

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de BIOLOGIE



MEMOIRE

Présenté par

Mahamane Chaibou Boubacar

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Sciences alimentaires

Spécialité Nutrition Et Pathologie

Thème

Evaluation du pouvoir antioxydant des fruits de
l'arbousier (*Arbutus unedo*)

Soutenu le 20/06/2023, devant le jury composé de :

Président	Mme BADID N.	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	Mme MEDJDOUB H.	MCB	Université de Tlemcen
Examineur	Mme MAMI SOUALEM Z.	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

ملخص

تعيش في المناخات المعتدلة ، *Arbutus unedo L*. هي شجيرة تنتمي إلى عائلة Ericaceae. هو نبتة طبية تستخدم في الطب التقليدي في الجزائر لعلاج أمراض مختلفة مثل السكري ومشاكل الكلى. يتركز هدف عملنا على تقييم القوة المضادة للأكسدة في ثمار النرجيلة باستخدام تقنية FRP و DPPH لتقليل الحديد. تم استخلاص الثمار أولاً للحصول على الصمغ الخام والمنقى. يسمح الاستخلاص بالحصول على محصول الصمغ الخام الذي يبلغ $1.45 \pm 1.10\%$ والصمغ المنقى الذي يبلغ $3.60 \pm 0.45\%$ والذي سيتم استخدامه لتقييم قوتهم المضادة للأكسدة. وبهذا المعنى ، فإن قيم EC50 المسجلة تساوي 0.909 ؛ 0.596 و 0.2776 مجم / مل لمستخلصات حامض الاسكوربيك الخام والمنقى على التوالي. هذا يدل على أن المستخلص المنقى أكثر فعالية من المستخلصات الأخرى. وبالمثل ، حصلنا على قيم IC50 مقابل DPPH بحوالي 2.041 ؛ 0.059 و 0.0009 ملغ / مل لمستخلصات حامض الأسكوربيك الخام والمنقى على التوالي. في الختام ، فإن مستخلصات ثمار القرع لها تأثير مضاد للأكسدة مهم للغاية.

الكلمات الرئيسية: *Arbutus unedo L* ، قوة مضادات الأكسدة ، FRP ، DPPH ، العلاج بالنباتات ، IC50 ، EC50

Résumé

Vivant dans les climats tempérés, l'*Arbutus unedo* L. est un arbuste qui appartient à la famille des Ericacées. C'est une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie pour traiter diverses maladies telle que le diabète, les problèmes rénaux.

L'objectif de notre travail est porté sur l'évaluation de pouvoir antioxydant des fruits de l'arbousier par la technique de réduction du fer FRP et DPPH. Les fruits ont été, d'abord, soumis à une extraction pour obtenir les mucilages brut et purifié.

L'extraction a permis d'obtenir un rendement pour le mucilage brut qui est de $1,45 \pm 1,10\%$ et pour le mucilage purifié qui est de $3,60 \pm 0,45\%$ qui seront utilisés pour évaluer leur pouvoir antioxydant.

En ce sens les valeurs des EC50 enregistrées sont de l'ordre 0,909 ; 0,596 et 0,2776 mg/ml, pour les extraits bruts, purifié et acide ascorbique respectivement. Cela montre que l'extrait purifié est plus efficace que les autres extraits. De même, nous avons obtenus des valeurs d'IC50 contre le DPPH de l'ordre de 2,041 ; 0,059 et 0,0009mg/ml pour les extraits bruts, purifié et acide ascorbique respectivement.

En conclusion, les extraits des fruits de l'arbousier exercent un effet antioxydant très important.

Mots clés : *Arbutus unedo* L., pouvoir antioxydant, FRP, DPPH, phytothérapie, IC50, EC50

Abstract

Living in temperate climates, *Arbutus unedo* L. is a shrub that belongs to the Ericaceae family. It is a medicinal plant used in traditional medicine in Algeria to treat various diseases such as diabetes, kidney problems.

The objective of our work is focused on the evaluation of antioxidant power of arbutus fruits by the FRP and DPPH iron reduction technique. The fruits were first subjected to an extraction to obtain the raw and purified mucilage.

The extraction makes it possible to obtain a yield for the crude mucilage which is $1.45 \pm 1.10\%$ and for the purified mucilage which is $3.60 \pm 0.45\%$ which will be used to evaluate their antioxidant power.

In this sense, the EC₅₀ values recorded are of the order of 0.909; 0.596 and 0.2776 mg/ml, for the crude, purified and ascorbic acid extracts respectively. This shows that the purified extract is more effective than other extracts. Similarly, we obtained IC₅₀ values against DPPH of around 2.041; 0.059 and 0.0009mg/ml for the crude, purified and ascorbic acid extracts respectively.

In conclusion, the extracts of the fruits of the arbutus exert a very significant antioxidant effect.

Keywords: *Arbutus unedo* L., antioxidant power, FRP, DPPH, phytotherapy, IC₅₀, EC₅₀

REMERCIEMENTS

Louange à ALLAH, le tout puissant miséricordieux qui m'a donné la patience, le courage, la bravoure et l'abnégation afin de réaliser et d'achevé ce modeste travail.

Tout d'abord toute,

J'adresse ma gratitude à Mme MEDJDOUB H. « Maitre de conférences B » au Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, de Tlemcen d'avoir accepté de diriger ce modeste travail et pour sa patience sa disponibilité, ses conseils et ses encouragements à mon égard. Madame recevez mes vivent et sincères reconnaissances.

J'adresse mes remerciements aussi à Mme BADID N. « Maître de Conférences A » au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, qui me fait l'honneur de présider le jury de cette soutenance après un long chemin parcouru ensemble.

J'adresse gratitude aussi à Mme MAMI SOUALEM Z. « Maitre de conférences A » au Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de participer à la soutenance de ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont à tous les professeurs qui par leurs conseils et leurs efforts durant tous les années passées ont participé à notre formation. Mes vifs remerciements à mes parents et à toute ma famille pour leur soutien moral, financier et pour leurs encouragements et conseils

A toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

UN GRAND MERCI À TOUS

THANK YOU SO MUCH

GRACIAS MUCHAS

CHOUKRAN

DEDICACE SPECIAL

Je dédie ce modeste travail :

A mon cher papa, mon idole mon bouclier monsieur MAHAMANE CHAIBOU un homme humble, digne, intègre, généreux et surtout modeste, A ma maman chérie et aussi mon amie AICHATOU SIDI, une femme très patiente, calme, compréhensive, et généreuse qui sans votre affection, votre amour, votre soutien moral et financiers, vos conseils, vos sacrifices, vos encouragements, vos prières vos d'A et vos efforts que vous avez déployés, ce travail n'aurait jamais pu être réalisé. Je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, j'espère que Dieu, tout puissant, vous donne une Longue vie et la bonne santé, je vous aime énormément.

A mes frères et sœurs Hadiza, Sani, Abdoulaye, Mariam et surtout à toi ma complice de tous les jours ma conseillère Ramatou A qui, je porte le plus grand amour pour la collaboration, le soutien et l'aide que vous n'avez jamais cessé de m'apporter. Que Dieu vous protège qu'il vous prête longue vie, santé et tout le bonheur que vous méritez pour votre avenir.

A ma petite sœur très spéciale RAINATOU

A mes petites nièces chéries Iman, Hafsat et Oummou Kalthoum,

A mes amis Manirou, Abdoulaye, Ismaghil, et Issa tondi

Liste des abréviations

CAT : catalase

DPPH : Radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

EC50 : La concentration qui correspond à une absorbance de 0.5

ERO : Espèce réactive de l'oxygène.

ED : Eau Distillée

Fe³⁺: Ion ferrique.

FRP: Ferric Reducing Power

FeCl₃: Chlorure ferrique

Fe²⁺ : Fer ferreux

G : gramme

IC50 : Concentration d'inhibition pour 50

K₃Fe (CN)₆ : Ferricyanure de potassium

Mg : milligramme

ml : millilitre

PH : potentiel hydronium

RL : radical libre

SOD : super oxyde dismutase

TCA : Acide trichloracétique

Tr/mn : tour par minute

UV-VIS : Ultraviolet-Visible

Liste des figures

Figure 1: L'arbousier (<i>Arbutus unedo</i> L.) E. Brenckle Rustica	4
Figure 2: l'écorce, feuille, et fruits de l'arbousier (LeaderPlant, 2023).....	6
Figure 3: Répartition géographiques de l' <i>Arbutus unedo</i> (Anonyme 1).....	7
Figure 4: Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants (Atamar, 2008).....	11
Figure 5: Mécanisme du stress oxydatif.....	13
Figure 6: Action des antioxydants sur les radicaux libres (Souley Amadou 2004 ; Yoo et al., 2008).....	14
Figure 7: Fruit de l'arbousier (recueilli).....	16
Figure 8: Dispositif d'extraction	18
Figure 9: Protocole d'extraction des mucilages brut à partir du fruit (<i>Arbutus unedo</i> L.)	18
Figure 10: Les solutions préparées.....	19
Figure 11: Protocole d'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de l' <i>Arbutus unedo</i> L.	20
Figure 12: Extrait brut	23
Figure 13: Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer des mucilages brut de l' <i>Arbutus unedo</i> L.....	24
Figure 14: Représentation graphique du pouvoir réducteur d'extrait purifié de l' <i>Arbutus unedo</i> L.	24
Figure 15: Représentation graphique du pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.....	25
Figure 16: Représentation graphique du pouvoir anti radicalaire du mucilage brut de l' <i>Arbutus unedo</i> L.....	26
Figure 17: Représentation graphique du pouvoir antioxydant du mucilage purifié de l' <i>Arbutus unedo</i> L.....	27
Figure 18: Représentation graphique du pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique	28

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification taxonomique d'Arbutus unedo L.....	5
Tableau 2 : Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques (Haton, 2005).....	12
Tableau 3: Différents types des antioxydants (Haleng et al.,2007).....	15
Tableau 4: Rendement des extraits de mucilages.....	23
Tableau 5: : Les différentes valeurs de l'EC50.	26
Tableau 6: Les différentes valeurs d'IC50	28

Sommaire

Sommaire

REMERCIEMENTS	iv
DEDICACE SPECIAL	v
Liste des abréviations	vi
Liste des figures	vii
Liste des tableaux	viii
Sommaire	x
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
PREMIERE PARTIE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE 1 : PLANTES MÉDICINALES <i>ARBUTUS UNEDO L.</i>	3
1. Généralités sur la plante de l'arbousier	3
1.1. Les plantes médicinales	3
1.2. L'arbousier (<i>Arbutus unedo L.</i>)	4
1.2.1. Définition	4
1.2.3. Description botanique	5
1.2.4. Répartition géographique	7
2. Composition chimique du fruit de l'arbousier	7
2.1 Les composés ou acide phénoliques	8
2.1.1 Vitamines	8
2.1.2. Les sucres	8
2.1.3. Acides gras	8
2.1.4 Les éléments minéraux	8
2.2 Composition des feuilles	8
2.3. Composition des racines	9
2.4. L'utilisation traditionnelle	9
2.4.1. Racines	9
2.4.2. Les feuilles	9
2.4.3. Les fruits	9
3. Toxicité de l'arbousier :	10
CHAPITRE 2 : LE POUVOIR ANTIOXYDANT	11
1. Généralité sur l'oxydation et antioxydant	11

