

N° d'Ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de **Master**

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V.)

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé du thème :

**Etude de l'effet des extraits phénoliques de
grenade sur les paramètres physicochimiques
et microbiologiques du yaourt**

Présenté par : **Melle** MOUMENE Kheira Hanane

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : **Mme** MEZIANI Samira (M.C.A/UDL/SBA)

Examineurs : **Mr** ALLAM Mustapha (M.C.B/UDL/SBA)

Mme KHALDI Amina (M.C.A/UDL/SBA)

Promoteur : **Mme** BELKESSAM Yamina (M.C.B/UDL/SBA)

Co-Promoteur : **Mme** BELKESSAM Nafissa (M.C.A/UDL/SBA)

Année universitaire 2020 - 2021

Session : « Juin »

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Allah le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En guise de connaissance, je tiens à témoigner mon sincères remerciement à toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin au bon déroulement de mon travail de fin d'étude et à l'élaboration de ce mémoire.

Je voudrais tout d'abord adresser toute ma gratitude au promoteur de ce mémoire : **BELEKASSAM Yamina**, professeur à la faculté des sciences de la nature et de vie – Université de SBA- pour sa patience, sa disponibilité, ses précieux conseils et son aide durant toute la période du projet.

je remercie sincèrement Mlle **BEKHALED Imene**, Mme **LABGA Houaria** qui m'aide dans ce travail.

J'adresse également mes sincères remerciements aux membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche et d'avoir examiné mon travail tout en l'ayant enrichi par leurs propositions:

Je tiens à remercier Madame **MEZIANI Samira D.M.A.C**-Université SBA pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Je remercie Mr : **ALLAM Mustapha** et Mm: **KHALDI Aminad** d'avoir accepté de faire part du jury de ce mémoire.

MOUMENE Kheira Hanane

Dédicaces

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, je dédie ce modeste travail aux Personnes les plus chères dans ma vie; mes chères parents.

A ma mère : **MALIKA**, qui présente toute ma vie, qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Rien n'aurait sans votre compréhension et vos amours, et pour les efforts fournis jour et nuit. Ce travail est le fruit de tes sacrifices pour mon éducation et ma formation.

A mon père **MOUMENE Kaddour** « que Allah bénisse son âme » ce qui était une incitation dans ma vie à réaliser son rêve.

A Mes sœurs et mes frères chacun par son nom.

Ames chères copainnes **Djamila, Sihem, Abir, Lamiset Sabrinne**

A tous mes amies et mes collègues de promotion de mastère biochimie appliquée

A tous ceux m'ont aidé à réaliser ce travail

Mlle MOUMENE Kheira Hanane

Résumé

La grenade possède de fortes capacités antioxydantes et due à la présence de polyphénols, tanin et acide gallique ce dernier est utilisé en thérapeutique pour sa capacité d'inhiber la prolifération des cellules cancéreuses, malgré ces bénéfices, ce fruit reste peu étudié en Algérie.

Notre travail vise à évaluer les propriétés antioxydantes ainsi que d'identifier les polyphénols des extraits des écorces du *Punica granatum.L*, et les valoriser en les introduisant dans un yaourt afin d'obtenir un aliment à caractères nutritionnel et thérapeutique.

L'évolution de ces extraits est réalisée par la méthode de réduction de radical libre DPPH.

L'extraction est faite par utilisation des trois solvants; éthanol, méthanol, acétone, la quantification des polyphénols totaux a montré la richesse de l'extrait éthanolique dont la teneur est $(0.245 \pm 0.002 \text{ mg EAG/g})$.

A partir des résultats du test DPPH, l'extrait éthanolique a présenté la meilleure activité inhibitrice de radicaux DPPH soit une concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀) égale à 1.99 mg/ml. En outre les trois extraits ont montré aussi de l'efficacité avec l'acide ascorbique (IC₅₀ de 0.026 mg/ml)

Le travail a été complété par une étude qui se résume dans la préparation d'un yaourt avec l'incorporation d'extrait de fruit de *Punicagranatum.L*, en vue d'analyser l'effet de ce dernier sur l'évolution des paramètres physicochimiques et microbiologiques du produit fini.

Les résultats expérimentaux ne montrent que l'ajout d'extrait phénolique des écorces de grenade dans le yaourt a réduit le pH et a augmenté l'acidité de plus, l'extrait semble exercer un effet stimulant sur la croissance des bactéries lactiques (*Lactobacillus bulgaricus*). En conclusion, les résultats obtenus indiquent que les écorces du *Punicagranatum.L* constituent une source naturelle des antioxydants et qui pourraient être utilisés en thérapie.

Mots clés : *Punicagranatum*, *Lactobacillus bulgaricus*, yaourt, activité antioxydante,.

Abstract

The pomegranate has strong antioxidant capacity and binds to the presence of polyphenol, tannin and gallic acid the latter is used therapeutically for its ability to inhibit the proliferation of cancer cells, despite these beneficial, this fruit remains little studied in Algeria.

Our work aims to evaluate the antioxidant properties as well as to identify the polyphenols from extracts of the bark of *Punicagranatum.L*, and valorised them by introducing into yogurt in order to obtain a food with nutritional characteristics and therapeutic.

The evolution of these extracts is carried out by the DPPH free radical reduction method.

The extraction is done by using the three solvents; ethanol, methanol, acetone, the quantification of total polyphenols showed the richness of the ethanolic extract which the content is $(0.245 \pm 0.002 \text{ mg EAG/g})$. From the results of the DPPH test, the ethanolic extract to be presented the best inhibitory activity of DPPH radical, i.e. an inhibitory concentration at 50% (IC₅₀) equal to 1.99 mg/ml. In addition all three extracts were also shown to be effective in with ascorbic acid (IC₅₀ of 0.026 mg/ml).

The work has to be completed by a study which is summarized in the preparation of a yogurt with the incorporation of extract of the fruit of *Punicagranatum.L*, in order to analyze the effect of this last on the evolution of physicochemical and microbiological parameters of final Product. The experimental results only show the addition of phenolic extract from the bark pomegranate in yogurt reduced PH and increased acidity as well, the extract seems to have a stimulating effect on the growth of lactic acid bacteria (*Lactobacillus bulgaricus*). In conclusion, the results obtained indicate that the bark of *Punicagranatum*. are a natural source of antioxidants that could be used in therapy.

Key words: Punicagranatum, Lactobacillus bulgaricus, yogurt, antioxidant activi

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des diagrammes

Introduction générale.....1

Parti I : Etude Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les grenades (*pinuciagranatum*).

1. Historique5

2. Nomoculture.....5

3. Production de grenades dans le monde5

4. Description botanique7

5. Classification botanique7

6. Facteur chimique liées a la culture du grenadier8

a. Climat.....8

b. Sol.....8

c. Irrigation.....9

7. Composition chimiques9

a. Les feuilles9

b. Les fleurs9

c. Le fruit10

d. Les racines et l'écorce de l'arbre.....10

e. Les écorces de grenade11

8.	Composition chimique des écorces	12
9.	Utilisation des grenades	13
a.	Usage médicinale	13
b.	Autre utilisation	13
c.	Utilisation agroalimentaire	13
10.	Propriété thérapeutique	14
a.	Propriété antioxydant	14
b.	Propriété anti-inflammatoire.....	14
c.	Propriété anti-cancéreuse	14
d.	Propriété antimicrobienne.....	15
11.	Toxicité des grenades	15

Chapitre II : Les composés phénoliques

1.	Généralité	16
2.	Classification des polyphénols	16
a.	Acides phénolique	17
a.1.	Acide benzoïque	17
a.2.	Acide cinnamiques	18
b.	Flavonoïdes	18
b. 1.	Flavonols.....	19
b. 2.	Flavonones.....	19
b. 3.	Flavones.....	19
b. 4.	Isoflavones	19
c.	Les tanins	19
c.1.	Tanins hydrolysables.....	19
c.2.	Tanins Condensés.....	20
.		
3.	Rôles et propriété des composés phénolique	21
a.	Dans les aliments	21
b.	Chez l'homme.....	21

Chapitre III : Généralité sur le yaourt

Présentation de yaourt

1. Historique	22
2. Définition du yaourt et réglementation	22
3. Types de yaourts	24
4. Matières utilisées pour la production du yaourt	25
a. Lait frais	25
b. Poudre de lait	25
c. L'eau	26
d. Les additifs	26
e. Bactéries caractéristique du yaourt	26
e. 1. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	26
e. 2. <i>Streptococusthermophilus</i>	26
5. Processus de fabrication	27
a. Récupération de lait	29
b. Standardisation	29
c. Homogénéisation	29
d. Traitement thermique	30
e. Fermentation lactique	30
f. Conditio de stockage	30
6. Caractérisation du yaourt	31
a. Paramètres physico-chimiques	31
a. 1. pH et taux d'acide lactique	31
a. 2. Taux de matière grasse	31
a. 3. Extrait sec totale	31
a. 4. paramètre microbiologique	31
7. Intérêts nutritionnels et thérapeutique	32
a. Intérêts nutritionnels	32
b. effet thérapeutique	32
b.1. Activité antimicrobienne	32
b.2. Activité anti-cancérogène	32
b.3. Activité anti-cholestérolémie	33

Partie II : Partie expérimentales

Chapitre IV : Matériels et méthodes

1. Matériels	35
a. Site et conditions d'échantillonnage.....	35
b. Produits chimiques utilisées	36
c. Appareillage	37
2. Méthodes	37
a. Préparation des extraits.....	37
b. Extraction par macération.....	37
c. Calculs de rendements d'extraits.....	38
3. Dosages des composés phénoliques	39
a. Polyphénols	39
b. Flavonoïdes.....	39
c. Tanins	40
c. 1. Tanins hydrolysables.....	40
c. 2. Tanin condensés	40
4. Evolution d'activité antioxydant	41
5. Essai de fabrication de yaourt enrichi d'extrait de grenade	42
a. Protocole expérimentale.....	42
b. Préparation des levains	42
c. Technologie de fabrication du yaourt.....	42
6. Mesure de contrôle sur le yaourt	44
a. paramètre physicochimique.....	44
a. 1. Acidité	44
a. 2. pH.....	45
b. Analyses microbiologique.....	45
• <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	45

Chapitre v : Résultat et discussions

1. Etude physicochimique	46
a. Extraction des polyphénols totaux	46
a. 1. Le rendement	46
a. 2. Teneur de polyphénols	47
a. 3. Teneur de flavonoïdes	48
a. 4. Teneur de tanins hydrolysable et condensés	50
a. 5. Activité antioxydant	52
b. Essai de fabrication de yaourt enrichi d'extrait d'écorces de grenades	55
b. 1. Mesure et contrôle sur le yaourt	55
b. 1.1. Paramètres physicochimiques	55
➤ Acidité	55
➤ pH	57
b. 1.2. paramètre microbiologique	59
➤ <i>Lactobacillus bilgaricus</i>	59
Conclusion	62

LISTE DES ABREVIATIONS

Abs : absorbance

D : Degré Dornic

DPPH : Diphenyl-2-picryl-hydrazyl

EAG : Equivalent d'acide gallique

EAT : Equivalent acide tannique

ECG : Extrait d'écorce de grenade

EPG : Extrait de peau de grenade

EPS : Exopolysaccharides

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

EST: Extrait sec total

F.I.L : Fédération Internationale du lait

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

INRAA : institut national de la recherche agroalimentaire d'Algérie

J.O.R.A : Journal Officiel de la République Algérienne

LDL : Lipoprotéines de faible densité

Mg : milligramme

ml : millilitre

MRS : Matière grasse

MS: Matière sèche

pH : Potentiel hydrogène

UFC : unité formant colonie

LA LISTE DES TABLEAUX

- Tableau I** : variation de grenade autorisée à commercialiser en Algérie (*INRA , 2006*).page06
- Tableau II** : Classification botanique du grenadier (*Spichiger et al ., 2009*)page07
- Tableau III** : composition chimique (*Elodie ,2009*) et principaux constituant de la différente partie du grenade (*Jurenca, 2008*)page11
- Tableau IV** : Différents types du yaourt et leur caractéristiques (*Vignola, 2002*).....page24
- Tableau V**:Critères microbiologiques du yaourt (*J.O.R.A, 1998*)page31
- Tableau VI** : Rendement, aspect et couleur des divers extraits à partir des écorces de grenade *Punica granatum L.*page46
- Tableau VII** : Rendement en extrait de l'écorce de grenade de certaines étude.....page47
- Tableau VIII** : Taux inhibitions maximales des extraits déterminé par le DPPH.....page53
- Tableau IX** : effet d'incorporation d'extrait de grenade sur l'acidité des yaourts.....page56
- Tableau X** : Evolution de pH des yaourts incorporé d'extrait de grenade.....page58

LA LISTEE DES FIGURES

Figure01 : Répartition de la production mondiale de grenade	page 06
Figure02 : Grenade et ses nombreuses graines.....	page07
Figure03 : Feuilles lancéolés de <u>Punicagranatum</u>	page09
Figure04 : Fleurs aux sépales charnus et rouges et aux pétales frois.....	page09
Figure05 : La grenade et ses différentes parties	page10
Figure06 : les structures chimiques des ellagitannins.....	page12
Figure07 : Les déifiantes clases des composes phénoliques.....	page17
Figure 08 : structure chimique des acides benzoïque.....	page17
Figure09 : Structure des acides cinnamiques.....	page18
Figure 10 : structure de flavonoïde.....	page 18
Figure11 : La structure de l'acide gallique et d'un tanin gallique.....	page20
Figure12 : La structure des tanins condensés.....	page20
Figure13 : Observation microscopique électronique à balayage (X 5000) des ferments lactiques en association dans un yaourt	page35
Figure14 : Carte géographique de la zone Sidi Khaled- SBA.....	page36
Figures 15 : L'échantillon avant séchage.....	page 36
Figures 16 : l'échantillon après séchage.....	page36
Figure 17 : l'échantillon au court de broyage.....	page37
Figure18 : l'échantillon en poudre.....	page 37
Figure19 : macération.....	page38
Figure20 : Filtration.....	page38

Figures21 : solutions après filtration.....	page38
Figueur22 : Evaporation rotatif.....	page38
Figueur23 :Les extraits secs.....	page41
Figueur24 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	page48
Figueur25 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de l'écorce de <i>Punica granatuma L.</i>	page48
Figueur26 : courbe d'étalonnage de quercétine	page49
Figueur27 : teneurs en flavonoïdes des extraits de grenade <i>P.granatum</i>	page 49
Figueur28 :teneurs en tanins hydrolysables dep. <i>granatum</i>	page50
Figueur29 : la courbe d'étalonnage de catéchine.....	page 51
Figueur30 : teneur de Tanins condensés des écorces de <i>p.granatum</i>	page51
Figueur31 : Evolution des taux d'inhibitions de DPPH par l'extrait Ethanolique.....	page53
Figueur32 : Evolution des taux d'inibitions de DPPH par l'extrait Méthanolique.....	page53
Figueur33 : Evolutiondes taux d'inhibitions de DPPH par l'extrait Acétonique.....	page54
Figueur34 : Evolution de taux d'inhibitions de DPPH d'acide ascorbique.....	page54
Figueur35 : Concentration d'inhibition des différents extraits de <i>P.granatum</i>	page55
Figueur36 : Evolution de l'acidité Doronic des yaourts additionnés de l'extrait de grenade à différentes doses en fonction du temps.....	page 56
Figueur37 : Effet d'incorporation de l'extrait de grenade sur l'évolution de pH des yaourts étuvés expérimentaux en fonction du temps.....	page57
Figueur38 : Evolution du nombre de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (N*103UFC/ml) des yaourts étuvés additionnés de l'extrait d'écorce de grenade en fonction du temps...	page59

LA LISTE DESDIAGRAMMES

- Diagramme 1**:Diagramme général de fabrication du yaourt ferme et du yaourt brassé(Bealetal.2008).....Page28
- Diagramme 02** : Préparation des levains lactique.....page 43
- Diagramme03** : Technologie de fabrication de yaourt.....page44

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ni le hasard, ni la religion et ni la superstition qui a guidé la médecine traditionnelle à employer une plante plutôt qu'une autre. Certainement, c'est l'expérience où les gens apprécient les vertus thérapeutiques des plantes.

Ces dernières années, le rôle des plantes médicinales dans la santé humaine a suscité une attention accrue. Plusieurs études épidémiologiques ont fortement suggéré qu'une forte ingestion de produits végétaux est associée à une diminution significative du risque de nombreuses maladies chroniques telles que l'athérosclérose, l'inflammation, le diabète et certains types de cancer. Ces effets bénéfiques sont en partie attribués à des composés possédant une activité antioxydante. Les principaux antioxydants sont les vitamines C et E et certains métabolites secondaires, en particulier les composés phénoliques.

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

La grenade (*Punica granatum L.*) est un fruit antique avec des antécédents médicaux. Sa peau épaisse, de même que ses cloisons internes sont riches en tanins ce qu'il lui confère un goût âcres et amères. Les études ont montré que les antioxydants trouvés dans la grenade ont des effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire semblable aux effets du vin rouge (*Vitis Vinifera*) et du thé vert (*Sinensis Camélia*) (**Rosenblat et al., 2006**).

La peau de grenade (*Punica granatum L.*) est une partie non comestible obtenue pendant le traitement du jus de grenade. La peau de grenade est une source riche en tanins, flavonoïdes et autres composés phénoliques (**Lie et al, 2006**). Les propriétés antioxydantes et antibactériennes de la peau de grenade dans les systèmes modèles in vitro ont été rapportées (**Negi et Jayaprakasha, 2003; Reddy et al., 2007; Opara et al., 2009; Alzoreky, 2009**).

Des infusions à base d'écorces de grenade sont utilisées pour soigner les dysenteries (les tanins ont un effet astringent sur la muqueuse intestinale), et ce remède a été longtemps préconisé dans la thérapie traditionnelle. L'écorce et la racine du grenadier possèdent des propriétés vermifuges (**Rosenblat et al., 2006**).

Bien que la fabrication et la consommation des laits fermentés remonte à la plus haute antiquité, les progrès réalisés dans l'élaboration, la standardisation et la diversification des yaourts correspondent pour la plupart aux efforts de recherche entrepris au cours du siècle dernier.

Il est bien connu que les produits laitiers frais fermentés, comme le yaourt, sont des aliments de grande consommation à travers le monde (**Nakasaki et al., 2008**).

Introduction

Avec le progrès technologique réalisé, le yaourt apparait comme un produit laitier très digeste qui possède une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa texture (**Rohmain, et al., 2010**). Il convient à toutes les tranches d'âge et même chez les sujets intolérants au lactose (**Nagai et al., 2011**).

Le yaourt est obtenu par incubation de lait avec un mélange de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (**JORA, 1998**), d'autres ingrédients peuvent être ajoutés au yaourt, comme les fibres de fruits et légumes, de fruits secs ou légumes comme les céréales.

L'objectif de la présente étude consiste à évaluer l'effet des écorces de grenade sur l'évolution des paramètres physicochimiques et microbiologiques d'un yaourt.

Notre travail sera réparti en deux parties:

1. Partie bibliographique portant sur des données générales sur l'espèce étudiée (*Punica granatum L.*), ainsi que des généralités sur le yaourt.
2. Partie expérimentale où sont rapportés le matériel et les méthodes utilisées, les résultats obtenus, leur discussion et finalement une conclusion.

L'étude expérimentale est répartie comme suit :

- Extraction et dosage des composés bioactifs tel que les polyphénols totaux ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de la peau de grenade.
- Incorporation des extraits de grenade dans un type yaourt afin d'étudier leur effet sur les paramètres physicochimiques et microbiologiques de ce dernier

Partie I : Etudes
Bibliographique

I. Généralité sur les grenades (*Punica granatum*)

1. Historique :

La grenade, en latins *pomus* et *granatus*, ce qui signifie une tête de série ou pomme granulaire, originaire de l'Iran à Himalaya dans le nord de l'Inde, où elle a été cultivée de puis des milliers d'années. Elle est aussi cultivée dans tous les continents dans des zones tempérées chaudes : comme le Proche orient, Chine, Sud-est des Etats-Unis, Chili, Argentine. La ville de Grenade en Espagne doit son nom au grenadier (**Ben abdennebi, 2012**). Son nom est dérivé du latin « *granum* » qui signifie « fruit à graine ». La grenade est mentionnée dans la mythologie grecque, ainsi que dans la Bibl. et Coran, preuve que ce fruit est connue et consommé depuis des millénaires (**Calins Sanchez et al., 2012**).

2. Nomenclature : Selon **Hmid (2013)**, la nomenclature de Grenadier est :

Nom scientifique : *Punica granatum*

Nom français : Grenadier

Nom anglais : Pomeranate

Nom espagnole : Granada

Nom italien : Melograno

Nom arabe : Roman

3. Production de grenades dans le monde :

La superficie consacrée à la culture de la grenade dans le monde est 300 000 hectares, dont 75% des client sont situés dans cinq pays (inde, iran, Chine' Turquie et Etats-Unis).Pourtant, L'Espagne, l'Egypte et Palestine sont entre 16000 et 2400 hectares, l'un des pays qui développe l'industrie hybride (**Queroz, 2009**).

D'autre pays pratiquent également cette culture notamment Afghanistan, Pakistan, Arménie, Géorgie, Tadjikistan, Jordanie, Italie, Tunisie, Azerbaïdjan, Libye, Liban, Soudan, Myanmar, Bengladesh, Mauritanie, Chypre et Grèce (**Melgrejo et al. , 2012**).

