



Caractéristiques biochimiques et organoleptiques : Dosages des métabolites primaires et analyses sensorielles des infusions de *Punica granatum* L.

Biochemical and organoleptic characteristics: Assays of primary metabolites and sensory analyzes of infusions of *Punica granatum* L.

Fellah Boutheina^{*1}, Triki Tebra¹, Guasmi Ferdaws¹ & Ferchichi Ali²

¹Institut des Régions Arides de Médenine,

²Institut National Agronomique de Tunisie (INAT), Tunis, Tunisie.

Article info

Histoire :
Reçu le 20/02/2022
Accepté le 13/05/2022

Mots-Clès: *Tuta absoluta*, traitement chimique, Emamectin Benzoate, Spinosad, Tolfenpyrad.

*** Auteur Correspondant**

boutheinafellah@gmail.com

Résumé

Ce travail, s'inscrit dans le cadre d'évaluer quantitativement les métabolites primaires et qualitativement les métabolites secondaires des trois organes non comestibles (écorces, feuilles et fleurs) des deux cultivars du grenadier (Nabli et Gabsi) afin de mieux valoriser cette ressource naturelle. L'objectif principal est d'effectuer une étude globale qui s'intéresse à la fois sur l'étude de la composition biochimique et sur l'étude organoleptique des organes non comestibles. Les résultats montrent que les teneurs en protéines, en sucres et la composition en acides gras s'accumule différemment selon le cultivar. Ces sous-produits peuvent être considérés comme une culture potentielle qui pourrait être utile pour désigner les sous-produits du grenadier comme ingrédient dans la transformation des aliments, ce qui pourrait offrir des avantages potentiels pour la santé. Par ailleurs, les infusions des écorces, des fleurs et des feuilles possèdent des caractéristiques organoleptiques adaptées aux exigences des panélistes. Nous pouvons conclure que ces extraits peuvent être utilisés dans l'alimentation humaine.

Article info

Article history:
Received 20/02/2022
Accepted 13/05/2022

Keywords: *Tuta absoluta*, chemical treatment, Emamectin Benzoate, Spinosad and Tolfenpyrad.



Copyright©2022 JOASD

*** Corresponding author**

boutheinafellah@gmail.com

Conflict of Interest : The authors declare no conflict of interest.

Abstract

This work falls within the framework of quantitatively evaluating the primary metabolites and qualitatively the secondary metabolites of the three inedible organs (bark, leaves and flowers) of the two pomegranate cultivars (Nabli and Gabsi) in order to better enhance this natural resource. The main objective is to carry out a global study which focuses on both the study of the biochemical composition and the organoleptic study of inedible organs. The results show that protein, sugar and fatty acid composition accumulate differently depending on the cultivar. These by-products can be considered as a potential crop that could be useful in designating pomegranate by-products as an ingredient in food processing, which could provide potential health benefits. In addition, the infusions of bark, flowers and leaves have organoleptic characteristics adapted to the requirements of the panellists. We can conclude that these extracts can be used in human food.

1. INTRODUCTION

Les lipides font partie, outre que les glucides et les protéines, des constituants des aliments qui contribuent à l'apport énergétique. Rien ne fonctionne sans énergie. Les nutriments (protéines, glucides, lipides) sont les carburants de notre organisme car ils sont un des principaux intermédiaires biologiques de stockage et de consommation d'énergie. Il s'agit

d'en consommer la valeur nécessaire à notre mode de vie. Ils y jouent un rôle structural (au niveau musculaire ou encore cutané) mais sont également impliqués dans de très nombreux processus tels que la réponse immunitaire (anticorps), le transport de l'oxygène dans l'organisme (hémoglobine), ou encore la digestion (enzymes digestives). Le fruit de la grenade (*Punica granatum* L.) a montré une explosion d'intérêt au cours de la dernière

décennie et a acquis une énorme popularité, en raison de ses nombreux effets sur la santé. En fait, la sensibilisation des consommateurs aux bienfaits des produits naturels pour la santé et le bien-être continue de conduire de nouvelles tendances de consommation de super-fruits, en particulier ceux à haute teneur en polyphénols. Pour la grenade, plusieurs études scientifiques ont confirmé ses activités biologiques et les effets médicaux de ses différentes parties (arilles, écorces, feuilles et fleurs) et produits (jus frais et fermentés, extraits enrichis et huile de graines) (Aviram & Rosenblat, 2012 ; Lansky et Newman, 2007). Au cours des dernières années, une attention particulière est portée aux parties non comestibles de la grenade, et la plupart d'entre elles étaient exclusivement concentrées sur les composés phénoliques (extraction, quantification et activités antioxydantes) (Çam & Hisşil, 2010). De plus, seul un nombre limité d'études ont rapporté l'utilisation de l'écorce de grenade dans les applications de l'industrie alimentaire. À notre connaissance, les extraits d'écorces de grenade ont été dosés uniquement comme additif pour augmenter la durée de conservation de la viande (Kanatt, Chander et Sharma, 2010) et récemment dans la formulation de glaces régulières pour améliorer ses propriétés fonctionnelles (Çam, İçyer et Erdogan, 2014). Cependant, les méthodes biochimiques peuvent fournir des résultats complémentaires à la description morphologique et/ou à aux marqueurs moléculaires (Sarkhosh et al., 2007). Les composés les plus étudiés en chimio-taxonomie sont les polysaccharides, les lipides insaponifiables, les acides gras, les protéines, les acides aminés et les métabolites secondaires volatils et non volatils. La richesse des plantes en certains composés précieux en nutrition et en médecine peut fournir de nouvelles modalités de commercialisation de ces cultivars qui sont souvent sous-estimés vu leur qualité organoleptique médiocres (tel que les fruits acides ou amères). Généralement, lors d'études taxonomiques, les caractéristiques morphologiques seront toujours abordées mais elles seront combinées avec les études moléculaires et biochimiques pour identifier et classer correctement les ressources génétiques. D'après notre expérience sur les ressources de grenade, les cultivars de grenade diffèrent par certaines caractéristiques d'apparence (non publiées). Entre autres, le goût est l'un des critères de classification les plus directs et les plus courants. Ainsi, bien que le patrimoine

génétique du grenadier soit bien diversifié en Tunisie, seuls quelques cultivars sont commercialisés. Les cultivars acides et acide sucrés sont encore non valorisés. Au cours de ce travail, nous visons à fournir de nouvelles informations sur la composition chimique en métabolites primaires et secondaires de *Punica granatum* L., y compris les teneurs en acides gras, sucres et protéines. En outre, ce rapport est le premier à évaluer la composition chimique des écorces, des fleurs et des feuilles du grenadier dans le but d'éclaircir son potentiel nutritionnel en tant qu'aliment comestible.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel végétal

