

الجمهورية الجيزائرية الديمية وراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPUAIRE



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen-

Faculté des sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Labortoire de recherche

« Antibiotiques, Antifongiques: Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de MASTER

En: Science biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par: Khelkhel Firdaws

Hammadi Talia Yasmine

Evaluation de l'activité Antioxydante des mucilages du fruit d'Arbutus unedo

Soutenu publiquement, le 24 /06 /2024, devant le jury composé de :

Présidente BENARIBA Nabila Professeur Université de Tlemcen
Encadrante MEDJDOUB Houria MCA Université de Tlemcen
Examinatrice BELKACEM Nacéra MCA Université de Tlemcen

Année Universitaire 2023/2024

ملخص

هذا العمل هو مساهمة في تقييم النشاط المضاد للأكسدة للصمغيات المستخرجة من ثمار. Arbutus unedo L من خلال التركيز على الصمغيات لتقييم قدرتها المضادة للأكسدة من خلال القدرة المثبطة لـDPPH ، والقدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT) والقدرة المختزلة للحديد .(IRP) بعد استخلاص الصمغيات الخام والمنقاة، شرعنا في توصيف هذه الجزيئات .

أظهرت النتائج وجود الأحماض الأمينية والمركبات الفينولية (العفص) في كلا النوعين من الصمغ وغياب مركبات الفلافونويد. كانت درجة الحموضة متعادلة عند حوالي 7.21 للصمغ الخام وحمضية للمستخلص المنقى، حيث بلغت درجة الحموضة 5.94.

كشفت اختبارات التوصيف أيضًا أن مستخلص الصمغ الخام كان أغنى قليلاً بالبروتين (36.10 ± 36.07 %) من الصمغ المنقى (39.86 ± 34.30 %)؛ ولوحظ نفس النمط بالنسبة للسكريات الكلية، حيث احتوى الصمغ الخام على 39.86 ± 3.00 ± 34.30 % بينما احتوى الصمغ المنقى على 40.14 ± 30.14 %.

بالنسبة لاختزال الحديد، كانت قيم التركيز المؤثر على الكمية 50 المسجلة 0.547 و 0.56 ملغم/مل للمستخلص الخام والمستخلص المنقى. و هذا يشير إلى أن المستخلص الخام أكثر فعالية. تم الحصول على نفس النتيجة بالنسبة لاختزال مجم/مل (أكثر فعالية من المستخلص المنقى 0.799 = 0.103) مجم/مل.

كشفت دراسة للقدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلصات عن قيم 100.54 مجم/غرام للمستخلص الخام و 98.92 مجم/غرام للمستخلص المنقى.

وفي الختام، فإن الصمغ الخام من فاكهة .Arbutus unedo L له خصائص مضادة للأكسدة عالية جداً.

الكلمات المفتاحية: Arbutus unedo L، قوة مضادات الأكسدة، DPPH ،CAT ،FRAP، الصمغ الخام، الصمغ الصفري

RESUME

Ce travail est une contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante des mucilages du fruit d'*Arbutus unedo* L. en s'intéressant aux mucilages pour évaluer leur potentiel antioxydant par le pouvoir inhibiteur du DPPH, la capacité antioxydante totale (CAT) et le pouvoir réducteur du fer (FRP). Après l'extraction des mucilages brut et purifié, nous avons procédé à la caractérisation de ces molécules.

Les résultats montrent la présence d'acides aminés et de composés phénoliques (tanins) dans les deux types de mucilages et l'absence de flavonoïdes. Le pH est neutre de l'ordre de 7,21 pour le mucilage brut et acide pour l'extrait purifié avec un pH acide de 5,94.

De plus, les tests de caractérisation révèlent que, l'extrait de mucilage brut est légèrement riche en protéines (36,10±16,07 %) que le mucilage purifié (34,30±6,79%) ; la même allure est remarquée pour les sucres totaux où le mucilage contient 39,86±1,004 % tandis que le mucilage purifié deux contient 40, 14±3,72 %.

Pour la réduction du fer, les valeurs d' EC_{50} enregistrées sont 0,547 et 3,56 mg/ml pour l'extrait brut et l'extrait purifié. Cela indique que l'extrait brut est plus efficace. Le même résultat est obtenu pour la réduction du DPPH où l'extrait brut (IC_{50} = 0,103 mg/ml) et plus efficace que l'extrait purifié (IC_{50} = 0,799 mg/ml).

Ainsi l'étude de la capacité antioxydante totale des extraits a révélé les valeurs de 100,54 mg EAA/g pour l'extrait brut et 98,92 mg EAA/g pour l'extrait purifié.

En conclusion, le mucilage brut du fruit d'*Arbutus unedo* L. possède des propriétés antioxydantes très importantes.

Mots clés : *Arbutus unedo* L., pouvoir antioxydant, FRAP, CAT, DPPH, mucilage brut, mucilage purifié .

Abstract

This work is a contribution to the evaluation of the antioxidant activity of mucilages from the fruit of *Arbutus unedo L*. by focusing on mucilages to assess their antioxidant potential through DPPH inhibitory power, total antioxidant capacity (CAT) and iron reducing power (IRP). After extracting crude and purified mucilages, we proceeded to characterize these molecules.

The results show the presence of amino acids and phenolic compounds (tannins) in both types of mucilage, and the absence of flavonoids. The pH is neutral at around 7.21 for the raw mucilage, and acidic for the purified extract, with an acid pH of 5.94.

Furthermore, characterization tests reveal that the crude mucilage extract is slightly richer in protein $(36.10\pm16.07\%)$ than the purified mucilage $(34.30\pm6.79\%)$; the same pattern is noted for total sugars, where the crude mucilage contains $39.86\pm1.004\%$, while the purified mucilage contains $40.14\pm3.72\%$.

For iron reduction, the EC50 values recorded are 0.547 and 3.56 mg/ml for both the crude and purified extracts. This indicates that the crude extract is more effective. The same result was obtained for DPPH reduction, where the crude extract (IC50= 0.103 mg/ml) was more effective than the purified extract (IC50= 0.799 mg/ml).

A study of the total antioxidant capacity of the extracts revealed values of 100.54 mg EAA/g for the crude extract and 98.92 mg EAA/g for the purified extract.

In conclusion, the raw mucilage of *Arbutus unedo L*. fruit possesses highly significant antioxidant properties.

Key words: *Arbutus unedo L.*, antioxidant power, FRAP, CAT, DPPH, raw mucilage, purified mucilage.

Remerciements

Tout d'abord nous remercions avant tous, le grand Dieu notre créateur de nous avoir donné la force, la volonté et le courage pour mener à bien ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre, Mme MEDJDOUB Houria, Maitre de conférences A à l'Université Abou BekrBelkaid Tlemcen, d'avoir accepté de nous encadrer, de nous soutenir et de nous donner de précieux conseils dans la réalisation de cette recherche. Nous tenons à vous exprimer notre profonde gratitude pour nous avoir donné ses précieux conseils, son aide, son soutien moral, ses encouragements, sa gentillesse et son humanité.

A notre honorable jurées Mme la présidente Pr. BENARIBA Nabila et Mme l'examinatrice Dr BELKACEM

Nacéra, Maitre de conférences A à l'Université Abou BekrBelkaid Tlemcen d'avoir accepté de lire et

d'examiné ce

modeste travail et d'apporter les critiques nécessaires à la mise en forme de ce projet. Nous tenons à vous exprimer notre profonde gratitude.

Nous nous somme très reconnaissantes à notre chère Pr. BENARIBA Nabila pour ses efforts afin de mener à bien la qualité et l'avenir de la formation en Biochimie Appliquée.

Nous remercions également Dr HADJOU BELAID Zakia, Maitre de conférences A à l'Université Abou BekrBelkaid Tlemcen, Faculté des Sciences, Laboratoire de Recherche sur les Macromolécules, Département de Physique, Faculté des Sciences, Université Aboubakr Belkaïd de Tlemcen, pour son aide en collaborant dans l'analyse des extraits par FTIR.

Merci à tous et à toutes

<u>Dédicace</u>

Rien n'est aussi beau à offrir que le fruit d'un labeur qu'on dédié du fond du cœur à ceux qu'on aime et qu'on remercie en exprimant la gratitude et la reconnaissance durant toute notre existence.

Je dédie ce travail :

Aux deux personnes que j'aime le plus dans le monde et dont l'existence ne cesse combler ma vie de bonheur
À mon très cher père, mon premier encadrant depuis ma naissance, tu as toujours été mon support dans la vie et
tu m'as toujours encouragé, je souhaite du tout cœur que Dieu te guérit inch'Allah.

À ma très chère maman, quoi que je fasse quoi que je dise je ne saurais point te remercier comme il se doit, Ma source de tendresse et d'amour qui m'a tout donné et pour les sacrifices qu'elle a consentis mon instruction et son soutien permanent au long de mes années d'étude, que dieu la garde et l'entoure de sa bénédiction.

Une dédicace spéciale à mes chers frères YACINE & YACER qui m'ont encouragé sans cesse et cru en moi, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

À mon cher mari, qu'était mon bon assistant au long de mon travail, que Dieu le préserve et paie ses pas.

À ma chère fille DOUNIA tu es tout ce que j'ai de plus cher au monde que Dieu te protège pour moi tu es mon support.

À mon amie SAFAA je tiens à t'exprimer ma profonde reconnaissance pour votre amitié précieuse et votre soutien inconditionnel tout au long de mon parcours.