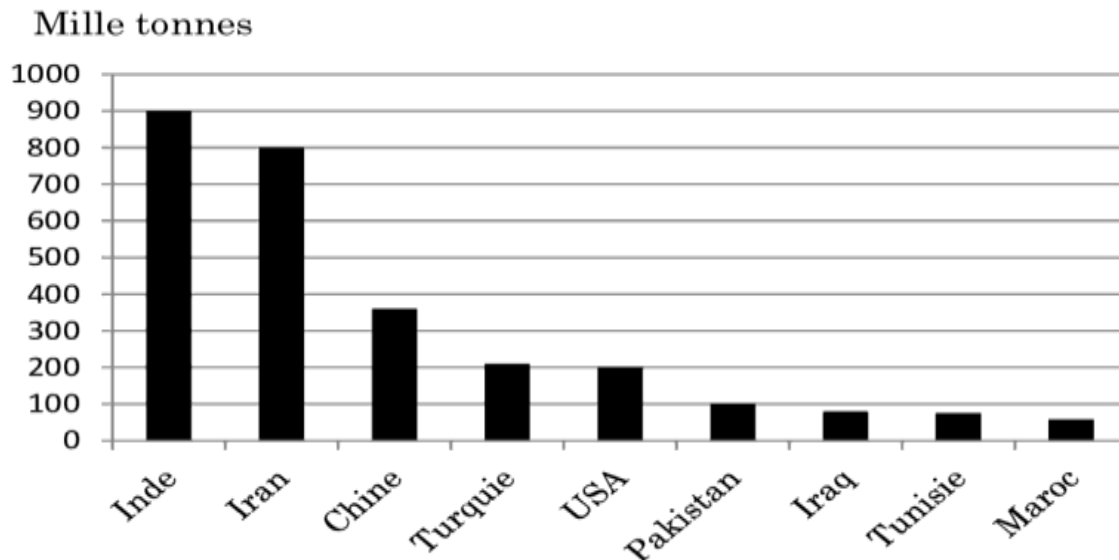


Figure01 : répartition de la production mondiale de grenade (Melgarejo and Valero, 2012).
Production de grenades dans l'Algérie :

Les grenades sont cultivées beaucoup plus dans la zone méditerranéenne : Espagne, Italie, Grèce, Algérie, Tunisie, Maroc. Le grenadier peu exigeant, les plantations ne sont pas très importantes en Algérie. Il existe de nombreuses variétés de grenades, de qualités très différentes. Plusieurs sortes de grenadier sont signalées dans des petits jardins en Kabylie, on ne connaît que leur locale (Lahlou, Elmouze,..) Quatorze variétés sont actuellement autorisées à la production et à la consommation par l'Etat (INRAA, 2006).

Tableau I : variétés de grenade autorisées à commercialiser en Algérie (INRA, 2006).

Espane rouge	Gajin	Selection station
Corda travita	Sefri	Chelfi
Mollerhuessa	Zemdautomne	Doux de koela
Mellisa	Sulfani	Messaad
Papersschell	Spanish.duoy	

4. Description botanique :

La grenade est le fruit du grenadier qui est un petit arbre ou un grand arbuste (2 à 7 m de hauteur). Le tronc est recouvert d'une mince écorce grise ; se ramifier irrégulièrement en branches plus ou moins épineuses et hérissées, portant des feuilles caduques et lancéolées en spirales (Boullard, 1997 ; Iser, 2001).

Ses feuilles sont simples, lancéolées et peuvent mesurer de 3 à 8 cm de longueur de couleur rouge orangée, sont très ornementales. Son fruit, la grenade, est une baie du jaune doré au rouge. La taille de la grenade est comparable à celle d'une pomme. Cette baie renferme de nombreuses petites graines rouges contenues dans des loges, séparées par des membranes. Toutes ces graines possèdent un mésocarpe charnu et gélatineux, comestible et sucré, représentant la partie comestible du fruit (Wald, 2009).

Le poids des grenades varie généralement selon l'origine et le cultivar entre 163 et 216 g. De point de vue botanique, le fruit de grenadier se compose de 3 parties :

- L'épiderme (écorce), les arilles et les pépins.
- L'épiderme et la partie extérieure de fruit représentée 28 à 32% du poids total du fruit, alors que le taux en graines varie de 55 à 60% du poids du fruit (Oukiabli et al., 2004).



Figure 02 : Grenade et ses nombreuses graines (Wald, 2009)

5. Classification Botanique :

Le grenadier, *Punica granatum* L. a été décrit par Linné et introduit dans sa classification en 1753. Cette classification encore adoptée est décrite dans le tableau II (Spichiger et al., 2009).

Tableau II : Classification botanique du grenadier (Spichiger et al ., 2009).

Embranchement :	Spermaphyte
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Mangoliopsida
Ordre :	Myrtales
Famille :	Punicaceae (Lythraceae)
Genre :	Punica
Espèce :	<u>Punica granatum</u>

Punica granatuma partage sa famille botanique *Punicaceae* , avec *Punica protopunia* , une espèce endémique due L'île Yéménite de Socotra (*Lansky et Newman, 2007*). Cependant les récentes études moléculaires, recommande la classification de ce genre dans la famille des Lythraceae (*Spichiger et al. , 2020 ; Walter et al. , 2002 ; Stover et Mercure, 2007*).

6. Facteur climatique liées à la culture du grenadier :

a. Climat :

La culture du grenadier est essentiellement limitée à une semi-aride, légèrement tempérée et subtropical. il s'adapte naturellement à des régions avec des étés chauds et des hivers froids, comme les pays méditerranéens, Afghanistan, Iran, et les Etas Unis(Californie) (*Ozgen et al. , 2008*). Cette espèce peut supporter des températures extrêmes allant de -10et+40°C (*Oukabil, 2004*).Le fruit est récolté en automne, à maturation (*Isrin, 2001*).

b. Sol :

Le grenadier s'adapte à plusieurs types de sol allant du sable pure à l'agile lourde. Il donne de meilleurs résultats en sol d'alluvions avec des disponibilités en eaux satisfaisantes ainsi que sur limon lourd bien irrigué (*Oukiabil, 2004*). Sa croissance optimale est obtenue sur des asse lourds et humide à pH de 5.05-7.0. est sols alcalins donne de faible rendements(*Sheets et al. , 1994*).

c. Irrigation :

Les besoins en eau du grenadier sont pratiquement les mêmes que pour les agrumes 125 à 150 cm par an. Les arbres doivent être irrigués tous les 7-10 jours en l'absence de précipitations significatives. Le maintien d'une humidité suffisante du sol, en fin d'été et début d'automne est nécessaire pour réduire le fractionnement potentiel des fruits (Sheetset al, . 1994).

7. Composition phytochimique du fruit :**a. Les feuilles :**

Les feuilles du grenadier contiennent des flavones, telle que la lutéoléine et l'apigénine. Cette dernière posséderait des propriétés anxiolytiques (Lanskye, 2007). Elles renferment également des tanins, comme la punicaline et la punicalage (Lanskye, 2007).



Figure03 : Feuilles lancéolées de *Punica granatum* (Wald, 2009)

b. Les fleurs :

Les fleurs du grenadier contiennent de l'acide gallique et des triterpènes comme l'acide ursolique, acide oéanolique, acide asitique, acide maslinique (Lanskye, 2007).



Figure04 : Fleurs aux sépales charnus et rouges et aux pétales froissés (Wald, 2009).

c. Le fruit :

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



Figure05 : La grenade et ses différentes parties (Calin Sanchez et al. 2005)

d. Les racines et écorce de l'arbre :

L'écorce de la racine de grenadier a été analysée d'abord par Mitouart, en 1824, qui en a retiré une matière grasse, des tanins, de l'acide gallique, une matière résineuse, de la mannite, du sucre (Cazin, 1868).

Les extraits préparés à partir des racines et écorce de l'arbre ont de puissants effets physiologique. Leur composition chimique se distingue des autres parties de l'arbre par de forte concentration en alcaloïdes (Lansky et Newman, 2007).

Tableau III : composition chimique (Elodie ,2009) et principaux constituants de la différente partie du grenade (Jurenca, 2008).

Partie du grenade	Constituants
Feuilles	Tanins (punucalinetpunica a folin) et flavones glycosides (ilutéoléine et apigénine)
Fleurs	Acides gallique, acideursolique, triterpenoides
Graines	<p>Huile : qui se compose :</p> <ul style="list-style-type: none"> _Acide gras insaturé(80%) : 95%d'acide punicique, les acides oléique et acide olinoléques et d'autre acide _Acide gras saturés : les acide plamique et stéarique _Acide ellagique <p>Hormones stéroïdes et acides gras stérols : cholestérols</p>
Jus de grenade	<p>-sucre : glucose, fructose, saccharose</p> <p>_ Acide organique : acide citrique, acide ascorbiquurr, acide gallique, acide ellagique .</p> <p>-Acide aminés : valine, poline et m »thionine</p> <p>-Antioxydants : acide caféique, catéchines, EGCG, querticine, rutine, puissants molécules antioxydants, fournissant au jus grenade, sa couleur rouge augmente juqu'àmaturiré de fruit, et diminué après la pression du fruit _nombreux de minéraux</p>
Ecorce de grenade	<p>_ Acide hydroxy benzoïque : l'acidegallique et l'acide ellagique</p> <p>_ Acide hydroxycinnamique</p> <p>_ Dérivés de flavonoides : molécules de coloration jaune</p> <p>_ Anthocyanidine : responsable de la couleur rouge des grenades</p> <p>_ Nombreux ellagitanins : tel que la punicaline, la punicalag</p> <p>La corilagine, la granatine A et B, ces tanins représentent jusqu'à 28% de la peau du fruit</p> <p>_ Le pelletierine pourrait aussi se trouver dans la peau de grenade</p> <p>_ Alcaloïdes pipéridines</p>

e. Les écorces des grenades :

L'écorce de grenades représente 50% de poids total du grenade, qui composé de bioactifs tels les poly phénols, les flavonoides, les ellagitanins, les proantocianidines et les minéraux « N, P, Mg, Na, Ca, P » (CalinSanchezetal. , 2005). Elle est utilisée séchée, sous forme de

morceaux brunâtre ou vert rougeâtre à l'extérieure, un peu verruqueux, brillants, jaunâtre sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient incrustées.

Ces fragments sont formés d'unparenchymes de cellules à paroi minces au milieu desquelle on distingue des groupes de cellules pierreuses et de faisceaux.

Le serveur de l'écorce de grenade est amer et astringente (Wald, 2009).

L'écorce de grenades a été utilisée dans plusieurs produits alimentaires et ou-il été démontré que l'extrait de la poudre de l'écorce de grenade(PEG) peut être considéré comme conservateur naturel dans les produits carnés contre diverses souches tel que listeria monocytogenes, Bacillus subtilis,

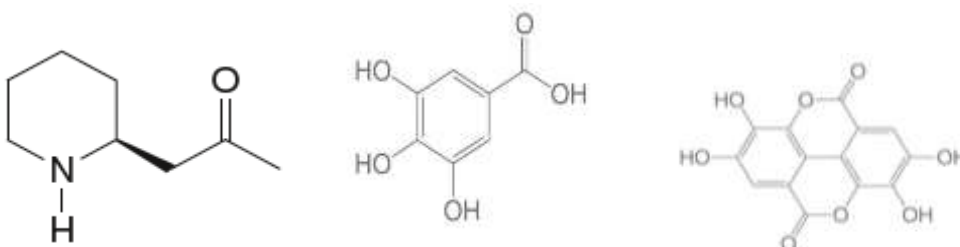
Bacillus cereus, Eshericjia coli et Staphylococcus aureus, avec un effet bactéricide avéré (Hasmik, 2011).

8. Composition chimique des écorces de grenades :

L'écorce de grenades se compose également d'acide gras, certaines de catéchines, de quercétine et de rutines(Ghazaleh et al., 2013). Pourtant les flavonoïdes et les tanins sont abandonnée dans la peau sauvage, dans les plantes cultivées (Wald, 2009).

La concentration en macronutriments des écorces de grenades varie selon les facteurs (climat et sol) ; elle est moins importante que celle rapportée pour le fruit.

Selon MirdehghanetRahemi(2006) la teneur en K N Ca P Mg Na, mis à part le calcium qui est plus abondant dans les écorces ainsi que le sodium qui lui a une teneur équivalente. Il est riche en ellagitannins tels que la Punicalline, la Punicalagine, Corilagine, la Granatine. Ainsset B. Il contient de l'acide hydroxy benzoïque, tel que l'acide gallique et l'acide ellagique, ainsi que les anthocyanes, sont responsables de la couleur de la grenade. Nous avons également remarqué la présence d'alcaloïdes : Pelletirrine d'après (Prakash C, Prakash I., 2011).



Structure de La pelletierine

L'acide gallique

Acide ellagique

Figure 06 : les structures chimiques des ellagitannins. (PrakashC , PrakashI, 2011).

9. Utilisation de grenades :

a. Usage Médicinale :

La grenadière a été utilisée en médecine traditionnelle dans nombreuse cultures (Lansky et al. , 2000). La grenade est considérée comme un fruit complet dans le coran.

L'ancienne science médicinale indienne la identifiée comme une petite plante médicinale. **(Kullkani et al., 2004).**

L'écorce de grenade, les racines et es feuilles ont été utilisées en décoction pour traiter les diarrhées, les troubles digestifs et stoper les hémorragies. (Stover et Mercure, 2007).

Les écorces de fuie sont utilisées aussi contre les parasites intestinaux, en particulier le vers solitaire (ténia) et la dysenterie amibienne.

Elles contiennent des alcaloïdes, dont la pelletierine, vermifuge efficace contre le ténia, inscrite au Codex de la pharmacopée française depuis 1937 **(Cutray et al., 2010).**

Une autre étude publiée par **Al-Saeed et al. (2015)**, a révélé l'efficacité de l'extrait éthanolique des écorces de grenade dans le traitement des plaies infectées par des champignons, pouvant la propriété antiseptique de l'écorce de grenade.

b. Autre utilisation :

Au Japon, un insecticide est dérivé de l'écorce de l'arbre. le bois de couleur jaune pâle est très dur. Cependant, étant disponible uniquement en petits morceaux, il est utilisé pour la confection de cannes.

Les études récentes ont démontrées l'effet thérapeutique de quelque unes deces utilisations **(Stiver et Mercure, 2007).**

c. Utilisation agroalimentaire :

Nous citons l'utilisation dons le domaine alimentaire. Une étude récente a démontré que l'extrait méthanolique de peau de grenade améliore la stabilité oxydative de l'huile de tounesol, à différentes concentration. L'extrait de la peau de grenade à des [C] de 800 à 850 ppm, aa une efficacité de stabilisation comparable aux antioxydants synthétique classique, à savoir le BHT à sa limité légale (200ppm) **(Shahid, 2008).**

10. Propriété thérapeutique :

Les grenades considèrent comme composons naturelles grâce à ses propriétés

a. Propriété antioxydant :

L'activité antioxydante in vitro de la grenade et de ses dérivés est d'autres l'ont évalué (Tezacan et al. , 2009 ; Jacob et al., 2008). Tzulk et coll.(2007) capacité antioxydant élevée déterminée de pinicalagines dans composition, pas d'anthocyanes.

Les grenades sont parmi les fruits plus riche en vitamine C et en composé phénolique et en acide phénolique (El-Nemr et 1992).

La composition des différentes parties du grenades a montré l'existence des polyphénols ayant des propriété antioxydant très importantes à savoir les tanins que l'on trouve en concentration très élevés dans les tiges et les écorces du grenade (Seeram et al. , 2006). **Seeram et ses collaborateurs (2006)** ont, par ailleurs, montré que les différents antioxydants du jus de grenade agissant de manière synergique, puisque le jus de grenade a une activité antioxydante plus élevée extrait de tanin totaux de grenade ou que l'acide ellagique seul.

b. Propriété anti-inflammatoire :

Des études in vivo ont démontré que l'huile de graines pressées du grenadier inhibe la cyclo-oxygénase et lipo-oxygénase. La cyclo-oxygénase, enzyme clé dans la conversion a été inhibée de 37% par l'extrait d'huile de graines Pressées. La lipo-oxygénase, qui catalyse la conversion de l'acide arachidonique en leukotriènes, ont été inhibés de 75% par même extrait (**Schubert et al., 1999**).

Des rats obèses ayant reçu une supplémentation de jus de grenade d'extraits de fruits de grenadier montre une diminution significative de l'expression des marqueurs de l'inflammation vasculaire, la trombopondine et la cytokine (de **Nigris et al, 2007**). Cependant, la propriété anti-inflammatoire du grenadier dans les protection de l'endothélium et dans la diminution de l'athérosclérose n'ont pas été encore validées par des essais cliniques chez l'homme (**Basu et Penugonda, 2009**).

c. Propriété anti-cancéreuse :

L'acide ellagique, l'acide caféique, la lutéoline et l'acide punique sont des molécules présentes dans grenade et elles sont testées en tant qu'inhibiteur de la croissance in vitro de cellules cancéreuses humaines de prostate. Chaque molécule et à une concentration de 4mg/ml inhibe, de manière significative, la prolifération des cellules cancéreuse (**Hamid, 2013**).

D'autre part ils semblent présenter d'intéressantes et multiples propriétés contre le cancer du sein (**Kim et al. , 2002**) et cancer du colon (Inhibition de 30 à 100%) (**Seeram et al. , 2005**), aussi bien dans un but préventif que dans un but thérapeutique (**Kim et al. , 2002**).

d. Propriété anti microbienne :

Les polyphénols de grenades ont des effets antiviraux et antimicrobiens intéressants. Le jus de grenade contient des inhibiteurs d'entrée HIV-1. L'étude de ce complexe montre qu'il bloque la liaison du virus avec certains récepteurs cellulaires (**Neurath et al. , 2000**).

L'écorce de grenade possède donc, in vitro, une activité antibactérienne. La combinaison unique des tanins et des alcaloïdes issus de cette écorce, ainsi que leur action synergétique, explique probablement cette activité antibactérienne non retrouvée dans d'autres fruits également riches en tanins et alcaloïdes (**Prashanth, 2001**).

11. Toxicité de grenades :

Beaucoup d'études ont prouvé que lorsque le tannin dépassant 0.25% dans l'aliment est cancérigène (**Morton, 1987**).

Afin pour mieux comprendre l'effet de la consommation de grenade ou leur extrait sur l'organisme et leur rôle dans le traitement de certaines maladies, il est nécessaire de connaître les substances bioactives et leurs propriétés.

Il a été dit que la punicalagine, le tanin ellagique hydrolysable et le polyphénol antioxydant très abondant dans le jus de grenade étaient toxiques pour le bétail.

II. Les composés phénoliques

1. Généralité :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolismes secondaires largement distribués dans le règne végétal.

Ces composés sont présents dans toutes diverses parties de plantes, mais leur distribution quantitative varie selon les plantes en tissu. Plus de 8000 structures ont été identifiées, allant du simple au composé phénolique à des substances hautement polymérisées telles que les tanins (**Dai et Mumper, 2010**).

Ils sont caractérisés par la présence d'au moins un cycle benzénique, qui est directement connecté à au moins un groupe hydroxyle libre ou impliqué dans une autre fonction : éther, ester, hybrides (**Bruneton, 1999**).

Les polyphénols sont toujours les ingrédients actifs de nombreuses plantes médicinales, et ils ont la capacité de réguler l'activité d'un grand nombre d'enzymes et de certains récepteurs cellulaires. De plus, un grand nombre de polyphénols se sont avérés *in vitro* avoir des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antifongiques et antivirales (**Khan, 2010**).

Les composés phénoliques favorisent également la croissance et le développement des plantes grâce à divers effets. Ils interviennent par exemple dans le métabolisme et le transport de l'auxine (Treutter, 2006) et le métabolisme et le transport de l'éthylène (**Vendrell, 2003**).

Les flavonoïdes peuvent même réguler la formation de grains de pollen dans *Pétunia* (**Naomi et al, 1999**).

La grenade est une source de nombreux composés biologiquement connus, tels que l'acide ellagique, le gallotannin, l'anthocyanine utilisé comme antioxydant (**Kkaplanteeta al, 2001 ; Noda et al, 2002 ; Cerda et al., 2003**). Les polyphénols sont composés de quatre familles : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins.

2. Classification des polyphénols

Les polyphénols sont composés par regroupement des substances chimiques et un ou plusieurs groupes hydroxyle, plus d'autres constituants (**Salunkhe, 1990**). Selon **Motilva et ses collègues (2013)**, il n'y a pas de classement général des polyphénols. Par conséquent, de nombreux autres ont proposé leur classification.

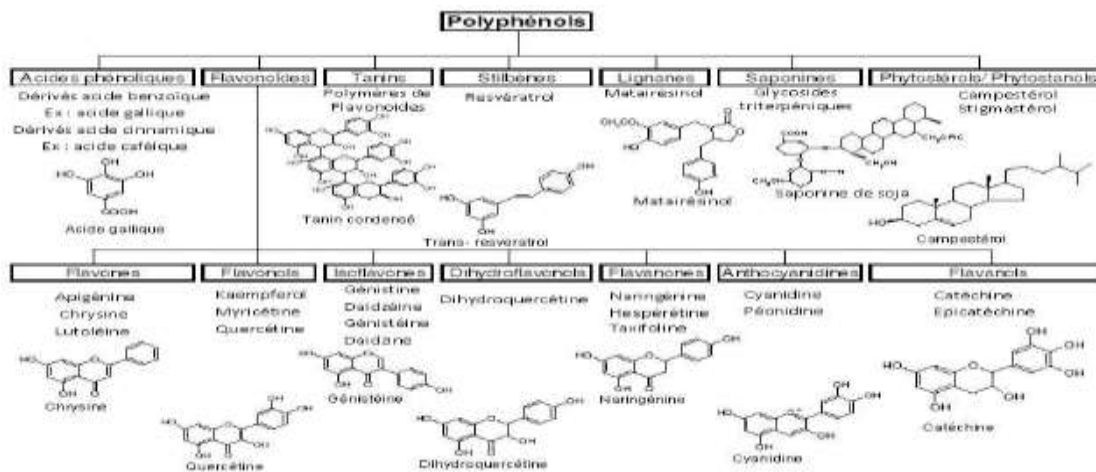


Figure07 : Les déifiantes clases des composés phénoliques (Ilham hmid, 2014).

a. Acide phénoliques :

Le terme d'acide phénolique sont des dérivés s'appliquer à tous les composés Organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Beddou, 2015).

Ils sont présentés dans le grenade par la présence de l'acide gallique et l'acide éllagique (Amakura et al, 2006).

a. 1. Acide benzoïque :

Les acides benzoïques sont des dérivés de l'acide benzoïques et ont une structure générale de(C6_C1).Ce molécules existent souvent sous forme d'esters ou glycosides (Harra, 2012).