Le matériel faisant l'objet de cette étude est constitué de 3 organes (feuille, fleur, écorce « péricarpe ») de deux cultivars (Gabsi et Nabli) du grenadier « *Punica granatum* L. ». Les deux cultivars proviennent de la collection de l'IRA, installée dans la parcelle CFRA de la région de Zerkine II localisée au Sud tunisien à Gabes (latitude : 33° 40'N, longitude : 10° 15'E). Le choix est basé principalement sur la valorisation des organes non comestibles de ces deux cultivars. Les écorces des fruits, feuilles et les fleurs sont cueillies le matin entre 9H et 11H respectivement en mois d'octobre, avril et mai. Les échantillons sont immédiatement transportés vers le laboratoire.

Par la suite, le matériel végétal est lavé pour enlever toute saleté puis séchés à l'aire libre et à une température ambiante. Enfin, les différents organes sont broyés par un tamis de 0,5 mm de diamètre et lyophilisés séparément. Les broyats sont ensuite conservés dans des bouteilles hermétiques à -20°C, afin de pouvoir réaliser l'extraction des substances actives pour les analyses chimiques appropriées.

2.2. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford (1976). On a commencé par peser 100 mg de poudre des 3 organes déjà lyophilisés. Puis, on a ajouté 1ml de NaOH 0.1M dans des tubes eppendorf. Une fois agités par le vortex, on les a mis toute une nuit à -4°C. Le lendemain, on les a mis dans la centrifugeuse à 12000 rpm pendant 10 min. Les surnageants ont été récupérés dans des nouveaux tubes. On a préparé 18 tubes (6 échantillons avec 3 répétitions chacun) contenant 4 ml de Bradford. On a mis 100 µl de l'échantillon dans chaque

tube et on les a laissés 20 min à l'obscurité. La densité optique a été ensuite mesurée à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/VIS de marque Spectro UV-VIS Double Beam PC UVD-3000. Une dilution au dixième (1/10) est été faite pour les tubes des feuilles pour les 2 variétés comme suite: 4ml de Bradford plus 10ml de l'échantillon plus 90ml d'eau distillée. Afin de quantifier les protéines, une gamme étalon à base d'albumine est préparée parallèlement dans les mêmes conditions. Pour déterminer la zone de linéarité, une solution mère (1g/l) du standard d'albumine pur est préparée et diluée à différentes concentration (100 à 500 µg/l).

2.3. Dosage des sucres totaux

Le dosage des sucres totaux est réalisé selon la méthode de ROY (1936) modifiée par Duchateau and Florkin (1959). Après avoir pesé 100 mg de matière sèche dans un tube à essai, on a ajouté 3 ml de l'éthanol 80% pour faire extraire les sucres et on les a laissés à une température ambiante pendant 48h. Les tubes ont été ensuite déplacés à l'étuve à 80°C afin d'évaporer l'alcool. Puis, on a ajouté 20 ml de l'eau distillée et on a obtenu ainsi la solution à analyser. On a pris 2 ml de cette dernière et on y a ajouté 1 ml de solution de phénol 5%. Aussi, on a ajouté 5 ml d'acide sulfurique 95% et on a obtenu une solution de coloration jaune-orange. On les a agités au vortex de marque fine vortex FINEPCR et les a mis au bain marie pendant 15min à une température de 30°C. On a fait la lecture au spectrophotomètre de marque Spectro UV-VIS Double Beam PC UVD-3000 à 640 nm. Afin de quantifier les sucres totaux, une gamme étalon à base du glucose est préparée parallèlement dans les mêmes conditions. Pour déterminer la zone de linéarité, une solution mère (3g/l) du standard du glucose pur est préparée et diluée à différentes concentration (de 5 à 20 mg/ml).

2.4. Analyse des acides gras par Chromatographie Phase gazeuse - Spectrophotométrie de masse GC/MS

2.4.1. Préparation des extraits

L'extraction de la matière grasse est faite par la méthode Soxhlet en mélangeant 10 g de l'échantillon à extraire avec 140 ml d'hexane pur. La solution obtenue est ensuite mise dans l'évaporateur rotatif pour éliminer l'alcool.

2.4.2. Préparation des esters métyliques des acides gras

Les esters méthyliques des acides gras (E.M.A.G) sont obtenus par méthanolyse des glycérides et des acides gras libres en milieu alcalin (réaction de trans-méthylation). Pour la détermination de la composition en acides gras, les esters méthyliques sont préparés selon la norme REG. CEE n° 2568/91 fixée par la réglementation européenne pour l'analyse de l'huile d'olive et autre matière grasse. La méthode de méthylation adoptée ne nécessite pas des hautes températures, mais elle se fait à la température ambiante. Elle consiste à diluer dans un tube à essai une goutte d'huile ($\pm 0,2$ g) extraite dans 5 ml d'hexane et 0,3 ml d'une solution KOH méthanolique (2 N). Le mélange réactionnel est agité au vortex pendant 2 min puis laisser décanter jusqu'à une séparation complète de deux phases. Une phase supérieure, contenant les esters des acides gras dissous dans l'hexane et une phase inférieure formée par la fraction de glycérol et les constituants mineurs de l'huile vierge.