À Mon binôme Firdaws avec qui j'ai pu réaliser ce travail.

À mes professeurs tout au long du cycle de mes études qui m'ont dirigé vers la porte de réussite.

Hammadi Yasmine

DEDICACE

Je dédie ce travail

A mes chers parents, ma mère Zakia et mon père Boumediene.

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement tout

au long de ma vie.

A mon frère AMINE.

A mes sœur Khawla et sa fille INSAF, RADINA SOUNDOUS.

À toute ma famille de près ou de loin.

A mon encadreur BELAID MEDJOUB Houria qui m'a fait l'honneur de réaliser ce

travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et

ses conseils judicieux.

A mon binôme Yasmine qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce

travail et à son famille.

A La promotion de master 2 biochimie appliquée.

À mes amies.

À mes collègues.

À tous ceux qui me connaissent

Je dédie ce modeste travail

Khelkhel Firdaws

Liste des abréviations

AA: acide ascorbique

CAT : capacité antioxydante totale

DPPH: Radical 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl.

EC50: La concentration qui correspond à une absorbance de 0.5

ERO: Espèce réactif de l'oxygène.

ED: Eau Distillé

Fe3+: Ion ferrique.

FRP: Ferric Reducing Power

FeCl3: Chlorure ferrique

Fe2+: Fer ferreur

G: gramme

HCL: acide chlorhydrique

IC50: Concentration d'inhibition pour 50

K3Fe (**CN**)**6**: Ferricyanure de potassium

Mg: milligramme

Ml: millilitre

Mg AA/g :milligramme d'équivalent d'acide ascorbique par Gramme d'extrait

PH: potentiel hydronium

RL: radical libre

TCA: Acide trichloracétique

SOD: peroxyde dusmutase

Tr/mn: tour par minute

UV-VIS: Ultraviolet-Visible

Liste des figures

FIGURE 1. ARBRE DE L'ARBUTUS UNEDO L (HAOUCHINE ET AL., 2017)	5
FIGURE 2. FLEURS ET FEUILLES D'ARBUTUS UNEDO L (HADIM ET BEN AISSOU, 2018)	б
Figure 3. Fruit d'arbousier (Gheraibia et Lahcene, 2020)	7
Figure 4. Representation geographique mondiale d'Arbutus unedo L (Oliveira et al. 2009)	8
FIGURE 5. FORMULE CHIMIQUE DE L'ARBUTINE (GHEDIRA ET GOETZ., 2013).	
Figure 6. quelques exemples de polyphenols (Hadjila, 2016)	11
Figure 7. Le stress oxydatif d'une cellule	16
Figure 8.Balance de stress oxydatif	17
Figure 9.systemes de defense contre les radicaux libres	20
Figure $10.$ Regulation de la production d'especes reactives de l'oxygene par les systemes de defenses antioxydants	s 21
Figure 11. : Carte geographique de la region Ain fezza (google maps)	24
Figure 12. : les fruits d'arbousier recoltes	25
Figure 13. : Dispositif d'extraction sous- reflux	26
Figure 14. Protocol d'extraction des mucilages brut a partir du fruit (Arbutus unedo L.)	27
FIGURE 15. APPAREIL SPECTROSCOPIQUE IR (CARY 600SERIES FTIR., AGILENT TECHNOLOGIES).	32
Figure 16. les solutions qu'utiliser dans cette methode	33
Figure 17. Protocole d'evaluation du pouvoir antioxydante des extrais de l' <i>Arbutus unedo L</i>	34
Figure 18. Structure chimique du radical libre DPPH.	34
Figure 19. Piegeage du radical libre DPPH● (Congo, 2012)	35
Figure 20. Mucilage brut apres sechage	37
Figure 21 . Spectre Infrarouge de l'extrait de mucilage brut d'Arbutus unedo L	40
Figure 22. Spectre Infrarouge de l'extrait de mucilage purifie d'Arbutus unedo L	41
FIGURE 23. REPRESENTATION GRAPHIQUE DE POUVOIR REDUCTEUR DE FER DE L'EXTRAIT DE MUCILAGE BRUT DE L'ARBUTUS UNED	
Figure 24. Representation graphique de pouvoir reducteur de fer de l'extrait de mucilage purifie de l'Arbutus un	
L	43
Figure 25. Representation graphique de pouvoir reducteur de l'acide ascorbique	43
Figure 26. Effet d'extrait de mucilages brut sur la reduction du radical DPPH	45
Figure 27. Effet d'extrait de mucilages purifie sur la reduction du radical DPPH	45
FIGURE 28. FEFET D'EXTRAIT DE L'ACIDE ASCORBIQUE SUR LA REDUCTION DU RADICAL DPPH	46

Liste des tableaux

Tableau 1: La composition chimique de differentes parties de l'arbousier	g
Tableau 2:Classification des terpenes et terpenoïdes sur la base de leurs unites isoprene	12
Tableau 3. Rendement des mucilages brut et purifie	37
Tableau 4. Resultats des tests phytochimiques	39
Tableau 5. Resultats des dosages effectues sur les deux mucilages (%)	39
Tableau 6. Analyse du spectre FTIR des extraits de mucilages	41
Tableau 7. valeurs d'EC50 enregistrees pour les deux extraits et l'acide ascorbique	44
Tableau 8. valeurs d'IC50 des extraits et de l'acide ascorbique	46
TABLEAU 9. CAPACITE ANTIOXYDANTE TOTALE DE L'EXTRAIT BRUT ET PURIEIE D'ARBUTUS UNEDO L	47

Table de matières

INTRODUCTION GENERALE	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	2
CHAPITRE I : ARBUTUS UNEDO L ET METABOLITES DES PLANTES	3
2.LES PLANTES MEDICINALES	
2.LES PLANTES MEDICINALES	4
3.ARBUTUS UNEDO L	4
3.1. Definition	4
3.2. CARACTERISTIQUES DE L'ARBUTUS UNEDO	5
3.3. CLASSIFICATION, TAXONOMIQUE ET NOMENCLATURE D'ARBUTUS UNEDO	6
3.4. Description botanique	6
3.5. Répartition géographique	7
3.6. Composition chimique	8
3.7. Usage traditionnelle	9
3.8. Toxicité d'arbousier	
3.9. Métabolites de la plante	
3.9.1. Composés phénoliques	
3.9.2. Terpènes :	
3.9.3. Alcaloïdes	
3.9.4. Mucilages	
3.9.4.1. Types de mucilages	
→ Les polysaccharides dérivés du mannose : « mucilages neutres »	
→ Polysaccharides hétérogènes acides: «Mucilages acides»	
3.9.4.2. Application de mucilages	14
Chapitre II: stress oxydatif et activité antioxydante	15
1. Le stress oxydatif	16
Origine du stress oxydatif	
3. Définition de radicaux libres (RL)	
a. Les espèces réactives	
b. Rôles des radicaux libres	18
4. Activité antioxydante	18
4.1. Définition des Antioxydants	18
4.2. Classification des antioxydants	18
4.3. Mécanisme d'action des antioxydants	20
PARTIE EXPERIMENTALE	22
MATERIEL ET METHODES	23
1.objectif	24
2.Materiel vegetal	24
3.Extraction des mucilages	
3.1 Extraction du mucilage brut	25 25

3.2.	Extraction du mucilage purifié	26
4.Tests de card	actérisation	27
4.1.	Tests phytochimiques	27
\rightarrow	Test des tanins	27
\rightarrow	Test des flavonoïdes	28
\rightarrow	Test de l'amidon	28
\rightarrow	Acides aminés	28
4.2.	Le pH des mucilages	
4.3.	Dosage des protéines	
4.4.	Dosage des composés phénoliques	
4.5.	Dosage des sucres totaux	
4.6.	La spectroscopie IR	
	e l'activité antioxydante	
5.1.	Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de FRP	
5.2. 5.3.	Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de CAT (Capacité antioxydante totale)	
5.5.	Evaluation du pouvoir antioxydant par la methode de CAT (Capacite antioxydante totale)	33
RESULTA	TS ET DISCUSSIONS	37
1. EXTRAC	TION	38
1.1.	Лucilage brut	38
1.2. I	Лucilage purifié	38
2. CARACT	TERISATION DES MUCILAGES	39
<i>2.1</i> pH d	e mucilag	39
-	nise en évidence de quelques familles de molécules	
-	s sucres, composés phénoliques et protéines	
=	ectroscopique des mucilages	
	ATION DES ACTIVITES ANTIOXYDANTES	
	valuation de l'activité antioxydant par la méthode de FRP	
	ffet de l'extrait de mucilage brut	
	ffet de mucilage purifié	
	ffet d'acide ascorbique :	
	LUATION DU POUVOIR ANTIOXYDANT PAR LA METHODE DE DPPH	
	rait brut	
	rait purifié	
	de ascorbique	
	LUATION DU POUVOIR ANTIOXYDANT PAR LA METHODE DE CAT	
CONCLUS	ION GENERALE	50
REFEREN	CES BIBLIOGRAPHIQUE	52

Introduction générale

Introduction générale

Les plantes médicinales restent la principale source de biomolécules qui sont à l'origine des médicaments. Celles-ci sont considérées comme un ensemble très diversifié et essentiel de composés, qui constituent tous des principes actifs fondamentale a base du développement de nouveaux traitements (**Maurice**, 1997). Du fait, ces molécules sont d'intérêt varié et sont utilisées dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Les propriétés préventives des plantes médicinales sont principalement dues à la présence de vitamines, de caroténoïdes et de composés phénoliques aux propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes (**Guo et al., 2003**).

