)

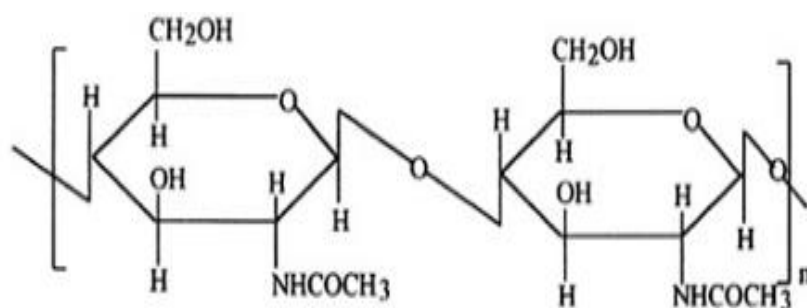


Figure 5 : Structure de la chitine (Chouana 2017)

1.2.2. Les polysaccharides de réserves

1.2.2.1. Amidon

Les plantes synthétisent et stockent l'amidon dans leur structure comme réserve d'énergie. Il est généralement déposé sous forme de petits granules d'un diamètre compris entre 1 et 100 μm . Après la cellulose, l'amidon est l'hydrate de carbone le plus abondant disponible comme matière première dans le règne végétal (Singh 2011) où il est présent dans des graines ou des tubercules, rhizomes et fruits. (Gallant, Bouchet et al. 1992). L'amidon est un polymère d'unités α -D-glucose. Les unités de glucose anhydre sont principalement liées par des liaisons $\alpha(1,4)$ et dans une certaine mesure, par des ramifications $\alpha(1,6)$. L'amidon se présente sous deux formes structurelles distinctes : l'amylose et l'amylopectine (Singh 2011). L'amidon est utilisé dans de nombreuses applications alimentaires et non-alimentaires. Sous sa forme

native, l'amidon est utilisé comme épaississant (potages, sauces, ...) pour le coffrage et le capsulage, comme gélifiant et comme stabilisant (par sa grande capacité de rétention d'eau). L'amidon peut aussi être modifié selon différentes voies pour lui donner de nouvelles fonctions. La modification physique ou chimique de l'amidon affecte sa viscosité et donc sa stabilité au pH et à la chaleur. L'amidon peut être hydrolysé en dérivés par voie enzymatique ou chimique (dégradation acide). L'amidon peut être aussi pré-gélatinisé pour lui assurer une meilleure dissolution au cours de la fabrication d'un produit et pour son utilisation dans les produits froids(**Chouana 2017**).

1.2.2.2. Galactomanane

Les galactomannanes sont des polysaccharides hétérogènes composés d'un squelette β -(1-4)-D-mannose avec une seule branche D-galactose α -(1-6). Sont des polysaccharides de masse moléculaire élevée issus d'endospermes de graines de certaines *Leguminosae*(appartenant à la famille des *Fabaceae*) où ils servent de réserve de carbone et d'énergie lors de la germination. Les galactomannanes sont largement utilisés dans l'industrie en raison de leurs propriétés fonctionnelles telles que leurs capacités épaississantes, liantes et stabilisantes. Ces propriétés fonctionnelles sont dues au comportement rhéologique des galactomannanes en phase aqueuse et à la liaison intermoléculaire dans certaines conditions(**Prajapati, Jani et al. 2013**).

1.2.3. Gommages et mucilages

Les gommages sont considérées comme des produits formés à la suite d'une blessure de la plante ou en raison de conditions défavorables, telles que la sécheresse, par une dégradation des parois cellulaires (formation extracellulaire ; gommose), tandis que les mucilages sont généralement des produits normaux du métabolisme, formés à l'intérieur de la cellule (formation intracellulaire) et/ou sont produits sans blessure de la plante. Les gommages se dissolvent facilement dans l'eau, tandis que les mucilages forment des masses visqueuses. Diverses gommages et mucilages ont été utilisés sous différentes formes comme excipients à libération prolongée, liants, désintégrants , etc(**Singh 2011**).

Chapitre 2

Activités biologiques des polysaccharides

Des rapports récents ont révélé que les activités biologiques des polysaccharides sont étroitement liées à leur conformation, leur structure, la composition chimique, le poids moléculaire, et le degré de ramification. L'élucidation de la structure et la conformation est nécessaire afin de mieux comprendre les fonctions biologiques des polysaccharides (**Fedail et al., 2016; He et al., 2017**).

2.1. Activité immuno-modulatrice

Les composés qui sont capables d'interagir avec le système immunitaire pour réguler positivement ou négativement la réponse de l'hôte face à du non soi, peuvent être classés comme des immuno-modulateurs ou des modificateurs de la réponse immunitaire (**Tzianabos, 2000**).

Au cours des dernières années, les activités immuno-modulatrices de polysaccharides dérivés de plantes ont suscité une attention croissante (**Nie, Zhu, Ma, Wang, & Hu, 2018**). Une grande variété de polysaccharides naturels se sont révélés être des agents anti-tumoraux efficaces, par exemple le lentinane et le schizophyllane (**L. Chen et al., 2019**).

Selon **Zong, Cao, and Wang (2012)**, les glycoconjugués (polysaccharide-protéine) possèdent une activité antitumorale et peuvent également renforcer l'efficacité des médicaments chimio thérapeutiques classiques. Les polysaccharides naturels provenant des champignons ont fait l'objet de nombreuses études en raison de leurs activités anti-tumorales et pharmaceutiques puissantes (**Ren, Perera, Hemar, & function, 2012; Zhang, Cui, Cheung, Wang, & Technology, 2007**).

Parmi les exemples de polysaccharides provenant de champignons, on peut mentionner le *ganoderma lucidum*, qui a démontré une activation immunitaire puissante in vitro et une activité anti tumorale sur les cellules cancéreuses du sein (**Zhao, Dong, Chen, & Hu, 2010**) ; ainsi que les *lentinusedodes*, qui ont démontré un effet anti tumoral marquant contre le sarcome transplanté par voie sous-cutanée (**Smestad Paulsen, Barsett, & use, 2005**).

Les polysaccharides sulfatés, y compris ceux issus des algues, ont montré des propriétés immuno-modulatrices qui peuvent être employées pour stimuler la réponse immunitaire ou pour réguler l'activité des cellules immunitaires afin de réduire les effets négatifs qui y sont liés, comme l'inflammation (**D. Chen, Wu, & Wen, 2008**). Les polysaccharides sulfatés ont la capacité d'influencer différentes cibles des systèmes immunitaires et inflammatoires, ce qui

peut influencer la progression et l'issue de la maladie, y compris la croissance de la tumeur et les métastases (Groth, Grünewald, & Alban, 2009).

Les polysaccharides sulfatés d'algues interagissent avec le système du complément, ce qui suggère qu'ils peuvent être bénéfiques pour influencer l'immunité innée et diminuer l'état pro-inflammatoire ou d'autres conditions néfastes comme les réactions allergiques qui se produisent lors de la réponse immunitaire innée. De plus, de plus en plus de données montrent que les polysaccharides d'algues peuvent influencer directement la réponse immunitaire innée en se liant aux récepteurs de reconnaissance des formes (PRR) tels que le récepteur du mannose et les récepteurs de type Toll sur les cellules phagocytaires, y compris les macrophages (D. Chen et al., 2008).

Par exemple, la présence de la λ -carraghénane a entraîné la stimulation des cultures de cellules T de souris en stimulant le récepteur Toll-like 4 (TLR4), ce qui a entraîné une réponse cytokinique de type T soutien (Th1) (Tsuji et al., 2003). Toutefois, les splénocytes générés à partir de souris dépourvues de TLR4 ont maintenu une certaine capacité à synthétiser de l'interféron- γ en réponse au λ -carraghénane, ce qui laisse supposer que des PRR autres que le TLR4 ont également été activés. Chez des souris vaccinées contre l'ovalbumine pour développer une réaction allergique, l'administration orale de λ -carraghénane a provoqué une diminution des IgE spécifiques à l'ovalbumine et de la libération d'histamine dans le sérum, ce qui suggère que le λ -carraghénane puisse être employé afin d'améliorer les réactions allergiques. D'autres résultats ont été signalés pour le fucoïdane d'*Undaria pinnatifida* (Maruyama, Tamauchi, Hashimoto, Nakano, & immunology, 2005).

Par conséquent, les polysaccharides sulfatés, tels que ceux issus d'algues, ont donc des propriétés immuno-modulatrices qui peuvent être bénéfiques pour stimuler la réponse immunitaire ou réguler l'activité des cellules immunitaires afin de réduire les effets négatifs associés tels que l'inflammation (Jiao, Yu, Zhang, & Ewart, 2011).

2.2. Activité anti inflammatoire

L'inflammation est la réponse de défense déclenchée par le système immunitaire, en réaction à divers types d'agressions, qu'elles soient d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire), ou infectieuse (Ndiaye, Sy, Dièye, Touré, & Faye, 2006).

Les fucanes sont des polysaccharides sulfatés présents dans la matrice intercellulaire des algues brunes (Phaeophyceae). *In vitro* ces polysaccharides sont capable d'induire l'agrégation plaquettaire, tandis que certains ont une action anti-inflammatoire, d'autres montrent également des propriétés anti-tumorales (Jean, 2009). Certains polysaccharides ont démontré un effet inhibiteur sur les médiateurs impliqués dans l'inflammation tels que les cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α) et l'oxyde nitrique (NO), tout en réduisant l'infiltration des cellules inflammatoires (Ullah, Khalil, Shaukat, & Song, 2019). Les polysaccharides sulfatés provenant d'algues ont un effet anti-inflammatoire en perturbant la migration des leucocytes vers les sites d'inflammation (Jiao et al., 2011).

2.3. Activité antivirale

Les maladies virales infectieuses représentent un risque majeur pour la santé humaine. Dans la quête de médicaments antiviraux efficaces, les polysaccharides ont été identifiés comme des composants peu toxiques avec une forte activité antivirale, tant *in vivo* qu'*in vitro* (L. Chen et al., 2019). Ces substances sont principalement capables d'inhiber la reproduction virale, de protéger les cellules contre l'infection et d'améliorer le taux de survie des animaux infectés. Le virus détruit l'organisme en s'infectant par l'absorption et l'invasion de la cellule sensible. Toutefois, les polysaccharides peuvent interrompre l'absorption, notamment les polysaccharides sulfatés (Lopes et al., 2013).

Les polysaccharides sulfatés marins présentent des structures uniques qui exercent des effets antiviraux. Ils bloquent différentes phases du cycle de vie virale inactivant directement les virions avant l'infection ou en inhibant leur réplication à l'intérieur de la cellule hôte. Ainsi, les algues riches en polysaccharides contribuent largement à la découverte et au développement de médicaments antiviraux. Le mécanisme des actions antivirales des polysaccharides sulfatés (SP) (rouge) sont illustré dans la (Figure 6)- (i) inhibent la fixation du virus (ii) inhibent la pénétration du virus (iii) inhibent l'internalisation et le décapage du virus (iv) inhibent le processus de transcription et de réplication du virus (Hans, Malik, & Naik, 2021).

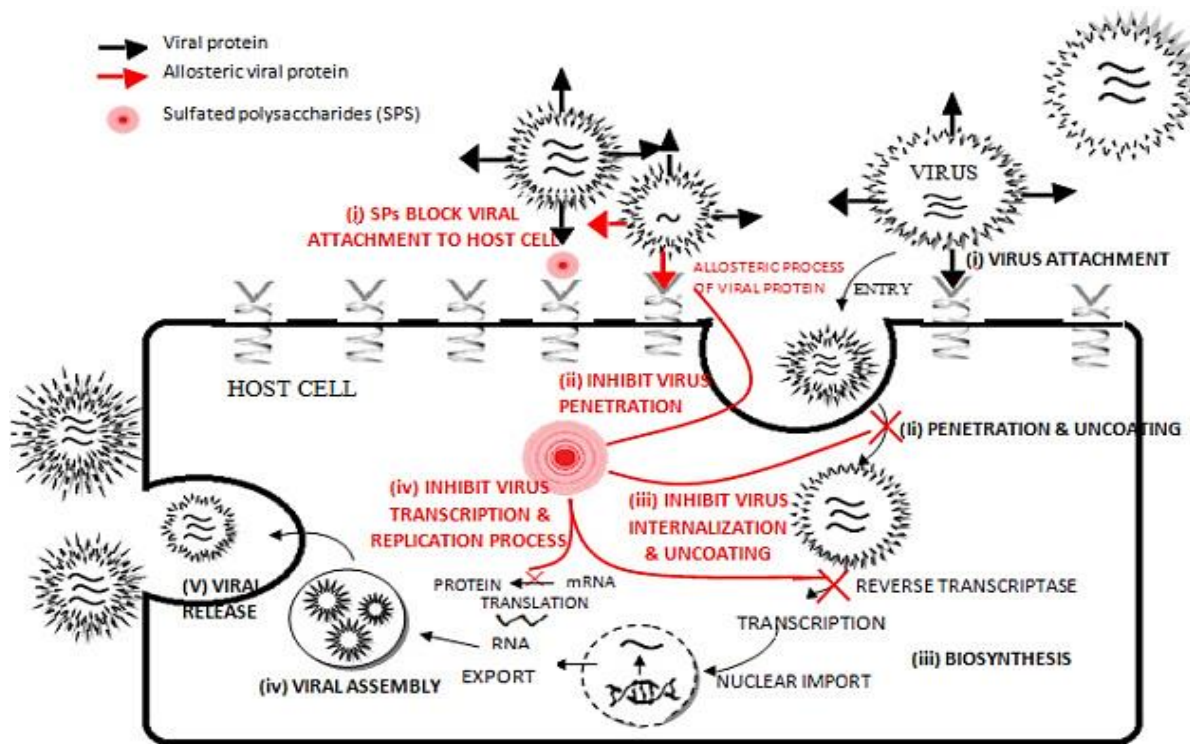


Figure6 : Étapes du cycle de vie du virus (*noir*) - (i) fixation du virus, (ii) pénétration et décapsulage du virus (iii) biosynthèse (iv) assemblage viral (v) libération virale (Hans et al., 2021)

En outre, des études menées il y a plus de 50 ans (Talarico et al., 2005) ont montré les effets des polysaccharides d'algues marines sur l'inhibition du virus de la grippe B et du virus des oreillons. Ces découvertes ont permis de présenter les polysaccharides dérivés des algues comme une source puissante d'agents antiviraux. La recherche scientifique sur les composés antiviraux et les diverses activités biologiques des polysaccharides sulfatés marins contre plusieurs virus mortels a finalement augmenté au cours de la dernière décennie. Depuis lors, un grand nombre d'études ont été publiées sur la propriété antivirale de divers polysaccharides sulfatés. Ils préviennent un large éventail de maladies contagieuses telles que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le virus de l'hépatite C (VHC), le virus de la dengue (DENV), le virus de l'herpès (HSV-1 et HSV-2), le virus du papillome humain (HPV) et de nombreux virus des voies respiratoires (Talarico et al., 2005).