2.4.3. Préparation des esters métyliques des acides gras

L'identification chimique des composés volatils issus des extraits organiques, avant ou après dérivatisation, est citée dans les travaux de (Kohoude et al, 2017). Le système chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) (Agilent Technologies 5975 C est porté avec une colonne capillaire en silice fondue DB5 MS (5% phényl méthyl-polysyloxane, 30 x 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm). Les conditions chromatographiques étaient de 1 minute à 50 ° C, 50 ° C à 250 ° C à 10 ° C / min, 1 min à 250 ° C, 250 ° C à 300 ° C à 50 ° C / min et enfin 3 minutes à 300 ° C. L'ensemble du programme chromatographique a duré 30 min. A des fins d'analyse, les échantillons ont été dissous dans leurs solvants. Dix microlitres de chaque extrait sont injectés. L'hélium est utilisé comme gaz porteur à 1 ml / min. Le spectromètre de masse est ajusté pour un courant d'émission de 10 µA et une tension de multiplicateur d'électrons entre 1400 et 1500 V. La température du piège était de 250 ° C et celle de la ligne de transfert était de 270 ° C. Le balayage de masse était de 40 à 650 (amu). Les composés sont identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux enregistrés dans le NIST 08 (Institut national des normes et de la technologie).

2.5. Analyse sensorielle des extraits aqueux du grenadier

Toutes les préparations et les tests de l'analyse sensorielle sont faits au laboratoire d'aridoculture et cultures oasiennes de l'IRA Médenine. Dans le cadre de l'évaluation du potentiel nutritionnel des 3 organes du grenadier non comestible, nous avons effectués divers dosages de métabolites primaires et secondaires tels que : les protéines, les acides gras et les polyphénols. De plus, l'identification des extraits organiques est effectuée. Ainsi l'une de nos objectifs est l'application des extraits de *Punica granatum* L. non comestible (écorces, feuilles et fleurs) dans le secteur agroalimentaire. Les étapes de l'analyse sensorielle conduite au cours de cette étude sont les suivantes :

2.5.1. Préparation des extraits

Les infusions sont préparées à partir des écorces, des feuilles et des fleurs deux cultivars « Gabsi » et « Nabli » de *Punica granatum* L. selon la norme ISO pour l'analyse sensorielle (ISO 5492: 2008). En effet, 1g de chaque type d'organe sont mélangés avec 50 ml d'eau bouillante dans des récipients en porcelaine (ISO 3103: 1980). Le panel des testeurs est composé de 25 personnes (sujets naïfs) âgées de 25-40 ans avec 10 panélistes hommes et 15 femmes. Une analyse descriptive de toutes les infusions est effectuée afin de définir les caractéristiques de l'apparence, l'odeur et le goût (DIN 10969 : 2001).

2.5.2. L'épreuve descriptive

On recourt à un test analytique descriptif au cours duquel il y a mesure des caractéristiques sensorielles à travers la détermination de l'échantillon préparé accompagné d'une échelle graduée afin de déterminer l'intensité. Les panélistes sont invités à goûter une série d'infusions d'écorces, feuilles et fleurs des deux cultivars « Gabsi » et « Nabli » de *Punica granatum* L. et à décrire, l'odeur et le goût de ces produits en utilisant le plus de mots possible (ISO 5492: 2008). Une première élection est effectuée et une liste des termes conçus est préparée. Puis, en se basant sur les descripteurs retenus, une deuxième élection est effectuée. En effet, des échelles graduées sont tracées. Les juges sont sollicités à refaire la séance de dégustation et à coter toutes les infusions sur l'échelle pour tous les termes retenus. En se basant sur ces résultats, les termes qui ont le moins de sens, ou qui contiennent le moins d'information sont éliminés. Les termes les plus significatifs sont gardés (ISO 3103: 1980).

2.5.3. Traitement de l'information

Les termes les plus significatifs sont collectés et rangés dans des tableaux, résumant les préférences du panel (DIN 10969 : 2001). Puis, la moyenne des préférences collectées, pour chaque descripteur, est calculée par un logiciel statistique. Ainsi, les différences entre les résultats sont considérées comme significatives si la valeur de la probabilité calculée est inférieure à 0,05 si non, les différences sont considérées comme non significatives ($P > 0,05$).

2.6. Analyses statistiques

Les résultats des dosages spectrophotométriques ont été exprimés en moyenne \pm écart type. Toutes les courbes d'étalonnage ont été acceptées lorsque le coefficient de corrélation était supérieur à 0,98. Une analyse de variance a été réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics 20.0. L'analyse de variance (ANOVA unidirectionnelle, $p < 0.05$; test post-hoc de Duncan) a été réalisée pour les analyses.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Teneur en sucres totaux

Les teneurs en sucres totaux des extraits des écorces, fleurs et feuilles des deux variétés « Gabsi » et « Nabli » de *Punica granatum* L. sont exprimées en équivalent de glucose par gramme de la matière sèche (EGLc/100 g MS) (Fig. 1). D'après la Fig. 1, nous remarquons que le taux des sucres totaux est plus élevé dans les fleurs du grenadier « Nabli » (699,84 mg EGLc / 100 g MS) que celui du grenadier « Gabsi » (325,72 mg EGLc / 100 g MS). Les valeurs de teneur des sucres totaux dans l'écorce des deux cultivars *Punica granatum* L. représentent une différence significative : avec une valeur de $484,56 \pm 1,20b$ mg EGLc / 100 g MS pour la variété « Gabsi » et de $314,38 \pm 8,38a$ mg EGLc / 100 g MS pour la variété « Nabli ». Nous observons que le taux des sucres totaux est plus faible dans les feuilles du grenadier « Nabli » $288,08 \pm 42,33a$ mg EGLc / 100 g MS, il est moins élevé que celui du grenadier « Gabsi » $499,06 \pm 31,20b$ mg EGLc / 100 g de matière sèche, ce qui représente une différence significative. Chez le grenadier, ainsi que chez tous les autres fruits, la teneur en sucres réducteurs varie en fonction du degré de maturité. Des études montrent que la teneur en sucres réducteurs chez le fruit mur est moins important que celle chez le fruit non mur (Elfalleh et al., 2012). Une étude faite par Elfalleh et al. (2012) sur la partie comestible du

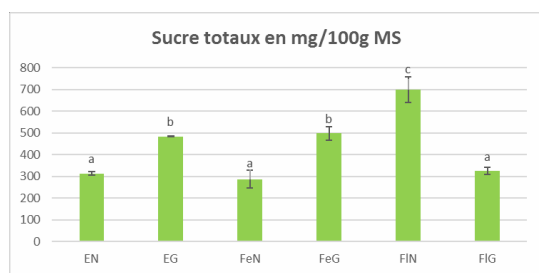


Fig. 1. Teneur en sucres totaux de *Punica granatum* L. (mg équivalent de glucose par 100 gramme de matière sèche : mg EGLc/100 g MS).