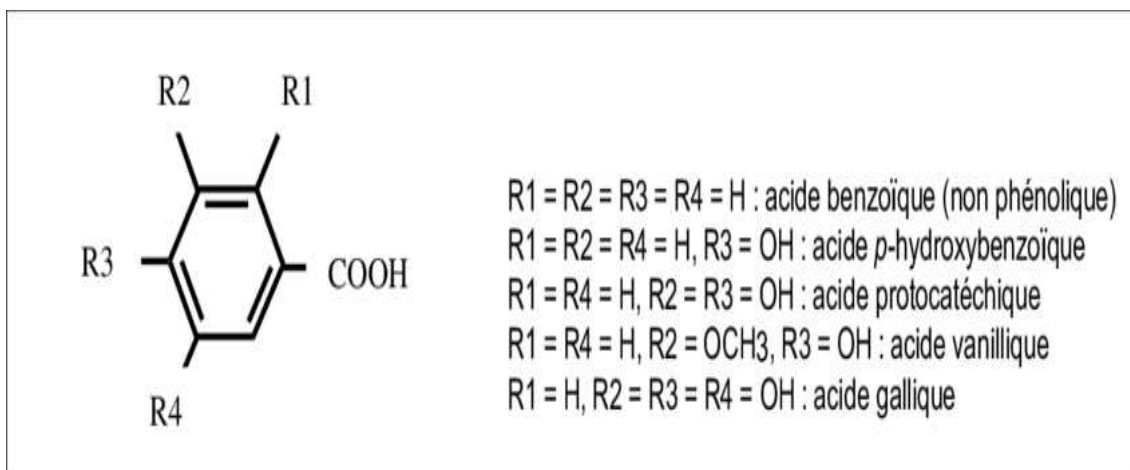


Figure 08 : structure chimique des acides benzoïque (Kapsokefalou, 2006)

a. 2. Acide cinnamiques

Les acides cinnamiques ont une structure de (C₆C₃). Ils sont généralement associés à des molécules organiques. Le degré d'hydroxylation cyclique et de méthylation de benzène, qui provoque une réactivité chimique importante de ces molécules. (Harrar, 2012).



Figure 09 : Structure des acides cinnamiques (Newsletter, 2005).

b. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolismes secondaires des plantes représentant une large gamme de composés naturels, Ils sont des pigments végétaux et sont responsables de la couleur des fleurs, des fruits et des feuilles (Anderson, 1995).

Le terme flavonoïdes rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des betalanes), même si leur présence est parfois masquée par leur présence sous forme « leuco », ce qui explique leur utilisation dans l'industrie alimentaire (Gabor, 1988).

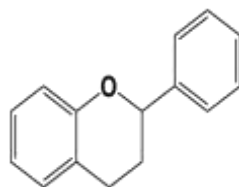


Figure 10 : structure de flavonoïde

Les flavonoïdes ont des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Selon les détails structuraux de leur squelette de base en C₆, les flavonoïdes se divisent en 6 groupes : Flavons, flavonols, flavonones, isoflavonols, chalcones, aures

Ces composés existent sous forme libre ou sous forme d'hétérosides (Heller, 1993).

b. 1. Flavonols

Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le Kempférol et Quercitrine. Ce dernier est connu pour avoir une forte capacité antioxydante, en raison de sa structure chimique propice au piégeage des radicaux libres. La concentration est environ 15 à 30 mg/kg d'ingrédients frais (Manach et al, 2004).

b. 2. Les flavonones

Ils sont dérivés de la chalcone et de l'or grâce à la cyclisation au centre du cadre, de sorte hétérocycle. Ils se caractérisent par l'absence de doubles liaisons entre C2 et C3 L'existence de centre asymétrique.

b. 3. Les flavones

Parmi les fruits et légumes, le moins contenu de flavonoïdes, ils se composent essentiellement de lutéoline glycosylée et d'apigénine. Les seuls aliments connus à ce jour sont le persil et céleri (Manach et al., 2004).

b. 4. Les isoflavones

Les produits à base de soja sont la principale source d'isoflavones. Les aliments peuvent être glycosylés ou non. Ils existent également dans Haricots (Manach et al, 2004).

c. Les tanins

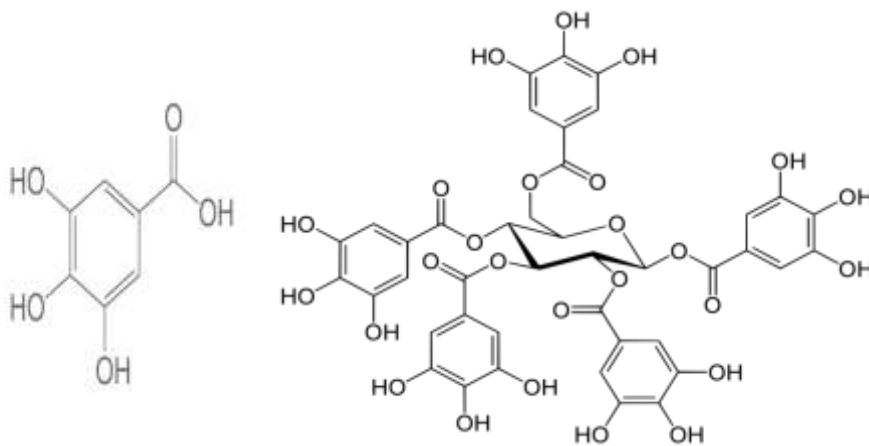
Les tanins végétaux sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, avec le poids moléculaire compris entre 500 et 3000 unités. Ils conviennent à la préparation du cuir et la réaction classique du phénol. De plus, ils ont des propriétés spéciales telles que la capacité de précipiter des alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Sereme et al., 2010). Ils sont divisés en deux catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

c. 1. Les tanins hydrolysables

Sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique et sont des substances facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) (Cowan, 1999 ; O'Connell et Fox, 2001).

Les tanins hydrolysables sont constitués d'un noyau central « le glucose » et de chaînes latérales (en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol.

Des liaisons carbone a carbone entre noyaux (liaison biphenyle réalisée par couplage oxydatif), conduisent à des molécules ramassées plus rigides de solubilité diminuée dite les tanins éllagiques(Guignard, 1996).



Acide gallique

1, 2, 3, 4, 6-pentagalloyl-O-Dglucose

Figure11 : La structure de l'acide gallique et d'un tanin gallique (Burent, 2008)

c. 2. Les tanins condensés

Les tanins condensés ou proanthocyanidines sont des polymères composés des substances suivantes d'unités de flavan reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (O'connel et Fox, 2001). En raison de leur complexation salivaires, les tanins condensés sont responsables de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité.

Les tanins condensés ne traversent pas la barriere intestinal, ils sont donc beaucoup moins taxique que les tanins hydrolysables (Virigini et al, 2003).

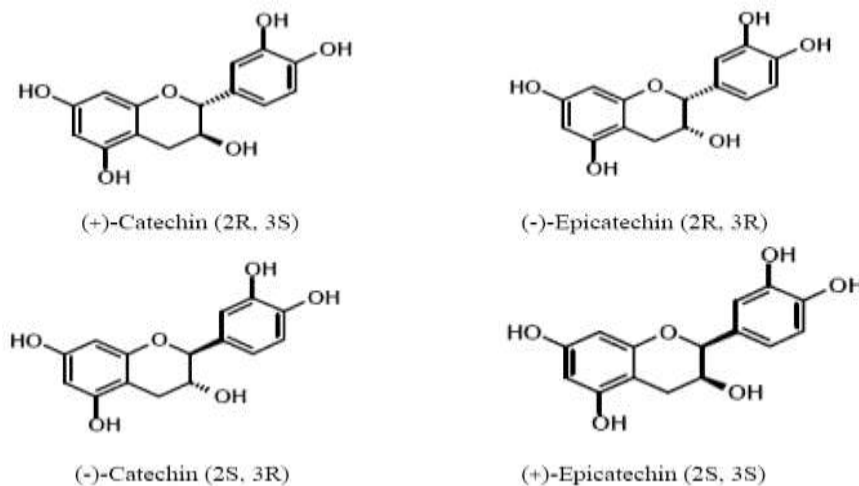


Figure12 : La structure des tanins condensés (Hagerman,2002)

3. Rôle et propriété des composés phénoliques

Les polyphénols ont un rôle reconnu maintenant dans différents aspects de l'utilisation :

3.1. Dans les aliments

Les effets bénéfiques des polyphénols ont fait l'objet d'une attention particulière dans deux domaines : phytothérapie et hygiène alimentaire (**Leog, 2002**). Les polyphénols sont aussi utilisés comme additifs dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique.

Dans l'industrie cosmétique, les compositions phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes pour la santé et la beauté de la peau.

3.2. chez l'homme

Les recherches sur les composés phénoliques en général et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, antiathérogène, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, antithrombotique, cardioprotective et vasodilatatrice (**Middleton et al, 2000 ; Ksouri et al, 2007**).

1. Historique

Origine d'Asie, le mot yaourt (yaghortouyagourt) venait de « yaghurmark », mot signifiant « épaisir » (TAMIN et DEETH, 1980).

D'après la découverte par Louis Pasteur de la fermentation lactique, De nombreux chercheurs s'intéressent aux microorganismes présents dans le lait. En 1902, RIS et KHOURY, deux médecins français ont isolé des bactéries présentes dans le lait fermenté Egyptien. Puis METCHINKOFF (1845-1916) a isolé des bulgarécus « a analysé l'acidification du caillé et a proposé une solution production sur et normale (ROUSSEAU, 2005).

Par la suite, de nombreux autres produits sont entrés sur le marché : le lait fermenté probiotique, lait fermenté de longévité (Pasteurisé, HUT, lyophilisé ou produits secs) et « agréables » (à boire, moussants ou glacés).

Traditionnellement, c'est le yaourt dit « nature ou pur » et ferme qui constituait l'essentiel des productions de lait fermentés. Entre 1960 et 1970, sont apparus les produits sucrés puis aromatisés et aux fruits. Actuellement, ils majoritairement dominent le marché. L'émergence de yaourt brassé est une autre étape importante du processus commerciale du lait fermenté.

En outre, le développement commercial des produits probiotiques sont importants et répondent aux besoins des consommateurs (BRULE, 2003).

2. Définition du yaourt et réglementation

Selon le **Codex Alimentarius**, le yaourt est un produit laitier coagulé résulte de la fermentation lactique par des bactéries lactique ; *Lactobacillus delbruekii* sous-espèce *bulgaricus* et *Streptococcus salivarius* sous-espèce *thermophilus* à partir du lait frais, ainsi que lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition (de lait en poudre, poudre de lait...) les microorganismes doivent être viables et abondants.

Les bactéries lactiques doivent êtreensemencées simultanément et trouvées vivants dans le produit à raison d'au moins 10^7 bactéries/g. (ANONYME, 2005).

Lors de la mise en consommation de yaourt, la quantité d'acide lactique libre contenue dans le yaourt ne doit pas inférieure à 0.8g pour 100g de produit (Mahaut et al., 2010).

Les critères pris en compte par le **Codex Alimentarius** et la F.I.L dans laréglementation du yaourt sont suivants :

- **Dénomination** : elle varie selon les langues, mais les termes les plus utilisés sont « youghurt », « yogurt » ou « yaourt ».

- **Le type de produit :** il est défini souvent en fonction de teneur en matière grasse ou de l'adjonction éventuelle d'ingrédients (Yoghourt partiellement écrémé ou maigre, yoghurt écrémé, yoghurt sucré et nature).
- **Le type de ferment utilisé :** La dénomination « yaourt » nécessite l'utilisation obligatoire des deux ferments caractéristiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (Luquet et Carrieu, 2005).
- **La quantité de ferment contenue dans le produit fini :** la FIL fixe la quantité de ferments vivants, égale à 10^7 bactéries par gramme apportés à la partie lactée jusqu'à la date limite de consommation.
- **La viabilité de flore lactique :** flore viable pendant toute la durée de vie.
- **Ingrédients laitiers :** Lait pasteurisé, congelé, écrémé, concentré, en poudre, crème et caséines..etc.
- **Ingrédients non laitiers :** une multitude d'ingrédients peut être incorporée dans le yaourt, Il peut s'agir par exemple de fruits sous différentes formes (purée, jus, pulpe, sirop..etc), de céréales, de légumes ou de sucre. La quantité d'ingrédients non laitiers est fixée par le **Codex Alimentarius**, la FIL et la plupart des pays à moins de 30% en poids du produit fini.
- **pH :** La FIL préconise une teneur de 0.7 % d'acide lactique. Cette valeur est respectée dans certains pays avec une variabilité de 0.6% à 15 %. Certaines normes imposent un pH inférieure à 4.5 ou 4.6.
- **Taux de matière grasse :** Il doit être minimum, inférieur à 3% dans le cas des yaourts (nature sucré ou aromatisé) compris entre 0.5 et 3% dans le cas des yaourts partiellement écrémés et 0.5% dans les yaourts écrémés.
- **Teneur en protéines :** elle est égale à 2.8% dans le produit fini (Luquet et Carrieu, 2005).
En fonction de la technologie de fabrication, les yaourts sont divisés en deux groupes :
- **Yaourt fermes :** dont la fermentation a lieu en pots, ce sont généralement des yaourts naturels ou aromatisés.
- **Yaourt brassés :** dont la fermentation a lieu en cuve avant le conditionnement. Ce sont généralement des yaourts brassés naturels ou aux fruits (Luquet et Carrieu, 2005).

3. Les types de yaourts :

Ils existent plusieurs types de yaourt qui diffèrent par leur composition chimique, leur technologie de fabrication ainsi que leur saveur. Le tableau suivant résume les différents types de yaourt.

Tableau IV : Différents types du yaourt et leur caractéristiques (Vignola, 2002)

Les différents types		Caractéristiques
Selon la teneur en matière grasse	• Yaourt entier	MG minimum 3%.
	• Yaourt partiellement écrémé	MG moins de 3% et plus de 0,5% .
	• Yaourt écrémé	MG maximale 0,5.
Selon la technologie de fabrication	• Yaourt étuvé ou ferme	Ce sont des yaourts nature ou aromatisés, qui ont une texture ferme à surface lisse incubé et refroidi en pot.
	• Yaourt brassé	Il présente une texture presque fluide. Amené à une consistance crémeuse après coagulation, incubé en cuve et refroidi avant le conditionnement
	• Yaourt à boire	Similaire au type brassé mais dont le coagulum est réduit à l'état liquide avant conditionnement
Selon les additifs alimentaires	• Yaourt aromatisé	Addition d'arôme.
	• Yaourt fruité	Addition de fruit.
	• yaourt light	Addition d'édulcorant sans sucre

4. Matières utilisées pour la production du yaourt :

a. Lait frais

La principale matière pour la fabrication des yaourts est le lait de vache. Il est constitué d'environ 88% d'eau et de 12% de matière sèche contenant des glucides, des protéines, des lipides et des minéraux (**Amellal-Chibane, 2008**)

Le lait est un produit de forte valeur nutritionnelle. C'est l'un des rares aliments à contenir une teneur équilibrée en nutriments de base (glucides, lipides et protides). C'est aussi l'un des rares à convenir à toutes les tranches d'âge (nourrissons, enfants, adolescents, adultes, personne âgées) qui le consomment tel quel à l'état liquide (lait frais) ou sous forme de produits dérivés (fromage, yaourt, crèmes glacées...etc). Avec une valeur énergétique de l'ordre de 700Kcal/l, le lait de plusieurs espèces animales constitue une source importante et relativement bon marché d'apport quotidien en acides aminés et acides gras essentiels ainsi qu'en calcium alimentaire. Le lait est aussi riche en d'autre sels minéraux (notamment phosphore et magnésium) et en vitamines du groupe B(B1, B2, B5 et B12) et en vitamine A.

Pour répondre à ces besoins, le lait bovin est le plus utilisé dans le monde et dans notre pays. Les espèces voisines (ovin, caprin, camelin) représentent un pourcentage de production relativement faibles, n'excédant pas 10%.

b. La poudre de lait

La poudre de lait constitué essentiellement de matière sèche du lait et d'une très faible quantité d'eau (de 2 à 5%), elle a l'avantage de pouvoir se stocker et se transporter aisément pour être utilisée via la recombinaison comme matière première pour la production de fromages, de laits fermentés, de crème glacées...etc.

Les poudres commercialisées sont en réalité de trois types, classées selon l'intensité du traitement de déshydratation (et le degré de dénaturation qu'il génère) opéré. Le degré de dénaturation est exprimé par l'indice d'azote protéique en milligrammes de protéines sériques non dénaturées par gramme de poudre considérée. Les poudres ayant été préparées avec un traitement thermique bas (LöwHerat, égal ou supérieur à 6) contiennent une faible quantité de protéines dénaturées et sont utilisées dans des produits où les propriétés de solubilité, de gélification et d'émulsion sont recherchées.

Il s'agit des poudres de meilleure qualité convenant aussi bien à la préparation du lait de consommation que celui destiné à la fromagerie ainsi qu'à la fortification du yaourt (**NOZINCK, 1982 ; MODLER, 1985**).

c. L'eau

L'eau est l'une des matières premières de tous les types des produits laitiers reconstitués et recombines. Elle doit être potable, de bonne qualité, dépourvue de microorganismes et d'un niveau de dureté acceptable (**Gosta, 1995**).

d. Les additifs

En outre, d'autres composés sont rajoutés au mélange afin d'améliorer les caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles ainsi que la consistance du produit fini. Ces composés comportent du sucre, arômes, épaississants, stabilisants,... (**Gosta, 1995**).

Dans le cas des yaourts brassés sans matière grasse, des agents de texture (épaississants ou gélifiants) sont souvent ajoutés. Ils améliorent l'apparence, la viscosité et la consistance des yaourts. Les additifs les plus fréquemment utilisés sont : la gélatine, les alginates, les celluloses, les amidons, et les pectines (**Amellal-Chibane, 2008**).

Les fruits dans les yaourts sont apportés sous forme de préparations de fruits avec ou sans sucres ajoutés. Les agents de texture, incorporés dans la préparation de fruits, participent également à l'amélioration de la texture des yaourts. Les fruits les plus consommés sont les fruits rouges et les fruits exotiques (**Vignola, 2002**).

e. Bactéries caractéristique du yaourt

Les deux bactéries utilisées dans la préparation de yaourt, ont pour rôle principale d'abaisser le pH du lait au point isoélectrique de la caséine (pH 4,6) de façon à former un gel. Outre le goût acidulé qu'elles donnent au gel, elles assurent une saveur caractéristique due à la production des composés aromatiques et à la production de polysaccharides (**Sodini et Beal, 2012**).

e. 1. *Lactobacillus bulgaricus*

Lactobacillus bulgaricus est un bacille Gram+, immobile, a sporulé, micro aérophile (**Doleyres, 2003**) et thermophile. Cette bactérie possède un mécanisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique à partir des hexoses. Sa température optimale de croissance est approximativement 42°C. Elle a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptique et hygiénique du yaourt (**Marty-Teyssset et Garel, 2000**).

e. 2. *Streptococcus thermophilus*

Le rôle principal de *St. thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique et en plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de sa texture dans les laits fermentés. Elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (**Bergamairer, 2002**).

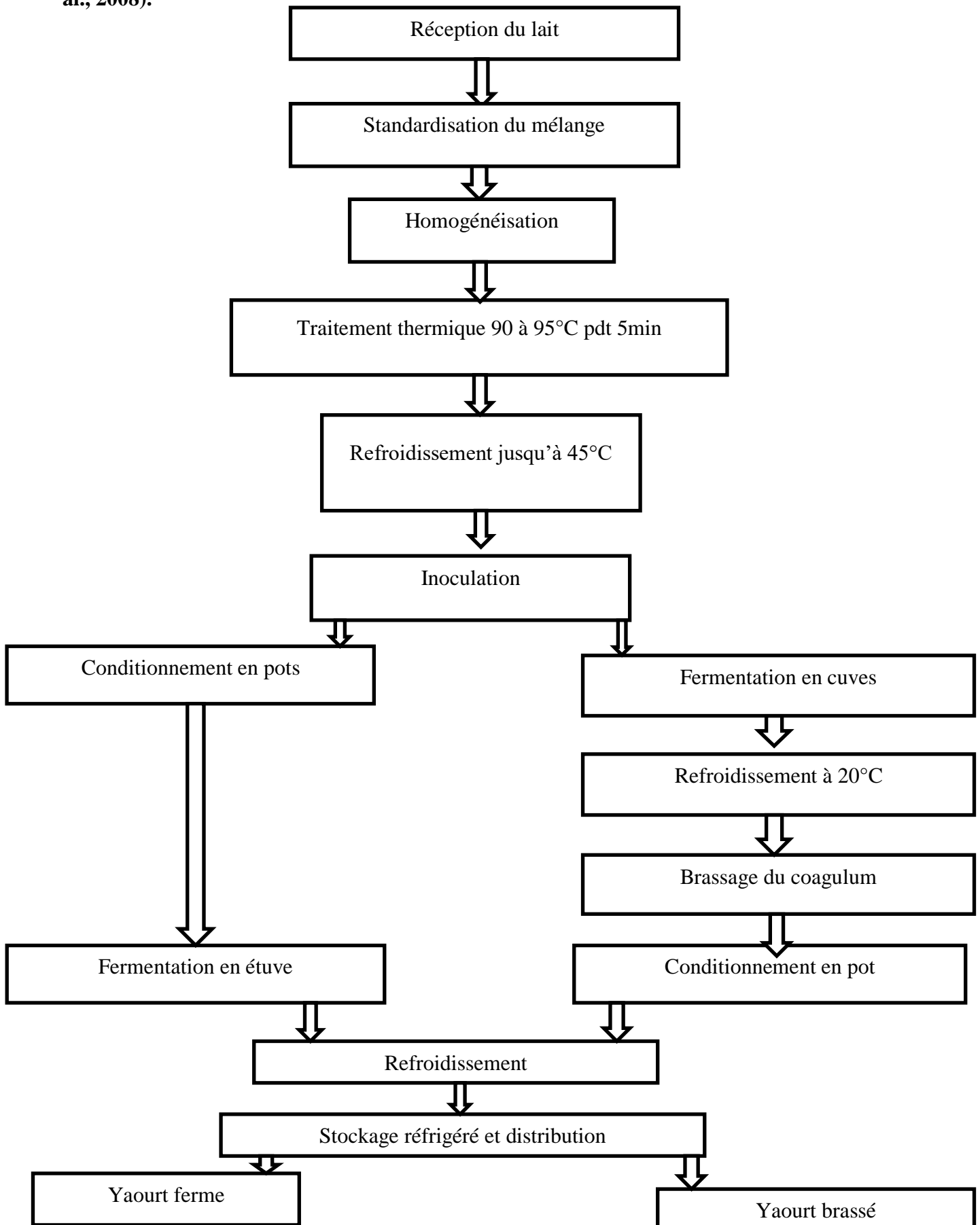
5. Processus de fabrication du yaourt

La fabrication du yaourt, même si elle est connue depuis des temps très lointains, demeure un procédé assez complexe et en perpétuelle évolution car, il intègre à chaque fois les connaissances et les progrès réalisés dans des domaines variés.

