

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Larbi Tébessi-Tébessa**

**Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département : Sciences de la matière**



**MEMOIRE DE MASTER**

**Domaine : Sciences de la matière**

**Filière : Chimie**

**Option : Chimie des produits naturels**

**THEME :**

**Etude biologique de l'Arbouse fruits de l'Arbousier**  
**(*Arbutus unedo L.*) de la région de Souk-Ahras**

Présenté par :

**Gheraibia Maroua**

**Lahcene Aya**

Devant le jury :

<b>Mdm Hadjar Sameh</b>	<b>MCB</b>	U. Larbi Tébessi	<b>Président</b>
<b>Mr. Gouasmia Abdelkarim</b>	<b>Pr</b>	U. Larbi Tébessi	<b>Encadreur</b>
<b>Mr Tebboub Omar</b>	<b>MAA</b>	U. Larbi Tébessi	<b>Examineur</b>
<b>Mr Djabri Belgacem</b>	<b>Pr</b>	U. Larbi Tébessi	<b>Invité</b>

**Date de soutenance : 22 / 09/ 2020**

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الأنشطة البيولوجية للمستخلص الميثانولي لثمار *Arbutus unedo* L

(اللنج) و هو نبات بري يستعمل كأكلة و دواء تقليدي في الجزائر.

من خلال هذه المذكرة ، قمنا بعدة دراسات تختص بنبته اللنج المتواجدة في منطقة أولاد مومن، ولاية سوق أهراس. بعد الجني والتجفيف، تم نقع الثمار في خليط ثنائي ميثانول-ماء، متبوعًا بعملية استخلاص من نوع سائل/سائل و ذلك باستخدام ثلاثة مذيبات ذات قطبية مختلفة لاستخراج الحد الأقصى من المستقلبات الثانوية.

في مرحلة أولى تم استعمال طرق الكشف الكيميائي للنبات و رقائق الكروماتوغرافيا الورقية و معايرة جزيئات البوليفينول و الفلافونويد من أجل الكشف عن المركبات ذات القيمة المضافة في ثمرة اللنج. كما تم في مرحلة ثانية استخدام مفاعل DPPH لاختبار إمكانية استعمال المستخلصات الأربعة لثمار اللنج كمضادات للأكسدة. بعد ذلك، أجرينا فحوصات النشاط المضاد للميكروبات على ثلاث سلالات بكتيرية وخميرتين. و في مرحلة أخيرة تم تجريب مستخلص أسيتات الإيثيل و البوتانول كمضاد للتآكل في وسطين مختلفين (0.1M HCl) (0.5M NaCl) .

نتائج النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص أسيتات الإيثيل أبانت عن قيم قريبة من حمض الأسكوربيك مع انخفاض في نسبة التثبيط لباقي المستخلصات. أما النشاط المضاد للبكتيريا لثمار *Arbutus unedo* قد أفصح عن تأثير ملحوظ ضد السلالات البكتيرية الثلاث و تأثير كبير على الخمائر المختبرة. كما أظهر التأثير التثبيطي للمستخلصات المدروسة على وسط (NaCl) نتائج أفضل من تلك الموجودة على الوسط (HCl) بكفاءة تثبيط مقبولة.

تظهر مجموعة النتائج التي تم الحصول عليها من خلال هذه الدراسة أن مستخلصات ثمار اللنج *Arbutus unedo* يمكنها أن تكون خزانًا لمختلف الأنشطة البيولوجية و الفيزيوكيميائية. و منه يمكن أن تشكل هذه الثمار مصدرًا محتملاً لجزيئات نشطة بيولوجيًا تعالج عددا من الأمراض الناجمة عن الإجهاد التأكسدي و العدوى الجرثومية.

**كلمات مفتاحية:** *Arbutus unedo* ، لنج، أولاد مومن، سوق اهراس، مضاد للأكسدة، مضاد للبكتيريا، مضاد

للتآكل، البوليفينول، الفلافونويد.

## Abstract

The objective of this study is to assess the biological activities of the hydromethanolic extract of the fruits of *Arbutus Unedo* L, a medicinal plant from the traditional pharmacopoeia of Algeria.

During this study, we undertook several steps to investigate « Lindj »berries from the region of Ouled-Moumen, wilaya of Souk-Ahras. After harvesting and drying, the fruits were macerated in a water-methanol mixture, followed by a liquid-liquid extraction carried out with three solvents of different polarity in order to extract the maximum of secondary metabolites.

In order to detect bioactive compounds, phytochemical tests, assays of polyphenols and total flavonoids and TLC characterizations were firstly performed. Then, we tested the antioxidant potential of the four extracts using the DPPH method and the antimicrobial on three bacterial strains and two yeasts. Finally two of the obtained extracts (ethyl acetate and n-Butanol) were subjected to an anticorrosive test in two different aggressive environments (0.5M NaCl and 0.1M HCl).

The results of antioxidant activity show an IC<sub>50</sub> value close to that of ascorbic acid for the ethyl acetate extract, followed by a decrease in the percentage inhibition for the other extracts. The study of the antibacterial activity shows that *Arbutus unedo* has a remarkable effect against the three bacterial strains and a great effect for the yeasts tested.

The inhibition effect of the studied extracts on the electrolytic solution (NaCl) has shown better results than that on the (HCl) medium with an acceptable efficiency of inhibition.

The sum of the results obtained during this study clearly shows that the extracts of the « Lindj's fruit » have significant potential for the studied activities. As a result, these fruits constitute a potential source of bioactive molecules and thus may present a therapeutic alternative to treatment of a number of pathologies initiated by oxidative stress and microbial infections.

**Keywords:** *Arbutus unedo*, Lindj, Ouled-Moumen, Souk-Ahras, antioxydant, Antimicrobial, anticorrosive, flavonoids, polyphenols

## Résumé

L'objectif de cette étude est l'évaluation des activités biologiques de l'extrait hydro-méthanolique des fruits d'*Arbutus Unedo* L, une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle de l'Algérie.

Au cours de cette étude, nous avons entrepris plusieurs étapes pour investiguer les baies du « Lindj » de la région d'Ouled-Moumen, wilaya de Souk-Ahras. Après la récolte et le séchage, les fruits ont été macérés dans un mélange eau-méthanol, suivie d'une extraction liquide-liquide réalisée avec trois solvants de polarité différente afin d'en extraire le maximum de métabolites secondaires.

Dans un premier lieu, des tests phytochimiques, des dosages de polyphénols et flavonoïdes totaux et des caractérisations sur CCM ont été effectués afin de déceler les composés à valeurs ajoutées. Ensuite, nous avons testé le potentiel antioxydant des quatre extraits par la méthode de DPPH et les tests de l'activité antimicrobienne sur trois souches bactériennes et deux levures. Nous avons, également pu entreprendre un test anticorrosif dans deux milieux agressifs différents avec la présence des deux extraits : Acétate d'éthyle et n-Butanol.

Les résultats de l'activité antioxydante marquent des valeurs d'IC<sub>50</sub> proches de l'acide ascorbique pour l'extrait d'acétate d'éthyle suivi d'une diminution du pourcentage d'inhibition pour les autres extraits. L'étude de l'activité antibactérienne montre que l'*Arbutus unedo* manifeste un effet remarquable contre les trois souches bactériennes et un grand effet pour les levures testées. L'effet inhibiteur des extraits étudiés sur la solution électrolytique (NaCl) a montré de meilleurs résultats que celui sur le milieu (HCl) avec une efficacité d'inhibition acceptable.

La somme des résultats obtenus au cours de cette étude montre clairement que les extraits du fruit du « Lindj » possèdent un potentiel important pour les activités étudiées. De ce fait, ces fruits constituent une source potentielle de molécules bioactives et ainsi peut présenter une alternative thérapeutique au traitement de nombreuses pathologies initiées par le stress oxydant et les infections microbiennes.

**Mots clés :** *Arbutus unedo*, lindj, Ouled-Moumen, Souk-Ahras, antioxydant, antimicrobienne, anticorrosive, flavonoïdes, polyphénols.

## Remerciements

*Au terme de notre travail, en premier lieu nous tenant à remercier dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage, la volonté, et la patience afin de réaliser ce modeste travail.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à Mr le Professeur **GOUASMIA Abdelkrim** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, son suivi, son aide et ses précieux conseils dans le but de mener à bien ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Mr le professeur **DJABRI Belgacem** pour sa contribution à la réalisation de ce travail et ses précieux conseils et pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie de ce jury.*

*Nous remercions les membres de jury Madame **HADJAR Sameh** et Mr **TABOUB Omar** d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à tous nos enseignants (Département de science de la matière université de Tébessa) et en particulier à Madame **BOUDHIBA Sameh**, qui nous a transmis son savoir, ce qui nous a permis d'acquérir les connaissances indispensables pour réaliser ce mémoire.*

*Nous remercions vivement Madame **BENHEDJ Mabrouka** docteur au département de biologie (Université de Tébessa) pour son aide et ses conseils lors de la réalisation du test d'activité antimicrobienne.*

*Nos plus vifs remerciements vont, également, à Mr le professeur **HAMLAOUI Youcef** directeur de laboratoire de physique de la matière et rayonnement à l'Université de Souk-Ahras et, à l'ingénieur **Messabhia Abdeslam**, d'avoir été à maintes reprises à notre écoute lors de la réalisation de l'activité anticorrosion et pour leur accueil lors de notre passage dans ce laboratoire, leur disponibilité et la gentillesse de l'équipe nous ont particulièrement marquées.*

*Aussi, Nous remercions Mr **DJALOUL Kamel** et **GOUASMIA Abdelmadjid ben Abelrahmane dit Salem** habitants dans la commune d'Ouled Moumen pour la récolte des fruits, leurs informations données sur la région, leurs aides et leurs gentillesse nous a marqué lors de notre visite à cette région.*

*Notre remerciement va aussi à **Narimane, Takoua, Chaima et Asma** qui nous ont aidé et orienté durant l'élaboration de ce travail.*

*Nous exprimons toute notre gratitude à notre amie **Gouasmia Rawnek** pour son aide et sa disponibilité lors de l'accomplissement d'une partie de ce mémoire à Souk-Ahras.*

*Que ceux et celles qui ne sont pas nommé(e)s ne sentent pas oubliés.  
**Merci** à tous et à toutes pour les efforts consentis d'une façon ou d'une autre !*

## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils cessent me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie. A la lumière de mes jours, la source de mes efforts et mon bonheur ; maman. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance jusqu'au aujourd'hui.*

*A mon cher oncle Mouldi, qui m'a assisté dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles... je te suis très reconnaissante, et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité, ton aide précieuse.*

*A mon oncle et ma tante mes deuxièmes parent. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel, je vous remercie pour tous le soutien et l'amour que vous me portez.*

*A mes chers frères : Khayri, Dhia, Mourad, Ridha, imed; et adorables sœurs : Sabrina, Khaoula, Mouna, Amel, Afef, Karima, Bouthaina. En témoignage de mon affection fraternelle.*

*A mes chers petits neveux et mes petites nièces : Wassim, Miral, Daoud et Abd lmoumen qui illumine notre petite famille.*

*A mes amis de toujours : Riheb, Sirine, Chifa, Asma, Salsabil et ilhem.*

*Une spéciale dédicace à mon binôme Aya. Merci beaucoup pour ton soutien plus que précieux et toutes vos qualités qui seraient trop longue à énumérer.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis **merci** !*

**Maroua**

## ***Dédicace***

*A ma très chère maman Honorable, aimable: tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*À mon père, aucun dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*À ma chère sœur RIHEM : j'aurais tant aimé que tu sois présente. Que dieu vous accueille dans son vaste paradis, tu es loin des yeux mais toujours près du cœur.*

*À mes petites sœurs adorables qui savent toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille. A mes grands-parents, mes tantes, mes oncles, qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.*

*À tous mes cousins et cousines merci pour votre amour.*

*À mes copines : Amani, Amina, Farah qui m'ont toujours encouragé, vous êtes pour moi des sœurs sur qui je peux compter, et à qui je souhaite plus de succès.*

*À mes collègues : Chifa, Salsabil, Ikram, Asma, Ilhem*

*Sans oublier mon binôme Maroua pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

***Aya***

## Liste des abréviations

**CPG** : Chromatographie de phase gazeuse.

**SM** : Spectroscopie de la masse.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**(v/v)** : volume / volume

**DCM** : Dichlorométhane.

**Aq** : Aqueuse.

**AcOEt** : Acétate d'éthyle.

**BuOH** : Butanol.

**Abs** : absorbance.

**UV** : Ultraviolet.

**%** : Pourcentage.

**°C** : Degré CELSIUS.

**µg** : Microgramme.

**nm** : Nanomètre.

**ml** : milli litre.

**ppm** : Partie par million.

**IC50** : Concentration d'inhibition 50%.

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

**S. aureus** : Staphylococcus aureus.

**E. Coli** : Escherichia Coli.

**M. Luteus** : Micrococcus Luteus.

**MH** : Mueller Hinton.

**Rf** : Facteur de rétention.

**ATCC**: American type culture collection.

**mg EAG** : milligrammes d'équivalents d'acide gallique.

**mg EQ** : milligrammes d'équivalent de quercétine.

**Mo** : Molybdène.

**Ecorr** : Potentiel de corrosion.

**EI** : Efficacité inhibitrice.

**ECS** : Electrode au calomel saturé.

**HCl** : Acide chlorhydrique.

**NaCl** : Chlorure de sodium.

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium.

**NH<sub>4</sub>OH** : Hydroxyde d'ammonium.

**pH**: potentiel d'hydrogène.

**FRAP**: ferric reducing antioxydant power.

**ABTS**: Acide 2, 2'-azinobis 3-ethylbenzo-triazoline-6-sulphonate.

## Liste des schémas

<b>Schéma 01</b> : Changements structurels du chromophore anthocyanique et changements de couleur en fonction du pH en solution aqueuse.....	<b>42</b>
<b>Schéma. 02</b> : La réaction chimique des flavonoïdes avec $MgCl_2$ .....	<b>42</b>
<b>Schéma 03</b> : La réaction chimique de groupe phénolique des tannins avec $FeCl_3$ .....	<b>43</b>
<b>Schémas 04</b> : la réaction oxydo-réduction entre le groupement aldéhyde et la liqueur de Fehling.....	<b>43</b>
<b>Schéma 05</b> : Réaction de l'alcaloïde avec le réactif de Mayer.....	<b>44</b>
<b>Schéma 06</b> : Principe d'action de réactif de Folin-Ciocalteu avec l'acide gallique.....	<b>45</b>
<b>Schéma 07</b> : Formation d'un complexe acide entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène voisins.....	<b>46</b>
<b>Schéma 08</b> : Réduction du radical libre DPPH•.....	<b>47</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : <i>Arbutus Unedo</i> .L.....	7
<b>Figure 2</b> : feuilles et fleurs de l'Arbousier.....	7
<b>Figure 3</b> : Fruit de l'Arbousier (l'Arbouse).....	8
<b>Figure 4</b> : Répartition géographique mondiale d' <i>Arbutus Unedo</i> L.....	8
<b>Figure 5</b> : formule chimique de l'arbutine.....	10
<b>Figure 6</b> : Présentation d'un fruit cru d'Arbousie.....	14
<b>Figure 07</b> : Exemples d'acide phénoliques.....	18
<b>Figure 08</b> : Squelette de base des flavonoïdes.....	19
<b>Figure 09</b> : Structures chimiques des flavonols.....	19
<b>Figure 10</b> : Structures chimiques des flavones.....	20
<b>Figure 11</b> : Structures chimiques des flavanones et flavanonols.....	21
<b>Figure 12</b> : Structures chimiques d'isoflavones.....	21
<b>Figure 13</b> : Structures chimiques des anthocyanes.....	22
<b>Figure 14</b> : la structure chimique de penta-O-galloylglucose.....	22
<b>Figure 15</b> : la structure chimique de flavan-3,4-diols (monomère).....	23
<b>Figure 16</b> : Structure chimiques des lignanes.....	23
<b>Figure 17</b> : Structure chimiques des alcaloïdes.....	24
<b>Figure 18</b> : Structure chimiques des terpénoïdes.....	25
<b>Figure 19</b> : Déséquilibre de la balance antioxydants et pro-oxydants.....	26
<b>Figure 20</b> : Structure d'une cellule bactérienne.....	28
<b>Figure 21</b> : carte géographique de la région Ouled Moumen. Source : Google Earth	36
<b>Figure 22</b> : Fruit d'Arbousier sec.....	36

<b>Figure 23 :</b> Montage d'évaporation.....	<b>37</b>
<b>Figure 24:</b> Montage de dispositif d'extraction liquide –liquide.....	<b>38</b>
<b>Figure 25 :</b> Protocole d'extraction.....	<b>39</b>
<b>Figure 26 :</b> Structure du complexe amidon iode.....	<b>41</b>
<b>Figure 27 :</b> Structure chimique des saponosides.....	<b>41</b>
<b>Figure 28 :</b> Structure chimique des coumarines.....	<b>44</b>
<b>Figure 29 :</b> Ensemencement et application du test antimicrobienne.....	<b>50</b>
<b>Figure 30 :</b> Polissage de la surface de l'électrode de travail.....	<b>52</b>
<b>Figure 31 :</b> Electrode au calomel saturé(ECS).....	<b>53</b>
<b>Figure 32 :</b> Les électrodes de travail.....	<b>53</b>
<b>Figure 33 :</b> Montage électrochimique utilisé.....	<b>54</b>
<b>Figure 34 :</b> Les paramètres électrochimiques à partir des droites de Taffel.....	<b>55</b>
<b>Figure 35 :</b> Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	<b>60</b>
<b>Figure 36 :</b> Teneurs en polyphénols totaux dans les différents extraits.....	<b>61</b>
<b>Figure 37 :</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	<b>62</b>
<b>Figure 38 :</b> Teneur en Flavonoïdes des différents extraits.....	<b>62</b>
<b>Figure 39 :</b> Chromatogrammes de l'activité antioxydante après pulvérisation par la solution DPPH.....	<b>63</b>
<b>Figure 40 :</b> Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH• par les extraits et le témoin en fonction des différentes concentrations.....	<b>64</b>
<b>Figure 41:</b> Détermination de la valeur IC <sub>50</sub> de la vitamine C et de la fraction acétate d'éthyle.....	<b>65</b>
<b>Figure 42:</b> Détermination de la valeur IC <sub>50</sub> de la vitamine C et de la fraction butanolique	<b>65</b>

<b>Figure 43:</b> Détermination de la valeur IC <sub>50</sub> de la vitamine C et de la fraction dichlorométhane.....	<b>66</b>
<b>Figure 44:</b> Détermination de la valeur IC <sub>50</sub> de la vitamine C et de la fraction aqueuse.....	<b>66</b>
<b>Figure 45 :</b> Résultat des tests antibactériens des extraits vis-à-vis de la bactérie <i>E. coli</i>	<b>69</b>
<b>Figure 46 :</b> Résultat des tests antibactériens des extraits vis-à-vis de la bactérie <i>S. Aureus</i>	<b>69</b>
<b>Figure 47 :</b> Résultat des tests antibactériens des extraits vis-à-vis de la bactérie <i>M. Luteus</i>	<b>69</b>
<b>Figure 48 :</b> Résultat des tests antifongique des extraits vis-à-vis de levure <i>Candida albicans</i> L24.....	<b>70</b>
<b>Figure 49 :</b> Résultat des tests antifongique des extraits vis-à-vis de levure <i>Candida albicans</i> L36.....	<b>71</b>
<b>Figure 50:</b> Les courbes de la polarisation potentiodynamique de l'acier E24 dans HCl 0,1N sans et avec inhibiteurs.....	<b>72</b>
<b>Figure 51:</b> Les courbes de la polarisation potentiodynamique de l'acier E24 dans NaCl 0,5N sans et avec inhibiteurs.....	<b>73</b>
<b>Figure 52:</b> Diagramme montre l'impact du pH sur la biodisponibilité des éléments nutritifs	<b>75</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Classification taxonomique d' <i>Arbutus unedo</i> .....	7
<b>Tableau 02</b> : Composition chimique des fruits et des feuilles de l'Arbousier.....	10
<b>Tableau 03</b> : Composition des sucres dans l'Arbouse.....	12
<b>Tableau 04</b> : Composition des acides non-volatiles dans l'Arbouse.....	12
<b>Tableau 05</b> : Composition des acides phénoliques dans l'Arbouse.....	13
<b>Tableau 06</b> : Teneurs des minéraux dans l'Arbouse.....	14
<b>Tableau 07</b> : Principales classes de composés phénoliques.....	18
<b>Tableau 08</b> : Caractérisations géographiques de la région (Google Earth).....	36
<b>Tableau 09</b> : Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition.....	51
<b>Tableau 10</b> : composition atomique de l'acier doux E24.....	52
<b>Tableau 11</b> : Caractéristiques des différents extraits du fruit d' <i>Arbutus unedo</i> .....	58
<b>Tableau 12</b> : Résultats des tests phytochimiques.....	59-60
<b>Tableau 13</b> : Valeurs des IC50 des quatre extraits et de la vitamine C.....	67
<b>Tableau 14</b> : Diamètre de zone d'inhibition (mm) des quatre extraits.....	69
<b>Tableau 15</b> : Les paramètres de la polarisation potentiodynamique de l'acier E24 sans et avec inhibiteurs.....	73
<b>Tableau 16</b> : Les Rf des témoins utilisés.....	75
<b>Tableau 17</b> : Composés identifiés par CCM.....	75

ملخص

Abstract

Résumé

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des schémas

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction général.....1

***CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE*****Partie I : Généralité sur l'arbousier.....5****I.1. Les plantes médicinales.....5****I.2. *Arbutus Unedo* L.....6****I.3. Classification.....6****I.4. Description botanique.....7****I.5. Répartition géographique.....8****I.6. Composition chimique.....9****I.6.1 Composition chimique des feuilles de l'Arbousier.....9****I.6.2. Composition chimique des fruits de l'Arbousier.....10****I.7. Utilisation traditionnelle.....14****Partie II : Métabolisme et métabolites.....15****II.1. Définition du métabolisme et du métabolite.....15****II.2. Nature des métabolites.....15****II.2.1. Métabolites primaires.....15****II.2.2. Métabolites secondaires.....15****II.3. Composition des métabolites secondaires.....16****II.3.1. Les composés phénoliques.....16**

II.3.1.1. Généralité.....	16
II.3.1.2. Classification de polyphénols.....	16
II.3.1.3. Rôles des polyphénols.....	24
<b>II.4. Les Alcaloïdes.....</b>	<b>24</b>
<b>II.5. Les isoprénoïdes (Les terpénoïdes).....</b>	<b>25</b>
<b>Partie III : Rappels sur les activités étudiées.....</b>	<b>26</b>
<b>III.1. Activité antioxydant.....</b>	<b>26</b>
III.1.1. Les radicaux libres.....	26
III.1.2. Le stress oxydatif.....	26
III.1.3. Conséquence du stress oxydatif.....	27
III.1.4. Les antioxydants.....	27
III.1.4.1. Classification.....	27
<b>III.2. Activité antimicrobienne.....</b>	<b>28</b>
III.2.1. Les bactéries.....	28
III.2.2. Les champignons.....	29
III.2.3. Les antibiotiques.....	29
<b>III.3. Activité anticorrosive.....</b>	<b>29</b>
III.3.1. La corrosion.....	29
III.3.2. Les type de corrosion.....	29
III.3.3. Les inhibiteurs de corrosion.....	30
III.3.3.1. Définition d'inhibiteur.....	30
III.3.3.2. Les propriétés des inhibiteurs.....	30
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>31</b>

## ***CHAPITRE II : ETUDE EXPERIMENTAL***

<b>Partie I : Matériel et méthodes.....</b>	<b>35</b>
<b>I.1. Récolte de la plante.....</b>	<b>35</b>
<b>I.2. L'extraction.....</b>	<b>36</b>

I.2.1 Préparation de l'extrait eau/méthanol.....	37
I.2.2. Extraction liquide-liquide.....	37
<b>I.3. Rendement des extraits de l'Arbouse.....</b>	<b>40</b>
<b>I.4. Tests phytochimiques.....</b>	<b>40</b>
<b>I.5. Dosage des composés phénoliques.....</b>	<b>45</b>
I.5.1. Dosage des polyphénols totaux.....	45
I.5.2. Dosage des flavonoïdes.....	46
<b>I.6. Activités biologiques.....</b>	<b>47</b>
<b>I.6.1. Activité antioxydante.....</b>	<b>47</b>
I.6.1.1.Méthode de réduction du radical libre DPPH.....	47
I.6.1.1.1. Test anti-radicalaire contre le DPPH sur plaques CCM.....	47
I.6.1.1.2. Test anti-radicalaire contre le DPPH mesuré au spectrophotomètre.....	47
<b>I.6.2. Activité antimicrobienne.....</b>	<b>48</b>
<b>I.7. Activité anticorrosive (Etude de l'activité inhibitrice).....</b>	<b>51</b>
<b>I.8. Essai d'identification des composés par CCM.....</b>	<b>55</b>
<b>I.9.Propriétés physico-chimique du sol de la zone d'étude.....</b>	<b>56</b>
I.9.1. Mesure du PH.....	56
<b>Partie II : Résultats et discussion.....</b>	<b>57</b>
<b>II.1. Rendement des extraits de l'Arbouse.....</b>	<b>57</b>
<b>II.2. Résultats des tests phytochimiques.....</b>	<b>57</b>
<b>II.3. Dosage des polyphénols totaux.....</b>	<b>60</b>
<b>II.4. Dosage des flavonoïdes totaux.....</b>	<b>61</b>
<b>II.5. Activités biologiques.....</b>	<b>63</b>
<b>II.5.1. Activité antioxydante.....</b>	<b>63</b>
II.5.1.1. Méthode de réduction du radical libre DPPH.....	63
II.5.1.1. 1. Test anti-radicalaire contre le DPPH sur plaques CCM.....	63
II.5.1.1. 2. Test anti-radicalaire contre le DPPH mesuré au spectrophotomètre.....	64

<b>II.5.2. Activité antimicrobienne.....</b>	<b>67</b>
II.4.2.1. Activité antibactérienne.....	68
II.4.2.2. Activité antifongique.....	70
<b>II.6. Activité anticorrosive.....</b>	<b>71</b>
II.6.1. Les Courbes de polarisations.....	71
<b>II.7. Essai d'identification des composés par CCM.....</b>	<b>73</b>
<b>II.8. Mesure de PH du sol de la région étudiée.....</b>	<b>75</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>77</b>
<b>Conclusion général.....</b>	<b>82</b>

# **Introduction générale**

## Introduction générale

Les molécules bioactives issues des végétaux, en raison de leurs multiples activités biologiques, suscitent actuellement un intérêt particulier dans les domaines sanitaire, agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique [1].

