

INFLUENCE DE LA NATURE DU SOL SUR LA QUALITÉ PHYTOCHIMIQUE DU FRUIT DU GRENADIER (*PUNICA GRANATUM L.*)

HASSEN Anissa^{1*}, BENSLAMA Mohamed² et DESOBRY Stéphane³

1. École Supérieure des Sciences de l'Aliment et des Industries Agroalimentaires, Beaulieu, Alger, Algérie

2. Université BADJI Mokhtar ANNABA Faculté des Sciences Biologiques - Algérie

3. ENSAIA - Université de Lorraine - France

Reçu le 24/01/2021, Révisé le 05/06/2021, Accepté le 19/06/2021

Résumé

Description du sujet : Généralement la consommation des fruits de grenade s'oriente plus sur la meilleure qualité gustative, mais lors de cette étude il est question d'établir une liaison entre le taux élevé d'antioxydant (qui ont un effet bénéfique dans la prévention de certaines maladies dont les cancers) et de quelques paramètres chimiques du fruit, à savoir, le taux de glucide, d'acidité titrable ainsi que la vitamine C.

Objectifs : L'étude a été menée dans l'objectif d'évaluer l'influence de la composition chimique du sol sur la qualité nutritionnelle et la teneur en antioxydants de la grenade *Punica granatum* dans différentes zones agro-écologiques d'Algérie.

Méthodes : L'échantillonnage s'est fait dans 7 wilayas (huit régions) d'Algérie répartie entre le nord et le sud. Une variété a été utilisée "Sifri" pour permettre cette étude. Une estimation des caractéristiques, de la qualité nutritionnelle (Protéines, Glucides, Lipides, Vitamine C) et de la teneur en antioxydants (Polyphénols et Flavonoïdes) du fruit a d'abord été effectuée. Par la suite, une vérification de l'effet des sols sur la qualité du fruit a été réalisée.

Résultats : Les résultats ont montrés que le taux du calcaire actif ainsi que les réserves en potassium total sont faible sur l'ensemble des sols étudiés. Cependant, 23,52% des sols sont considérés comme sol humifère (MO de 5% à 10%). Les éléments nutritionnels contenus dans le fruit de la grenade sont très fortement corrélés à la nature du sol. La richesse des grenades en antioxydants est donc proportionnelle à celle du sol en éléments minéraux.

Conclusion : Ce résultat préliminaire constitue une avancée dans la détermination de la qualité nutritionnelle des grenades à recommander pour les besoins alimentaires en Algérie.

Mots clés : Acidité, Antioxydants, Flavonoïdes, Glucides, Polyphénols, *Punica granatum*; Vitamine C.

SOIL NATURE INFLUENCE ON THE PHYTOCHEMICAL QUALITY OF THE POMEGRANATE FRUIT (*PUNICA GRANATUM L.*)

Abstract

Subject description: The pomegranate consumption is generally drawn by its taste quality; however, this study will demonstrate the link between high levels of antioxidants (known to carry beneficial effect in preventing certain disease notably cancers) and few chemical parameters of the fruit, namely the carbohydrate level, titratable acidity, and Vitamin C.

Objectives: The study was conducted to measure the influence of the soil's chemical parameters on the pomegranate's (*Punica granatum*) nutritional quality and levels of carbohydrates in the different agro-ecological areas of Algeria.

Methods: The sampling was performed in 7 Wilayas (eight regions) across Algeria, distributed between north and south. "Sifri" was the chosen variety during this study. First, a characteristics estimation of nutritional quality (Proteins, Carbohydrates, Lipids and Vitamin C) and antioxidants (Polyphenols and Flavonoids) levels measurement were performed. Then, a verification of the soil's effect on the fruit's quality.

Results: The results have shown that active calcium and potassium reserve levels were low in the studied soils; with 23.52% of soils considered as humus soils (MO from 5% to 10%). Nutritional elements of the pomegranate fruit are heavily correlated with the soil's components. Antioxidants abundance in the fruit is therefore proportional to the quantity of mineral elements in the soil.

Conclusion: The preliminary results constitute an advanced determination about the nutritional quality of pomegranates and how they can respond to Algeria's alimentary needs.

Key words: Acidity, Antioxidants, Carbohydrates, Flavonoids, Polyphenols, *Punica granatum*, Vitamin C.

*Auteur correspondant: HASSEN Anissa, E-mail: hassen@essaia.dz

INTRODUCTION

Depuis de nombreuses années la médecine s'appuie fondamentalement sur les vertus des plantes médicinales et plus la recherche scientifique avance, plus il en ressort que certains végétaux présentent des caractéristiques en matière de guérison ou de prévention surprenantes, c'est pour cela qu'une meilleure connaissance des plantes devient une priorité. Cette étude s'oriente vers un fruit. La grenade, qui depuis des années a marqué par son efficacité en matière de prévention vis à vis de certaines maladies tel que celles citées dans l'étude de Fuhrman et Aviram en 2006 qui ont également démontré que ce fruit avait un effet sur les plaquettes sanguines empêchant la formation des thromboses [1], pour lutter contre les maladies cardiovasculaires ou bien l'étude qui montre que la consommation de grenade permet de baisser la tension artérielle comme stipulé dans les recherches de Ranade en 2009 [2], et beaucoup d'autres études ont prouvé que *Punica granatum* avait un effet considérable pour prévenir contre beaucoup de cancers à savoir le cancer du sein d'après l'étude de Kim en 2002 [3], ou bien le cancer du poumon de Syed en 2007 [4] et plusieurs autres pathologies. D'où l'intérêt majeur de mettre en lumière ce fruit et donc l'objectif est de réaliser des travaux de recherche autour du grenadier. Ce fruit, c'est *Punica granatum* appelé couramment, la grenade, fruit du grenadier. Cette arbre a été introduit en Algérie [5], et est cultivé dans plusieurs régions du pays, allant des zones du littorale et de la Mitidja jusqu'aux zones subarides, voir même au porte des zones arides se frayant une place parfois au niveau de certains oasis comme retrouvé à Bechar. D'un point de vue économique, une seule variété a été sélectionnée pour son gout sucré et agréable au palais avec la particularité de ne pas présenter de pépins, c'est la variété "*sifri*" qui a été implantée pour sa commercialisation, laissant donc les autres variétés se développer de manière sauvage chez l'habitant. La variété sélectionnée "*sifri*", ne présente pas forcément les meilleures propriétés nutritionnelles ou les meilleures teneurs en antioxydants. La présente étude, n'a pas pour but de comparer les différentes variétés entre elles afin de distinguer la meilleure, mais plutôt, pour objectif principal de mettre en évidence la synergie entre les caractéristiques du sol et les composants nutritionnels et les taux d'antioxydants les plus élevés.