Les étapes de fabrication peuvent différer selon qu'on a affaire à un yaourt « étuvé » dont la fermentation se fait après conditionnement en pots et le yaourt « brassé », dont la fermentation se fait en cuve. Le coagulum obtenu dans ce dernier cas est brassé pour être rendu plus ou moins visqueux, puis conditionné en pots.

Le procédé de fabrication diffère d'un type de yaourt à un autre, et les principales étapes sont illustrées dans le diagramme suivant.

Diagramme 01:Diagramme général de fabrication du yaourt ferme et du yaourt brassé(Beal et al., 2008).



a. Réception du lait

Le lait destiné à la production de yaourt doit être d'une qualité bactériologique très élevée. Il doit avoir une faible teneur en bactéries et substances susceptibles d'empêcher le développement du levain du yaourt. Le lait ne doit pas contenir des antibiotiques et des bactériophages (**Sodini et Béal, 2012**). Il est primordial de mettre en place dès la réception du lait ou toutes autres matières premières, des méthodes et des procédures rapides et simples permettant de détecter les anomalies et les pertes possibles de contrôle (**Amellal-Chibane, 2008**).

b. Standardisation

Pour remédier aux variations naturelles de la composition, le lait est standardisé au taux de matière grasse désiré (écrémage total ou partiel) et peut être enrichi en extrait sec laitier par addition de la poudre de lait ou les protéines laitières ou addition d'autres ingrédients comme le sucre et les arômes. Et ceci, afin de répondre aux spécifications nutritionnelles et organoleptiques du produit (**Pernoud et al., 2005**) et aussi améliorer la qualité organoleptique du yaourt.

c. Homogénéisation

L'homogénéisation a principalement des effets sur deux composantes du lait soit, les matières grasses et les protéines :

- **Effet sur la matière grasse** : l'homogénéisation réduit la taille des globules gras et empêche la séparation entre le gras et le reste du mélange évitant ainsi la remontée de la crème à la surface durant la fermentation (**Lamontagne, 2002**).
- **Effet sur les protéines** : cette opération augmente également la viscosité du lait et par conséquent, celle du yaourt en lui conférant une meilleure stabilité des protéines et réduisant l'exsudation du sérum lors du stockage.

Enfin, l'homogénéisation confère un aspect plus blanc au produit fini (**Pernoud et al., 2005**). Pour des raisons hygiéniques et pour éviter une recontamination du lait, l'étape d'homogénéisation est généralement positionnée avant le traitement thermique du mix ou au cours de sa montée en température vers 64°-70°C (**Lamontagne, 2002; Sodini et Béal, 2012**).

d. Traitement thermique

Une fois la préparation du lait terminée, celui-ci est soumise à un traitement thermique de pasteurisation (90°C à 95°C pendant 3 à 5 min). Ce traitement permet de :

Créer des conditions favorables au développement des bactéries lactiques, Détruire les bactéries pathogènes et indésirables, et inactiver les inhibiteurs de croissance (**PaciKora, 2004 ; Jeantet et al., 2008**). Le traitement thermique a également un effet sur la conformation tridimensionnelle des protéines, induisant la modification de leurs propriétés fonctionnelles.

Il dénature la majorité des protéines du lactosérum (85%) qui se fixent ainsi sur les molécules de caséines. En fin, il modifie les équilibres salins, en entraînant une augmentation de la taille des micelles de caséines, de leur stabilité et de la qualité de l'eau liée (**Mahaut et al.,**

e. Fermentation lactique

Le lait, enrichi et traité thermiquement, est refroidi à la température de fermentation 40-45°C. Cette température correspond à l'optimum de développement symbiotique des bactéries lactiques (Loones, 1994). Leur inoculation se fait à un taux assez élevé, variant de 1 à 7%, pour un ensemencement indirect à partir d'un levain avec un ratio *Streptococcus thermophilus*/*Lactobacillus bulgaricus* de 1,2 à 2 pour les yaourts naturels, et pouvant atteindre 10 pour les yaourts aux fruits (**Mahaut et al., 2000**).

L'ensemencement direct à partir de bactéries lactiques concentrées congelées se fait à des taux de l'ordre de 0,03%. Une bonne agitation est nécessaire pour rendre parfaitement homogène le mélange lait/ferment. Le lait ainsi ensemencé est amené à une température généralement voisine de 45°C par un passage à travers des réchauffeurs à plaques. La température optimale de développement du **streptocoque est** de 42-45°C, celle du lactobacille de 47-50°C. Selon les régions, les consommateurs préfèrent des yaourts plus ou moins acides et plus ou moins aromatique. Les caractères recherchés dépendent des souches utilisées et de la température d'incubation. L'abaissement de celle-ci de 1 à 3°C (42-44°C), favorise le développement du streptocoque et donc la production d'arômes. L'augmentation légère (45-46°C), favorise le lactobacille donc la production d'acides (**Enkelejda, 2004**).

f. Conditionnement et stockage

L'ajout éventuel des fruits intervient avant le conditionnement. Enfin, les yaourts, conditionnés dans des pots en verre ou en plastique, sont stockés en chambre froide à 4°C. A ce stade, ils sont prêts à être consommés. La durée limite de leur consommation est de 28 jours (**Paci kora, 2004; Luquet et Carrieu, 2005**).

Pendant le stockage, les bactéries lactiques maintiennent une activité réduite. Cette évolution, appelée post-acidification, se traduit par une légère baisse du pH, surtout pendant les 2 premiers jours de stockage (Amellal-Chibane, 2008).

6. Caractérisation du yaourt

a. Paramètres physico-chimiques

a. 1. pH et taux d'acide lactique

La Fédération Internationale du Lait (F.I.L), préconise une teneur de 0,7% d'acide lactique. Cette valeur est respectée dans certains pays avec une variabilité allant de 0,6 à 1,5%. Certaines normes imposent un pH inférieur à 4,5 ou 4,6 (Luquet et Carrieu, 2005).

La réglementation Algérienne exige que, lors de la mise en consommation, la quantité d'acide lactique libre contenu dans le yaourt ne doit pas être inférieure à 0,8g pour 100g de produit. Selon l'article (02) de l'arrêté interministériel du 07 Octobre 1998, qui apprécie les spécifications techniques des yaourts (JORA, n° 86).

a. 2. Taux de matière grasse (MG)

Il doit être au minimum inférieur à 3% (m/m) dans le cas des yaourts (nature, sucré ou aromatisé), compris entre 0,5 et 3% dans le cas des yaourts partiellement écrémés et 0,5% dans les yaourts écrémés (Ozer et al., 1998).

a. 3. Extrait sec total (EST)

La matière sèche est la fraction massique des substances restantes après dessiccation complète de l'échantillon. Elle est exprimée en pourcentage ou en g/l (Nongonierma et al., 2006).

a. 4. Paramètres microbiologiques

Selon la norme nationale de 1998 ; n°35 parue au journal officiel, les yaourts ne doivent contenir aucun germe pathogène. Le traitement thermique appliqué sur le lait avant la fabrication du yaourt est suffisant pour détruire les microorganismes non sporulés pathogènes ou non. Leur présence dans le yaourt ne peut être que de manière accidentelle, le pH acide du yaourt le rend hostile aux germes indésirables.

Tableau V: Critères microbiologiques du yaourt (J.O.R.A, 1998).

Yaourt	N	C	M
<i>Coliformes totaux</i>	5		10
<i>Coliformes fécaux</i>	5	2	1
<i>St.aureus</i>	5	2	10
<i>Levure</i>	5	2	$\leq 10^2$
<i>Moisissures</i>	5	0	Absence
<i>Salmonelle</i>	5	0	Absence

N : Nombre d'unités composant l'échantillon. **C** : Nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre **m** et **M**. **m**: Le seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante. **M**: Seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique. **M** = 10m : lors du dénombrement effectué en milieu solide. **M** = 30m : lors du dénombrement effectué en milieu liquides.

7. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques

Les produits laitiers fermentés sont largement consommés et présentent des caractéristiques nutritionnelles et probiotiques bien spécifiques (Serra et al., 2009 ; Sodini et Béal, 2012)

a. Intérêts nutritionnels

Un pot de yaourt nature possède la même valeur nutritive qu'un verre de lait (Jeantet et al., 2008). Au cours de la fermentation, la composition du lait subit un certain nombre de modification, dont certaines font que le produit soit de meilleure valeur nutritionnelle et thérapeutique (Serra et al., 2009 ; Sodini et Beal, 2012) à savoir:

- **Amélioration de l'absorption du lactose** : La présence des bactéries vivantes dans le yaourt permet une meilleure assimilation du lactose chez les personnes déficientes en lactase (Jeantet et al., 2008)

- **Amélioration de la digestibilité de la matière grasse** : Bien que l'activité lipolytique soit faible, une augmentation significative en acides gras libres dans un yaourt est constatée (Jeantet et al., 2008).

- **Amélioration de la digestibilité des protéines** : Le yaourt est deux fois plus digeste que le lait et contient deux fois plus d'acides aminés libres. Cette propriété résulte du traitement thermique et de l'activité protéolytique des bactéries (Jeantet et al., 2008).

b. Effets thérapeutiques

b. 1 .L'activité anti microbienne

Le yaourt joue un rôle important dans la prévention contre les infections gastrointestinales, son intérêt dans le traitement contre les diarrhées infantiles, a été démontré par (Lucas et al., 2004). Les bactéries du yaourt produisent des substances antimicrobiennes et des probiotiques (Jeantet et al., 2008). Leur pouvoir antagoniste résulte aussi de la production du peroxyde d'hydrogène et de bactériocines, limitant la croissance de certains germes pathogènes (Tabak et Bensoltane, 2011).

b. 2 .Activité anti carcinogène

Les bactéries modifient les enzymes bactériennes à l'origine de carcinogène (indicateur de cancer) dans le tube digestif, inhibant ainsi la formation des substances précancéreuses (Jeantet et al., 2008).

b. 3. Activité anti-cholestérolémies

La consommation de yaourt permet de prévenir les maladies coronariennes et serait plus efficace que le lait, pour maintenir une cholestérolémie basse (**Jeantet et al., 2008**).

*Partie II : Partie
Expérimentale*

1. Matériels

a. Site et conditions d'échantillonnage :

Le matériel végétale utilisé est composé d'écorce de grenade (*Punica granatum*). Les fruits de grenade ont été récoltés le mois de Décembre 2020 à la région de Sidi Khaled de la wilaya de Sidi Bel Abbès, située dans le nord-ouest de l'Algérie, elle est située au carrefour de quatre grandes villes (Oran, Tlemcen, Mascara et Ain Témouchent).



Figure13 : Carte géographique de la zone Sidi Khaled- SBA

Les écorces ont été récupérées, puis nettoyées et séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité durant 4 mois. Le séchage étant le moyen de conservation simple, sa durée dépend de la teneur en eau dans le végétal, ainsi que la température ambiante.

Par la suite, sécher l'écorce dans l'étuve pendant 4 jours à une température stable de 40°C. Et puis mettre cette partie de plante broyée à l'aide d'un mortier, puis passer dans un Moulinex afin d'obtenir une poudre fine qui doit être recueillie par un tamisage à 1mm. La poudre obtenue est conservée dans une boîte hermétiquement fermée jusqu'au jour de son utilisation pour empêcher l'oxydation. Les précautions prises visent à réduire les divers mécanismes de dégradation relatifs aux caractères organiques de ses matières premières (Ferrari, 2002).



Figures 14 : L'échantillon avant séchage



Figures 15 : l'échantillon après séchage



Figure 16 : l'échantillon au court de broyage

Figure 17 : l'échantillon en poudre

b. Produits chimiques utilisés

- **Etude biochimique** : Ethanol, Méthanol, Acétone, Acide gallique (AG), carbonate de sodium (Na_2CO_3), acide ascorbique, Folin –Ciocalteu (FCR), vanilline, Nitrite de sodium (NaNO_2), Chlorure d'aluminium (AlCl_3), Chlorure de fer (FeCl_3), Acide chlorhydrique (HCl), Hydroxy de potassium (NaOH), DPPH (Diphénylpicryl-hydrazyle).
- **Etude microbiologique** : Ferment lactique (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*), eau physiologique, Gélose de Man, Rogosa, Sharpe (MRS), phénolphtaléine, NaOH préparée à 1/9 N.

c. Appareillage :

Les appareillages utilisés dans cette étude sont : Balance de précision (Sartorius), Etuve (Mammert), agitateur magnétique (Tacussel), rota vapeur (Heidolph), Bain marie (Mammert), Spectrophotométrie U.V visible (Optizan), Vortex (Heidolph), pH metre (Hanna), Autoclave, four pasture, beck benzene.

2. Méthodes

a. preparation des extraits

L'extraction se fait par trois solvants organiques. la méthodes se fait sur la poudre d'écorces de grenade, correspond à une macération à froid, suivie par une évaporation.

b. Extraction par macération

Extraction réalisé par la poudre de l'écorce de grenade (15g) dans 150ml de solvant à polarité croissante (Méthanole80%, Ethanol 70% et Acétone), s'est une extraction alcoolique solide—liquide. Ensuite on agit pendant 24h à l'aide d'un agitateur . Après la macération les solutions obtenu sont filtrées à l'aide d'un entonnoir et papier Whatman n°1, Puis le solvant a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif (rota vapeur) à une température ambiante 40°C (éliminer le solvant et concentrer l'extrait), afin d'obtenir un extrait sec (extrait méthanolique, extrait ethanolique et extrait acétonique).



Figure 18 : macération



Figure 19 : Filtration

**Figures20** : solutions après filtration**Figeur21** : Evaporation rotatif**Figeur22:** Les extraits secs

c. Calcule de rendement des extraits

Le rendement de l'extrait exprime en pourcentage est calculé d'après la formule suivante :

$$R(\%) = (P1-P2/P3)*100$$

P1 : pois de l'extrait (g) .

P3 : pois de matière sèche (g).

P2 :Pois de tare à vide (g).

R% : rendement en pourcentage

3. Dosage des composés phénoliques

a. Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux de l'extrait est déterminé par l'utilisation de réactif de Folin-Ciocaltu qui décrit par la méthode de **Singleton et al,1999**.

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupement hydroxyles présents dans l'extrait.

• Protocole expérimental :

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (**Singleton et Ros, 1965**), en y apport quelque modification ;

- Dans un tube à essai, 200ul de chaque extrait a été mélangé avec 1ml de réactif de folin-Ciocalteu dilué 10 fois.
- Puis, on ajoute 0.8ml de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) 7.5% .
- Les tubes sont agités et maintenus à l'obscurité pendant 30 min à température du laboratoire.
- L'absorbance été mesurée à 765nm conte le blond(l'eau distillé).

Les polyphénols sont quantifiés par une courbe d'étalonnage préparée à partir de différente concentration d'acide gallique utilisé comme standard.

Les résultats sont exprimés en équivalent acide gallique par rapport à la matièresèche (Mg EAG/g).

b. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été déterminés, selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), de (**leucoanthocyaneBruneton, 1993**).

- Dans un tube on ajoute 0.15ml de chaque extraits a été mélanger avec 2ml d'eau distille.
- Puis on ajoute 0.15ml de nitrate de sodium (NaNO_2) à 5%.
- Après 5 min , 0.15ml de trichlorure aluminium(AlCl_3) à 10% sont ajoutés .
- Après 6 min 2ml de (NaOH) à 4% a été ajoutés
- on complété par 0.2ml de l'eau distillé pour avoir le volume finale de 5ml.
- Les tubes sont maintenus à l'obscurité pendant 15 min à température du laboratoire.
- L'absorbance a été mesurée à 510 nm contre le blanc (eau distillé).

Les flavonoïdes sont quantifiés par une courbe d'étalonnage de catéchine,
Les résultats sont exprimés en (mg EC/g).

c. Dosage des tanins totaux

c. 1. Tanins hydrolysables

La méthode de **Taup (de Grain de beauté) et le Batelier, (1987)** a été basée sur une réaction avec le chlorure ferrique. Le mélange d'extrait tannique avec le réactif de chlorure ferrique aboutit à la formation de complexe coloré pourpre avec Fe^{3+} la formation d'ions (**le Diminuer-forgeron, 1973**).

$FeCl_3$ permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noirs en présence de tanins gallique et ou brun verdâtre en présence de tanin catchique, (**Rizk, 1982**).

- Solution de 0.01 M $FeCl_3$ + 0.001M de HCl (v/v), on ajoute 3.5ml de réactif
- On ajoute 0.5ml d'extrait, après 15 sec, lisez l'absorbance à 660nm .les tanins hydrolysable ont exprimés par la relation :

$$T\% = \frac{DO(M.V/E \text{ moles } P)}{300}$$

T% : pourcentage de tanins hydrolysable

DO : densité optique

E moles : 2169 d'acide gallique

M : 300 d'acide gallique

V : volume d'extrait utilisé

P : poids d'échantillon

c. 2. Tanins condensés

Les tanins sont difficilement solubles dans l'eau froide mais solubles dans l'eau chaude, et dans les alcools et l'acétone, insoluble dans les solvants non polaire (éther). Leur solubilité selon leur degré de polymérisation.

- Dans un tube on ajoute 50ul d'extrait avec 1.5ml de solution méthanol vanilline de 4%
- Après 0.75ml de HCl concentré a été ajouté au mélange, puis agiter de nouveau.

L'absorbance a été mesurée à 500nm après incubation de 20min. la courbe d'étalonnage a été préparée dans les mêmes conditions en utilisant la catéchine. Exprimés en (mg EC/g).

4. Evaluation de l'activité antioxydant

L'activité anti-radicalaire des composés phénoliques contenu dans l'extrait préparé piégeant les radicaux libres en les mesurant DPPH (2,2'- diphénul-1- pyrrole hydrazine). Lorsqu'il est restauré (capturé, son violet foncé devient jaune produits testés) (Zaghad, 2009).

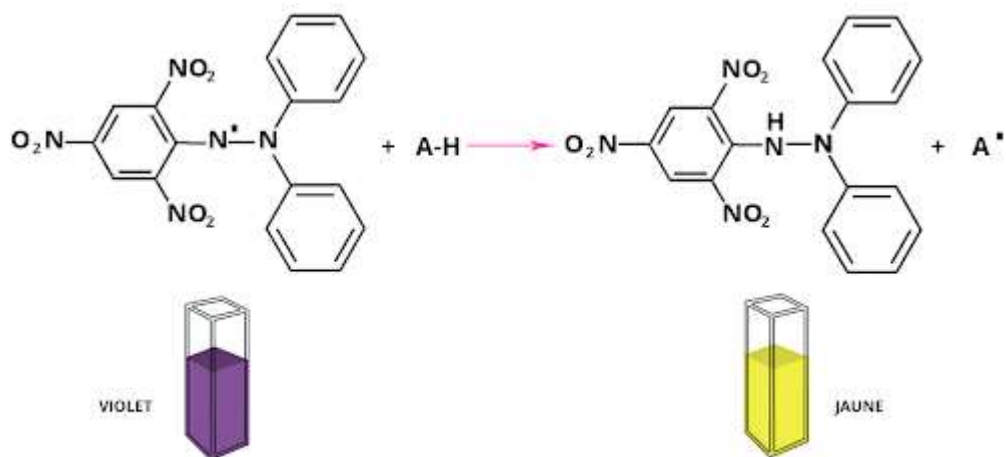


Figure 23 : Réaction d'un antioxydant avec le radicale DPPH

- **Protocole expérimentale**

- 50ul de la solution méthanoïque de chaque extraits à une concentration de 3mg/ml et 1950ul de la solution méthanoïque de DPPH (0.00125%).
- Après incubation de 30 min à la température de laboratoire, L'absorbance a été mesuré à 515 nm contre un témoin négatif (méthanol).

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à l'acide ascorbique comme antioxydant standard, le pourcentage d'inhibition (PI) est estimé selon la formule suivant :

$$PI = [(A \text{ blanc} - A \text{ échantillon} / A \text{ échantillon}] * 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition.

A blanc : Absorbance du blanc (Témoin négatif).

A échantillon : Absorbance de l'extrait.

5. Essai de fabrication de yaourt enrichi d'extrait d'écorce de grenade (*Punicagranatum*)

a. Protocole expérimentale

Le lait utilisé pour produire du yaourt est un lait pasteurisé produit par le département GIPLAIT à Sidi Bel Abbes. Les extraits purs de grenade avec différents solvants polaires sont ajoutés au cours du processus de fabrication du yaourt étuvé (Mettre directement dans le lait pasteurisé pour refroidir et maintenir au chaud à 45°C). à des taux variables de 0, 2, 4 et 6%, respectivement.

Puis les échantillons de lait riches en extraits des écorces de grenade sont ensemencés par des souches spécifiques de yaourt avec 3% de levains et un rapport de 1g/l de ferment lactique « *Streptococcus thermophilus* (St) et *Lactobacillus bulgaricus* (Lb) », n'ajoutant aucun additif aux produits transformés (Pas de saccharose, pas de parfum ou d'autres additifs).