En effet, plusieurs études ont démontré que l'utilisation de produits à base de plantes peut réduire considérablement diverses maladies comme les accidents cardiovasculaires et certains types de cancer (**Dauchet et al., 2005**).

Au cours des dernières décennies, la recherche de nouveaux antioxydants naturels pour remplacer les antioxydants synthétiques a suscité un intérêt considérable dans la recherche scientifique.

Ces études indiquent que les plantes médicinales et aromatiques sont des sources potentielles d'antioxydants naturels, dont l'activité peut dépasser celle des antioxydants synthétiques.

De ce point de vue, nous sommes intéressés à L'Arbutus unedo L., une plante traditionnellement utilisée dans divers domaines.

Actuellement, les recherches s'intéressent de plus en plus à ses propriétés biologiques, antifongiques, antibactériennes et antioxydantes, d'où nous nous sommes intéressés par l'étude de cette dernière propriété.

Le but de cette étude est d'étudier *in vitro* l'activité antioxydante de mucilages du fruit de l'arbousier (*Arbutus unedo*). Cette plante est très répandue dans la wilaya de Tlemcen.

Notre manuscrit se présente comme suit : La première partie est une synthèse bibliographique dont le premier chapitre est consacré à l'*Arbutus unedo*.

Ensuite, le deuxième chapitre qui est sur les Mucilages et leurs applications suivi d'un troisième chapitre sur le stress oxydatif et l'activité antioxydante.

La deuxième partie, décrit le matériel et les techniques utilisées lors des travaux expérimentaux, les résultats obtenus et la discussion.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : *Arbutus*unedo L et métabolites des plantes

1. Définitions de la phytothérapie

La phytothérapie (En grec, Python= végétal et Therapein= soigner) est l'art de soigner par les plantes. La phytothérapie permet à la fois de traiter le terrain du malade et les symptômes de sa maladie (Nelly, 2013).

2. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes ou des parties de plantes qui sont utilisées à des fins médicales, thérapeutiques ou préventives pour la sante humain et voir même animal (EL amri et al.,2014).

En effet, on peut utiliser une ou plusieurs de leurs parties, racines, feuilles, fleurs. Ces composés biologiquement actifs peuvent être isolés à l'aide de divers procédés tels que la macération, la décoction et l'infusion. Depuis l'antiquité, les plantes médicinales sont utilisées comme des médicaments pour la prise en charge des maladies humaines (**Ouedraogo et al., 2021**).

Elles contiennent souvent des composés chimiques actifs tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes, des terpènes, des tanins, des glycosides et d'autres substances qui peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine.

3. Arbutus unedo L.

3.1. Définition

L'Arbutus unedo L. est une espèce très fréquente en Algérie. Il possède plusieurs noms communs comme l'arbousier, l'arbre aux fraises, le fraisier en arbre (**Boullard**, **2001**).

En général, la plus grande densité ainsi que la plus grande diversité des Ericacées se retrouve sous les climats méditerranéens (**Didi, 2009**) incluant certaines parties de l'Europe (Portugal, l'Espagne, l'Italie) le nord d'Afrique.

La plante *Arbutus unedo* atteint généralement une hauteur de 5 à 10 mètres et présente une écorce brun-rougeâtre distinctive qui s'exfolie en fines écailles. Ses feuilles sont d'un vert foncé, coriaces et ont un aspect brillant (**Figure 1**).



Figure 1. Arbre de *l'Arbutus unedo L* (Haouchine et al., 2017)

3.2. Caractéristiques de l'Arbutus unedo

Son fruit ressemble à une fraise. Le fruit commence par être vert, puis il devient progressivement jaune, orange et enfin rouge vif à maturité. Les fruits sont comestibles et ont un goût sucré, bien qu'ils soient souvent décrits comme assez fades. Ils sont parfois utilisés pour faire des confitures, des gelées, des liqueurs ou consommés frais. (Martin, 2002)

L'Arbutus unedo est également apprécié pour ses qualités ornementales, avec ses fleurs attrayantes, ses fruits colorés et son écorce intéressante. Il est souvent cultivé dans les jardins et les parcs pour son attrait esthétique. Elle la capacité de s'adapter à des conditions environnementales difficiles. Il peut tolérer des sols pauvres en nutriments, des périodes de sécheresse et des températures élevées. (Martin, 2002)

3.3. Nomenclature d'Arbutus unedo

- Nom scientifique : *Arbutus unedo* L. (Wahid et al., 2019).

- Nom Français : Arbousier (Moualek, 2018).
- Nom commun: Arbre à fraises (Moualek, 2018).
- Nom Berbère: Sasnou, assisnou (Wahid et al., 2019; Moualek, 2018).
- Nom Anglais : Strawberrytree (Özcan et Haciseferogullari, 2007).
- Nom Arabe : Lendj (Koula et Souhila, 2014).

3.4. Description botanique

La plante est un arbuste ou un petit arbre à feuilles persistantes avec une croissance étalée et une écorce gris-brun. Les petites fleurs blanches du bleuet s'épanouissent en panicules d'environ 5 cm de long. Les fleurs d'*A. unedo* (**figure2**) sont une source importante de nectar et de pollen pour les abeilles. Les feuilles sont alternes, simples, en vert foncé, avec des bords dentés et des pétioles atteignant 10 mm de long.



Figure 2. fleurs et feuilles d'Arbutus unedo L (Hadim et Ben Aissou, 2018)

Les fruits sont sphériques (**figure3**), rouge orangé à maturité, atteignent 2 cm de diamètre, sont rassemblés par des papilles coniques et mûrissent en automne (**Oliveira et al, 2011**). Il faut environ 12 mois pour que le fruit mûrisse. Les populations *d'Arbutus unedo* L peuvent être homogènes, mais le plus souvent cette espèce est associée à d'autres arbres (**Reille, 2015**).



Figure03: Fruit d'arbousier (Gheraibia et Lahcene, 2020).

3.5. Répartition géographique

L'arbousier pousse dans différentes parties du monde (**Figure 04**), mais il est le plus souvent présent dans les zones à climat non continental avec un climat méditerranéen, au nord-est de l'Afrique, à l'ouest. On le trouve dans le sud de l'Europe et à l'ouest d'Asie. (**Morales et al., 2002**). En Algérie, les arbousiers sont répandus notamment dans les forêts de chênes-lièges, comme dans les régions de Souk Arras, El Taraf, Skikda, Jijel et Tizi Ouzou (**Aksil, 2015**).

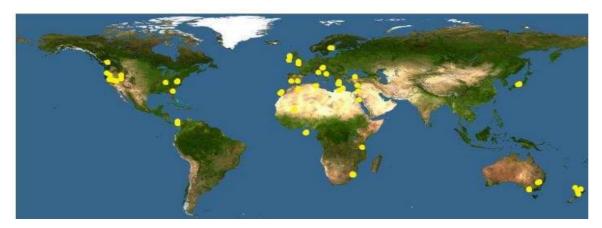


Figure 3. Représentation géographique mondiale d'Arbutus unedo L (Oliveira et al. 2009)

3.6. Composition chimique

L'arbousier commun contient 2,7 % d'arbutine (**figure5**), de la méthylarbutine et d'autres comme l'hydroquinone qui est un principe amer et des tanins. L'arbutine est un puissant antiseptique de l'appareil urinaire (**Iserin**, **2001**).

Figure 5: Formule chimique de l'arbutine (Ghedira et Goetz., 2013).

Le tableau suivant (tableau 1) présente les études ou les testes phytochimiques que faites par plusieurs auteurs Ait Youcef (2006), Doukani et Tabak (2015), Males *et al.*, (2006), Ali-Delille (2013), Migel *et al.*, (2014) présentent que la composition chimique des différentes parties d'Arbousier est très Variée.

Tableau 01:La composition chimique de différentes parties de l'arbousier

Partie de la plante	Composés phénoliques	Sucres	Autres
Fruit	Tannins	 Fructose 	 Protéines
	Flavonols	 Glucose 	• vitamine E
	Anthocyanes	 Saccharose 	• vitamine c
	Acide ellagique	 Cellulose 	 Acide α-linolénique
	dérivés d'acide	amidon	 Minéraux
	gallique		• potassium
			• calcium
			• phosphore
Feuille	 Tannins 	 Arbutoside 	• l'hydroquinone
	 Flavonoïdes 	 Unédoside 	
	 Catéchine 		
	Quercitrine		
	Arbutin		
Racine	 Anthocyanes 		Composés mutagènes
	 Flavonoïdes 		_
	 Flavonols 		
	Arbutin		
	 Acide caféique 		

3.7.Usage traditionnelle

Les extraits des différentes parties de *l'Arbutus unedo* possèdent des propriétés biologiques telles que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, anti-lithiasique, anticancéreuse, antihyperglycémiante et antiulcéreuse. Des études ethnobotaniques ont également montré que *l'Arbutus unedo* assure une activité antihypercholestérolémique, antispasmodique rénale, anti-hémorroïdale et gastroprotectrice, offrant ainsi une protection contre les maladies urologiques et dermatologiques, les troubles gastro-intestinaux, les infections vaginales et la diarrhée (**Trik, 2020**).