2. Le stress oxydatif	11
2.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	12
2.2. Les radicaux libres.....	12
3. Les conséquences du stress oxydatifs	13
4. Les antioxydants.....	14
4.1 Les antioxydants non enzymatiques	14
4.2. Les antioxydants à activité enzymatiques	14
5. Alimentation et stress oxydatif	15
DEUXIEME PARTIE ETUDE EXPERIMENTALE.....	
CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES	
1. Objectif	16
2. Matériel Végétal.....	16
3. Extraction	16
L'extraction se fait par deux méthodes dont la première permet d'obtenir les mucilages bruts et la deuxième pour les mucilages purifiés.	
3.1. Extraction du mucilage brut.....	16
3.2. Extraction du mucilage purifié.....	17
4. Evaluation de l'activité antioxydante	19
4.1. Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de FRP.....	19
a) Principe :	19
b) Solutions à préparer :	19
c) Mode opératoire :	19
4.2. Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH.....	21
a) Principe :	21
b) Mode opératoire	21
CHAPITRE 4 : RESULTAT ET DISCUSSION	
1. Résultats	23
1.1. Extraction.....	23
1.1.1 Rendement de Mucilage Brut et du mucilage purifié	23
1.2. Evaluation de pouvoir antioxydant par la méthode de FRP	23
1.2.1. Effet de l'extrait brut.....	23
.....	24
1.2.3. Effet de l'acide ascorbique.....	25
1.2.4 Calcul de la concentration efficace 50 (EC50)	25

1.3. Evaluation du pouvoir antioxydant du fruit de l'arbousier par la méthode de DPPH.	26
1.3.1. Effet de l'extrait des mucilages bruts.....	26
1.3.2. Effet de l'extrait du mucilage purifié.....	27
1.3.3. Effet de l'acide ascorbique.....	27
1.3.4 Calcul de la concentration d'inhibition IC50 :.....	28
2. Discussion	29
CONCLUSION GENERALE.....	31
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	xiii

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les métabolites des plantes peuvent² constituer des principes actifs issus des végétaux en raison de leur multi activité biologique cela suscitent un intérêt très particulier dans le domaine cosmétique, pharmaceutique, sanitaire et surtout et surtout agroalimentaire. Ils sont également utilisés comme source alimentaire et agents thérapeutique en médecine et apportent une contribution majeure à la santé communautaire (**Salem et al., 2018**).

Dans le monde l'une des causes principales de l'augmentation de l'indice du cancer est l'utilisation abusive ou exagérée des antioxydants synthétique, notamment ceux utilisée en agroalimentaire dû à leur stabilité dans les conditions opératoires d'un bon nombre de procédés industriels (**Mouelek, 2018**). Face à ce fléau très alarmant de santé publique les recherches scientifiques se sont accentuées vers les plantes constituant une très grande réserve en molécules bioactives naturelle.

Le stress oxydatif c'est l'ensemble des agressions causé par les molécules dérivant de l'oxygène aux cellules de notre corps (**Cerbaliance, 2019**). Il peut aussi être un déséquilibre soit lié à une forte production des espèces réactives de l'oxygène ou soit par diminution de la capacité des défenses anti-oxydants permettant ainsi le développement de diverses maladies (**Favier, 2006**) comme le diabète, le rhumatisme, l'obésité, maladie d'alzheimer (**Montagnier et al., 1998**) et les maladies cardiovasculaires, le cancer et la cataracte et autres (**Prayr, 1987**).

De par sa position biogéographique et son étendu entre la méditerranée et l'Afrique subsaharienne, l'Algérie est l'un des pays les plus connus au monde pour leurs diversités taxonomique avec une flore très riche et diversifiée en plante médicinale parmi lequel se trouve *l'Arbutus unedo* L, connu sous le nom de l'arbousier. Cette espèce est largement présente au nord de l'Algérie et particulièrement dans la ville de Tlemcen (**Moualek, 2018**). Issue de la famille des éricacées, l'arbousier ou arbre à fraise, aux feuilles persistantes est un arbuste sauvage très utilisé en médecine traditionnelle du fait de ses nombreuses vertus.

Les racines de l'arbousier en décoctions sont utilisées contre hypertension artérielle ; l'écorce est utilisée comme agent diurétique et les feuilles comme antiseptique et astringent (**Mouelek, 2018**).

La plante de l'arbousier est caractérisée par la présence des substances bioactives comme les polyphénols (**Albuquerque et al., 2017 ; Fonseca et al., 2015 ; Guimarães et al., 2013**). C'est ainsi dans cette optique les plantes sont considéré comme une grande source

INTRODUCTION GÉNÉRALE

d'antioxydant qui permettent de bloquer toute action des radicaux libres et de défendre soigneusement l'organisme contre le stress oxydant (Akinmaladum et al., 2007).

De tout ce qui vient d'être évoquée si haut le travail portera sur l'étude de l'évaluation du pouvoir antioxydant des mucilages extraits à partir des fruits de l'arbousier (*Arbutus unedo* L.).

Le travail comprendra deux parties :

- Une première partie relative à l'étude bibliographique de la plante et du pouvoir antioxydant avec deux chapitres.
- Une deuxième partie consacrée à l'étude expérimentale avec interprétation et discussion des résultats

PREMIERE PARTIE SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : PLANTES MEDICINALES *ARBUTUS UNEDO L.*

1. Généralités sur la plante de l'arbousier

1.1. Les plantes médicinales

Depuis la nuit des temps les plantes médicinales ont fait l'objet d'une importance capitale et fascinaient les hommes. L'histoire des plantes médicinales est intimement liée au développement des civilisations dans toutes les régions du monde grâce à leurs importances en médecine comme en témoigne l'histoire des peuples (**Al amri et al., 2014**).

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine et voir même animal. Depuis les temps anciens les traditions humaines ont su se développer grâce à des siècles de connaissance et aussi par l'utilisation des plantes médicinales pour venir à terme à des multiples maladies. Ayant ainsi des pouvoirs médicamenteux et pouvant avoir un usage alimentaire et condimentaire les plantes médicinales contiennent des principes actifs dans l'un de leurs organes composant comme les feuilles, la tige, l'écorce, les racines ou encore les fruits donnant des vertus curative ou toxique. Selon la réglementation du pays et en fonction de leurs utilités ces plantes peuvent être vendues sous formes d'herboristerie, comprimée ou gélules en pharmacie avec ou sans prescription.

L'arbousier est une espèce dotée d'une très grande importance économique et traditionnelle dans les pays méditerranéens et de l'Asie ainsi il se développe en compagnie d'autres plantes marqueuses du maquis comme le chêne liège, la bruyère arborescente et le laurier tin (**Silberfed 2011**). C'est une plante qui contient de nombreux métabolites secondaires notamment les polyphénols.

Ce terme générique de polyphénol désigne un ensemble vaste de substances à structure variée et complexe qui est difficile à définir tout simplement (**Bruneton, 1993**).

Des analyses ont été réalisées pour ses organes et ont montré des différences significatives de teneur en polyphénol, la bonne connaissance et la réputation de ces composés phénoliques dans les différents organes de l'arbousier sont essentiels pour connaître l'orientation de l'usage souhaité par l'homme.

C'est dans cette optique qu'en raison de leur rôle et leur effets bénéfiques sur la santé de l'homme que les fruits de l'arbousier ont attiré une attention particulière et considérable des chercheurs (**Djouadi, 2012**).

1.2. L'arbousier (*Arbutus unedo* L.)

1.2.1. Définition

Espèce répandue et très fréquente en Algérie, l'*Arbutus unedo* L. communément appelé arbousier, arbre à fraise ou encore le fraisier en arabe est une espèce d'arbre appartenant au genre d'*Arbutus* et de la famille des éricacées. Grande famille de cosmopolite représente plus 1200 genres dans le monde dont l'*Arbutus* (arbousier), *Calcuna* (callune), *Érica* (bruyère et rhododendron) estimés à plus de 4100 espèces. C'est une espèce d'arbustes ou petit arbre qui pousse et qui a vu le jour sur presque l'ensemble du pourtour méditerranéen occidental mais aussi dans le nord oriental. Le terme « *Unedo* » est mot latin décrit par Pline comme étant une dérive de « unum edo = je mange un seul fruit ». Il est réutilisé par Carl Linnaeus (1753).

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.

Les éricacées prédominent dans arctique, dans les régions tempérées et également dans les montagnes tropicales et extratropicales du sud-est de l'Asie et de l'Amérique mais cela reste à savoir que la plus grande densité et diversité de cette espèce se retrouve sous le climat méditerranéen (Dadi, 2009).



Figure 1: L'arbousier (*Arbutus unedo* L.) E. Brenckle Rustica

CHAPITRE 1 : PLANTES MEDICINALES *ARBUTUS UNEDO L.*

Tableau 1: Classification taxonomique d'*Arbutus unedo L.*

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

En français : Arbousier, arbre aux fraises (**Beniston et al., 1984**).

En anglais : Strawberrytree (**Bossard, 1984**).

En arabe : Lenj, Boudjbiba, sessno (**Beloued, 2001 ; Att-Youssef, 2006**)

1.2.3. Description botanique

Arbrisseau de 1 à 3 mètres mais des fois pouvant atteindre entre 10 à 12 mètres de hauteur, à tige dressée, à jeunes rameaux rouges, rudes et poilus dotés de feuilles persistantes, grandes, ovales-lancéolées, dentées en scie, pétiolées, coriaces, glabres et luisantes. Il vit entre 100 à 400ans : sa croissance est très lente (son tronc peut atteindre 35cm de diamètre). L'arbousier Il fleurit en hiver, et la maturation des fruits se fait l'année suivant ce qui fait qu'en automne, on peut observer en même temps les fleurs et les fruits sur le même arbre.

- Fleurs blanchâtres, vertes au sommet, en grappes rameuses courtes et larges
- Calice à lobes sub-triangulaires
- Corolle à dents courtes
- Filets des étamines velus à la base
- Baies grosses, globuleuses, pendantes, hérissées de tubercules pyramidaux, à la fin rouges, à loges contenant chacune 4-5 graines.



Figure 2: l'écorce, feuille, et fruits de l'arbousier (LeaderPlant, 2023)

De son nom arbousier c'est un petit arbre d'une taille de 1,5 à 3 mètres (Tonelli et Gallouin, 2013). Il a également une écorce du brun rougeâtre. Au fil des années, il se décolle en lanières. Pour les types axial ces racines poussent profondément (Celikel et al., 2008). L'arbousier vit en moyenne entre 100 et 400 ans (Semmon, 1987).

- **Feuilles**

De son beau feuillage dense et persistant et disposition alterne les feuilles de l'arbousier se renouvellent progressivement après 1 ou 2 ans. Ces feuilles ont un pétiole court qui est moins d'un 1cm. Sans stipule elles sont coriaces, elliptique, épaisse, simple, alternative, entière ou denté de 4 à 8 cm de longueur sur 2 à 4 cm de largeur. Les feuilles sont luisantes et pourvu de couleur vert sombre au-dessous et vert pâle un peu argenté au-dessus (figure 2) (Males et al. 2006).