La concentration de chaque extrait étudié est présentée par le nombre de trois répliques un pot d'une contenance de 100ml de produit fini soit un total de 12 échantillons expérimentaux.

b. Préparation des levains

Un litre de lait destiné à la préparation du ferment a été préparé à un taux de 135g/l de poudre de lait « écrémé », pasteurisé à 100°C pendant 2 min, puis refroidi à 45°C.

Ce lait a été ensemencé avec 1g de souche lactique (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*) et étuvé à 45°C pendant 1 heure.

Ce levain sera incorporé dans les laits destinés à la fabrication des yaourts à un taux de 3% (3ml de levain dans 100ml de lait pasteurisé enrichi d'extrait d'écorce de grenade et maintenu durant environ 3 heures à 45°C).

c. Technologie de fabrication de yaourt

Le lait utilisé dans l'étude est un lait de vache pasteurisé conservé au froid à 4°C. Après un léger chauffage à 45°C, à des prises de (03*100ml) d'échantillons de lait maintenus à cette température, sont additionnés chaque extrait de l'écorce de grenade obtenu selon le type de solvant utilisé (Ethanol) lors de l'extraction à raison de 0, 2, 4 et 6% respectivement.

Les échantillons ont enfin, ensemencés à raison de 3% du levain lactique préparé. Les pots des différentes préparations sont par la suite recouverts par du papier aluminium pour être destinés à la fermentation pendant 4 heures dans un bain marie réglée à 45°C.

Au terme de la fermentation les produits expérimentaux une fois caillés, sont conservés au froid positif à 4°C dans un réfrigérateur pendant une période de conservation de 21 jours.

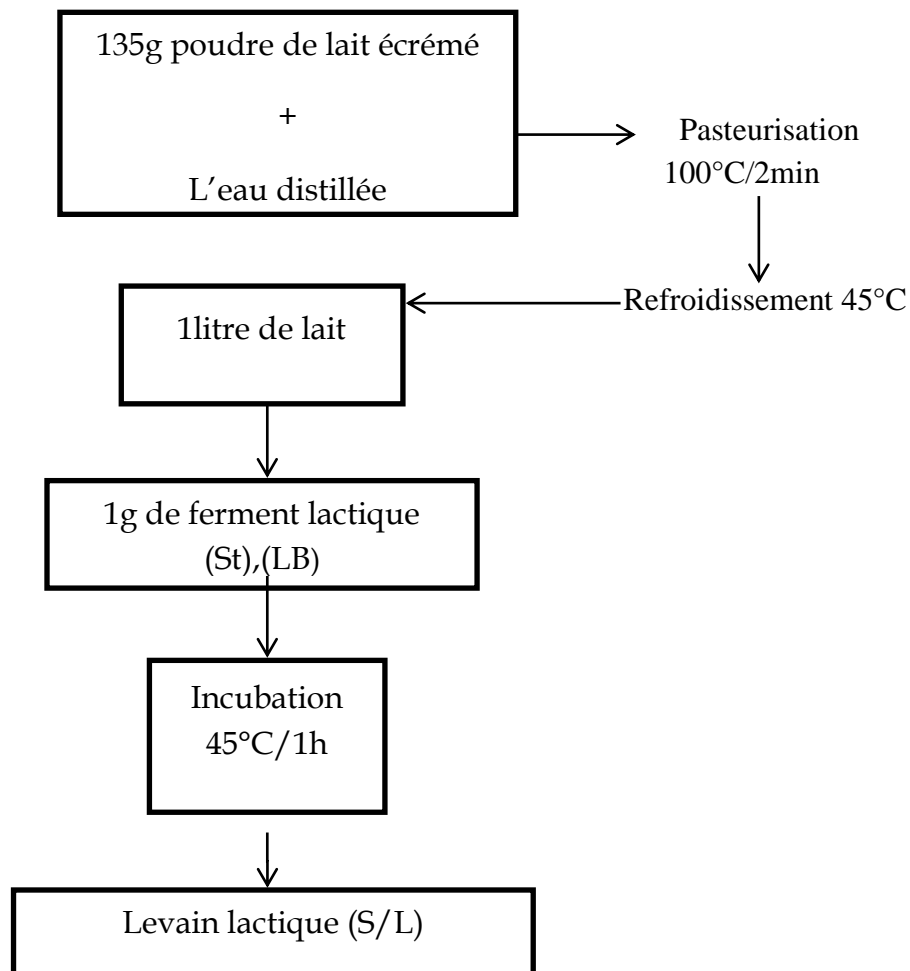


Diagramme02 :Préparation des levains lactique

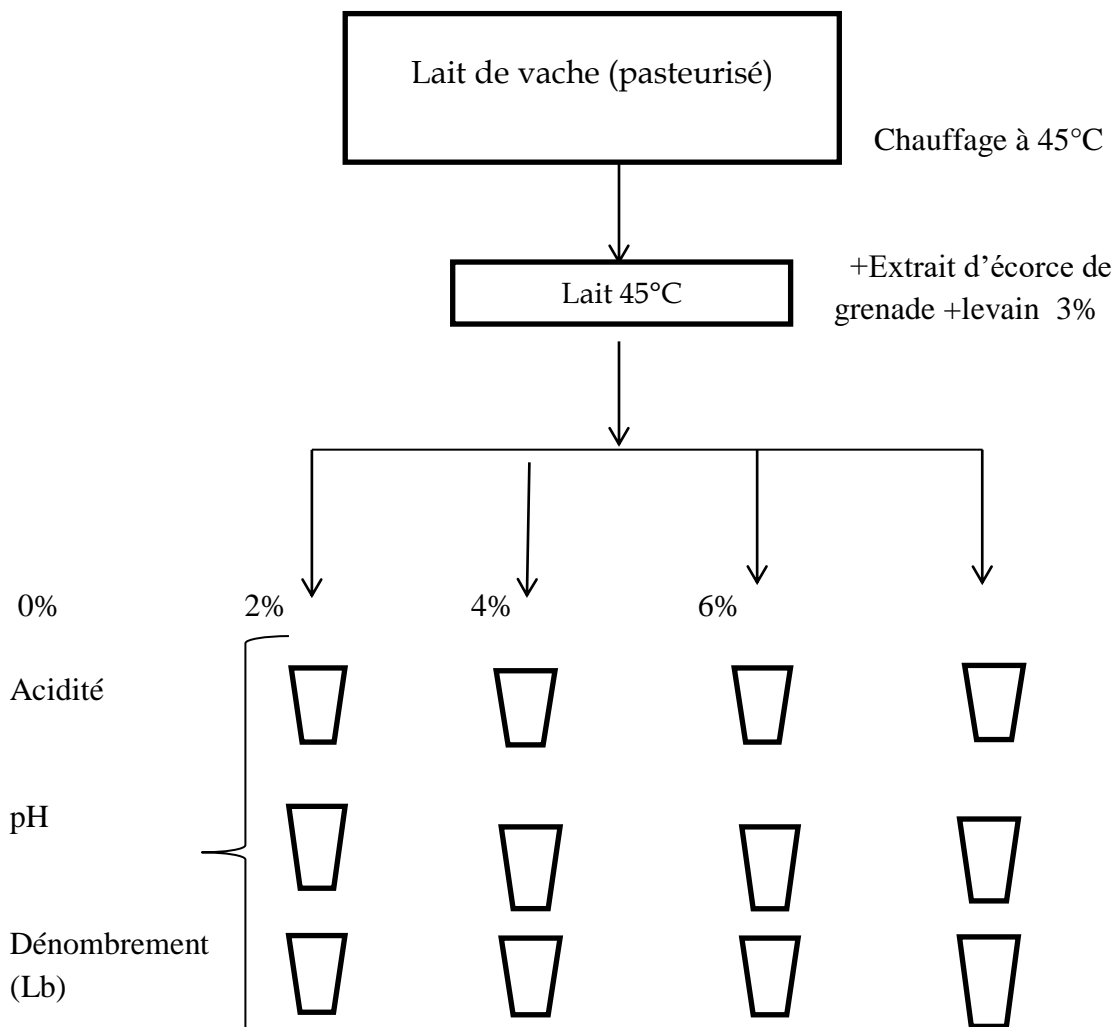


Diagramme 03 : Technologie de fabrication de yaourt

6. Mesure et contrôle sur le yaourt

Les analyses expérimentales seront réalisées en doubles essais, dans chaque pot de yaourt et pour chaque traitement effectué.

a. paramètres physicochimiques

a. 1. Acidité

L'acidité sera déterminée d'une façon précise par titration de 10ml d'une prise de yaourt à l'aide d'une soude caustique NaON préparés à 1/9 N en présence de 3 à 4 gouttes de phénophtaléine.

a. 2. pH

Le dosage du pH est réalisé par un pH-mètre étalonné par deux solutions : l'une acide et l'autre basique.

b. Analyse Microbiologique

- *Lactobacillus bulgaricus* : Le dénombrement des germes sera effectué par culture d'une prise de dilution sur un milieu de culture sélectif « MRS » incubé à 37°C pendant 48h.

1. Etude physicochimique

a. Extraction des polyphénols totaux

a. 1. Le rendement

Les antioxydants végétaux sont extraits de matières première avec des solvants organiques tels que l'éthanol, le méthanol, l'acétone et l'éther méthylique.

L'éthanol est un extracteur efficace pour les gros grammes de polyphénols, donc c'est un solvant courant à l'échelle du laboratoire et à l'échelle industrielle. (Wang et al, 2004).

Après l'extraction et récupération, différents extraits sont obtenus séquentiellement. Il se présente sous forme d'extrait d'éthanol, extrait de méthanol, et extrait d'acétone .Le rendement, la couleur, et l'aspect physique de chaque extrait présent dans le tableau 06. Le rendement (%) est déterminé par rapport à 15g de broyat.

Tableau VI : Rendement, aspect et couleur des divers extraits à partir des écorces de grenade *Punica granatum L.*

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement(%)
Ethanol	Caramel	Marron foncé	48.34%
Méthanol	Caramel	Marron	34.23%
Acétone	Caramel	Marron caramel	15.06%

Le rendement fait référence à la qualité de l'extrait, exprimé en pourcentage par rapport à 15g de matière sèche, Selon le rendement de l'extrait obtenu à partir de l'écorce de *Punicigranatima.L* varie entre 48.34% et 15.06%. L'extrait d'éthanol est présent rendement élevé, c'est-à-dire par rapport au poids du broyat, le rapport de DM est d'environ 48.34% (15g), suivi de l'extrait méthanolique à raison de 34.23% MS. mais le rendement de l'extrait acétonique est plus faible environ 15.06%

D'après certain étude (tableau 07) cette méthode d'extraction très efficace dans l'extraction des antioxydants de l'écorce de grenade (Kanoun et al .2014), notent que pour le solvant organique (L'éthanol à 70%), le rendement d'extraction des écorces de grenade est l'ordre de 3.7% qui est inférieur à nos résultats. Le rendement est variable malgré que la technique d'extraction soit la même : dépend plusieurs paramètres tels que le séchage, le broyage, la polarité des solvants et la nature des composés à extraire le temps d'extraction et la qualité de solvant, la méthode est les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Bourgou, 2016).

Tableau VII : Rendement en extrait de l'écorce de grenade de certaines études

Travaux	Solvant	Rendement
(Okonogi et al, 2007)	Ethanol	6.21%
(Sultana et al, 2008)	Méthanol 80%	29.9%
(Iqbal et al, 2008)	Méthanol	29%
	Acétone	17%
	Ethanol	21%
(Li et al, 2006)	Mélange de solvant	31.5%

a. 2. Teneur en polyphénols totaux

Le teneur en polyphénols totaux des différents extraits de l'écorce de grenade (*Punica granatum.L*), mesuré par spectrophotométrie par la méthode de Folinciocalteu (Singleton et al, 1956) en utilisant la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (mgEAG/g).

La principale raison du choix des polyphénols totaux est leurs propriétés antioxydants (Haleng et al, 2004).

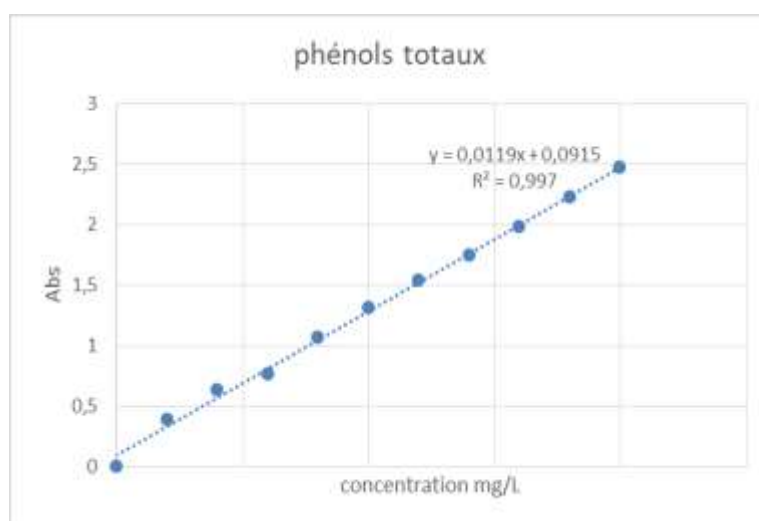


Figure24 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Le résultat de la détermination des polyphénols totaux montre la richesse de l'extrait éthanolique en composés phénoliques totaux est estimée à 0.245 ± 0.002 (mg EAG/g), puis l'extrait méthanolique montré un contenu faible, suivie de l'extrait acétonique, soit des teneurs de l'ordre de $(0.169 \pm 0.077$ mg EAG/g) et $(0.165 \pm 0.119$ mg EAG/g).

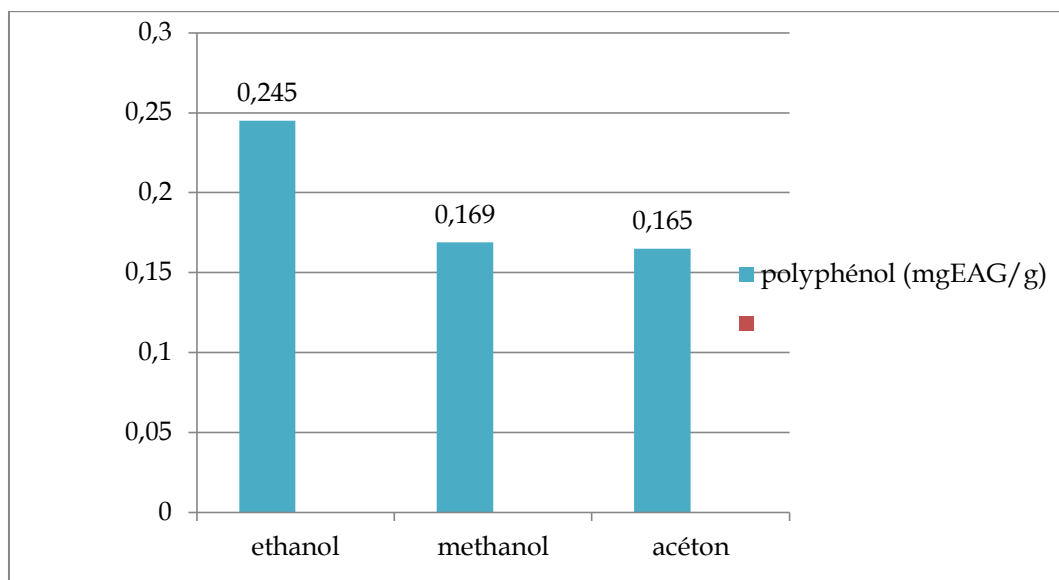


Figure25: Teneurs en polyphénols totaux des extraits de l'écorce de *Punica granatum L.*

L'étude réalisée par (Shibent et al, 2012) indiquent une teneur en polyphénols totaux de $(274 \pm 17$ mg EAG/g) dans l'extrait méthanolique 80% des écorces de *p.granatum*. Une autre étude faite sur l'écorce de grenade en utilisant l'extrait éthanolique à 70%, donne une quantité importante en polyphénols totaux égale à 301.77 mg EAG/g (Archene et Bratati, 2014) qui sont très élevées que nos résultats.

D'après la bibliographie, plusieurs facteurs influent sur le teneur en composés phénoliques. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques tels que les facteurs climatiques et les facteurs génétiques, mis malgré le degré de maturation du plant et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (Fiorucci, 2006)

a. 3. Teneurs en flavonoïdes

On a choisi cette classe de polyphénols parce que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés (Gomez_Caravaca et al, 2006).

Le dosage spectrophotométrique de flavonoïdes a été réalisé par la méthode d' $AlCl_3$, en utilisant la quercétine comme étalon.

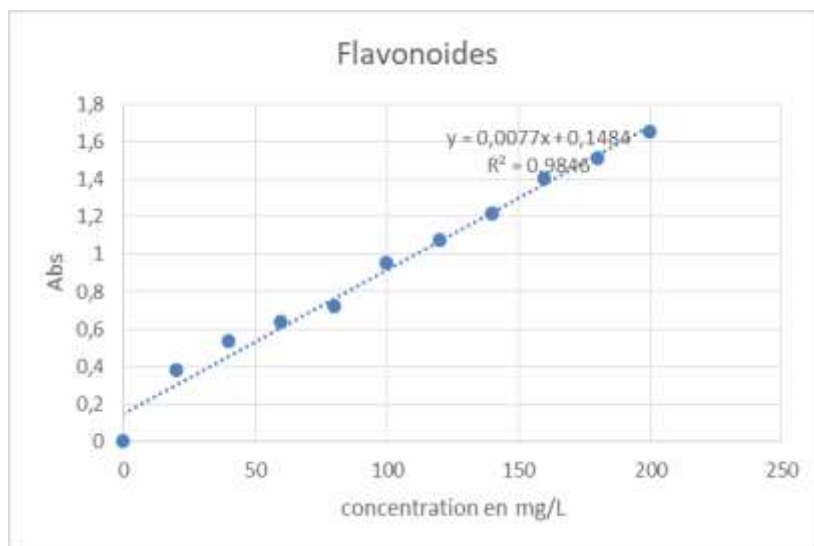


Figure 26 : courbe d'étalonnage de quercétine

D'après les résultats obtenus (figure 27), montrent que l'extrait éthanolique présente une teneur élevée ($0,893 \pm 0,266 \text{ mgEAG/g}$) suivie par l'extrait méthanolique ($0,720 \pm 0,026 \text{ mgEAG/g}$) par rapport à l'extrait acétonique qui est faible ($0,559 \pm 0,029 \text{ mgEAG/g}$).

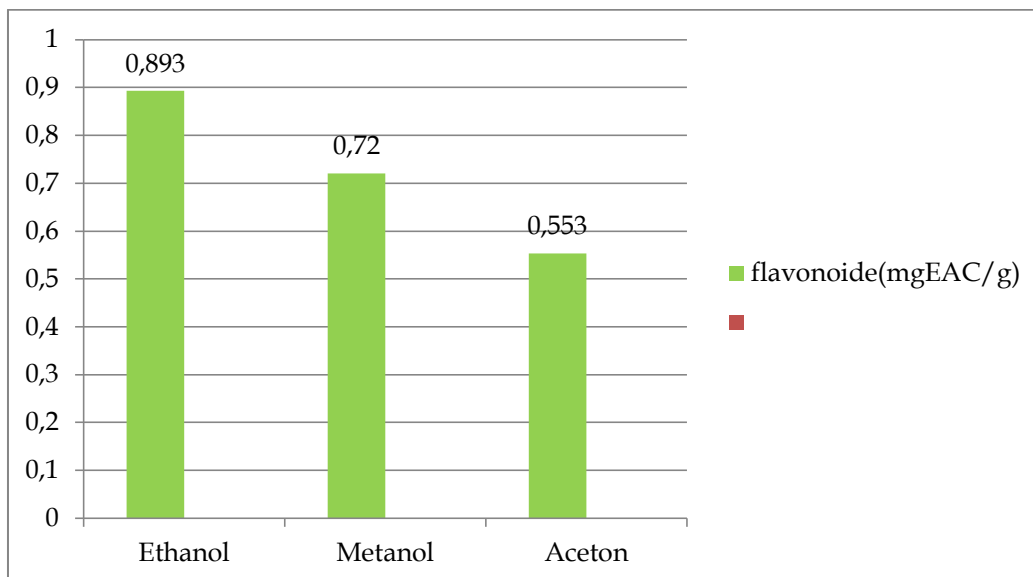


Figure 27: teneurs en flavonoïdes des extraits de grenade *P. granatum*

Nos résultats sont importante comparativement à ceux trouvés par **Jinnawt et al (2012)**, qui marque que l'extrait éthanolique des écorces de *P. granatum* contient une quantité de flavonoïde de $38.44 \pm 1.44 \mu\text{gEQ/mg}$, d'après **CAM et HISIL (2010)** l'extrait méthanolique à un teneur de (18.1 mgEQ/g) qui est supérieure à notre extrait.

Dans les écorces de grenade, des taux de ($56.4 \pm 2.7 \text{ mg ER/g}$) et (30.37 mg EQ/g) ont été enregistrés respectivement par l'étude de (**Shiban et al, 2012 ; Bendjabbour, 2012**).

a. 4. Teneurs en tanins hydrolysables et tanins condensés

Le dosage des tanins hydrolysables à été réalisés selon la méthode de chlorure ferrique, avec l'acide gallique qui est utilisé comme étalon, les résultats obtenus sont présentés dans la (figur28) , A partir de courbe d'étalonnage , l'extrait étanolique a un teneur en tanins hydrolysable élevée de ($0.273 \pm 0.012 \text{ mgEAG/g}$) suivie par l'extrait méthanolique qui est proche de celle de l'extrait acétonique ($0.111 \pm 0.026 \text{ mg EAG/g}$) et ($0.102 \pm 0.019 \text{ mg EAG/g}$).