EN: Ecorce Nabli, EG: Ecorce Gabsi, FeN : Feuille Nabli, FeG : Feuille Gabsi, FIN : Fleur Nabli, FIG : Fleur Gabsi.

grenadier montre que les sucres totaux représentent environ 75-85 % du total des solides solubles dans les jus des fruits ; Le glucose et le fructose sont les principaux solides solubles dans le jus. En outre, nos résultats ne sont pas conformes, car nous remarquons des teneurs très faibles en sucres par rapport aux résultats de Elfalleh et al. (2012).

3.2. Teneur en protéine

Les teneurs en sucres totaux des extraits des écorces, fleurs et feuilles des deux variétés « Gabsi » et « Nabli » de *Punica granatum* L. sont exprimées en équivalent albumine par 100 g de matière sèche (EALb/100 g MS) (Fig. 2). D'après la Fig. 2 nous remarquons que le taux des protéines totaux est plus élevé dans les feuilles

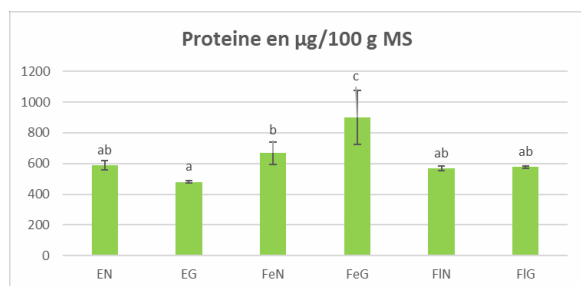


Fig. 2. Teneur de protéines de *Punica granatum* L. (µg équivalent albumine par 100 g de matière sèche)

EN: Ecorce Nabli, EG: Ecorce Gabsi, FeN: Feuille Nabli, FeG : Feuille Gabsi, FIN : Fleur Nabli, FIG : Fleur Gabsi.

du grenadier Gabsi (900,50 µg EALb / 100 g MS) alors que celui du grenadier Nabli (666,67 µg EALb / 100 g MS). Les valeurs de teneur des protéines totaux dans les fleurs des deux

cultivars *Punica granatum* « Nabli et Gabsi » sont respectivement de $568,65 \pm 15,51ab \mu\text{g EALb} / 100 \text{ g MS}$ et $576,62 \pm 6,73ab \mu\text{g EALb} / 100 \text{ g MS}$, ce qui ne représente pas une différence significative. Nous observons que le taux des protéines totaux est plus faible dans l'écorce du grenadier « Gabsi » $480,60 \pm 6,51a \mu\text{g EALb} / 100 \text{ g MS}$, il est moins élevé que celui du grenadier « Nabli » $588,22 \pm 31,93ab \mu\text{g EALb} / 100 \text{ g MS}$, ce qui représente une différence significative. En comparant nos résultats avec ceux d'Elfalleh et al. (2012) nous pouvons affirmer que le taux des protéines des organes non comestibles du grenadier (écorces, fleurs et feuilles) ne sont pas conformes aux taux des jus, des graines et des pulpes sèches, car nous remarquons des teneurs très faibles. De plus, Elfalleh et al., 2012 ont affirmé que les fractions protéiques majeures des graines qui caractérisent les trois groupes organoleptiques (sucré, acide et sucré-acide) sont les globulines et les albumines. Également, ils ont noté la présence d'autres fractions de protéines qui sont moins abondantes telles que les prolamines et les glutélines.

3.3. Teneur en acides gras

Les extraits issus de l'extraction par Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant, sont analysés par Chromatographie Phase gazeuse – Spectrophotométrie de masse (GC-MS) pour la détermination de la classification chimique des acides gras. Il est indispensable de mentionner que la GC-MS est particulièrement adaptée à l'identification et/ou à la quantification précisément de nombreuses substances présentes en très petites quantités, voire en traces. Le Tableau 1 indique la Composition chimique en acides gras de *Punica granatum* L. du cultivar « Gabsi » (G). Nous notons d'après ce Tableau 1 que les principaux acides gras identifiés sont: le β -Sitosterol, l'acide palmitique, l'acide oléique, la vitamine E, l'isopropyl palmitate, le shogaols, l'acide myristique et une petite quantité d'acide laurique. Nous notons des différences qualitative et quantitative des acides gras, par rapport aux organes. Ainsi, l'extrait d'écorce présente les teneurs les plus élevées en β -Sitosterol et la vitamine E (35% et 5% respectivement) tandis que les extraits des fleurs ont montré la teneur la plus élevée en acide arachidonique (9%). Quand aux extraits des feuilles, nous enregistrons des teneurs de β -Sitosterol, acide oléique et le shogaols (14%, 3% et 0,8% respectivement). Par ailleurs, Nous constatons que l'acide palmitique ce trouve dans

les trois organes (écorces, fleurs et feuilles) avec des différences significatives (3%, 4%, 7% respectivement) (Tableau 1). Nous notons d'après le Tableau 1 que, conformément au cultivar « Gabsi », les principaux acides gras

identifiés sont : l'acide palmitique, l'isopropyle palmitate, la vitamine E, le shogaol. En revanche, nous constatons l'absence des acides myristique, l'acide oléique le β -Sitostérol, et l'acide laurique et la présence de la bétuline. Nous notons des

Tableau 1: Composition chimique en acides gras (%) de *Punica granatum* L. du cultivar « Gabsi » (G).