- **Fleurs**

Les fleurs de l'arbousier sont une véritable source de nectar et de pollen pour les abeilles (Males et al., 2006). La floraison intervient en août et septembre : les fleurs sont blanches (rouges pour certaines variétés) et rose claire pour d'autre, pendantes, en clochettes (figure 2) elles peuvent atteindre 8 à 9 mm de long. Il leur faut un an pour mûrir les arbouses n'arrivent à maturité qu'à l'automne suivant, en octobre ou novembre.

- **Fruits**

Les fruits de l'arbousier sont sphériques gras avec une peau épaisse qui est recouverte de petits =ongles rouge orangé qui ressemble à la fraise d'où son nom arbre a fraise. Ils ont un diamètre de plus de 2 cm et tombe une fois après leurs maturation cette maturation dure 12 mois avant de se transformée en une délicieuse couleur rouge ces fruits peuvent être

CHAPITRE 1 : PLANTES MEDICINALES *ARBUTUS UNEDO L.*

consommés pendant leurs maturation (**Takromi et al., 2012**). Ils sont pourvus d'une chair à l'intérieur jaune et mure et pleine de graines jaunes très riches en matières grasses (**Tonelli et Gallouin, 2013**). La période de floraison et de fructification s'étend d'octobre à février (**More et White, 2005**).

1.2.4. Répartition géographique

Arbre typique des maquis, *Arbutus unedo L.* Souvent appelé arbre aux fraises, se trouve dans l'ouest, le centre et le sud de l'Europe, au Nord-Est de l'Afrique, les îles Canaries et en Asie occidentale prédominant. La distribution de *l'Arbutus unedo L.* s'aperçoit, principalement dans les zones côtières et intérieures avec des climats doux et sécheresse estivale, méditerranéens notamment en Portugal, Espagne, France, Italie, Albanie, Croatie, Bosnie, Monténégro, Grèce, Turquie et les îles méditerranéennes (**Torres et al., 2002**) à une altitude environ de 600 m au-dessus de niveau de la mer (**Ayaz et al., 2000 ; Papoff et al., 1993**). L'arbousier en Algérie, est bien représenté dans le tell Algérien, surtout dans les forêts de chêne liège (des régions de Jijel, Skikda et El Taraf). *Arbutus unedo* préfère les substrats siliceux, décarbonatés (**Torres et al., 2002**) et les sols alcalins relativement acides (**Celik et al., 2008**).



Figure 3: Répartition géographiques de l'*Arbutus unedo* (Anonyme 1)

2. Composition chimique du fruit de l'arbousier

Il est considéré comme l'un des meilleurs fruits en raison de ses nombreux bienfaits pour la santé humaine. Les conditions climatiques et agronomiques de ce fruit jouent un rôle dans la différenciation de son calibre. C'est pour cela ce fruit se démarque par sa composition chimique et sa capacité antioxydant (**Ozcan et Hacisferogullan, 2007**). Le fruit de l'arbousier contient 68,18% d'eau, (17,66%)

CHAPITRE 1 : PLANTES MEDICINALES *ARBUTUS UNEDO L.*

des solides solubles, les sucres, les sels, les protéines et les acides carboxyliques... (**Doukani et Tabak, 2015**). D'après **Miguel et al. (2014)**, il renferme plusieurs composés chimiques dont :

2.1 Les composés ou acide phénoliques

Le fruit de l'arbousier contient beaucoup d'acides phénoliques, acide gallique, acide vanillique ..., les flavonols (10,86 mg/100g), les flavan-3-ols (36,30 mg /100 g), les dérivés de galloyl (24,63 mg/100g) et d'anthocyanes (13,77 mg / 100 g) sont identifiés et quantifiés par la méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse CPG/SM.

2.1.1 Vitamines

Le fruit de l'arbousier contient plusieurs types de vitamine à savoir la vitamine C (89mg/100g), la vitamine E (55,7mg/100g) et les caroténoïdes (**Lefahal, 2014**).

2.1.2. Les sucres

Les sucres solubles identifiés et quantifiés dans l'étude de **Doukani et Tabak, (2015)** étaient : le fructose (27,8%), glucose (21,5%), saccharose (1,80%) et le maltose (1,11%). La teneur en glucose et fructose augmente avec la maturation du fruit, tandis que le saccharose reste inchangé.

2.1.3. Acides gras

La composition a été évaluée par **Barros et al., (2010)** ; 21 acides gras ont été identifiés et quantifiés, l'acide α -linoléique (36,51 %) et les acides gras polyinsaturés (58,28 %).

2.1.4 Les éléments minéraux

L'arbose a montré des teneurs en sels minéraux très variables. Il est très riche en calcium, potassium, magnésium, sodium et phosphore, par contre le cuivre, lithium, manganèse, nickel, plomb, se trouvent sous forme de trace (**Dib, 2008**).

2.2 Composition des feuilles

Selon une étude menée par **Ait-Youssef (2006)**, les feuilles sont très riches en tanins 37%. L'arbutine et les dérivés de l'hydroquinone (**Pavlović et al., 2009**), ainsi que les flavonoïdes, les glycosides phénoliques, quercitrine, isoquercitrine, hyperoside et d'autres composés

phénoliques tel que arbutoflavonol A et arbutoflavonol B, étant identifiés et quantifiés dans des extraits de feuilles d'*Arbutus unedo* L. (Maleš et al., 2006).

2.3. Composition des racines

Cette partie souterraine est composé principalement de catéchines, considérées comme un puissant antioxydant et anti-inflammatoire. D'autre part, la racine a une teneur en acide plus faible acide benzoïque, acide gallique, protocatéchique et largement trouvé par la présence d'acide caféique qui est un composé étudié dans le traitement du cancer de la prostate antimutagène (Miguel et al., 2014)

2.4. L'utilisation traditionnelle

Arbutus unedo L. est fréquemment utilisé dans la médecine traditionnelle comme un excellent remède naturel comme pour l'hypertension et le diabète (Elhouari, 2007). Les parties utilisées principalement sont : Feuilles, fruits, racines.

Cette plante présente des propriétés astringentes efficaces en cas de diarrhée plus particulièrement au niveau des fruits et de feuilles (Espicier et al., 2000).

2.4.1. Racines

La décoction de racines est prescrite contre l'hypertension artérielle, car elle efficace contre les rhumatismes et possède des propriétés anti- inflammatoires. Nous extrayons les racines en raison de leurs avantages pour améliorer la sensibilité des récepteurs de la pression artérielle et sont utilisées pour abaisser la glycémie, et sont utiles pour la pression artérielle et prévenir l'hypertrophie du muscle cardiaque (Miguel et al., 2014). Les racines du fruit sont également utilisées comme désinfectant pour les voies urinaires et un traiter la gonorrhée (Boullord, 2001 ; Iserin, 2001).

2.4.2. Les feuilles

La décoction de feuilles est également utilisée comme antispasmodique, astringent et antiseptique. Par conséquent, il est prescrit en cas de diarrhée et de congestion du foie (Boullard, 2001).

2.4.3. Les fruits

Les fruits ont de nombreuses propriétés, notamment des propriétés astringentes, diurétiques et antiseptiques (Ozcan et Hacisacieferonguliari, 2007). Le médecin Bilkhider (1997) conseille de respecter les doses consommées car il est anti-diarrhéique, et pour cette

CHAPITRE 1 : PLANTES MEDICINALES *ARBUTUS UNEDO L.*

raison il est déconseillé aux femmes enceintes d'en prendre et en cas de maladie rénale également.

3. Toxicité de l'arbousier :

L'arbousier est une plante narcotique et stupéfiante à une faible dose, la toxicité est modérée. Toutes les parties sont dangereuses surtout les feuilles. Ces plantes contiennent une toxine, l'andromédotoxine (diterpènetetracyclique), elle est responsable de vomissements et de baisse de tension et pouvant entraîner la mort si elle est absorbée en doses importantes. La consommation en grande quantité des baies provoque des coliques et des effets proches de l'ébriété (les fruits trop murs contiennent une quantité non négligeable d'alcool) (Balkadi, 2018).

CHAPITRE 2 :
LE POUVOIR ANTIOXYDANT

CHAPITRE 2 : LE POUVOIR ANTIOXYDANT

1. Généralité sur l'oxydation et antioxydant

L'oxydation est le phénomène qui fait rouiller, les métaux, qui fait flétrir les légumes et les fruits, rancir les graisses. Il modifie le goût et la couleur des aliments. L'organisme subit également le phénomène d'oxydation, mais il est équipé pour lutter contre ces altérations : un énorme système de défense est en permanence en place, avec des systèmes enzymatiques et/ou des systèmes de régénération de complexes mettant en jeu par exemple l'acide ascorbique (vitamine C) ou le glutathion. Dans des conditions physiologiques, l'oxygène est une molécule nécessaire à la vie de l'organisme aérobie. Cependant, il peut former des espèces partiellement réduites et les espèces hautement toxiques qui sont appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO), (Popovici et al., 2009). Le déséquilibre entre la surproduction d'ERO et d'antioxydants endogènes est à l'origine du stress oxydatif impliqué dans de nombreuses pathologies comme le cancer, maladie cardiovasculaire, etc. Cependant, l'alimentation et les plantes médicinales sont d'importantes sources d'antioxydants naturels car principalement à cause de leurs composés phénoliques (Fortalezas et al., 2015).

2. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et les antioxydants, en faveur des premières, il est impliqué dans le développement de plusieurs maladies (Atamer, 2008).

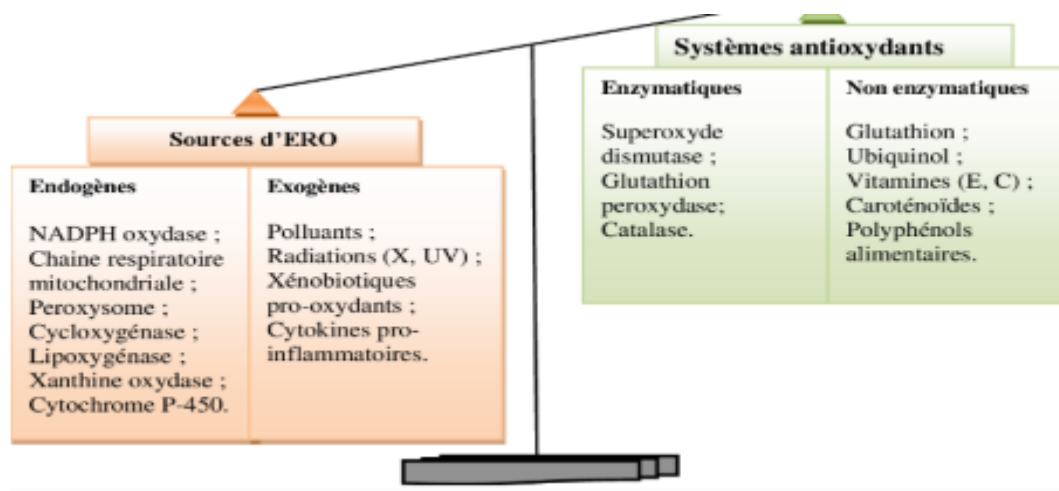


Figure 4: Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants (Atamer, 2008).