Le regain d'intérêt en thérapeutique pour ces biomolécules est motivé par le fait qu'elles présentent des effets secondaires limités ou inexistants comparativement aux molécules synthétiques qui en plus de causer de nombreux effets secondaires indésirables présentent des limites thérapeutiques. L'exemple le plus marquant, et qui présente un problème de santé publique important à l'échelle mondiale, est l'émergence de bactéries multi-résistantes en raison de l'utilisation abusive des antibiotiques rendant difficile la maîtrise des infections bactériennes. De plus, il a été constaté que l'utilisation abusive des antioxydants synthétique particulièrement en agroalimentaire, en raison de leur stabilité dans les conditions opératoires de la plupart des procédés industriels, augmente l'incidence du cancer [1].

Face à cette situation alarmante, la recherche scientifique se tourne vers les plantes qui constituent une réserve intarissable en molécules bioactives naturelles, pouvant conduire à l'invention de nouveaux traitements thérapeutiques.

L'activité anti-oxydante et le potentiel élevé en vitamines C, E,  $\beta$ -carotène, polyphénols dans les composants chimiques et biochimiques des plantes en général et les fruits en particulier, présente un des critères stimulant leur consommation [2, 3,4]. En effet, des études épidémiologiques ont démontré que la prise de fruits est associée à une réduction de plusieurs pathologies comme les accidents cardiovasculaires [5].

Même s'il n'y a pas de travaux consacrés à la consommation des fruits sauvages comestibles en Algérie, des études ont toutefois relevé l'intérêt nutritionnel de ces espèces chez les populations rurales [6].

Le présent travail de recherche s'inscrit dans l'axe de valorisation des produits naturels, dans cette optique, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités biologiques in vitro de l'Arbouse fruits d'Arbousier *Arbutus unedo* L. (famille des Ericacées) dit aussi arbre à fraise qui est en fait un arbrisseau essentiellement sauvage et typique de la région méditerranéenne. Les baies de l'arbousier contiennent des quantités importantes des composés

phytochimiques <sup>[7]</sup>. Il est utilisé en médecine traditionnelle comme agents antiseptiques urinaires, astringents et diurétiques.

Cette étude porte sur l'extraction et le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, de l'Arbouse puis l'étude des activités antimicrobienne, antioxydante et anticorrosive.

Notre travail comprend deux parties :

- Une partie relative à l'étude bibliographique de la plante, des composés phénoliques et des activités recherchées.
- Une deuxième réservée à l'étude expérimentale subdivisée en deux parties : l'un décrit les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail et l'autre consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- [1] I. Moualek. (2018). Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutu sunedo* de la région de Tizi-Ouzou. Thèse de doctorat d'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- [2] L. Bravo. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *NutrRev*, 56: 317–33.
- [3] G. Mazza, et al (2002). Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human subjects. *J Agr Food Chem*, 50: 7731–7.
- [4] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, G. Paganga. (1996). Structure-antioxydant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free RadicalBio Med*, 20: 933–56.
- [5] L. Dauchet, P. H. Amouyel, J .Dallongeville. (2005). Consommation de fruits et légumes et risque d'accident vasculaire cérébral et cardiaque : méta-analyse des études épidémiologiques prospectives. *Cah Nutr Diet*, 40(1): 31–40.
- [6] G. A. Ambé. (2001). Les fruits sauvages comestibles des savanes guinéennes de Côte-d'Ivoire : état de la connaissance par une population locale, les Malinké. *BiotechnolAgron Soc Environ*, 5(1): 43–58
- [7] I. Ben Ahmed. (2017). Activité antioxydante de l'extrait hydroéthanolique et ses fractions des racines de l'*Arbutus unedo*. Mémoire de master. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen-Algérie.

**Chapitre I :**  
**Etude bibliographique**

### I. Généralité sur l'arbousier

#### I.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales se sont des plantes qui contiennent des principes actifs dans un de leurs organes comme les écorces, les feuilles ou les fruits donnant lieu à des vertus curatives et parfois toxiques. De part cette utilité, elles sont utilisées en phytothérapie et peuvent être vendues en herboristerie, en pharmacie, avec ou sans prescription selon la réglementation du pays <sup>[1]</sup>.

Depuis la nuit des temps, les traditions humaines ont su développer à travers les siècles la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour venir à bout à de nombreuses maladies.

Le monde végétal synthétise deux types de métabolites donnant lieu à plusieurs composés chimiques divers. Les métabolites primaires : glucides, lipides, acides aminés et acides nucléiques assurent la survie de la plante. Par contre, les métabolites secondaires assurent des fonctions non essentielles, de sorte que leur absence n'est pas létale pour la plante, et constitue les principes actifs utilisés en thérapeutique, comme anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques, mais essentiellement comme antioxydant neutralisant les effets dévastateurs du stress oxydatif <sup>[2]</sup>.

En Algérie, l'utilisation des plantes médicinales n'a pas connue un essor fulgurant, en raison d'un secteur sanitaire mal en point mais en continuel développement. Elle reste néanmoins fortement implanté dans les zones reculées comme le Hoggar où les Touaregs transmettent le secret de cette médication traditionnelle de père en fils <sup>[3]</sup>.

La wilaya de Souk-Ahras, riche par son histoire plusieurs fois millénaire, l'est tout autant par la biodiversité singulière assurée par pas moins de sept forêts totalisant 89.000 hectares constituées essentiellement de pin d'Alep, de cyprès, de chêne liège, d'eucalyptus et de broussailles <sup>[4]</sup>.

L'arbousier est un arbuste qui fait partie de ce patrimoine forestier. Son fruit est appelé arbose ; en arabe «**Lendj** / لندج». Il est très répondu en raison de sa tolérance à la sécheresse et sa capacité de régénération particulièrement après un incendie <sup>[5]</sup>. Il résiste bien au gel jusqu'à des températures de -15°C, et il s'adapte à une très large gamme de sols et d'expositions <sup>[6]</sup>.

## I.2. *Arbutus Unedo* L.

L'*Arbutus Unedo* L. est une espèce très fréquente en Algérie. Il possède plusieurs noms communs comme l'arbousier, l'arbre aux fraises ou le fraisier en arbre <sup>[7]</sup>. Le terme « Unedo » est mot latin décrit par Pline comme étant une dérive de « unum edo = je mange un seul fruit » <sup>[8]</sup>. Il est réutilisé par Carl Linnaeuse (1753).

Il appartient à la famille des *Ericaceae*, couvrant environ 80 genres dont *Arbutus* (arbousier), *Calluna* (callune), *Erica* (bruyère) et plus de 2000 espèces, principalement des arbustes verts toute l'année, dont un tiers appartient au genre *Erica*, qui donne son nom à la famille. *Arbutus* avec cinq autres genres (*Arctostaphylos*, *Arctous*, *Comarostaphylis*, *Ornithostaphylos* et *Xylococcus*) est inclus dans la sous-famille des *Arbutoideae*. Les *Arbutoideae* sont un groupe de la famille des *Ericaceae*, dont la distinction est basée sur la morphologie des fruits et des fleurs, ainsi que dans les caractéristiques anatomiques et phytochimiques <sup>[9]</sup>.

## I.3. Classification

La classification des végétaux est d'une grande utilité, car elle permet de remonter l'évolution de chaque arbre et arbuste par rapport à d'autres spécimens. Elle remonte à la nuit des temps puisque la toute première, originaire d'Égypte, date de l'année 1 600 avant notre ère. Aujourd'hui, on utilise une nomenclature datant du 18<sup>ème</sup> siècle et nous les devons au naturaliste Suédois *Carl Von Linné*. Cette nomenclature est définie en fonction du nom scientifique de la plante en latin suivi du nom d'espèce. C'est le système binominal <sup>[10]</sup>.

**Tableau 01** : Classification taxonomique d'*Arbutus unedo* L <sup>[11]</sup>.

Règne	Végétal
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Eudicots
Classe	Magnoliopsidées
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Ericales
Famille	Ericacées
Genre	<i>Arbutus</i>
Espèce	<i>Arbutus unedo</i> (L., 1753).

#### I.4. Description botanique

*L'Arbutus Unedo L.*, est une espèce à feuilles persistantes et habituellement ne dépassant pas les 4m, mais certain individus peuvent atteindre les 12m<sup>[12]</sup>. (Figure 01)



**Figure 01** : *Arbutus Unedo L.*

(Oued Esfsaf, Machtat Fréna, Commune Ouled-Moumen, Wilaya de Souk-Ahras)

Les feuilles elliptiques de 5 à 10 cm, sont coriaces avec le bord en dents de scie ou légèrement dentelées, d'un vert foncé luisant au-dessus et vert pâle au-dessous, à court pétiole de 7 à 8 mm, peut atteindre jusqu'à 15 mm. Les fleurs d'un blanc-verdâtre, en forme de clochettes pendent en grappes et apparaissent en septembre-octobre, en même temps que les fruits<sup>[12]</sup>. (Figure 02)



**Figure 02** : feuilles et fleurs de l'Arbousier.

Le fruit (Arbouse), est une baie ronde de 20 mm de diamètre, est recouvert de papilles coniques, dont la couleur passe du vert au jaune puis au rouge orangé à maturité. Sa chair est molle, un peu farineuse, acidulée et sucrée, et elle contient de nombreux petits pépins <sup>[13]</sup>. (Figure 03)

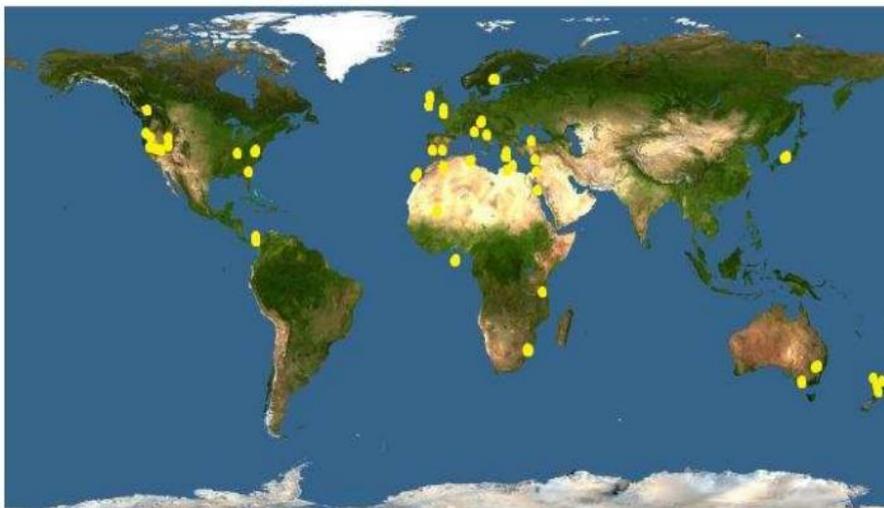


**Figure 03** : Fruit de l'Arbousier (l'Arbouse).

#### I.5. Répartition géographique :

*L'Arbutus Unedo* L pousse dans diverses régions du globe (figure 04), il est beaucoup plus fréquent dans les régions à climat non continental avec une distribution méditerranéenne, se trouvant dans le nord-est de l'Afrique, à l'ouest et au sud de l'Europe et dans l'Asie occidentale <sup>[14]</sup>.

En Algérie, l'arbousier est bien représenté dans le tell Algérien, surtout dans les forêts de chêne liège, comme là les régions de Souk-Ahras, El Taraf, Skikda, Jijel et Tizi-Ouzou <sup>[8]</sup>.



**Figure 4** : Répartition géographique mondiale d'*Arbutus Unedo* L <sup>[15]</sup>.

## I.6. Composition chimique

Il est bien connu que de nombreuses plantes ayant dans leur composition de fortes teneurs en composés phénoliques ont une importante activité antioxydante *in vitro* et peuvent jouer un rôle thérapeutique dans plusieurs pathologies humaines et animales. Compte tenu de la composition chimique de la feuille et du fruit d'*Arbutus Unedo*, cette espèce pourrait présenter un potentiel antioxydant considérable [16].

Une composition chimique distincte a été établie pour les différentes parties de l'*Arbutus Unedo L.* Les analyses physicochimiques effectuées par plusieurs auteurs ont montrées l'existence de plusieurs espèces chimiques dans le fruit et les feuilles (tableau 02) [17].

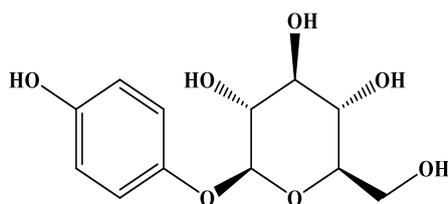
**Tableau 02 :** Composition chimique des fruits et des feuilles de l'Arbousier.

DIFFERENTE PARTIE	Les Composés phénoliques	Les sucres	Autres composées
<b>Fruit</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonols (10,86mg/100g)</li> <li>• Les dérivés de galloyl (24,63mg /100g)</li> <li>• Anthocyanes (13,77mg/100g)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fructose (27,8%)</li> <li>• Glucose (21 ,5%)</li> <li>• Saccharose (1,80%)</li> <li>• Maltose (1,11%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eau (68,18%)</li> <li>• Solides solubles (17,66%)</li> <li>• Fibres alimentaires (19%)</li> </ul>
<b>Feuille</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tanin (37%)</li> <li>• Arbutoflavonol A</li> <li>• Arbutoflavonol B</li> <li>• Flavonoïdes (2%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Arbutoside (3,2%)</li> <li>• Unédoside</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide ursuline</li> <li>• L'hydroquino-ne Libre</li> </ul>

### I.6.1 Composition chimique des feuilles de l'Arbousier

Dans les feuilles de l'*Arbutus Unedo*, différents composés phytochimiques sont présents, tels que les tanins, les flavonoïdes, les glycosides phénoliques (quercitrine, isoquercitrine, hyperoside) [18].

La fraction phénolique la plus importante de la feuille de l'arbousier sont la catéchine, l'éthyle gallate et l'arbutine (figure 05), ce dernier est un puissant antiseptique de l'appareil urinaire [19].



**Figure 05** : formule chimique de l'arbutine.

### I.6.2. Composition chimique des fruits de l'Arbousier

La composition des fruits est relativement mieux connue comparativement à celle des feuilles. Elles contiennent plusieurs molécules bioactives, à savoir les composés phénoliques, comme les anthocyanines, les dérivés d'acide gallique, les tanins et les flavonoïdes, la vitamine C, la vitamine E et les caroténoïdes [20].

#### a. Les Sucres et acides non volatiles

Une étude [21] sur la composition et la concentration des sucres et des acides non volatiles dans l'arbutine a été réalisée par la méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse (CPG/SM) avec utilisation de produits de références. Les résultats sont résumés dans les tableaux 03 et 04 ci-dessous.

Les sucres solubles identifiés et quantifiés au cours de cette étude sont : le fructose, le glucose, le saccharose et le maltose. Leurs teneurs respectives sont de 27.8, 21.5, 1.8 et 1.11% du poids sec des fruits. La teneur en glucose et fructose augmente avec la maturation du fruit, tandis que le saccharose reste inchangé.

D'après ces résultats on peut conclure que le fructose, le glucose, l'acide fumarique et l'acide malique représentent les composés majoritaires responsables de goût des fruits [22].

Le goût aigre-doux de ces fruits peut être expliqué par la forte teneur en sucre (42%) additionnée d'une teneur relativement importante en acide (8,62%). D'autre part, le goût astringent du fruit immature peut s'expliquer par la forte teneur en tanins, qui au cours de la maturité, au même titre que les phénols totaux, diminuent fortement [22].

**Tableau 03:** Composition des sucres dans l'Arbouse <sup>[21]</sup>.

Sucres	Formules chimiques	Concentration (% Poids sec)
Fructose		27.8 ± 0.32
Glucose		21.5 ± 0.18
Saccharose		1.8 ± 0.02
Maltose		1.11 ± 0.06

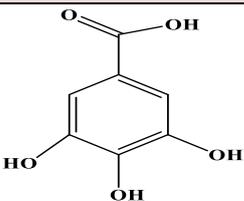
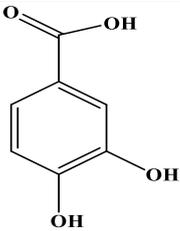
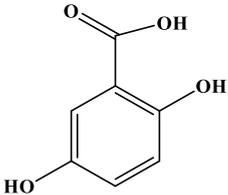
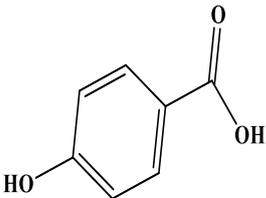
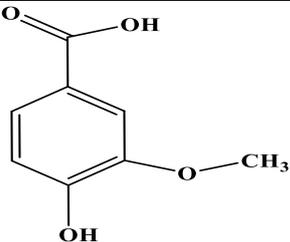
**Tableau 04:** Composition des acides non-volatiles dans l'Arbouse <sup>[21]</sup>.

Acide non-volatile	Formules chimiques	Concentration (mg/g Poids sec)
Acide fumarique		1.94 ± 0.07
Acide lactique		0.49 ± 0.03
Acide malique		0.84 ± 0.06
Acide subérique		0.23 ± 0.05
Acide citrique		Trace

### b. Les Acides phénoliques

L'arbose contient beaucoup d'acides phénoliques, identifiés et quantifiés avec la même méthode précédente : CPG/SM La nature et la teneur des acides caractérisés sont représentés dans le tableau 05 ci-dessous :

**Tableau 05:** Composition des acides phénoliques dans l'Arbose <sup>[21]</sup>.

Acide phénolique	Formules chimiques	Concentration (mg/g Poids sec)
Acide gallique		10.7 ± 0.04
Acide protocatéchique		0.6 ± 0.03
Acide gentisique		1.9 ± 0.11
Acide para- Hydroxy- benzoïque		0.3 ± 0.01
Acide vanillique		0.12 ± 0.08

### c. Les éléments minéraux

L'étude réalisée par Mehmet Musa et coll <sup>[21]</sup> sur l'arbose a montré que les teneurs des sels minéraux dans ce dernier sont très variables. Les résultats sont résumés dans le tableau 06 ci-dessous :

**Tableau 06 :** Teneurs des minéraux dans l'Arbose <sup>[21]</sup>.

Minéraux	Valeurs (mg/Kg)
K	14909.08 ± 1687
Ca	4959.02 ± 150
P	3668.56 ± 339.69
Mg	1315.57 ± 129.19
Na	701.26 ± 80
Al	20.11 ± 2.69
V	16.63 ± 4.27
B	16.03 ± 2.12
Fe	12.15 ± 1.11
As	10.58 ± 6.47
Zn	8.09 ± 0.96
Sr	5.10 ± 0.80
Mn	4.44 ± 0.55
Cr	2.41 ± 0.96
Cu	1.65 ± 0.41
Li	0.94 ± 0.15
Pb	0.51 ± 0.04
Ga	0.47 ± 0.43
Cd	0.19 ± 1.05
Ti	0.16 ± 0.26
Ni	0.13 ± 0.14

D'après cette étude on peut dire que l'arbose est très riche en calcium, potassium, magnésium, sodium et phosphore. Par contre le cadmium, cuivre, lithium, manganèse, nickel, plomb et strontium se trouvent sous forme de trace.

### I.7. Utilisation traditionnelle

Cette espèce a été traditionnellement utilisée pour son potentiel nutritionnel, en utilisant les baies d'*Arbutus Unedo* dans la production de boissons alcoolisées par distillation ou macération en raison du taux important de sucres fermentes cibles contenus dans ses fruits, de confitures, de gelées et de marmelades en raison de sa richesse en pectine <sup>[22]</sup>.

En médecine traditionnelle les fruits d'Arbousier sont bien connus pour leurs vertus antiseptique, diurétique et laxatif, tandis que les feuilles sont utilisées pour leurs propriétés astringentes, diurétiques, antiseptiques urinaires, anti-diarrhéiques et dépuratives <sup>[16]</sup>.

L'*Arbutus Unedo* est également connue par sa capacité antioxydante, et antimicrobienne. Plusieurs composés présents dans les différentes parties de la plante comme les caroténoïdes, les flavonoïdes, les acides phénoliques et des vitamines (C et E) peuvent être liés à ces propriétés <sup>[23]</sup>.

Les fruits de l'arbousier sont comestibles, crus (figure 06) ou cuits, mais c'est dans le deuxième cas qu'ils sont les plus savoureux. Mais parfois, ces fruits ne sont pas aussi agréables au goût pour certaines personnes, ils peuvent être alors, transformés en confitures, cuisinées en gelée et compote ou transformé en vinaigre ou en liqueur du vin. Cependant, il faut remarquer que ces fruits sont déconseillés pendant la grossesse et en cas d'affection rénale <sup>[24]</sup>.



**Figure 06 :** Présentation d'un fruit cru d'Arbousier.

## II. Métabolisme et métabolites

### II.1. Définition du métabolisme et du métabolite

L'ensemble des transformations de diverses substances qui s'effectuent au sein d'un être vivant, à l'aide des réactions chimiques, est appelé métabolisme. Ce dernier est habituellement divisé en deux catégories : le catabolisme avec assimilation et décomposition, et l'anabolisme avec production et accumulation <sup>[25]</sup>.

Le métabolite désigne un composé chimique, de petite taille, synthétisé lors d'une phase de métabolisme. Il est caractérisé par des structures et des états énergétiques bien définis et possède des effets stimulateurs ou inhibiteurs sur les enzymes <sup>[26]</sup>.

Ces processus biochimiques sont indispensables à la survie, la reproduction, le développement et l'interaction de l'être vivant avec le monde extérieur.

### II.2. Nature des métabolites

Il existe deux types de métabolites, les métabolites primaires et secondaires.

#### II.2.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui existent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en glucides, lipides, acides aminés, protides et protéines. C'est à partir de ceux-ci que les métabolites secondaires sont formés, par différentes réactions chimiques. Ils jouent aussi un rôle essentiel dans: la photosynthèse, la respiration, la croissance et le développement de la plante <sup>[27]</sup>.

#### II.2.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques à structure chimique simple et parfois complexe. Ils diffèrent selon les espèces et ne sont pas directement impliqués dans le développement ou la reproduction de l'organisme, mais ils ont des fonctions biologiques qui peuvent s'avérer essentiels, exemples <sup>[28]</sup> :

- Les plantes peuvent sécréter des pigments de type isoprénoïdes et/ou des parfums (isoprénoïdes volatils) pour attirer les insectes pollinisateurs : essentiels pour la reproduction.
- Les plantes ont la capacité de se défendre contre les organismes pathogènes, bactéries ou virus qui les infectent.
- Les plantes communiquent entre elles par le biais de micro-organismes: hormones, phéromones.

### II.3. Composition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés, on peut citer entre autres :

#### II.3.1. Les composés phénoliques

##### II.3.1.1. Généralité

Les composés phénoliques, ou polyphénols sont des phytomicro-nutriments organiques hydrosolubles synthétisés par les végétaux. Ils forment un ensemble de molécules comportant au moins un groupement phénolique dans leur structure et sont en général de haut poids moléculaire et peuvent être classifiés en sous-groupes par la structure de leur squelette carboné [29].

L'étude des polyphénols a connu une croissance fulgurante ces dernières années en raison de leurs bienfaits sur la santé. Ils ont un pouvoir antioxydant exprimé par leur potentiel à piéger les espèces radicalaires par le biais de la chélation des métaux de transition comme le Fer et le Cuivre permettant la catalyse de l'oxydation. Les polyphénols sont aussi capables d'interagir avec des cibles protéiques (enzymes, récepteurs nucléaires...) ce qui leur donne des effets anti-inflammatoires, anti-thrombotiques\*, anti cancérigènes et anti-athérogéniques\*\*. Ces antioxydants naturels sont également utilisés en cosmétique ou dans l'industrie agroalimentaire comme additifs [29].

Il faut signaler que ce type de molécules, réparties en plusieurs classes, sont présentes dans les aliments. Nous pouvons citer parmi les plus importantes les anthocyanes responsable de la couleur des fruits rouges [30] (cerise, fraise, arboise, etc...), les tanins responsables de l'astringence\*\*\* de divers fruits [21] (pellicule et pépins du raisin, chair de kaki, etc..), les flavonones responsables de l'amertume du pamplemousse. Pour les légumes, nous citons l'oignon riche en flavonols [30] (quercétine).