L'hypothèse voulant que le maintien de la teneur en composés chimiques à une valeur recommandée selon la disparité des sols est donc soumise. Les objectifs spécifiques sont de vérifier si les caractéristiques du sol permettent d'améliorer (i) les propriétés nutritionnelles, et (iii) les teneurs en antioxydants.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Présentation des zones d'étude

Les échantillonnages ont été effectués sur 8 zones d'études dans 7 wilayas d'Algérie répartie sur la carte géographique de la figure 1, pour aboutir à un nombre de 17 échantillons. L'échantillonnage s'effectue sur les régions agricoles ou sont présents les arbres de grenadier. Les 8 régions ont été sélectionnées sur le territoire nationale (Algérie) afin de procéder à l'échantillonnage des fruits de grenadier, pendant la période de fructification des arbres de grenadier à savoir entre le 9 septembre 2019 jusqu'au 14 octobre 2019 et durant cette période la récolte à variée d'une région à une autre, car cela dépendait du degrés de maturation des fruits qui été influencé par les conditions météorologiques et par conséquent variait d'une année à une autre.

-*Alger*: Dont les coordonnées GPS sont : Latitude 36°48'49" Nord Longitude :03°14'56"Est , elle se caractérise par un climat méditerranéen tempéré qui a comme particularité de longs étés chauds et secs et des hivers doux et humides, la neige est rare, les pluies sont abondantes et peuvent être diluviennes. Il fait généralement chaud surtout de la mi-juillet à la mi-août, la température varie généralement de 6°C à 30°C. Les codes des échantillons sont : E01, E02, E03, E05, E06 (Fig. 2).

-*Annaba* : Dont les coordonnées GPS sont : Latitude 36° 55' 0" Nord Longitude 7° 40' 0" Est, elle est caractérisée par des collines et de plaines et son climat est de type méditerranéen, humide en Hiver, chaud en été. Concernant la pluviométrie, elle varie entre 650 et 1000 mm/an et la température moyenne varie entre 14° et 34°C. Le code de l'échantillon est: E19 (Fig. 2).

-*Batna*: Dont les coordonnées GPS sont : Latitude 35°32' 60" Nord Longitude 6° 10' 0.001" Est, son climat est celui d'une région semi-aride et la température moyenne est de 4°C en janvier et de 35°C en juillet.

Durant l'hiver la température descend en dessous de zéro la nuit avec souvent des gelées (présence de verglas). Les codes des échantillons sont : E14, E15 (Fig. 2).

-*Dar El Beida*: Dont les coordonnées GPS sont : Latitude 36° 42' 51" Nord Longitude 3°12' 45" est,

elle se caractérise par un mois très chaud à savoir Aout avec une température moyenne de 25,7°C et le mois le plus froid, Janvier, avec une température moyenne de 11,6°C. Les codes des échantillons sont : E11, E21 (Fig. 2).

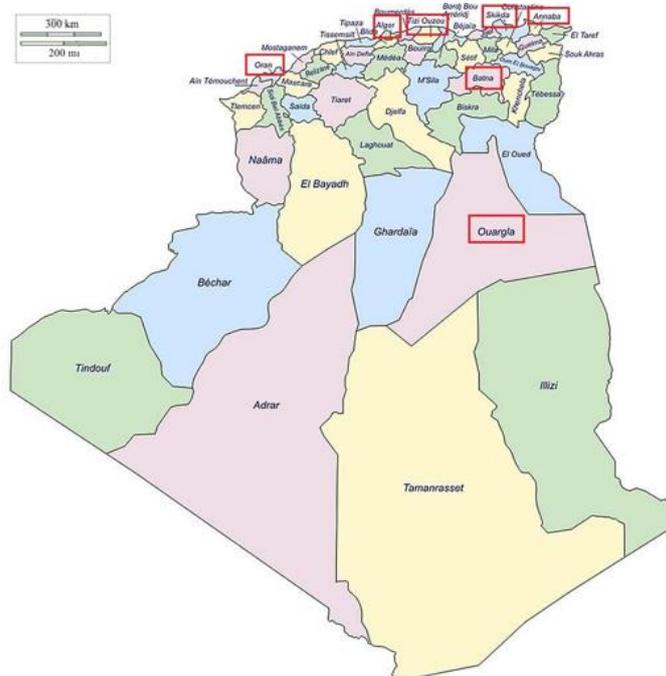


Figure 1: Carte géographique de l'Algérie et représentation des zones d'échantillonnage

-*Oran*: Dont les coordonnées GPS sont : Latitude 35°41'49.00" Nord Longitude 0°37'59.00" West, La région d'Oran est caractérisée par un climat méditerranéen sec, des hivers doux, un ciel lumineux et dégagé, pendant les mois d'été, les précipitations deviennent rares voire inexistantes avec de faibles précipitations, la température varie généralement de 6 °C à 30 °C et est rarement inférieure à 2°C ou supérieure à 34°C. Le code de l'échantillon est: E13 (Fig. 2).

-*Ouargla* : Dont les coordonnées GPS sont : Latitude: 31°56.9592'Nord Longitude: 5°19.5012' Est, Les températures moyennes mensuelles enregistrées au mois le plus chaud (juillet) sont de 48°C à Touggourt et de 50° C à Hassi Messaoud, alors que celles du mois le plus froid (janvier) sont de 10,8° C à Touggourt et de 9,7° C à Ouargla. Le code de l'échantillon est : E20 (Fig. 2).

-*Skikda*: Dont les coordonnées GPS sont : Latitude 36° 52' 34.21" Nord Longitude 6°54'33.16" Est, Les températures sont douces en hiver (11°C en Janvier) et chaude en été (24°C en Août) sur le littoral,

et sont moins douces en hiver 9°C et plus chaudes en été 27° C au niveau du territoire intérieur. Le code de l'échantillon est : E09 (Fig. 2).

-*Tizi Ouzou* : Dont les coordonnées GPS sont : Latitude 36° 42' 42 Nord Longitude 4°2' 45 Est, elle se situe sur la zone entre les masses d'air polaire et tropical, sachant que depuis le mois d'octobre jusqu'au mois d'avril elle est caractérisés par une saison froide et humide et que les autres mois de l'année sont caractérisé par la chaleur et sécheresse. La température varie généralement de 5°C à 31°C. Les codes des échantillons sont: E10, E16, E17, E18, E22. (Fig. 2).

2. Méthodes d'étude

2.1. Prélèvement et analyse du sol

Dans l'esprit d'avoir un échantillon de sol représentatif, 20 carottes de terre prélevées au hasard un peu partout dans chaque site d'étude. L'échantillon aléatoire (au hasard) a été réalisé selon un parcours en zigzag couvrant la parcelle d'étude.

Les échantillons ont été prélevés à une profondeur d'environ 15 cm, étant donné que le travail du sol assure le mélange des éléments nutritifs jusqu'à environ 15 cm. Comme les couches inférieures du sol contiennent habituellement beaucoup moins

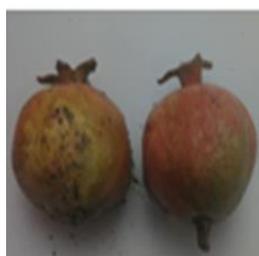
d'éléments nutritifs, un échantillonnage plus profond risquerait de ne pas être représentatif du champ. Au final, 400 grammes de chaque site ont été récupéré. Il doit cependant être représentatif de 20 000 tonnes de sol, soit la quantité contenue dans 10 ha [6].