Ce fruit est utilisé pour traiter les maladies gastro-intestinales ainsi que les problèmes neurologiques et dermatologiques (Leont et al, 2009). Il est également utilisé comme conservateur dans le traitement des infections des voies urinaires (Alarcao et al, 2001).

En raison de sa riche teneur en sucres fermentescibles, il est traditionnellement utilisé dans la production de boissons alcoolisées et dans la production de confitures, gelées et marmelades (**Tardio et al. 2006 ; Pallauf et al., 2008**). Il est également ajouté à la viande et aux produits céréaliers (**Bouzid, 2015**). De plus, les fruits secs conviennent à la production industrielle de thé, d'arômes et de colorants (**Didi, 2009**).

Selon **Bellakhdar** (1997), il a un effet anti diarrhéique à petites doses, mais en excès il devient toxique, il faut donc surveiller la dose prise d'arbousier.

Les feuilles de *l'Arbutus unedo* L sont utilisées dans la préparation de tisanes et d'infusions pour soulager les troubles digestifs et les inflammations. Elles sont également utilisées en cosmétique pour leurs propriétés astringentes et tonifiantes, notamment pour le soin de la peau et des cheveux. Les décoctions de racines sont efficaces contre les rhumatismes et ont des propriétés anti-inflammatoires, elles sont donc prescrites en cas d'hypertension artérielle.

La racine est extraite car elle a pour effet d'améliorer la sensibilité des récepteurs de la tension artérielle. Elles sont utilisés pour abaisser le taux de sucre dans le sang et aider à prévenir la tension artérielle et l'hypertrophie myocardique (**Miguel et al.**, **2014**).

3.8. Toxicité d'arbousier

L'arbousier a une toxicité modérée à forte dose ; il peut avoir des effets narcotiques et stupéfiants. Toutes les parties de la plante, surtout les feuilles, sont potentiellement dangereuses. Cependant, le fruit est généralement sûr a consommer en quantités raisonnables où il es préférable de le consommer cuit, par exemple en confiture ou en infusion, pour éviter tout inconfort dû a sa teneur en tanins (**Belkadi**, **2018**).

3.9.Métabolites de la plante

Dans la suite, nous allons parler de quelques métabolites des plantes, particulièrement ceux dont l'arbousier est en très riche.

3.9.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou liés à un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs et interviennent dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits.

Ces composés sont issus de la voie du shikimate et de la voie de l'acide acétique/acide malonique (**Labbani**, 2022). Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**Boizot et Charpentier**, 2006). La figure 6 cite quelques exemples de composés phénoliques.

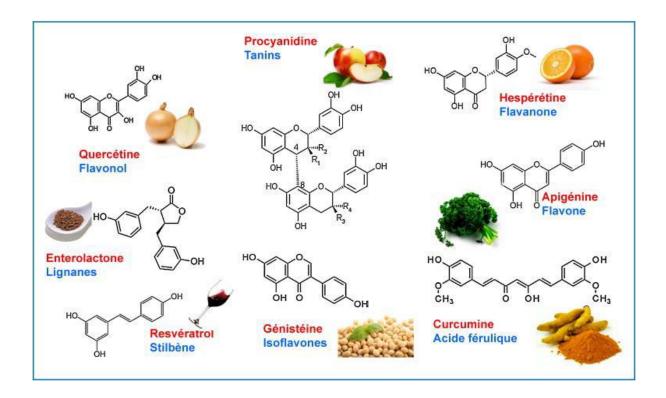


Figure06 : quelques exemples de polyphénols (Hadjila, 2016)

3.9.2. Terpènes:

Les isoprénoïdes, également connus sous le nom de terpénoïdes, ces composés sont dérivés de l'isopentényl pyrophosphate (IPP), une molécule à cinq carbones. Ces isoprénoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs catégories selon le nombre d'unités isoprènes présentes dans leur structure. Ils sont produits naturellement par les plantes et se caractérisent par leur volatilité et leur forte odeur. Elles donnent aux fleurs leur parfum caractéristique. Ci-dessous est résumé quelques classes de ces molécules.

Tableau02: Classification des terpènes et terpénoïdes sur la base de leurs unités isoprène (Borrelli et Trono, 2016).

Class	Isoprene Units	Carbon Atoms	Examples
Monoterpene	2	10	Canphor, eucalyptol, geraniol, lavandulol, limonene, menthol, pinene, thymol
Sesquiterpene	3	15	Abscisic acid, bergamotene, cedrol, curcumene, patchoulol, vetivone
Diterpene	4	20	Abietic acid, cafestol, caffeol, carnosol, gibberellin, phytol
Triterpene	6	30	Betulinic acid, morolic acid, oleanolic acid, ursolic acid, brassinosteroids, saponins
Tetraterpene	8	40	Carotenoids (e.g., α-carotene, β-carotene, crocin, licopene) and xanthophylls (e.g., lutein, zeaxanthir

3.9.3. Alcaloïdes

Ce sont des molécules organiques azotées, basiques et hétérocycliques, d'origine végétale (Wichtel et Anton, 2009). Ces composés dérivent des acides aminés. L'importance de ces molécules réside dans le fait qu'elles ont une forte activité biologique même à faibles doses. D'une manière générale, on distingue trois classes (Moulek, 2018):

- Alcaloïdes vrais
- Proto-alcaloïdes
- Pseudo-alcaloïdes

3.9.4. Mucilages

Les mucilages sont des macromolécules osidiques qui se dissolvent plus ou moins au contact de l'eau pour former des solutions colloïdales ou des gels. La tendance actuelle est de délaisser ce terme au profit de celui, plus général, d'hydrocolloïdes végétaux, et plus globalement encore, de polysaccharides végétaux (Alalor et al., 2014).

3.9.4.1. Types de mucilages

Il existe:

→ Les polysaccharides dérivés du mannose : « mucilages neutres »

Les mannanes qui sont des polymères constitués d'une chaîne principale de résidus de D-mannose liés par des liaisons β -(1,4). On distingue 3 types de mannanes :

- Les glucomannanes, qui contiennent à la fois des résidus mannose et glucose.
- Les galactomannanes, substitués par des résidus galactose.
- Les galactoglucomannanes, substitués par des résidus galactose et glucose.

La solubilité des mannanes dans l'eau dépend de leur degré de substitution par le galactose et/ou de la présence de groupements acétyles qui estérifient les fonctions hydroxyle (-OH) des résidus mannose (Chateigner-Boutin et al., 2020). Plus le degré de substitution par le galactose est élevé, plus les mannanes sont solubles dans l'eau. La présence de groupements acétyle diminue la solubilité aqueuse des mannanes. Ainsi, les mannanes peuvent être solubles ou insolubles dans l'eau selon leur structure précise. Ils jouent des rôles importants en tant que réserves de carbone et d'énergie chez les plantes et certains microorganismes.

• Glucomannanes

Les glucomannanes sont des polymères constitués d'une alternance de résidus D-mannopyranose et D-glucopyranose liés en β -(1,4). Ils présentent une masse molaire très élevée. Chez les conifères, les glucomannanes contiennent environ 1 unité glucose pour 3 unités mannose. Ils sont plus abondants chez les gymnospermes (conifères) que chez les angiospermes et elles s'accumulent fréquemment dans les organes souterrains de diverses monocotylédones, en particulier dans les tubercules de *l'Amorphophallus konjac*, où ils représentent le principal constituant (**Atig et Malti, 2019**).

• Galactomannane

Le galactomannane a une structure polymère hétérogène constituée d'une chaîne principale d'unités mannose liées par des liaisons β -1,4-glycosidiques et d'unités galactose attachées au mannose par des liaisons α - 1,6-glycoside (**Yadav et Maiti, 2020**).

Ce sont des polysaccharides de stockage d'énergie provenant des graines d'endosperme de légumineuses qui sont déjà utilisés comme prébiotiques dans l'alimentation. Les quatre principales sources de galactomannane sont la caroube, le guar, la morue et le fenugrec.

Ceux-ci sont également utilisés comme facteurs de viscosité, augmentant la solubilité en fonction du degré de substitution galactosyle (**Prajapati et al.,2013**).

• Galactoglucomannanes

Les galactoglucomannanes sont des hémicelluloses solubles dans l'eau, composées de galactose, glucose et mannose. Ils sont couramment trouvés dans les espèces de bois durs, comme le sapin du Norvège, où ils peuvent représenter jusqu'à 10-20% du poids sec du bois (Willför et al., 2008).

→ Polysaccharides hétérogènes acides: «Mucilages acides»

Considérant qu'il est difficile de classer chimiquement des structures souvent incomplètement connues, nous discutons ici de l'origine végétale et de l'origine structurelle, quelle que soit l'ambiguïté qui peut caractériser cette idée (**Bruneton**, 1999).

3.9.4.2. Application de mucilages

→ Applications pharmaceutiques et médicales

Les mucilages sont utilisés comme liants, agents émulsifiants, épaississants et gélifiants dans la formulation de médicaments. Ils ont des propriétés adoucissantes et anti-inflammatoires qui permettent de soulager les douleurs et les irritations des muqueuses (voies respiratoires, digestives, urinaires, etc.) (Rabie et Barkani, 2015).