Le stress oxydatif est l'incapacité de l'organisme de se défendre contre l'attaque des espèces réactives de l'oxygène ; suite à un déséquilibre associé à une production accrue de ces espèces

CHAPITRE 2 : LE POUVOIR ANTIOXYDANT

ou à une diminution de la capacité de défense antioxydante présentes dans la cellule comme la vitamine E et C, la bilirubine, l'acide lipoïque, catalase, superoxydedismutase, la glutathion peroxydase et les peroxyrédoxines. Ce déséquilibre favorise le développement et le déclenchement de plusieurs maladies comme le cancer, des pathologies oculaires et des maladies neurodégénératives... (Favier, 2006 ; Defraigne et Pincemail, 2008 ; Eddhima, 2019). D'après Magder (2006) le stress oxydatif peut avoir diverses origines : la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale a des facteurs prooxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques.

2.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les organismes aérobies utilisent l'oxygène pour oxyder des substrats riches en carbone et en hydrogène. Cependant, lorsque les molécules sont oxygénées, l'oxygène est réduit et forme des intermédiaires radicalaires, très réactifs appelé espèces réactives de l'oxygène (des molécules contenant de l'oxygène mais leur réactivité est supérieure à celle de la molécule d'oxygène) (Benyamina, 2017).

Tableau 2 : Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques (Haton, 2005).

Espèce radicalaire		Espèce non radicalaire	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion super Oxyde	O_2°	Peroxyde D'hydrogène	H_2O_2
Radicale Hydroxyle	O_2°	Oxygène Singulier	$1O_2$
Monoxyde D'azote	NO°		

2.2. Les radicaux libres

Un radical libre (RL) 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

CHAPITRE 2 : LE POUVOIR ANTIOXYDANT

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.

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. Toutefois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance prooxydant/antioxydant.

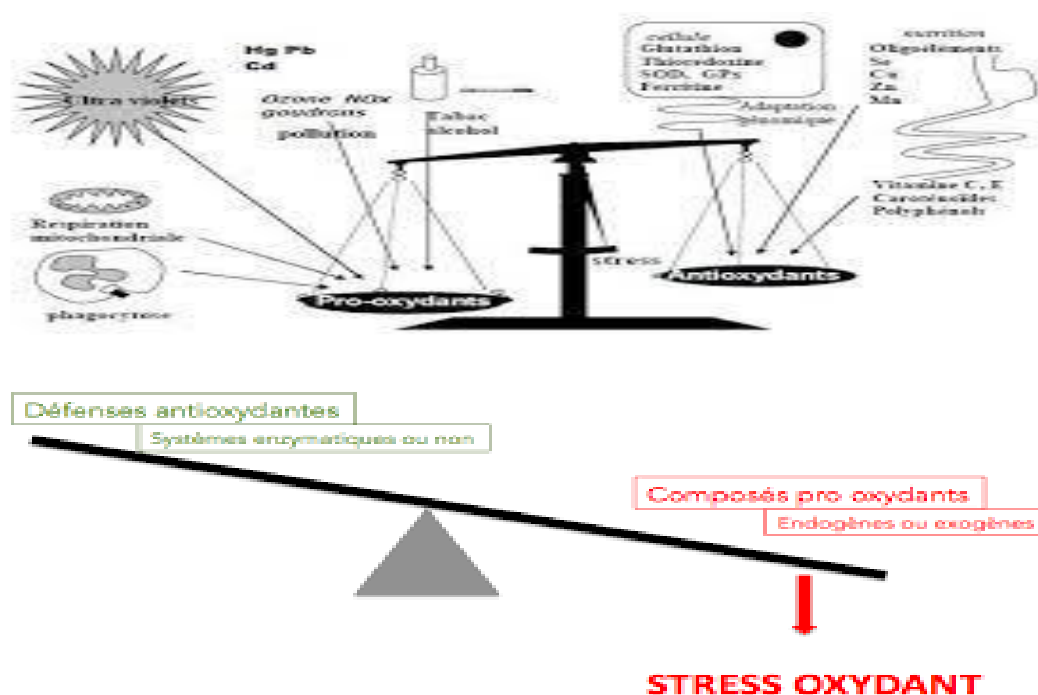


Figure 5: Mécanisme du stress oxydatif

3. Les conséquences du stress oxydatifs

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. (Beaudeau et al., 2006).

CHAPITRE 2 : LE POUVOIR ANTIOXYDANT

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 libres qui peuvent être source de nombreux problèmes de santé s'ils prolifèrent dans l'organisme.

Les antioxydants se répartissent en trois catégories : ceux provenant de sources externes à activité non enzymatique puis ceux provenant de sources internes à activité enzymatique et ceux provenant des sources naturelles.

4.1 Les antioxydants 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. Les antioxydants à activité non enzymatiques se classe en 4 groupes : les caroténoïdes, les polyphénols, les vitamines et les oligo-éléments (Sélénium, Cuivre, Manganèse et Zinc Il y a aussi divers minéraux tels le zinc, le sélénium, le cuivre, le manganèse et le fer (Haleng et al., 2007). Les propriétés anti oxydantes des polyphénols sont étroitement liées à leurs structures chimiques selon le type de composés et le degré de méthylation.

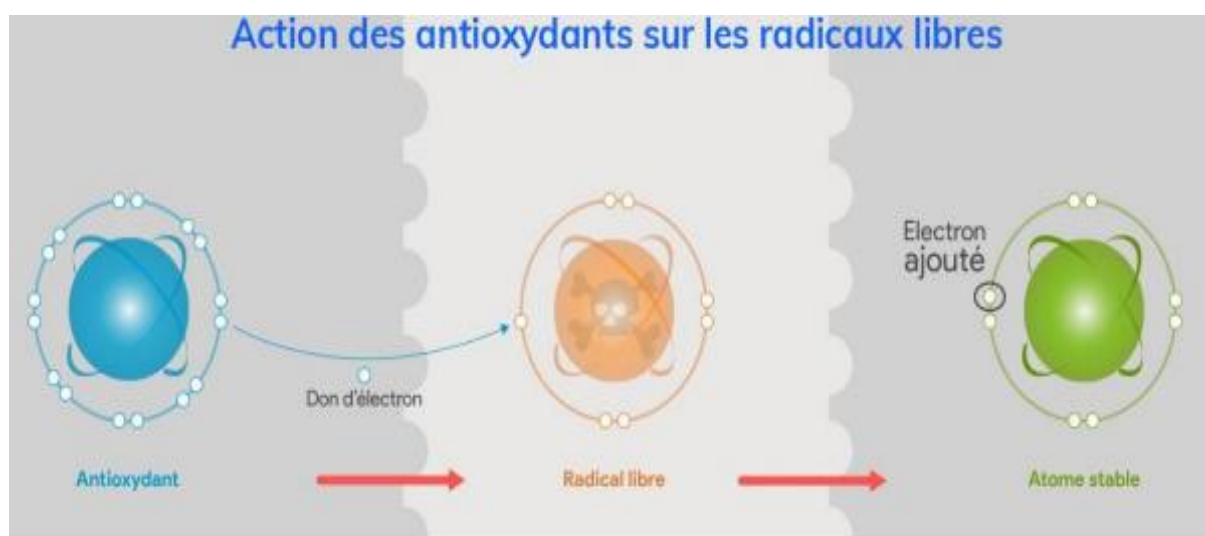


Figure 6: Action des antioxydants sur les radicaux libres (Souley Amadou 2004 ; Yoo et al., 2008)

4.2. Les antioxydants à activité enzymatiques

CHAPITRE 2 : LE POUVOIR ANTIOXYDANT

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 :

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

La catalase (CAT) et la glutathion peroxydase Gpx sont toutes présentes dans le cytoplasme, les mitochondries extracellulaires et les mitochondries (Baba et McGrath, 2008)

Tableau 3: Différents types des antioxydants (Haleng et al.,2007)

Les antioxydants endogènes (Enzymatiques)	Les antioxydants exogènes (Non enzymatiques)
La catalase (CAT)	Vitamine C
Superoxydedismutase (SOD)	Vitamine E
la glutathion peroxydase (GPx)	Caroténoïdes
La glutathion réductase (GRx)	Composée phénoliques

5. Alimentation et stress oxydatif

Au niveau cellulaire, la génération d'espèces réactives de l'oxygène peut se produire en réponse à de nombreux stimuli. Par exemple : Manger des macronutriments seuls conduit à la production d'une surcharge métabolique. De nos jours, lorsque la valeur calorique dépasse la dépense énergétique, cette augmentation de calorique et de substrat conduit à l'activation du cycle de Krebs, entraînant la production d'ERO. Ainsi, une consommation excessive de nutriments entraîne la production de ERO (Codoner-Franch et al., 2011). Des études ont montré que chaque 75 grammes de glucose entraîne la production D'un excès d'oxyde dans les globules blancs, après quoi il est libéré dans le milieu extra cellulaire. Après ingestion de graisses saturées, les réponses sont similaires (Mohanty et al., 2000). Par conséquent, manger un repas riche en graisses et en glucides au potentiel de provoquer une oxydation, avec la production de ERO dans le corps du patient, conduisant à l'émergence de maladies inflammatoires plus graves et à long terme, en plus de l'aménorrhée en par rapport aux personnes de poids normal (Patel et al., 2007).

DEUXIEME PARTIE ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 3
MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES

1. Objectif

Le travail expérimental que nous avons réalisé a été effectué au sein du laboratoire de Biochimie et de Microbiologie de la faculté des Sciences de la nature et de vie de l'université Abou-Bekr Belkaid Tlemcen. L'objectif de cette étude est de tester l'activité antioxydante des fruits d'*Arbutus unedo L.* récoltés dans la région de Tlemcen. Elle comporte :

Partie 1 : préparation des extraits, brut et purifié

Partie 2 : évaluation du pouvoir antioxydant des extraits obtenus par la méthode de FRP (Ferric reducing power) et la méthode DPPH (2-2 DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl)

2. Matériel Végétal

Le fruit de l'*Arbutus unedo L.* a été récolté le mois de décembre 2022, dans la région de Nedroma Wilaya de Tlemcen.



Figure 7: Fruit de l'arbousier (recueilli)

3. Extraction

L'extraction se fait par deux méthodes dont la première permet d'obtenir les mucilages bruts et la deuxième pour les mucilages purifiés.

3.1.Extraction du mucilage brut

L'extraction se fait par la méthode décrite par Shan et al. (2008) avec modification, où il faut,

CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES

- Dans un premier temps, découper les fruits en petits morceaux
- Mélanger 30g du matériel végétal avec 300ml d'eau distillée dans un ballon rodé, surmonté d'un réfrigérant.
- Laisser le mélange bouillir pendant 1 heure.
- Laisser le mélange se refroidir pendant 2 heures.
- Filtrer le mélange sur une mousseline et récupérer l'filtrat.
- Ajouter 300ml d'éthanol froid à 300ml au filtrat. L'éthanol permet de précipiter les mucilages. Ce mélange est mis au froid (4°C) pendant 24 heures.
- Centrifuger le mélange à 4000tours/min pendant 10min afin de récupérer le culot.
- Eliminer le surnagent et laver le culot avec l'éthanol
- Centrifuger le mélange encore une fois à 4000tours/min pendant 10min.
- Sécher le culot à 40°C pendant 24 heures.
- Le résidu obtenu est l'extrait du mucilage brut.