Ainsi, les polysaccharides anioniques présentent un potentiel antiviral prometteur en raison de leur capacité à se lier aux protéines à charge positive présentes sur la membrane externe des virus (**Huheihel, Ishanu, Tal, Arad, & methods, 2002**). Le polysaccharide extrait des feuilles de *rhizophoraapiculata* a été évalué dans des systèmes de culture cellulaire en raison de son activité contre les virus de l'immunodéficience humaine et simienne, ce dernier est composé principalement de galactose, galactosamine et d'acide uronique (**Martinez, Del Olmo, & Benito, 2005**).

2.4. Activité antioxydante

De nombreuses études récentes ont montré que de nombreux polysaccharides naturels permettent de prévenir les dommages oxydatifs en agissant comme des piègeurs de radicaux libres présents dans les organismes vivants. Il a été signalé que les polysaccharides naturels peuvent atténuer ou supprimer les effets des espèces réactives de l'oxygène (**Gao et al., 2015**). Les macromolécules naturelles sont de plus en plus utilisées dans différentes applications industrielles, comme des additifs alimentaires, des fibres alimentaires et des émulsifiants (**Rjeibi et al., 2018**).

Une autre étude a montré que les polysaccharides de *Pleurotus tuberregium* ont un pouvoir antioxydant élevé et qu'ils pourraient être exploités efficacement comme antioxydants naturels pour atténuer le stress oxydatif (**Wu, Hu, Li, Huang, & Jiang, 2014**). Les polysaccharides réduisent les dommages oxydatifs en raison de leur capacité élevée à capturer les radicaux libres et à prévenir les dommages à l'ADN. De plus, le poids moléculaire pourrait jouer un rôle crucial dans l'impact de la capacité antioxydant (**Yang et al., 2014**).

2.5. Activité pré-biotique

Le concept de prébiotiques a été largement popularisé par les travaux de **Tuohy, Probert, Smejkal, and Gibson (2003)**, où les prébiotiques sont désormais communément définis comme des ingrédients sélectivement fermentés, ce qui induisent des modifications spécifiques dans la composition et l'activité du microbiote gastro-intestinal, contribuant ainsi au bien-être de l'hôte.

Selon **Muccioli et al. (2010)**, les prébiotiques sont caractérisés par leur capacité à résister à l'acidité gastrique, à être hydrolysés par des enzymes des intestins de mammifères et à être absorbés par l'intestin. Ou, comme le soulignent à nouveau **Laparra and Sanz (2010)**, trois critères ont été évoqués comme indispensables pour évaluer l'efficacité d'un périodique : (1) la

CHAPITRE 2 :ACTIVITES BIOLOGIQUES DES POLYSACCHARIDES

capacité de résister à l'acidité de l'estomac et aux enzymes du système digestif, (2) la capacité de faire fermenter les micro-organismes de la flore intestinale et, (3) la modulation et la stimulation de la croissance des bactéries bénéfiques dans l'intestin.

Chapitre 3

Grenadier commun

Introduction

Le grenadier est une espèce originaire d'Asie occidentale (Himalaya, nord de l'Inde, Iran). Cependant, depuis l'Antiquité, il a été cultivé et s'est naturalisé dans les régions du bassin méditerranéen. On le trouve également cultivé dans les régions tempérées chaudes: Proche-Orient, Chine, Sud-Est des États-Unis, Chili, Argentine (**Ben Abdennebi, 2012**).

Le grenadier, une culture qui existe depuis des millénaires en Algérie, est perçu comme une espèce fruitière secondaire. Les plantations n'ont pas une grande importance en Algérie, même si cette plante est résistante à la sécheresse et peut être utilisée pour valoriser les sols pauvres et alcalins (**Hmid, 2013**).

Le grenadier est une espèce fruitière pérenne qui peut faire face à la sécheresse et valoriser dans les sols pauvres et salins. Il possède de grandes capacités d'adaptation aux conditions environnementales marquées par une aridité climatique remarquable. De plus, il joue un rôle essentiel dans la préservation, la restauration et la fixation des sols (Martínez et al., 2016).

Des recherches précédentes ont démontré que les extraits de diverses parties de la grenade possèdent de multiples propriétés biologiques en tant qu'antimicrobiens, antiviraux, antioxydants, anti-inflammatoires et antidiabétiques (**Kaderides et al., 2015**).

Aujourd'hui, le fruit *Punica granatum L.* attire un grand intérêt de la part du public, mais la recherche se concentre également sur ses propriétés médicinales et dans l'industrie alimentaire (**Shaygannia et al., 2016**). Plutôt que d'être un produit négligé, l'écorce de grenade est perçue comme une alternative qui présente également d'autres bénéfices pour la santé humaine (**Kaderides et al., 2015**). Ainsi, la grenade est désormais recommandée en tant qu'adjuvant dans la prise en charge de certaines affections telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète et certains cancers, en particulier celui de la prostate (**Bidri & Choay, 2017**).

3.1. Description botanique

3.1.1. Le grenadier

Le grenadier (*Punica granatum L.*) est un grand arbrisseau ou arbuste assez épineux, aux feuillages caduques, de la famille des *Punicaceae*. Il est d'origine asiatique subtropicale et s'est adapté à la région méditerranéenne (**Sarkhosh et al., 2006**). Il est consommé à la fois sous forme de fruit frais et de jus, largement apprécié pour ses multiples bienfaits pour la santé, il est reconnu pour ses activités antioxydante, antidiabétiques, hypolipidémiques,

antibactériennes, anti-inflammatoires, antivirales, anticancérigènes, ainsi que pour son rôle dans l'amélioration de la santé cardiovasculaire et bucco-dentaire. De plus, l'écorce de la grenade est utilisée traditionnellement contre les parasites intestinaux, la dysenterie et la diarrhée (Al-Said et al., 2009). Le jus et les graines de grenade sont également considérés comme un tonique pour la gorge et le cœur, ils sont utilisés pour arrêter les saignements de nez et de gencives et pour traiter les hémorroïdes (Farrukh, 2012).



Figure 7: Arbre du grenadier commun.

3.1.2. Les feuilles

Les feuilles du grenadier sont caduques et opposées longues et oblongues, de trois à sept centimètres de long et de deux centimètres de large. Elles sont facilement identifiables par leur couleur verte vive pour la face supérieure et verte claire pour la face inférieure (Hmid, 2013).Elles peuvent être alternées sur les rejets ou en touffes sur les pousses courtes (Godet & Friedmann, 1991).

Ces feuilles présentent un limbe elliptique, allongé de 3 à 8cm de long, avec un sommet obtus, un court pétiole rougeâtre. Les feuilles du grenadier ont des substances chimiques comme la lutéoline et l'apigénine avec des effets calmants. Elles ont des tanins, comme la punicaline et la punicalagine (Sanaa, 2013).



Figure 8 : Feuilles de grenadier commun.

3.1.3. Fleurs

Les fleurs axillaires et solitaires sont également connues sous le nom de balaustes ;elles sont très ornementales peuvent apparaître en paires ou en grappes (Planchon, 1875). possède un diagramme floral constitué d'un calice, d'un ovaire, des étamines et des pétales (da Silva et al., 2013).

Les fleurs de la grenade ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter les saignements, les diarrhées chroniques, et aussi pour le traitement des blessures et des cheveux grisonnants chez les jeunes hommes (Zhang et al., 2011).



Figure 9 : Fleure de grenadier commun.

3.1.4. Fruit

Le fruit du grenadier, la grenade, une baie complexe presque ronde et charnue de la taille d'une pomme ou d'une orange (Chakass et al., 2007). Elle est protégée par un épicarpe épais, dur, coriace, et non comestible. Selon la variété et la maturité du fruit, l'écorce a une teinte allant du jaune au rouge foncé (da Silva et al., 2013), et 12 cm de large alors que le poids varie entre 200 et 650 grammes (Godet & Friedmann, 1991).



Figure 10 : Fruit de grenadier commun.

3.1.5. Graine

Cette baie contient de nombreuses graines dans des loges séparées par des cloisons ténues. Cela signifie que toutes ces graines ont un mésocarpe charnu. Il est gélatineux, acidulé et sucré, représentant la partie comestible du fruit (Elodie, 2009). Les graines ont un tégument interne qui est très succulent. Intérieur dur et coriace (Courchet, 1897).



Figure 11 : Fruit et graines de grenadier commun (Sanaa 2013)

3.2. Classification botanique

Le grenadier commun, *Punica granatum*. L, a été décrit par Linné et introduit dans sa classification en 1753. Cette classification encore adoptée et décrite ci-dessous (**Ben Abdennebi, 2012**).

Tableau 1 : Classification botanique du grenadier commun

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

3.3. L'écorce de grenade

L'écorce du fruit du grenadier ou autrement appelé *malicorium* (Écorce séchée de la grenade) est une partie externe et dure du fruit. La couleur de la face extérieure peut varier, brillante ou jaunâtre, avec une saveur amère et astringente. Environ 50 % du poids total de la grenade est représenté par elle (**Calin & Carboneli, 2005**).

Les écorces sont utilisées souvent séchées. Sous la forme de fragments brunâtres ou vert rougeâtre à l'extérieur, un peu verruqueux, jaunâtres sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient incrustées. Les fragments présentent une consistance coriace et sont constitués d'un ensemble de cellules à paroi mince, avec des groupes de cellules pierreuses et des faisceaux fibro-vasculaires au milieu (**Elodie, 2009**).

3.3.1. Composition chimique et activité biologique de l'écorce de grenade

L'écorce de grenade est une source très importante de composés bioactifs tels que les polyphénols et les flavonoïdes (28 % de la peau du fruit) (**Calin & Carboneli, 2005**); Elle contient également des minéraux, notamment du potassium, du calcium, du magnésium, du phosphore et du sodium (**Viuda-Martos et al., 2010**).

La peau de grenade est également composée d'acides gras, de catéchines, de quercétines et de rutines. Cependant, les flavonoïdes et les tanins sont plus abondants dans la peau des

fruits sauvages que dans celle des plantes cultivées (Elodie, 2009). Des acides hydroxybenzoïques importants, des acides hydroxycinnamiques, des dérivés de flavones, des molécules colorantes jaunes et des anthocyanidines, responsables de la couleur rouge des grenades. De nombreux ellagitannins sont également présents ,comme , la punicalagine, la granatine A et la granatine B Lansky and Newman (2007). Il a été rapporté que l'écorce de grenade contient environ 10 % de pectine (Abid et al., 2016).

3.3.2. Activité antioxydante

La présence de certains composants tels que l'acide ascorbique et les composés phénoliques, tels que la punicalagine, la punicaline, l'acide gallique, l'acide éllagique et les anthocyanes, explique l'activité antioxydante du fruit de la grenade. Les écorces de grenade sont riches en antioxydants, ce qui leur permet de capturer les radicaux libres et de préserver les cellules du stress oxydatif, Cette activité antioxydante peut aider à diminuer le risque de maladies chroniques et à ralentir le processus de vieillissement (Al-Gubory et al., 2021; Mastrogiovanni et al., 2021).

Il est possible qu'elles renferment de la vitamine C, aussi appelée acide ascorbique, qui peut jouer un rôle puissant en tant qu'antioxydant, soutenant la fonction immunitaire, la production de collagène et favorisant l'absorption biologique du fer. De plus, elle peut contribuer à la conservation en tant qu'antioxydant naturel dans les produits carnés (Gullón et al., 2020).

3.3.3. Activité antiulcéreuse

L'écorce de grenade séchée en poudre est un efficace traitement contre l'acidité et de l'ulcère d'estomac (Bouchicha et al., 2018). Les propriétés antioxydantes de l'extrait de peau de grenade permettent d'inhiber les ulcères de l'estomac causés par l'aspirine et l'éthanol (Ajaikumar et al., 2005).

3.3.4. Activité anti probiotique

L'écorce du fruit de *Punica granatum*. L présente une activité antimicrobienne exceptionnelle in vitro contre des souches pathogènes telles que *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E coli*, ainsi que *Candidum geotricum* et *Penicillium expansum*. Il est probable que cette activité antibactérienne, qui n'est pas observée dans d'autres fruits aussi riches en tanins et en alcaloïdes, soit due à la combinaison unique des tanins et des alcaloïdes issus de cette écorce (Prashanth et al., 2001).