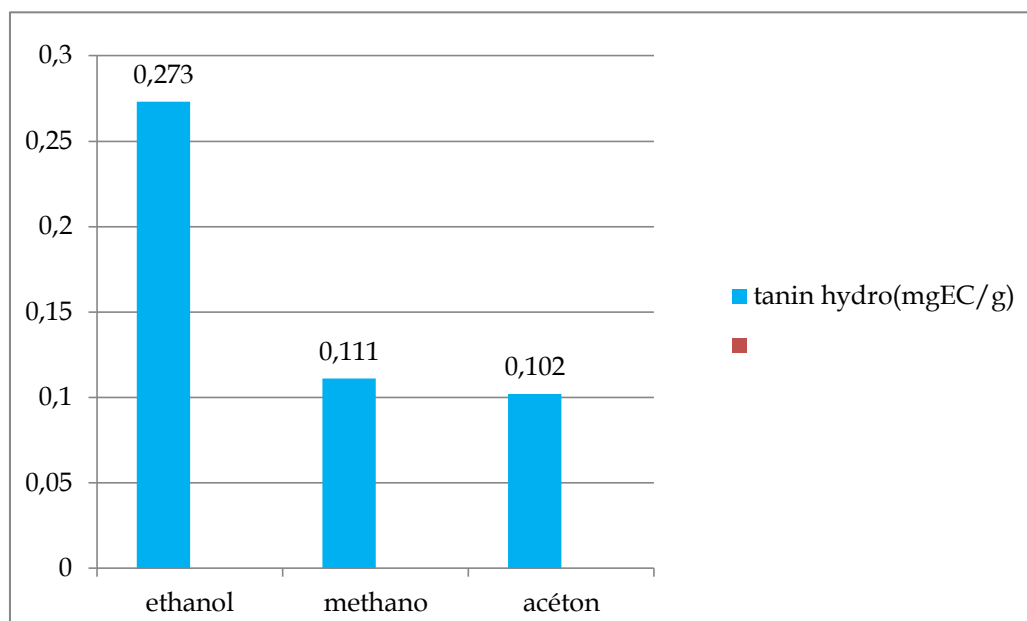


Figure28 : teneurs en tanins hydrolysables *dep.granatum*

L'étude réalisée par **ELFALLEH et al (2012)** montré que l'extrait hydrolique et pour concentration mentionnée présent 62.71 mg EAG/g .Cependant, la même étude et une autre étude (**CAM et HISIL, 2010**)ont obtenus des valeurs de 139.63 mgEAG/g et 262.7 mg EAG/g pour un extrait méthanolique et hydro-éthanolique. Ces dernières sont supérieure comparées à nos résultats.

Concernant les résultats de tanins condensés sont obtenus à partir de la courbe d'étalonnage de catéchine.

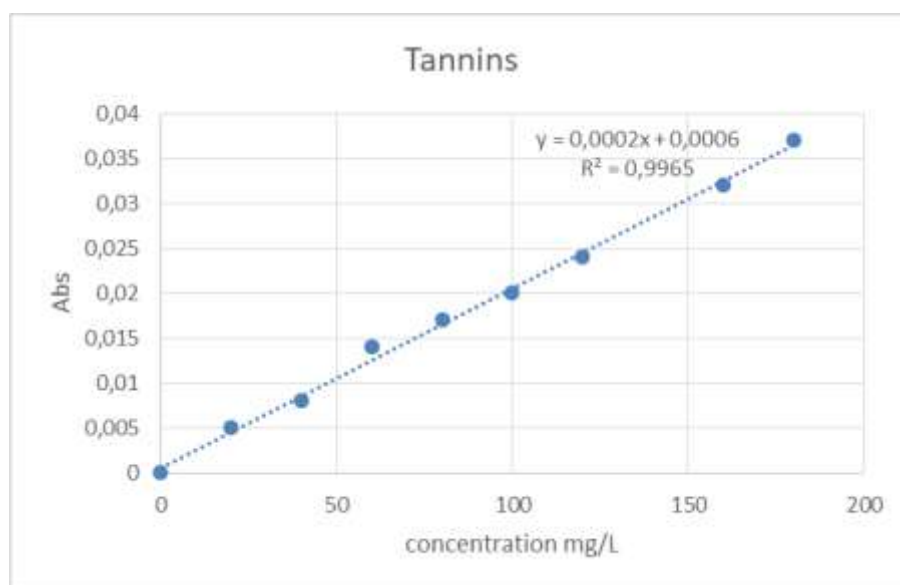


Figure 29 : la courbe d'étalonnage de catéchine

Le teneur présente en (figure 30) est élevé dans les trois extraits le teneur l'extrait éthanolique est plus important (9.563 ± 0.776 mg EAG/g) puis l'extrait Méthanolique de (6.88 ± 0.360 mg EAG/g) et l'extrait tonique de (5.813 ± 0.453 mg EAG/g).

Nos résultats est très faible par rapport aux résultats démontrés par **REGUIEG YSAAD et HAMMADI (2017)** qui mesuré le teneur des tanins condensés de trois extraits des écorces de grenades (extrait queux, méthanolique et éthanolique) de valeurs 81.86 à 153 mgEAG/g

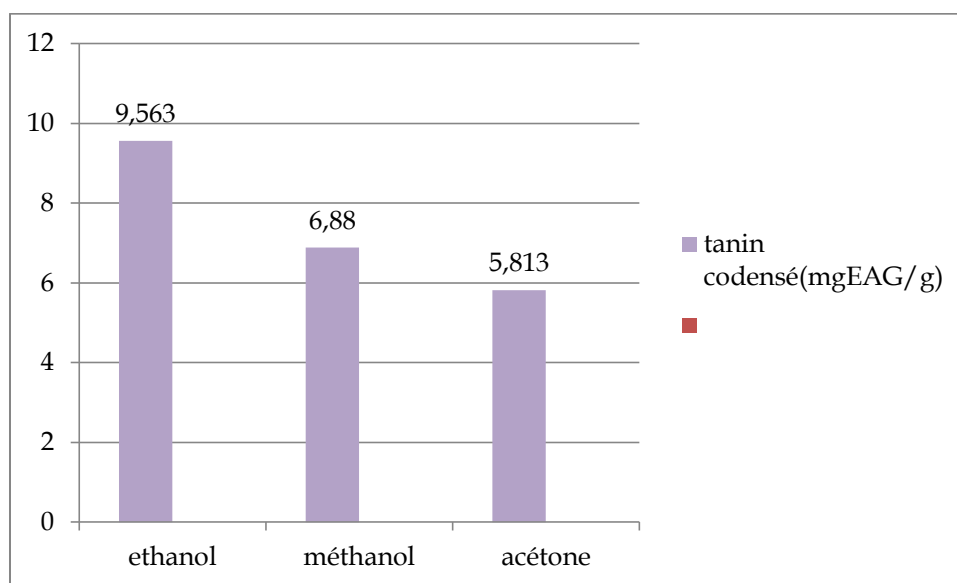


Figure 30: teneur de Tanins condensés des écorces de *P. granatum*

a. 5. Activités antioxydants

La méthode de piégeage des radicaux libres (DPPH) est utilisée pour évaluer l'activité antioxydant de notre échantillon car il est simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité des radicaux libres (BOZIN et al, 2008).

Puisqu'il n'y a pas de mesure absolue de la capacité antioxydant d'un composé, les résultats sont généralement comparés à des antioxydants de référence, tels que des acides ; Acide ascorbique (vitamine c) (Alyafi, 2007).

La courbe de régression (figure 31,32,33) montre le pourcentage d'effet inhibiteur des radicaux libres DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration d'extrait, Le niveau maximum de recherche sur les plantes (Motalleb et al., 2005).

Le test au DPPH est une méthode employée pour évaluer le potentiel antioxydant des différents composés naturels vue sa rapidité, sa fiabilité et son faible coût (Senthilkumar et al, 2012).

Nos résultats exprimés en pourcentage de l'activité antioxydant (Tableau 08), l'extrait éthanolique présente la meilleure activité inhibitrice de DPPH, ($58.16 \pm 0.11314\%$) pour la dose de 3mg/ml, se confirme par les valeurs des IC50 déterminées, l'extrait éthanolique présente l'activité antioxydant la plus importante à 1.99 mg/ml. Suivi par l'extrait méthanolique et l'extrait acétonique avec des taux ($42.88 \pm 1.58392\%$) et ($41.920 \pm 0.67882\%$), pour concentration de 3mg/ml.

De même les concentrations d'inhibition (IC50) sont plus importantes que de l'extrait éthanolique soient 7.74 et 9.89 mg/ml respectivement.

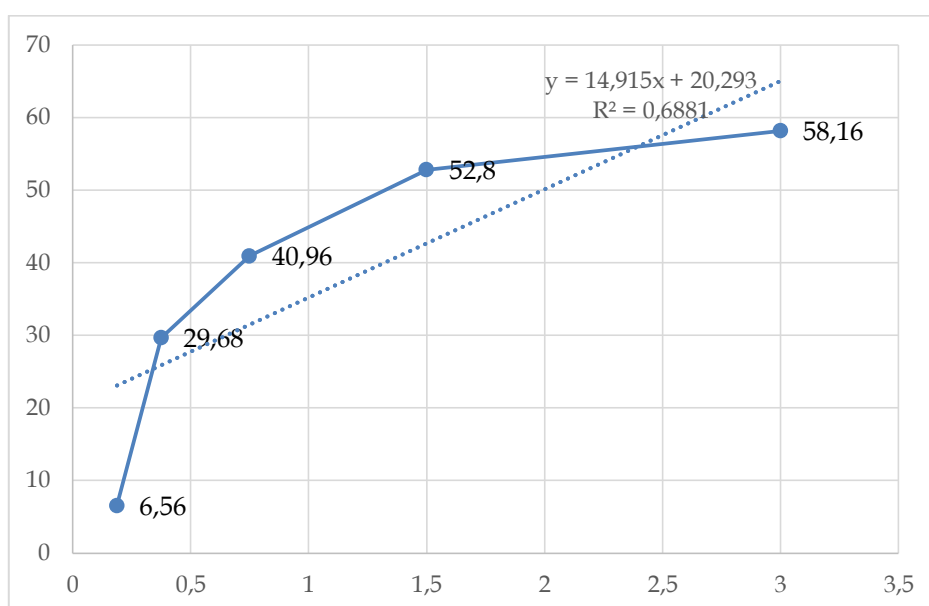
En comparaison, les activités antioxydantes de différents extraits restent inférieures par rapport au contrôle positif de vitamine C ($98.705 \pm 0.855\%$) avec une IC50 de l'ordre de 0.026mg/ml lorsque l'acide ascorbique a été additionné à raison de 0.25mg/ml.

L'extraction séquentielle des polyphénols de l'écorce de grenade a donné des pourcentages d'inhibition d'absorbance de DPPH de (90.53%, 86.4%, 83.2%) pour le méthanol, d'acétone et éthanol respectivement (Zahin et al, 2010), ces résultats sont très importants que nos résultats.

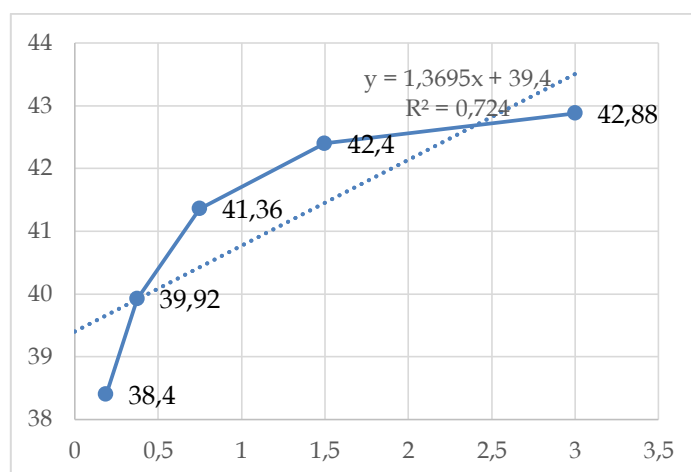
Donc, dans cette partie il est établi une relation pouvant exister entre la présence des composés phénoliques et l'activité antioxydante. En effet les résultats de cette régression indiquent une relation positive entre les polyphénols et l'activité antioxydante des différents extraits des écorces de *p.granatum*. Les résultats obtenus dans cette expérience montrent que l'extrait de l'écorce de grenade a une activité antioxydante importante, et sa richesse en composée phénolique.

Tableau VIII : Taux inhibitions maximales des extraits déterminé par le DPPH.

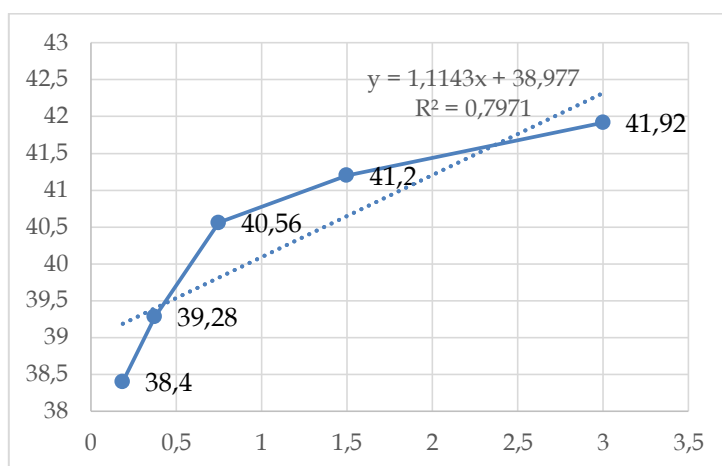
Extraits	Imax (mg/ml)
Ethanol	58.16±0.11314% (à 3mg/ml)
Méthanol	42.881±.58392% (à 3mg/ml)
Acétone	41.92±0.67882% (à3mg/ml)



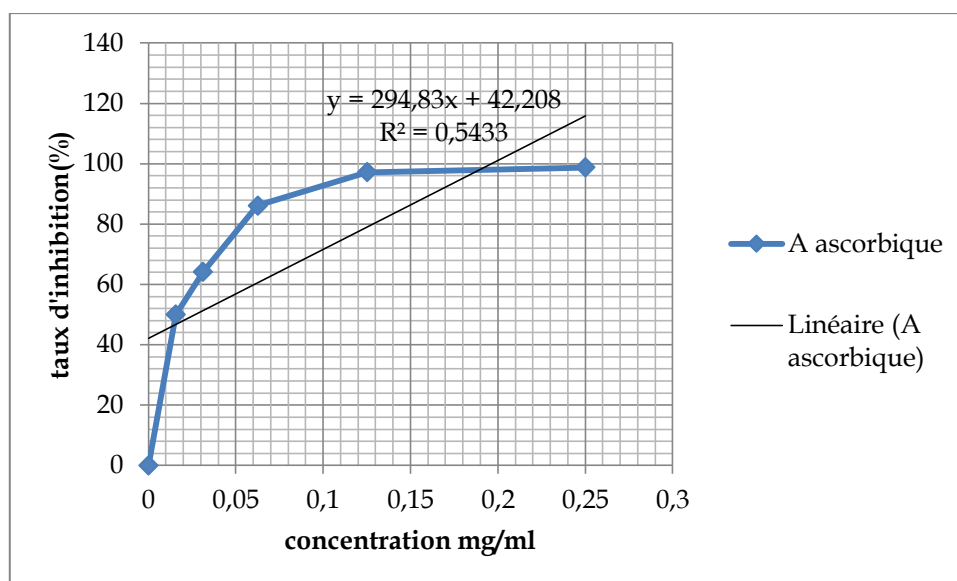
Figur31 : Evolution des taux d'inhibitions de DPPH par l'extrait Ethanolique



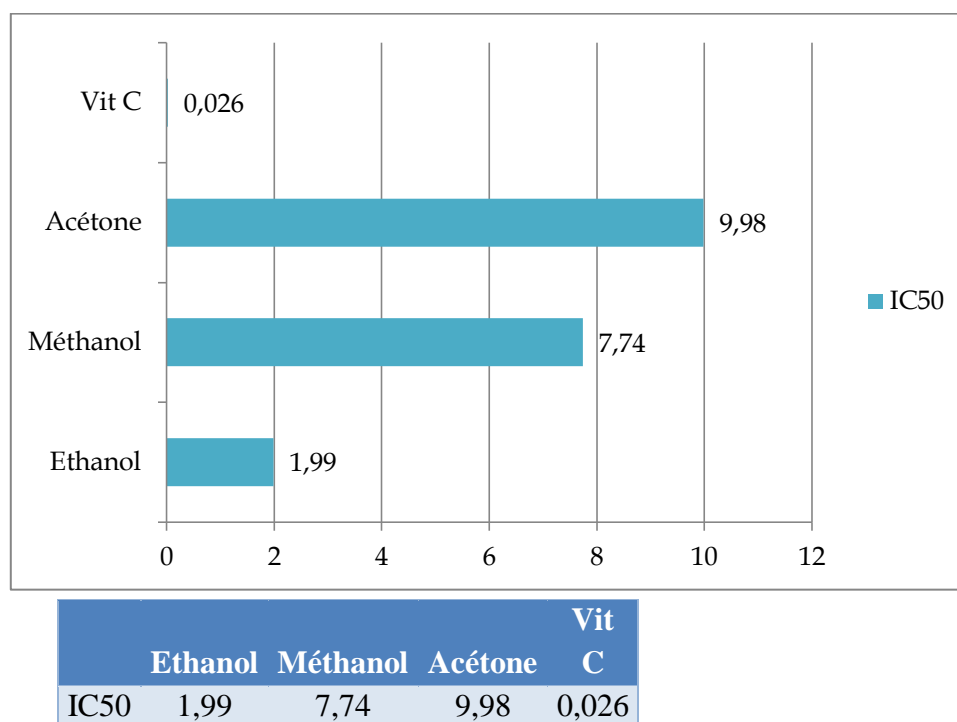
Figur32 : Evolution des taux d'inhibitions de DPPH par l'extrait Méthanolique



Figur33: Evolution des taux d'inhibitions de DPPH par l'extrait Acétonique



Figur34 : Evolution de taux d'inhibitions de DPPH d'acide ascorbique



Figur35 : Concentration d'inhibition des différents extraits de *P.granatum*.

b. Essai de fabrication de yaourt enrichi d'extrait d'écorces de grenade (*Punica granatum*)

b. 1. Mesure et contrôle sur les yaourts

b. 1.1. Paramètres physicochimiques

➤ **Acidité**

Au cours de l'expérience, lors de la première fermentation, nous avons remarqué l'acidité du yaourt a augmenté de manière significative de 37.89°D à 0heure à 46.43°D après 4heures de fermentation, l'acidité du yaourt augmente de 49.14°D à 7j le 21 jours se termine à 53.67°D en moyenne durée de conservation à 4°C.

Les résultats sont présent est dons la figure36 et le tableau09.

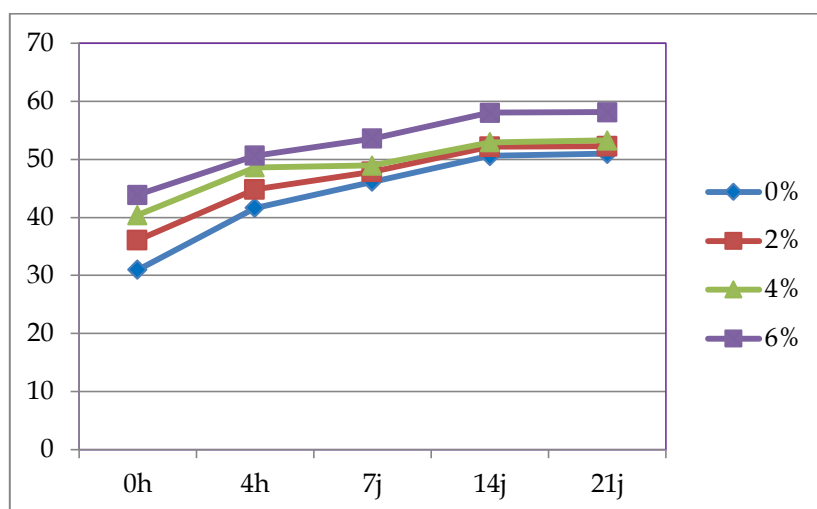


Figure 36 : Evolution de l’acidité Dornic des yaourts additionnés de l’extrait de grenade à différentes doses en fonction du temps.

Tableau IX : effet d’incorporation d’extrait de grenade sur l’acidité des yaourts chaque résultats la moyenne de deux valeurs obtenus(n=2), ± l’écart type, H, heure, J : jours.

Période	Temps	Taux d’incorporation d’extrait de grenade				Moyenne
		0%	2%	4%	6%	
Période de fermentation	0h	31 ± 1.41	36.1 ± 1.27	40.4 ± 2.26	43 ± 1.27	37.85
	4h	41.65 ± 0.49	44.8 ± 1.13	48.65 ± 0.49	50.65 ± 0.63	46.43
Période de poste acidification	7j	46.16 ± 0.49	48.45 ± 1.13	48.85 ± 0.49	53.6 ± 0.63	49.14
	14j	50.61 ± 0.54	52.2 ± 0.14	52.95 ± 0.07	58.05 ± 0.35	53.45
	21j	50.99 ± 0.01	51.26 ± 0.04	53.29 ± 0.43	58.17 ± 0.39	53.67

Selon les teneurs en extrait de fruit de grenade pendant toute l'expérience l'ajoute les variables de 2%, 4% et 6%, l'acidité du yaourt augmenté expérimental est connue des augmentation significative (tableau09).

Contrairement au pH, l'acidité augmente tout au long de la période d'expérience est passé de 37.85°D à 0heure pour atteindre 53.67°Den moyenne en 21jour, même au 21jour de stockage, cette acidité est restée dans les normes acceptables, car il ne dépasse pas 150°D.

➤ pH

La valeur de pH est l'un des paramètres physicochimiques qui joue un rôle important dans la croissance des micro-organismes dans les aliment. Le pH acide est bon pour les levures et les moisissures se développent tant que les bactéries aiment la pH neutre. De manières générales, la valeur de pH passe de 4.09à 3.20 valeur moyenne pendant la fermentation et la post-acidification.

Par ailleurs, les valeurs ce pH augmentent inversement proportionnelle en fonction des taux d'extrait ajoutés dans les yaourts expérimentaux (Figure37, tableau10).