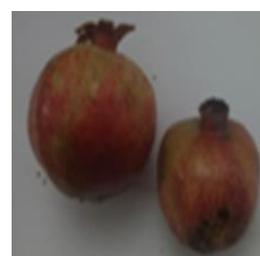
E01 Grenade possédant une coloration rosâtre de l'écorce



E03 Grenade possédant une coloration jaunâtre de l'écorce



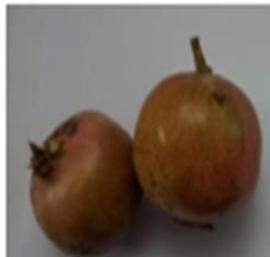
E05 Grenade possédant une coloration de l'écorce rosâtre



E06 Grenade possédant une coloration de l'écorce rose et jaune.



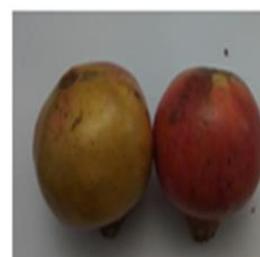
E09 Grenade possédant une coloration de l'écorce très jaune, bien que le fruit est arrivé à maturité.



E10 Grenade possédant une coloration de l'écorce marron.



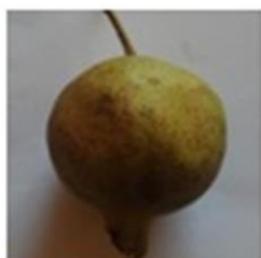
E11 Grenade possédant une coloration de l'écorce très jaune et marron, bien que le fruit est arrivé à maturité



E13 Grenade possédant une coloration de l'écorce qui est jaune et rouge.



E14 Grenade possédant une coloration de l'écorce jaune.



E15 Grenade possédant une coloration de l'écorce verdâtre à jaune.



E16 Grenade possédant une coloration de l'écorce qui est rose



E17 Grenade possédant une coloration de l'écorce qui est clair.



E18 Grenade possédant une coloration de l'écorce jaune orange



E19 Grenade possédant une coloration de l'écorce jaune tachetée



E20 Grenade possédant une coloration de l'écorce très jaune à maturité.



E21 Grenade possédant une coloration de l'écorce qui est verte à maturité.



E22 Grenade possédant une coloration de l'écorce rose et jaune

Figure 2: Les fruits des grenadiers récoltés avec leurs caractéristiques

-*Évaluation du potentiel d'hydrogène (pH)* : Le pH est un coefficient qui caractérise l'acidité ou la basicité d'un sol. Il définit la concentration d'ions H⁺ dans la phase liquide du sol. Le pH varie de 0 à 14 et la neutralité est atteinte lorsque le pH est égal à 7. Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un pH-mètre (HANNA 209), avec extrait de sol dilué d'un rapport sol/eau équivalent à (1/ 2,5) [7].

-*Évaluation de la matière organique (MO)* : La méthode de détermination de la matière organique est réalisée par le dosage du carbone organique. La plus indiquée est la méthode d'ANNE que nous avons utilisée pour déterminer le taux de la matière organique dans le sol. Elle consiste à oxyder, à chaud (105°C), par le mélange de 10 ml de bichromate de potassium (8%) et 15 ml d'acide sulfurique concentré avec 0.5 g de sol finement broyé, pendant 5 minutes, après ébullition laissant notre mélange refroidir et on prélève 20 ml de cette solution en ajoutant 3-4 gouttes de diphénylamine (indicateur faisant passer la solution du brun violacé au bleu verdâtre) et 5 ml de fluorure de sodium (NaF à 3%) puis titrant avec la solution de sel de MOHR (0.2N) en notant son volume (n') au moment du virage au bleu verdâtre [8]. Le pourcentage de carbone est calculé par la formule suivante : $C\% = (n' - n) \times 0,615 / P$. Le taux de la matière peut être déterminé ainsi : $MO\% = C\% \times 1$. Avec : *MO%* : Matière organique, *C%* : Taux de Carbone, *P* : Poids de sol, *n'* : Volume de sel de MOHR titré sur sable calciné, *n* : Volume de sel de MOHR titré sur sol échantillonné.

-*Détermination du calcaire total (%)* : La méthode de calcimètre de Bernard selon la norme française NF P 94-048 a été adoptée [9]. Son principe se base sur la mesure du volume V_b de dioxyde de carbone (CO₂) dégagé par une masse m d'échantillon sous l'action d'acide chlorhydrique en excès. Cette mesure se fait par un appareillage dit calcimètre de Bernard. La masse *m* de la prise d'essai du matériau sec se base sur les résultats de l'évaluation préalable du taux de CaCO₃ par la méthode de la calcimétrie par titrage. Le calcul du pourcentage de CaCO₃ se fait en se référant à un essai témoin avec une masse *mt* (= 0,25g) de CaCO₃ pur qui dégage un volume V_t de CO₂ après réaction avec de l'HCl en excès. La teneur en CaCO₃ est calculée par la formule : $P = m_t \times V_b \times (\theta_t + 273) / m \times V_t \times (\theta_b + 273)$. Avec : θ_t et θ_b , les températures de la salle d'essai, respectivement, lors de l'essai sur le matériau et lors de l'essai sur le carbonate de calcium pur, exprimées en degré Celsius.

-*Détermination du calcaire actif (%)* : Il est réservé aux échantillons contenant plus de 5% du calcaire total. Il s'agit de doser, par titration au permanganate de potassium N/10, 20 ml d'oxalate N/5, et 20 ml de filtrat de sol obtenu après agitation pendant 2 heures à l'agitateur rotatif, la fraction chimiquement active du calcaire du sol. La différence entre les deux titrages correspond pour la partie aliquote à la quantité du calcium de carbonates ayant réagi sur l'oxalate d'ammonium. $CaCO_3 \text{ actif } (\%) = 62,5 \times C \times (V_o \times V_a)$. Avec : *C* : concentration de la solution de permanganate de potassium (mol/l), *V_o* : volume de permanganate de potassium versé pour l'essai à blanc (ml), *V_a* : volume de permanganate de potassium versé pour l'essai (ml) [10-13].

2.2. Mesure des composants chimiques des fruits de grenadier

Les grandes utilisées dans cette étude sont récoltées à maturité optimale, selon les résultats de mesure du degré Brix. Le prélèvement des échantillons est réalisé de manière méticuleuse, tout en évitant d'endommager le fruit. Pour chaque variété, deux échantillons ont été prélevés ; l'un pour l'analyse physico-chimique et l'autre pour le dosage des antioxydants.