##### II.3.1.2. Classification de polyphénols

En 1980, Harborne [31] a proposé une classification de ces substances (Tableau 07) en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base. Les principales classes largement répandues sont :

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques),

---

\*Hyper coagulation

\*\*L'athérogenèse, processus de formation des athéromes, des dépôts de lipoprotéines sur les parois des artères

\*\*\*L'astringence est une propriété de certaines substances à produire une crispation des muqueuses buccales

- Les flavonoïdes.
- Les tanins et les lignines

**Tableau 07** : Principales classes de composés phénoliques.

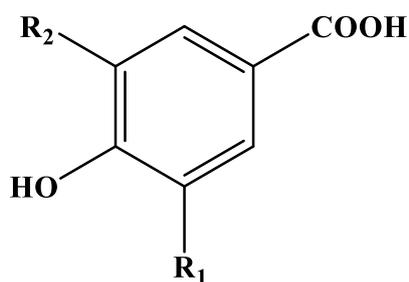
Squelette Carboné	Classe	Exemple	Origine
• C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
• C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydroxybenzoïque	Epices, fraise
• C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques, Phenylpropenes, Coumarines, Isocoumarines, Chromones	Acide caféïque, Acide férulique, Myristicin, Eugénol, Eugenine, Scopolétine	Pomme de terre, Pomme, citrus
• C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones, Polyphénols	Juglone, plumbagine	Noix
• C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthonnes	Mangiferine	
• C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes Anthraquinones	Resvératrol Anthraquinones	Vigne
• C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes, isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine, daidzéine	Fruit, légumes, fleurs, soja, pois
• (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes, Neolignanes	Pinorésinol, Eusiderine	Pin
• (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoides	Amentoflavone	
• (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, fruits à noyaux, raisin, kaki
• (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins condensés		

**a. Les acides phénoliques**

Un acide phénolique, ou acide-phénol, est un composé organique rencontré chez les plantes possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique.

Deux sous-groupes peuvent être distingués <sup>[32]</sup> (figure 08) :

- Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique
- Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique.



R1 = R2 = H

Acide p-hydroxybenzoïque

R1 = OH, R2 = H

Acide protocatéchique

R1 = OCH3, R2 = H

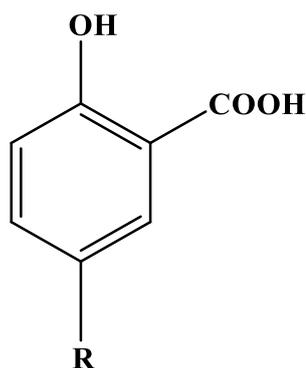
Acide vanillique

R1 = R2 = OH

Acide gallique

R1 = R2 = OCH3

Acide syringique

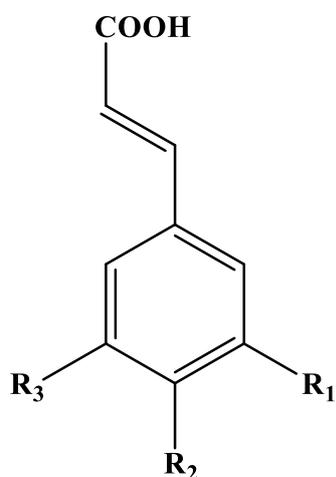


R = H

Acide salicylique

R = OH

Acide gentisique



R1 = R2 = R3 = H

Acide cinnamique

R1 = R3 = H, R2 = OH

Acide p-coumarique

R1 = R2 = OH, R3 = H

Acide caféique

R1 = OCH3, R2 = OH, R3 = H

Acide férulique

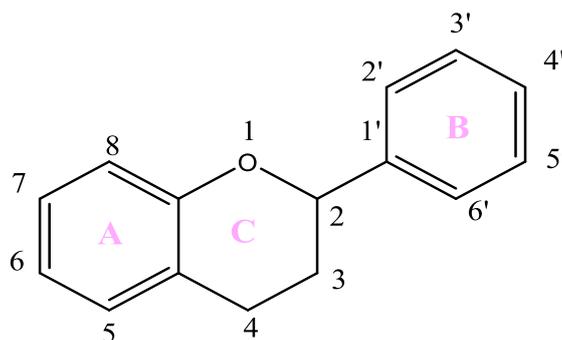
R1 = R3 = OCH3, R2 = OH

Acide sinapique

**Figure 07** : Exemples d'acide phénoliques.

## b. Les flavonoïdes

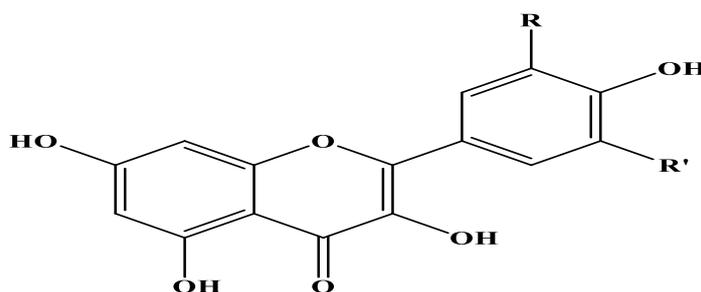
Les flavonoïdes sont des pigments végétaux simples ou glycosylés formés d'un squelette de base à 15 carbones (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), correspondant à la structure de la 2-phényl benzopyrone (figure08). On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Les flavonoïdes se subdivisent en plusieurs familles chimiques <sup>[33]</sup>.



**Figure 08** : Squelette de base des flavonoïdes.

### • Flavonols

Les flavonols (3-hydroxyflavones) sont les constituants flavoniques les plus abondants des aliments. Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le kaempférol et la quercétine. Ces dernières possèdent un très fort pouvoir antioxydant en raison de leur structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres <sup>[34]</sup>. Les principales sources de ces composés sont partie de baies de raisin, pomme, tomate, oignon, brocoli et laitue rouge (figure 09) <sup>[35]</sup>.



R=R'=H : **Kaempférol**

R= OH, R' = H: **Quercétine**

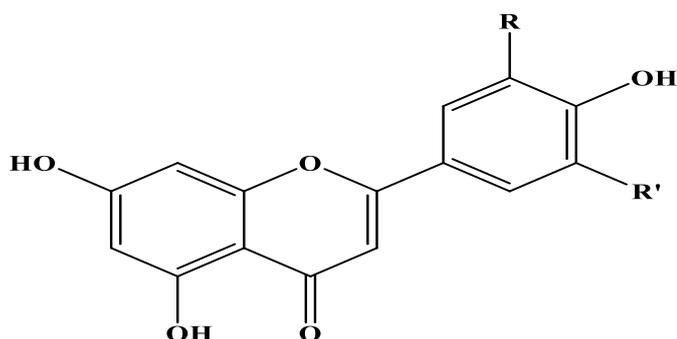
R= OCH<sub>3</sub>, R' = H: **Isorhamnétine**

R=R'= OH: **Myricétine**

**Figure 09** : Structures chimiques des flavonols.

- **Les flavones**

Les flavones sont structurellement très similaires aux composés de flavonol, Les principaux flavones sont l'apigénine et la lutéoline (Figure 10). La lutéoline est présente dans les légumes et les fruits tels que le brocoli, le céleri, les carottes, le persil, les feuilles d'oignon, les choux, les poivrons, les fleurs de chrysanthème et les peaux de pommes. Alors que l'apigénine peut être trouvée dans les oignons, le persil, les pousses de blé, le thé, les oranges, la camomille et dans certains assaisonnements. Ils ont des activités physiologiques remarquables, notamment des propriétés antimicrobiennes et antivirales <sup>[35]</sup>.



R=R'=H: Apigénine

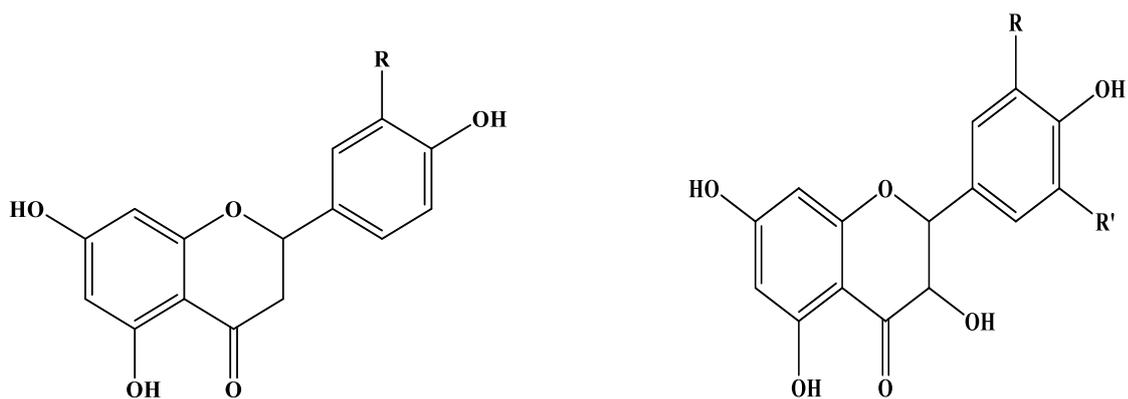
R= OH, R'= H: Lutéoline

R=R'= OCH<sub>3</sub>: Tricine

**Figure 10** : Structures chimiques des flavones.

- **Flavanones et flavanonols**

Les flavanones et les flavanonols sont caractérisés par l'absence de la double liaison en C2-C3 et par la présence d'un carbone asymétrique en C2, voire en C3. Les variations structurales sont de même nature que celles décrites pour les flavones et flavonols. Les flavanonols, encore appelés dihydroflavonols, se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C-3. Cette classe de flavonoïdes semble un peu moins fréquente que son homologue insaturé regroupant les flavones et flavonols (figure 11) <sup>[32]</sup>.



R= H: Naringénine

R= OH: Eriodictyol

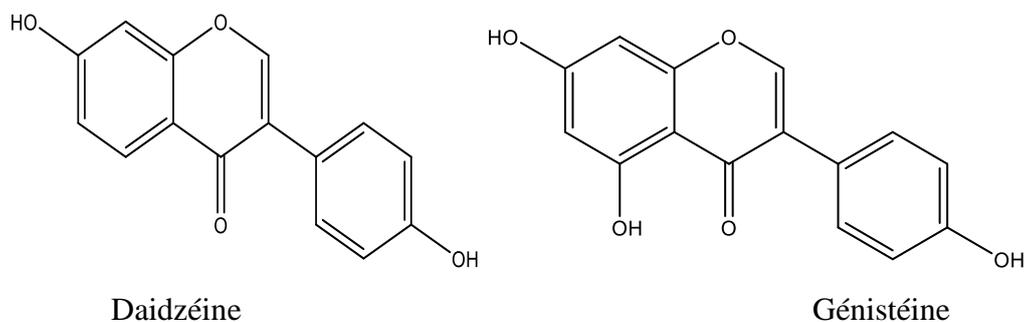
R= OH, R' =H: Taxifoline

R= OH R'= OH: Ampélopto

**Figure 11** : Structures chimiques des flavanones et flavanonols.

- **Les isoflavones**

Les isoflavonoïde sont moins répandus taxonomiquement\*. Ces composés très actifs se trouvent essentiellement chez les légumineuses en particulier dans le soja. La structure des isoflavones ne diffère des autres flavonoïdes que par la présence du cycle B en position 3 (figure 12) [35].



Daidzéine

Génistéine

**Figure 12** : Structures chimiques d'isoflavones

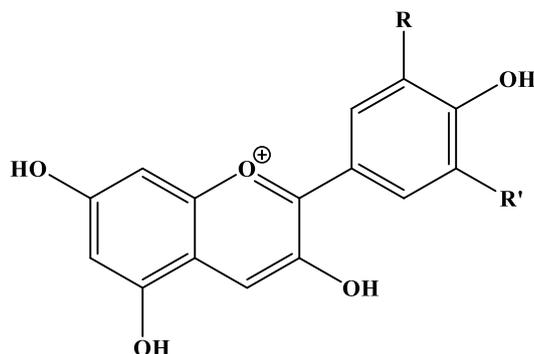
- **Les anthocyanes**

Les anthocyanes sont des pigments naturels qui donnent les couleurs à de nombreuses plantes. Ils sont des dérivés du cation 2-phényl-1-benzopyrylium (flavylium) porteur de 3 cycles aromatiques conjugués d'où l'absorption de lumière visible. Ces composés sont

---

\*La taxinomie ou taxonomie est une branche des sciences naturelles, qui a pour objet de décrire la diversité des organismes vivants et de les regrouper en entités appelées taxons afin de les identifier, les décrire, les nommer et les classe.

beaucoup utilisés comme colorants alimentaires et présentent des propriétés anti-oxydantes (figure 13) <sup>[36]</sup>.



R = R' = H : Pélargonidine

R = OH, R' = H : Cyanidine

R = OCH<sub>3</sub>, R' = H : Péonidine

R = R' = OH : Délphinidine

R = R' = OCH<sub>3</sub>: Malvidin

R = OH, R' = OCH<sub>3</sub>: Pétunidine

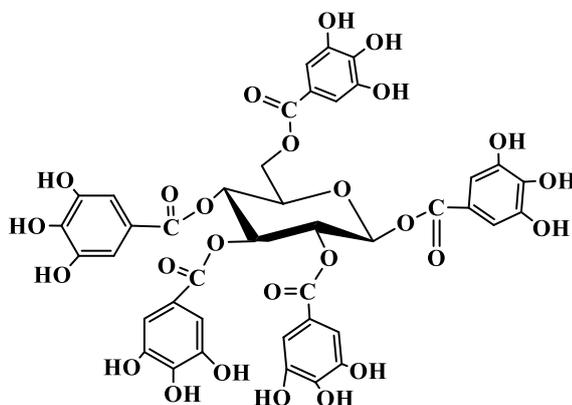
**Figure 13** : Structures chimiques des anthocyanes.

### c. Les tanins

Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire fortement hydroxylés. Leurs structures chimiques sont variées et rassemblées en famille en fonction d'activités communes. D'une manière générale, les tanins sont devisés en deux groupes <sup>[37]</sup>:

- **Tanins hydrolysables**

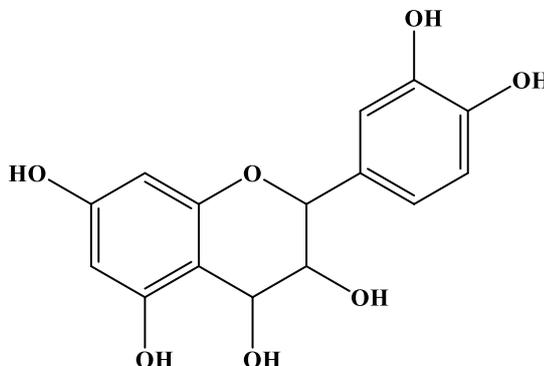
Ils sont constitués par une molécule de sucre (le glucose le plus souvent) estérifiée par l'acide gallique ou un de ses dérivés (acide ellagique, chébulique ou valonique). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique <sup>[37]</sup> (figure 14).



**Figure 14** : la structure chimique de penta-O-galloylglucose

- **Tanins condensés**

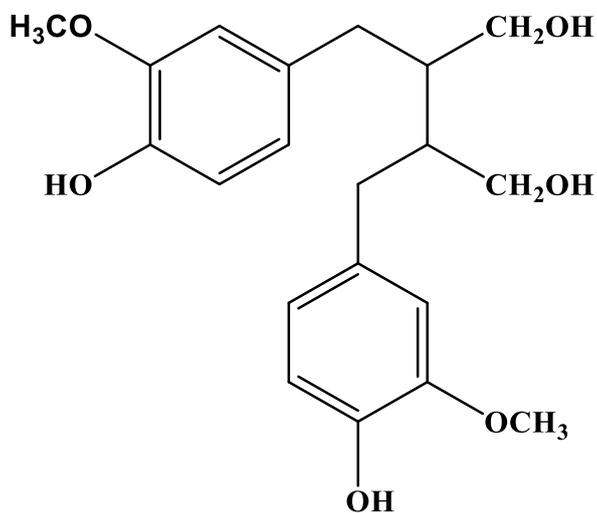
Ce sont des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines). Ils sont aussi désignés aussi sous le nom de «tanins catéchiques» et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides<sup>[37]</sup> (figure15).



**Figure 15** : la structure chimique de flavan-3,4-diols (monomère).

**d. Les lignines**

Ces composés de haut poids molécules contribuent à former, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, la paroi des cellules végétales. Ils sont constitués de deux unités de phénylpropane et entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes, fortement plus concentrés dans les graines de lins (figure 16)<sup>[38]</sup>.



**Figure 16** : Structure chimiques des lignanes.

### II.3.1.3. Rôles des polyphénols

Plusieurs auteurs <sup>[21]</sup> ont montré les activités biologiques de certains composés phénoliques comme les acides phénoliques, tanins, flavonoïdes, ...etc.

- Acides phénols : antifongique, antioxydant et antibactériens.
- Tanins : effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, anti-diarrhéique, effet antiseptique et effet vasoconstricteur.
- Flavonoïdes : anti-tumorale, anti-carcinogène, anti-inflammatoire, antioxydant, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, anti microbienne, hypotenseur et diurétique.
- Coumarines : anticoagulante, antioxydant, protectrice vasculaire et anti œdémateuse
- Anthocyanes : protectrices capillaro-veineux, antioxydant

### II.4. Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale. De structure moléculaire hétérocyclique azotée, très complexe à caractère basique. Ils précipitent généralement avec des réactifs iodométriques (réactif de Dragendorff) et sont très souvent biologiquement actifs <sup>[39]</sup>.

L'importance de ces molécules réside dans le fait qu'ils possèdent de puissantes activités biologiques même à faibles doses. Elles sont utilisées par exemple comme antidépresseurs, stimulants, anesthésiques, anti tumoraux, antipaludiques etc. (figure 17).

On distingue généralement trois classes <sup>[16]</sup>:

- Les alcaloïdes vrais : qui sont d'un point de vue de la biosynthèse dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle : exemple la strychnine dérivée du tryptophane
- les proto-alcaloïdes : qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels l'azote est en dehors des structures cycliques (exemple : la colchicine)
- Les pseudo-alcaloïdes : qui ne dérivent pas d'acides aminés (exemple : la caféine)

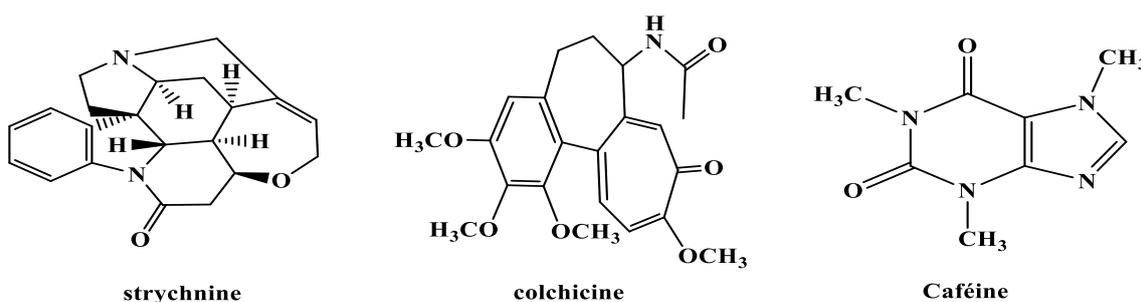
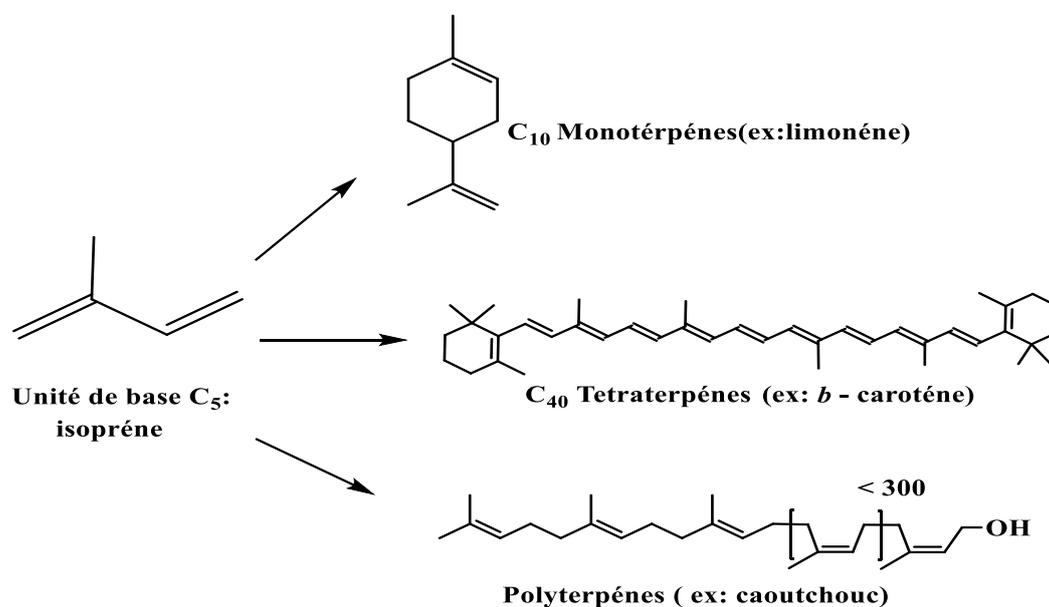


Figure 17 : Structure chimiques des alcaloïdes.

## II.5. Les isoprénoïdes (Les terpénoïdes)

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes. De façon analogue à la famille des composés phénoliques, les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées comme par exemple le caoutchouc [39].

Selon le nombre d'entités isoprène qui sont incorporées dans leurs structures, les terpènes sont subdivisés en : monoterpènes ( $C_{10}H_{16}$ ), sesquiterpènes ( $C_{15}H_{24}$ ), diterpènes ( $C_{20}H_{32}$ ), triterpènes ( $C_{30}H_{48}$ ), tetraterpènes ( $C_{40}H_{64}$ ) et polyterpènes ( $(C_5H_8)_n$ ) (figure 18).



**Figure 18** : Structure chimiques des terpénoïdes.

### III. Rappels sur les activités étudiées

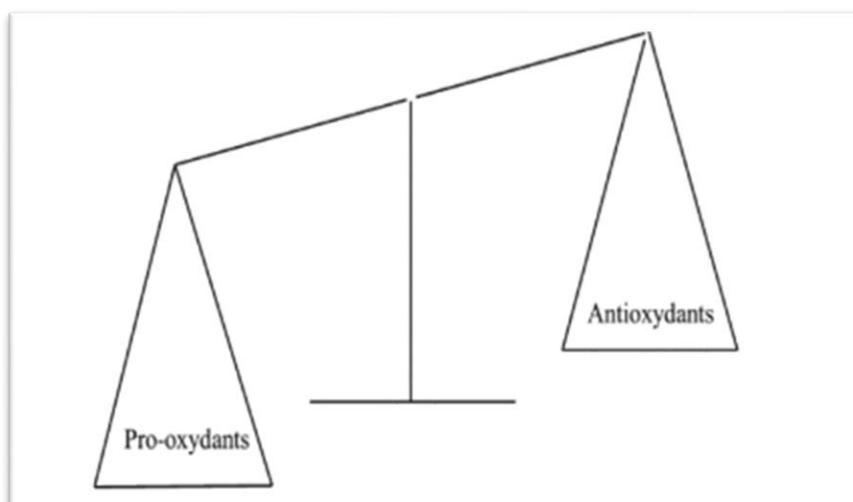
#### III.1. Activité antioxydant

##### III.1.1. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. La présence d'un électron célibataire confère souvent à ces molécules une grande instabilité, elles ont la possibilité de réagir avec de nombreux composés. Ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente chacun des deux électrons intervenant dans la liaison entre les atomes A et B gagne l'orbitale externe de ces atomes, qui deviennent alors des radicaux libres<sup>[40]</sup>.

##### III.1.2. Le stress oxydatif

Dans les circonstances quotidiennes normales, les radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres (figure 19). Toutefois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance pro-oxydant/antioxydant<sup>[41]</sup>.



**Figure 19** : Déséquilibre de la balance antioxydants et pro-oxydants.

### III.1.3. Conséquence du stress oxydatif:

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN, les lipides (peroxydation), les protéines...etc. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète...) et la dégradation des cellules et des tissus <sup>[42]</sup>.

### III.1.4. Les antioxydants

Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives. Ils jouent un rôle de protecteur contre les radicaux libre qui peuvent être source de nombreux problèmes de santé s'ils prolifèrent dans l'organisme <sup>[43]</sup>.

#### III.1.4.1. Classification

Les antioxydants se répartissent en deux catégories : ceux provenant de sources externes a activité non enzymatique et ceux provenant de sources internes a activité enzymatique.

- **Les antioxydants à activité non enzymatiques**

Cette catégorie d'antioxydants est généralement d'origine alimentaire et se trouve dans un grand nombre d'aliments poivrons, citron, orange, kiwi, chou, fraise, huile de tournesol, de soja, beurre, margarine, œuf, foie, poissons, viandes, fruits de mer, pain complet, légume, vin, thé...etc <sup>[44]</sup>.

Les antioxydants à activité non enzymatiques se classe à son tour en 4 groupes : les caroténoïdes, les polyphénols, les vitamines et les oligo-éléments (Sélénium, Cuivre, Manganèse et Zinc) <sup>[44]</sup>.

Les propriétés antioxydantes des polyphénols sont étroitement liées à leurs structures chimiques selon le type de composé et le degré de méthylation <sup>[45]</sup>.