Chapitre 4

Matériels et méthodes

4.1. Matériel d'étude et réactifs :

- ◆ Spectrophotomètre (SHIMADZU)
- ◆ Etuve (EN500, NÜVE)
- ◆ Plaque chauffante (Stuart)
- ◆ Balance (RADWAG)
- ◆ Centrifugeuse
- ◆ FTIR (IRAffinty-1S, Shimadzu 2018, made in Japan)
- ◆ Four Pasteur
- ◆ Four a moufle (France ETUVES)
- ◆ Vortex
- ◆ 1-Hexane (SIGMA-aldrich ; France)
- ◆ Ethanol 96% (EDEN LABO)
- ◆ Acide acétique 5 %
- ◆ Sulfate d'ammonium (Panreac ; Espana)
- ◆ 1-butanol (Biochemchemopharma ; Quebec)
- ◆ Acide sulfurique H₂SO₄
- ◆ Phénol 5%
- ◆ Sérum albumine bovin BSA (Biochimchemophara ; France)
- ◆ Solution NaOH
- ◆ AcidephosphoriqueH₂PO₄ à 85% (sigma-aldrich; Germany)
- ◆ Bleu de CoomasieG250
- ◆ Sucres standards
- ◆ Acide ascorbique (Biochemchemophara ; Quebec)
- ◆ Méthanol (Biochemophara ; Quebec)
- ◆ Solution d'acide sulfurique
- ◆ Acétone (Specilab ; Europe)
- ◆ Acide Hydrochloric (SIGMA-aldrich;Australia)

Matériel biologique : Il est présenté par l'espèce végétale choisie : Ecorces de Grenades

4.2. Extraction des polysaccharides

4.2.1. Préparation du matériel végétal

1,1 kg d'écorces de grenades séchées ont été achetées et réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique puis tamisage, et stockées dans un milieu moins humide.

4.2.2. Délipidation et dépigmentation

200g de la poudre l'écorce de grenades ont été pesées, et mélangées dans un erlenmeyer avec une quantité de *n*-hexane, la solution a été ensuite agitée avec un barreau magnétique sur un agitateur. L'excès du *n*-hexane a été éliminé, le matériel végétal est étalé sur un cristalliseur pour le sécher.

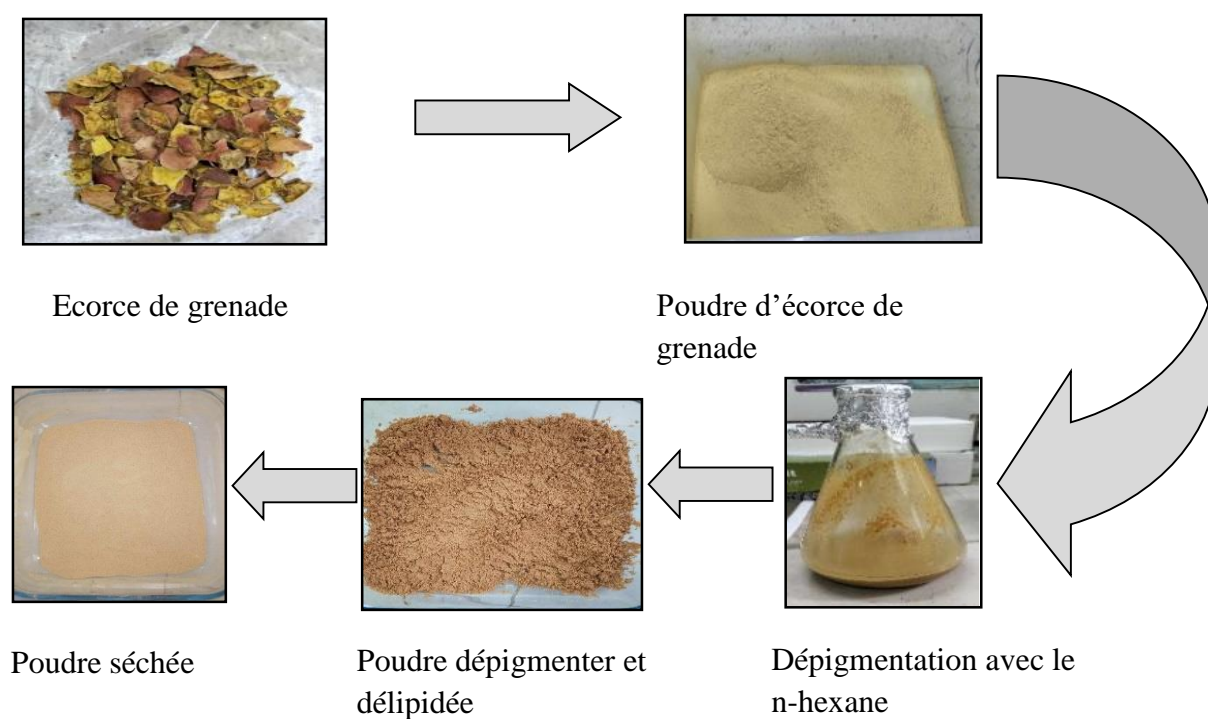


Figure 12 : Préparation de la poudre d'écorce de grenade.

4.2.3. Extraction Solide-Liquide

La poudre préalablement délipidée est ajoutée dans un 1L d'eau distillée, puis soumise à une extraction sur une plaque chauffante à 80°C, pendant 2h et agitée à 450 rpm. A la fin de l'extraction, la solution est centrifugée à 5000 rpm pendant 15 minutes.

4.2.4. Précipitation avec de l'éthanol

Après centrifugation, le surnageant (800ml) a été récupéré puis précipité avec 4 volumes d'Ethanol à 96% (ou 3200ml). Une centrifugation à 7500 rpm pendant 15 minutes a été appliquée et récupération du précipité.

4.2.5. Dénaturation des protéines

Le précipité récupéré, est ensuite resolubilisé dans 5% d'acide acétique (25 ml, dans 475 ml d'eau distillé), puis agité à 500 rpm. A la fin de l'agitation, la solution est incubée à 4°C pendant une nuit, puis centrifugée à 5000 pendant 15 minutes et récupération du surnageant de 660ml. Le culot (protéines) est séché à l'étuve et réduit en poudre puis stocké dans une bouteille hermétique.

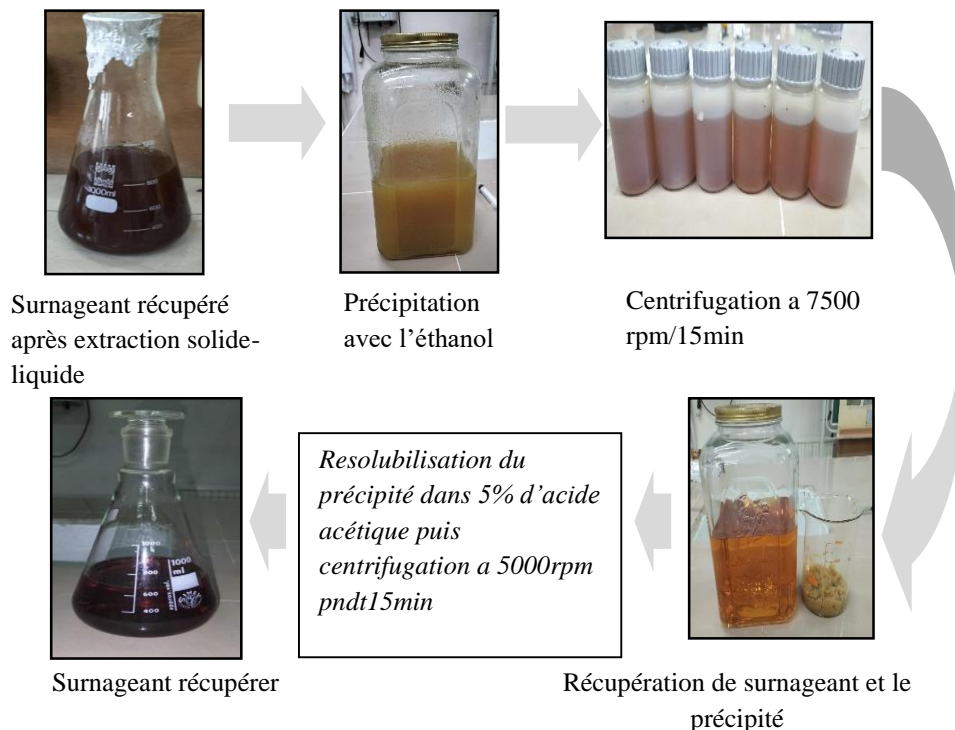


Figure 13 : Précipitation avec éthanol et dénaturation des protéines.

4.2.6. Purification des polysaccharides par la méthode Three Phase Partitioning (TPP)

132g de sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et 100ml du 1-Butanol ont été ajoutées à 660ml de la solution récupérée dans l'étape précédente, puis centrifugée à 3000 rpm pendant 15 minutes pour accélérer la formation des phases. A l'aide d'une pipette, la phase aqueuse de 470ml contenant les polysaccharides a été récupérée, les deux autres phases ont été éliminées. La solution aqueuse est précipitée encore une fois avec de 2 volumes d'Ethanol (ou 2 X 470ml) et laisser à 4°C pendant une nuit.

4.2.7. Récupération des polysaccharides

Le volume d'éthanol en excès a été éliminé, puis une centrifugation du précipitât à 3000 rpm pendant 5 minutes a été effectué. Les polysaccharides ont été récupérés et étalés sur un cristalliseur et séchés à 40°C à l'étuve pendant deux jours avec vigilance pour éviter toute éventuelle caramélisation. Une fois séchés les polysaccharides ont été broyés avec un mortier et stocker dans des bouteilles hermétiques loin de l'humidité.

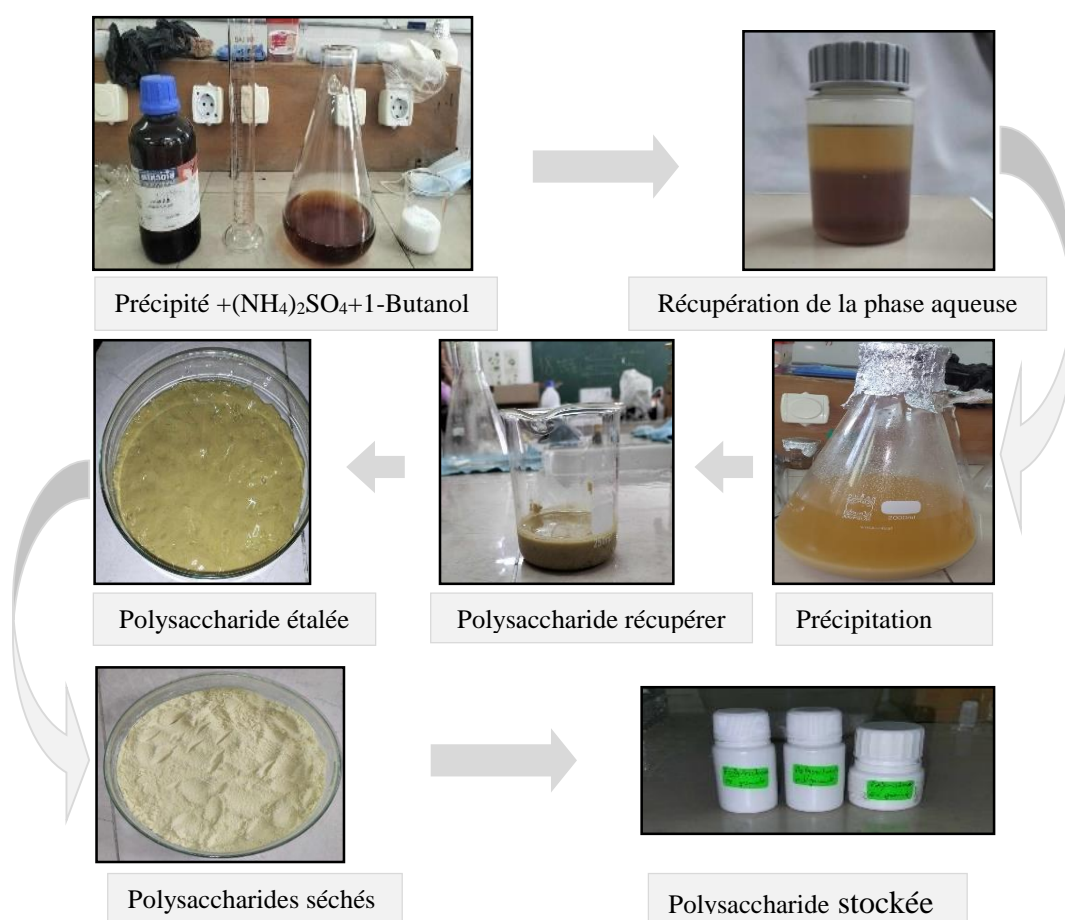


Figure 14 : Protocole d'extraction des polysaccharides par la méthode TPP.

4.3. Détermination de taux d'humidité

Le taux d'humidité représente le rapport entre le poids perdu au cours du séchage, et le poids frais de l'échantillon, multiplié par cent.

Le taux d'humidité a été déterminée par la méthode d'incinération selon le protocole décrit par (Lecheb 2010). 2 g de poudre d'écorce de grenade ont été pesées, puis portées à 103°C pendant 3h ; Le poids des poudres a été contrôlé jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Le rapport d'humidité (H%) est calculé par la formule suivante :

$$H \% = (P_0 - P_1) / P_0 * 100$$

$$H \% = 2 - 1.8505 / 2 * 100 = 7.93 \%$$

$$H \% \approx 8 \%$$

4.4. Détermination du taux de cendres

Les cendres sont le résidu minéral qui reste après incinération totale de la matière organique dans des conditions bien déterminées.