-*Quantification des protéines totales* : Les protéines solubles ont été quantifiées par la méthode de Bradford [14]. Cependant, les protéines hydrosolubles ont été quantifiées par la méthode décrite par Ammar *et al.* [15]. 3g de matière fraîche de fruit est broyée dans 5 ml de tampon phosphate contenant du polyvinilpyrrolidone. La précipitation est réalisée par centrifugation à froid (4500 tr/min à 4°C, pendant 15 min). Le surnageant contenant les protéines pariétales est récupéré dans un autre tube et le culot est dissout dans 5 ml d'eau distillée et à nouveau centrifugé pour éliminer les résidus du tampon phosphate. Le culot est récupéré et redissout dans une solution de tampon phosphate + KCl (pH=7) est à nouveau centrifugé. Le surnageant résultant contenant les protéines cytoplasmiques est récupéré pour le dosage de ces dernières. Les valeurs d'absorbance obtenues par le biais d'un spectrophotomètre ($\lambda=595$) permettent ensuite de calculer la concentration initiale de protéines contenus dans les échantillons au moyen d'une courbe standard effectuée avec une protéine de référence (Ovalbumine) de manière à réaliser une gamme étalon à 7 points de mesure. Les concentrations en protéines de chaque échantillon sont calculées à partir de la courbe d'étalonnage obtenues,

à l'aide de l'équation $Y = 0,0010 X$, avec Y : Absorbance (nm), X : Concentration de S.B.A. (mg/ml.). Les teneurs en protéines sont obtenues par la formule suivante : Teneur en protéines (mg/g M.F.) = Quantité de la protéine (mg) × 200 / Poids d'échantillon.

-Quantification des glucides totaux : Les glucides totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode de Dubois *et al.* [16]. Elle consiste à additionner 3 ml d'éthanol à 80 % à 100mg de matière végétale fraîche. Le mélange est mis à température ambiante pendant 48 heures. Au moment du dosage, l'éthanol est évaporé par passage à l'étuve à 80°C. L'extrait obtenu est additionné à 10 ml d'eau distillée. Une prise d'essai de 0,5 ml de la solution analyser est mélangée à 0,5ml de phénol 5%. Dont on ajoute rapidement 2.5ml d'acides sulfurique concentré 96%, le mélange vire en couleur jaune orange. Après homogénéisation au vortex, l'échantillon est placé au bain-marie pendant 10 à 20min à une température de 30°C. La couleur de la solution est stable pendant plusieurs heures. L'absorbance est lu à 485nm. Les valeurs obtenues sont reportés sur la gamme étalon, à l'aide de l'équation suivante : $Y = 4,3918X - 0,1946$, avec: Y : étant l'absorbance. X : étant la quantité des sucres totaux exprimée en mg/g.m.f.

-Quantification des lipides totaux : La méthode Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans matière végétale fraîche [17 in 18]. C'est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début et la matière grasse à la fin de l'extraction. 2g de matière végétale est pesée et placé dans une capsule de cellulose. L'échantillon est extrait en continu par de l'éther pétrole à ébullition (P.E. 36°C) qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. Comme seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'éther est évaporé, généralement sur un évaporateur rotatif, et la matière grasse est pesée. Le taux de lipide contenu dans la grenade est estimé par la formule suivante : $MG (\%) = (m_3 - m_2) / m_1 \times 100$. MG : Matière grasse exprimé en %, m_1 : Masse de l'échantillon en g, m_2 : Masse de la cup avec

les billes en g, m_3 : Masse de la cup et les billes après extraction

-Estimation du taux d'acidité titrable : Le protocole de Morris *et al.* [19], a été retenu pour la mesure du taux d'acidité titrable. Après broyage de grenade et filtration, 1ml de jus est additionné à 9 ml d'eau distillée. Quelques gouttes de l'indicateur coloré (phénolphtaléine) sont rajoutées, puis suivi par un titrage par la solution sodique, jusqu'à obtention d'une coloration rose pâle persistante. L'acidité titrable est exprimée en gramme d'acide citrique pour 1ml de produit (A g/ml) selon la relation : (A g/ml) Acide citrique = $V \text{ NaOH} \times 0,64$. 0,64 étant le coefficient correspondant à l'acide citrique

-Estimation de la vitamine C par quantification de l'acide ascorbique : Selon la méthode de Koltnoff.& Sandell [20], 10 g de pulpe de fruit sont réduit en purée et mélangée avec 50 ml de HCl à 2%. Après 10 mn d'attaque par l'acide chlorhydrique, le mélange est filtré. Une prise d'essai de 10 ml du filtrat est placée dans un erlenmeyer avec 30 ml d'eau distillée. 1 ml de solution iodure de potassium à 1% et 2 ml de solution d'amidon à 0,5% sont rajoutés, suivi par un titrage à l'iodate de potassium de 0,001N jusqu'à l'apparition de la couleur bleu. Le taux de l'acide ascorbique est estimé par la formule suivante : $x = \frac{N \times V_1 \times 0,0088 \times 100}{G \times V_2}$, x : Quantité d'acide ascorbique en mg/100g ; N : Volume de l'iodate de potassium (la différence de volume entre le titrage de l'échantillon et l'essai à blanc) ; V_1 : Volume total d'extrait obtenu pour l'analyse ; G : Quantité de produit analysé ; V_2 : Quantité d'extrait filtré soumis à l'analyse

2.3. Mesure des antioxydants des fruits de grenadier

-Quantification des polyphénols totaux : La méthode de Folin-Ciocalteu [21] a été retenue pour le dosage des polyphénols. 1 g de graine est introduit dans un tube à essai, auquel 20 ml d'éthanol à 60% ont été rajoutés. Après agitation mécanique des tubes pendant 3 à 4 heures à température ambiante, Le surnageant a été récupéré après centrifugation (1400 tr/min, pendant 15 minutes). La courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions par l'utilisation de l'acide gallique avec différentes concentrations (0 à 1000 µg/ml). Les standards ainsi que les échantillons sont mis à l'abri de la lumière pendant 60 min. La lecture des absorbances est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, à une longueur d'onde de 760 nm. La teneur des Polyphénols

totaux "x" est exprimée en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par 100 g d'échantillon calculé par la formule suivante : $x = \frac{FD \cdot X}{PE}$, FD : facteur de dilution (50000 dans ce cas) ; X : mg/ml équivalent de l'acide gallique calculé par le spectrophotomètre ; PE : prise d'essai (en g).

-Quantification des flavonoïdes : La méthode d'Ayoola *et al.* [22] a été retenue. 1 g de graine est introduit dans un tube à essai, auquel 20 ml d'éthanol à 60% ont été rajoutés. Après agitation mécanique des tubes pendant 3 à 4 heures à température ambiante, Le surnageant a été récupéré après centrifugation (1400 tr/min, pendant 15 minutes). La courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions par l'utilisation de la quercitrine avec différentes concentrations (0 à 10 mg/l). Un mélange rigoureusement des solutions a été réalisé au vortex. La lecture des absorbances est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, à une longueur d'onde de 510 nm. La teneur en flavonoïdes y est exprimée en mg équivalent de la quercitrine (EQ) par 100 g d'échantillon calculé par la formule suivante : $y = \frac{FD \cdot Y}{PE}$, FD : facteur de dilution ; Y : mg/ml équivalent de la quercitrine calculé par le spectrophotomètre ; PE : prise d'essai (en g).

3. Tests statistiques utilisés

La distribution des échantillons selon la loi Normale ainsi que leur homogénéité sont vérifiés selon le test Levene's. Les résultats ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un facteur (ANOVA) afin de déterminer l'effet des différentes caractéristiques du sol sur les paramètres biochimiques des grenades. Lorsque l'analyse ANOVA est significative à un seuil de $p \leq 0,05$, les différences entre les moyennes des groupes sont scorées selon le test Student Newman Keuls (SNK). Les données sont présentées sous forme de moyennes arithmétique accompagnées par les valeurs du coefficient de variation C.V. et sont analysées avec les logiciels SYSTAT vers 12 et XLSTAT vers 2016. La tendance de l'influence de la fluctuation de la composition chimique des grenades sous l'effet des caractéristiques du sol des parcelles étudiées ont été établies par une analyse en composante principale (A.C.P.). La projection des variables sur les deux axes de l'analyse multivariée a été conduite par le logiciel (PAST vers. 1.37) [23].