- **Les antioxydants à activité enzymatiques**

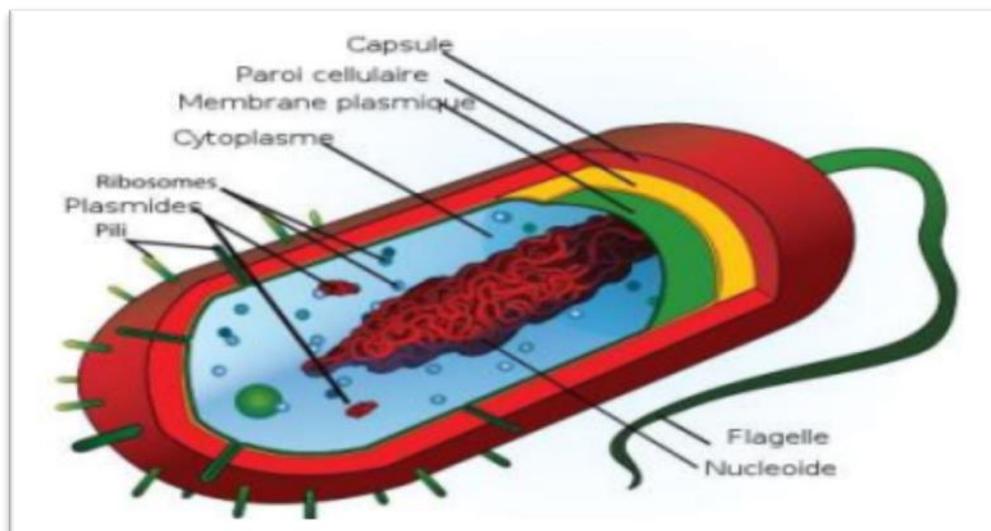
Il y a plusieurs systèmes d'enzymes qui catalysent des réactions pour neutraliser les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène. Ces enzymes comprennent <sup>[46]</sup>:

- Le superoxyde dismutase (SOD)
- La glutathion peroxydant
- La réductase de glutathion
- La catalase (CAT)

### III.2. Activité antimicrobienne

#### III.2.1. Les bactéries

Les bactéries sont des cellules procaryotes, leur ADN n'étant pas localisé dans un noyau. Beaucoup contiennent des structures circulaires d'ADN extra-chromosomique appelées plasmides. Il n'y a pas d'autre organelle dans le cytoplasme que les ribosomes, qui sont de plus petite taille que ceux des cellules eucaryotes. À l'exception des mycoplasmes, les bactéries sont entourées par une paroi complexe, différente selon que la bactérie est à Gram positif ou négatif. De nombreuses bactéries possèdent des flagelles, des pili, ou une capsule à l'extérieur de la paroi (figure 20) <sup>[47]</sup>.



**Figure 20** : Structure d'une cellule bactérienne.

### III.2.2. Les champignons

Les champignons ou mycètes constituent un règne très important, dont seul un petit nombre de représentants sont pathogènes pour l'homme. Ce sont des eucaryotes, possédant un noyau et une paroi cellulaire composée de chitine. Les champignons peuvent se présenter sous forme unicellulaire (levure) ou pluricellulaire <sup>[47]</sup>.

### III.2.3. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont, par définition, des produits microbiens capables de tuer les micro-organismes sensibles (effet bactéricide) ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) <sup>[48]</sup>.

la recherche scientifique s'est tournée vers les extraits végétaux riches en biomolécules potentiellement antibactériennes mais leur mécanisme ne sont pas clairs Certains auteurs supposent que les biomolécules présentes dans ces extraits tels que les polyphénols et plus particulièrement les flavonoïdes agissent sur la membrane cytoplasmique ou la paroi cellulaire bactérienne, causant des dommages structurels et fonctionnels <sup>[49]</sup>.

## III.3. Activité anticorrosive

### III.3.1. La corrosion

La corrosion est la dégradation du matériau par réaction chimique ou électrochimique C'est une interaction physico-chimique entre un métal et son environnement entraînant des modifications dans les propriétés du métal <sup>[50]</sup>.

### III.3.2. Les types de corrosion

Le type de corrosion dépend de la nature de l'environnement dans lequel baigne le matériau. En général on peut résumer les différents processus en trois types :

- **Corrosion chimique (sèche)**

Il s'agit d'une réaction purement chimique entre la surface d'un matériau et un gaz ou un liquide non électrolyte. Par exemple, l'oxydation d'un acier ordinaire à haute température par l'oxygène de l'air est une corrosion chimique <sup>[50]</sup>.

- **Corrosion biochimique (bactérienne)**

Elle résulte de l'action de bactéries ou de produits provenant de l'activité bactérienne tels que des acides organiques ou des gaz comme CO<sub>2</sub> et SO<sub>2</sub>, sur le matériau métallique. Les canalisations enterrées sont sujettes à ce type de corrosion <sup>[50]</sup>.

- **Corrosion électrochimique (humide)**

C'est une réaction électrochimique entre la surface d'un matériau et un électrolyte. Elle est accompagnée de la formation des piles qui sont le siège de circulation de courant électrique. Par exemple des alliages de fer dans les milieux acide (chlorhydrique ou sulfurique) <sup>[50]</sup>.

### **III.3.3. Les inhibiteurs de corrosion**

#### **III.3.3.1. Définition d'inhibiteur**

Un inhibiteur est une substance chimique que l'on ajoute en petite quantité au milieu pour diminuer la vitesse de corrosion du matériau métallique à protéger par formation d'une couche superficielle sur le métal soit direct ou bien indirect <sup>[51]</sup>.

#### **III.3.3.2. Les propriétés des inhibiteurs**

D'une manière générale un inhibiteur doit être <sup>[52]</sup>:

- Abaisser la vitesse de corrosion du métal tout en conservant les caractéristiques physico-chimiques de ce dernier.
- compatible avec les normes en vigueur de non-toxicité et de protection de l'environnement.
- Efficace à faible concentration.
- Stable en présence d'autres constituants.
- Stable dans le domaine de températures utilisé.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] L. Ramli. (2017). Etude, in vitro, de l'activité antileishmanienne de certaines plantes médicinales locales : Cas de la famille des *lamiacées*. Thèse de Magister. Université Constantine 1.
- [2] K. Hadim, C. Ben Aissou. (2018). Effet de traitement thermique sur l'activité antioxydante, anti inflammatoire et antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Arbutus unedo* L. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri.
- [3] L. Reguieg. (2011). Using medicinal plants in Algeria. *Am J Food Nutr*, 1(3): p. 126-127.
- [4] B. Ahmad. (2015) Patrimoine forestier de Souk Ahras : Une ressource économique non négligeable, Available dans : [www.lemaghreb.dz.com](http://www.lemaghreb.dz.com).
- [5] D. E. Santo, et al. (2012). Yeast diversity in the Mediterranean strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits' fermentations. *Food Research International*, 47(1): p. 45-50.
- [6] O. Mezine, C. Zerrouki. (2015). Activité antileishmanienne des extraits aqueux de l'olivier, de l'Arbousier et du Pistachier. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri.
- [7] B. Boullard. (2001). Plantes médicinales du monde: croyances et réalités. De Boeck Secundair.
- [8] T. Aksil. (2015). Caractérisation physico-chimique du fruit de l'arbousier (*Arbutus unedo* L.) du nord Algérien et de la datte (*Phoenix dactylifera* L.) du nord Algérien et de la datte (*Phoenix dactylifera* L.).
- [9] L. C. Hileman, M.C. Vasey, V.T. Parker. (2001). Phylogeny and biogeography of the Arbutioideae (*Ericaceae*): implications for the Madrean-Tethyan hypothesis. *Systematic Botany*, 26(1): p. 131-143.
- [10] A. Marradi. (1990). Classification, typology, taxonomy. *Quality and Quantity*, 24(2): p. 129-157.
- [11] W. S. Judd, et al. (2002). Botanique systématique: une perspective phylogénétique. De Boeck Supérieur.
- [12] M. Mereti, K. Grigoriadou, G. D. Nanos. (2002). Micropropagation of the strawberry tree, *Arbutus unedo* L. *Scientia horticulturae*, 93(2): p. 143-148.
- [13] G. Celikel, L. Demirsoy, H. Demirsoy. (2008). the strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey. *Scientia Horticulturae*, 118(2): p. 115-119.
- [14] R. Morales Valverde, J. Tardío, H. Pascual. (2002). Alimentos silvestres de Madrid: Guía de plantas y setas de uso alimentario tradicional en la Comunidad de Madrid: Madrid (Comunidad Autónoma).
- [15] L. Oliveira, et al. (2009) .Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food and Chemical Toxicology*, 47(7): p. 1507-1511.
- [16] I. Moualek. (2018). Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou. thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri.
- [17] A. Pabuçcuoğlu, et al. (2003). Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves. *Fitoterapia*, 74(6): p. 597-599.

- [18] E. Sanjust, et al. (2008). Mediterranean shrubs as potential antioxidant sources. *Natural Product Research*, 22(8): p. 689-708.
- [19] A. Fiorentino, et al. (2007). Polyphenols from the hydroalcoholic extract of *Arbutus unedo* living in monospecific Mediterranean woodland. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(11): p. 809.
- [20] F. Ayaz, M. Kucukislamoglu, M. Reunanen. (2000). Sugar, non-volatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoidea*) fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(2): p. 171-177.
- [21] M. E. A.Dib. (2008). Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de quelques polyphénols présents dans l'*Arbutus unedo*. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaïd.
- [22] M. Alarcão-E-Silva, et al. (2001). The *Arbutus berry*: studies on its color and chemical characteristics at two mature stages. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14(1): p. 27-35.
- [23] I. Oliveira, et al. (2011). Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. *Food Research International*,. 44(5): p. 1401-1407.
- [24] P. Iserin, et al. (2001). Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. Editions Larousse, Paris: p. 15.
- [25] J. Caldwell. (1982). Conjugation reactions in foreign-compound metabolism: definition, consequences, and species variations. *Drug metabolism reviews*, 13(5): p. 745-777.
- [26] V. Hatzimanikatis, et al. (2004). Metabolic networks: enzyme function and metabolite structure. *Current opinion in structural biology*, 14(3): p. 300-306.
- [27] F. Dethloff, et al. (2014). Profiling methods to identify cold-regulated primary metabolites using gas chromatography coupled to mass spectrometry, in *Plant Cold Acclimation*. Springer. p. 171-197.
- [28] I. Izhaki. (2002). Emodin—a secondary metabolite with multiple ecological functions in higher plants. *New Phytologist*, 155(2): p. 205-217.
- [29] D. Stevenson, R. Hurst. (2007). Polyphenolic phytochemicals—just antioxidants or much more? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(22): p. 2900-2916.
- [30] A. Scalbert, G. Williamson. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8): p. 2073S-2085S.
- [31] J. Harborne. (1989) General procedures and measurement of total phenolics. *Methods in plant biochemistry*,. 1: p. 1-28.
- [32] E. Z. Nkhili. (2009). Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des pays de vaucluse,
- [33] P. G. Pietta. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*. 63(7): p. 1035-1042.
- [34] H. Liu, L. Zhang, S. Lu. (2012). Evaluation of antioxidant and immunity activities of quercetin in isoproterenol-treated rats. *Molecules*, 17(4): p. 4281-4291.

- [35] K. M. Brodowska. (2017). Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *European Journal of Biological Research*, 7(2): p. 108-123.
- [36] C. A. Galán-Vidal, et al. (2014). Determination of Nitrites in Commercial Sausages by Anthocyanins Degradation: Experimental Design and Optimization. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 58(2): p. 180-184.
- [37] E. Haslam. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of natural products*, 59(2): p. 205-215.
- [38] K. Saffidine. (2015). Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *carthamus caeruleus* L. et de *plantago major* L. Thèse de doctorat.
- [39] A. Gravot. (2008). Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR, 118.
- [40] V. Afonso, et al. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7): p. 636-643.
- [41] T, Chafika. (2017). Examen phytochimique et Pouvoirantimicrobien et anti-radicalaire des extraits de *Nepeta amethystina* (Gouzia) de la région d'Aïn Sefra (Algérie).Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid.
- [42] C. Boubekri. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat. Université Mohamed Khider.
- [43] A. Hadjila. (2016). Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'extrait de *Salvia officinalis* (Sauge). Mémoire de master. Université de Tlemcen.
- [44] C. Koechlin-Ramonatxo. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4): p. 165-177.
- [45] C. A. Rice-evans, et al. (1995). the relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free radical research*, 22(4): p. 375-383.
- [46] A. Mika, et al. (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*, 3(1-2): p. 173-193.
- [47] T. Hart, P. Shears. (1997). Atlas de Poche de Microbiologie. Flammarion. Médecine-Sciences.
- [48] B. LAMIA. (2016). Etude de la prescription d'antibiotique chez l'enfant. Diplôme de spécialité en médecine. Université sidi mohamed ben abdellah
- [49] R. A. Dixon, D. Y. Xie, S. B. Sharma. (2005). Proanthocyanidins—a final frontier in flavonoid research? *New phytologist*, 165(1): p. 9-28.
- [50] H. Abderrahmane, D. M. SAIDI Mokhtar. (2013). Etude De L'effet De La Température Sur La Corrosion De L'acier Xc52 En Présence Du Sulfarlem Et Leur Sel Correspondent Dans Un Milieu H2so4 20%. Mémoire de master. Université Kasdi Merbah d'Ouargla.
- [52] N. Saigaa. (2016). Etude physicochimique de l'inhibition de la corrosion d'un acier au carbone en milieu acide sulfurique. Mémoire de Master. Université Larbi Tébessi.

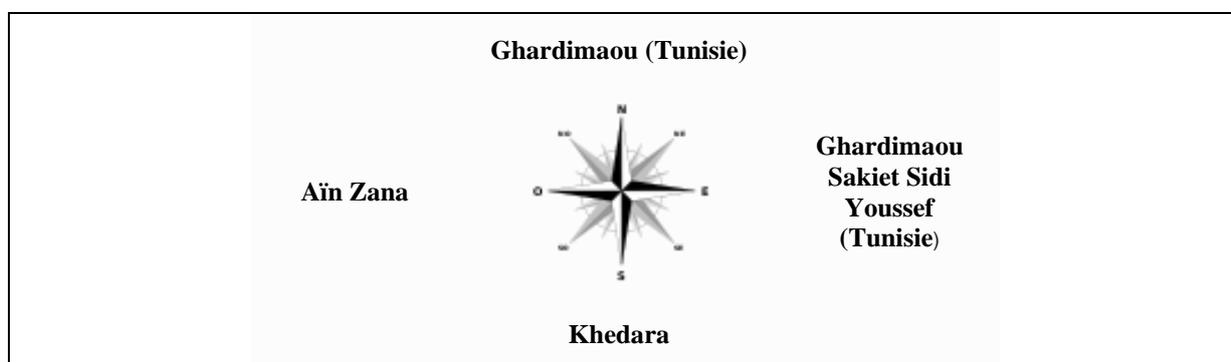
**Chapitre II :**  
**Etude expérimentale**

## I. Matériel et méthodes

Ce travail a été effectué au niveau du laboratoire des matériaux organique et Hétérochimie à l'université Larbi Tebessi-Tébessa. Il est consacré à l'étude biologique de fruit d'*Arbutus Unedo* L.

### I.1. Récolte de la plante

Les fruits de *l'Arbutus Unedo* (l'Arbouse) ont été récoltés le 22 novembre 2019 de la région d'Oued Esfsaf, Machtat Fréna, Commune Ouled-Moumen (wilaya de Souk-Ahras, l'Est d'Algérie) à environ 70 km au Nord-est de la wilaya de Souk-Ahras et à 151 km au nord de Tébessa (Figure 21). Cette zone est limitée :

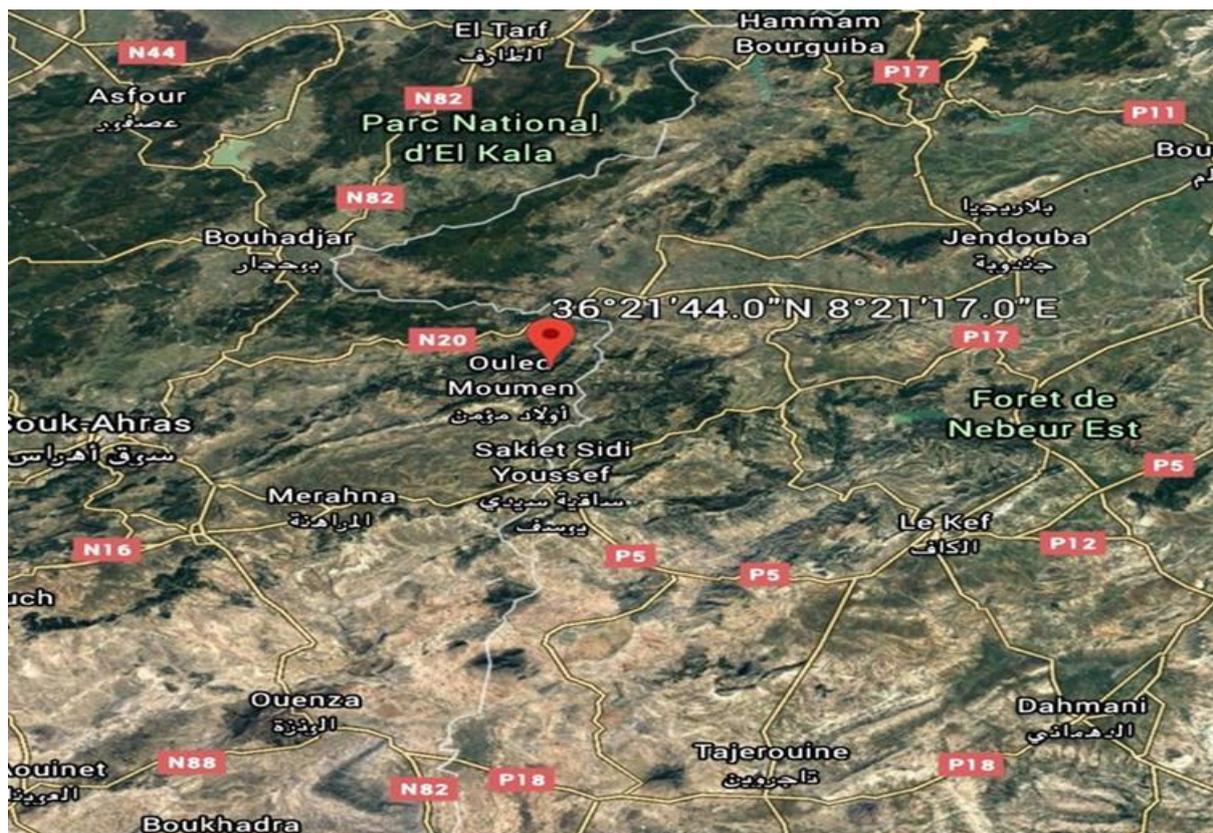


- A l'est par Ghardimaou et Sakiet Sidi youssef, (Tunisie).
- A l'Ouest par Aïn Zana, (wilaya de Souk-Ahras).
- Au Nord par Ghardimaou, (Tunisie).
- Au Sud par El Khedara, (wilaya de Souk-Ahras).

Les paramètres géographiques de cette région sont représentés dans le tableau 08.

**Tableau 08 :** Caractérisations géographiques de la région (Google Earth).

Station	Latitude	Longitude	Climat	Sol
Oued-Esfsaf (Fréna)	36°21'44"N	8°21'17"E	Des étés chauds et des hivers rude et pluvieux.	Sol argileux et sec.



**Figure 21** : Carte géographique de la région Ouled Moumen. Source : Google Earth.

Les fruits sont séchés à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 22 jours. Les fruits ont été découpés en deux pendant le séchage à fin d'augmenter la surface de contact avec l'air pour s'en assurer qu'ils sont bien séchés (Figure 22).



**Figure 22** : Fruit d'Arbousier sec.

## I.2. L'extraction

Dans un premier temps, les fruits sont découpés en très petits morceaux et mis dans un mélange eau-méthanol. Ce dernier subit une extraction liquide-liquide par trois solvants différents caractérisés par une polarité croissante: le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le n-butanol.

### I.2.1. Préparation de l'extrait eau/méthanol

Une quantité équivalente à 585.97g de fruit est macérée dans 850 ml du mélange eau/méthanol dans une proportion volumique (30/70, V/V) à température ambiante pendant 24 h. Ce procédé est répété trois fois pour épuiser le substrat de tous ses composants phénoliques. Le macérât est ensuite filtré sur coton puis soumis à une évaporation à 38°C en utilisant un évaporateur rotatif (Figure 23). L'extrait brut est repris par l'eau distillée bouillante pendant une nuit et filtré sur papier filtre pour s'en débarrasser des cires et des graisses. Le filtrat obtenu est soumis à une série d'extraction liquide-liquide.



**Figure 23 :** Montage d'évaporation.

### I.2.2. Extraction liquide-liquide

L'extraction est réalisée par passage dans trois solvants différents : le dichlorométhane, solvant préférentiel des composants peu polaires, l'acétate d'éthyle et le n-butanol solvant, privilégié des composants plus polaires. La première étape, consiste à ajouter un demi-volume du solvant choisi à un volume de l'extrait brut ( $1/2V_S/V_E$ ). Après agitation et repos dans une ampoule à décanter, deux phases sont obtenues, une phase organique et une phase aqueuse (Figure 24).

Ampoule à décanter

Phase aqueuse

Phase organique de Dichlorométhane



**Figure 24:** Montage de dispositif d'extraction liquide –liquide.

Cette dernière subit à son tour une extraction avec l'acétate d'éthyle, puis trois extractions par le n-butanol. Les différentes solutions obtenues sont séchées, évaporées à sec dans l'évaporateur ; et les fractions récoltées sont pesées. (Figure 25)

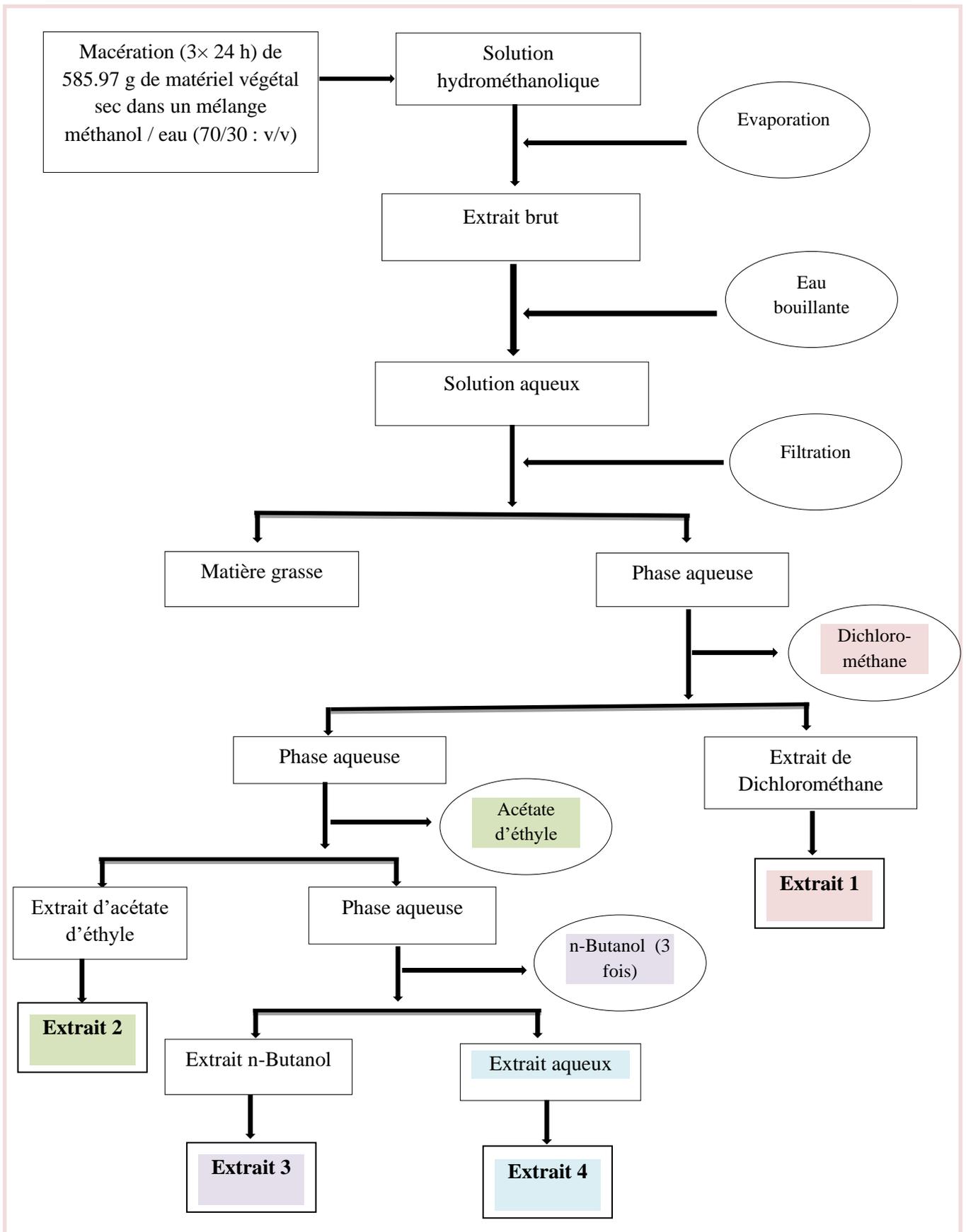


Figure 25 : Protocole d'extraction.