La teneur en cendres a été déterminée par la méthode d'incinération selon le protocole décrit par (Lecheb, 2010). 2g de poudres de l'écorce de grenade ont été soumise à une incinération dans un four à moufle à 500°C pendant 3 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur noire. L'échantillon est refroidi dans un dessiccateur puis pesé sur une balance.

Le taux des cendres est exprimé en pourcentage et calculée après la détermination de la teneur en matière organique selon la formule suivante :

$$MO\% = (M1 - M2) / P . 100$$

Soit :

M0% : Matière organique en pourcentage

M1 : Masse du creuset avec la prise d'essai (g)

M2 : Masse du creuset avec les cendres (g)

P : Masse de la prise d'essai (g)

Taux de cendres = 25%

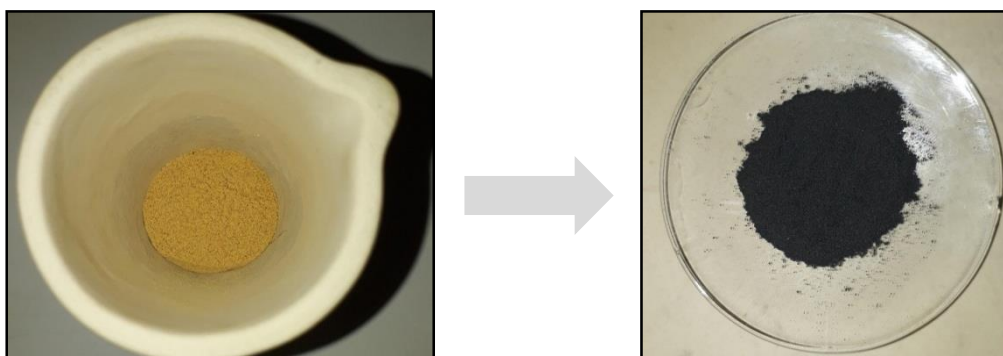


Figure 15 : Incinération de la poudre de l'écorce de grenade.

4.5. Dosage des protéines par méthode de Bradford

La méthode de Bradford (1976) est un dosage colorimétrique très sensible pour déterminer la concentration des protéines dans un échantillon. Elle repose sur la formation d'un complexe entre le bleu de Coomassie G-250 et les protéines en solution. Ce complexe est quantifiable au spectrophotomètre à 595 nm. Le bleu de Coomassie lié surtout aux résidus arginine, tryptophane, tyrosine, histidine, et phénylalanine des protéines.

4.5.1. Préparation du réactif de Bradford

Dissoudre 5 mg du Bleu de Coomassie G-250 dans 2.5 ml d'éthanol à 96%, puis mélanger la solution avec 5 ml d'acide phosphorique à 85%, et remplir avec de l'eau distillé jusqu'à 50mL. Filtrer la solution avec du papier filtre et conserver dans une bouteille à température de 4°C à l'obscurité.

4.5.2. Préparation des étalons de l'albumine sérique bovine (SAB)

- Préparer une solution mère de SAB de 2 mg/ml ;
- Dans des tubes à essai, préparer des dilutions de SAB (2 ; 1 ; 0.5 ; 0.25 ; 0.125 ; 0.0625 ; 0.0312 ; 0.0156 ; 0.0078 mg/ml). Pour la première dilution on prend 500 µl de la solution BSA à 2 mg/ml, et on le transfère dans un tube à essai contenant déjà 500 µl d'eau distillé. Pour préparer la deuxième dilution à 1 mg/ml, on prend 500 µl à partir de la solution précédente et transfère dans un autre tube contenant aussi 500 µl d'eau distillé, et ainsi de suite pour d'autres dilutions.

4.5.3. Préparation des étalons de l'échantillon

- Préparer une solution de 80 mg/ml des polysaccharides des Ecorces de Grenades, puis à partir de cette solution préparer des dilutions 1/2 de cette ordre (80 ; 40 ; 20 ; 10 ; 5 ; 2.5 mg/ml).

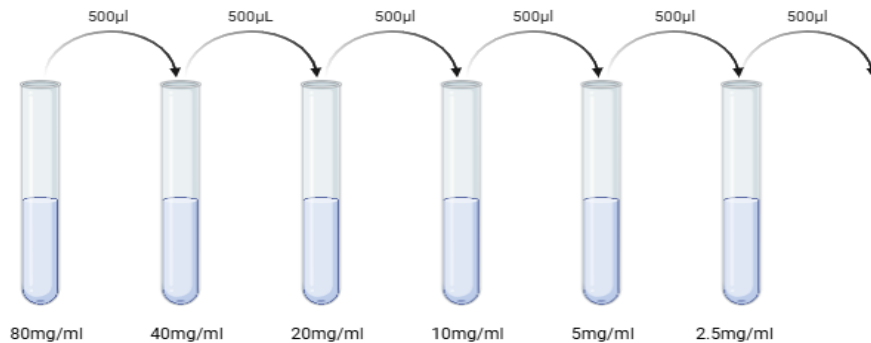


Figure 16 : Préparation des dilutions 1/2.

4.5.4. Dilution du réactif de Bradford : en suivant le ratio 1 : 5 (10 ml de la solution Bradford dans 50 ml d'eau distillée).

4.5.5. Mesure des absorbances

- Mettre 100 µl de chaque échantillon dans un tube à essai, puis ajouter 2 ml du réactif Bradford dilué et laisser pendant 5 minutes à température ambiante, ensuite mesurer l'absorbance à 595 nm.

- Tracer la courbe d'étalonnage et déduire la concentration en protéines.

Le protocole de dosage des protéines par réactif de Bradford est illustré dans le diagramme suivant :

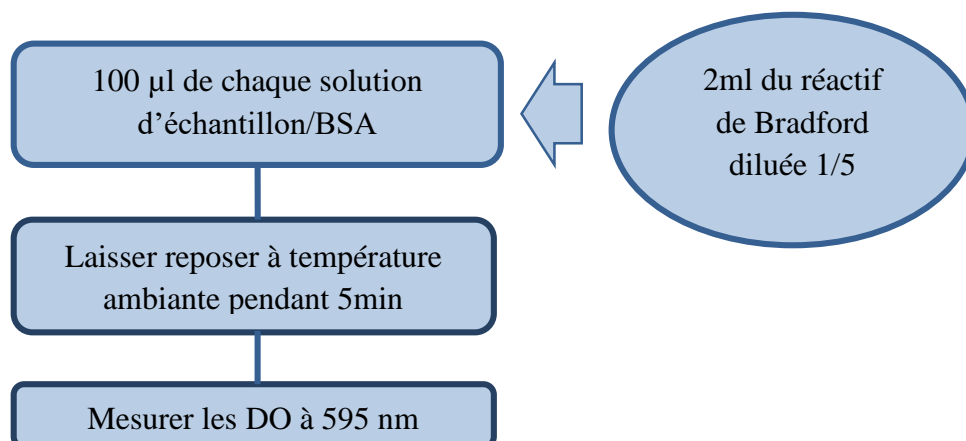


Figure 17 : Diagramme de dosage des protéines par la méthode de Bradford.

4.6. Dosage des sucres totaux par méthode de Phénol-Sulfurique acide

4.6.1. Préparation des étalons de Glucose

Les concentrations de glucose sont préparées à partir d'une solution mère de concentration 1.6mg/ml (dissoudre 1.6mg de glucose dans 1 ml d'eau distillée), puis effectuée une dilution $\frac{1}{2}$ dans l'ordre suivant (1.6 ; 0.8 ; 0.4 ; 0.2 ; 0.1 mg/ml). Dans des tubes à essais verser 500 μ l d'eau distillée, puis pipeter 500 μ l de la solution de l'échantillon à 1.6 mg/ml, et le transférer dans un autre tube à essai. Et pour la deuxième dilution à 0.8 mg/ml, pipeter 500 μ l à partir de la solution précédente et la transférée dans un autre tube, et ainsi de suite pour les autres dilutions.

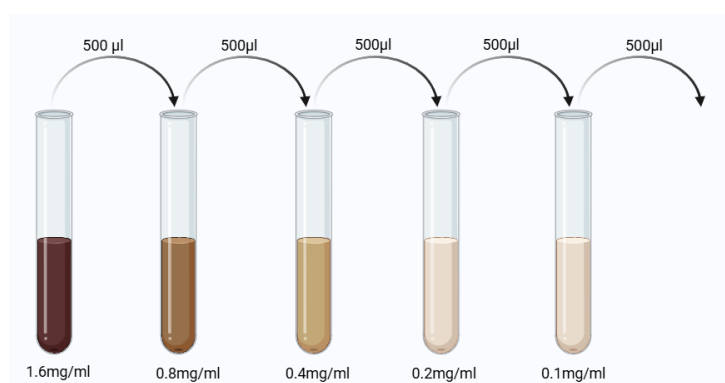


Figure 18 : Dilution $\frac{1}{2}$ de D glucose

4.6.2. Préparation des concentrations de l'échantillon

Les concentrations des polysaccharides de l'écorce de grenade sont préparées à partir d'une solution mère de concentration de 200 μ g/ml, en suite préparer une série de dilution $\frac{1}{2}$ dans des tubes à essais suivant cet ordre : (200 ; 100 ; 50 μ g/ml).

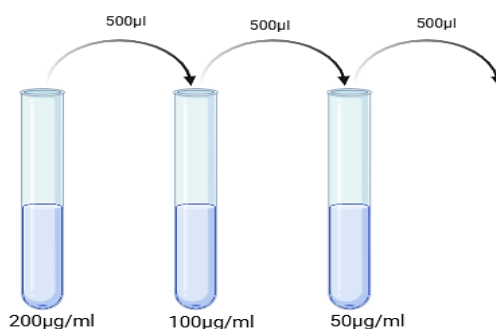


Figure 19 : Dilution $\frac{1}{2}$ de l'échantillon polysaccharidique.

4.6.3. Mesure des absorbances

A partir des solutions diluées de glucose et l'échantillon, on prend 500 μ l de chaque dilution dans un tube à essai, et ajouter 1.5 ml d'acide sulfurique et 300 μ l du phénol à 5% (5mg de phénol dans 85 ml d'eau distillée), puis mélangé très bien pour homogénéiser les solutions. Placer les tubes pour chauffage dans un bain-marie à 90°, après 5 min d'incubation, retirer les tubes et les laisser refroidir dans un bain de glace a fin de stabilisé la réaction. Mesurer les absorbances à 492 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (SHIMADZU). Tracer la courbe d'étalonnage et déduire la concentration en protéines.

Le protocole de dosage des sucres totaux est illustré par ce diagramme suivant :

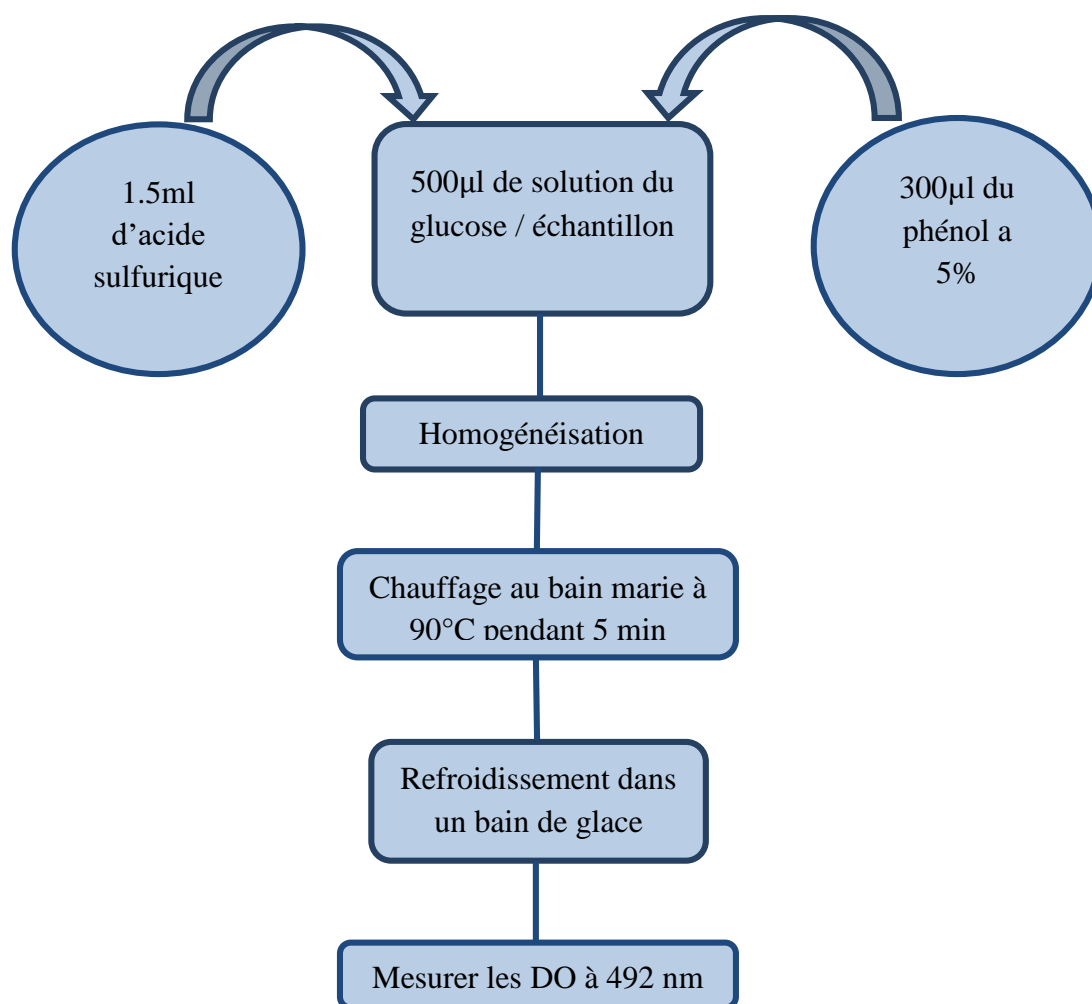


Figure 20 : Dosage des sucres totaux par méthode de Phénol-Sulfurique acide.