RÉSULTATS

1. Caractéristiques chimiques des sols étudiés

Les sols des parcelles étudiées présentent majoritairement des valeurs inférieures à 1 ds/m, exception pour la parcelle E14 (Batna) où la valeur enregistre 1,21 ds/m.. Pour la totalité des parcelles, le pH est basique. La teneur en P₂O₅ assimilable est comprise entre 1523,44 et 4520,83 ppm, pour 41,17% des parcelles. 52,94% des parcelles affichent des valeurs en P₂O₅ assimilable comprises entre 252,6 et 875 ppm. La parcelle E20 (Ouargla), reste la plus pauvre en P₂O₅ assimilable avec une moyenne de 39,06 ppm. Le taux du Calcaire total présente des valeurs comprises entre 10,37 et 26,89 % pour 76,47 % des parcelles, les 23% restantes, affichent des valeurs inférieures à 10%, notamment E09B (Skikda), E17, E18 et E22 (Tizi Ouzou) (Tableau 1).

Le taux du calcaire actif est faible sur l'ensemble des sols étudiés. La valeur la plus basse pour nos parcelles est de 0,25% enregistrée au niveau de la parcelle A03 (Alger), alors que le taux le plus élevé atteint 9%, signalé au niveau de la parcelle E20 (Ouargla). 17,64 % des sols étudiés sont considérés comme sols pauvre en humus (MO jusqu'à 2%), il s'agit des parcelles E11 (Dar le Beida) E15 (Batna) et E20 (Ouargla). Cependant, 58,82 % des sols sont considérés comme sols faiblement humifère (MO de 2% à 5%), nous retenons les parcelles E01 (Alger), E09 (Skikda), E14 (Batna), E10, E16, E17, E18 (Tizi Ouzou), E19 (Annaba), E21 (Dar El Beida) et E02 (Alger). En revanche, 23,52% des sols sont considérés comme sol humifère (MO de 5% à 10%), nous signalons les parcelles E03, E05, E06 (Alger) et E13 (Oran) (Tableau 1). Dans l'ensemble, les teneurs en potassium assimilable obtenus montrent que nos échantillons présentent une diversité dans leur réserve en potassium total. Suivant le ratio (100 ppm =0,01%), l'ensemble des échantillons étudiés présentent des teneurs inférieures à 1 %, ils sont donc pauvres en potassium assimilable (Tableau 1).

2. Composition chimique des grenades

Nous avons comparé les quantités totales des protéines, des glucides, des lipides, de l'acidité titrable et de la Vitamine C dans les grenades selon les lieux d'échantillonnage. Nous avons testé l'influence de la nature du sol sur la composition chimique des grenades. Pour cela, nous avons effectué une analyse de variance. Les résultats sont résumés dans le tableau 2.

Tableau 1 : Composition chimique des différents sols

N° Echantillon	CE (ds/m)	pH Rapport 1/2,5	P ₂ O ₅ Assimilable (ppm)	Calcaire total (%)	Calcaire Actif (%)	Matière Organique (%)	K ₂ O Assimilable (ppm)
E01	0,9	7,59	606,77	13,79	6,5	3,03	374,66
A03	0,73	7,92	1523,44	14,07	0,25	5,33	459,72
E05	0,98	7,9	1593,75	13,1	4,5	5,23	436,01
A06	0,51	8,26	2457,03	16,29	2,5	5,12	224,34
E09	0,59	8,52	252,6	6,89	1	3,6	190,61
E10	0,21	8,76	4520,83	14,48	4	4,54	926,21
E11	0,2	9,06	643,33	11,03	2	1,88	173,09
E13	0,72	8,43	1713,54	26,89	1,5	6,06	681,41
E14	1,21	8,17	1977,86	16,29	5,5	3,95	227
E15	0,17	8,38	820,31	10,37	7,25	0,62	236,38
E16	0,22	8,16	852,86	10,37	6,75	3,1	135,74
E17	0,17	8,25	108,07	8,88	8	3,27	164,66
E18	0,17	8,25	108,07	8,88	8	3,27	164,66
E19	0,18	8,4	1153,65	10,37	3,5	4,57	64,02
E20	0,85	8,38	39,06	10,37	9	0,11	31,76
E21	0,78	7,98	875	11,11	0,5	4,91	519,9
E22	0,17	8,25	108,07	8,88	8	3,27	164,66

Tableau 2: Effet des régions de production des grenades sur La composition chimique du fruit

	Protéines (g/100 g)	Glucides (g/100 g)	Lipides (g/100 g)	Acidité titrable (mg/ml)	Vitamine C (mg/100g)
E01	0,0062 c (0,0093)	12,720 a (0,0305)	0,054 c (0,0490)	0,230 c (0,0251)	0,490 a (0,0082)
E02	0,0063 c (0,0242)	14,040 a (0,0097)	0,560 a (0,0309)	0,180 c (0,0002)	0,140 c (0,0012)
E03	0,0064 c (0,0361)	8,090 b (0,0014)	0,200 ab (0,0764)	2,016 a (0,0012)	0,480 a (0,0052)
E04	0,044 b (0,0347)	7,86 b (0,0039)	0,210 ab (0,0476)	0,240 c (0,0481)	0,109 c (0,0506)
E05	0,0400 b (0,0289)	5,380 c (0,0060)	0,110 b (0,2288)	3,840 a (0,0054)	0,240 b (0,0024)
E06	0,019 b (0,0608)	6,510 b (0,0032)	0,150 b (0,0342)	2,260 a (0,0078)	0,710 a (0,0023)
E07	0,480 a (0,0188)	11,320 ab (0,0037)	0,050 c (0,0200)	0,540 b (0,0385)	0,410 a (0,0037)
E08	0,110 a (0,0525)	3,420 c (0,0118)	0,190 ab (0,0263)	0,330 b (0,0463)	0,120 c (0,0192)
E09	0,050 b (0,0433)	16,770 a (0,0404)	0,280 ab (0,0197)	0,210 c (0,0275)	0,260 b (0,0222)
E10	0,063 b (0,0001)	8,340 b (0,0213)	0,340 a (0,0170)	0,260 c (0,0968)	0,210 b (0,0120)
E11	0,460 a (0,0126)	10,320 ab (0,0053)	0,400 a (0,0250)	0,240 c (0,0253)	0,210 b (0,0027)
E13	0,230 a (0,0196)	13,860 a (0,0040)	0,160 b (0,0130)	0,260 c (0,0250)	0,170 c (0,0068)
E14	0,590 a (0,0088)	14,080 a (0,0234)	0,340 a (0,0294)	0,300 b (0,0019)	0,170 c (0,0032)
E15	0,050 b (0,0002)	11,460 ab (0,0044)	0,560 a (0,0001)	1,280 a (0,0045)	0,360 b (0,0041)
E16	0,056 b (0,0206)	19,810 a (0,0026)	0,760 a (0,0076)	3,450 a (0,0029)	0,210 b (0,0137)
E17	0,290 a (0,0087)	12,000 a (0,0061)	0,250 ab (0,0180)	1,310 a (0,0076)	0,450 a (0,0135)
E18	0,010 b (0,1155)	17,00 a (0,0072)	0,310 a (0,0493)	0,230 c (0,0217)	0,210 b (0,0344)