### I.3. Rendement des extraits de l'Arbouse

Le rendement de chaque extrait a été déterminé selon la formule suivante, qui consiste à diviser la masse en gramme de l'extrait sec récupéré par la masse en gramme du matériel végétal sec, puis le quotient est multiplié par cent.

$$R(\%) = (M / M_0) \times 100$$

**R** : Rendement exprimé en %.

**M**: Masse en gramme de l'extrait sec récupéré.

**M<sub>0</sub>**: Masse en gramme du matériel végétal sec.

### I.4. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques, basés sur des réactions de coloration, de précipitation et des examens sous la lumière ultraviolette, sont utilisés pour l'identification des différentes composantes de la plante. Dans notre travail, nous avons exposé le matériel végétal aux différentes voies de macérations.

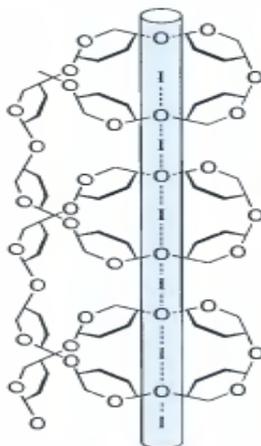
#### I.4.1. Macération Avec de l'eau chaude

La macération avec de l'eau chaude a pour but de rechercher l'Amidon, les saponosides par l'indice de la mousse et les tanins par le test de trichlorure ferrique.

Dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant, 50g de l'arbouse est mis en présence de 300 ml d'eau. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux tests suivants :

#### • Test d'amidon

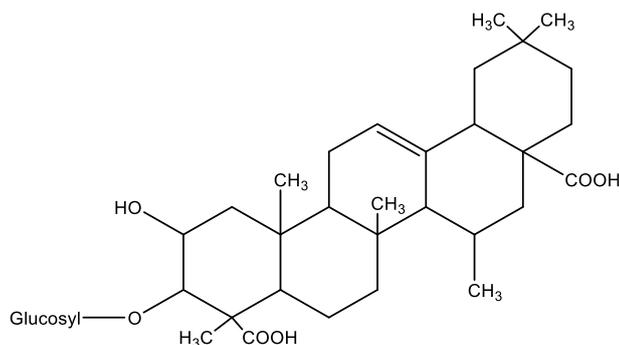
Le test effectué consiste à chauffer, dans un bain-marie jusqu'à ébullition, 5 mL de l'extrait aqueux avec 10 mL d'une solution saturée de NaCl, à cette dernière solution on ajoute le réactif d'amidon <sup>[1]</sup>. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu violacé, ce qui indique la présence d'Amidon (Figure 26).



**Figure 26 :** Structure du complexe amidon iode. La chaîne amylose forme une hélice autour de six unités d'iode <sup>[2]</sup>.

### •Test des saponosides

Les saponosides (Figure 27) sont caractérisés par un indice de mousse. Leur détection est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux. Après agitation, le mélange est laissé au repos pendant 20 minutes, et la teneur en saponosides est évaluée par la hauteur de la mousse générée <sup>[1]</sup>. Si la mousse est inexistante, le test est négatif, ce qui indique l'absence des saponosides. Par contre, si la mousse est moins de 1cm de hauteur, le test est faiblement positif. Il est positif ou plutôt très positif lorsque la mousse atteint une élévation de 1 à 2 cm et plus de 2 cm, respectivement.



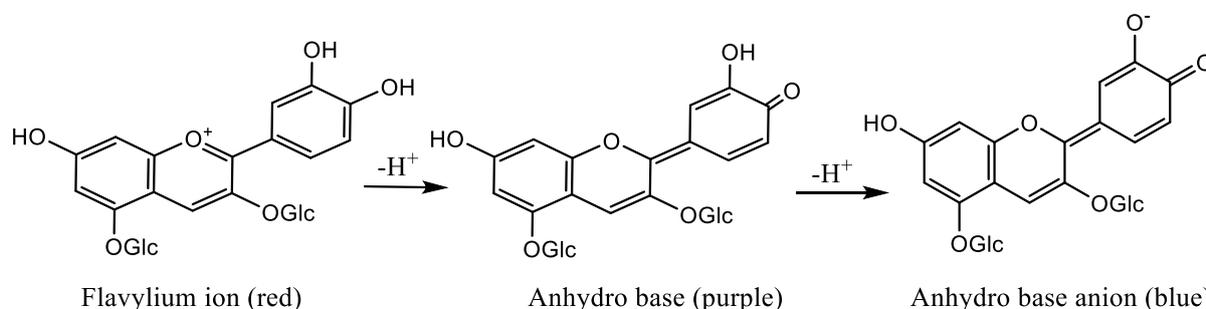
**Figure 27 :** Structure chimique des saponosides.

### •Test des tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de l'extrait aqueux, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de trichlorure ferrique diluée à (1%) ( $\text{FeCl}_3$ ) <sup>[1]</sup>. L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins.

### • Test des anthocyanes

La présence des anthocyanes (Schéma 01) est révélée par le traitement de 2 ml d'infusion aqueuse avec 2 ml de HCl (2N), suivie de l'ajout de quelques gouttes de NH<sub>4</sub>OH. Le test positif est révélé par une coloration rose-rouge qui vire au bleu violacé.



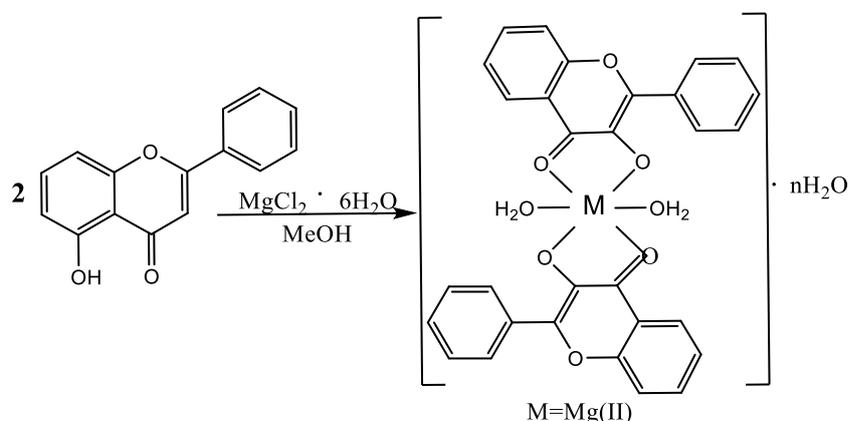
**Schéma 01** : Changement structural du chromophore anthocyanique et changement de couleur en fonction du pH en solution aqueuse<sup>[3]</sup>.

### I.4.2. Macération Avec du méthanol

La macération de l'arbose dans du méthanol pendant 24h conduit, après filtration, à un extrait alcoolique. Ce dernier est utilisé afin de chercher la présence des flavonoïdes, des tanins galliques et catéchiques et des composés réducteurs dans le matériel végétal.

### • Test des flavonoïdes

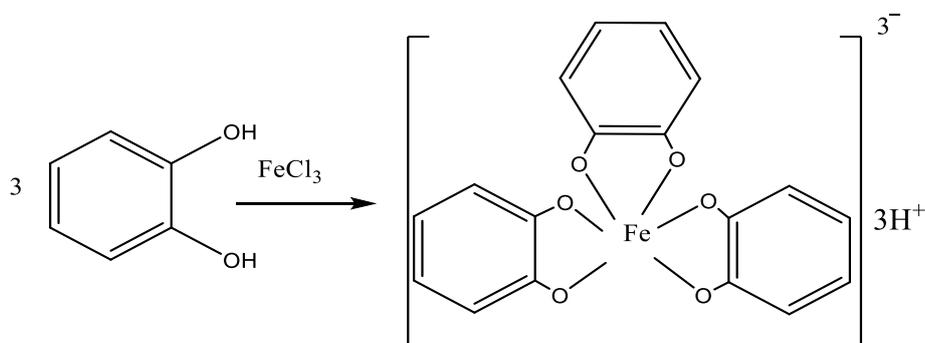
La réaction de détection des flavonoïdes (Schéma 2) consiste à traiter 5 ml de l'extrait méthanolique avec 1 ml d'acide chlorhydrique (HCl) concentré et 0.5 g de tournures de magnésium<sup>[1]</sup>. La présence des flavonoïdes est mise en évidence par l'apparition, après 3 minutes, d'une couleur rose ou rouge.



**Schéma 02** : La réaction chimique de flavonoïde avec le MgCl<sub>2</sub><sup>[4]</sup>.

### •Test des tanins galliques et catéchiques

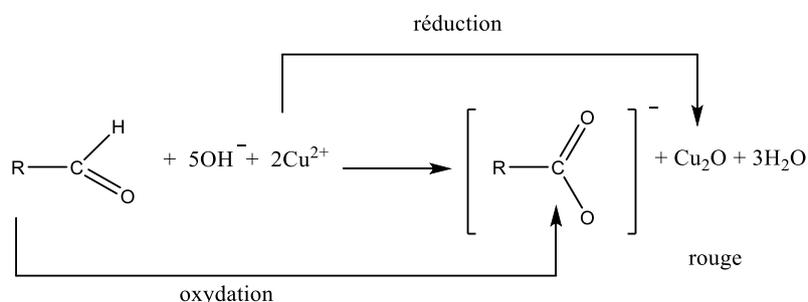
La présence des tanins est mise en évidence par l'ajout à 1 ml de l'extrait alcoolique, 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de  $\text{FeCl}_3$  diluée (1%) [1]. L'apparition d'une coloration bleu-noir est révélatrice de la présence des tanins galliques et le vert ou le bleu-vert des tanins catéchiques (Schéma 03).



**Schéma 03 :** La réaction chimique de groupement phénolique des tanins avec  $\text{FeCl}_3$  [5].

### •Test des composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter et à chauffer 1 ml de l'extrait méthanolique avec de l'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling [1]. Le test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (Schéma 04).



**Schéma 04 :** la réaction oxydo-réduction entre le groupement aldéhyde et la liqueur de Fehling [6].

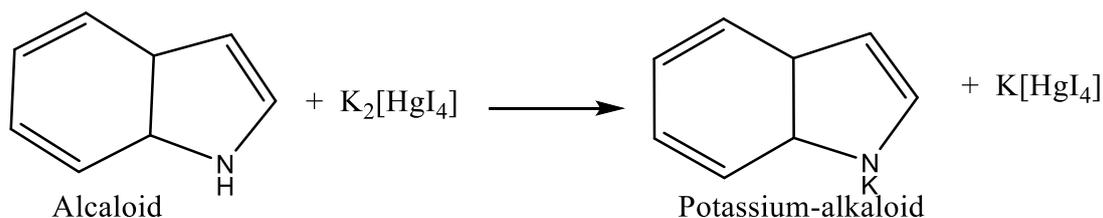
#### I.4.3. Test des alcaloïdes

Une solution composée de, 10 ml de d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) dilué (1/10) et 10 g de la matière végétale (Schéma 05) dans un erlenmeyer de 50 ml ; est agitée et macérée pendant 24 h à la température ambiante du laboratoire. Après filtration sur papier, le résidu est lavé à l'eau distillée de manière à obtenir environ 10 ml de filtrat [1]. L'ajout de 5 gouttes de réactif de Mayer ou 5 gouttes de réactifs de Wagner à 1ml de filtrat, provoque l'apparition d'un

précipité blanc-jaunâtre ou un précipité brun respectivement ; ce qui confirme la présence d'alcaloïdes. A noter que :

- Le réactif de Wagner est un mélange composé de 1.27 g d'iode et 2.0 g d'iodure de potassium dissout dans 100 ml d'eau distillée.

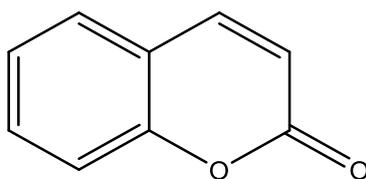
-Le réactif de Mayer est un mélange composé de 1.36g de chlorure de mercure(II) et 5.0g d'iodure de potassium dissout dans 100 ml d'eau.



**Schéma 05** : Réaction de l'alcaloïde avec le réactif de Mayer<sup>[7]</sup>.

#### I.4.4. Test des coumarines

L'identification des coumarines (Figure 28), se fait par le placement de 1 g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai couvert avec un papier imbibé d'une solution de soude (NaOH) et placée dans un bain marie pendant quelque minute. L'ajout de 0.5 ml d'une solution ammoniacale ( $NH_4OH$  à 10%). La présence des coumarines est confirmée par une fluorescence révélée sous la lumière ultraviolette, après le dépôt de deux taches, du mélange réactionnel, sur un papier filtre<sup>[1]</sup>.



**Figure 28** : Structure chimique des coumarines.

#### I.4.5. Test des stérols et tri terpènes

Deux essais sont utilisés pour l'identification de ces deux composés naturels:

**Essai 01** : Test pour les stérols et stéroïdes.

10ml de l'extrait alcoolique est placé dans un erlenmeyer. Après évaporation à sec, le résidu est solubilisé avec 10 ml du chloroforme anhydre. Ensuite, l'ajout de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré sur un mélange constitué de 5 ml de la solution chloroformique

et 5 ml d'anhydride acétique, conduit, après agitation et repos, à l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 min à 21 °C), indiquant la présence des stérols et stéroïdes [1].

**Essai 02 :** Test pour les hétérosides stéroïdiques et tri terpéniques.

Il consiste à évaporé à sec l'extrait alcoolique correspondant à 10 ml. Le résidu obtenu est ensuite dissous dans un mélange d'anhydride acétique /chloroforme (5/5 : V/V). Après filtration, le filtrat est traité par quelque goutte d'acide sulfurique concentré (la réaction de Libermann-Burchardt) [1]. Les colorations verte-bleu et verte-violette, indiquent la présence des hétérosides stéroïdiques et triterpéniques respectivement.

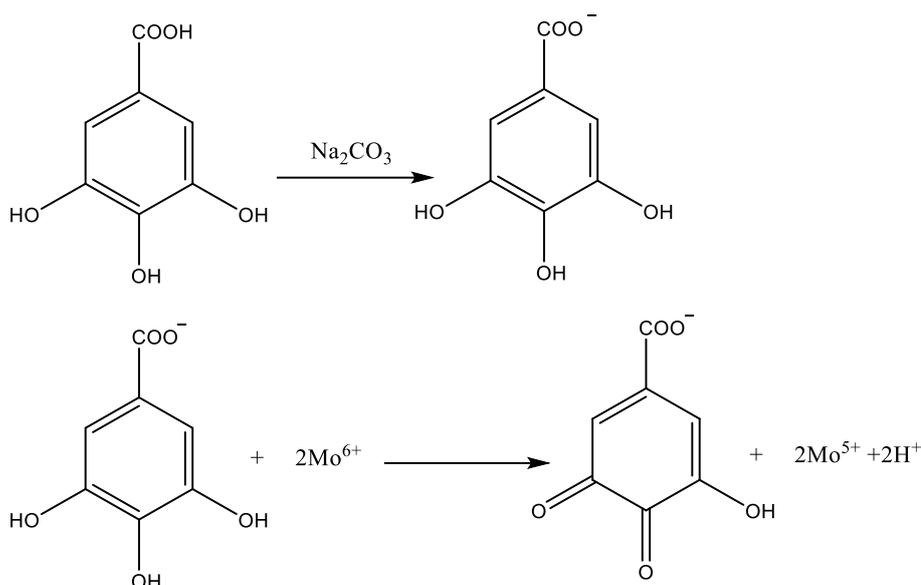
## I.5. Dosage des composés phénoliques

### I.5.1. Dosage des polyphénols totaux

#### a. Principe

Le dosage des polyphénols se fait par la méthode de réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolibdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Ce réactif sera réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximum est compris entre 725 et 765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [8]. Le schéma 06, démontre le principe de la réaction de l'acide gallique avec le molybdène.



**Schéma 06 :** Principe d'action de réactif de Folin-Ciocalteu avec l'acide gallique [8].

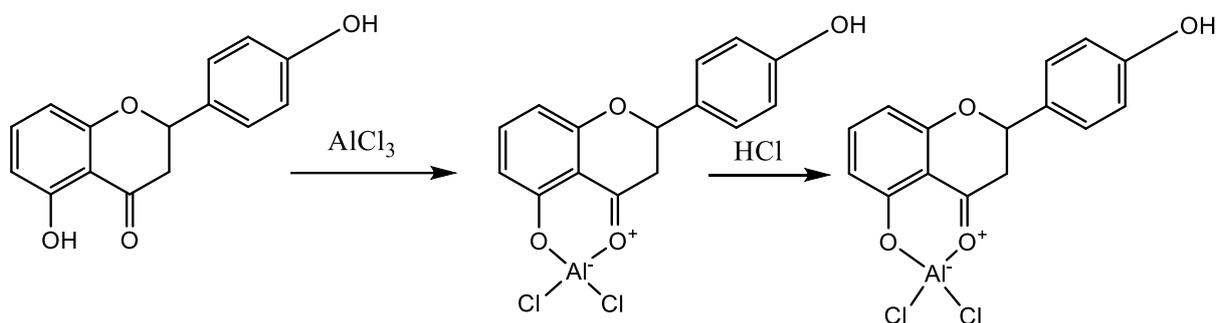
### b. Mode opératoire

Une prise de 200  $\mu\text{l}$  d'extrait convenablement dilué est introduite dans un tube à essai, après addition de mélange (1ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 800  $\mu\text{l}$  de carbonate de sodium à 7,5%). les tubes sont immédiatement agités, puis incubés à une température ambiante pendant 30 min, après quoi l'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre [9]. L'étalon choisi est l'acide gallique (AG). Les teneurs des polyphénols totaux sont exprimées en microgramme équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait.

### I.5.2. Dosage des flavonoïdes

#### a. Principe

L'analyse quantitative des flavonoïdes totaux est effectuée par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes [10]. (Schéma 07)



**Schéma 07** : Formation d'un complexe acide entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène voisins.

#### b. Mode opératoire

1 ml de l'extrait à 1 mg/ml est mélangé avec le même volume d'une solution méthanolique à 2% de trichlorure d'aluminium. Après 30 min d'incubation, l'absorbance est mesurée eau  $\lambda_{\text{max}}=430$  nm par un spectrophotomètre UV visible.

Les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (mg EQ/mg d'extrait).

## I.6. Activités biologiques

### I.6.1. Activité antioxydante

#### I.6.1.1. Méthode de réduction du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

##### I.6.1.1.1. Test anti-radicalaire contre le DPPH sur plaques CCM

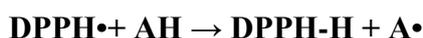
Quelques gouttes des extraits ont été déposées sur une plaque de silice (CCM). Après séchage, les plaques sont pulvérisées avec une solution de DPPH à 2 mg/ml de méthanol pour la caractérisation de l'activité antioxydante. Les zones d'activités anti-radicalaires s'apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet <sup>[11]</sup>.

##### I.6.1.1.2. Test anti-radicalaire contre le DPPH mesuré au spectrophotomètre

###### a. Principe

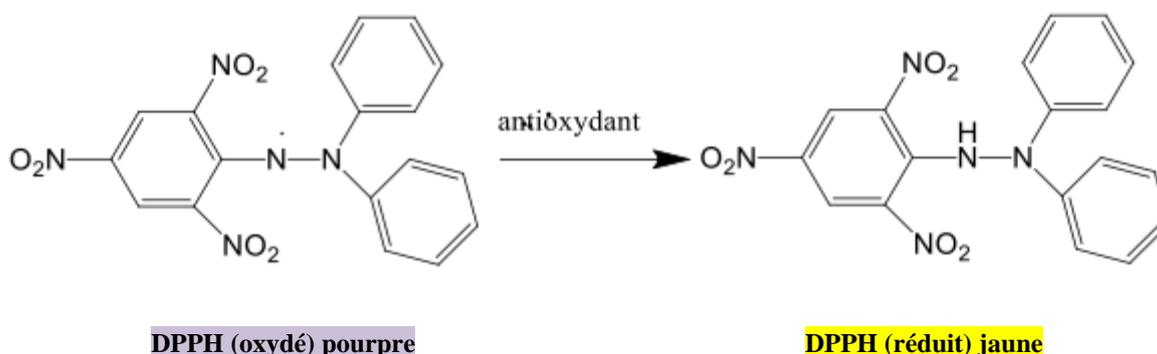
Le test au DPPH mesure l'activité donatrice d'un atome d'hydrogène (ou d'un électron) et fournit ainsi une mesure de l'activité antioxydante par le piégeage des radicaux libres. Le DPPH est un radical libre stable de couleur pourpre, il est réduit en diphényl-picrylhydrazine de couleur jaune <sup>[12]</sup>. L'intensité de la couleur observée est inversement proportionnelle au potentiel antioxydant de l'extrait étudié <sup>[13]</sup> (Schéma 08).

La réduction du radical libre (DPPH•) par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence d'un donneur d'hydrogène <sup>[14]</sup>.



**AH** : un composé capable de donner un H<sup>+</sup> au radical DPPH

**A•** : le composé réduit de DPPH



**Schéma 08** : Réduction du radical libre DPPH• <sup>[15]</sup>.

### b. Mode opératoire

Une solution méthanolique de DPPH (0,004%) a été préparée par solubilisation de 0,004g de DPPH poudre dans 100 ml de méthanol, 25 µl de solution échantillons à différentes concentrations (200 µg/ml, 400 µg/ml, 600, µg/ml, 800 µg/ml et 1000 µg/ml) et témoins sont ajoutées à 2,5 ml de la solution de DPPH, après incubation de 30 min en obscurité à la température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant. La vitamine C (acide ascorbique) est utilisée comme contrôle positif <sup>[15]</sup>. Le pourcentage d'inhibition (I%) du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{échantillon}}) / Abs_{\text{contrôle}}] \times 100$$

**% Inhibition** : Pourcentage inhibition du radical DPPH.

**Abs contrôle**: Absorbance du blanc.

**Abs échantillon** : Absorbance de l'échantillon.

#### - Calcul des concentrations inhibitrices IC<sub>50</sub>

La IC<sub>50</sub> ou concentration inhibitrice de 50 % est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH•. Les IC<sub>50</sub> sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des droites tracées ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées. Plus l'IC<sub>50</sub> est petite, plus l'antioxydant a une activité plus importante <sup>[16]</sup>.

### I.6.2. Activité antimicrobienne

Ces tests sont réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie de la Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie (FSES NV), Université Larbi Tébéssi Tébéssa. L'activité antimicrobienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, telle que décrite dans la littérature <sup>[17]</sup>.

#### a. Les souches microbiennes testées

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits de fruit d'*Arbutus Unedo L.* sont les suivants :

- Trois souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) : *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Micrococcus Loutus* ATTC398 et *Escherichia coli* ATCC25922.
- En ce qui concerne les levures, nous avons utilisé deux types de référence, à savoir *Candida albicans* L24 et *Candida albicans* L36.

### b. Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

- La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de plantes.
- La gélose Sabouraud pour l'isolement et l'entretien de la levure et l'étude de sa sensibilité aux extraits.

### c. Préparation de l'inoculum

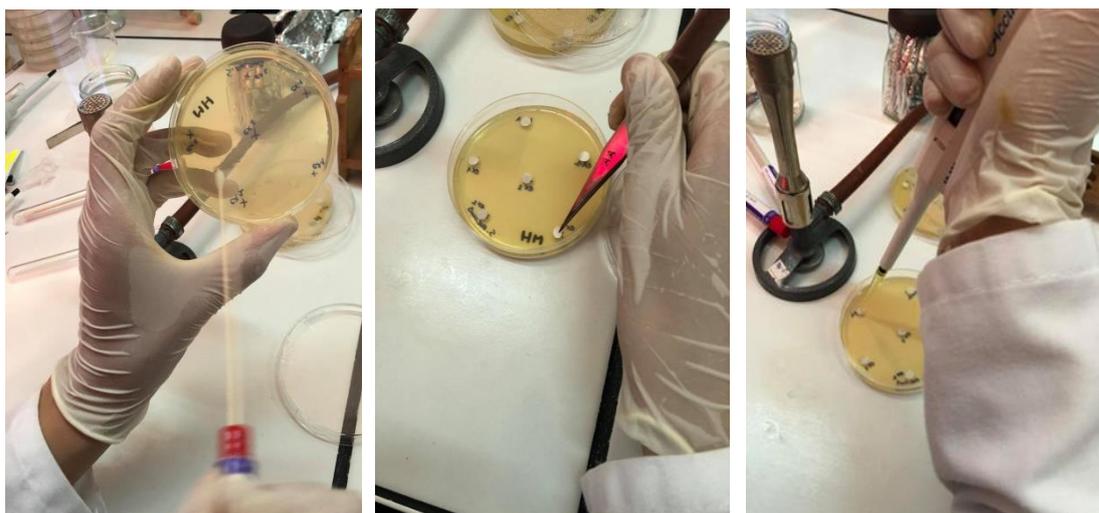
Des colonies bien séparées des souches bactériennes étudiées ont été prélevées à l'aide de l'anse de platine et homogénéisées dans 5 ml d'eau physiologique stérile afin d'avoir une densité cellulaire initiale ou une turbidité voisine à celle de 0.5 Mac Ferland. La suspension doit être ensemencée dans les 15 min qui suivent sa préparation. En refait cette étape pour toutes les bactéries et les champignons du test.