4.7. Caractérisation des polysaccharides

4.7.1. Composition monosaccharidiques : Chromatographie sur couche mince

Afin de déterminer la composition osidique d'un polysaccharide, on procède à son hydrolyse.

Hydrolyse A :

50mg de poudre de polysaccharides hydrolysés par 2.5ml de HCL (3M) à 100°C pendant 10 heures. (La solution de HCl est préparée par : 25ml de HCL avec 75 ml de méthanol).

Hydrolyse B :

10mg de poudre de polysaccharides hydrolysé par 1 ml de HCL à 20% ; et chauffer à 200°C pendant 2 heures. (La solution de HCl à 20% est préparée par : 20 ml de HCL (37%) et 17 ml d'eau distillée).

Une fois l'hydrolyse est effectuée, les monosaccharides libérés, sont analysés par chromatographie sur couche mince (CCM).

4.7.2. Préparation des solutions standards monosaccharidiques

4 mg de chaque sucre dont le D-galactose ,l'acide D-glucoronique , L-arabinose ,L-Rhamnose, D-xylose, D-glucose ,D-mannose et D-fructose, est dissous dans 1 ml d'eau distillée.

4.7.3. Préparation des phases mobile sur la base des différences de polarité

Eluant 1 : Elle est constituée de méthanol- acide acétique- butanol- dichlorométhane dont les proportions 1:1:3:5.

Eluant 2 : Elle est constituée de méthanol- acide acétique- butanol- dichlorométhane dont les proportions 2:1:3:1.

Eluant 3 : Elle est constituée de méthanol- acide acétique- butanol- eau distillée dont les proportions 2:1:3:1.

4.7.4. Préparation de la solution de révélation des plaques CCM

La révélation des spots monosaccharidiques sur la plaque CCM est faite par la pulvérisation d'une solution de phénol-acide sulfurique :2g de phénol sont ajoutés à 3ml d'acide sulfurique (supérieur à 97 %) et 50ml d'éthanol absolu.

4.7.5. Développement et révélation des plaques de CCM

Ce sont des plaques en verre couvertes de gel de silice prêtes à l'emploi, (TLC Silica gel 60 F₂₅₄, made in Germany).

Déposer sur une plaque de CCM les sucres standards dont l'ordre précédent ainsi que la solution de l'échantillon de 2,5 cm du bas de la plaque, et on introduit la plaque dans un développeur de chromatographie dont l'atmosphère est saturée par le mélange de la phase mobile. La migration a eu lieu de façon ascendante jusqu'au front. Après séchage à 100°C pendant 5min, la révélation est effectuée en utilisant la solution de révélation (solution de l'acide sulfurique). Le facteur de rétention (R_f) est calculé pour chaque constituant.

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le composé}}{\text{Distance parcourue par l'éluant}}$$

4.8. Analyse FTIR (Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une méthode analytique efficace qui a pour principe l'absorption de la lumière infrarouge du spectre électromagnétique par les molécules d'un échantillon donné. Ainsi, le spectre obtenu reflète l'absorption ou la transmission moléculaires, établissant une signature moléculaire unique de l'échantillon grâce à des pics d'absorption ou d'émission qui s'alignent sur les fréquences vibrationnelles des liaisons atomiques au sein du matériau permettant l'identification de groupements fonctionnels caractéristiques (**Jafari, Faridi Esfanjani et al. 2017**).

L'FTIR est une méthode rapide, non destructive, et très sensible aux changements dans la structure moléculaire, cette technique est utilisée particulièrement pour sa capacité à détecter les groupes fonctionnels des molécules contenues dans un échantillon .L'FTIR fournit des informations sur la base de la composition chimique de l'ensemble de l'échantillon (**Cocchi, Foca et al. 2004**).

Un spectromètre IR à transformée de Fourier (FTIR) comprend quatre modules : (1) une source de rayonnement couvrant une large gamme de longueurs d'onde. Les sources courantes incluent les lampes à filament de carbone ou les sources de mercure. La source génère une lumière infrarouge qui est ensuite dirigée vers l'échantillon. (2) un détecteur, Mesure l'intensité du rayonnement infrarouge après qu'il ait traversé l'échantillon. (3) un interféromètre c'est le cœur de l'analyse FTIR. Il utilise un miroir mobile et un miroir fixe pour diviser et recombinaison les faisceaux infrarouges, créant un interférogramme. L'interféromètre permet la conversion des données de fréquence en données temporelles, et

vice versa, grâce à la transformation de Fourier. Et (4) un système de manipulation de l'échantillon ; la lumière infrarouge passe à travers ou est réfléchi par l'échantillon, qui absorbe certaines longueurs d'onde spécifiques. L'échantillon peut être solide, liquide ou gazeux. Le choix du mode d'échantillonnage dépend du type de substance analysée (**Türker-Kaya and Huck 2017**). La source de rayonnement dépend de la plage de longueurs d'onde IR d'intérêt et de la capacité de l'échantillon à atténuer l'énergie du faisceau transmis (ou réfléchi) au détecteur (**Wessel, Vogel et al. 2009**).

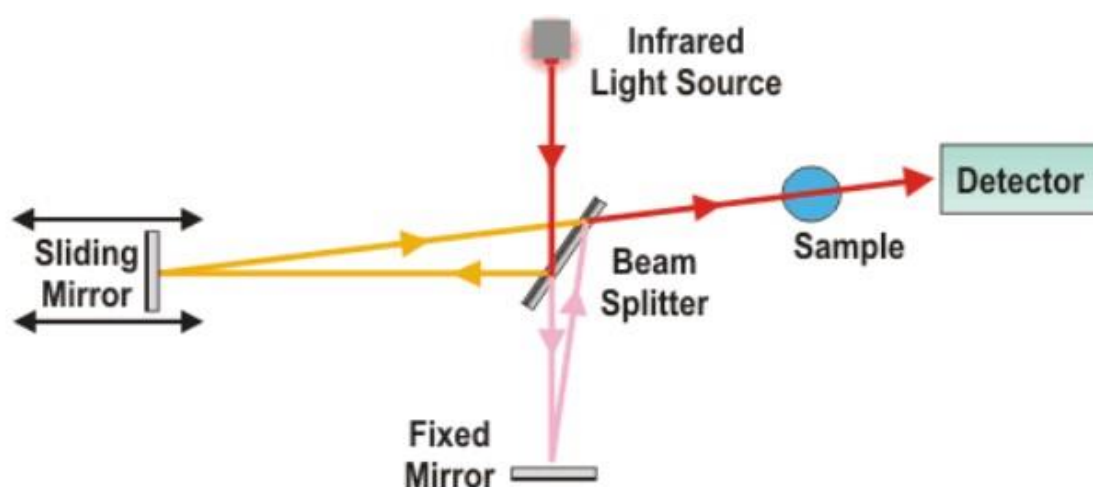


Figure 21 : Schéma de principe d'un spectromètre FTIR (EL AZHARI & TAGMOUTI)

4.8.1. Les principales utilisations de l'FTIR pour les polysaccharides

- **Identification des groupes fonctionnels**

Les polysaccharides se composent de chaînes de monosaccharides liées par des liaisons glycosidiques. L'analyse par FTIR permet de détecter des groupes fonctionnels particuliers comme les groupes hydroxyles (-OH), les groupes méthyles (-CH₃) et les liaisons glycosidiques. Il est essentiel de connaître ces informations afin de saisir la structure chimique des polysaccharides (**Vandanjon, Burlot et al. 2023**).

- **Analyse de la structure et des liaisons glycosidiques**

L'analyse FTIR permet d'analyser les différentes formes de liaisons glycosidiques (α ou β) présentes dans les polysaccharides. Le spectre FTIR présente des bandes spécifiques qui correspondent aux vibrations des liaisons glycosidiques et peuvent permettre de déterminer la structure et le type de polysaccharide (**Hong, Yin et al.2021**)

- **Caractérisation des polymorphismes et des conformations**

La technique de l'FTIR peut servir à étudier les diverses variétés et structures des polysaccharides. Prenons l'exemple où la présence de divers motifs de liaison peut influencer la structure du polysaccharide et être repérée par des vibrations dans les bandes de fréquence (**Liu, Renard et al. 2021**).

- **Quantification et Analyse de la Pureté**

L'FTIR permet de mesurer la concentration de polysaccharides dans une solution ou une préparation, en utilisant des bandes caractéristiques pour évaluer la concentration relative des polysaccharides (**Kumirska, Czerwicka et al. 2010**).

- **Étude des modifications chimiques et de la dégradation**

L'FTIR peut être utilisé pour surveiller les changements chimiques des polysaccharides, comme la dégradation ou les changements chimiques causés. Les changements observés dans les bandes FTIR peuvent donner des indications sur les réactions chimiques ou les mécanismes de dégrader (**Ricci, Olejar et al. 2015**). L'utilisation de l'FTIR dans l'étude des polysaccharides démontre sa polyvalence, offrant des données détaillées sur leur structure, leur fonctionnalité et leurs interactions.

4.9. Activité antioxydante

Le métabolisme produit continuellement des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Si les systèmes de défense antioxydants (enzymes, vitamines, oligoéléments, etc.) sont insuffisants, ces radicaux libres peuvent provoquer un état de stress oxydatif, ce qui peut entraîner le développement de différentes maladies dégénératives. Par

4.9.2. Mode opératoire

4.9.2.1. Préparation de la solution de DPPH à 0.1 mM :

Une quantité de 4 mg de DPPH dissoute dans 100 ml d'éthanol absolu, cette solution est conservée à l'abri de la lumière au réfrigérateur.

4.9.2.2. Préparation des extraits de polysaccharides :

Différentes concentrations des polysaccharides de l'écorce de grenade ont été préparée après avoir effectué des dilutions $\frac{1}{2}$ dans l'ordre suivant : (32 ; 16 ; 8 ; 4 ; 2 ; 1 ; 0.5 ; 0.25 ; 0.125 ; 0.0625 ; 0.0312 ; 0.0156 ; 0.008 mg /ml).

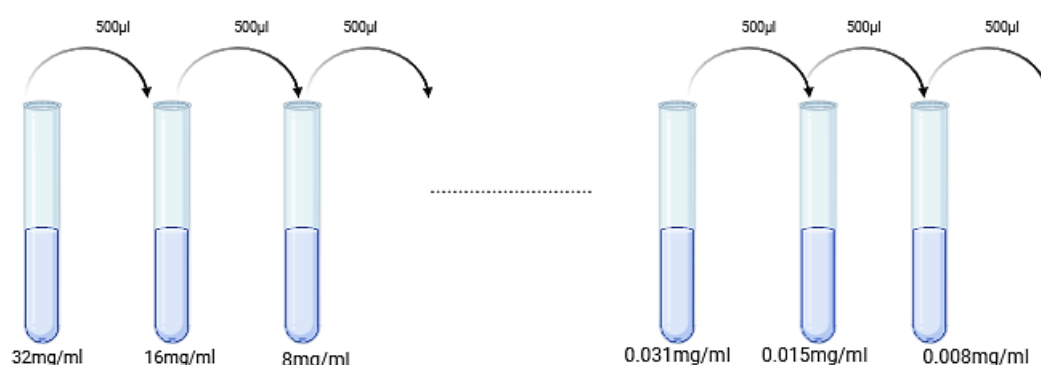


Figure 23 : Dilution $\frac{1}{2}$ de l'échantillon polysaccharidique.

4.9.2.3. Préparation de la solution d'acide ascorbique (témoin) :

La vitamine C (acide ascorbique) est un antioxydant naturel utilisé comme témoin positif.

Différentes concentrations d'acide ascorbique ont été préparée par les dilutions $\frac{1}{2}$ dans l'ordre suivant : (32 ; 16 ; 8 ; 4 ; 2 ; 1 ; 0.5 ; 0.25 ; 0.125 ; 0.0625 ; 0.0312 ; 0.0156 ; 0.008 mg /ml).

4.9.2.4. Préparation des tubes à essais pour mesurer les absorbances :

Déposer dans les tubes 2 ml de la solution d'échantillon ou de l'acide ascorbique, puis ajouter 1 ml d'une solution de DPPH (0,1 mM dans l'éthanol à 99°), agiter bien les tubes puis laisser reposer à température ambiante (25° C) et à l'obscurité pendant 30 min, et mesurer l'absorbance à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu UV-1800).