Temps de rétention (min)	Composés	Nom systématique	Ecorce	Fleur	Feuille	Rôle des composés
6,188	Maltol	3-hydroxy-2- methyl-4H-pyran- 4-one	-	-	0,046 ^a	Substance cristalline également connue sous le nom d'acide larixinique. On l'utilise dans les pains et les gâteaux comme agent de saveur, en raison de son odeur proche de celle du caramel.
8,641	Phénol	Phénol, 2,4-di- tert-butyl-	-	0,042 ^a	0,37 ^b	Le composé de base du groupe, utilisé comme désinfectant et en synthèse chimique
8,90	Acide laurique	Acide dodécanoïque	-	0,184 ^a	-	Il est très largement exploité pour la fabrication de savons et de shampoings
10,04	Acide myristique	Acide Tétradécanoïque	-	0,207 ^a	0,388 ^a	Assure la fonction des protéines concernées et réguler de nombreux mécanismes cellulaires. (Erwan Beauchamp et al., 2009)
10,99	Shogaols	7,9-Di-tert-butyl- 1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8- dione C17H24O3	-	-	0,853 ^a	Les shogaols présentent une multitude d'activités biologiques, allant des activités anti-cancéreuses, anti-oxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anti- allergiques à diverses activités du système nerveux central. (Semwal et al., 2015)
11,11	Acide Palmitique	Acide Hexadécanoïque	3,173 ^a	4,535 ^{ab}	7,291 ^b	Le principal produit de la synthèse des lipides et un excellent aliment énergétique. « Effet hypercholestérolémiant ». (Guesnet et al., 2005)
11,41	Palmitate d'Isopropyle	Palmitate d'Isopropyle C19H38O2	-	1,091 ^a	-	Utilisé dans les cosmétiques comme un lubrifiant de la peau. (Loubat- Bouleuc, N., 2004)
12,261	Acide Oléique	Acide 9cis-Octadécenoïque	-	-	3,171 ^a	Rôle structural comme constituant majeur de lipides de structure Propriétés éventuellement hypocholestérolémiant et antiathérogène. (Guesnet et al., 2005)
24,22	Acide arachidonique	Eicosanoïde	-	9,672 ^c	-	Rôle structural comme constituant majeur des lipides de structure Précurseur des prostanoides de la série 2 et des leucotriènes de la série 4, des hydroperoxydes, des lipoxines des acides époxyeicoïdiques, etc. (Guesnet et al., 2005)
32,228	Vitamine E	α -Tocophérol	5,123 ^b	-	-	Joue un rôle d'anti- oxydant majeur des structures lipidiques, prévient aussi l'oxydation des lipoprotéines et s'oppose au développement de la plaque d'athérome. Egalement, rôle dans la prévention cardio-vasculaire. Par ailleurs, les tocophérols exercent une action stabilisatrice des membranes cellulaires. (Leger, 200)
34,757	β - Sitostérol	24-éthyl-cholest- 5-én-3ol	35,347 ^c	-	13,731 ^d	Les β -sitostérol sont connus pour leur rôle dans la nutrition humaine et pour leur potentiel anticancéreux. Dans l'organisme humain ils peuvent contribuer à leur reconnaissance en tant que substance ou agent bénéfique bénéficiant à certains groupes de patients spécifiques, tels que les patients atteints de cancer du sein ou du côlon, au moins sous la forme d'un complément alimentaire. (Novotny et al., 2017)

différences qualitative et quantitative des acides gras, par rapport à ceux identifiés dans le cultivar « Gabsi » et entre les organes du cultivar « Nabli ». Ainsi, dans les trois extraits du cultivar « Nabli » (fleurs, écorces, feuilles) nous constatons que l'acide palmitique est présent avec des teneurs non significatives (1,7%, 2% et 2,8% respectivement). Par ailleurs, dans les extraits des fleurs nous enregistrons des teneurs moins abondantes que celles trouvées dans les fleurs du cultivar « Gabsi » la vitamine E, l'isopropyl palmitate et la bétuline (1,5%, 0,5% et 1% respectivement). Quand aux extraits des feuilles, la teneur la plus élevée est l'isopropyl palmitate (0,9%). De plus, en détaillant les résultats pour les deux cultivars et le même organe, nous signalons que l'extrait d'écorce du cultivar « Gabsi » diffère de l'écorce « Nabli » par sa composition chimique en acide gras. Par ailleurs, les fleurs et les feuilles des deux cultivars, diffèrent dans leur qualité et quantité de la composition chimique en acide gras. Conformément aux protéines et sucres, les acides gras jouent un rôle indispensable pour le fonctionnement de la plante. En effet, le taux d'acides gras saturés est un moyen de réguler la fluidité des membranes biologiques en fonction de la température (Rioux et al., 2016). En outre, la liaison de l'acide gras à une protéine peut changer son hydrophobicité, régule son insertion dans la membrane, ou encore agir sur la stabilisation et les interactions entre protéines. La composition en acides gras dépend de plusieurs facteurs, tels que la température, la teneur en sol et l'altitude (Hassan et al., 2011). De plus, les acides gras essentiels ne peuvent pas être synthétisés dans le corps humain. Ces acides gras doivent être fournis par les aliments. Les études portant sur les acides gras des parties non comestibles du grenadier sont presque inexistantes, à l'exception de quelque publication sur les fleurs et les feuilles. Une étude faite sur quatre cultivars de fleurs de *Punica granatum* L. tunisiens montre que le principal acide gras saturé est l'acide palmitique (Mekni et al., 2013), ceci concorde avec nos résultats. De plus, nos résultats ont montré que l'acide arachidonique (omega-6) est présent dans la fleur du cultivar Gabsi alors qu'il est absent chez le cultivar Nabli. Ce qui n'est pas conforme avec Mekni et al. (2013), car ils ont trouvé l'acide arachidonique chez la fleur du cultivar Nabli, mais absent chez le cultivar Gabsi. Les acides gras essentiels tels que l'acide palmitique, l'acide gras le plus abondant dans l'alimentation humaine, causent des dommages