→ Applications alimentaires et cosmétiques

Dans les cosmétiques, les mucilages servent d'agents hydratants, émollients et protecteurs de la peau (Rabie et Barkani., 2015). Les mucilages sont utilisés comme stabilisants, émulsifiants, épaississants et gélifiants dans l'industrie alimentaire et ils permettent de prolonger la durée de conservation des aliments en limitant la croissance microbienne. Certains mucilages peuvent être utilisés comme substituts de matières grasses pour réduire la teneur calorique des aliments.

Chapitre 1 : Arbutus unedo L et métabolites des plantes

Dans les cosmétiques, les mucilages servent d'agents hydratants, émollients et protecteurs de la peau. Les mucilages sont étudiés pour leur potentiel dans la fabrication de matériaux d'emballage alimentaire biodégradables (Cakmak et al., 2023).

Chapitre II Stress oxydatif et activité antioxydante

1. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif, résulte d'un déséquilibre « prooxydants/antioxydants » en faveur des oxydants, entraînant des dommages oxydatifs sur tous les composants cellulaires : membranes cellulaires, acides nucléiques qui entraînent une perturbation des récepteurs lipidiques et les enzymes, les mutations et le risque de cancer. Par conséquent, le stress oxydatif peut résulter d'une surproduction d'oxydants, tels que les espèces réactives de l'oxygène, et d'un déclin des systèmes de défense antioxydants (**Defraigne et Pincemail., 2008**).



Figure07: Le stress oxydatif d'une cellule

2. Origine du stress oxydatif

La découverte des espèces chimiques radicalaires présentes dans l'organisme a profondément changé notre compréhension des mécanismes biologiques. Les radicaux libres, produits par divers mécanismes physiologiques, jouent un rôle bénéfique à des doses modérées. Toutefois, une production excessive peut survenir, soit en raison de mécanismes physiologiques exagérés, soit à cause de phénomènes toxiques exogènes. Dans ces cas, l'organisme doit se protéger à l'aide de différents systèmes antioxydants.

En conditions normales, les radicaux libres sont produits continuellement en faible quantité, servant de médiateurs tissulaires ou étant des résidus de réactions énergétiques ou de défense. Cette production est bien contrôlée par des systèmes de défense adaptatifs. Lorsque cette régulation est équilibrée, la balance entre antioxydants et prooxydants est maintenue. En revanche, un déséquilibre, dû à un déficit en antioxydants ou à une surproduction massive de radicaux, conduit à un stress oxydants

Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles qu'une production excessive de radicaux libres observée dans les intoxications aux métaux lourds, les irradiations, ou les ischémies/reperfusions après des thromboses.

En général, le stress oxydant résulte de plusieurs de ces facteurs et se manifeste dans un tissu ou un type cellulaire précis, affecté par la défaillance, plutôt que dans tout l'organisme (Favier, 2003)

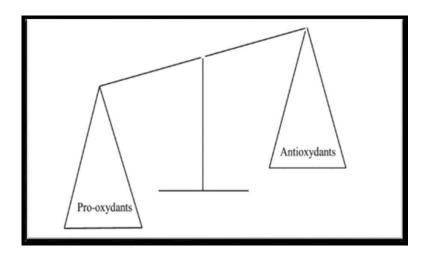


Figure 08: Balance de stress oxydatif (Gheraibia et Lahcene, 2020).

3. Définition de radicaux libres (RL)

La production de RL augmente selon la situation : Stress, tabac, alcoolisme, obésité, exercice inapproprié ...etc. (**Beckmank ,Amesbn ., 1998**). La majorité des RL proviennent de l'activité mitochondriale, mais également d'autres sources cellulaires telles que les peroxysomes, les lipoxygénases, les NADH oxygénases et les cytochromes P450.

Par conséquent, RL est une espèce chimique, un atome ou une molécule qui contient un électron unique ou non apparié (Wassmann et al., 2004; Anglos et al., 2005; Wolin et al., 2005,). Cet électron unique offre une réactivité chimique extrêmement élevée aux radicaux libres (Bonnefont-Rousselot et al ; 2003; Poortamans, 2009).

a. Les espèces réactives

Les radicaux libres dérivent d'autres atomes tels que l'oxygène (espèce réactive de l'oxygène ERO), l'azote (espèce réactive de l'azote) ou le chlore (espèce réactive du chlore) et peuvent être ou non radicalaires (Halliwell et Whiteman., 2004).

- Espèces radicalaires: anion superoxyde (O2 ⁻⁻), radical hydroxyle (OH ⁻), radical peroxyle (ROO ⁻), radical alcoxyle (RO ⁻) et oxyde nitrique (NO ⁻).
- Espèces non radicalaires: peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), peroxyde organique (ROOH), oxygène singulet (¹O₂), peroxynitrite (ONOO⁻) et acide hypochloreux (HOCl).

b. Rôles des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent avoir un rôle physiologique ou toxique selon leur concentration :

- Faible concentration : ils participent à la signalisation cellulaire, à la défense immunitaire et à la régulation vasculaire.
- Haute concentration : Ils causent du stress oxydatif, endommageant les cellules et contribuant aux maladies dégénératives et inflammatoires.

Ainsi, leur impact dépend de leur équilibre dans les systèmes biologiques.

2. Activité antioxydante

4.1. Définition des Antioxydants

Les antioxydants sont des molécules qui réduisent ou empêchent l'oxydation d'autres produits chimiques. Les antioxydants sont utilisés pour réduire l'oxydation des produits mélangés (Guinebert et al., 2005). L'action des antioxydants repose sur deux mécanismes :

- Les antioxydants neutralisent les radicaux libres et préviennent les réactions en chaîne provoquées par les radicaux libres.
- Les antioxydants détruisent les hydro peroxydes (intermédiaires qui forment des radicaux libres en bloquant les liaisons O-O), réduisant ainsi le taux de formation de radicaux libres (Gourrissi et Amari, 2017)

4.2. Classification des antioxydants

Antioxydants primaires (enzymes): Les cellules sont équipées d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces.

Cette ligne de défense comprend le superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la peroxydase (glutathion et acide ascorbique) (**Favier, 2006**). Ces enzymes antioxydantes permettent de piéger les radicaux libres primaires selon la réaction suivante (**Lehucher-Michel et al., 2001**).

$$2 O_{2} - + 2 H^{+} \xrightarrow{\text{superoxyde dismutase}} H_{2}O_{2} + O_{2}$$

$$2 H_{2}O_{2} \xrightarrow{\text{catalase}} 2 H_{2}O + O_{2}$$

$$H_{2}O_{2} + 2 GSH \xrightarrow{\text{glutathione peroxydase}} 2 H_{2}O + GSSG$$

Ils empêchent notamment la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires et contribuent ainsi à protéger les membranes de la peroxydation lipidique.

Antioxydants secondaires (non enzymatiques): Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, les molécules antioxydantes ne piègent que les radicaux libres. Par conséquent, pour fonctionner à nouveau, cette molécule antioxydante doit être régénérée par d'autres systèmes (**Figure 09**) (**Dacosta, 2003**).

Plusieurs substances ont été proposées qui peuvent agir comme antioxydants *in vivo*. Ceux-ci comprennent la vitamine E, de l'acide ascorbique, du bêta-carotène, des flavonoïdes et des composés phénoliques (**Kohen et Nyska, 2002**)

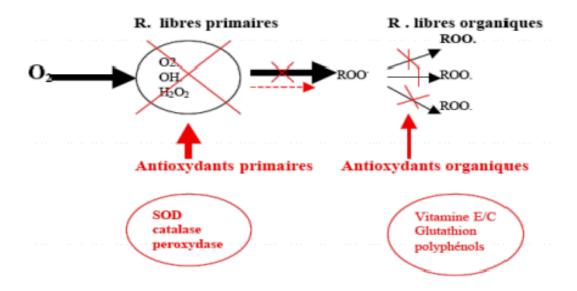


Figure 09: les systèmes de défense contre les radicaux libres (Kohen et Nyska., 2002).

4.3. Mécanisme d'action des antioxydants

Le mécanisme d'action des antioxydants est l'élimination de l'oxygène unique, l'inactivation des radicaux par des réactions d'addition covalente, la réduction des radicaux ou des peroxydes et la réduction des métaux de transition (Favier, 2006).

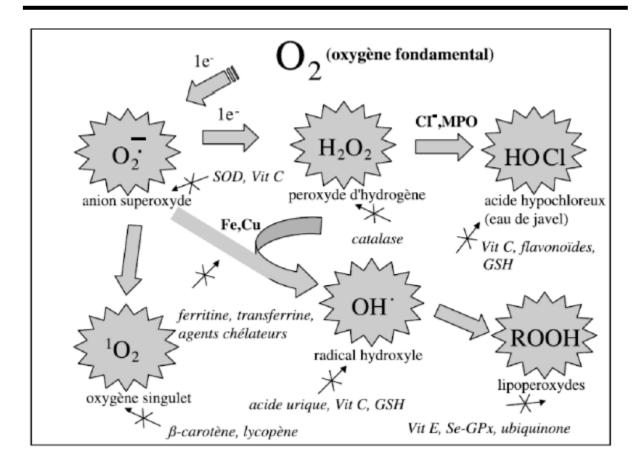


Figure 10: Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (**Milbury et Richer., 2008**)

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Objectif

Le travail expérimental que nous avons réalisé a été effectué au sein du Laboratoire de recherche Antibiotique, antifongique : Physico-chimie, Synthèse et activité biologique de l'université Abou-Bekr Belkaid Tlemcen. L'objectif de cette étude est de tester l'activité antioxydante des mucilages des fruits d'*Arbutus unedo* L. récoltés dans la région de Tlemcen. Elle comporte :

Partie 1 : préparation des extraits de mucilages, brut et purifié

Partie 2: Les tests de caractérisation des extraits de mucilage : pH, les tests phytochimiques, dosage des protéines, dosage des polyphénols, dosage des sucres, et l'analyse par Infrarouge.