Le protocole d'évaluation du pouvoir anti-radicalaire est illustré par ce diagramme suivant

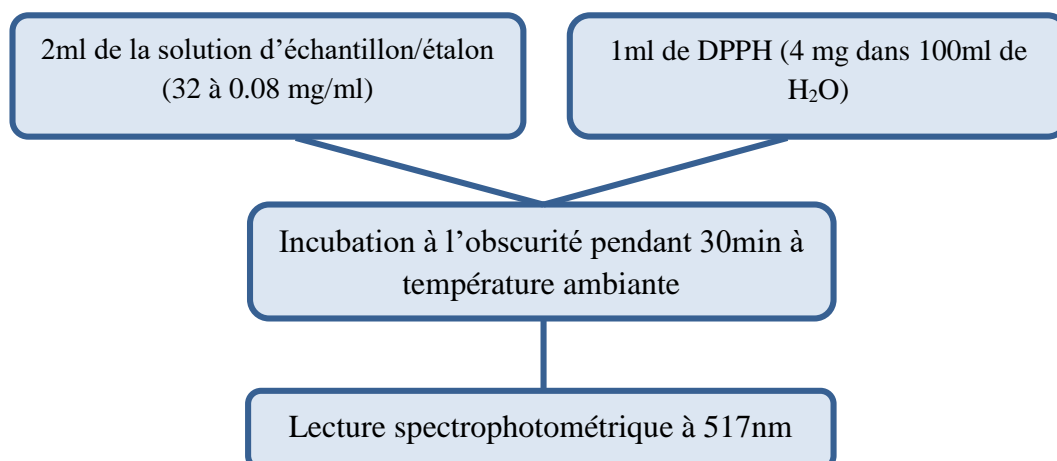


Figure 24 : Diagramme de l'activité antioxydant par le dosage au DPPH.

Chapitre 5

Résultats et discussion

5.1. Taux d'humidité

Le taux d'humidité de la poudre de l'écorce de grenade utilisée dans la présente étude est de 8% (**Figure 25**). Son analyse a révélé que cette poudre était fortement déshydratée. A l'inverse, l'écorce de *Punica granatum. L* renferme beaucoup de matière sèche, soit 92% (sur 2g). Qui est souvent bénéfique pour la conservation prolongée. Une étude menée par **Dubey, Kumar et al. (2024)** a révélé une teneur en humidité de 7,58%, ce qui confirme les résultats de notre étude.

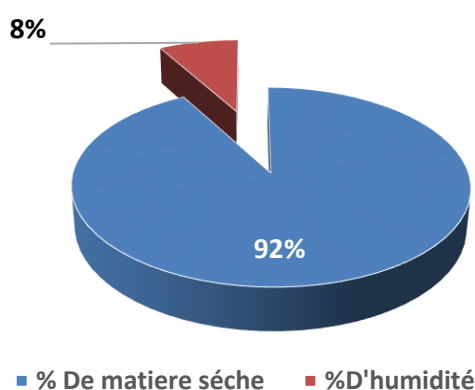


Figure 25 : Taux d'humidité de l'écorce de grenade.

5.2. Teneur en cendres

Les différentes analyses après incinération ont montré que l'écorce de *Punica granatum.L* contenait un taux élevé de 25 % de cendres brutes et 75% de matière inorganique(**Figure26**). Cela suggère que la matrice végétale contient une quantité significative de minéraux inorganiques comme le calcium, le magnésium, le potassium, le sodium, le phosphore, etc.

Une étude faite par **Sumaiya et al.,(2018)** sur trois cultivars de grenade à savoir la grenade de Bangladesh, la grenade Indienne–Mridula et la grenade égyptienne ont été évaluées est des différences significatives ont été observées entre les cultivars ; La grenade du Bangladesh présentait la teneur en cendres de (0,93 % et 2,03 % et 1,58 %) dans son arille et son écorce et ses graines respectivement, Mridula présentait la teneur en cendres de (2,04 % et 1,00 %) dans ses graines et son écorce respectivement. La grenade d'Égypte présentait la plus faible teneur en cendres (0,26 %) dans son arille. L'étude d'**Ullah et al., (2012)** a enregistré une teneur en cendres de 5 % dans la poudre d'écorce de grenade, En résumé, Le taux de cendre peut varier considérablement d'une partie à une autre du fruit en raison de plusieurs facteurs liés à la

composition nutritionnelle et à la fonction des différentes parties, variabilité entre espèces et cultivars et le rôle écologique de ces parties.

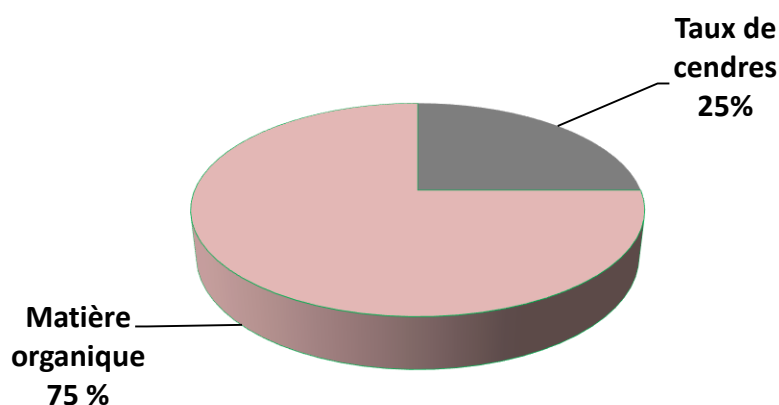


Figure 26 : Teneur en cendres de l'écorce de la grenade.

5.3. Dosage des protéines par méthode de Bradford

Les résultats du dosage des protéines de notre extrait sont mesurés par spectrophotométrie UV-VIS, dont les absorbances enregistrées permettent de tracer la courbe d'étalonnage, cette courbe est représentée ci-dessous :

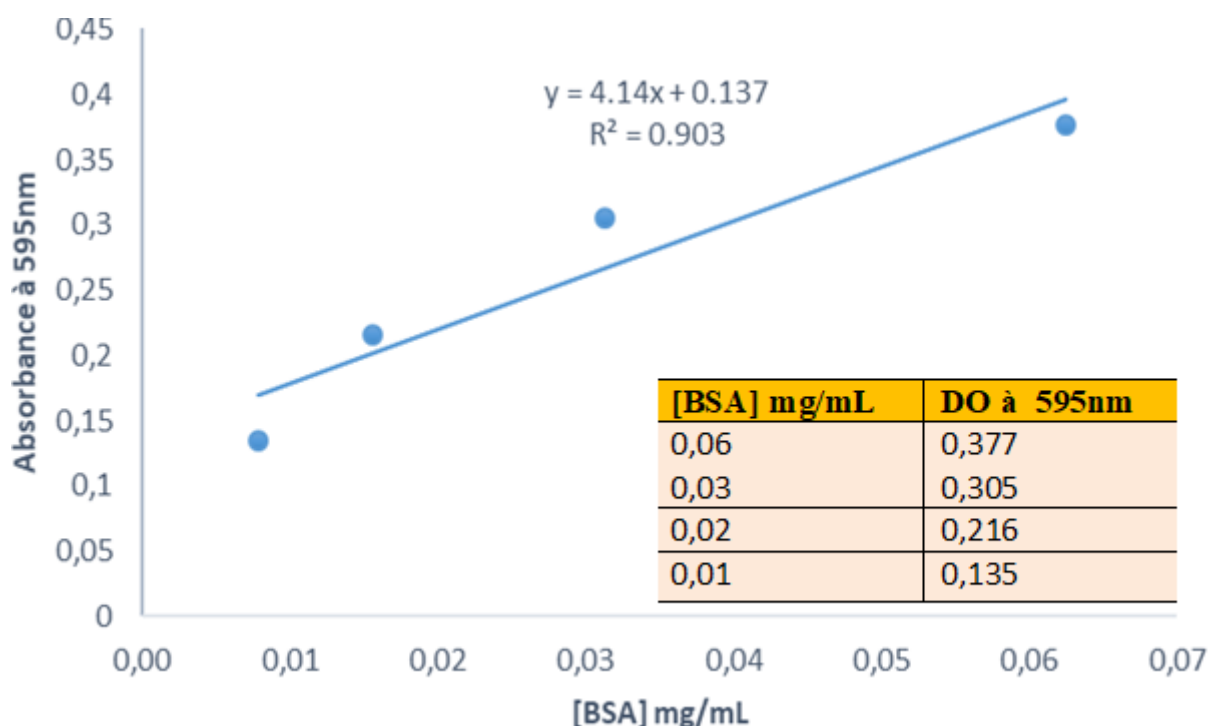


Figure 27 : Courbe d'étalonnage de la BSA.

Selon la courbe le taux de protéines a été estimé à 0.06% du poids total de l'extrait sec des polysaccharides issu de l'écorce de fruit de *Punica granatum. L* ce qui confirme que la méthode TPP de déprotéination a été efficace. Certaines études effectuées, notamment celle de **Boutheina, Tebra et al. (2022)** ont montré que le pourcentage de protéines présentes dans l'écorce du grenadier variété GABSI est de 6,51% ce qui explique la teneur faible en protéines dans la partie non comestibles de grenade ce qui a été confirmé par la présente étude surtout après déprotéination.

5.4. Dosage des sucres totaux par phénol- acide sulfurique

Les résultats du dosage des sucres totaux de notre extrait sont mesurés en se basant sur les résultats obtenus par spectrophotométrie, dont les absorbances enregistrées permettent de tracer des courbes d'étalonnage ; cette courbe est représentée ci-dessous :

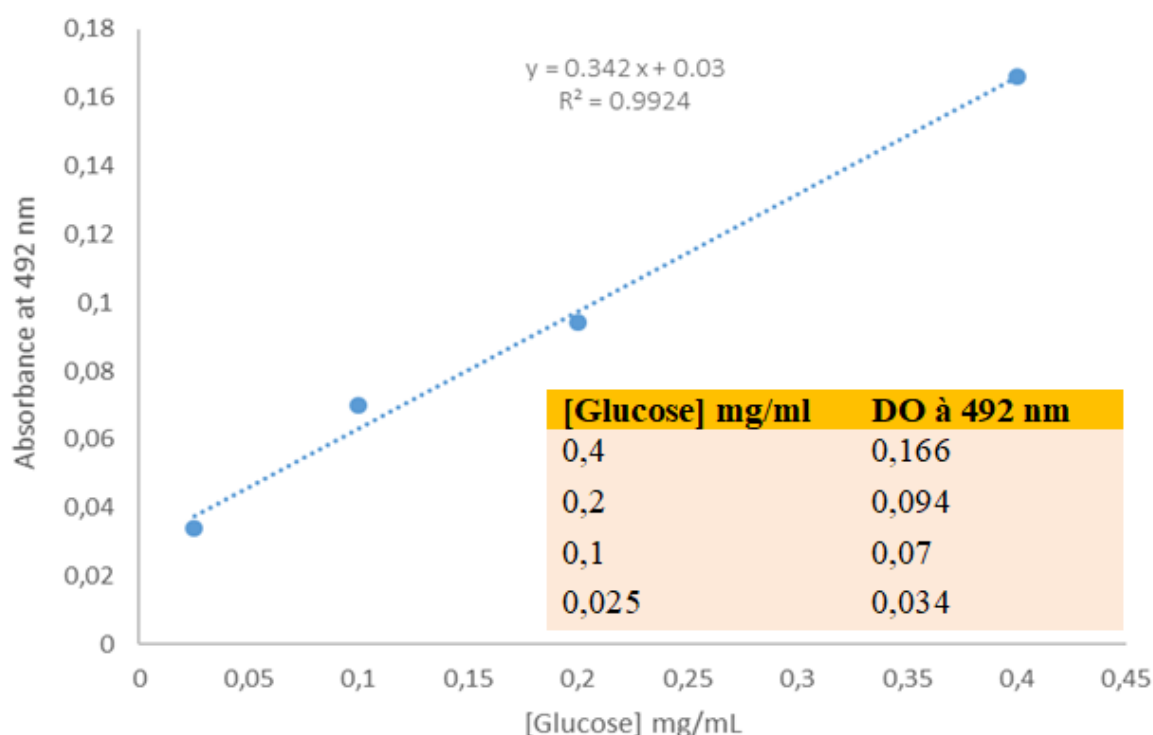


Figure 28 : Courbe d'étalonnage de D-glucose.

Une allure presque linéaire est obtenus dans la courbe tracée ($R^2 = 0.99$), elle permet de déterminer que le taux des polysaccharides de l'écorce de grenade *Punica granatum. L* en équivalents de glucose. Le calcul donne un taux élevé de 96.5 % de sucres totaux. Notre résultat est conforme à celui de **Zhai, Zhu et al. (2018)** qui ont trouvé une teneur de 69.6%.

Cela indique une teneur élevée en sucre totaux dans l'écorce du fruit de *Punica granatum. L* qui est peut-être due à l'évaporation de l'eau pendant la production et la concentration des glucides dans ce fruit (**Haï and Benmansour 2023**).

5.5. Chromatographie sur couche mince

Les différentes étapes et combinaisons des conditions pour une meilleure séparation des spots monosaccharidiques par CCM sont récapitulées dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Les différentes condition suivies lors de la CCM

Plaques	Hydrolyse	Eluant	Solution de révélation	Résultats (présence / absence des spots)
1	Hydrolyse 1 : HCL (3M) à 130°C/10h	Eluant 1 : méthanol/acide acétique/butanol/dichlorométhane (1 :1 :3 : 5)	H ₂ SO ₄ + phénol	Echantillon :absence Standards : présence
2	Hydrolyse 2 : HCL (20%) à 200°C / 2h	Eluant 2 : méthanol/acide acétique/butanol/dichlorométhane (2 :1 :3 : 1)	H ₂ SO ₄ + phénol	Echantillon :présence Standard :présence
3	Hydrolyse 2 : HCL (20%) à 200°C / 2h	Eluant 3 : méthanol/acide acétique/ butanol/eau distillée (2 :1 :3 : 1)	H ₂ SO ₄ + phénol	Echantillon :présence Standard :présence



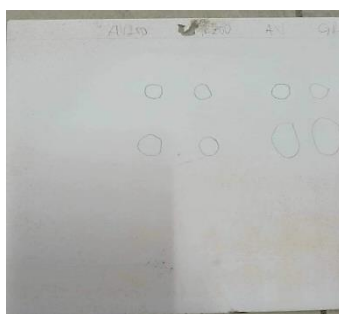
Plaque n°1



Plaque n°2



Plaque n°3



Plaque n° 4



Plaque n°5

Figure 29 : Résultats du développement des plaques CCM dans les différentes conditions d'hydrolyse et d'élution citées dans le tableau 2.