3.2.Extraction du mucilage purifié

Le protocole expérimental de l'extraction des mucilages purifiés ressemble à celui des mucilages bruts mais avec l'ajout d'une première étape. Celle-ci consiste à la macération préalable du fruit d'arbousier dans l'acétone. L'extraction se fait, donc, en faisant ;

- Mélanger 10g du matériel végétal découpés en très petits morceaux avec 100ml d'acétone.
- Laisser le mélange macérer pendant 24 heures
- Filtrer le mélange sur papier filtre et récupérer l'infiltrat. Cette opération est répétée trois fois jusqu'à la décoloration du fruit.
- L'infiltrat ainsi obtenu est mélangé à 100 ml d'eau distillée et porté à ébullition pendant 1h.
- Laisser le mélange se refroidir pendant 2 heures.
- Filtrer le mélange sur une mousseline et récupérer le filtrat.
- Ajouter l'éthanol au filtrat à la ration V/V. Ce mélange est mis au froid (4°C) pendant 24 heures.
- Centrifuger le mélange à 4000tours/min pendant 10min afin de récupérer le culot.
- Eliminer le surnagent et laver le culot avec l'éthanol
- Centrifuger le mélange encore une fois à 4000tours/min pendant 10min.
- Sécher le culot à 40°C pendant 24 heures.

CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES

- Le résidu obtenu est l'extrait du mucilage purifié.

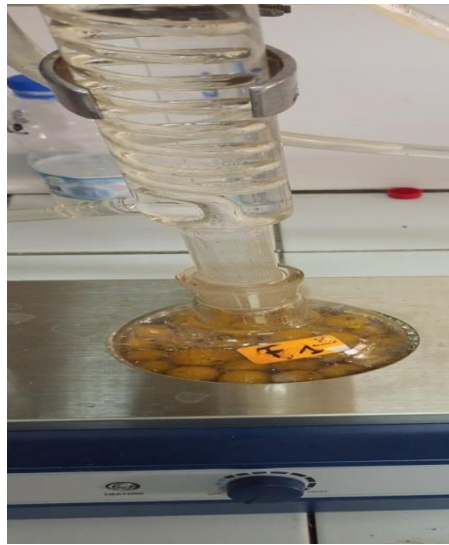


Figure 8: Dispositif d'extraction

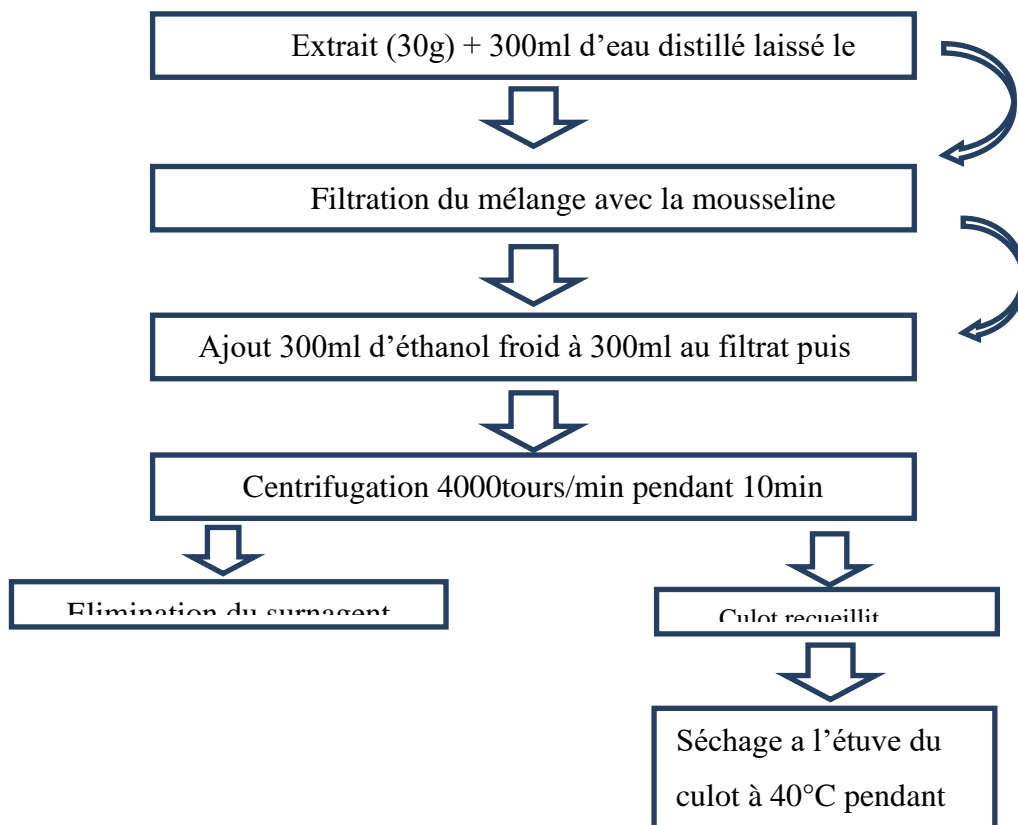


Figure 9: Protocol d'extraction des mucilages brut à partir du fruit (*Arbutus unedo* L.)

CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES

4. Evaluation de l'activité antioxydante

4.1. Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de FRP

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de FRAP (Ferric reducing power).

a) Principe :

La méthode de réduction de fer FRP est une méthode simple. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). (Oyaizu, 1986).

b) Solutions à préparer :

- Solution tampon de phosphate 0,2M ; pH= 6,6
- Solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%
- Solution de l'acide trichloracétique TCA à 10%
- Solution aqueuse de chlorure ferrique FeCl_3 à 0,1%



Figure 10: Les solutions préparées

c) Mode opératoire :

CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES

0,2ml de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 0,5 ml de la solution tampon phosphate (0,2M, pH=6,6) et 0,5ml de ferricyanure de potassium à 1%, ensuite incubé dans l'étuve à 50°C pendant 20min. Après l'incubation 0,5ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% est ajouté. Une centrifugation à 4000 tr/mn pendant 10 minutes pourrait être nécessaire ;

- S'il y a apparition des troubles sa nécessite une éventuelle centrifugation.
- Si n'y a pas apparition des troubles on prend directement à partir du mélange.

0,5 ml du surnageant est mélangé à 0,5 ml d'eau distillée et 0,1 ml de FeCl₃ à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS avec un blanc préparé semblablement en remplaçant l'extrait par l'eau distillée.

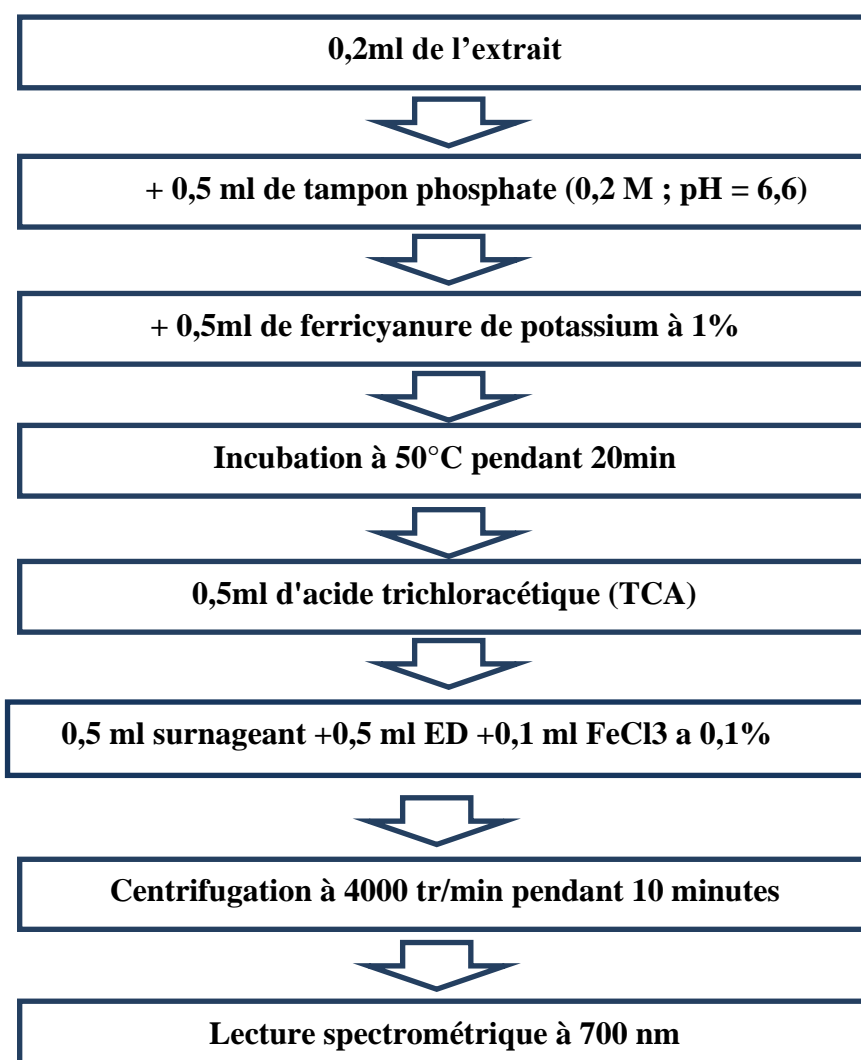


Figure 11: Protocole d'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de l'*Arbutus unedo* L.

CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES

4.2. Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH

C'est une méthode permettant d'évaluer le pouvoir antioxydant. Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique.

a) Principe :

DPPH est un test facile et très reproductible pour tester la capacité antioxydante sur des antioxydants uniques dans des solutions aqueuses, des aliments, des boissons, des extraits de plantes. Le test DPPH mesure l'activité antioxydante des composés capables de transférer des atomes d'hydrogène.

b) Mode opératoire

On prend 6mg de la poudre de DPPH auxquelles on ajoute 50ml de méthanol puis on lance l'agitation pendant 1 heure. On mélange 20mg de l'extrait et 10ml d'eau distillée brièvement, 1 ml de la solution de DPPH a été mélangé avec 1ml de différentes dilutions des extraits de plante. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un tube blanc contenant le méthanol.

Un tube contrôle négatif est préparé en mélangeant 1ml de solution de DPPH et ml de méthanol.

La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le pourcentage d'inhibition (% IP) est calculé suivant la formule suivante (**Epifano et al., 2007**) :

$$\% \text{ IP} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{A contrôle}] \times 100$$

Dont :

- **Abs contrôle** : Absorbance du contrôle (ne contenant aucun antioxydant) après 30 min.
- **Abs échantillon** : Absorbance des échantillons mesurés après 30min.

Calcul des concentrations efficaces IC50 :

La valeur IC50 ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50) pour Efficient concentration 50 est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de

CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES

50% de l'activité du DPPH (couleur), ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigée pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constitué de méthanol et de DPPH. Les valeurs IC₅₀ sont calculées graphiquement par la régression linéaire où l'abscisse est représenté par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pourcentage d'inhibition (PI%) (**Mensor et al., 2001**). Plus IC₅₀ est petites, plus l'antioxydant a une activité plus importante. (**Sanchez et al., 1998**).

CHAPITRE 4

RESULTAT ET DISCUSSION

1. Résultats

1.1. Extraction

La figure ci-dessous montre l'aspect de l'extrait obtenu. L'extrait des mucilages brut est de couleur brune et d'un aspect solide ayant la forme d'une membrane.

Aspect de l'extrait brut après séchage dans l'étuve à 50°.