Partie 3 : évaluation du pouvoir antioxydant des extraits obtenus par la méthode de FRP (Ferric reducing power), la méthode de DPPH (2-2 DiPhényl-1-PicrylHydrazyl), et la méthode CAT (Capacité antioxydante totale).

2. Matériel végétal

Le fruit de l'*Arbutus unedo* L. a été récolté le mois de décembre 2023, dans la région d'Ain Fezza, Tlemcen.



Figure11 : Carte géographique de la région Ain fezza (google maps)



Figure 12 : les fruits d'arbousier récoltés

3. Extraction des mucilages

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 (Kolhe et al., 2014) avec modification, où il faut :

- -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 le filtrat.
- -Ajouter 300 ml d'éthanol froid à 300 ml du filtrat (V/V). L'éthanol permet de précipiter les mucilages. Ce mélange est mis au froid (4°C) pendant 24 heures.
- -Centrifuger le mélange à 4000 tours/min pendant 10 min afin de récupérer le culot.

- -Eliminer le surnagent et rincé le culot avec l'éthanol
- -Centrifuger le mélange encore une fois à 4000 tours/min pendant 10 min.
- 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.

Ensuite, nous procédons aux même étapes précédentes jusqu'à l'obtention d'un résidu qui représente l'extrait du mucilage purifié.



Figure 13: Dispositif d'extraction sous-reflux

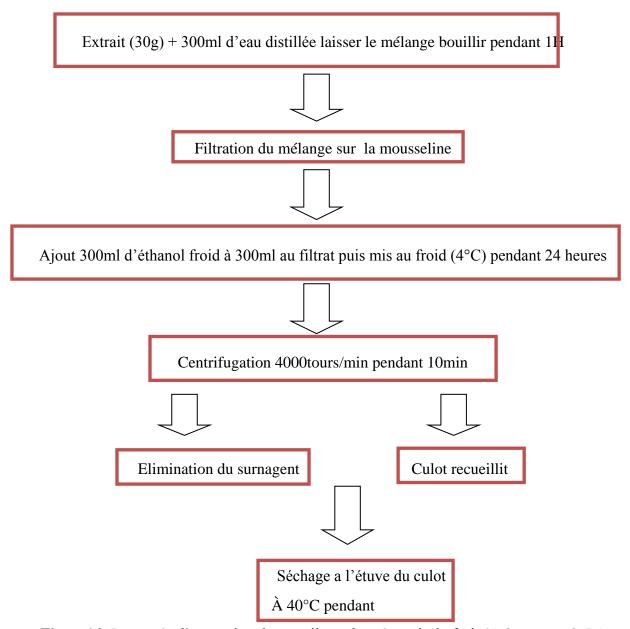


Figure 14: Protocole d'extraction des mucilages brut à partir du fruit (*Arbutus une do* L.)

4. Tests de caractérisation

4.1. Tests phytochimiques

\rightarrow Test des tanins

Pour caractériser les tanins 1ml de chaque extrait a été mélangé avec 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (1%). Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 15 minutes. L'apparition d'une couleur bleu-noirâtre ou verdâtre indique la présence des tanins (**Karumi, 2004**).

→ Test des flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes est faite en ajoutant pour chaque volume de l'extrait 1 ml d'acide chlorhydrique (HCl) concentré puis quelques copeaux de Magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence par l'apparition d'une couleur rose ou rouge ou orange (Karumi, 2004).

→ Test de l'amidon

Premièrement, il faut préparer le réactif d'amidon : mélanger 1,2g d'I₂ et 2,5g de KI dans 500 ml d'eau distillée. Traiter les extraits, totaux et acétoniques avec le réactif d'amidon. La couleur bleue violacée indique la présence d'amidon (**Benmehdi**, **2000**).

→ Acides aminés

A 1ml d'extrait à tester ajouter 1ml de la solution de ninhydrine préparée dans l'acétone ou l'éthanol dont la concentration est 1%; chauffer dans un bain marie et observer le changement de couleur. La présence des acides aminés donne une couleur violette (**Harbone**, 1998).

4.2.Le pH des mucilages

Solubiliser une quantité de 10 mg de chaque extrait de mucilage (brut et purifié) dans 10 ml d'eau distillée, préparer 3 essais. Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre.

4.3.Dosage des protéines

• Principe

Le dosage des protéines se fait par la méthode de Biuret selon **Henry (1964).** En solution Alcaline les protéines forment avec les ions cuivriques un complexe coloré. L'absorbance est mesurable à 540 nm. La détermination des différentes concentrations se fait en se basant sur une droite d'étalonnage du sérum albumine bovine (SAB).

Dosage

Etape1 : préparation du réactif de biuret pour 250 ml d'eau distillée.

- Solubiliser 11,5 g de NaOH dans 150 ml d'eau distillée.
- Ajouter les réactifs suivants successivement au mélange précédent : 0,28 g de CuSO₄ 0,25 g de KI et 1,48g de tartrate double sodium potassium.
- Ajuster le volume à 250 ml par l'eau distillée.

Etape 2 : préparation de la SAB.

• Peser 0,2 g de la SAB dans 20 ml de tampon.

• Réaliser des dilutions en cascade.

Etape 3 : préparation des extraits.

• Solubiliser l'extrait (brut ; purifié) dans le tampon.

Etape 4: dosage

• Préparation d'une série de tubes, extraits, blanc et SAB. Prévoir 3 tubes (essais) pour chaque

extrait ou pour le SAB.

• Dans les tubes, mettre 100 µl de la solution à doser (extrait ou SAB) et 1 ml du réactif de

biuret.

• Le tube blanc contient (100 μ l H₂O + 1 ml de biuret).

• Les tubes sont incubés à l'ombre pendant 30 min puis l'absorbance est lue à 540 nm.

• Expression des résultats

 $Pr(\%) = [(C \times V)/P] \times 100$

C : concentration en protéines de l'extrait en « mg/ml» (déterminée graphiquement).

V : volume de tampon en «ml».

P: la prise d'essais «mg».

Pr : taux de protéines.

4.4.Dosage des composés phénoliques

• Principe

Ce test est basé sur la réduction de fer ferrique en fer ferreux par les tanins et d'autres

polyphénols ce qui aboutit à la formation d'un complexe ferreux-ferricyanide coloré. Ce

produit est appelé « bleu de Prusse » qui absorbe à 720 nm (Martin et Larry, 1977).

• Mode opératoire

Dans des tubes à essai, nous mélangeons 1 ml d'extrait végétal et 3 ml de la solution de

FeCl₃ (0,1M dans HCl 0,1N). Puis, nous ajoutons 3 ml de K₃Fe(CN)₆ (0,008N). Les tubes

sont soigneusement agités. Après incubation de 1 mn à la température ambiante, les mesures

d'absorbance (DO) sont effectuées à 720 nm.

29

Matériel et méthodes

Par ailleurs, le calibrage du spectrophotomètre se fait avec un blanc contenant 1 ml d'eau distillée, 3ml de FeCl₃ et 3 ml de K₃Fe (CN)₆.

• Expression des résultats

Une courbe d'étalonnage a été tracée pour différentes concentrations d'acide gallique. A partir de cette courbe, on détermine la concentration de notre échantillon en composés phénoliques par rapport à la matière sèche.

$CP (\%MS) = [C \times V / P] \times 100.$

C : concentration en composé phénolique de l'extrait en (mg/ml).

V : volume d'eau distillée utilisée en (ml).

P: prise d'essai (mg).

CP: composés phénoliques

4.5.Dosage des sucres totaux

• Principe

Pour l'analyse des sucres totaux, nous avons suivi la méthode de **Dubois et al.**, (1956). Le principe de cette méthode est qu'en milieu acide et à chaud, les liaisons glycosidiques des hydrocarbures sont hydrolysées. Les oses simples ainsi libérés subissent une déshydratation intramoléculaire pour donner des dérivés furfuraux. La fonction aldéhyde des furfuraux se condense ainsi en milieux acides avec l'hydrolyse d'un composé phénolique pour donner des acétals ou hémi –acétals de couleur rougeâtre qui absorbent dans le visible (450-500 mm).

Dosage

Dans des tubes à essai, nous mélangeons 1 ml de la solution à doser, puis 1 ml de la solution de phénol (5%). Les tubes sont soigneusement agités. Puis 5 ml d'acide sulfurique concentrés sont ajoutés à l'aide d'une pipette graduée. Après séjour de 30 mn à l'obscurité, les mesures d'absorbance sont effectuées à 490nm.

Par ailleurs, le calibrage du spectrophotomètre se fait avec un blanc contenant : 1ml d'eau distillée, 1ml de phénol à 5% et 5 ml de H_2SO_4 .