D'après les résultats obtenus après plusieurs tests CCM dans différentes conditions d'hydrolyse et d'éluion, nous pouvons conclure que l'hydrolyse (1 et 2) s'est bien déroulée, ce qui se manifeste par la présence de taches blanchâtres sur la plaque n°4.

Dans la plaque n°1, la migration entraînée par l'éluant (1) a donné une séparation de la totalité des standards mis à part celui de l'acide galacturonique, et ceci est due à la forte polarité de son groupement (COOH). Par contre, les spots correspondant à l'échantillon n'ont pas été révélés et ceci est dû probablement à la faible concentration déposée sur la plaque, et également à la non migration de l'acide uronique constitutif.

Dans la plaque n°2, l'éluant (2) a effectué une bonne migration des standards et des échantillons. Les spots blancs de l'échantillon correspondant au rhamnose et à l'acide uronique peuvent être expliqués par la présence des groupements qui n'interagissent pas avec la solution de révélation. En revanche le standard acide galacturonique a bien migré cette fois en raison de l'augmentation de la polarité de l'éluant (2). Par contre, le rhamnose a pris une distance de migration plus importante en raison de la présence du groupement méthyle (CH₃) qui est moins polaire, donc l'attachement de ce sucre avec le gel de silice est moins important.

La plaque n°3, le remplacement du volume de dichlorométhane par l'eau dans l'éluant (3) a contribué à une migration des standards beaucoup plus importante, mais une séparation moins remarquable.

La plaque n°5, nous avons ajouté une quantité de L-rhamnose et l'acide galacturonique, les taches sont visibles et claires, mettant en évidence le type pectique du polysaccharide étudié.

On peut dire que :

- Les deux protocoles d'hydrolyse ont donné le même profil des sucres (rhamnose et acide uronique), mais le plus convenable est le 2^{ème} dont on a augmenté la température pour gagner du temps.
- L'éluant le plus efficace est celui où la quantité de dichlorométhane est diminuée, il a donné le meilleur profil de séparation des spots.
- L'analyse par CCM a révélé que le polysaccharide étudié est une pectine (un rhamnogalacturonane), car composé de presque exclusivement de rhamnose et l'acide galacturonique.

5.6. Spectroscopie infrarouge a transformée de Fourier (FTIR)

Le **tableau 3** récapitule l'ensemble des principaux pics observés dans notre extrait polysaccharidique et leur identification en correspondance avec les pics déjà rapportés dans la littérature scientifique. On peut dire que notre extrait polysaccharidique est de nature pectique.

Tableau 3 : Les principaux pics des polysaccharides de l'écorce de la grenade

Pic mesuré (cm ⁻¹)	Littérature	Groupement fonctionnelle	Origine	Références
1404	1410 ;	COO ⁻ vibration d'élongation symétrique ;	Pectine	(Szymanska-Chargot and Zdunek 2013)
	1406	Vibration de déformation C-OH du groupe carboxylate	Pectine	(Gómez-Ordóñez and Rupérez 2011)
1062	1000-1103	Etirement C-O ; Etirement C-C	-	(Szymanska-Chargot and Zdunek 2013)
607	580-670	SO ₄ ⁻² déformation de l'anion sulfate	-	(Lammers, Arbuckle-Keil et al. 2009)

L'analyse FTIR a été réalisée à l'aide d'un spectromètre ; Les résultats ont été analysés dans la gamme 400–2000 cm⁻¹, la fraction polysaccharidique extraite de l'écorce de grenade a permis d'identifier un pic intense à une longueur d'onde de 1062 cm⁻¹, cette bande peut-être attribué aux vibrations d'élongation C-O et C-C du cycle glycosidique (**Szymanska-Chargot and Zdunek 2013**). La présence du pic à 1404 cm⁻¹ est caractéristique de l'étirement symétrique des liaisons des groupes carboxylique (COO⁻) de la pectine(**Szymanska-Chargot and Zdunek 2013**). Le Pic intense à 607 cm⁻¹ a été attribué à des vibrations de déformation des groupements (S-O) (**Lammers, Arbuckle-Keil et al. 2009**), qui est la preuve de la présence résiduelle de sulfate d'ammonium utilisé dans la déprotéination de l'extrait polysaccharidique.

5.7. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'extrait polysaccharidique de l'écorce de grenade et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515nm.

Les résultats obtenus de cette expérience révèlent que l'extrait de l'écorce de la grenade *Punica granatum. L* a enregistré des pourcentages de DPPH résiduels de l'ordre de 1/3 par contre avec l'acide ascorbique est de 1/5 de la concentration initiale, respectivement. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par l'activité anti-radicalaire.

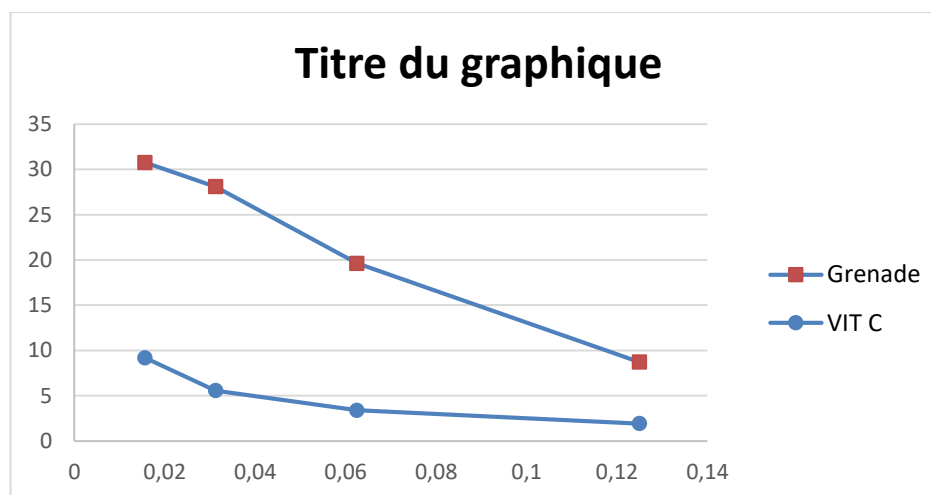


Figure 30 : Activité antioxydant de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH .

Plusieurs études antérieures ont souligné la haute capacité antioxydante de l'écorce de grenade (Tzulker, Glazer et al. 2007, Tezcan, Gültekin-Özgüven et al. 2009, Jacob, Lakshmanapermalsamy et al. 2018).

Conclusion et perspectives

De nos jours, de nombreuses plantes aromatiques et médicinales possèdent des propriétés biologiques très significatives qui trouvent de multiples applications dans différents secteurs, tels que la médecine, la pharmacie, la cosmétologie et l'agriculture. Cela pour leur richesse en divers composés biologiquement actifs.

Notre étude a révélé que la poudre d'écorce de grenade possède un taux d'humidité de 8 %, indiquant qu'elle est sèche et stable en termes de conservation, car moins susceptible de favoriser la croissance de micro-organismes. Par ailleurs, elle présente un taux élevé de 25 % de cendres brutes. Les analyses phytochimiques des polysaccharides extraits de cette poudre montrent un taux élevé de sucres totaux (96,5 %) et un faible pourcentage de protéines (0,06 %). La spectroscopie FTIR a identifié ces polysaccharides comme étant de la pectine, et la chromatographie sur couche mince a confirmé que leur structure principale est composée de rhamnose et d'acide galacturonique. De plus, l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH a démontré que la poudre d'écorce de grenade possède une activité anti radicalaire importante.

Ces résultats suggèrent que la partie non comestible de la grenade renferme des composants photochimiques importants autant que la partie comestible. Cette partie est considérée comme une source significative de molécules bioactives telles que les polysaccharides fonctionnels et bioactifs. Malgré les recherches approfondies sur ces polysaccharides, aucun complément n'a encore été développé à partir des extraits de l'écorce du grenadier commun. Il serait nécessaire de mener des études scientifiques plus approfondies pour confirmer scientifiquement l'efficacité de l'utilisation de cette espèce captivante en médecine traditionnelle et découvrir tous les bienfaits secrets que cette plante pourrait apporter. Les études disponibles à ce jour sont encore limitées en nombre et en ampleur. Il sera donc pertinent de repérer et de décrire de nouvelles activités biologiques des polysaccharides qui en dérivent.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abid, M., Renard, C. M., Watrelot, A. A., Fendri, I., Attia, H., & Ayadi, M. J. I. j. o. b. m. (2016). Yield and composition of pectin extracted from Tunisian pomegranate peel. *93*, 186-194.
- Ajaikumar, K., Asheef, M., Babu, B., & Padikkala, J. (2005). The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L.(pomegranate) methanolic extract. *Journal of ethnopharmacology*, *96*(1-2), 171-176.
- Al-Gubory, K. H., Laher, I., Garrel, C. J. J. o. t. S. o. F., & Agriculture. (2021). Pomegranate peel attenuates dextran sulfate sodium-induced lipid peroxidation in rat small intestine by enhancing the glutathione/glutathione disulfide redox potential. *101*(10), 4278-4287.
- Al-Said, F., Opara, L. a., & Al-Yahyai, R. J. J. o. f. e. (2009). Physico-chemical and textural quality attributes of pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in the Sultanate of Oman. *90*(1), 129-134.
- Angone, S. A., et al. (2010). "La thérapie par les plantes en Afrique: activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale." *Phytothérapie* **8**(4): 223-230.
- Azgoni, R. N. D., et al. (2016). "Sanoon : a specialized dosage from for dental diseases in traditional persian medicine." **9**(3): 1171.
- Bacakova, L., et al. (2014). "Polysaccharides as cell carriers for tissue engineering: the use of cellulose in vascular wall reconstruction." *Physiological Research* **63**: S29.
- Ben Abdennebi, M. 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.
- Benaoun, F. (2017). Caractérisation structurale et potentiel biologique des polysaccharides issus de *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae) et *Urginea noctiflora* Batt. Trab (Liliaceae), Université Clermont Auvergne [2017-2020].
- Bibi Sadeer, N., et al. (2020). "The versatility of antioxidant assays in food science and safety— Chemistry, applications, strengths, and limitations." **9**(8): 709.
- Bidri, M., & Choay, P. J. P. (2017). Regain d'intérêt pour la grenade, un fruit majestueux aux multiples propriétés. *15*(2), 91-103.
- Bouchicha, M., Bounamis, S., & Kebsa, W. E. (2018). *Evaluation de l'effet gastroprotecteur et anti-inflammatoire de l'acide gallique et de l'écorce de grenade (Punica granatum) contre l'ulcère induit par le Diclofénac chez le rat albinos wistar* Université de Jijel].

- Boutheina, F., et al. (2022). "Biochemical and organoleptic characteristics: assays of primary metabolites and sensory analyzes of infusions of Punica granatum L."
- Boutheina, F., et al. (2022). "Biochemical and organoleptic characteristics: assays of primary metabolites and sensory analyzes of infusions of Punica granatum L."
- Calin, S., & Carboneli, B. (2005). La grenade cultivées en Espagne Punicalagine anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans les l'aliment fonctionnelle du fruit. *Livre. Natural ontioxydant granatum, université Miguel Hernandez (EDS), Murcia Espagne, 77p.*
- Chakass, M. A., Carbonnier-Jarreau, M.-C., Verhille, A.-M., & Reduron, J.-P. J. A. B. G. (2007). Étude palynologique de trois variétés du grenadier (Punica granatum) au Liban. *154(1), 27-42.*
- Chen, D., Wu, X., & Wen, Z. J. P. m. (2008). Sulfated polysaccharides and immune response: promoter or inhibitor? , *50(2), 177-183.*
- Chen, L., Ge, M.-D., Zhu, Y.-J., Song, Y., Cheung, P. C., Zhang, B.-B., & Liu, L.-M. J. C. P. (2019). Structure, bioactivity and applications of natural hyperbranched polysaccharides. *223, 115076.*
- Chouana, T. (2017). Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'Astragalus gombo bunge, Université Clermont Auvergne(2017-2020).
- Cocchi, M., et al. (2004). "Classification of cereal flours by chemometric analysis of MIR spectra." *52(5): 1062-1067.*
- 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* (Vol. 1). JB Baillièere et fils.
- Crini, G., et al. (2009). Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application, Presses Univ. Franche-Comté.
- da Silva, J. A. T., Rana, T. S., Narzary, D., Verma, N., Meshram, D. T., & Ranade, S. A. J. S. H. (2013). Pomegranate biology and biotechnology: A review. *160, 85-107.*
- Darge, H. F., et al. (2019). "Polysaccharide and polypeptide based injectable thermo-sensitive hydrogels for local biomedical applications." *International journal of biological macromolecules 133: 545-563.*
- Dubey, S., et al. (2024). "Pyrolysis kinetics and thermodynamics of pomegranate peel usingTG/DTG analysis." *14(11): 12411-12425.*
- EL AZHARI, Y., & TAGMOUTI, S. Spectrométrie statique par transformée de Fourier.