Figure 12: Extrait brut

L'extrait des mucilages purifiés présente l'aspect d'un gel de couleur blanche avec un rendement $1,45 \pm 1,10\%$.

1.1.1 Rendement de Mucilage Brut et du mucilage purifié

le tableau 4 résume les rendements des extraits de mucilages obtenus. Nous remarquons que le mucilage purifié présente un rendement plus important que celui du mucilage brut.

Tableau 4: Rendement des extraits de mucilages

EXTRAIT	Mucilage brut	Mucilage purifié
Rendement %	$1,45 \pm 1,10$	$3,60 \pm 0,45$

1.2. Evaluation de pouvoir antioxydant par la méthode de FRP

1.2.1. Effet de l'extrait brut

L'effet de l'extrait des mucilages bruts est montré sur la figure 13 On remarque que les absorbances mesurées à partir de l'extrait évoluent de façon linéaire en fonction des concentrations. Il existe dans ce cas une proportionnalité entre les absorbances et les concentrations.

CHAPITRE 4 : RESULTAT ET DISCUSSION

A la concentration de 0,46mg/ml, les mucilages bruts sont capables de réduire le fer en donnant une absorbance égale à 0,336.

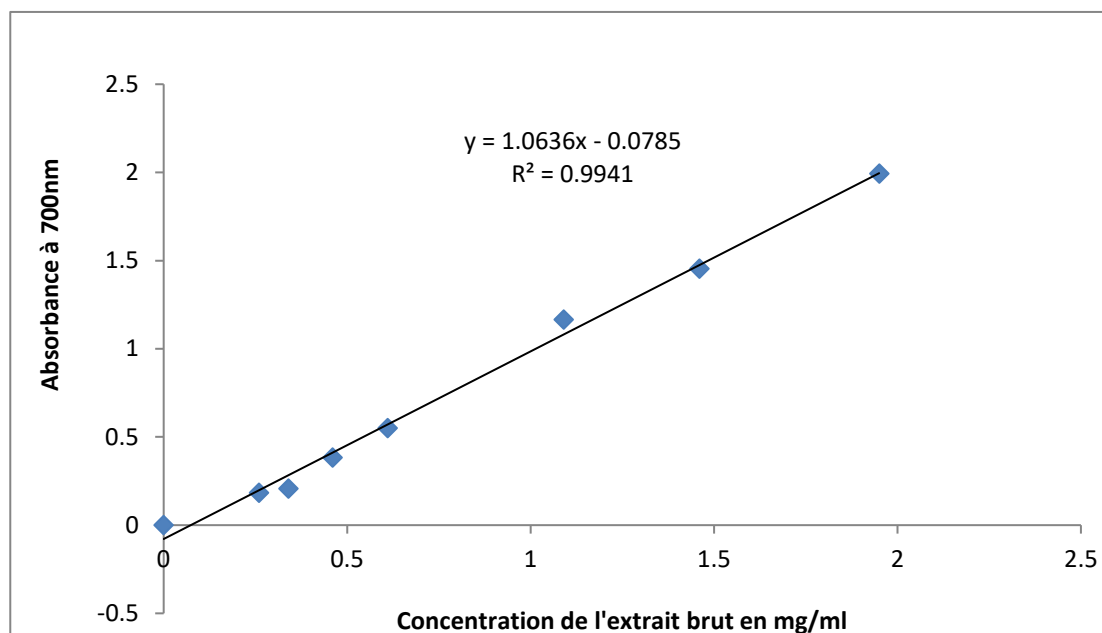


Figure 13: Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer des mucilages brut de *l'Arbutus unedo L.*

1.2.2. Effet de l'extrait purifié

A partir de la courbe 14, nous remarquons que les absorbances induites par l'extrait purifié évoluent de façon linéaire en fonction des concentrations. Cette allure est similaire à celle obtenue pour l'extrait brute. Il existe dans ce cas une proportionnalité entre les absorbances et les concentrations. A la concentration de 0,46mg/ml, les mucilages purifiés sont capables de réduire le fer en donnant une absorbance égale à 0,148.

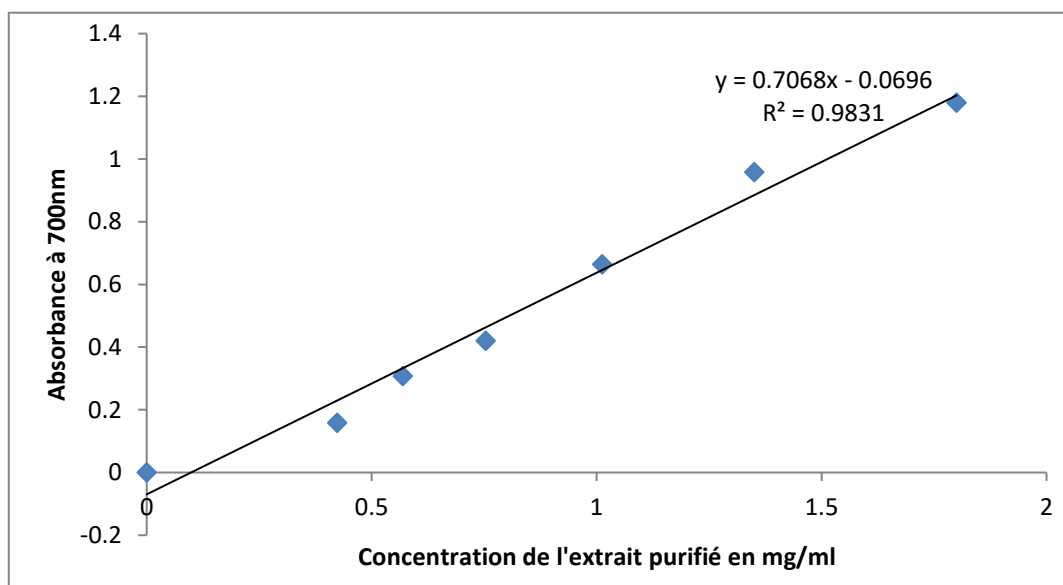


Figure 14: Représentation graphique du pouvoir réducteur d'extrait purifié de *l'Arbutus unedo L.*

CHAPITRE 4 : RESULTAT ET DISCUSSION

1.2.3. Effet de l'acide ascorbique

Selon la figure 15 on remarque que l'absorbance mesurées en présence de l'acide ascorbique évolue de façon linéaire en fonction des concentrations cette allure est similaire à celle obtenus pour l'extrait purifié/éthanol et l'extrait brut/acétone. Il existe dans ce cas une proportionnalité entre les absorbances et les concentrations

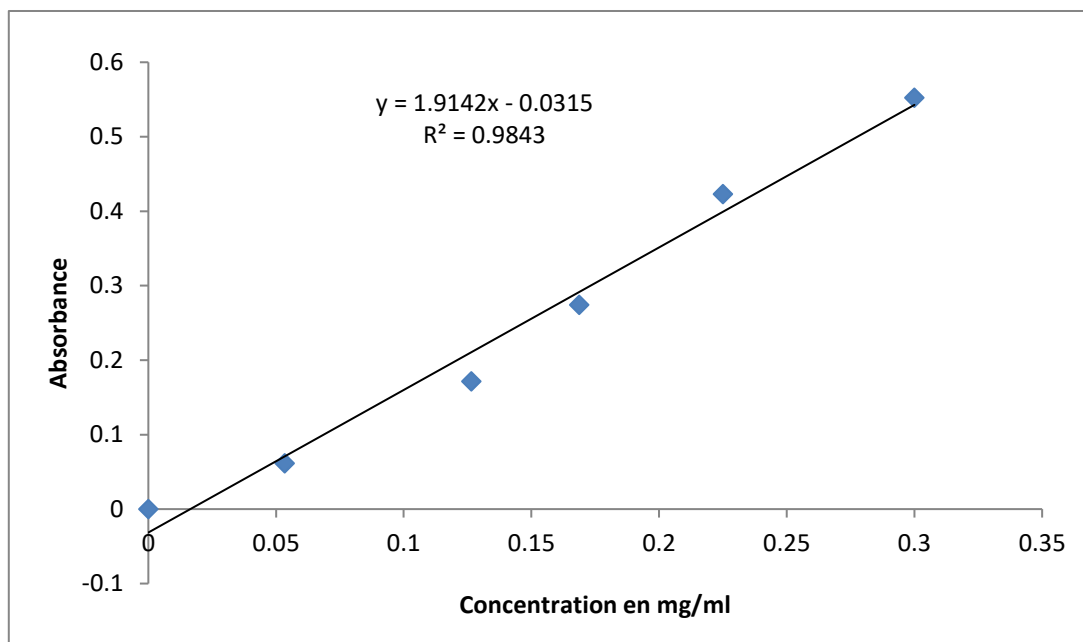


Figure 15: Représentation graphique du pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.

D'après les figures précédentes, on remarque que le pouvoir antioxydant des deux extraits et du standard, (acide ascorbique) augmente avec l'augmentation de la concentration. Les deux extraits étudiés ont la capacité et un fort pouvoir antioxydant, et l'acide ascorbique employé dans cette méthode est comme un contrôle positif. Les résultats obtenus sont confirmés par les valeurs d'EC50

1.2.4 Calcul de la concentration efficace 50 (EC50)

La concentration efficace 50 (EC50) ou concentration requise pour obtenir une absorbance de 0,5 est un paramètre généralement utilisé dans la méthode de FRP pour exprimer la capacité antioxydante et de comparer ce pouvoir pour différents composés et extraits (Zhen et al., 2013). Nous avons calculé les EC50 pour les trois extraits à partir de l'équation de chaque droite sachant que l'absorbance qui correspond à EC50 égale à 0,5.

Les résultats sont mentionnés sur le tableau suivant :

CHAPITRE 4 : RESULTAT ET DISCUSSION

Tableau 5 : Les différentes valeurs de l'EC50.

EXTRAIT	Brut	Purifié	Acide ascorbique
EC50 en mg/ml	0,909	0,596	0,2776

Nous pouvons remarquer que les mucilages bruts ont montré un pouvoir réducteur très important avec une EC50 égale à 0,909mg/ml. Cette valeur est inférieure à celle de l'acide ascorbique, témoin de la réaction. L'extrait des mucilages purifiés est aussi efficace avec une EC50 de l'ordre de 0,596mg/ml, ce qui est encore important comme pouvoir réducteur comparer toujours avec l'acide ascorbique.

1.3. Evaluation du pouvoir antioxydant du fruit de l'arbousier par la méthode de DPPH.

1.3.1. Effet de l'extrait des mucilages bruts

Selon la courbe 16 nous remarquons que les pourcentages d'inhibition du DPPH par le mucilage brut de l'extrait évoluent de façon linéaire, en fonction des concentrations. Il existe dans ce cas une proportionnalité entre les pourcentages et les concentrations. Par exemple le 21% est causé par une concentration de 1mg/ml.