oxydatifs à l'ADN, la rupture du brin d'ADN, la nécrose et l'apoptose dans les cellules humaines in vitro, mais, lorsqu'ils sont consommés avec d'autres acides gras, tels que les acides gras polyinsaturés, détectés dans les fleurs de grenadier, il est peu probable qu'ils aient un impact significatif sur la santé humaine. En outre, Uysal et al. (2015) ont montré les compositions en acides gras des neuf différentes feuilles d'arbres fruitiers, et ils ont indiqué que l'acide gras prédominant chez les feuilles de mûrier, de figue, de raisin, de grenade et de loquat est l'acide α -linoléique. L'acide linoléique (C18 : 3 ω 3) est déterminé comme étant le principal acide gras de six cultivars du grenadier de la Turquie par Ercisli et al. (2007). Ce résultat n'est pas compatible avec la présente étude, ceci met l'accent sur les variabilités génétiques, environnementales et expérimentales qui influencent les teneurs et les compositions des acides gras. Ils ont signalé aussi que la plus forte portion en acides gras insaturés se trouve dans les feuilles du grenadier. Par ailleurs, des petites quantités d'acides myristiques et lauriques sont enregistrées chez le cultivar Gabsi. Ces huiles végétales pourraient avoir des propriétés physiques et chimiques plus souhaitables pour l'industrie alimentaire. Ils sont considérés comme de bonnes sources d'acides gras essentiels dans l'alimentation (Ercisli et al., 2007). De plus, des études antérieures ont suggéré que l'acide palmitoléique en circulation, un produit de la synthèse de graisse endogène, pourrait directement réguler et protéger contre la résistance à l'insuline et la dérégulation métabolique, en plus des associations protectrices et autres associations délétères entre le palmitoléate en circulation et le risque métabolique. Cependant, Yang et al. (2000) ont suggéré que les acides gras oméga 7 fournissent des éléments de base essentiels pour la peau, les cheveux et les ongles. Il aide à lutter contre la sécheresse, les rides, la perte d'élasticité de la peau et d'autres symptômes, ainsi qu'à soutenir de nombreuses fonctions de la peau. En outre, l'acide oléique (C18 : 1 ω 9) était le principal acide gras monoinsaturé chez les feuilles des deux cultivars. De même, l'acide oléique était l'acide principal dans la composition en acides gras saturés de plusieurs espèces végétales telles que *Vitis labrusca* et *V. vinifera* (Santos et al., 2011), *Achillea millefolium* (Dias et al., 2013) et certaines espèces de Fabaceae (Keskin et al., 2013). Les feuilles des arbres fruitiers sont plus riches en acide gras polyinsaturé. Nos résultats

ont montré des variations statistiques significatives ($p < 0.05$) des niveaux des acides gras. Ces variations dépendent des cultivars étudiés, car ils sont plantés dans la même parcelle, dans les mêmes conditions climatiques et récoltés au même moment. Nos résultats sont peut-être confirmés par ceux de Hajimahmoodi et al. (2012), qui ont étudié la composition en acides gras de certaines fleurs de grenade iraniennes et ont constaté des différences statistiques entre les cultivars, ainsi que par Mekni et al. (2013), qui ont analysé la composition en acides gras de quelques fleurs du grenadier tunisiennes de la région du nord-ouest « Testour ». Ces résultats imitent des travaux antérieurs montrant que la composition en acides gras est l'une des caractéristiques déterminées génétiquement, avec un impact moindre sur les facteurs environnementaux (Hrncirik et Fritsche, 2005).

3.4. Etude organoleptique

Les écorces, les fleurs et les feuilles des deux variétés « Gabsi » et « Nabli » du *Punica granatum* L. sont infusées dans de l'eau bouillante. Nous effectuons une analyse descriptive de toutes les infusions concernant

leur couleur, leur odeur et leur goût. Nous demandons aux panélistes de goûter chaque infusion trois fois séparément et de répondre à des questions à choix multiples résumant l'odeur, le goût et les apparences de ces infusions (Tableau 2). La majorité des panélistes affirment que l'apparence des infusions pour les écorces des deux variétés « Nabli » et « Gabsi » de *Punica granatum* L. sont d'une manière générale décrites comme un liquide jaune-orange. Leur odeur est décrite semblable aux odeurs herbes et aux épices pour la variété « Nabli » et sente la menthe et le thé, pour l'écorce « Gabsi ». L'odeur est jugée plaisante pour les deux écorces des deux cultivars. Leur goût est évalué comme agréable pour l'écorce « Gabsi » et désagréable pour l'écorce « Nabli ». Les infusions des fleurs des deux variétés « Nabli » et « Gabsi » apparaissent comme un liquide rouge-grenadine sentant l'odeur de l'herbe et semblable à l'odeur du café pour la fleur de la variété « Gabsi ». Elles présentent un goût très amer avec une caractéristique déplaisante à la variété « Nabli » et plaisante à la variété « Gabsi ». Une minorité des panélistes ressentent un goût sucré chez les fleurs de deux variétés. Les infusions des feuilles ont une couleur verte, l'odeur est jugée

Tableau 2. Analyse sensorielle descriptive des infusions des écorces, fleurs et feuilles de deux variétés *Punica granatum* L. (Les résultats sont exprimés en % des testeurs).