### d. Préparation des milieux de culture

La gélose (Mueller Hinton ou Sabouraud) est coulée et répartie dans des boîtes de pétri stériles de 5mm de diamètre. Ces dernières sont séchées près du bec benzène pendant 30 min avant de leur emploi.

### e. Ensemencement et application du test

- L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage en stries serrées. En tournant la boîte d'environnant 60°C, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries et des champignons sur les boîtes. **Figure 29(a)**
- Des disques stériles de papier Wattman (6 mm de diamètre) ont été déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose. **Figure 29 (b)**
- On dépose à l'aide d'une pipette pasteur stérile sur chaque disque 15 µl d'extraits étudiés (1000 mg/ml). **Figure 29 (c)**
- Laisser les boîtes à côté du bec benzène pendant quelque minute pour la pré diffusion.
- Tous les essais ont été effectués en triple pour chaque extrait (deux extraits dans une seule boîte).
- Les boîtes sont ensuite incubées dans l'étuve pendant 24-48 h à une température 37°C pour (*E. coli*, *S. aureus*/ *Candida albicans* L24, *Candida albicans* L36) et 30°C pour (*Micrococcus luteus*)<sup>[11]</sup>.



(a)

(b)

(c)

**Figure 29** : Ensemencement et application du test antimicrobienne.

#### f. Lecture

Les activités antimicrobiennes et antifongiques sont déterminées par la mesure à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition produite autour les disques après l'incubation, et les résultats obtenus sont exprimés en millimètre.

L'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne et antifongique est classée selon la largeur du diamètre des zones d'inhibitions (X) de la croissance bactérienne selon le tableau suivant :

**Tableau 09** : Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition <sup>[18]</sup>.

Diamètre du halo d'inhibition (X)	Degré de sensibilité des germes	Résultat
$X \leq 8 \text{ mm}$	Résistante	-
$8 \text{ mm} < X < 14 \text{ mm}$	Sensibilité limitée	+
$14 \text{ mm} < X < 20 \text{ mm}$	Sensibilité moyenne	++
$X \geq 20 \text{ mm}$	Très sensible	+++

### I.7. Activité anticorrosive (Etude de l'activité inhibitrice)

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire de chimie à l'Université de Souk-Ahras. L'objectif de ce test est d'examiner le pouvoir inhibiteur de la corrosion des extraits de l'arbose dans deux milieux : acide (HCl) et salin (NaCl).

#### I.7.1. Matériau

Le matériau testé dans cette étude est un acier doux E24, dont la composition chimique est donnée dans le tableau :

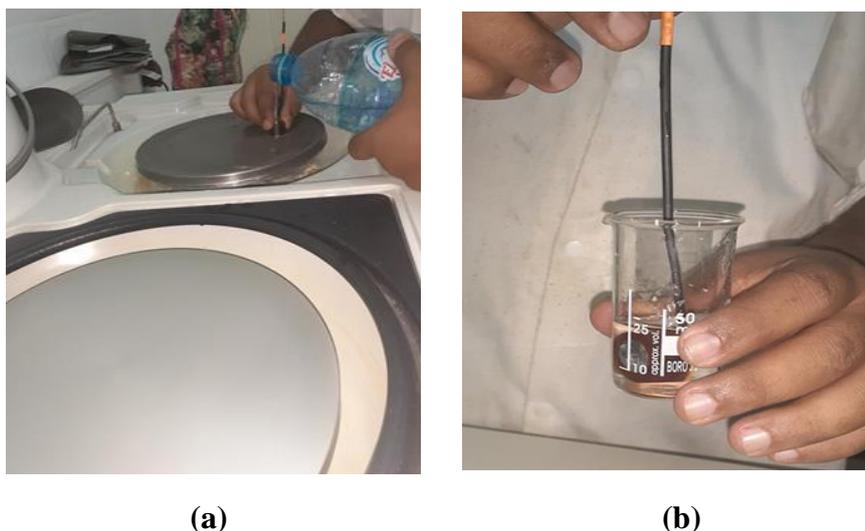
**Tableau 10** : composition atomique de l'acier doux E24.

Composition	Fe	P	N	Mn	S	C
m (%)	98.33	0.045	0.009	1.4	0.045	0.17

Ce dernier a été découpé à froid, en petits disques de diamètre connu et d'épaisseur d'environ 20 mm, on branche ensuite un câble électrique dans une égratignure qu'on fait manuellement à la surface opposée à celle choisie pour l'étude. Après être assuré que le câble est bien branché, on applique deux couches d'isolant (du vernis à ongles dans notre cas) sur toutes les surfaces en épargnant la surface étudiée.

Dans un moule qu'on fabrique en découpant un petit bout de tuyau de diamètre intérieur légèrement plus grand que le disque, on place notre électrode au centre de ce dernier qui sera collé sur une surface plane, avant d'y verser de la résine époxy comme illustré sur la figure en dessous, afin d'obtenir des résultats fiables et reproductibles, l'électrode de travail subit avant chaque essai, un prétraitement, qui consiste en:

- Un polissage de la surface de l'électrode de travail au papier abrasif de granulométrie (#800, #1000, # 1200 et # 2500). Suivie d'un rinçage à l'eau distillée puis d'un séchage à l'air. **Figure 30 (a)**
- Dégraissage chimique de l'électrode de travail dans l'éthanol pur pendant quelques minutes, Afin d'éliminer les graisses qui auraient pu se déposer sur la surface au contact des doigts. **Figure 30 (b)**
- Après le rinçage de la surface, on procède au séchage à l'aide d'un séchoir.



**Figure 30** : Polissage de la surface de l'électrode de travail.

### I.7.2. Milieu corrosif

Deux solutions agressives ont été choisies comme milieu d'étude à cause de leurs capacités d'attaques élevées et leurs propriétés de dissolution des inhibiteurs cible. La première est une solution d'acide chlorhydrique à 0,1M préparé à partir d'une solution acide 37%, et la deuxième une solution saline de chlorure de sodium à 0,5M, solution équivalente à l'eau de mer, préparé par dilution de 29,2g de poudre NaCl dans 1000 ml d'eau distillé.

### I.7.3. Inhibiteurs testés

Les extraits testés sont des solutions de n-Butanol et d'acétate d'éthyle contenant l'inhibiteur cible : l'arbose avec un seuil minimum de concentration 33,33 ppm (10 mg d'extrait dans 300 ml de solution agressive).

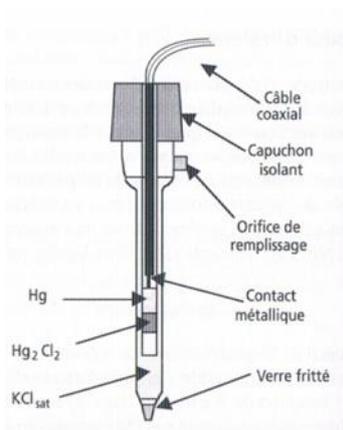
### I.7.4. Dispositif

Ce travail a été réalisé à l'aide d'un dispositif expérimental (figure 33) constitué par un potentiostat-galvanostat type Autolab, permettant de faire des mesures électrochimiques, assistées par un micro-ordinateur, relié à une interface adéquate, dotée d'un logiciel «Nova» permettant l'acquisition et le traitement des données ainsi que la détermination des différents paramètres électrochimiques. Ce dispositif est en contact d'une cellule électrochimique contenant l'électrolyte et de trois électrodes immergées dans cette dernière: l'électrode de travail, l'électrode de référence et l'électrode auxiliaire (ou contre électrode).

- **Electrode de référence**

L'électrode de référence est conçue à partir d'un matériau spécial qui, en combinaison avec l'électrolyte, maintient un potentiel stable utilisé comme point de référence pour les

mesures de potentiel. On utilise généralement des électrodes au calomel saturé Hg/Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/KCl (ECS). Cette électrode est placée de manière à ne pas avoir une chute de tension importante entre l'électrode de travail et l'électrode auxiliaire.



**Figure 31** :Electrode au calomel saturé(ECS) <sup>[19]</sup>.

- **Une contre électrode (électrode auxiliaire(CE))**

La contre électrode est constitué d'un fil en platine de 1 mm de diamètre maintenue en parallèle avec l'électrode de travail utilisée pour assurer le passage du courant.

- **Une électrode de travail (ET)**

L'électrode de travail est l'acier qui subit, avant chaque manipulation, un prétraitement qui consiste en un polissage de la surface de l'électrode au papier abrasif suivi d'un rinçage à l'eau distillée et à l'éthanol et séché avant utilisation.



**Figure 32** : Les électrodes de travail.



**Figure 33** : Montage électrochimique utilisé.

### I.7.5. Courbes de polarisation

Les courbes intensités-potentiel (I-E) représentent l'évolution de l'intensité de courant de l'électrode de travail soumise à une différence de potentiel.

Cette méthode permet de déterminer d'une façon précise plusieurs paramètres électrochimiques d'un métal au contact d'un électrolyte à savoir : la vitesse instantanée de corrosion ( $I_{corr}$ ), le potentiel de corrosion ( $E_{corr}$ ), les pentes de Tafel, la résistance de polarisation ( $R_p$ ), les courants limitent de diffusion [20].

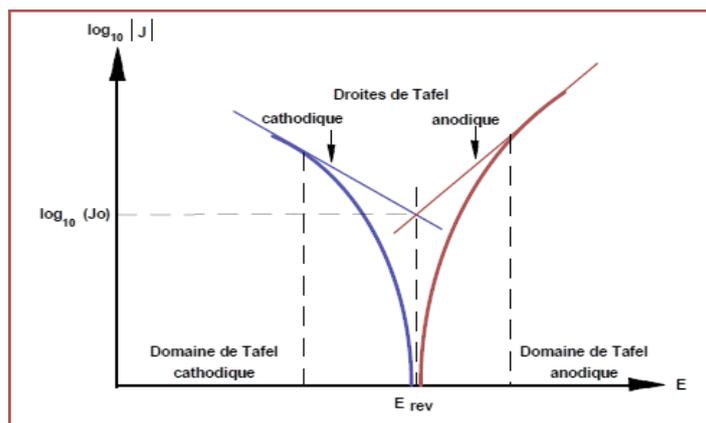
Nous nous intéressons à un paramètre particulier qui est la vitesse instantanée de corrosion ( $I_{corr}$ ), pour calculer l'efficacité inhibitrice de nos extraits à partir l'équation suivante :

$$E (\%) = [(I_{corr} - I_{corr} (inhi)) / I_{corr}] \times 100$$

**E(%)** : L'efficacité inhibitrice.

**$I_{corr}$**  : La densité de courant de corrosion en absence de l'inhibiteur.

**$I_{corr} (inhi)$**  : La densité de courant de corrosion en présence de l'inhibiteur [21].



**Figure 34** : Les paramètres électrochimiques à partir des droites de Tafel [20].

### I.8. Essai d'identification des composés par CCM

Le principe de la CCM consiste en une séparation des substances chimiques en fonction de leur affinité par rapport à deux phases : une phase stationnaire solide et une phase mobile liquide (éluant) est un solvant ou un mélange de solvants. L'analyse par chromatographie sur couche mince a été effectuée avec une plaque de gel de silice sur support en aluminium. Système du solvant utilisé :

- Acétate d'éthyle/ acide formique / acide acétique /eau (**100:11:11:26**) (V/V/V/V).

Sept témoins avec  $R_f$  connu ont été employés : la quercétine ( $R_f = 0.86$ ), Isoquercétine ( $R_f = 0.73$ ), la rutine ( $R_f = 0.47$ ), hypéroside ( $R_f = 0.6$ ), acide chlorogénique ( $R_f = 0.50$ ), acide isochlorogénique ( $R_f = 0.8$ ), acide férulique ( $R_f = 0.9$ ) [22].

Les extraits ont été déposés en spots sur la plaque, séchée à l'air ambiant et placée dans la cuve de migration saturée par les phases mobiles appropriées. Après migration, les plaques ont été retirées, séchées, examinées sous l'UV à 254-366 nm. Le rapport frontal ( $R_f$ ) des taches résultant de la séparation ont été calculés et comparés à ceux des témoins, permettant ainsi l'identification des divers composés des extraits.

### I.9. Propriétés physico-chimique du sol de la zone d'étude

#### I.9.1. Mesure du pH

Le pH du sol est un indicateur des conditions physico-chimiques de la solution du sol. Il exerce un effet direct sur l'activité microbienne du sol ainsi que sur la biodisponibilité des nutriments, à travers des phénomènes de solubilisation et d'insolubilisation propres à chaque élément [23]. En particulier, un pH acide peut bloquer la disponibilité d'éléments minéraux tels que le phosphore [24].

Pour la mesure du pH, 40 ml d'eau distillée sont ajoutés à 20g de sol sec par échantillon contenu dans un bécher qui est ensuite posé sur un agitateur électrique. Après une heure d'agitation, le mélange est laissé au repos pendant 30 minutes pour être décanté avant la mesure au pH mètre.

## II. Résultats et discussion

### II.1. Rendement des extraits de l'Arbouse

Afin d'extraire le maximum de composés actifs du l'Arbouse, nous avons utilisé quatre solvants à polarités différentes et pour prévenir leur dénaturation ou modification probable dues à des conditions sévères, nous avons travaillé à température ambiante [25].

Les quantités récupérées, le rendement, l'aspect ainsi que la couleur des quatre extraits obtenus par rapport au poids initial ( $m=585,97g$ ) de fruits séchés d'*Arbutus unedo L.* sont représentés dans le tableau 11 ci-dessous.

**Tableau 11** : Caractéristiques des différents extraits du fruit d'*Arbutus unedo*.

Extrait	Masse (g)	Rendement (%)	Aspect	Couleur
DCM	14,42	2,46	Mielleux	Rouge clair
AcOEt	1,22	0,20	Mielleux	Rouge clair
n-BuOH	21,24	3,62	Mielleux	Rouge foncé
Aq	154,47	26,36	Mielleux	Rouge foncé

Les résultats obtenus montrent que parmi les quatre fractions, l'extrait aqueux représente le rendement le plus élevé (26,36%), suivi par l'extrait butanolique (3,62%) puis l'extrait de dichlorométhane (2,46%) alors que l'extrait acétate d'éthyle possède le rendement le plus bas (0,20%).

Une étude antérieure réalisée par K. Bouzid, et al. [26], sur des extraits d'Arbouse obtenus par macération hydro-méthanolique (80/20: v/v) de 100 g de poudre fine du fruit séché, suivie d'une extraction liquide-liquide ; a montré que les rendements obtenus avec trois solvant organique sont dans l'ordre suivant : 0.25% pour l'extrait chloroformique, 1.75% pour l'extrait aqueux, 0.34% pour l'extrait butanolique et 0.44% pour l'extrait acétate d'éthyle. Ces teneurs paraissent inférieures à celles que nous avons trouvée, cela peuvent être expliquées par le fait que les rendements des extraits dépendent de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. On peut conclure que le protocole choisi est judicieux et nous a permis l'obtention des fractions cibles avec de meilleurs rendements.

### II.2. Résultats des tests phytochimiques

Les analyses phytochimiques déclinées en analyse qualitative par réaction de décoloration/précipitation et ou par couche chromatographique mince (CCM) ont révélé la

présence de certains métabolites secondaires dans les fruits d'*Arbutus unedo*. Les résultats de cette étude phytochimique sont reportés dans le tableau 12.

**Tableau 12:** Résultats des tests phytochimiques de quelques métabolites secondaires de l'extrait aqueux et alcoolique de l'Arbouse.

Métabolites testés	Remarques	Résultats	Images
<b>Amidon</b>	Coloration bleu-violacé	-	
<b>Saponosides</b>	Hauteur de la mousse = 2cm	+++	
<b>Tanins simple</b>	Coloration vert foncé	+++	
<b>Tanins galliques ou catéchiqes</b>	Coloration verte pour les tanins catéchiqes	+++	
<b>Flavonoïdes</b>	Couleur rouge	+++	
<b>Anthocyanes</b>	Coloration rose-rouge qui vire au bleu violacé	+	

<b>Composés réducteurs</b>	Précipité rouge brique	+++	
<b>Alcaloïdes</b>	Précipité brun	-	/
<b>Coumarines</b>	Fluorescence	-	/
<b>Stérols et stéroïdes</b>	Coloration violacée fugace virant au vert	+	/
<b>Hétérosides stéroïdiques et triterpéniques</b>	Colorations vert-bleue et vert-violette	-	/

-Absence, + Présence, +++ présence plus importante.

Ces différents tests réalisés sur les extraits aqueux et alcoolique de l'Arbouse ont montré que ce dernier est riche en flavonoïdes, tanins, saponines et composés réducteurs, tandis que sa richesse en anthocyane, stérols et stéroïde est faible. Cette étude a montré, aussi, une absence remarquée de l'amidon, les hétérosides, les triterpènes et les alcaloïdes, bien que ces derniers aient été signalés dans les travaux de F. Belfekih, et al. [27].

Ceci est dû probablement à l'influence de plusieurs facteurs [28], comme les conditions climatiques (température élevée, exposition solaire, sécheresse) et la salinité du sol qui stimulent ou inhibent la biosynthèse des métabolites secondaires [29].

Il faut signaler le cas des coumarines, dont l'analyse qualitative a dévoilé son absence contrairement à son identification par CCM dans le même fruit. Cette incertitude est due probablement à la méthode d'extraction, la nature et polarité du solvant et la température de travail [30].

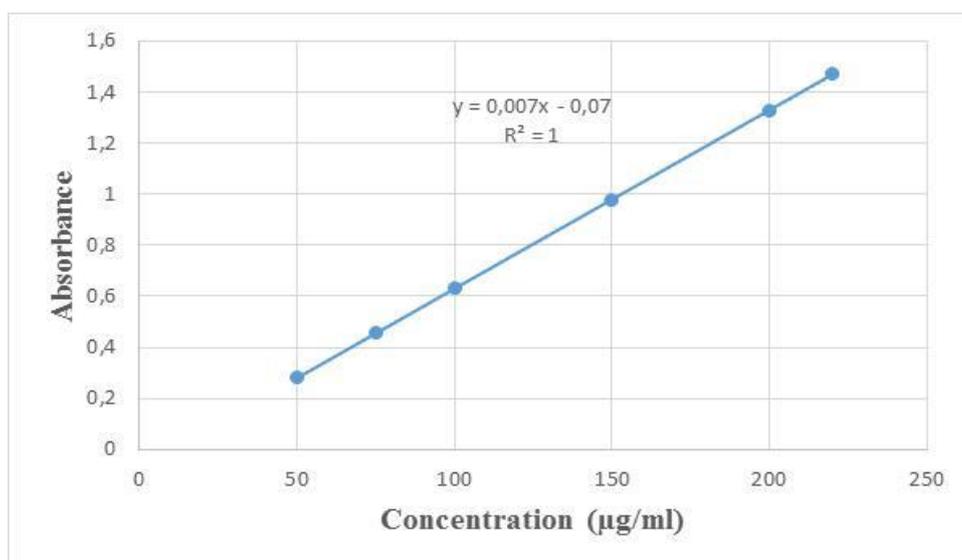
Bien que la teneur en métabolites secondaires de fruit *Arbutus unedo L.* change durant les mois de l'année, comme a été signalé par Males et al [31], la majorité des résultats de nos travaux sont conformes avec ceux retrouvés par d'autres études soit en Algérie [32], Portugal [33], Turquie [34], Croatie [28] et en Espagne [35].

### II.3. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols des plantes médicinales et produits comestibles. Cette méthode a été choisie pour les avantages suivants :

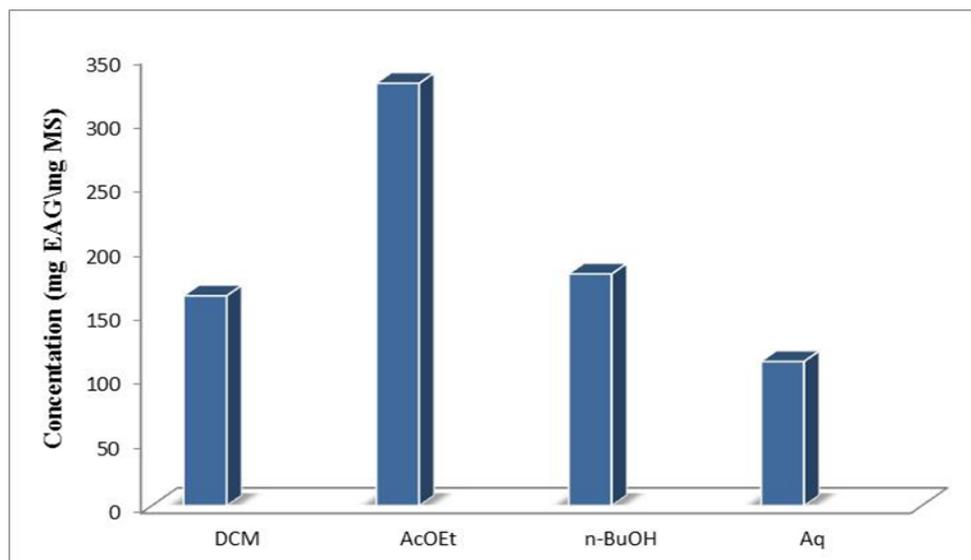
- Elle est standardisée et satisfait les critères de faisabilité et de reproductibilité.
- Elle utilise les réactifs de Folin et l'acide gallique suite à leur disponibilité.
- La grande valeur de la longueur d'onde d'absorption du chromophore à 760 nm permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent colorée [36].

Les différentes concentrations des solutions d'acide gallique préparées ont permis le traçage de la courbe d'étalonnage selon l'équation  $y = 0,007x - 0,007$  ( $R^2 = 1$ ). (Figure 35)



**Figure 35 :** Courbe d'étalonnage d'acide gallique [37].

C'est à partir de cette dernière courbe que les teneurs en polyphénols totaux des quatre extraits de l'Arbouse ont été déduits (figure 36), et exprimées en mg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (mg EAG/ mg d'extrait). Ces résultats révèlent que les extraits, acétate d'éthyle et n-butanol sont les fractions les plus riches en polyphénols avec des teneurs 329,14 et 180,57 mg EAG/ mg d'extrait respectivement. Par contre les autres fractions dichlorométhane et divulguent des teneurs moindres de l'ordre de 163,57 et 112,42 mg EAG/ mg d'extrait successivement.



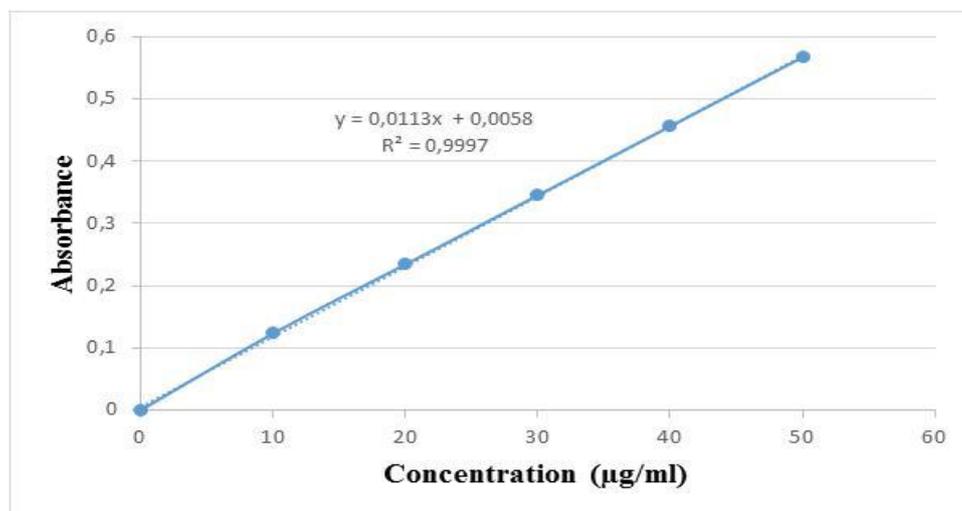
**Figure 36 :** Teneurs en polyphénols totaux dans les différents extraits.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de K. Doukani et S. Tabak, indiquant l'abondance en quantité très importante de polyphénols <sup>[38]</sup> dans les fruits d'*Arbutus Unedo* récolté dans deux régions Tiaret et Tlemcen.

Les valeurs trouvées en polyphénols paraissent supérieures à celles rapportées par certains auteurs <sup>[26]</sup>. En effet, cette étude rapporte des valeurs qui varient entre 12,75 et 34,27 (mg EAG/ mg d'extraits) seulement. Là aussi, ces différences entre les résultats peuvent être expliquées par plusieurs facteurs : la méthode d'extraction employée (solvant, quantité de fruit séché macérer...etc.), le choix de la période de récolte, le climat et la région étudiée...etc.