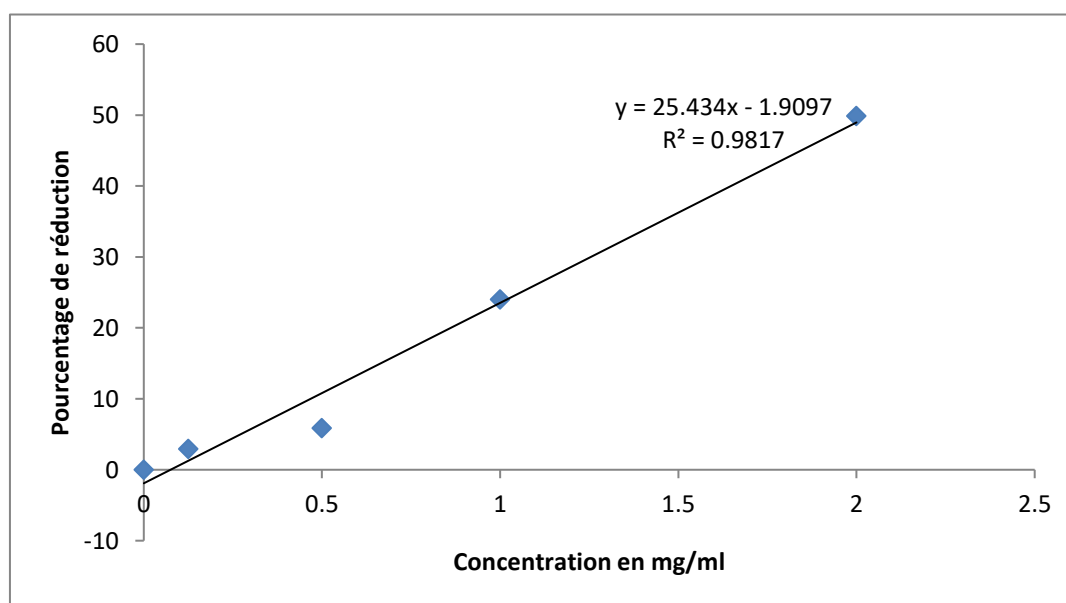


Figure 16: Représentation graphique du pouvoir anti radicalaire du mucilage brut de l'*Arbutus unedo* L.

CHAPITRE 4 : RESULTAT ET DISCUSSION

1.3.2. Effet de l'extrait du mucilage purifié

La figure 17 montre que le pourcentage d'inhibition provoqué par le mucilage brut évolue de façon linéaire en fonction de la concentration. 40% est le pourcentage d'inhibition de DPPH correspondant à la concentration de 0,04mg/ml des mucilages purifiés.

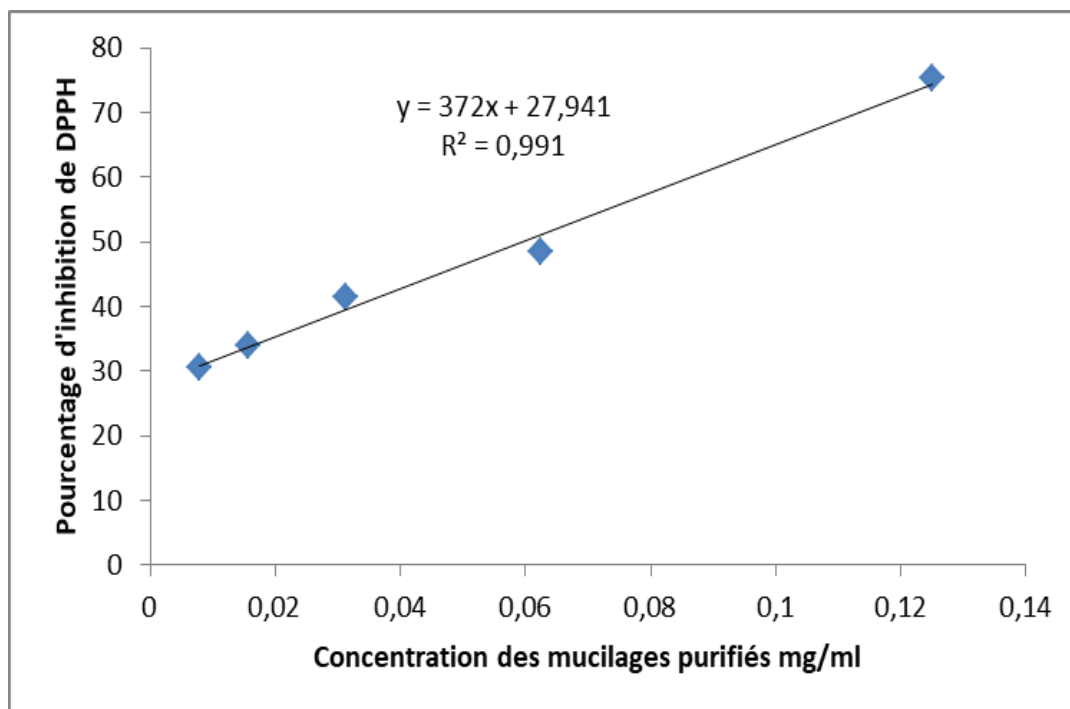


Figure 17: Représentation graphique du pouvoir antioxydant du mucilage purifié de *l'Arbutus unedo* L.

1.3.3. Effet de l'acide ascorbique

Le contrôle positif est représenté par l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits.

Selon la figure 18 on remarque les absorbances mesurées de l'acide ascorbique évoluent de façon linéaire en fonction de la concentration, avec 20% pour une concentration de 0,004mg/ml. Cette allure est similaire à celle obtenue pour le mucilage brut et purifié. Il existe dans ce cas une proportionnalité entre les absorbances et les concentrations. Les différentes valeurs de l'IC50 confirment les résultats obtenus.

CHAPITRE 4 : RESULTAT ET DISCUSSION

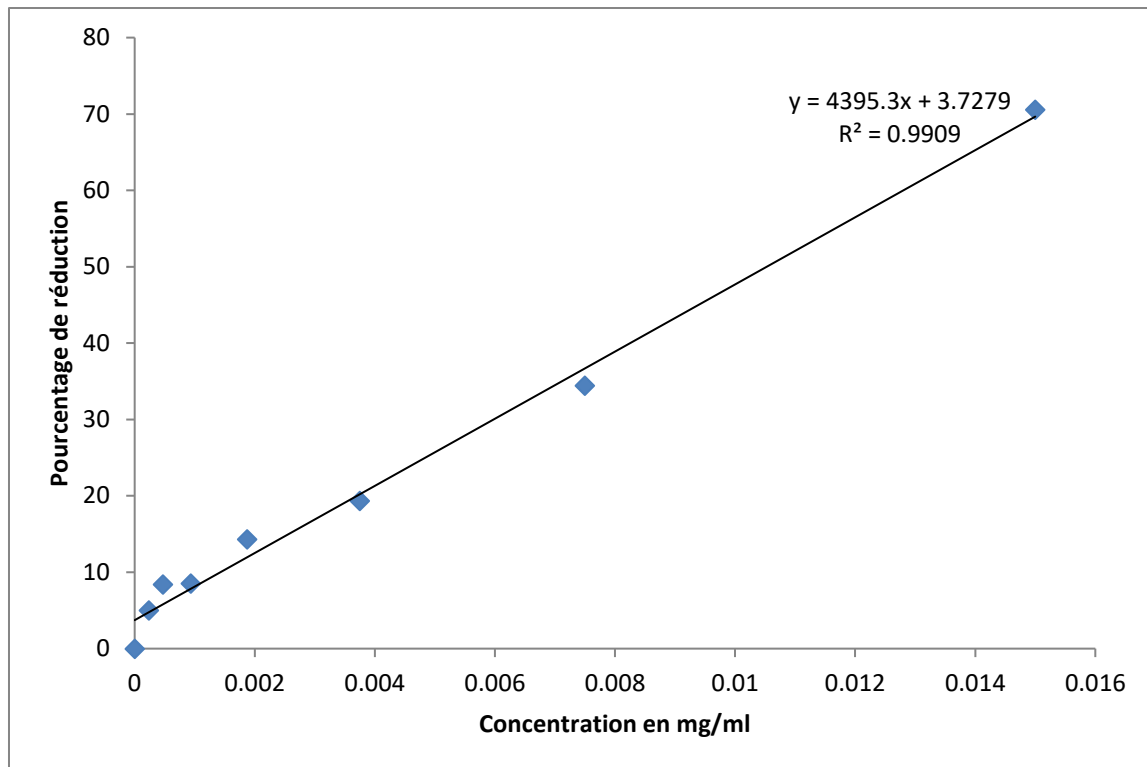


Figure 18: Représentation graphique du pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique

1.3.4 Calcul de la concentration d'inhibition IC₅₀ :

La concentration inhibitrice IC₅₀ est une mesure de l'efficacité d'un composé donné pour inhiber une fonction biologique ou biochimique spécifique. Ce paramètre est fréquemment utilisé dans la méthode de DPPH.

Nous avons calculé les IC₅₀ pour les deux extraits à partir de l'équation de chaque droite sachant que le pourcentage qui correspond à IC₅₀ égale à 50%. Les résultats sont mentionnés sur le tableau 6.

Tableau 6: Les différentes valeurs d'IC₅₀

Extrait	Mucilage brut	Mucilage purifié	Acide ascorbique
IC ₅₀ en mg/ml	2,041	0,059	0,0009

CHAPITRE 4 : RESULTAT ET DISCUSSION

2. Discussion

Depuis la nuit des temps, les plantes médicinales sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules. Cependant, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale.

L'objectif de notre étude est porté sur l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de fruits de l'arbousier par la méthode de FRP et la méthode DPPH. Afin d'évaluer les effets biologique d'*Arbutus unedo* L.

D'après les résultats, les rendements du mucilage brut qui est de $1,45 \pm 1,10\%$ et pour le mucilage purifié est de $3,60 \pm 0,45\%$. Ce qui n'est pas cohérence avec les études de **Mohammedi (2020)** et qui a montré que le fruit d'*Arbutus unedo* L. présente un rendement important de l'ordre de 11,4% pour l'extrait hydro éthanolique. Le rendement n'est qu'une quantité relative, il semble lié aux caractéristiques génétiques de la plante, à l'origine géographique, aux conditions et durée de conservation, à la date de récolte, à la variété et surtout à la maturité, ce qui est confirmé par les travaux (**AbiAzar, 2007**).

Concernant le test du FRP, les résultats obtenus montrent que le pouvoir antioxydant augmente avec l'augmentation de la concentration des trois extraits d'*Arbutus unedo* L. Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre le fer ferrique Fe^{3+} et les composés présents dans l'extrait. Le fer ferrique Fe^{3+} présent dans le complexe de ferricyanure de potassium se réduit en fer ferreux Fe^{2+} , par ces composés (**Habibou et al., 2019**). En comparant les différents extraits testés des fruits d'*Arbutus unedo* L. par rapport à l'acide ascorbique, nous remarquons que l'activité antioxydante de tous nos extraits est inférieure à la capacité de la substance de référence.

L'étude de **Belkadi (2018)**, confirme nos résultats et montre que la fraction organique est la fraction qui présente la meilleure réduction par rapport aux autres extraits. D'après **Benahmed (2017)**, les résultats de la méthode de FRP ont montré que l'extrait brut et purifié des racines d'*Arbutus unedo* L. présente un pouvoir réducteur très considérable.

Selon **Moualek et al. (2016)** leurs études à démontrer une activité du pouvoir antioxydant par la méthode FRP des feuilles de l'arbousier. Les résultats ont montré que l'extrait aqueux présente un pouvoir très élevé. L'étude de **Belkhatir (2017)** sur des racines de l'arbousier par

CHAPITRE 4 : RESULTAT ET DISCUSSION

la méthode de la réduction du fer FRP a montré que l'extrait hydro cétonique présente une activité importante.