Suite tableau 2: Effet des régions de production des grenades sur La composition chimique du fruit

	Protéines (g/100 g)	Glucides (g/100 g)	Lipides (g/100 g)	Acidité titrable (mg/ml)	Vitamine C (mg/100g)
E19	0,310 a (0,0493)	13,610 a (0,0065)	0,660 a (0,0032)	0,510 b (0,0196)	0,200 b (0,0580)
E20	0,0750 b (0,0001)	15,130 a (0,0044)	0,680 a (0,0002)	0,250 c (0,0001)	0,220 b (0,0026)
E21	0,062 b (0,0001)	13,640 a (0,0039)	0,950 a (0,0037)	0,180 c (0,0699)	0,260 b (0,0041)
E22	0,052 b (0,0008)	13,770 a (0,0116)	0,270 ab (0,0140)	1,400 a (0,0258)	0,190 c (0,0317)
<i>F.ratio</i>	1483	417	672,9	29,64	1299
<i>p</i>	$2,02 \times 10^{-53}$	$6,82 \times 10^{-42}$	$3,13 \times 10^{-46}$	$1,36 \times 10^{-18}$	$3,26 \times 10^{-52}$

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes (Coefficient de variation)
Les lettres indiquent les différences significatives à $p < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

Selon les résultats de l'analyse de la variance et du test post-hoc, la nature du sol agit significativement sur l'accumulation des différents composés chimiques estimés. Les grenades récoltées dans les parcelles E07, E08, E11, E13, E14, E17 et E19 montrent une augmentation significative des protéines ($p < 0,01\%$) par comparaison à celles récoltées dans les parcelles E01, E02 et E03, dont les quantités sont les plus faibles. avec un accroissement de la teneur en eau du sol. Toutefois, la quantité des glucides dans les grandes des parcelles E01, E02, E09, E13, E14, E16, E17, E18, E19, E20, E21 et E22 varie significativement entre les différentes conditions des autres parcelles ($p < 0,01\%$). Il est plus juste de tenir compte du résultat obtenu dans les parcelles E02, E10, E11, E14, E15, E16, E18, E19, E20 et E21 significativement riches en lipides, E03, E05, E06, E15, E16, E17 et E22 avec des quantités significatives d'acidité titrable et enfin les parcelles E01, E03, E06, E07 et E17 dont les quantités en vitamine C affichent des valeurs très significatives par rapport aux autres parcelles ($p < 0,01\%$). Considérant l'ampleur de la variabilité de l'expression des composés chimiques entre les différentes parcelles, il est justifié de dire que les différentes conditions pédologiques affectent la composition chimique des grenades de façon significative.

3. Composition en antioxydants des grenades

Le tableau 3 présente les valeurs moyennes des polyphénols et des flavonoïdes mesurées au niveau des grenades échantillonnées des parcelles étudiées. Les valeurs enregistrées une fois traitées par le test post -hoc, ont permis de montrer la présence d'une différence significative en matière des quantités accumulées au niveau des grenades récoltées des parcelles E03, E05 et E06.

Celles récoltées dans les parcelles E09, E11, E13, E16, E17, E18, E20, E21 et E22 enregistrent des quantités intermédiaires, alors que les grenades récoltées de la parcelle E14 désignent les quantités les plus faibles

Tableau 3: Effet des régions de production des grenades sur l'accumulation des polyphénols et des flavonoïdes

	Polyphénols (mEqAG/100g)	Flavonoïdes (mEqAG/100g)
E03	319,340 a (0,0019)	136,770 a (0,0020)
E05	312,470 a (0,0069)	240,730 a (0,0018)
E06	252,380 a (0,0029)	181,270 a (0,0021)
E09	108,288 ab (0,0071)	76,3060 ab (0,0088)
E10	142,240 ab (0,0010)	113,510 a (0,0046)
E11	118,026 ab (0,0083)	78,940 ab (0,0082)
E13	104,270 ab (0,0043)	74,030 ab (0,0034)
E14	85,170 b (0,0092)	45,240 b (0,0041)
E15	135,590 ab (0,0039)	105,250 a (0,0012)
E16	123,010 ab (0,0023)	83,250 ab (0,0044)
E17	113,060 ab (0,0018)	80,870 ab (0,0061)
E18	100,720 ab (0,0059)	87,720 ab (0,0086)
E19	106,180 ab (0,0017)	42,360 b (0,0005)
E20	113,840 ab (0,0014)	94,760 ab (0,0014)
E21	111,380 ab (0,0085)	70,890 ab (0,0077)
E22	118,980 ab (0,0048)	82,130 ab (0,0031)
<i>F.ratio</i>	4176	4963
<i>p</i>	$5,63 \times 10^{-64}$	$1,91 \times 10^{-65}$

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes (Coefficient de variation) Les lettres indiquent les différences significatives à $p < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls

4. Influence des paramètres pédo-physiologiques sur la composition en antioxydants des grenades

Nous avons réalisé une analyse en composantes principales (ACP) afin de déterminer si certaines caractéristiques du sol pouvaient expliquer les différences de teneur en composés chimiques des grenades entre les différentes parcelles. Nous nous sommes d'abord intéressés aux « jeunes » parcelles ayant connu moins de 110 ans de viticulture. 81,71% de la variabilité entre les parcelles sont expliqués par les axes 1 et 2 de l'ACP (Fig. 3). Selon les projections des vecteurs, deux gradients permettant de lire le plan F1×F2. Le premier gradient, oppose les parcelles E03, E05 et E06 (Alger) aux parcelles E11 (Dar El Beida), E14 (Batna) et E19 (Annaba). Cette opposition démontre à travers les valeurs du coefficient de

corrélations de Pearson (Axe 1), que les grenades des parcelles d'Alger accumulent des quantités très importantes de polyphénols, de flavonoïdes et sont très riche en acidité titrable, accompagnées par de faibles taux en vitamine C. En revanche, les grenades des parcelles de Dar El Beida, de Batna et d'Annaba, à la place des composés cités, accumulent beaucoup de protéines. Le même gradient, stipule une accumulation inversement proportionnelle entre les antioxydants et les protéines. Cependant, le deuxième gradient, stipule, que la richesse des grenades en glucides et lipides notamment dans les parcelles E09 (Skikda), E15, (Batna), E16, E17, E18 et E22 (Tizi Ouzou) et E20 (Ouargla) est fortement liée à des sols pauvres en calcaire total, en P₂O₅ assimilable et en matière organique tels que signalé pour les parcelles E13 (Oran), E10 et E21 (Dar le Beida) (Fig. 3).