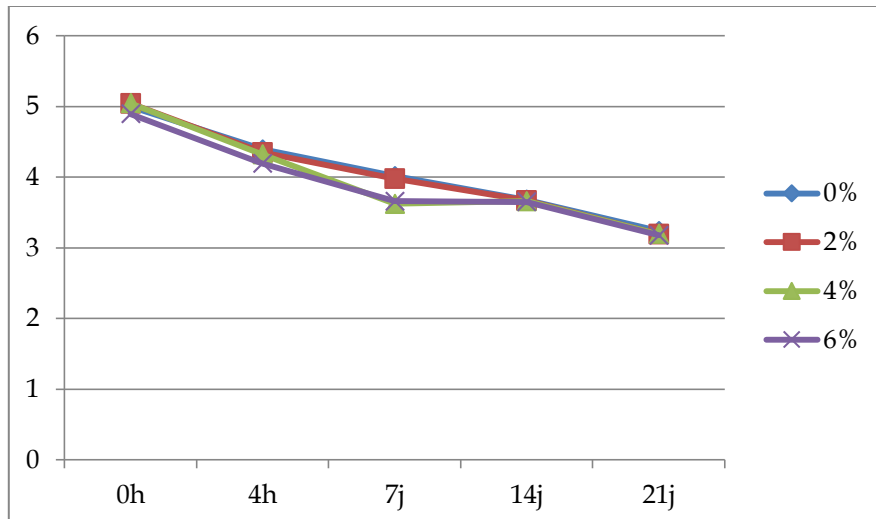


Figure37 :Effet d'incorporation de l'extrait de grenade sur l'évolution de pH des yaourts étuvés expérimentaux en fonction du temps

Tableau X : Evolution de pH des yaourts incorporé d'extrait de grenade
Chaque résultat constitue la moyenne des deux valeurs obtenues (n=2), \pm écarts types, H :
heure ; J :jours.

Période	Temps	Taux d'incorporation d'extrait de grenade				Moyenne
		0%	2%	4%	6%	
Période de fermentation	0h	5 \pm 0.14	5.04 \pm 0.06	5.045 \pm 0.03	4.89 \pm 0.007	4.99
	4h	4.39 \pm 0.007	4.35 \pm 0.07	4.32 \pm 0.03	4.19 \pm 0.007	4.31
Période de poste acidification	7j	4.01 \pm 0.02	3.98 \pm 0.01	3.62 \pm 0.03	3.60 \pm 0.007	3.82
	14j	3.68 \pm 0.01	3.67 \pm 0.02	3.65 \pm 0.014	3.66 \pm 0.014	3.66
	21j	3.24 \pm 0.02	3.19 \pm 0.007	3.19 \pm 0.0007	3.17 \pm 0.01	3.20

Pendant les deux périodes d'expérience, delà phase de la fermentation jusqu'à la phase de post-acidification soit 21 jours de conservation au froid à 4°C. , les valeurs de pH ont diminué de 4.99 à 3.20. Ces réduction de pH résultent d'une production d'acide lactique suit à une fermentation du lactose du lait par les deux souches spécifiquesensemencées *Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus*(Alias et Lenden, 1984 ; Luquet, 1990). Cependant les valeurs de pH ont connu une décroissance en fonction des doses d'extraits incorporées dans les yaourts expérimentaux.

Nos résultats montrent que la valeur depH plus acide que les résultats rapportées par **Mediani et Guerhli (2015)** soit 4.77 ± 0.023 , ils sont proche de celui rapporté par **Sidoummou,(2011)** avec une valeur de 4.02 ± 0.042 , Ces valeurs de pH sont liées à la richesse de l'écorce de grenade en composés acides (hydroxybenzoïque, gallique été ellagique) (**Ilham Hmid, 2014**).

La fonction acidifiante est la plus recherchée des bactéries lactique, qui a pour effet une production importante d'acide lactique conduisant à une acidification rapide et durable (Jones, 2004).

b. 1.2. Paramètres microbiologique

➤ *Lactobacillus bulgaricus*

Le nombre des grammes *Lactobacillus bulgaricus* a augmenté de début de fermentation au 21^{ème} jour de coacervation (post-acidification) soit de $41.5.10^5$ à $139.25.10^5$ UFC/ml.

Par ailleurs, le nombre des *Lactobacillus bulgaricus* augmentent proportionnellement en fonction des doses d'extraits de grenades incorporés dans les yaourts (figure38 ; tanleau11).

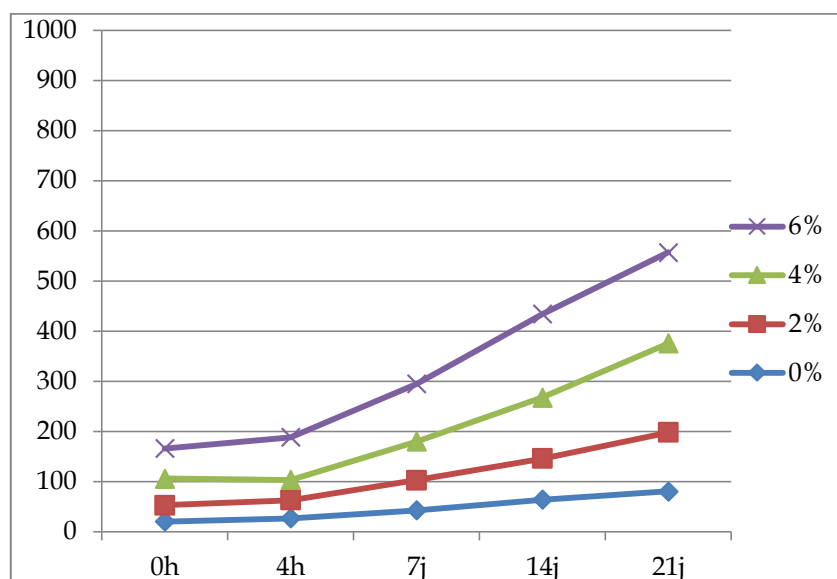


Figure38 : Evolution du nombre de *Lactobacillus bulgaricus*(N*103UFC/ml) des yaourts étuvés additionnés de l'extrait d'écorce de grenade en fonction du temps

Tableau XI : Evolution des nombres de *Lactobacillus bulgaricus* (N*103UFC/ml) des yaourts additionnés de l'extrait de grenades.

Chaque résultat constitue la moyenne des deux valeurs obtenues (n=2), ± écarts types, H : heure ; J : jours

Période	Temps	Taux d'incorporation d'extrait de grenade				Moyenne
		0%	2%	4%	6%	
Période de fermentation	0h	20	32.5	53	60.5	41.5
		2.82	2.12	1.41	5.12	
	4h	26.63	36.05	46.34	115	47.01
		0.04	0.21	0.04	7.07	
Période de poste acidification	7j	42.3	60.31	77.09	85.04	73.67
		0.56	0.035	0.14	0.07	
	14j	63.45	118	122	166.49	108.47
		0.35	1.4	1.41	0.71	
	21j	80	81.95	177.5	181.49	139.25
		1.41	0.07	0.70	0.71	

Il est couramment admis aussi que *Lb. bulgaricus* possède une aptitude à fermenter d'avantage le lactose lors de la conservation des yaourt au froid positif à 4°C et à produire des EPS composés de galactose, glucose et de rhamnose à des rapports de 4/1, respectivement (Tamime, 1999).

Etant riche en principaux composé nutritionnels et en facteur de croissance, l'évolution des taux de grenades dans les yaourts expérimentaux a sans doute favorise une plus ample prolifération et donc la fermentation des germes lactiques spécifiques du yaourt ce qui, par voie de conséquence ont gardé une plus grande production de lactate accompagné d'une nette diminution du pH du milieu (**Blanc, 1984**).

La prolifération des germes spécifiques au cours de fermentation augmenté en fonction des taux d'extraits des écorces de grenade et donc leur pouvoir acidifiant.

Les résultats préliminaires d'essai d'incorporation d'extrait de grenade dans les yaourts présentent une bonne fermentation (levain de bonne qualité).

En outre, le nombre de germes lactique au terme de la production est conforme à la norme dictée par la codex alimentarius de $<10^7$ germes UFC/ml.

Conclusion

Conclusion

L'écorce de grenade est une source importante de composés bioactifs tels les polyphénols, les flavonoïdes, les ellagitanins, les protacianidines.

L'écorce de grenade est employée en médecine humaine pour le traitement de maladies diverses, ces dernières années, ont démontré ses effets antimicrobiens, antioxydants et même anti-cancers.

A partir des résultats obtenus, les grenades prouvent être valorisés grâce à l'exploration des écorces en les incorporent dans un yaourt afin d'obtenir fonctionnel à caractère nutritionnel et thérapeutique.

Dans le présent travail, le teneur totale en polyphénols varie selon la nature du solvant, elle est beaucoup plus important dans l'extrait éthanolique que dans les extraits méthanolique et acétonique.

L'activité antioxydant des extraits d'écorces de grenade exprimé par la méthode de radicale libre DPPH a révélé que l'activité la plus élevée a été obtenu dans l'extrait éthanolique.

Ces résultats pourraient servir à développer des technique de valorisation des écorces de fruits de grenade comme un conservateur à effet antioxydant dans l'industrie agroalimentaire.

Les résultats de l'incorporation de l'extrait des écorces de *P. granatum* dans le yaourt, présenté une diminution de pH, une augmentation de l'acidité titrable avec une évolution de nombres des germes spécifiques. En outre les polyphénols des écorces de grenade ont stimulé la prolifération de la flore lactique et donc leur pouvoir acidifiant.

Ce travail, ressort qu'il est possible de valoriser un déchet ménager, type d'écorce de grenade afin de produire un yaourt aromatisé, coloré naturellement. De plus, ce yaourt est enrichi en polyphénols et il est doté d'un pouvoir antioxydant, un aliment bénéfique pour l'organisme et donc fonctionnel.

Références

Bibliographiques

Référence Bibliographique

Abbasi H., Rezaei K. et Rashid L. (2008).Extraction of Essential Oils From the Seeds of Pomegranate Using Organic Solvents and Supercritical CO₂. J Am Oil Chem Soc, 85: 83–89.

Aberoumand A. et Deokule S.S. (2008).Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. Pakistan Journal of Nutrition 7: 582-585.

Achtiouene, S. et Benamrouche, R. 2015. Contribution à l'évaluation des propriétés physicochimiques, fonctionnelles et biologiques de la poudre de peaux de grenade (*Punicagranatum*) d'Algérie (région de Bordj Menail) Mémoire de Master, Département de Technologie Alimentaire, FSI, Université de Boumerdes.

Afaq, F., Saleem, M., Krueger, C.G., Reed, J.D., Mukhtar, H., 2005. Anthocyanin- and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK & NF-kappaB pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. Int. J. Cancer. 113(3), 423-433.

Aguilar C. N., Aguilera-Carbo A., Robledo A., Ventura J., Belmares R., Martinez D., Rodriguez Herrera R. and Contreras J. (2008). Production of Antioxidant Nutraceuticals by Solid-State cultures of pomegranate (*Punicagranatum*) peel and creosote bush (*Larrea tridentata*) Leaves. food Technol. biotechnol. 46(2) 218-222.

ALAIS C et LINDEN G, (1994). Abrège biochimie alimentaire . Ed Massons, paris, 172-182. Alais C., Linden G. Miclo L.(2003). Biochimie alimentaire, 6ème édition de l'abrégé. Edition: Dunod. Paris, p41-68.

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

Al –Saeed, M.H., , N.S.(2015) .Etude de l'effet des iso flavonoïdes des extrait de l'écorce de *Punicagranatum* sur la fertilité et les caractéristiques du sperme chez les males des lapins ». Université de Basrah, Iraq

Alyafi A.G(2007).Détermination of chemical composition of prangos and the possibility to use in the applied field, Damascus University. 54.

Al-Zoreky NS. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punicagranatum* L.)Fruit peels. International Journal of Food microbiology 134, 244-248

Amellal, R. (2000). La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance. Institut National d'Agronomie El- Harrache. Option méditerranéenne. Sér.B N° 14.Pp. 230-232.

Amellal-Chibane, H. (2008). Aptitude technologiques de quelques variétés communes de dattes : formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. Thèse de doctorat en technologies alimentaires. Faculté des sciences de l'ingénieur. Université BOUMERDES. Pp. 164.

Anderson J. W., Johnstone B. M. et Cook-Newell M.E. (1995). Meta-Analysis of the Effects of Soy Protein Intake on Serum Lipids. The New England Journal of Medicine 333: 276-282.

ANONYME.(1992). Norme Internationale ISO 5492. Analyse sensorielle ; contrôle de la qualité des produits alimentaires. AFNOR.

Aviram M., Dornfeld L., Kaplan M., Coleman R., Gaitini D., Nitecki S., Hofman A., Rosenblat M., Volkova N., Presser D., Attias J., Hayek T. et Fuhrman B. (2002). Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular disease: studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugsunderexperimental and clinicalresearch* 28: 49-62.

Beddou F. (2015). Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex Vesicarius L.* et *AnvillearadiataCoss.* Thèse de doctorat en biologie cellulaire et biochimie, Université Abou BekrBelkaid, Tlemcen, 164p.

Bellebcir L. (2008). Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales. Mémoire de magister en biodiversité et production végétale, Université Mentouri, Constantine, 1119p.

Ben Abdennebi M A (2012)- Le grenadier tunisien (*Punicagranatum*) stimule le transport de glucose dans les cellules musculaires C2C12 via la voie insulino – Références bibliographiques 82 dépende de l'akt et lavoieinsulino-indépendante de l'AMPK. ThèseDoct..Phar., Univ. Montréal, 23-24pp.

BennickA.(2002). Interaction of plant polyphénols with salivary protiens. *CriticalReviewsinOralBiology and Medicine*, 13(2):184-196.

Bergamaier, D. (2002). Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *lb. rhamnosusrw 9595m* d'un milieu à base de perméat de lactosérum. Thèse doctorat, université de Laval, Canada. Pp149.

Bhat R.,Liong M.T.,Abdorreza M.N., Karim A.A., (2012). Evaluation of free radical scavenging activity and antioxydantpotentiel of a few popular green leafy vegetables of malaysia. *Int.J. Food prop.*(16):1371-1379.

Bohrom N .1997 : les huiles essentielles extraites des plantes médicinales : moyen efficace de lutte contre les ravageurs de denrées alimentaires stockées. Université du Maroc pp162

Boizot N., et Charpentier L.P., (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra: 79-82.

Boullard B. (1997).Dictionnaire plantes et champignons. Edition ESTEM, Paris, p : 380. ISBN : 2-909455-99-8.

Bourgou S., Serairi B.R., Medini F. et Ksouri R. (2016).Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbiahelioscopia. Journal of new sciences 32:1649-1655.

Brulé, G. (2003). Annexe au rapport commun de l'académie des technologies et de l'académie d'agriculture de France. In de l'évolution des technologies de production et de transformation sur la qualité des produits laitiers. Pp47.

Brunet S. (2008). Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. Thèse de Doctorat en Pathologie et Nutrition, Université Paul Sabatier, Toulouse, 246 p.

Bruneton J., (1999). Pharmacognosie : Phytochimie. Plantes médicinales. Paris: 3e édition Technique & Documentation (274) : 654-655.

Bylund G., (1995) : Dairy processing handbook. Edition Tetra Pak Processing Systems. Sweden. p.436.

Calin Sanchez A. et CarboneliBanaching A.A. (2012). La grenade cultivées en Espagne Punicalogine anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans les L'aliment fonctionnel du fruit. Livre. Natural ontioxydantgranatum+ et université Miguel Hernandez (EDS), Murcia Espagne, p.77.

Cakir, A..(2004)Essential oil and fatty acid composition of the fruits of Hippophanerhamnoides L.(seabuchthorn)and Myrutscommunis L. fromturkey. BiochemicalSystematics and Ecology, 32(9), 809-816.

Calin, S.A., et Carboneli, B.A.A. 2005. La grenade cultivées en Espagne Punicalagine antioxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans les l'aliment fonctionnelle du fruit. Livre. Natural ontioxydantgranatum, université Miguel Hernandez (EDS), Murcia Espagne, 77p.

Çam M., Hisil Y. et Durmaz G. (2009).Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. Food Chemistry, 112 : 721–726

Cerda B., Ceron J.J., Tomas-Barberam F.A., Espin J.C.,2003.Repeated oral administration of high doses of the pomegranate ellagitannin/punicalagin to rats for 37 days is not toxic. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51:3493-3501.

COURTIN P., MONNET M. and RUL F. (2002). Cell- wall proteinases PrtS and Prt B have a different role in streptococcus thermophilus / Lactobacillus bulgaricus mixed cultures in milk. Microbiology, 148, 3413 -3421.

Dai. J., etMumper. R. (2010). Plant Phenolics : Extraction, Analysis and their antioxidant and Anticancer Properties. Antioxidant and anticancer properties. Molecules 15 (10): 7313-7352.

DALGLEISH D. G. (1990).Denaturation and aggregation of serum proteins and caseins in the heated milk. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 38, 1995-1999.

Dean F.M. (1963).Natural occurring Oxygen Ring Compounds. Butterworths. Londres.

Debji, B., Harish, G., PragatiKumar, B., Duraivel, S., Aravind G., Sampath Kumar, K.P.2013Utilisation médicamenteuse de puniceagranatum et ses bénéfices sur la santé. Journal of pharmacognosy and phytochemistry, Volume 1 Issue5, ISSN : 2248-4136.

Dehak K. (2013). Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles : Polyphénols. Université KasdiMerbah. Ouargla, 19 p.

DELLAGLIO F., DE ROSSART H., TORRIANIS S., CURK M. et JANSSENS D. (1994) .Caractérisation générale des bactéries lactiques. Tec&Doc (Eds), Loriga, 1, 25-116.

Devatkal Suresh K., Narsaiah K., Borah A., 2010.Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. Meat science, Vol.85,no. 1, pp.155-159.

Doleyres, Y. (2003). Production en continu du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse Doctorat. Université de Laval. Canada. Pp148.

EL Gharras. H. (2009).Polyphenols: food sources. Properties and applications- review. International Journal of food Science and technology 44(12) : 2512-2518.

El-Nemr S.E., Ismail I.A. etRagab M. (1990).The chemical composition of juice and seeds of pomegranate fruits. Die Nahrung 11: 162-164.

Elodie W. (2009). Le grenadier (Punicagranatum): Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Faculté de pharmacie, université HenriPoincaré-Nancy1.

Enkelejda, P. (2004). Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur. Thèse de doctorat en Science des Aliments. Institut national agronomique paris grignon. p205.

Escribano-Bailôn M.T. et Santos-Buelga C. (2003). Polyphenols extraction from foods. In Methods in polyphenol analysis. Royal Society of Chemistry 1-16.

Esmailzadeh A., Tahbaz F., Gaieni I., Alavi-Majd H. et Azadbakht L. (2006). Cholesterol lowering effect of concentrated pomegranate juice consumption in type II diabetic patients with hyperlipidemia. International Journal For Vitamin And Nutrition Research. 76:147-151.

Espiard E. (2002). Introduction à la transformation industrielle des fruits. TEC&DOCLavoisier, Paris, France, 181-182.

Evreinoff, V. (1957). Contribution à l'étude du Grenadier. Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée. 124-138p.

Fabre B. et Ermosilla V. (2008). Utilisation d'un extrait de grenadier pour le maintien de la coloration capillaire. Fascicule de brevet européen. Bulletin 2008/01

Fawole O.A., Opara U.L. Theron K.I. (2011). Chemical and phytochemical properties and antioxidant activities of three pomegranate cultivars grown in South Africa. Food Bioprocess Technology <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-011-0533-7>.

Ferrari, J. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles Gnidiainvolucrata Steud. ex A. Rich. LAUSANNE.

Fiorucci S. (2006). Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de Doctorat, université de Nice-Sophia Antipolis, Nice (France). p.211.

Forjicq, J. V., et Regelson. W. (1995). Review of the biology of quercetin and related Bioflavonoids. FdChem.Toxic. (33): 1061-1080.

Garcia-Salas P., Morales-Soto A. Segura-Carretero A. et Fernández-Gutiérrez A. (2010). Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. Molecules 15 : 8813- 8826.

Gil M. I., Toms-Barbern F. A., Hess-Pierce B., Holcroft D. M. et Kader A. A. (2000).Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition and Processing. *J. Agric. Food Chem.*, 48 : 4581-4589.

Gosta, B. (1995). Manuel de transformation du lait. Ed Etatpack processing systems AB. Sweden.

Guo C., Wei J., Yang J., Xu J., Pang W. et Jiang Y. (2008).Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. *Nutrition Research*, 28 : 72–77.

Hadi M. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractèrepooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat en pharmacochimie. Université de Louis Pasteur Strasbourg I, Faculté des sciences, p22-24

Hagerman A.E., Muller-Harvey I. etMakkar H.P.S. (2000).Quantification of tannins in tree foliage. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Vienna. p.26.

Haidari M., Ali M., Casscell S.W. et Madjid M. (2009).Pomegranate (*Punicagranatum*) purified polyphenol extract inhibits influenza virus and has asynergistic effect with oseltamivir. *Phytomedicine*, 16 : 1127–1136.

Harrar A-E N. (2012).Activités antioxydante et antimicrobienne d’extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire de Magister enet physiologie expérimentale, Université de Ferhat Abbes, Sétif. p. 95

Hartman R. E., Shah A., Fagan A. M., Schwetye K. E., Parsadanian M., Schulman R. N., Finn M. B. et Holtzman D. M. (2006). Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 24 : 506–515.

HASSAN A.N., FRANK J.F., FARMER M.L., SCHMIDIT K.A. and SHALABI S.A. (1995) .Observation of encapsulated lactic acid bacteria using confocal scanning laser microscopy. *Journal of Dairy Science*, 78, 2624-2628 Hemingway R. W. (1992).Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: *Lpant polyphenols: synthesis, properties, significande*.

Hemingway R W, Laks P. E. New York. Hennebelle. T., Sahpaz. S., et Bailleul. (2004). Polyphénols végétaux. Sources. utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. vol. 2. no(1):36

Hemingway R. W. (1992). Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: *Plant polyphenols: synthesis, properties, significance*.

Hemingway R W, Laks P. E. New York. Hennebelle. T., Sahpaz. S., et Bailleul. (2004). Polyphénols végétaux. Sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. vol. 2. no(1):36.