Caractéristiques	Attribut	Ecorce		Fleur		Feuille	
		Nabli	Gabsi	Nabli	Gabsi	Nabli	Gabsi
Apparence	Vert	0	0	0	0	93	93
	Jaune-orange	92	88	20	16	7	7
	Rouge	8	12	80	84	0	0
Odeur	Herbes sèches	57	47	48	28	60	60
	Herbes	32	66	16	47	0	0
	Thé	22	57	4	8	22	60
	Café	2	10	28	33	8	0
	Citron	0	0	0	0	0	0
	Epices	41	35	24	16	24	36
	Fer	8	0	0	4	8	4
	Odeur plaisante	72	84	22	68	28	62
	Odeur	28	16	78	32	72	38
Goût	Acide	2	0	2	0	8	4
	Salé	0	0	0	0	4	4
	Amer	62	48	74	36	36	35
	Astringent	24	46	16	35	12	11
	Tisane	12	42	4	32	40	46
	Sucré	0	0	4	4	0	0
	Agréable	20	44	20	32	64	68
	Désagréable	80	56	80	68	36	32

déplaisante semblable à celle des herbes sèches pour les feuilles « Nabli » et plaisante semblable aux herbes sèches et le thé pour les feuilles « Gabsi ». Ces derniers présentent un goût amer et est évalué comme agréable à des tisanes (Tableau 3). L'évaluation sensorielle d'un produit peut se faire simplement en le regardant ou en le goûtant, mais chaque dégustateur (ou juge) met dans cette évaluation une part de subjectivité différente. En effet, la qualité est une notion très utilisée dans les entreprises. Elle est définie comme "l'ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites" (ISO 8402, 1994) ou comme "l'aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire des exigences" (norme ISO 9000, 2000). Dans le même contexte de « qualité sensorielle », la notion de la psychophysique est inventée par le médecin Gustav Fechner et qui consiste essentiellement à étudier la relation entre le stimulus physique, la perception et la représentation mentale que l'on en a (Fechner,

plus, Wald, (2009) a signalé que la saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente, Le goût amer est dû à la présence des quinones dans les tisanes, ceci corrobore avec nos résultats. Mekni et al. (2013), ont montré dans une étude sur le profil des arômes volatiles des fleurs du grenadier de quatre cultivars tunisiens (Chelfi, Nabli, Gabsi et Tounsi) que les composés aromatiques s'accumulent différemment selon le cultivar et l'accumulation de métabolites dépend de la composition enzymatique de l'échantillon déterminée génétiquement. Ainsi, ces mêmes auteurs ont signalé que les terpénoïdes constituaient le groupe de substances volatiles le plus important parmi tous les cultivars étudiés. Ce groupe de substances volatiles peut être le principal facteur contribuant à l'arôme général des fleurs de grenade (Mekni et al., 2013). Les trépénoïdes sont également le principal produit volatil présent dans le jus de grenade, en plus des alcools, esters et aldéhydes (Vázquez-Araújo et al., 2011), ce qui suggère que les fruits de la grenade conservent certaines de leurs

Tableau 3. Caractérisation en métabolites secondaires

Organe Cultivars	Ecorce		Fleurs		Feuilles	
	Nabli	Gabsi	Nabli	Gabsi	Nabli	Gabsi
Alcaloïdes	+	+	+	+	+	+
Tanins	+	+	+	+	+	+
Polyphénols	+	+	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+
Saponosides	+	+	+	+	+	+
Quinones	+	+	+	+	+	+

(+) : classe de composés de métabolisme secondaire détectée

(-) : classe de composés de métabolisme secondaire non détectée

1860-1877). D'après ce même auteur, une sensation ne peut jamais être mesurée directement. En se basant sur l'ensemble de ces notions, nous pouvons conclure que les variabilités des réponses enregistrées au cours de l'analyse sensorielle des infusions sont attribuées aux différences de perceptions de chaque juge. Par ailleurs, il est indispensable de mentionner que l'évaluation de la qualité sensorielle des infusions des organes (écorces, fleurs et feuilles) non comestibles du grenadier n'a pas été décrite auparavant. Cependant, il est rapporté qu'en Inde (Nagaraju et Rao, 1990 et en Guatemala (Caceres et al., 1987), les écorces séchées de grenade sont décoctées dans l'eau et utilisés à la fois pour des usages internes et externes pour de nombreux problèmes surtout pour les aphtes, la diarrhée et les ulcères. De

substances volatiles lors de la différenciation des fleurs en fruits mûrs pour enfin donner le goût floral fruité agréable et sucré du jus de grenade. Par ailleurs, l'infusion préparée en faisant bouillir les bourgeons des fleurs de grenade est utilisée pour soigner la diarrhée chronique, en particulier chez les enfants (Kaur et al., 2006). De plus, l'infusion de feuilles de grenade aide à prévenir l'anémie.

3.5. Caractérisation des métabolites secondaires

Cette analyse semi-qualitative est basée sur des tests de caractérisations qui nous ont permis de mettre en évidence les principales familles des métabolites secondaires qui constituent nos échantillons en utilisant des réactifs appropriés (Marzouk et al, 2009). Les principaux résultats

sont présentés dans le Tableau 3. D'après ces résultats, on observe que les deux variétés « Nabli » et « Gabsi » sont identiques dans leurs contenus en métabolites secondaires. Aussi, on remarque que, indépendamment de la variété du grenadier les écorces de *Punica granatum* L. sont riches en tanins, dérivés phénolique, flavonoïdes, alcaloïdes, saponosides et quinones. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par (Elfalleh et al., 2012) sur des variétés de l'oasis de Gabès. En outre, l'analyse semi-quantitative des métabolites secondaires des trois organes (écorces, feuilles et fleurs) des deux cultivars de *Punica granatum* a indiqué la présence des alcaloïdes, des tanins et des flavonoïdes, des dérivés phénoliques, saponosides et quinones. La présence de ces métabolites secondaires suggère un potentiel bioactif important. D'après (Elfalleh, 2012), l'écorce et la fleur du fruit sont les plus riches en polyphénols, flavonoïdes, anthocyanines et tannins hydrolysables comparés aux feuilles et graines. Ils sont aussi plus riches en tanins c'est pour cela qu'ils servaient de jadis à la fabrication de l'encre, le tannage des peaux et en médecine. D'après Elfalleh et al., (2012) la phytochimie de grenade diffère selon les solvants et les organes utilisés pour extraire les métabolites secondaires. Ces auteurs, ont repéré la présence des flavonoïdes, Tanins, alcaloïdes et des saponines dans l'extrait méthanolique d'écorce, alors que l'extraction par Le chloroforme et l'éther de pétrole ont donné des résultats négatifs. Pareillement, Bhandary et al., (2012), ont révélé l'absence des tanins, des flavonoïdes, des saponines et des alcaloïdes des extraits chloroformique.