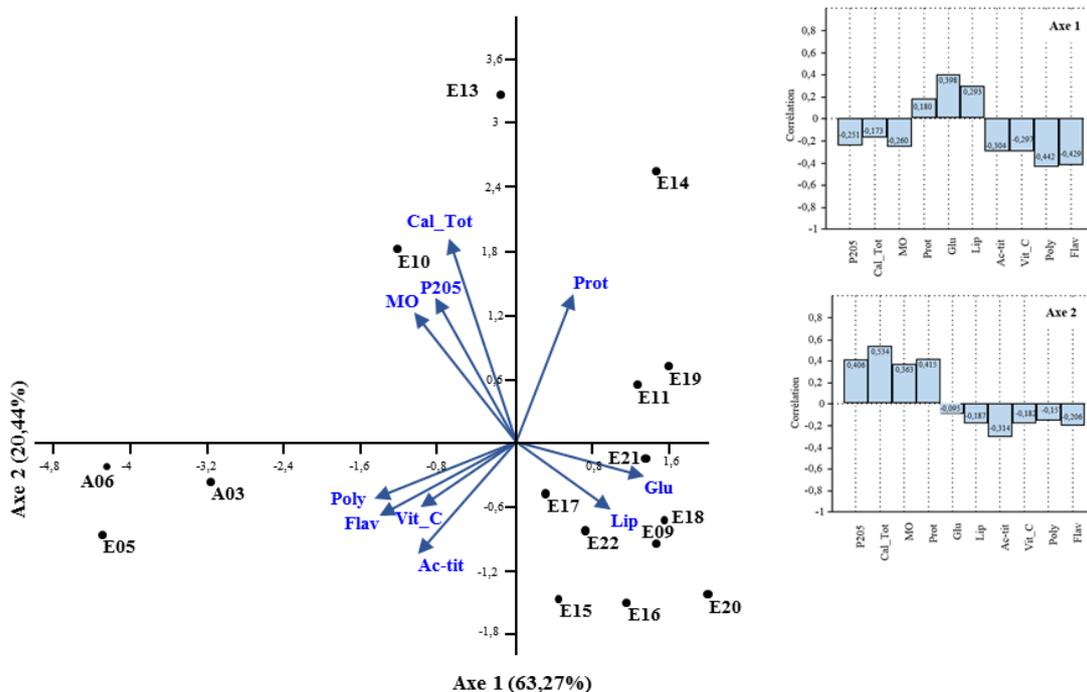


Figure 3 : Analyses en composantes principales de la composition chimique des grenades et des caractéristiques du sol des parcelles étudiées

DISCUSSION

En général, les besoins en composés chimiques des grenades sont assez faibles et on observe, encore une fois, que les grenades de haute qualité nutritionnelles sont produites dans des conditions de contrainte modérée en matière organique et ressources potassiques. En revanche, les grenades de hautes valeurs en antioxydants sont produites dans des conditions de contrainte modérée en matière organique et en calcaire totale. Ces caractéristiques de sol induisent une augmentation de la qualité des

grenades. Ces résultats nous ont permis d'avancer l'hypothèse, mettant en lumière l'action des paramètres du sol, qui sont le taux de calcaire actif où de nombreuses études montraient que principalement le calcaire actif agissait directement sur 3 éléments : manganèse, calcium et l'azote [25, 26]. La composition physicochimique du grenadier varie selon les espèces et au sein d'une même espèce. Elle dépend des conditions de culture, de la qualité du sol, du climat, des irrigations,...) et de la période de récolte (précoce ou tardive) [26].

Nous avons mis en évidence une augmentation des antioxydants dans les fruits de grenades des parcelles d'Alger, ce qui indique que l'activité antioxydante des grenades est sensible aux conditions pédoclimatiques des zones de culture. Nous avons suggéré que cela pouvait s'expliquer par des différences de matière organique et de composés potassiques, mais cela nécessite d'être vérifié. Comme ce type d'effet a été observé dans d'autres études suite à la modification de la composition en métabolites primaires et secondaires des plantes, il serait également intéressant de le tester pour les antioxydants. Les polyphénols qui sont des molécules organiques hydrosolubles, retrouvées dans le règne végétal, dont le métabolisme est exclusif chez les bactéries, champignons et plantes [29] ainsi que les flavonoïdes que l'on retrouve uniquement dans les fruits et légumes sous forme glycosylée, ce qui rend la molécule plus hydrosoluble. Les sucres couramment rattachés aux flavonoïdes sont le glucose, le galactose, le rhamnose, la xylose, l'arabinose et des dissaccharides comme la rutinose [30]. Ces taux faibles de calcaire actif et de matière organique impacteraient également sur les paramètres de la grenade, en améliorant le taux de Vitamine C et une meilleure acidité titrable c'est la somme des acides minéraux et organiques libres dans le jus de fruits. L'acidité titrable c'est l'acide citrique dans le cas des jus [31] qui consiste en la mesure des ions H⁺ disponibles dans le milieu, qu'il soit dissocié ou non (Acidité naturelle + acidité développée) [32], reflétant ainsi les composés acides du milieu au niveau des échantillons de grenadier étudiés. Il nous semble que ces paramètres de fruit présentent une corrélation similaire, et augmente de manière proportionnelle comme le démontre également d'autres études, à savoir, celle de Ramezani *et al.* [32], ont signalé que plus un fruit contient un taux d'acidité titrable et de vitamine C élevé, plus il contient une quantité importante d'antioxydants. D'après l'étude de Çam [33], sur huit variétés de grenades Turques, les variétés sucrées contiennent moins de Polyphénols totaux que ceux des variétés acidulées et cela rejoint les résultats obtenus lors de ce travail. D'après les travaux de Hmid [34], et de Gil [35], portant sur la caractérisation physicochimique et biochimique du jus des grenades, ils concluent que la forte accumulation des polyphénols est fortement corrélée à l'aridité du climat ainsi qu'au stress hydrique. Les conclusions, s'accordent avec les conditions climatiques de l'algérois.

Donc il en ressort qu'il existe une relation proportionnelle entre le taux d'acidité ainsi que le taux d'antioxydants (Polyphénols et flavonoïdes) et qui est inversement proportionnelle avec la teneur en sucre du fruit du grenadier. Mena *et al.* [36], stipulent qu'un taux de polyphénols élevé est bénéfique pour la santé, mais une quantité trop abondante dans le fruit n'est pas recommandé, car le fruit après transformation et commercialisation, possède des capacités très astringente ce qui est qualifié d'effet indésirable et non conseillé à la consommation.