- Elfalleh, W., et al. (2011). "Organoleptic quality, minerals, proteins and amino acids from two Tunisian commercial pomegranate fruits." 7(4).
- Elodie, W. (2009). LE GRENADIER (PUNICA GRANATUM): Plante historique et évolutions.
- Farrukh, M. A. (2012). *Advanced aspects of spectroscopy*. BoD–Books on Demand.
- Fedail, J. S., Ahmed, A. A., Musa, H. H., Ismail, E., Sifaldin, A. Z., & Musa, T. H. J. A. P. J. o. R. (2016). Gum arabic improves semen quality and oxidative stress capacity in alloxan induced diabetes rats. 5(5), 434-441.
- Felt, O., et al. (1998). "Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery." Drug development and industrial pharmacy 24(11): 979-993.
- Gallant, D., et al. (1992). "Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation." European journal of clinical nutrition 46(2): 3-16.
- Gao, J., Zhang, T., Jin, Z.-Y., Xu, X.-M., Wang, J.-H., Zha, X.-Q., & Chen, H.-Q. J. F. C. (2015). Structural characterisation, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharide from *Lilium lancifolium* Thunb. 169, 430-438.
- Godet, J.-D., & Friedmann, F. J. (1991). Arbres et arbustes aux quatre saisons.
- Gómez-Ordóñez, E. and P. J. F. h. Rupérez (2011). "FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds." 25(6): 1514-1520.
- Groth, I., Grünewald, N., & Alban, S. J. G. (2009). Pharmacological profiles of animal- and nonanimal-derived sulfated polysaccharides—comparison of unfractionated heparin, the semisynthetic glucan sulfate PS3, and the sulfated polysaccharide fraction isolated from *Delesseria sanguinea*. 19(4), 408-417.
- Gullón, P., Astray, G., Gullón, B., Tomasevic, I., & Lorenzo, J. M. J. M. (2020). Pomegranate peel as suitable source of high-added value bioactives: Tailored functionalized meat products. 25(12), 2859.
- HAÏ, F. Z. and W. BENMANSOUR (2023). Valorisation des grenades en élaborant un sirop artisanal, University of Tlemcen.
- Hans, N., Malik, A., & Naik, S. J. B. t. r. (2021). Antiviral activity of sulfated polysaccharides from marine algae and its application in combating COVID-19: Mini review. 13, 100623.
- He, P.-F., He, L., Zhang, A.-Q., Wang, X.-L., Qu, L., & Sun, P.-L. J. C. p. (2017). Structure and chain conformation of a neutral polysaccharide from sclerotia of *Polyporus umbellatus*. 155, 61-67.

- Hepaksoy, S., et al. (2000). "Determination of relationship between fruit cracking and some physiological responses, leaf characteristics and nutritional status of some pomegranate varieties." **42**: 81-86.
- Hepaksoy, S., et al. (2000). "Determination of relationship between fruit cracking and some physiological responses, leaf characteristics and nutritional status of some pomegranate varieties." **42**: 81-86.
- Hmid, I. (2013). *Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (Punica granatum L.): Caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais* [Université d'Angers].
- Huheihel, M., Ishanu, V., Tal, J., Arad, S. M. J. J. o. B., & methods, B. (2002). Activity of Porphyridium sp. polysaccharide against herpes simplex viruses in vitro and in vivo. *50*(2-3), 189-200.
- Jacob, J., et al. (2018). "In vitro Evaluation of Antioxidant Potential of Isolated Compounds and Various Extracts of Peel of Punica granatum L." *10*(1): 44.
- Jafari, S. M., et al. (2017). Chapter 10 - Release, Characterization, and Safety of Nanoencapsulated Food Ingredients. *Nanoencapsulation of Food Bioactive Ingredients*. S. M. Jafari, Academic Press: 401-453.
- Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*: Lavoisier.
- Jiao, G., Yu, G., Zhang, J., & Ewart, H. S. J. M. d. (2011). Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *9*(2), 196-223.
- Kaderides, K., Goula, A. M., Adamopoulos, K. G. J. I. F. S., & Technologies, E. (2015). A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound-assisted extraction and encapsulation. *31*, 204-215.
- Lammers, K., et al. (2009). "FT-IR study of the changes in carbohydrate chemistry of three New Jersey pine barrens leaf litters during simulated control burning." *41*(2): 340-347.
- Lansky, E. P., & Newman, R. A. (2007). Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of ethnopharmacology*, *109*(2), 177-206.
- Lansky, E. P., & Newman, R. A. J. J. o. e. (2007). Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *109*(2), 177-206.
- Laparra, J. M., & Sanz, Y. J. P. r. (2010). Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. *61*(3), 219-225.

- Lecheb, F. (2010). Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes: essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin.
- Lopes, N., Faccin-Galhardi, L. C., Espada, S. F., Pacheco, A. C., Ricardo, N. M. P. S., Linhares, R. E. C., & Nozawa, C. J. I. J. o. B. M. (2013). Sulfated polysaccharide of *Caesalpinia ferrea* inhibits herpes simplex virus and poliovirus. *60*, 93-99.
- Martínez, J. J., Melgarejo, P., Legua, P., García, F., & Hernández, F. (2016). *Genetic diversity of pomegranate germplasm collection from Spain determined by fruit, seed, leaf and flower characteristics* (2167-9843).
- Martinez, M. J. A., Del Olmo, L. M. B., & Benito, P. B. J. S. i. n. p. c. (2005). Antiviral activities of polysaccharides from natural sources. *30*, 393-418.
- Maruyama, H., Tamauchi, H., Hashimoto, M., Nakano, T. J. I. a. o. a., & immunology. (2005). Suppression of Th2 immune responses by mekabu fucoidan from *Undaria pinnatifida* sporophylls. *137*(4), 289-294.
- Mastrogiovanni, F., Romani, A., Santi, L., Lacetera, N., & Bernini, R. J. N. P. R. (2021). Anti-proliferative effect of pomegranate peel extracts on bovine peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). *35*(10), 1696-1701.
- Moorthy, I. G., Maran, J. P., Muneeswari, S., Naganyashree, S., & Shivamathi, C. J. I. j. o. b. m. (2015). Response surface optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel. *72*, 1323-1328.
- Muccioli, G. G., Naslain, D., Bäckhed, F., Reigstad, C. S., Lambert, D. M., Delzenne, N. M., & Cani, P. D. J. M. s. b. (2010). The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *6*(1), 392.
- Ndiaye, M., Sy, G., Dièye, A., Touré, M., & Faye, B. J. P. M. T. A. (2006). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'*annona reticulata* (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. *15*, 179-186.
- Nie, C., Zhu, P., Ma, S., Wang, M., & Hu, Y. J. C. P. (2018). Purification, characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from stem lettuce. *188*, 236-242.
- Parejo, I., et al. (2003). "Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity." *73*(13): 1667-1681.

- Planchon, G. (1875). *Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale: nouveau cours d'histoire naturelle professé à l'Ecole de pharmacie de Paris* (Vol. 2). Librairie F. Savy.
- Prashanth, D., Asha, M., & Amit, A. J. F. (2001). Antibacterial activity of *Punica granatum*. *72*(2), 171-173.
- Ren, L., Perera, C., Hemar, Y. J. F., & function. (2012). Antitumor activity of mushroom polysaccharides: a review. *3*(11), 1118-1130.
- Rjeibi, I., Feriani, A., Saad, A. B., Ncib, S., Sdayria, J., Hfaiedh, N., & Allagui, M. S. J. J. o. e. (2018). *Lycium europaeum* Linn as a source of polysaccharide with in vitro antioxidant activities and in vivo anti-inflammatory and hepato-nephroprotective potentials. *225*, 116-127.
- Sanaa, C. (2013). Irradiation Effect on the antioxidant properties, anti-microbial and cytoprotective of the bark of *Punica granatum*; Effet de l'Irradiation sur les propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et cytoprotectrices de l'écorce de *Punica granatum*.
- Sarkhosh, A., Zamani, Z., Fatahi, R., & Ebadi, A. J. S. H. (2006). RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes. *111*(1), 24-29.
- Science, C. P. C. J. X. H. and T. P. House (1998). "Drug Standards of the Ministry of Public Health of the People's Republic of China (Uygur Pharmaceutical Section)." 164.
- Shakhmatove, E. G., Makarova, E. N., & Belyy, V. A. J. I. J. o. B. M. (2019). Structural studies of biologically active pectin-containing polysaccharides of pomegranate *Punica granatum*. *122*, 29-36.
- Shaygannia, E., Bahmani, M., Zamanzad, B., Rafieian-Kopaei, M. J. J. o. e.-b. c., & medicine, a. (2016). A review study on *Punica granatum* L. *21*(3), 221-227.
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. J. F. c. (2018). Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*Punica granatum* L.) peel: A review. *261*, 75-86.
- Smaoui, S., Hlima, H. B., Mtibaa, A. C., Fourati, M., Sellem, I., Elhadef, K., . . . Mellouli, L. J. M. s. (2019). Pomegranate peel as phenolic compounds source: Advanced analytical strategies and practical use in meat products. *158*, 107914.
- Sumaiya, K., et al. (2018). "Evaluation of biochemical and bioactive properties of native and imported pomegranate (*Punica granatum* l.) cultivars found in Bangladesh." *25*(2): 737-746.
- Szymanska-Chargot, M. and A. J. F. b. Zdunek (2013). "Use of FT-IR spectra and PCA to the bulk characterization of cell wall residues of fruits and vegetables along a fraction process." *8*: 29-42.

- Tezcan, F., et al. (2009). "Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices." 115(3): 873-877.
- Türker-Kaya, S. and C. W. J. M. Huck (2017). "A review of mid-infrared and near-infrared imaging: principles, concepts and applications in plant tissue analysis." 22(1): 168.
- Tzulker, R., et al. (2007). "Antioxidant activity, polyphenol content, and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions." 55(23): 9559-9570.
- Ullah, N., et al. (2012). "Proximate composition, minerals content, antibacterial and antifungal activity evaluation of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels powder." 11(3): 396-401.
- Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. (2010). Pomegranate and its many functional components as related to human health: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(6), 635-654.
- Wessel, E., et al. (2009). "FT-IR and NIR Spectroscopic Imaging: Principles, Practical Aspects and Applications in Material and Pharmaceutical Sciences." 295-345.
- Wu, Y., Zhu, C.-p., Zhang, Y., Li, Y., & Sun, J.-r. J. I. j. o. b. m. (2019). Immunomodulatory and antioxidant effects of pomegranate peel polysaccharides on immunosuppressed mice. 137, 504-511.
- Zhai, X., et al. (2018). "Chemical characteristics, antioxidant capacities and hepatoprotection of polysaccharides from pomegranate peel." 202: 461-469.
- Zhang, L., Fu, Q., & Zhang, Y. J. F. c. (2011). Composition of anthocyanins in pomegranate flowers and their antioxidant activity. 127(4), 1444-1449.

Résumé

Résumé :

L'étude vise à caractériser les polysaccharides bioactifs de l'écorce du fruit du grenade. Des extraits ont été obtenus *in vitro* à partir de la poudre de peau, en utilisant des méthodes d'extraction solide-liquide. L'éthanol a précipité les polysaccharides, et l'acide acétique a dénaturé les protéines. La purification par partition en trois phases (TPP) a produit des extraits polysaccharidiques sous forme de poudre jaune clair. L'analyse phytochimique a révélé une forte teneur en cendres et faible en humidité, indiquant une bonne qualité des extraits. Le dosage colorimétrique (par Bradford) a confirmé l'efficacité de la déprotéination, et le dosage des sucres totaux a révélé une concentration de 96,5 %. L'analyse chromatographique sur couche mince a détecté des polysaccharides pectiques de type rhamnogalacturonane. Ces résultats ont été confirmés par ftir avec un spectrophotomètre UV. Enfin, l'étude a démontré que l'écorce de grenade possède une activité antioxydante significative, suggérant son potentiel pour des produits à haute valeur ajoutée.

Abstract :

The study aims to characterize the bioactive polysaccharides in the rind of the pomegranate fruit. pomegranate peel. Extracts were obtained *in vitro* from peel powder using solid-liquid extraction methods. Ethanol was used to precipitate the polysaccharides, and acetic acid was employed to denature the proteins. Purification through three-phase partitioning (TPP) yielded polysaccharide extracts in the form of light yellow powder. Phytochemical analysis revealed a high ash content and low moisture, indicating good extract quality. The Bradford colorimetric assay confirmed the effectiveness of de proteination, and the total sugar assay showed a concentration of 96.5%. Thin-layer chromatography detected pectic polysaccharides of the rhamnogalacturonan type. These findings were confirmed by ftir using a UV spectrophotometer. Finally, the study demonstrated that pomegranate peel has significant antioxidant activity, suggesting its potential for high-value products.

المخلص:

تهدف الدراسة إلى توصيف السكريات المتعددة النشطة بيولوجيًا المستخلصة من قشر الرمان. تم الحصول على المستخلصات في المختبر من مسحوق القشرة باستخدام طرق الاستخلاص الصلب-السائل. تم استخدام الإيثانول لترسيب السكريات المتعددة، وحمض الاستيك لتكسير البروتينات. أنتجت عملية التقنية باستخدام تقنيّة التقسيم الثلاثي (TPP) مستخلصات من السكريات المتعددة على شكل مسحوق اصفر فاتح. أظهرت التحليلات الكيميائية النباتية محتوى عال من الرماد ورطوبة منخفضة، مما يشير إلى جودة عالية للمستخلصات. أكدت طريقة برادفورد اللونية فعالية عملية إزالة البروتين، وكشف اختبار السكر الكلي عن تركيز 96.5%. كشفت تقنيّة الكروماتوغرافيا ذات الطبقة الرقيقة عن وجود سكريات متعددة من نوع الرامنوغالاكتورونان. تم تأكيد هذه النتائج باستخدام FTIR بواسطة مطيقات الأشعة فوق البنفسجية. وأخيراً، أظهرت الدراسة ان قشر الرمان يتمتع بنشاط مضاد للأكسدة كبير، مما يشير الى إمكانية استخدامه في منتجات ذات قيمة عالية.