4. CONCLUSION

A terme de ce travail relatif au dosage des métabolites primaires et à l'analyse semi quantitative des trois organes du grenadier, nos résultats ainsi que nos constatations montrent que ces trois organes non comestibles des deux cultivars du grenadier *Punica granatum* L. sont une riche source en métabolites primaires, surtout en acide gras et en métabolites secondaires. D'après la majorité des panélistes, les infusions des écorces, des fleurs et des feuilles de des deux cultivars du grenadier (Nabli et Gabsi) sont adaptées à l'alimentation et la grande préférence pour les pénélistes est le cultivar Gabsi.

Remerciement

Les auteurs tiennent à remercier le chef de la laboratoire aridoculture et culture oasisienne Pr Kamel Nagez pour son soutien.

REFERENCES

- Aviram M., Rosenblat M. (2012). Pomegranate Protection against Cardiovascular Diseases. Evidence based complementary and alternative medicine (4): 382-763
- Bhandary S.K., Suchetha Kumari N., Vadisha S. Bhat S.K.P., Mahesh P.B. (2012). Preliminary phytochemical screening of various extracts of *Punica granatum* peel, whole fruit and seeds. Nitte University. Journal of Health Science NUJHS Vol. 2, No.4, ISSN 2249-7110
- Çam M., Hisbil Y. (2010). Pressurised water extraction of polyphenols from pomegranate peels. Food Chemistry, 123(3), 878-885.
- Çam, M., İcyer N. C., Erdoğan F. (2014). Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. LWT - Food Science and Technology, 55(1), 117-123.
- Caceres A., Girón L.M., Alvarado S.R., Torres M.F. (1987). Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. Journal of Ethnopharmacology, 20(3), 223-237.
- Dias, M.I., Barros, L., Dueñas, M., Pereira, E., Carvalho, A.M., Alves, R.C., Ferreira, I.C., (2013). Chemical composition of wild and commercial *Achillea millefolium* L. and bioactivity of the methanolic extract, infusion, and decoction. Food Chemistry, 141, 4152-4160.
- Elfalleh W. (2012). Evaluation de la qualité nutritionnelle et des pouvoirs antioxydants de cultivars tunisiens et chinois de grenadier (*Punica granatum* L.). Thèse de Doctorat, Faculté des sciences de Tunis.
- Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N., & Ferchichi, A., (2012). Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. Journal of Medicinal Plant Research, 6, 4724-4730.
- Ercisli, S., Agar, G., Orhan, E., Yildirim, N., & Hizarci, Y. (2007). Interspecific variability of RAPD and fatty acid composition of some pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) growing in Southern Anatolia Region in Turkey.

- Biochemical Systematics and Ecology, 35(11), 764–769.
- Hajimahmoodi, M., Moghaddam, G., Khazani, H., Oveisi, M., Sadeghi, N., Jannat, B., (2012). Characterization of fatty acid methyl ester contents in pomegranate flowers. *Res. Pharm. Sci.* 7, S640.
- Hrcirik K., Fritsche S. (2005). Relation between the Endogenous Antioxidant System and the Quality of Extra Virgin Olive Oil under Accelerated Storage Conditions. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 6, 2103–2110.
- Hassan, F.U., Kaleem, S., Ahmad, M., 2011. Oil and fatty acid distribution in different circles of sunflower head. *Food Chemistry*, 128, 590–595.
- Kanatt S R., Chander R, Sharma A (2010). Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *45(2)*, 216–222.
- Kaur G, Jabbar Z, Athar M, Alam MS., (2006). *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol* 44:984–993.
- Keskin C., Kaçar S. (2013). Fatty acid composition of root and shoot samples of some *Astragalus* L. (Fabaceae) taxa growing in the east and southeast of Turkey. *Turk J Biol* (2013) 37: 122-128.
- Lansky E.P., Newman R.A., (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J. Ethnopharmacol.* 109, 177–206.
- Marzouk B., Marzouk Z., Decor R., Edziri H., Haloui E., Fenina N., Aouni M., (2009). Antibacterial and anticandidal screening of Tunisian *Citrullus colocynthis* Schrad from Medenine. *J Ethnopharmacol* 125(2):344- 349.
- Mekni M., Flamini G., Garrab M., Hmida R.B. Cheraief I., Mastouri M, Hammami M. (2013). Aroma volatile components, fatty acids and antibacterial activity of four Tunisian *Punica granatum* L. flower cultivars. *Industrial Crops and Products*, 48(), 111–117.
- Nagaraju N., Rao K.N. (1990). A survey of plant crude drugs of rayalaseema, Andhra Pradesh, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 29(2), 137–158.
- Rioux C., Castellanos-Ryan N., Parent S., Séguin J.R. (2016). The interaction between temperament and the family environment in adolescent substance use and externalizing behaviors: Support for diathesis– stress or differential susceptibility. *Developmental Review*.
- Santos L.P., Morais D.R., Souza N.E., Cottica S.M., Boroski M., Visentainer J.V., (2011). Phenolic compounds and fatty acids in different parts of *Vitis labrusca* and *V. vinifera* grapes. *Food Research International*, 44, 1414–1418. Sarkhosh et al., 2007
- Uysal S., Aktumsek A. (2015). A phytochemical study on *Potentilla anatolica*: An endemic Turkish plant. *Industrial Crops and Products*, 76,1001–1007.
- Vázquez-Araújo L., Koppel K., Chambers IV. E., Adhikari K., Carbonell-Barrachina A.A, (2011). Instrumental and sensory aroma profile of pomegranate juices from the USA: differences between fresh and commercial juice, *26(2)*, 129– 138.
- Wald E. (2009). Le grenadier (*Punica granatum* L.): Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Pages 36.
- Yang B., Kalimo K.O., Tahvonon R.L., Mattila L.M., Katajisto J.K., Kallio H.P., (2000). Effect of dietary supplementation with sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) seed and pulp oils on the fatty acid composition of skin glycerophospholipids of patients with atopic dermatitis. *J. Nutr. Biochem.* 11 (6), 338–340.