CONCLUSION

Au terme de cette étude, on peut conclure que l'expression idéale du terroir pour produire des grenades de hautes qualités se réalise sous deux conditions. D'une part, lorsque la maturité de la grenade est en phase avec ses conditions climatiques locales et d'autre part, lorsque les facteurs pédoclimatiques favorisent l'expression du caractère nutritionnel et antioxydant des grenades. Cette dernière condition recherchée est favorisée lorsque le grenadier se développe dans un environnement contraint en eau et en minéraux.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Fuhrman B. & Aviram M. (2006). Protection against Cardiovascular Diseases. In : Pomegranates Ancient Roots to Modern Medicine. Seeram N. P., Risa N. S., Heber D. *Medicine CRC Press Taylor & Francis Group Medicinal and aromatic plants—industrial profiles*. 263p.
- [2]. Ranade S.A., Rana, T.S. & Narzary D. (2009). SPAR profiles and genetic diversity amongst pomegranate (*Punica granatum* L.). *Genotypes. Physiol. Mol. Biol. Plants*, 15: 61-70.
- [3]. 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. & Lansky E. (2002). Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 71: 203–217.
- [4]. Syed D.N., Afaq F. & Mukhtar H. (2007). Pomegranate derived products for cancer chemoprevention. *Seminars in Cancer Biology*, 17 :377–385.
- [5]. Betioui M. (2017). Etude de la possibilité d'amélioration de la culture et de la production du Grenadier commun, *Punica granatum* L. dans la région de Tlemcen. Master Université de Tlemcen. 9p.
- [6]. Anonyme (2012). Protocole d'échantillonnage et d'analyse dans le cadre du Règlement de l'Ontario 267/03 pris en application de la Loi de 2002 sur la gestion des éléments nutritifs. Ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales, Canada, 56 p.
- [7]. Anonyme (2003). Méthode d'analyse : Détermination du pH à l'eau dans les sols agricoles. Centre

- d'expertise en analyse environnementale du Québec, Canada, 8 p.
- [8]. **Otobe K., Itou K. & Mizukubo T. (2004).** Micro-moulded substrates for the analysis of structure-dependent behaviour of nematodes. *Nematology*, 6:73 - 77.
- [9]. **AFNOR, NF P 94-048 (1996).** Sols : reconnaissance et essais - Détermination de la teneur en carbonate-Méthode du calcimètre.
- [10]. **NF ISO 10693 (1995).** Qualité du sol - Détermination de la teneur en carbonate – Méthode volumétrique
- [11]. **NF ISO 9297 (1989).** Dosage des chlorures. Titrage au nitrate d'argent avec du chromate comme indicateur (Méthode de Mohr)
- [12]. **Derradji-Benmeziane F. (2015).** Effet de la nature du sol sur la teneur en antioxydants de quelques variétés de raisin de la région d'El-Tarf. Thèse Doctorat en Sciences, Université Annaba, 163 p.
- [13]. **Petard J. (1993).** *Les méthodes d'analyse. Tome 1 Analyses de sols.* Ed. ORSTOM, Nouméa, 200 p.
- [14]. **Bradford M. (1976).** A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- [15]. **Ammar M., Barbouche N. et Ben Hamouda M. (1995).** Action des extraits décomposés des feuilles de *Cestrum parqui* et d'*Olea europea* sur la longévité et la croissance du criquet *Schistocerca gregaria*. *Med. Fac. Landbouw. Univ. Gent* 60/3a, pp: 831–835.
- [16]. **Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Pebers, P.A & Smith F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*, 28:350-356
- [17]. **Soxhlet F. (1879).** Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes. *Dingler's Polytech. J.* 232:461–465
- [18]. **Gélébart B. (2016).** Optimisation de l'extraction, en réacteur « batch », de biomasse énergétique à l'aide d'émulsions ultrasoniques de solvants verts. Mémoire de maîtrise en génie chimique, Université de Sherbrooke (Québec, Canada), 138 p.
- [19]. **Morris J.R., Cawthon D.L. & Buescher R.W. (1979).** Effects of acetaldehyde on post harvest quality of mechanically harvested strawberries for processing. *J. Amer Soc Hort Sci.* 104:262-264.
- [20]. **Kolthoff I. M. & Sandell E. B., (1952).** Textbook of quantitative inorganic analysis. *Bulletin de Minéralogie*, 77-7-9 p. 1287
- [21]. **Adesegun S.A., Fajana A., Orabueze C.I. & Coker H.A.B. (2007).** Evaluation of antioxidant properties of *Phaulopsis fasciépala* C B Cl (Acanthaceae). *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*. 6 (2): 227-231.
- [22]. **Ayoola G.A., Ipav S.S., Solidiya M.O., Adepoju-Bello A.A., Coker H.A.B. & Odugbemi T.O. (2008).** Phytochemical screening and free radical scavenging activities of the fruits and leaves of *Allanblackia floribunda* Oliv (Guttiferae). *International Journal of Health Research*. 1 (2): 81-93.
- [23]. **Hammer Ø., Harper D.A.T. and Ryan P.D. (2001).** PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica review*. 3-8.
- [24]. **Jolliffe I.T. (2002).** *Principal Component Analysis.* Springer-Verlag, 2nd Edition. 489 p.
- [25]. **Sambamoorthi N. (2007).** Hierarchical Cluster Analysis- Some Basics and Algorithms. *In CRM portals Inc. USA.*
- [26]. **Le Tacon F. (1978).** La présence de calcaire dans le sol. Influence sur le comportement de l'Epicéa commun (*Picea excelsa* Link.) et du Pin noir d'Autriche (*Pinus Nigra nigricans* Host). *Ann. Sei. forest.*, 35 (2), 165-174.
- [27]. **Tremblay N., Scharpf H.C., Weier U., Laurence H. & Owen J. (2001).** Régie de l'azote chez les cultures maraîchères : Guide pour une fertilisation raisonnée. *Rev. Agri-food Canada.* (67):9 -26
- [28]. **Manlay, R.J., Feller, C. et Swift, M.J., (2007).** Historical evolution of soil organic matter concepts and their relationships with the fertility and sustainability of cropping systems. *Agriculture, Ecosystems et Environment*, 119(3–4) :217-233.
- [29]. **Wainsten, J. (2009).** *Larousse Médical.* Ed. Larousse, Paris. 1113 p.
- [30]. **Anonyme (2018).** Dosage de l'acidité et de la matière sèche d'un jus d'agrumes. *Institut Agronomique Néo-Caledonien.* P1
- [31]. **kähkönen M., Hopia A., Vuorela H., Rauha J., Pihlaja K., Kujala T. & Heinonen M. (1999).** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food chem.*, 47(10) :3954-3962.
- [32]. **Ramezani A., Rahemi M., Maftoun M., Kholdebarin B., Eshghi S., Reza Safizadeh M. & Tavallali V. (2010).** La spermidine et le chlorure de calcium atténuent les dommages dus au froid pour des grenades stockées à long terme. *Fruits*, 65(3) : 169-178. <https://doi.org/10.1051/fruits/2010011>
- [33]. **Cam M., Hisil Y. & Durmaz G. (2009).** Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chem.*, 112:721-726.
- [34]. **Hmid I. (2014).** Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica granatum* L.) : Caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais. Alimentation et Nutrition. Université d'Angers, 180 p.
- [35]. **Gil M.I., Tomas-Barberan F.A., Hess-Pierce B., Holcroft D.M. & Kader A.A. (2000).** Antioxidant capacity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Agric. Food Chem.* 48:4581-4589.
- [36]. **Mena P., Garcia-Viguera C., Navarro-Rico J., Moreno D., Bartual J., Saura D. & Marti N. (2011).** Phytochemical characterisation for industrial use of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *Sci Food Agric.*, 91:1893–1906.
- [37]. **Killops S.D. & Killops V.J. (2004).** An introduction to organic geochemistry. Second Edition. Blackwell publishing, Oxford, 408 p.