• Expression des résultats

Une courbe d'étalonnage corrélant la variation de l'absorbance en fonction de la concentration de glucose a été tracée. A partir de cette courbe nous déterminons la

concentration de notre échantillon en sucres totaux. Le taux des sucres en % par rapport à la matière sèche est obtenu par la formule suivante :

ST (%MS) = [(CxV)/P] x100

C : concentration en sucres de l'extrait en mg/ml

V : volume de l'eau distillé utilisé en ml

P: la prise d'essais en mg

ST: sucres totaux

4.6.La spectroscopie IR

C'est une technique qui permet d'identifier la nature et les groupes fonctionnels des composés des liquides, des solides, des gaz, des poudres, des fibres, des films ou des surfaces. L'analyse du faisceau infrarouge permet de détecter un certain nombre de bandes d'absorption qui correspondent aux modes de vibrations caractéristiques des divers groupements contenus dans les substances analysées. Le spectre infrarouge constitué par l'ensemble de ces bandes représente alors l'empreinte digitale de molécule (Mahdjar, 2013).

• Principe de la machine IR

Le principe de cette spectroscopie est l'examen des radiations absorbées par l'échantillon permet d'identifier les transitions entre niveaux d'énergie et d'en déduire des informations sur la structure de la molécule, utilisée pour déterminer la composition d'un échantillon (fonction Chimique).

• Préparation des échantillons

Déposer les extraits de mucilages, brut et purifié dans l'appareil spectroscopique IR (Cary 600 Series FTIR, Agilent Technologies). Qui contient un cristal de réflexion pour l'analyse en mode ATR (attenuated total reflectance) (figure 15).



Figure 15: appareil spectroscopique IR (cary 600series FTIR., agilent technologies).

5. Evaluation de l'activité antioxydante

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

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

• 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 (Fe³⁺) présent dans le complexe K₃Fe (CN) ₆ en fer ferreux (Fe²⁺) (**Oyaizu, 1986**).

• Solutions à préparer

- Solution tampon de phosphate 0,2M; pH= 6,6
- Solution de ferricyanure de potassium K3Fe (CN)6 à 1%
- Solution de l'acide trichloracétique TCA à 10%
- Solution aqueuse de chlorure ferrique FeCl3 à 0,1%



Figure 16: les solutions qu'utiliser dans cette méthode

Mode opératoire

0,2 ml 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. 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.

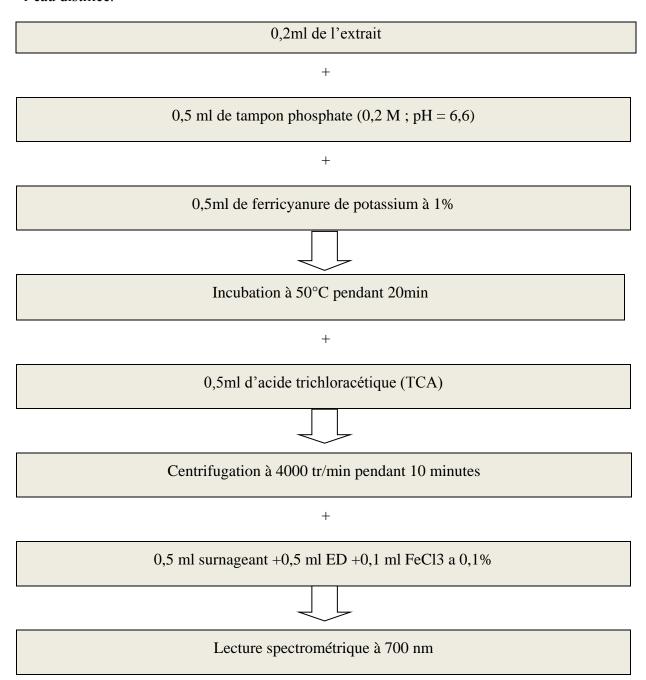


Figure 17: Protocole d'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de l'Arbutus unedo L.

5.2. Evaluation du pouvoir antioxydant e par la méthode de DPPH

C'est une méthode permettant d'évaluer le pouvoir antioxydant. Elle mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le radical chimique.

Figure 18: Structure chimique du radical libre DPPH.

Principe

Le 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.

Figure 19: Piégeage du radical libre DPPH ● (**Congo, 2012**)

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 1 ml de méthanol. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le pourcentage d'inhibition (% IP) est calculé suivant la formule suivante (Sanchez et al., 1998).

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 d'IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50 % est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH. Les valeurs d'IC₅₀ sont calculées graphiquement par la régression linéaire où l'abscisse est représenté par la concentration des composés testés et l'ordonné 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).

5.3. Evaluation du pouvoir antioxydante par la méthode de CAT (Capacité antioxydante totale)

Principe

La capacité Antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de Phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO₄²⁻ à molybdène Mo (V) MoO₄²⁺ en présence de l'extrait Pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide (**Prieto et al., 1999**)

Mode opératoire

Un volume de 0,2 ml de chaque extrait est mélangé avec 2ml de solution de travail (0,6 M acide sulfurique H₂SO₄, 28 mM phosphate de sodium Na₂PO₄ et 4 mM de molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 765 nm contre le blanc qui contient 2 ml de la solution de travail et 0,2 ml de l'eau distillée et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS).

Résultats Et Discussion

1. Extraction

1.1.Mucilage brut

L'addition d'éthanol au filtrat a permis aux mucilages de se précipiter; et après la centrifugation et le séchage, nous avons obtenu un mucilage d'aspect solide de couleur marron (figure n20).



Figure 20: Mucilage brut après séchage

1.2. Mucilage purifié

Après avoir ajouté de l'éthanol au filtrat et après la centrifugation et le séchage de l'extrait de mucilage, on obtient un extrait brun clair.

Le tableau suivant (Tableau 3) résume les rendements des extraits de mucilages obtenus. Nous observons que le mucilage purifié présente un rendement plus élevé que celui du mucilage brut. Cette différence reste statistiquement très importante (p=0,012).

Tableau3: Rendement des mucilages brut et purifié

Extraits		Brut	Purifié	
Ren	dement %	3,92±0,76	1,76±0,27	

En comparant ces résultats avec d'autres travaux nous observons que le rendement de nos extraits est proche de celui obtenu par **Ramdane et Benallal (2023)** qui ont réalisé une étude sur la même plante ; les rendements des mucilages sont 3,6 % pour le mucilage brut et 1,45 % pour le mucilage purifié.

Les études de **Sayyad et Sakhare** (2018) sur l'isolement et la caractérisation du mucilage de graines d'*Ocimum basilicum* pour les performances de compression, ont montré un rendement de l'ordre de 30 % ; ce qui est supérieur à nos résultats.

Les travaux de **Halis et Hassouni** (2022) sur l'élaboration et la caractérisation d'un emballage comestible actif à base de mucilage *d'Opuntia ficus indica* ont révélés un rendement de 1,35% ; qui est proche de celui obtenu avec le mucilage purifié.

Cette variation de rendement peut être influencée par divers paramètres tels que la période de récolte, les organes végétaux, le temps de séchage, la méthode d'extraction, la polarité du solvant utilisé et le changement climatique (Salminen, 2003).

2. Caractérisation des mucilages

2.1.pH de mucilage

La mesure du pH des mucilages par le pH mètre a permis d'obtenir les valeurs suivantes:

• pH du mucilage brut : $7,215 \pm 0,026$

• pH du mucilage purifié : $5,945 \pm 0,074$

D'après les résultats obtenus nous remarquons que le mucilage brut a un pH de 7,21 qui est très proche de la neutralité par contre le mucilage purifié a un pH acide.

Le pH de l'extrait brut est plus élevé mais proche à celle trouvé par **Gupta** *et al.*, (2015) qui ont noté un pH de 6,90 pour le mucilage de *Hibiscus rosasinensis*. Et aussi l'étude de **Alalor** *et al.*, (2014) et qui ont évalué un pH de 6,1 sur l'extrait mucilagineux de *Colocasia esculenta*.

2.2.Tests de mise en évidence de quelques familles de molécules

Le tableau n°4 résume les résultats des tests d'identification de plusieurs familles de molécules dans les extraits de mucilage brut et purifié.

Nous pouvons constater que les acides aminés et les tanins sont présents dans les deux extraits, malgré que nous avons macéré le fuit de l'arbousier dans l'acétone qui permettrait de précipiter les composés phénoliques dont les tannins.

L'étude faite par **Gupta et al., (2015)** sur le mucilage des feuilles *d'Hibiscus rosasiennes* a révélé la présence d'acides aminés, ce qui est en accord avec nos résultats. De plus, cette étude a également signalé l'absence de tanins, ce qui n'est pas notre cas.

La réaction avec le magnésium reste négative pour les deux extraits. Donc nous pouvons en conclure que les flavonoïdes ne sont pas présents ou la méthode utilisée à base

d'HCL et du magnésium n'est pas efficace pour détecter les flavonoïdes de ces mucilages de l'arbousier

Les travaux de **Belfekih et al., (2017)** sur les organes aériens *d'Arbutus unedo L.* (fruit, tige, feuille) ont montré la présence des flavonoïdes dans les fruits de *l'Arbutus unedo*. Cependant, nos extraits sont dépourvus en flavonoïdes ce qui peut être dû à la méthode d'extraction.

La réaction avec réactif d'amidon est négative pour les deux extraits ; donc les extraits ne contiennent pas l'amidon.

Tableau 4: Résultats des tests phytochimiques

Famille de molécules	Mucilage brut	Mucilage purifié	
Tannins	++	+	
flavonoïdes	-	-	
Acides aminés	++	+	
Amidon	-	-	

^{++ :} Moyennement positive + : Faiblement positive -Absence totale

2.3.Dosage des sucres, composés phénoliques et protéines

Le tableau 5 présente les résultats de dosage de quelques familles de molécules de l'extrait des mucilages brut et purifié de L'Arbutus *unedo* L.