On remarque également que pour méthode de DPPH les valeurs de l'IC50 des extrait mucilage brut (2,041mg/ml), mucilage purifié (0,059mg/ml) et de l'acide ascorbique (0,0009mg/ml) confirme que le fruit de l'arbousier (*Arbutus unedo L.*) a un pouvoir antioxydant très significatif. L'étude de **Belkhatir (2017)** sur des racines de l'arbousier par la méthode de la réduction de DPPH a montré que l'extrait hydroacétonique présente une activité importante, suivie de la fraction d'acétate d'éthyle, alors que la fraction aqueuse présente un pouvoir réducteur faible par rapport à ces deux extraits. Cette activité est meilleure que celle de l'acide ascorbique.

Finalement, nous constatons que les fruits de l'*Arbutus unedo L.* ont une activité antioxydante remarquable et importante, qui peut être due à la présence de différentes molécules dans les extraits testés. Cette plante peut être considérée comme un futur candidat prometteur en tant que complément alimentaire, il est donc essentiel d'établir les bases scientifiques de leurs actions thérapeutiques, qui peuvent servir de source pour le développement de médicaments efficaces. Ce travail est encore préliminaire et mérite d'être reproduit par d'autres techniques et d'autre méthodes plus approfondies.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Ce travail a été mené dans le cadre d'évaluer le pouvoir antioxydant par la méthode de réduction de fer FRP et DPPH des extraits de mucilages bruts et purifiés préparés à partir des fruits de l'*Arbutus unedo* L.

L'extraction a permis d'obtenir un rendement pour le mucilage brut qui est de $1,45 \pm 1,10\%$ et pour le mucilage purifié qui est de $3,60 \pm 0,45\%$ qui seront utilisés pour évaluer leur pouvoir antioxydant.

En ce sens les valeurs des EC50 enregistrées sont de l'ordre 0,909 ; 0,596 et 0,2776 mg/ml, pour les extraits bruts, purifié et acide ascorbique respectivement. Cela montre que l'extrait purifié est plus efficace que les autres extraits. De même, nous avons obtenus des valeurs d'IC50 contre le DPPH de l'ordre de 2,041 ; 0,059 et 0,0009mg/ml pour les extraits bruts, purifié et acide ascorbique respectivement.

En termes de perspectives, nous estimons que cette étude nécessite une poursuite par de nouvelles approches à savoir :

- La réalisation d'autres tests d'évaluation du pouvoir antioxydant tel que le test de blanchiment du β -carotène et le test de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS ;
- Réalisation d'autres tests pour évaluer l'activité antimicrobienne, antifongique, antidiabétique, et d'autres activités biologiques.
- Evaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes in vivo.
- Faire des études sur la toxicité de la plante.
- Faire des études plus approfondies sur le pouvoir antioxydant des différentes parties de l'arbousier (*Arbutus unedo* L.) pour dégager d'autre problématique.
- Identifier les structures des molécules actives contenues dans les mucilages de l'arbousier.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- Ait-Youssef, M. (2006).** Les plantes médicinales en Kabylie. Edition Ibis presse, Paris, 349 p.
- AIT-YOUSSEF.M,** Les plantes médicinales en Kabylie. Ed: Ibis press, Paris, (2006), pp349.
- Atamer, A., Bilici, A., Yenice, N., Selek, S., Ilhan, N., & Atamer, Y. (2008).** The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *Journal of International Medical Research*, 36(4), 771-776.
- Ayaz, F. A., Kucukislamoglu, M., & Reunanen, M. (1993).** Sugar, non-volatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoidea*) fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(2), 171-177.
- Akinmoladun, A. C., Ibukun, E. O., Afor, E., Akinrinlola, B. L., Onibon, T. R., Akinboboye, A. O., ... & Farombi, E. O. (2007).** Chemical constituents and antioxidant activity of *Alstoniaboonei*. *African Journal of Biotechnology*, 6(10).
- Beniston. W. S, N.T.Beniston,** Flore d'Algérie. Ed Entreprise nationale du livre, Alger, (1984), pp 99.
- Baba, L., & McGrath, J. M. (2008).** Oxygen free radicals: effects in the newborn period. *Advances in Néonatal Care*, 8(5), 256-264
- Belkadi S, (2018).** Evaluation de l'activité antioxydante des fruits de l'arbousier *Arbutus unedo* L. Université Aboubekr Belkaid.
- Benyamina, B. A. (2017).** Etude des effets de l'extrait d '*Artemisiaabsintium* L. chez les plantes.
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : phytochimie plantes médicinales (No. 581.634 B7).
- Beloued A. (2001).** Plantes médicinales d'Algérie. Office des Publications Universitaires, alger. 277p. Asesno, Assisnou, Issinsou.
- Bossard R. et Cuisance P. (1984).** Arbres et arbusres d'ornement des régions tempérées et méditerranéennes. Ed : Tec & Doc Lavoisier
- Boullard, B. (2001).** Plantes médicinales du monde : Réalités et Croyances. Estem.
- B. Boullard. (2001).** Plantes médicinales du monde : croyances et réalités. De Boeck Secundair.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Beaudeau, J. L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., & Peynet, J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, 21(3), 144-150.

Celikel G, Demirsoy L, Demirsoy H (2008). The strawberry tree *Arbutus unedo* L. (Selection in Turkey. *Sci. Hort.* 118:115-119.).

Codoñer-Franch, P., Valls-Bellés, V., Arilla-Codoñer, A., & Alonso-Iglesias, E. (2011). Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. *Translational Research*, 158(6), 369-384.

Defraigne, J. O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.

Dib, M. A. (2008). Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de quelques polyphénols présents dans *l'Arbutus unedo*. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaïd

Didi, A. (2009). Étude de l'activité antioxydante des flavonoïdes de *l'Arbutus unedo* et du *Daplinegaidium* L. de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen.

Doukani, K. et Tabak, S. (2015). Profil Physicochimique du fruit & Lendj et quot (*Arbutus unedo* L.). *Nature & Technology*, n°12, p. 53-66.

El Amri, J., Elbadaoui, K., Zair, T., Bouharb, H., Chakir, S., & Alaoui, T. I. (2014). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silene vulgaris* sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences*, 82, 7481-7492.

Eddhima, Z. (2019). Les radicaux libres : effets, mécanismes et approches thérapeutiques (Doctoral dissertation). Edition Lausanne Favre S A, 01, p239

El Haouari, M., López, J. J., Mekhfi, H., Rosado, J. A., & Salido, G. M. (2007). Antiaggregant effects of *Arbutus unedo* extracts in human platelets. *Journal of Ethno pharmacology*, 113(2), 325-331.

Favier, A. (2006, November). Oxidative stress in human diseases. In *Annales Pharmaceutiques Françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396).

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Fortalezas, S., Tavares, L., Pimpào, R., Tyagi, M., Pontes, V., Alves, P. M., Mcdougall, G., Stewart, D., Ferreira, R.B. et Santos, C.N. (2010). Antioxidant Properties and Neuroprotective Capacity of Strawberry Tree Fruit (*Arbutus unedo*). *Nutriments*, 2(2), 214-22

Haleng, J, et al, Les stressoxidant , *Rev Med Liege*, 62,(2007), 628-638.

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.

Magder, S. (2006). Reactive oxygen species : toxic molecules or spark of life ? *Critical care*, 10(1), 1-8.

Mohanty, P., Hamouda, W., Garg, R., Aljada, A., Ghanim, H., & Dandona, P. (2000). Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*, 85(8), 2970-2973.

Maleš, Ž., Plazibat, M., BILUŠIĆ VUNDAĆ, V. J. E. R. A., & Žuntar, I. (2006). Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) *Ericaceae* (. *Acta pharmaceutica*, 56) 2, 245-250.

Maleš, C., T, D.Š., T, M.B., (2013). Quantitative Determination of Flavonoids and Chlorogenic Acid in the Leaves of *Arbutus unedo* L. Using Thin Layer Chromatography. *J. Anal. Chem.* 2013, 1–5

Miguel, M. G., Faleiro, M. L., Guerreiro, A. C., & Antunes, M. D. (2014). *Arbutus unedo* L.: chemical and biological properties. *Molecules*, 19(10), 15799-15823.

Moualek, I. (2018). Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou. Thèse de Doctorat en Sciences Biologique, Option : Biochimie Appliquée et Biotechnologie. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie, 176p.

Miguel, M. G., Faleiro, M. L., Guerreiro, A. C., & Antunes, M. D. (2014). *Arbutus unedo* L.: chemical and biological properties. *Molecules*, 19(10), 15799-15823.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Males Z., Plazibat M., Vundac V.B. and Zuntar I. (2006). Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree-*Arbutus unedo* L. (Ericaceae). *Acta Pharm.* 56: 245-250.

M.G. Miguel. M.G, M.L. Faleiro, A.C. Guerreiro, M.D. Antunes, *Arbutus unedo* L.: Chemical and Biological Properties, *Molecules*, 19, (2014),15799-15823.

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.

Montagnier, L., Olivier, R., & Pasquier, C. (1997). Oxidative stress in cancer, *AIDS*.

Pavlović, D.R., Lakušić, B., Došlov-Kokoruš, Z. Kovačević, N., 2009. *Arbutus* content and antioxidant activity of some Ericaceae species. *Pharmazie* 64, 656-659.

Popovici C., Saykova I., Tylkowski B., (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH ; *Revue de génie industriel*, 4 :25-39.

Patel, C., Ghanim, H., Ravishankar, S., Sia, C. L., Viswanathan, P., Mohanty, P., & Dandona, P. (2007). Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor- κ B activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(11), 4476-4479.

Pryor, W. A. (1987). The involvement of free radicals in chemical carcinogenesis. In *Anticarcinogenesis and radiation protection* (pp. 1-9). Springer, Boston, MA. *Qualités nutritionnelles des fruits et légumes.* Combris P. et al. Les fruits racines de l'*Arbutus unedo* de la région de Tlemcen. Université Aboubekr Belkaid.

Silberfeld T. (2011). Plante mellifère. *Abeilles & Fleurs.* N° (723) : 29-30.

Somon, E. (1987). Arbres, arbustes et arbrisseaux en Algérie. *Système Nerveux Central* (Doctoral dissertation).

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.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Takrouni, M. M., Ali, I. B. E. H., Messaoued, C., & Boussaid, M. (2012). Genetic variability of Tunisian wild strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) populations interfered from isozyme markers. *Scientia horticulturae*, 146, 92-98.

Tonelli N., Gallouin F., 2013. Des fruits et des grains comestibles du monde entier. 87-91.

Torres, J. A., Valle, F., Pinto, C., García-Fuentes, A., Salazar, C., & Cano, E. (2002).

Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., & Botrel, A. (2001). Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. Editions Larousse, Paris, 15.

ANONYMES:

Anonyme 1:

<https://www.ummtto.dz/dspace/bitstream/handle/ummtto/15229/Trik%20Sabrina.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Anonyme 2:

<http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/19514/1/Rihab%20Et%20Imane.pdf>

Anonyme 3 :

<http://dspace.univtebessa.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1389/M%c3%a9moire%20maroua%20et%20aya.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Anonyme 4: <https://www.theses.fr/2000BOR2P093>