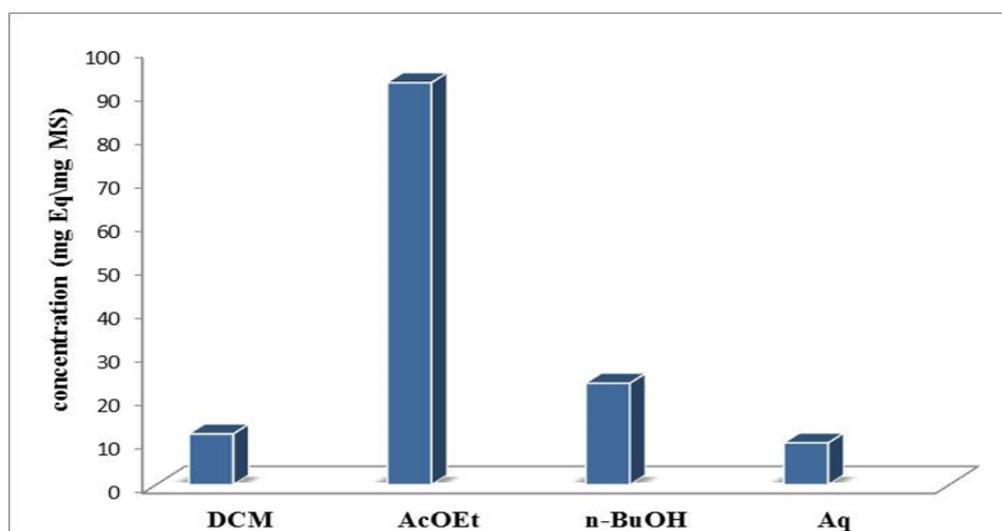
#### II.4. Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes constituent une classe de polyphénols la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits en littérature <sup>[39]</sup>. Les teneurs en flavonoïdes totaux peuvent être obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec des concentrations connues de la quercétine (Figure 37).



**Figure 37** : Courbe d'étalonnage de la quercétine [40].

L'utilisation de la figure 37 précédente, nous a permis la quantification des teneurs en flavonoïdes des 4 extraits de l'Arbouse objet de cette étude.



**Figure 38** : Teneur en Flavonoïdes des différents extraits.

Les résultats, en bâtonnets, présentés à la figure 38 montrent que l'extrait acétate d'éthyle est le plus riche en flavonoïdes avec 92,27 mg EQ/mg d'extrait, suivi par l'extrait butanolique avec 23,29 mg EQ/mg d'extrait, ensuite l'extrait dichlorométhane 11,65 mg EQ/mg d'extrait, et enfin l'extrait aqueux avec une teneur de 9,57 mg EQ/mg d'extrait.

En terme de comparaison, il faut signaler que la variation des paramètres inhérents aux conditions d'extraction et aux proportions des solvants et solutés utilisés rendent difficile la confrontation de nos résultats avec ceux de la littérature.

## II.5. Activités biologiques

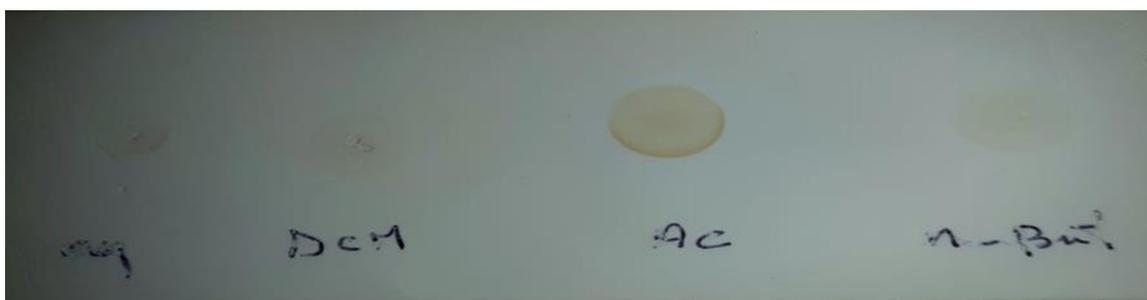
### II.5.1. Activité anti-oxydante

Les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement anti-oxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène. Plusieurs travaux précédents rapportés par la littérature, montrent que les fruits d'*Arbutus unedo*. sont une très bonne source d'antioxydants donnant lieu à une forte teneur en flavonoïdes estimée à 32,37mg par 100 g de portion comestible [35]. D'ailleurs, une étude menée en Algérie sur les fruits « exotiques » a dévoilé aussi que les fruits de l'arbousier présentent un très fort pouvoir réducteur comparativement aux autres fruits étudiés. L'explication réside dans la présence de la vitamine C et des polyphénols avec des teneurs de 346 mg/100 g(MS) et 146 mg/100 g de fruit sec, respectivement [41]. Ces résultats promoteurs, nous a encouragé à procéder au dosage de ces substances dans nos extraits pour quantifier leur richesse en composés phénoliques et flavonoïdes.

#### II.5.1.1. Méthode de réduction du radical libre DPPH

##### II.5.1.1.1. Test anti-radicalaire contre le DPPH sur plaques CCM

Le test antioxydant par piégeage du DPPH effectué sur plaques de CCM donne des spots jaunes sur les piques des quatre extraits aqueux, dichlorométhane, butanolique et acétate d'éthyle (figure 39). Ce dernier présente la meilleure activité anti-radicalaire en donnant une tâche massive. Ce résultat témoigne de la richesse en substances chimiques hydrosolubles à haute activité anti-radicalaire, due surtout à la présence de composés polyphénoliques.



**Figure 39** : Chromatogrammes de l'activité antioxydante après pulvérisation par la solution DPPH.

L'extrait n-BuOH montre aussi un pouvoir piégeur du radical DPPH intéressant mais moins important que celui de l'AcOEt. Les extraits Aqueux et DCM sont les moins actifs,

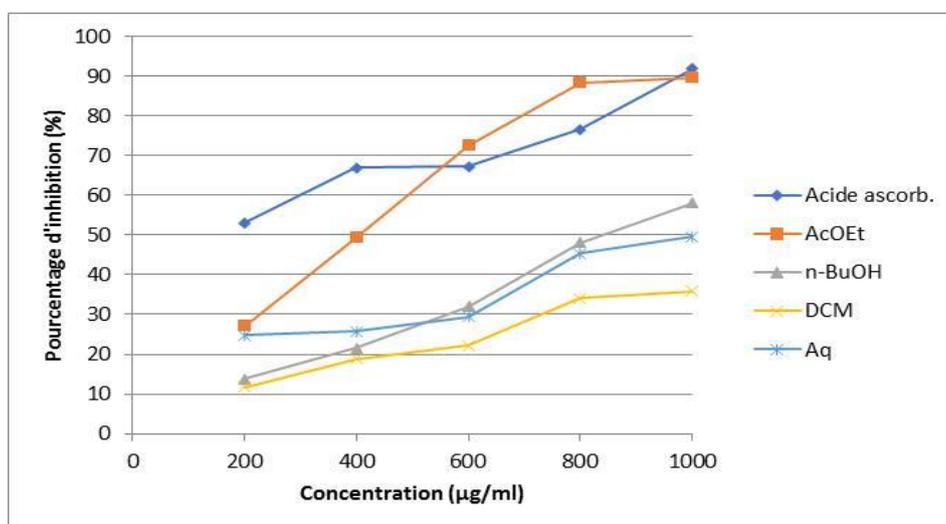
donnant lieu à des spots chétifs, à cause de leurs teneurs faibles en composants actifs. Ce résultat sera confirmé ultérieurement, au point suivant, par la spectrophotométrie UV-Visible.

#### II.5.1.1.2. Test anti-radicalaire contre le DPPH mesuré au spectrophotomètre

Nombreuses études confirment que la capacité de piégeage du DPPH est un indice fiable du potentiel antioxydant. La différence dans l'activité anti-oxydante des extraits de plantes peut être attribuée à la diversification dans la composition en substances bioactives [42].

Le DPPH est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations. Il se caractérise par son adaptation à plusieurs échantillons et à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti-radicalaires des extraits végétaux [43].

L'activité anti-radicalaire de nos extraits ainsi que le standard (Vitamine C) ont été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH, mesurée à 517 nm (figure 40).



**Figure 40 :** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH• par les extraits et le témoin en fonction des différentes concentrations.

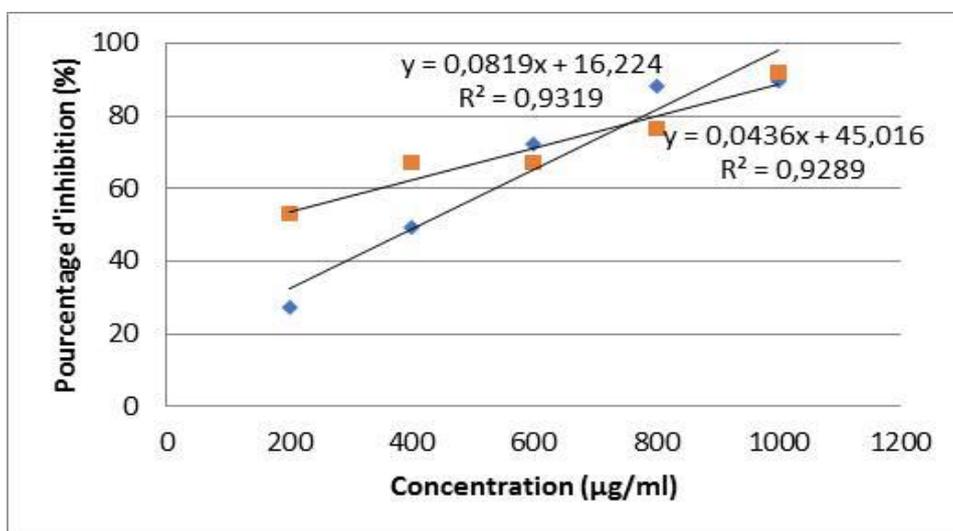
Le premier constat tiré de cette figure est que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH• augmente avec l'élévation de la concentration des extraits de la plante étudiée et pour la Vitamine C. En outre, la fraction acétate d'éthyle montre une activité antioxydante la plus élevée par rapport aux autres extraits. Viens, en deuxième position la fraction butanolique puis les deux autres fractions dichlorométhane et aqueuse.

Pour une concentration de 1000 µg/ml, la fraction d'acétate d'éthyle atteint un pourcentage d'inhibition de 89,62%, une valeur très proche à celle de la vitamine C (91,86%). A cette même concentration, l'extrait butanolique produit un pourcentage d'inhibition de

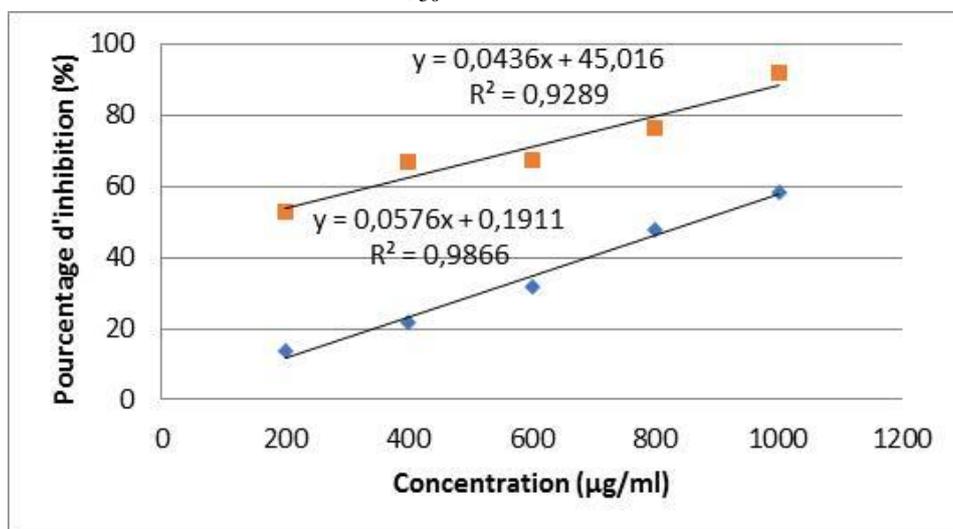
58,14 %. L'extrait aqueux quant à lui montre un pourcentage d'inhibition de 49,53 %, alors que la fraction dichlorométhane présente le plus faible pourcentage d'inhibition de 35,80%. Pour la dose de 200 µg/ml, les pourcentages d'inhibition sont les suivants : 27,11 % pour E<sub>AcOEt</sub>, 24,69% pour E<sub>Aq</sub>, 13,83% pour E<sub>BuOH</sub>, et enfin 11,69 % pour E<sub>DCM</sub> alors qu'il est de 51,97% pour la vitamine C.

- **Détermination de l'IC<sub>50</sub>**

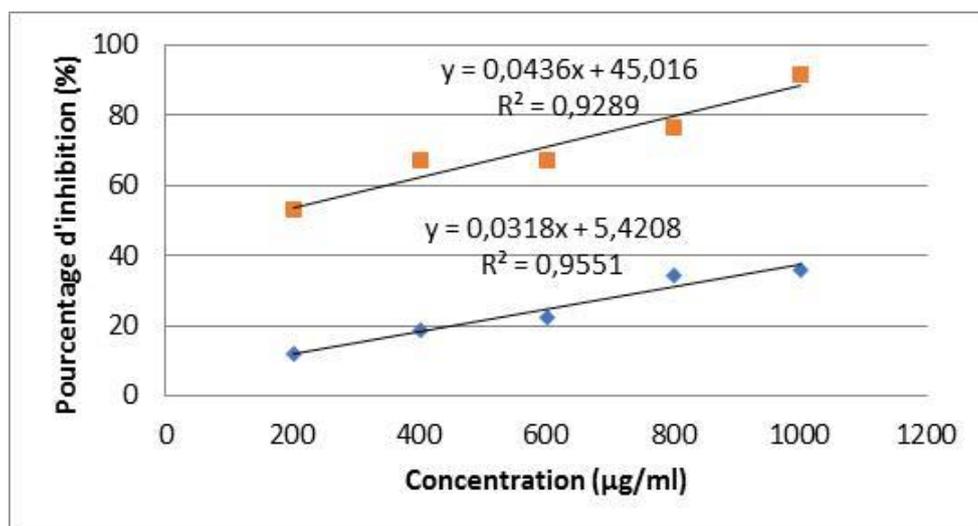
La valeur de la concentration d'inhibition médiane (IC<sub>50</sub>) est un paramètre largement utilisé pour mesurer l'activité de piégeage des radicaux libres. Une valeur inférieure de l'IC<sub>50</sub> indique une activité antioxydante plus élevée. Les valeurs de l'IC<sub>50</sub> de chaque extrait sont déterminées graphiquement (figure 41, 42, 43, 44) et représentées dans le tableau 13 suivant :



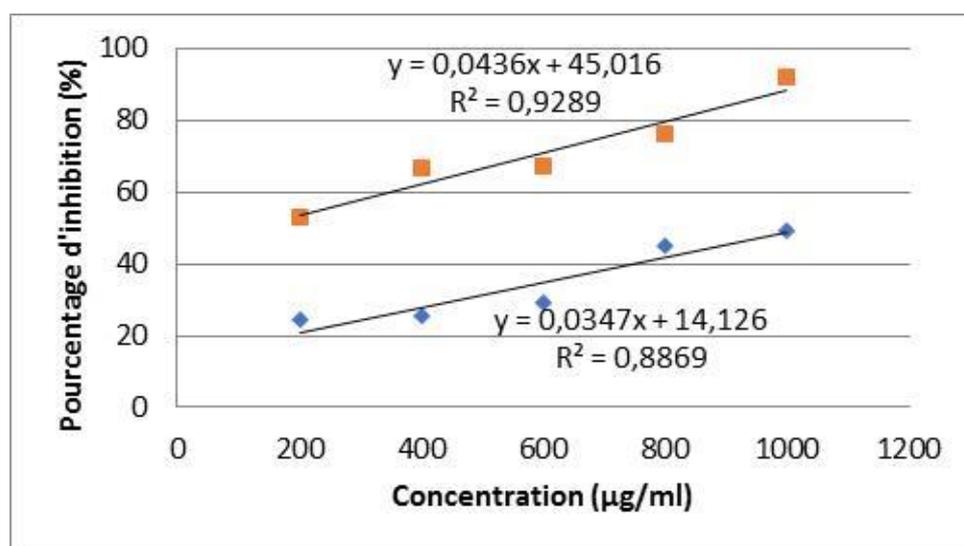
**Figure 41:** Détermination de la valeur IC<sub>50</sub> de la vitamine C et de la fraction acétate d'éthyle.



**Figure 42:** Détermination de la valeur IC<sub>50</sub> de la vitamine C et de la fraction butanolique.



**Figure 43:** Détermination de la valeur  $IC_{50}$  de la vitamine C et de la fraction dichlorométhane.



**Figure 44:** Détermination de la valeur  $IC_{50}$  de la vitamine C et de la fraction aqueuse.

**Tableau 13 :** Valeurs des  $IC_{50}$  des quatre extraits et de la vitamine C.

L'extrait	$IC_{50}$ (µg/ml)
Vit C	114,31
AcOEt	412,41
n-BuOH	864,74
Aq	1033,8
DCM	1401,9

Les concentrations inhibitrices médianes obtenues pour l'acide ascorbique, utilisé comme molécule de référence, sont bien plus inférieures à ceux des extraits, ce qui montre que ce dernier possède une activité antioxydante très élevée. D'après les valeurs obtenues, la fraction acétate d'éthyle présente une  $IC_{50}$  proche à celle de l'acide ascorbique mais inférieure à celles des autres fractions, ce qui indique une meilleure activité. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par le test réalisé sur les plaques CCM.

Il faut signaler que plusieurs études ont été effectuées parallèlement sur les fruits et sur les feuilles d'*Arbutus unedo*. la méthode de DPPH a affirmé que les extraits aqueux de ces organes ont une efficacité considérable de piégeage des radicaux DPPH avec des valeurs d' $IC_{50}$  de 87 et 790  $\mu\text{g/ml}$ , respectivement. Cela indique que la teneur en composés phénoliques dans les feuilles est dix fois plus élevée que dans le fruit. Aussi il a été montré que le temps de la maturation joue un rôle prépondérant sur l'activité antioxydant des fruits. Ainsi, l'état mature présente la capacité la plus élevée avec une  $IC_{50} = 250$ , suivi par l'étape intermédiaires et l'état immature avec des  $IC_{50}$  370 et 580  $\mu\text{g/ml}$  respectivement. Ces différences sont liées probablement à l'augmentation des anthocyanes et des sucres au fur et à mesure de la maturation <sup>[44]</sup>.

### II.5.2. Activité antimicrobienne

La méthode utilisée pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne est la diffusion sur disque en milieux gélosés (M-H ou Sabouraud).

Pour évaluer le potentiel antibactérien et antifongique de nos extraits, nous avons testé trois souches bactériennes et deux levures. Le diamètre de zone d'inhibition des 4 extraits vis-à-vis des souches bactériennes et les levures testées sont représentés dans le tableau et les figures ci-dessous. Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois répétitions indépendantes.

**Tableau 14 :** Diamètre de zone d'inhibition (mm) des quatre extraits vis-à-vis des souches testées.

Souches testées		Diamètres des zones d'inhibition ± écart types (mm)				sensibilité
		DCM	AcOEt	n-BuOH	Aq	
Bactéries	<i>E. Coli</i>	12,00±2,08	14,00±2,00	13,67±2,52	14,33±1,15	+
	<i>S. Aureus</i>	14,33±1,15	13,33±1,53	17±2,00	16,33±3,79	++
	<i>M. Luteus</i>	10,67±2,08	11±1,00	12,33±1,53	10,33±1,53	+
Champignons	<i>Candida Albicans</i> L 24	20,33±1,86	20,33±0,29	19,67±2,75	19,00±2,00	++
	<i>Candida Albicans</i> L 36	20,50±1,33	21,33±0,58	21,30±1,21	20,83±0,29	+++

(-) Résistante, (+) Sensibilité limitée, (++) Sensibilité moyenne, (+++) Très sensible

Les résultats consignés au tableau 14, révèlent des réponses positives mais variables en fonction de la nature des souches. La souche la plus sensible aux quatre extraits est le champignon *Candida Albicans* L36 qui a provoqué un diamètre d'inhibition maximal de 21,33 mm avec l'extrait acétate d'éthyle. En revanche, la souche *M. Luteus* paraît moins sensible que les autres souches donnant un diamètre de 12,33 mm avec l'extrait n-butanolique.

### II.5.2.1. Activité antibactérienne

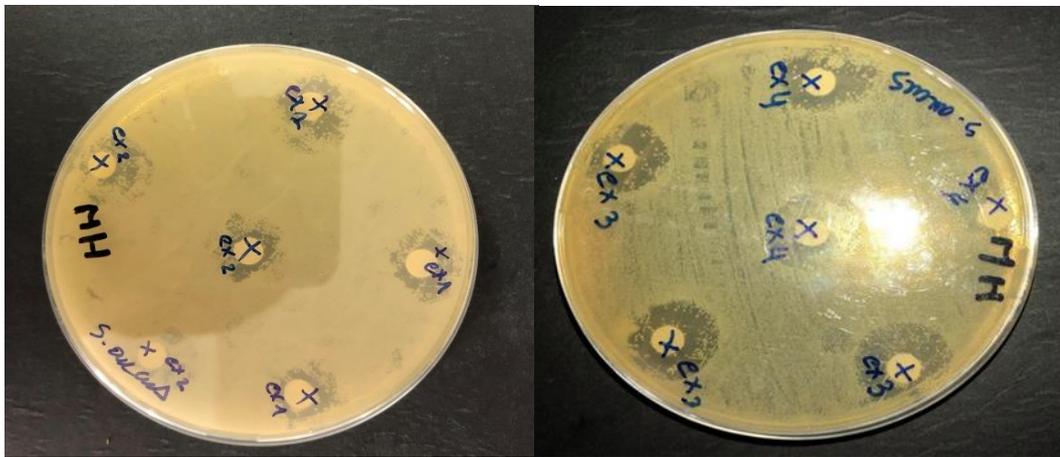
Concernant l'activité antibactérienne, les extraits présentent aussi une bonne activité sur les trois souches. La meilleure inhibition a été enregistrée pour *S. Aureus* apposé à l'extrait n-BuOH et donnant un diamètre de 17 mm, alors que pour les deux bactéries *E. Coli* et *M. Luteus* appliquées sur l'extrait n-BuOH et aqueuse a enregistré le bon diamètre d'inhibition évalué à 14,33 et 12,33 mm respectivement (Figure 45, 46, 47).

Ces résultats laissent apparaître des activités antibactériennes variables en fonction de la souche cible. La plus grande zone d'inhibition est observée pour les *Staphylococcus aureus*, suivie par *E. Coli* et enfin la *Micrococcus Luteus* qui se révèle la moins sensible pour nos extraits.



**Figure 45 :** Résultat des tests antibactériens des extraits vis-à-vis de la bactérie *E. coli*.

ex1 : EDCM, ex2 : EAcOEt, ex3 : En-BuOH, ex4 : EAq



**Figure 46 :** Résultat des tests antibactériens des extraits vis-à-vis de la bactérie *S. Aureus*.

ex1 : EDCM, ex2 : EAcOEt, ex3 : En-BuOH, ex4 : EAq



**Figure 47 :** Résultat des tests antibactériens des extraits vis-à-vis de la bactérie *M. Luteus*.

ex1 : EDCM, ex2 : EAcOEt, ex3 : En-BuOH, ex4 : EAq

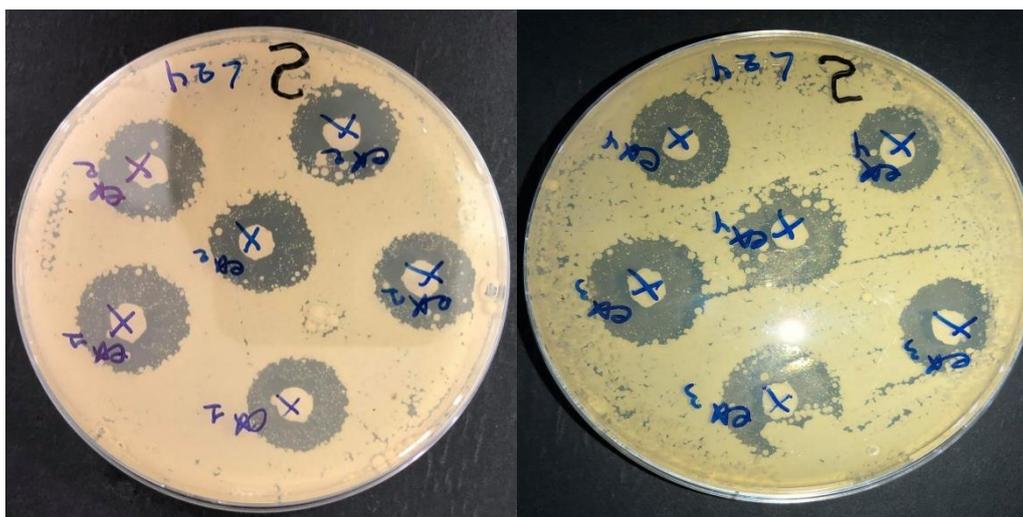
La sensibilité remarquable de la souche *Staphylococcus aureus* (17 mm de diamètre) peut s'expliquer par la probabilité de la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et les extraits naturels due à l'absence de la membrane externe [45].

Il faut noter que la variation des diamètres des zones d'inhibition en plus d'être impacté par le microorganisme, la plante (genre, partie utilisée, variations génétiques etc.) et le potentiel antibactérien des substances bioactive de l'extrait, elle l'est aussi par la capacité de diffusion dans le milieu gélosé de ces dernières [46].