Hmid I. (2013). Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade (*Punicagranatum L.*) : caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais. Thèse de Doctorat présentée en cotutelle entre l'Université d'Angers (France) et l'Université de Béni Mellal, Maroc. p. 180.

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

Hussin, M. H., Kassim, M. J., (2011). The corrosion inhibition and adsorption behaviour of Janeth, V., Francisco Alarcon-, A., Ruben Ruben, R., Efrain Campos, S., Maria L. Reyes-Vega, Boone-Villa, D., Egrar Ivan Jasso, V., Cristobal, N., Aguilar. (2013). Qualité et propriétés antioxydantes de jus de Grenade moins sucré, avec l'extrait aqueux de l'écorce de grenade. *Chimie des aliments*. 136 (2013) 109-115.

Iddleton, E., Kandaswami. C., et Theoharides. T. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammations, heart disease and cancer. *PharmacolRev.* (52) : 673-839.

INRAA, 2006. deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétique pour l'alimentation et l'agriculture Iserin P. (2001). *Encyclopédie des Plantes Médicinales : identification, préparation, soin*. 2ème édition, Larousse. 335p, ISBN: 2-03-560252-1.

Iwashina T. (2000). The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research* 113: 287-299.

J.O.R.A. N°86 du 18 Novembre 1998 (Article 2 Page 22) Arrêté interministériel du 16 novembre 1998 relatif aux spécifications techniques des yaourts et aux modalités de leurs mises à la consommation.

Jahfar M., Vijayan K.K. et Azadi P. (2003). Studies on a polysaccharide from the fruit rind of *Punicagranatum*. *Research Journal of Chemistry and*

Jeantet, R., Croguennes, T., Mahaut, M., Schuck, P., Brulé, G. (2008). Les produits laitiers. Ed Techniques et Documentations. Lavoisier-Paris .Pp185.

Jiménez-Atiénzar M., Escribano J., Cabanes J., Gandía-Herrero F. et García-Carmona F. (2005). Oxidation of the flavonoid eriodictyol by tyrosinase. *Plant Physiology and Biochemistry* 43: 866-873.

Jokić S., Velić D., Bilić M., Bucić-Kojić A., Planinić M. et Tomas S. (2010). Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. *Journal of Food Science* 28: 206- 212.

Jurenka J.M.T. (2008). Therapeutic Applications of Pomegranate (*Punica granatum* L.): A Review. *Altern. Med. Rev.* 13(2): 128-144.

Kang, D-G., Yun, C-K., Lee H-S. *Journal of Ethnopharmacology*, 87 (2003) 231-23. 21.

Kanoun Khadija. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine) [en ligne]. Thèse Magister. Tlemcen : Université Abou bekr Belkaid. 2011, 118 p. Disponible sur : [http://dspac.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/268/1/Contribution-a-letudephytochimique-et-activite-antioxydante-des-extraits-de-Myrtus-communis-L.-Rayhane-de-la-region-de-Tlemcen\(Honaine\).pdf](http://dspac.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/268/1/Contribution-a-letudephytochimique-et-activite-antioxydante-des-extraits-de-Myrtus-communis-L.-Rayhane-de-la-region-de-Tlemcen(Honaine).pdf) (consulté le 29.11.2015).

Kawaii S. et Lansky E.P. (2004). Differentiation-promoting activity of pomegranate (*Punica granatum*) fruit extracts in HL-60 human promyelocytic leukaemia cells. *Journal of Medicinal Food*. 7: 8-13.

KESSLER H.G. (1998). The structure of fermented milk products as influenced by technology and composition. Texture of fermented milk products and dairy dessert. Proceedings of the IDF Symposium. Vicenza, Italy, 5-6 May 1997, 93-105

Khan. M. K. (2010). Polyphénols d'agrumes (flavanones) : extraction de glycosides de la peau d'orange. Synthèse de métabolites chez l'homme (glucuronides) et étude physico-chimique de leur interaction avec le sérum albumine. 169. Thèse de doctorat. Univ. Marrakech.

Khater F. (2011). Identification et validation fonctionnelle de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans la biosynthèse des composés phénoliques. Thèse de Doctorat en Biochimie, Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques-Montpellier Supagro. P. 203.

Kim N. D., Mehta R., Yu W., Neeman I., Livney T., Amichay A., Poirier D., Nicholls P., Kirby A., Jiang W., Mansel R., Ramachandran C., Rabi T., Kaplan B. et Lansky E. (2002). Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 71: 203–217.

Knatt S.R., Chander R., Sharma A., 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *Inter.J. of food and tech*, 45, 216-222.

Koffi E., T. Sea T., Y. Dodehe Y. et Soro S. (2010). Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty-three Ivorian plants. *Journal of Animal and Plant Sciences* 5: 550-558.

Kulkarni A. P., Aradhya S. M. et Divakar S. (2004). Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant :punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit. *Food Chemistry*, 87 : 551–557.

Lairini, R., Bouslamti, F., Zerrouq et A., Farah. 2014. Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punicagranatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante. *J. Master. Environ. Sci.* 5(S1) : 2314-2318, IS

Lamontagne, M.(2002). Produits laitiers fermentés. In *Science et technologie du lait : transformation du lait* . Chapitre 8. Vignola C.I, Ed Presses internationales. Polytechnique, Pp93-139. 557SN : 2028-2508

LAMOUREUX L. (2000). Exploitation de l'activité β - galactosidase de culture de bifidobacteries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. Mémoire de maîtrise, Université de Laval, Canada.

Lansky E. et Newman R. (2007). *Punicagranatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*. 109: 177–206.

Lansky E., Shubert S. et Neeman I. (2000). Pharmacological and therapeutic properties of pomegranate. In : Melgarejo-Moreno P. (ed.), Martínez-Nicolás J.J. (ed.), Martínez-Tomé J. (ed.) *Production, processing and marketing of pomegranate in the Mediterranean region: Advances in research and technology*, Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 2000. 253 p. ISBN 2-85352-214-8.

LARPENT J.P. (1989). *Microbiologie alimentaire*. Ed, techniques et documentation Lavoisier. Paris ,46, 1-117.

Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J. et Lee C.Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricol and Food Chemistry* 51: 7292-7293.

Leong. L., and Shui .G. (2002). An investigation of antioxydant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.*, vol. 76.No(1):69.

LEORY F., DEGEEST B. and DE VUYST L. (2002). A novel area of predictive modeling : describing the functionality of beneficial micro-organisms in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 251-259.

Levin G. M. (1994). Pomegranate (*Punicagranatum*) plant genetic resources in Turkmenistan. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 97:31-37

Li, T.S.C., Beveridge, T.H.J. and Drover, J.C.G. (2007) Phytosterol content of sea buckthorn (*Hippophaerhamnoides L.*) seed oil: Extraction and identification . *Food Chemistry*, 101(4), 1633-1639.

Lloyd J. U. (1897). *Punicagranatum*. The western druggist, Chicago, 9 p.

Loones , A. (1994). Laits fermentés par les bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques. Vol2. De Roissart, H et Luquet, F.M (Ed) ; Lorica , Uriage, 135- 154.

Lugasi A., Hovari K., Sagi V., et Biro L. (2004). *Acta Biologica Szegediensis*. 119-125.

Luquet F. M , 1990. Les produits laitiers transformations et technologie. 2^{ème} édition lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre, Tech. doApria la voisier P2- 85- 206

Luquet, F. M., Carrieu, G. (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Collection sciences et techniques agroalimentaires, Ed lavoisier tec et Doc, Paris, Pp 307.

Madi. A. (2010). Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de magister. Univ. Mentouri. Constantine. 31.

MAHAUT M., JEANTET R., SCHAK P. et BRUL G. (2000). Les produits industriels laitiers. Ed , techniques et documentation, Lavoisier, Paris. 26-40.

Mahaut, M., Jeantet, R., Brulé, G., Schuck, P. (2000). Les produits industriels laitiers. Tech&Doc, Lavoisier, Paris. Pp 178.

Malik A., Afaq F., Sarfaraz S., Adhami V. M., Syed D. N. et Mukhtar H. (2005). Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *PNAS*, 102 : 14813–14818

Manach. C., Scalbert. A., Morand. C., Rémésy. C., et Jiménez. L. (2004). Polyphénols food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79(5) : 727-747.

Mars M. et Marrakchi M. (1999). Diversity of pomegranate (*Punicagranatum L.*) germplasm in Tunisia. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46: 461–467.

Martin, M. (2004). Technologie des laits de consommation. Ed. Lait. Candia Direction développement technique. Pp135.

MARTY-TEYSSET C. DE LA TORRE F. and GAREL J-R. (2000). Increased production of hydrogen peroxide by lactobacillus delbruekiisspbulgaricus upon aeration: involvement. Applied and Environmental Microbiology, 66(1), 262-267

Mediani, A. et Guerhli, A. 2015. Essais de caractérisation et d'incorporation des poudre d'écorce de grenade dans une matrice alimentaire type L'ben et boisson bitter. Mémoire de Master, département de technologie alimentaire, FSI, Université de Boumerdes.

Medic M.S., Ivona J., Asja S.B. et Mornar A. (2004). Optimization of Chromatographic Conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids. Croatica Chemica Acta 77 :361-366.

Meerts I.A.T.M., Verspeek-Rip C.M., Buskens C.A.F., Keizer H.G., Bassaganya-Riera J., Jouni Z.E., Van Huygevoort A.H.B.M., Van Otterdijk F.M. et Van de Waart E.J. (2009). Toxicological evaluation of pomegranate seed oil. Chemical Toxicology 47 : 1085–1092.

Melgarejo. P., Valero, D. (2012). International Symposium on the Pomegranat .Edition Zaragoza, Ciheam, Spain.337p.

Merghem. R.(2009). Elément de biochimie végétale. Edition bahaeddine.

Milane. H. (2004). La quercétine et ses derives: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. These de doctorat. Université louis pasteur strasbourg I.155.

Miliauskas. G., Venskutonis P.R., and Van Beek T.A.(2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. Food chemistry. (85): 231-237.

Mirdehghan S.H. Rahemi M.(2006). Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (punicagranatum L.) fruit. Scientahorticulturae. 111: 120-127.

MODLER H.W. (1985). Functional properties of nonfat dairy ingredients. A review. Modification of products containing casein. Journal of Dairy Science, 68, 2195-2205.

Morton J. (1987). Pomegranate. In: Fruits of warm climates. Miami, Florida. p. 352–355.

Motilva M.J., Serra A., et Macià A.(2013). Analysis of Food Polyphenols by Ultra High Performance Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry: An Overview. Journal of Chromatography A 1292: 6682.

Nakasaka, K., Yanagisawa, M., Kobayashi, K. (2008). Microbiological quality of fermented milk produced by repeated-batch culture. *Journal of Bioscience and bioengineering*, 105(1): 73, 76

Naveena B.M., Sen, A.R. Vaithiyamthan S., Babji Y., Kondaiah N., (2008). Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. *Meat Science* 80, 1304-1308.

Negi P. and Jayaprasha, J., (2003). Antioxidant and Antibacterial Activities of Punicagranatum Peel Extracts. *Journal of food science*, Vol68, No.4, pp. 1473-1477.

Neurath A.R., Strick N., Li Y.Y. et Debnath A.K. (2004). Punicagranatum (Pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *Annals New York Academy Of Sciences* 1056: 311-327.

NGOUNOU C., NDJOUENKEU R., MBOFUNG F. et NOUBI I. (2003). Mise en évidence de la biodisponibilité de calcium et du magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé du Zébu. *Journal of Food Engineering*, 57, 301-307.

Nongonierma, A.B., Springett, M., Le Quéré, J.L., Cayot, P., et Voilley A. (2006). Flavour release at gas/matrix interfaces of stirred yoghurt models. *International Dairy Journal*, 16, 102-110.

NOZNICK P.P. (1982). Dairy Ingredients in food. *Bulletin de la Fédération Internationale de Laiterie*, 142, 60-66.

Okonogi S., Duangrat C., Anuchpreeda S., Tachakittirungrod S. et Chowwanapoonpohn S. (2007). Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chemistry*, 103 : 839–846.

Opara L. U., Al-Ain M.R. & Al-Shuaibi Y. S., (2009). Physico-chemical properties, vitamin C content, and Antimicrobial properties of pomegranate Fruit (*Punicagranatum L.*). *Food bioprocess technol* (2009)2:315-321.

Oukabli A. (2004). Le Grenadier : Des Variétés Performantes pour la Culture. *Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. MADRPM/DERD*, 123 : 1-4.

Oukabli A., Bellaji M., Chahbar A., Elkacemi A., Lahlou M. et Allabou M. (2004). Comportement de clones locaux et de variétés étrangères de grenadier (*Punicagranatum L.*) conduits dans la région de Meknès. *Al Awama* 3: 111

Ozer, B.H., Robinson, R.K., Grandison, A.S., Bell A.E. (1998). Gelation properties of milk concentrated by different techniques. *International Dairy Journal*, 8, 793-799.

Ozgen M., Durgaç C., Serçe S. et Kaya C. (2008). Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. *Food Chemistry*, 111 : 703–706.

Paci kora, E. (2004). Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brasse aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception et de la texture et de la flaveur .Thèse de doctorat présentée à l'Institut National Agronomique. Paris. Grignon.Pp205.

Pernoud, S., Schneid, C., Breton, S. (2005). Application des bactéries lactiques dans les produits frais et effet probiotiques. In bactéries lactiques et probiotiques .CoordLuquet F.M., Corrieug., Ed Tec et Doc, pp :235-260 .306p.

Prashanth D., Asha M.K. et Amit A. (2001). Antibacterial activity of Punicagranatum. *Fitoterapia* 72: 171-173.

Quiroz, I. (2009). Granados, perspectivas y oportunidades de un negocio emergente: Antecedentes de Mercado. *Fundacion Chile*.72p. 117

Rebledo A., Aguilera-Carbo., Rodriguez R., Martinez J.L., Garza Y., Aguilar C.N., (2008). Ellagic acid production by *Aspergillus niger* in solid state fermentation of pomegranate residues. *J Ind Microbiol biotechnol*.35:507-513.

Reddy M. K, Gupta S. K, Jacob M. R, Khan S. L., Ferrira, D., (2007). Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tanin-rich fraction, ellagitannins and phenolic acids from Punicagranatum L. *Planta Medicine*, 73(5), 461-467.

Ribéreau-Gayou P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Edition. Dunod. Paris p1-23.

Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra, W.R., Utami, R et Mulatsih, W. (2010). Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts and fractions of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam). *International Food Research Journal*, 17, 97-106

ROUSSEAU M. (2005). La fabrication du yaourt, les connaissances. INRA. 9 pages

ROUSSEL Y., PEBAY M., GUEDON G., SIMONET J.P. and DECARISN B. (1994). Physical and genetic map of *Streptococcus thermophilus* A054. *Journal of Bacteriology*, 176(24), 7413- 7422.

Saad Houda (2013). Développement de bi-composite à base de fibres végétales et de colles écologiques. Thèse pour l'obtention du diplôme de docteur en chimie, Université de Pau et des pays de l'Adour.

Samarth R.M., Panawar M.,Soni A., Kumar M., (2008). Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract, *Food Chemistry*, 106,868-873.

SCHKODA A, STUMPH A. and KESSLER H.G. (1998).Stability of texture of fermented milk products in relation to composition.Texture of fermented milk products and dairy dessert.Proceedings of the IDF Symposium. Vicenza, Italy, 5-6 May 1997, 115-121.

SCHMIDT D.G, (1994).Association of caseins and casein micelle structure. *Developments in dairy chemistry*, Applied science publisher, London, 61-86
SCHMIDT J.L., TOURNEUR C. et LENOIR J. (1994). Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in « bactéries lactiques ». Vol II. DE ROISSART H. et LUQUET F.M. Ed. Loriga, paris. 37-46.

Schubert S.Y., Lansky E.P. etNeeman I. (1999).Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology* 66:11-17.

Seeram N. et Schulman R. (2006).Pomegranates. Ancient roots to modern medicine.Editions Taylor et Francis. p.244.

Seeram N. P., Risa N. S. et Heber D. (2006).Pomegranates Ancient Roots to Modern. Medicine CRC Press Taylor & Francis Group Medicinal and aromatic plants–industrial profiles, 263p, ISBN : 0-8493-9812-6.

Seeram N.P., Adams L.S., Henning S.M., Niu Y., Zhang Y., Nair M.G. et Heber D. (2005). In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *The Journal of nutritional Biochemistry* 16: 360-367.

Seeram, N.P., Henning, S.M., Zhang, Y., Suchard, M., Li, Z. & Heber, D. *Journal of Nutrition*, 136 (10) (2006)2481- 2485.

Seerama N. P., Adamsa L. S., Henninga S. M., Niu Y., Zhang Y., Nair M. G. et Heber D. (2005). In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *Journal of NutritionalBiochemistry*, 16 : 360– 367.

SeremeA., Millogo-Rasolodimby J., Guinko S. et Nacro M. (2010).Anatomie et Concentration des tanins des plantes tannifères du Burkina.*Journal des Sciences* 10: 24-32.

Serra, M., Trujillo, A.J., Guamis, B., Ferragut, V. (2009).Evaluation of physical proprieties duringastorage of set and stirred yoghurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk. *Food hydrocolloids*, 23: 82-91.

Shabtay A., Eitam H., Tadmor Y., Orlov A., Meir A., Weinberg P., et al (2008). Nutritive and antioxidative potential of fresh and stored pomegranate industrial by product as a novel beef cattle feed. *Journal of Agricultural and chemistry*, 56(21), 10063-10070.

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

Shi J., Yu J., Pohorly J. et Young J. C. (2003). Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. *Food, Agriculture & Environment*, 1(2) : 42-47

Shiban .S., AL-Otaibim.M., AL-Zoreky N.S., (2012). Antioxydant activity of pomegranate (*Punicagranatum L.*) fruit peels. *Food and Nutrition Sciences*, (3): 991-996.

Sheets M.D., Du Bois M.L. et Williamson J.G. (1994). The Pomegranate. *HS*, 44: 1-3. Horticultural Sciences Department, Florida Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Original publication date April 1994. Revised April 2004. Reviewed December 2008.

Sidoummou, N. (2011). Caractérisation physicochimique et évaluation des activités biologiques du mélange (miel-écorce de grenade). Mémoire de Master, département de Biologie, FS, Université de Boumerdes

SINGH SUDHEER K., AHMED SYED U. and ASHOK P. (2006). Yogurt science and technology. 2nd Ed. Cambridge : woodhead Publishing.

Sodini, I. et Beal, C. (2012). Fabrication des yaourts et laits fermentés. *Techniques de l'Ingénieur (F 6315)*. Paris- France : Pp16

Spichiger R.-E., Savolainen V. V., Fig M. et Jeanmonod D. (2002). Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. 2ème éd., Presse Polytechniques et universitaires, Lausanne, p : 286- 287. ISBN : 2-88074-502-0.

Stover E. et Mercure E. W. (2007). The Pomegranate : A New Look at the Fruit of Paradise *HortScience*, 42(5) : 1088-1092.

Syed D. N., Afaq F. et Mukhtar H. (2007). Pomegranate derived products for cancer chemoprevention. *Seminars in Cancer Biology*, 17 : 377-385.

Tabak, S., Bensoltane, A. (2011). L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche

Helicobacter pylori responsable des maladies gastroduodénales. Ed Nature et Technologie. pp 71-79.

TAMIME A. Y., KALAB M. and DAVIES G. (1984).Microstructure of set-style yoghurt manufactured from cow's milk fortified by various methods. Food Microstructure. 3, 83-92.
TAMIME A.Y. and ROBINSON R.K. (1999).Yogurt science and technology. 2nd Ed. Cambridge :woodhead Publishing.

Tamime, A.Y., Deeth, H.C. (1980).Yogurth: technology and biochemistry. Journal of Food protection, 43, 12, 939-977.

Tayel A.A.,El-BazA.F.,SalemM.FmElHadary ;,H,m(2009),Potentiql applications of pomegranate peel extract for the control of citrus green mould.Journal of diseases and protection,116(6),252-256,2009.

Temple N.J. (2000). Antioxidants and disease: More questions than answers. Nutrition Research 20:449-459.

VAN MARLE M. (1998).Structure and rheological properties of yoghurt gels and stirred yoghurts .Thèse University of Twente, Enscheded, Pays Bas.

Vidal A., Fallarero A., Peña B. R., Medina M. E., Gra B., Rivera F., Gutierrez Y. et Vuorela P. M. (2003). Studies on the toxicity of Punicagranatum L. (Punicaceae) whole fruit extracts.Journal of Ethnopharmacology 89 : 295–300.

Vignola, C.I., (2002). Science et technologie du lait : transformation du lait. Ed Lavoisier, Paris, Pp600

Villaño D., Fernández-Pachón M.S., Moyá M.L., Troncoso A.M. etGarcía-Parrilla M.C. (2007).Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical.Talanta 71: 230–235.

Wald E.(2009). Le Grenadier (Punicagranatum): Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université Henri Poincaré 1.

Walter J. S., Campbell C. S., Kellogg E. A. et Stevens P. (2002). Botanique systémique une perspective phylogénétique. Edition De Boech Université S. A., Paris, p : 318-320. ISBN : 2-7445-01239.

Zeghad N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinusofficinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine.

Zga N. (2010).Purification et identification de polyphénols stilbeniques présents dans la vigne. Thèse de Doctorat en Chimie Organique, Université de Badji Mokhtar, Annaba. p. 114.

Zheng, J., Kallio, H., Linderborg, K. and Yang, B. (2011). Broad spectrum antimutagenic activity of antioxidant active fraction of Punicagranatum L. peel extracts. *Mutation Research*.703(2): 99-107.

Zhu J., Filippich L.J. et Al Salam M. (1992).Tannic acid intoxication in sheep and mice.*Research in Vétérinaire. Science* 53 :280-292.

Zuraini Z, Rais A, Yoga Latha L, Sasidharan S, Xavier R. Antioxidant activity of Coleus Blumei, Orthosiphonstamineus, Ocimumbasilicum and Menthaarvensis from Lamiaceae Family. *Int J Nat Eng Sci.* 2008;2:93–95. [Google Schola