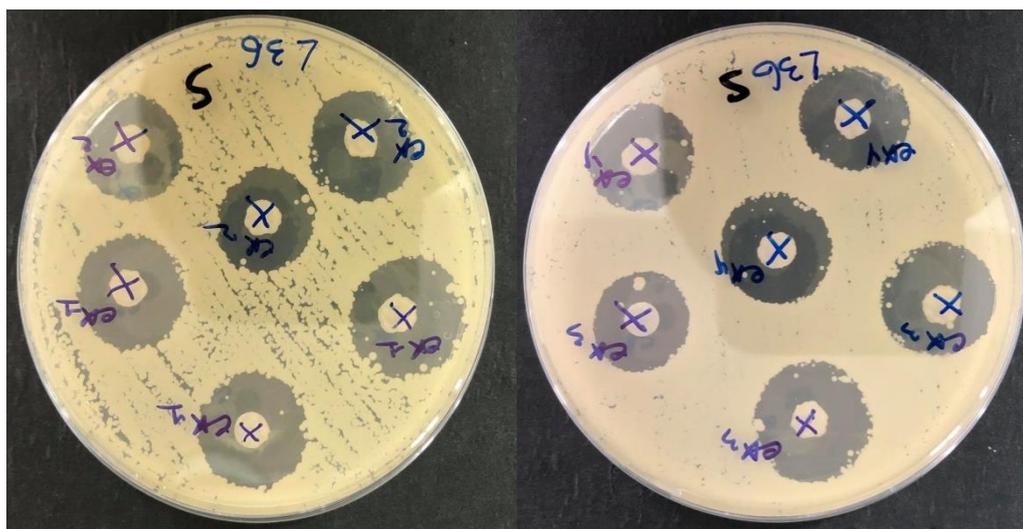
Aussi, le potentiel antibactérien de l'extrait étudié dépend de sa teneur en polyphénols et plus particulièrement en flavonoïdes et tanins [47]. En effet, la littérature fait état de nombreux travaux qui mettent en relief le rôle prépondérant des tanins en tant qu'agents antibactériens efficaces [48].

### II.5.2.2. Activité antifongique

Les résultats déterminés à partir des diamètres des zones d'inhibition des extraits montrent que les quatre extraits exercent une activité inhibitrice sur les deux souches fongiques testées. En effet, nous avons trouvé une activité inhibitrice plus intense pour la souche L36 appliquée aux extraits AcOEt et n-BuOH, avec une zone d'inhibition de 21,33 mm et 21 mm, respectivement contre des diamètres d'inhibition de 20,33 mm et 19,37 pour la souche L24. (Figure 48, 49)



**Figure 48 :** Résultat des tests antifongique des extraits vis-à-vis de levure *Candida albicans*  
L24.ex1 :EDCM, ex2 : EAcOEt, ex3 : En-BuOH, ex4 : EAq



**Figure 49** : Résultat des tests antifongique des extraits vis-à-vis de levure *Candida albicans* L36.

ex1 : EDCM, ex2 : EAcoEt, ex3 : En-BuOH, ex4 : EAq

Ce resultat peut être expliqué d'une part, par la composition chimique différente des quatre extraits et d'autre part, par le taux élevé des flavonoïdes et phénols totaux dans les extraits AcOEt et n-BuOH.

La comparaison de nos résultats, en terme d'activité antimicrobienne, avec ceux rapportés par la littérature reste difficile car à notre connaissance les études similaires réalisée sur le fruit d'*Arbutus unedo* sont quasi-inéxistant. Notre étude peut être considérée comme le premier rapport sur les propriétés antimicrobiennes des extraits de fruits de l'Arbousier. En revanche, certains auteurs ont montré que l'extrait aqueux des feuilles de cette plante avait une bonne activité antimicrobienne sur des souches testés tel que l'*Escherichia coli* et la *Staphylococcus aureus* [49].

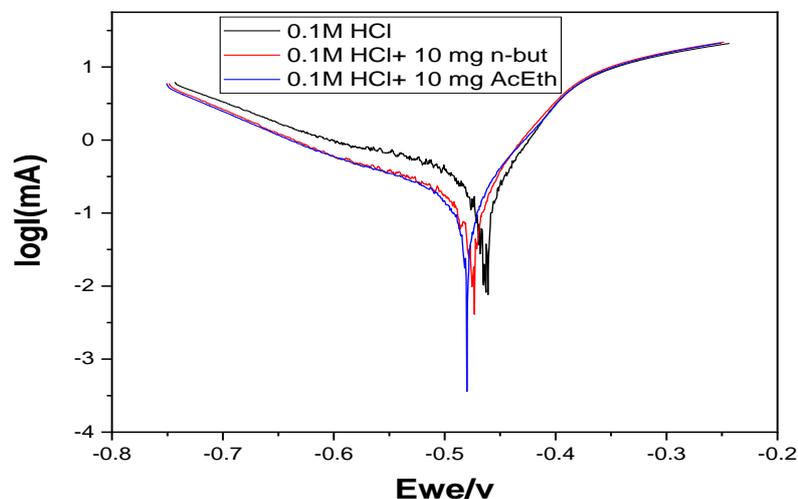
## II.6. Activité anticorrosive

### II.6.1. Les Courbes de polarisations

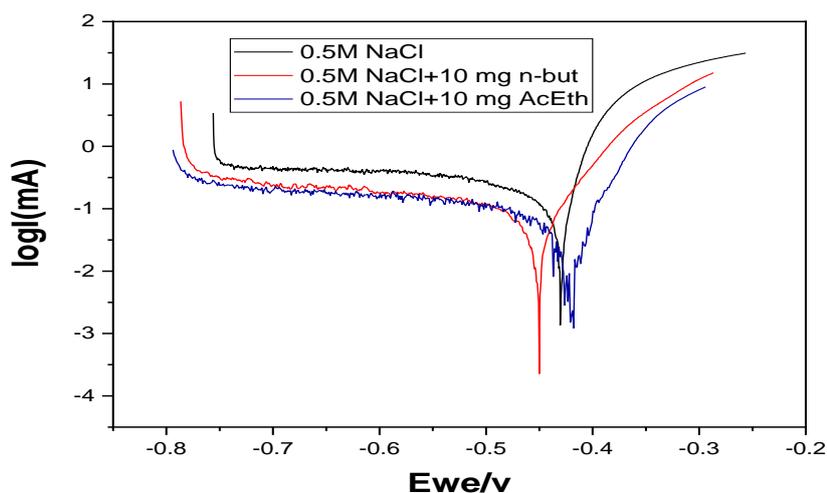
Les mesures électrochimiques (tableau 15 et figures 50, 51) sont mesurées à l'aide d'un potentiostat-galvanostat type Autolab avec un logiciel scilab. Les valeurs des densités de courant de corrosion ( $i_{corr}$ ), les potentiels de corrosion ( $E_{corr}$ ), les pentes cathodiques et anodiques ( $\beta_a$  et  $\beta_c$ ) et le pourcentage d'efficacité d'inhibiteur (E) sont calculés pour une concentration de l'inhibiteurs de l'ordre de 33.33 ppm pour les deux extraits : AcEOt et n-BuOH.

**Tableau 15:** Les paramètres de la polarisation potentiodynamique de l'acier E24 sans et avec inhibiteurs.

Les Concentration	$\beta_a$ (mv)	$\beta_c$ (mv)	$R_p$ ( $\Omega$ )	$-E_{cor}$ (mv)	$i_{cor}$ ( $\mu A.cm^2$ )	E %
HCl 0,1N	41,1	99,5	105	462,062	137,72	-
HCl 0,1N + AcEOt 33.33ppm	52,4	127,6	163	479,189	100,52	27,01
HCl 0,1N + n-BuOH 33.33ppm	44,8	134,5	173	473,237	101	26,43
NaCl 0, 5N	24,4	148,2	168	429,406	86,21	-
NaCl 0,5 N + AcOEt 33.33ppm	98,15	44,70	450,15	420,46	28,24	67,24
NaCl 0,5 N+ n-BuOH 33.33ppm	42,0	95,9	248	448,30	34,28	60,23



**Figure 50 :** Les courbes de la polarisation potentiodynamique de l'acier E24 dans HCl 0,1N sans et avec inhibiteurs.



**Figure 51:** Les courbes de la polarisation potentiodynamique de l'acier E24 dans NaCl 0,5N sans et avec inhibiteurs.

D'après les figures (51, 52) et le tableau (15) nous remarquons qu'en présence de l'inhibiteur :

- Le milieu corrosif, acide chlorhydrique à 0,1 N provoque une diminution du courant de corrosion ( $i_{\text{corr}}$ ), et donne une efficacité de 27,01% avec l'extrait Acétate d'éthyle et une efficacité de 26,43 avec l'extrait butanolique.
- Le milieu corrosif, chlorure de sodium à 0,5 N provoque une diminution de la densité du courant de corrosion, et donne une meilleur efficacité de 67,24% avec l'extrait Acétate d'éthyle et une efficacité de 60,23% avec l'extrait butanolique.

## II.7. Essai d'identification des composés par CCM

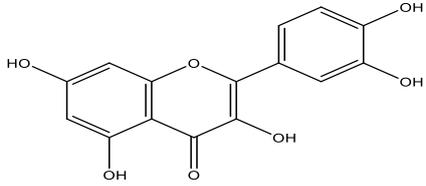
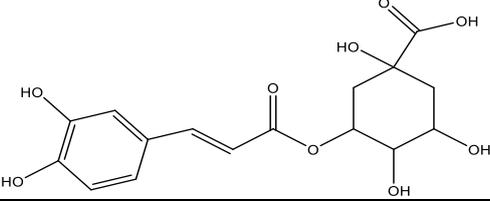
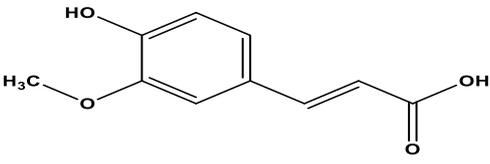
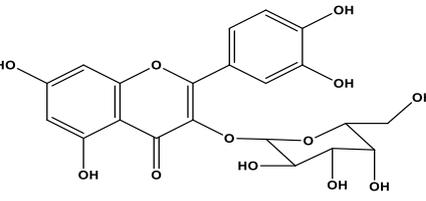
Afin d'identifier les différents composés chimiques contenus dans nos extraits, nous avons fait recours à la technique de la plaque de CCM et aux valeurs des rapports frontaux (Rf) de sept témoins connus [22], tableau 16.

**Tableau 16 :** Les Rf des témoins utilisés.

Témoin	Rf	Classes phénoliques
Quercétine	0.86	Flavonol
Isoquercétine	0.73	Flavonol glycoside
la rutine	0.47	
Hypéroside	0.6	
Acide férulique	0,95	Acide phénol
Acide iso-chlorogénique	0,8	
Acide chlorogénique	0.50	

Grace à un système d'élution adéquat et aux Rf des témoins, nous avons pu mettre en évidence probablement la nature des composés dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol, tableau 17.

**Tableau 17 :** Composés identifiés par CCM.

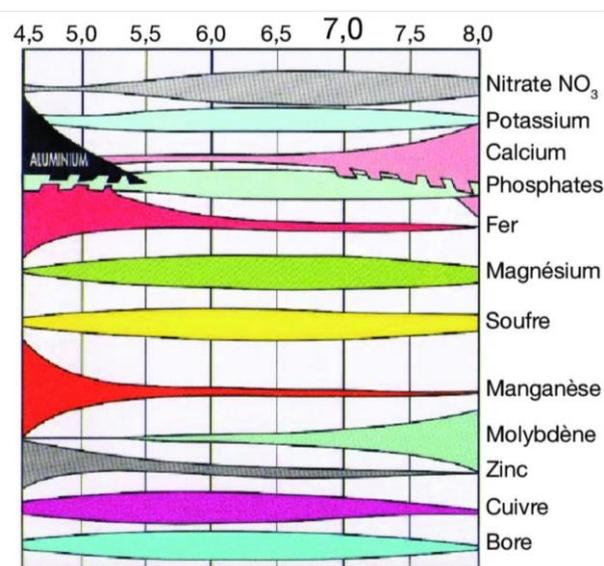
La fraction acétate d'éthyle		
Composés	Rf	Structure
Quercétine	0,86	
Acide iso-chlorogénique	0,80	
Acide férulique	0,94	
La fraction n-Butanol		
Composé	Rf	Structure
Hypéroside	0,6	

Cette étude nous a permis de mettre en évidence la présence de la quercétine et des acides phénoliques (acide férulique et isochlorogénique) dans la fraction acétate d'éthyle. Par contre, l'hypéroside, qui est un flavonol glycoside, a été trouvé dans la fraction n-butanol. Ce résultat, est conforté par l'étude réalisée par les Croates [50], qui ont montrés la présence de la quercétine, l'isoquercétine, l'hypéroside et la rutine dans les extraits des feuilles et l'isoquercétine dans les fruits du l'arbousier. Cette différence en composition est due probablement au facteur de la région de récolte de la plante.

### II.8. Mesure du pH du sol de la région étudiée

Le potentiel d'hydrogène (pH) décrit le taux d'acidité de la solution du sol. Les sols sont considérés comme moyennement acides quand le pH est inférieur à 6, et très acide quand le pH est inférieur à 5. Ils sont considérés comme moyennement basique (alcalins) quand le pH est supérieure à 8 et très basiques quand le pH est supérieur à 9, un milieu est neutre quand son pH est de 7.

Il faut savoir que le pH du sol, reflète les conditions physico-chimiques de la solution du sol. Ces dernières exercent un effet direct sur la biodisponibilité des nutriments à travers des phénomènes de solubilisation et d'insolubilisation propres à chaque élément. La figure 52, illustre ainsi la gamme de pH autour de laquelle chaque élément est le plus facilement biodisponible [51].



**Figure 52:** Diagramme montre l'impact du pH sur la biodisponibilité des éléments nutritifs.

Cette hypothèse est confortée par les données bibliographiques citées au chapitre 1.6.2.c tableau 6, indiquant la présence des minéraux dans l'Arbouse tel que le calcium, le potassium et le magnésium...etc.

La valeur mesurée du pH du sol de la région étudiée, Oued Esafsaf, Machtat Frina, là où l'arbousier est planté, est de 7,5. Cette valeur est légèrement alcaline favorisant l'absorption des éléments nutritifs de façon optimale par l'arbousier origine de fruits objet de cette étude, qui apparemment, s'accommode d'un pH autour de la neutralité <sup>[51]</sup>.

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:**

- [1] K. Mazari, et al. (2010). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil Isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plants Research*, 4(10): 959-964.
- [2] J. Hollo, J. Szejtli. (1958). The mechanism of starch-iodine reaction. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 2(1): p. 25-37.
- [3] K. Yoshida, M. Mori, T. Kondo. (2009). Blue flower color development by anthocyanins: from chemical structure to cell physiology. *Natural product reports*, 26(7): p. 884-915.
- [4] V. Uivarosi, et al. (2013). Synthesis and characterization of some new complexes of magnesium (II) and zinc (II) with the natural flavonoid primuletin. *Molecules*, 18(7): p. 7631-7645.
- [5] R. C. Hider, et al. (1981). Model compounds for microbial iron-transport compounds. Part 1. Solution chemistry and Mössbauer study of iron (II) and iron (III) complexes from phenolic and catecholic systems. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (2): p. 609-622.
- [6] R. Daniels, C.C. Rush, L. Bauer. (1960). The Fehling and Benedict tests. *Journal of chemical education*, 37(4): p. 205.
- [7] A. Saleem, et al. (2019). Preparation of Marketable Functional Food to Control Hypertension using Basil (*ocimum basillium*) and Peppermint (*mentha piperita*). *International Journal of Innovations in Science & Technology*. 1(1): p. 15-32.
- [8] A. Khelfallah. (2013). Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires. Mémoire de Magister. Université Constantine 1.
- [9] K. kanoun. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de Magister. Université Aboubaker Belkaid Tlemcen.
- [10] L. Lagnika. (2005). Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, page : 249.
- [11] A.Cavin. (1999). Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire : Lausanne, 241 P.
- [12] R.L. Prior, X. Wu, K. Schaich. Standard sized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4290-4302.
- [13] C. Sánchez-Moreno. (2002). Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems.
- [14] M. Burits, F. Bucar. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*. 14: 323-328. Evaluation of Three Medicinal Plants, *Journal of Natural Products*, Vol.3 (2010):27-34.

- [15] H. Rais, A. Mecheri. (2020). Etude de l'activité antioxydante, antibactérienne et antifongique de l'extrait méthanolique de *Raetama Sphaerocarpa (L.) Bioss*. Mémoire du Master de l'Université Larbi Tebessi, Tebessa.
- [16] C. Sánchez-Moreno, J. A. Larrauri, F. Saura-Calixto. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270-276.
- [17] M.M. Kechkar. (2008). Extraction de la silymarine et étude de son activité antimicrobienne. Mémoire du Magister de l'Université Mentouri, Constantine.
- [18] Duraffourd, C. y. Jean, C. Lapraz, (2002). Traité de phytothérapie clinique. Médecine et Endobiologie, Paris, Masson.
- [19] F. Toualbia. (2018). Inhibition de la corrosion du zinc par un polymère organique conducteur polyaniline : Influence des paramètres opératoires. Mémoire de Master. Université Mouhamed Chérif Messadia Souk- Ahras.
- [20] M. Lefahal. (2014). Etude phytochimique, biologique et activité anticorrosion de trois plantes médicinales algériennes appartenant aux familles *plumbaginaceae*, *tamaricaceae* et *apiaceae*. Thèse de doctorat. Université de Constantine 1. P118.
- [21] M. Lebrini. (2005). Synthèses et études physicochimiques de nouveaux thiadiazoles inhibiteurs de corrosion de l'acier en milieu acide. Thèse de doctorat. Université de Lille 1.
- [22] H. Wagner, S. Blatt. (1996). *Plant Drug Analysis*, Springer, Berlin, pp. 195–197.
- [23] J. Boyer. (1982). Les sols ferrallitiques. Tome X. Facteurs de fertilité et utilisation des sols. Initiations-Documents techniques.
- [24] ITAB, (2002). Activités biologiques et fertilité des sols: Intérêts et limites des méthodes analytiques disponibles.
- [25] G. Khlef. (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris L.* et *Laurus nobilis L.* Mémoire de magister. Université El Hadj Lakhdar-Batna-.
- [26] K. Bouzid, et al. (2014). Extraction, Identification and Quantitative HPLC Analysis of Flavonoids from Fruit Extracts of *Arbutus unedo L.* from Tiaret Area (Western Algeria), Vol. (6), № 4.
- [27] F. Belfekih, et al. (2017). Screening phytochimique d'*Arbutus unedo L.* *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*.
- [28] Z. Males, et al. (2006). Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree *Arbutus unedo L.* (Ericaceae). *Journal Acta Pharmaceutica*. 56(2):245–250.
- [29] H. Falleh, et al. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*. 331(5): 372-379.
- [30] S. Mahmoudi, M. Khali, N. Mahmoudi. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). *Revue de Nature & Technologie, Sciences Agronomiques et Biologiques*, pp. 35- 40.

- [31] F. Mihoub, F. Gourchala. (2014). Préférence, neophobia and nutritional quality of a wild fruit "Lendj" (*Arbutus unedo* L.) from Algeria. International Journal of Applied, Physical and Bio-Chemistry Research (IJAPBCR). 4(3):19-28.
- [32] L. Barros, et al. (2010). Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterization in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. Food Chemistry. 2010; 120(1): 247–254.
- [33] M.M. Özcan, H. Haciseferoğulları. (2007). The Strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. Journal of Food Engineering. 78(3):1022–1028.
- [34] K. Pallauf, et al. (2008). Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. Journal Food Composition and Analysis. 21(4):273–281.
- [35] A. Khadhri, R. Elmokni, S. Smiti. (2013). Composés phénolique et activités antioxydantes de deux extraits de chardon a glu : *Atractylis gummifera*. Revue Soc. Sci. Nat, 39:44-52.
- [36] S. Ferdjioui. (2014). Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de la plante *Mentha rotundifolia*. Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas-Sétif-1.
- [37] K. Douakni, S. Tabak. (2015). Profil Physicochimique du fruit "Lendj" (*Arbutus unedo* L.). *Journal Nature & Technology*. 12, 53 :66.
- [38] A.M. Gomez-Caravaca, et al. (2006). Advances in the analysis of phenolic compound in products derived from bees. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1220- 1234.
- [39] W. Meftah, A. Ouenas. (2020). Activités biologiques d'une plante algérienne endémique. Mémoire de Master. Université Badji Mokhtar –Annaba.
- [40] T. Allane, S. Benamara. (2010). Activités antioxydantes de quelques fruits communs et sauvages d'Algérie. *Phytothérapie*, 8: 171–5
- [41] C.W. Balentine, et al. (2006). The preand post-grinding application of *rosemary* and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73: 413-421.
- [42] M.E. A. Dib, et al. (2013). Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. *Journal of Saudi Chemical Society*, 17(4), 381-385.
- [43] S. Boulechafar. (2014). Valorisation des Substances Bioactives à Activités Pharmacologiques à partir de deux *Asteraceae* : *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron. et *Hertia cheirifolia* (L.) O.K. Mémoire de Magister. Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi.
- [44] P. Hernandez-Rodriguez, L.C. Pabon Baquero, M.F. Fabiola Rodriguez Alvarez. (2015). Propiedades químicas y biológicas de *Arbutus unedo*: una planta con potencial medicinal. *Rev Cubana Farm* vol.49 no.1.
- [45] C.W. Balentine, et al. (2006). The preand post-grinding application of *rosemary* and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73: 413-421.
- [46] A. B. Sassi, et al. (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Pharmaceutical biology*, 45(5), 421-428.

[47] M. Dib, et al. (2013). Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. *Journal of Saudi Chemical Society*, 17(4), 381-385.

[48] R. Sanogo, et al. (2006). Activité antibactérienne et antalgique de deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Mali Médical*, 21(1), 18-24.

[49] I. Moualek. (2018). Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri.

[50] Z. Males, et al. (2006). Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree – *Arbutus unedo* L. (*Ericaceae*). *Acta Pharm.* 56, 245–250

[51] V. Genot, et al. (2009). L'état de fertilité des terres agricoles et forestières en région wallonne (adapté du chapitre 4- sol 1 de « L'état de l'Environnement wallon 2006-2007 »). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13(1), 121-138.

# **Conclusion générale**

### Conclusion générale

Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquelles on attribue des capacités antioxydantes et un pouvoir inhibiteur sur des microorganismes.

Le présent travail a pour objectif l'étude des activités biologiques des extraits de fruits d'arbousier (Lindj) collectées dans la région d'Ouled-Moumen wilaya de Souk-Ahras.

La première partie de ce travail consacrée à l'étude phytochimique de l'Arbouse, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires, où nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des tanins, des composés réducteurs et des saponosides en quantités importantes. Tandis que les anthocyanes, les stérols et les stéroïdes sont présents en faible quantité.

Les rendements des extraits de fruits d'Arbousier montrent que l'extrait aqueux représente le rendement le plus élevé (26,36%), suivi par l'extrait butanolique (3,62%) puis l'extrait de dichlorométhane (2,46%) alors que l'extrait acétate d'éthyle possède le rendement le plus bas (0,20%).

L'analyse quantitative, représentée par le dosage spectral, a révélé des teneurs considérables en composés phénoliques et flavonoïdes dans la fraction acétate d'éthyle contrairement aux contenus des autres extraits de l'Arbouse.

L'analyse qualitative des extraits par chromatographie sur couche mince grâce à un système d'élution bien choisi a dévoilé la présence de la quercétine, l'acide férulique, l'acide isochlorogénique et l'hypéroside dans les extraits de fruits d'Arbousier.

Dans la deuxième partie, nous nous sommes intéressés plus précisément à étudier l'effet anti-radicalaire par la méthode de réduction du radical libre DPPH, ainsi que l'activité antimicrobienne et anticorrosive de fruits d'Arbousier. Les résultats obtenus montrent clairement que :

-L'extrait acétate d'éthyle présente l'activité la plus élevée comparée à la Vitamine C pris comme antioxydant de référence avec une concentration inhibitrice médiane  $IC_{50}$  de 412,41  $\mu\text{g/ml}$  suivi de l'extrait butanolique avec une  $IC_{50}$  de 864,74  $\mu\text{g/ml}$  et enfin les extrais aqueux et dichlorométhane avec une  $IC_{50}$  de 1033,8  $\mu\text{g/ml}$  et 1401,9  $\mu\text{g/ml}$  respectivement.

-L'activité antibactérienne testée sur trois souches montre que l'extrait butanolique possède la meilleure activité inhibitrice contre le *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de 17mm proportionnellement aux autres extraits.

-L'activité antifongique des extraits de l'Arbouse manifeste également un effet important avec deux souches fongiques testées. Mais l'extrait acétate d'éthyle provoque le meilleur diamètre d'inhibition évalué à 21,33mm contre la levure *C. albicans* L36.

-L'activité anticorrosive des extraits d'acétate d'éthyle et de n-butanol présente des efficacités élevées valant 67,24% et 60,23% respectivement dans le milieu corrosif de NaCl à 0.5N, contrairement au milieu HCl à 0.1N qui présente une efficacité de 27,01 % pour l'extrait acétate d'éthyle et 26,43% pour l'extrait butanolique.

L'ensemble des résultats montre que l'extrait acétate d'éthyle, bien qu'il est obtenu avec un faible rendement, donne la meilleure activité corrélativement aux autres extraits ; pour cela nous suggérons de réaliser une multi-extraction au lieu d'une seule fois avec le dit solvant.

Devant ces résultats prometteurs qui constituent un premier pas dans l'investigation de ce fruit « exotique » du terroir, nous recommandons la poursuite de cette étude notamment :

-L'évaluation de l'activité anti-oxydante par d'autres méthodes telles que le FRAP et l'ABTS.

-L'identification des principes actifs par les techniques spectroscopiques modernes comme la CPG-SM, l'HPLC et la RMN.

-La détermination des doses thérapeutiques pour chaque molécule active séparée.

-Procéder aux tests d'activités *in vivo* sur des animaux de laboratoire.