Tableau 5 : Résultats des dosages effectués sur les deux mucilages (%)

L'extrait	Brut	Purifié
Sucre%	39,86±1,004	40,14±3,72
Composés phénolique %	12,25±6,064	23,01±2,99
Protéines%	36,10±16,07	34,30±6,79

Les résultats des tests quantitatifs ont permis d'évaluer la teneur en protéines et en sucres et des composés phénoliques des deux extraits.

Pour les protéines, un pourcentage de 36,10 % dans le mucilage brut et de 34,30 % dans mucilage purifié ont été marqués.

Concernant le dosage des sucres, des valeurs de 39,86 % pour le mucilage brut et de 40,14 % pour le mucilage purifié ont été enregistrées.

Pour le taux de composés phénoliques, nous avons enregistré 12,25% pour l'extrait brut et 23,01 % pour l'extrait purifié. Donc les mucilages purifiés sont riches en composés phénoliques par rapport au mucilage brut.

Par conséquent, nous pouvons constater que les deux extraits présentent la même composition en sucres et en protéines alors que le mucilage purifié et plus riche en composés phénoliques ; cette dernière variation est importante mais non significative.

Les travaux de **Erik et al., (2017)** sur les extraits des mucilages de graines de Tamarin (*Tamarindus indica L*) ont révélé une teneur en protéines du mucilage de 79,76 % qui est supérieurs à celle de notre mucilage et une teneur en sucre de 4,76% qui est inferieurs que celle observée dans nos résultats du extrait brut et purifié de mucilage des fruits d'arbousier.

2.4. Analyse spectroscopique des mucilages

Les deux figures 21 et 22 représentent les spectres FT-IR d'extraits de mucilage brut et purifié. Généralement, le spectre infrarouge de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble montre une large bande d'absorption à 3050 cm⁻¹. Il semble que les vibrations correspondent au groupe amine (RNR'H).

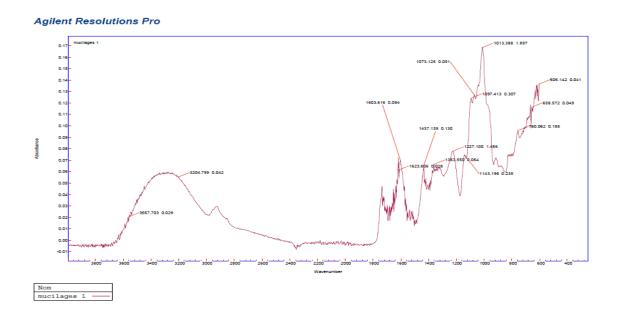


Figure 21 : Spectre Infrarouge de l'extrait de mucilage brut d'Arbutus unedo L

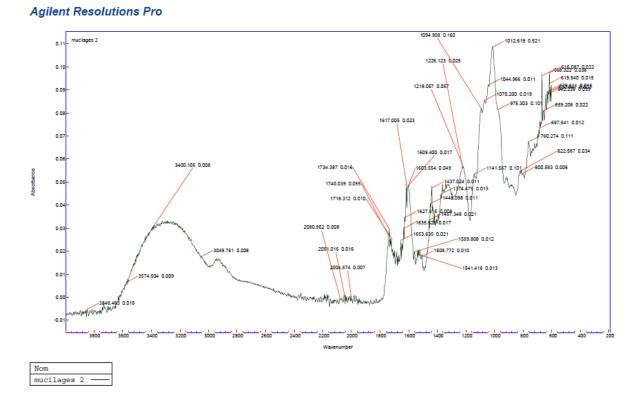


Figure 22 : Spectre Infrarouge de l'extrait de mucilage purifié d'Arbutus une do L.

Tableau 6 : Analyse du spectre FTIR des extraits de mucilages.

Numéro	Nombre d'onde	Groupement fonctionnel	
1	3100-3400	OH-Liée (liaison hydrogène)	
2	3100-3500	-NH Amide	
3	1620-1750	C=O acide carboxylique	
4	1200-1320	C-O	
5	600-700	С-Н	

L'analyse infrarouge du mucilage des deux extraits brut et purifié a permis de caractériser les groupements fonctionnels.

Les travaux de **Atig et Malti (2019)** sur la caractérisation des mucilages de *Zygophyllum geslini* montrent qu'ils contiennent des groupements C-H et C-O, ce qui concorde avec nos résultats.

De plus, les études de **Ramdani et Benallal (2023)** sur les mucilages *d'Arbutus unedo* L qui montrent une structure hétérogène similaire à nos extrais de mucilage. Nous citons les liaisons amide, les groupements, OH et carboxylique.

3. Évaluation des activités antioxydantes

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

• Effet de l'extrait de mucilage brut

L'effet de l'extrait des mucilages bruts est montré sur la figure 23. Nous observons que les absorbances mesurées varient linéairement et proportionnellement en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut et nous remarquons qu'à la concentration de 0,223 mg/ml, les mucilages bruts sont capables de réduire le fer en donnant une absorbance égale à 0,211.

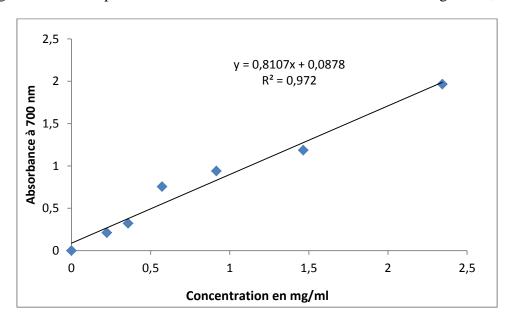


Figure 23 : Représentation graphique de pouvoir réducteur de fer de l'extrait de mucilage brut de *l'Arbutus unedo* L.

• Effet de mucilage purifié

L'effet de l'extrait purifié est présenté sur la figure 24 où nous remarquons que les absorbances mesurées sont proportionnelle aux concentrations du mucilage purifié donc toujours ils. L'extrait purifié est capable de réduire le fer ; à la concentration de 0,223 mg/ml l'absorbance égale à 0,0382.

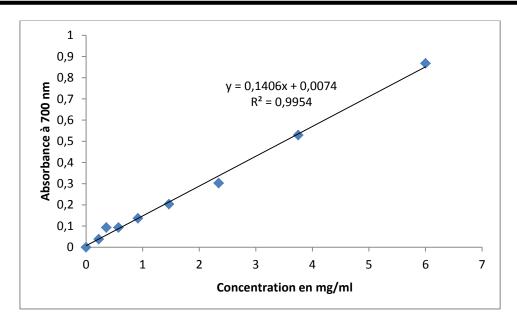


Figure 24 : Représentation graphique de pouvoir réducteur de fer de l'extrait de mucilage purifié de l'*Arbutus unedo* L.

• Effet d'acide ascorbique :

En observant la figure 25 nous remarquons que l'acide ascorbique est plus puissant sur la réduction de fer que les extraits de l'arbousier.

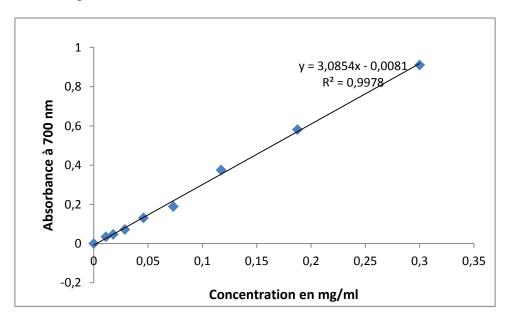


Figure 25: Représentation graphique de pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

A partir des figures précédentes, nous avons calculé les valeurs d' EC_{50} qui est la concentration efficace ou concentration requise pour obtenir une absorbance de 0,5. Le tableau 7 présente les valeurs d' EC_{50} des extraits et d'acide ascorbique qui sont calculées à partir de l'équation de chaque droit.

Résultats et discussion

Tableau 7: Valeurs d'EC₅₀ enregistrées pour les deux extraits et l'acide ascorbique

Extraits	Brut Purifié		Acide ascorbique	
EC ₅₀ (mg/ml)	0,547±0,036	3,56±0,20	0,163±0,003	

A partir de ce tableau nous pouvons remarquer que le mucilage brut présente une activité réductrice du fer qui est significativement meilleure que celle du mucilage purifié L'acide ascorbique reste le plus efficace.

L'étude de **Belkadi** (2018) corrobore avec nos résultats, montrant que l'extrait eau-acétonique et ses fractions présentent un pouvoir antioxydant important.

L'étude de **Belkhatir** (2017) sur des racines de l'arbousier par la méthode de la réduction du fer FRP a montré que l'extrait hydro acétonique présente une activité importante et meilleure que celle de l'acide ascorbique. Selon **Benahmed** (2017), les résultats de la méthode FRP ont montré que l'extrait brut de racine d'*Arbutus unedo L*. Avait un pouvoir réducteur très important. Ces études montrent que la plante étudiée est douée d'un pouvoir antioxydant très remarquable.

Mahamane (2023) a réalisé une étude sur le pouvoir antioxydant des mucilages du fruit de l'arbousier. Les résultats ont montré que l'extrait purifié est plus puissant sur la réduction du fer que le mucilage brut. Ce qui est contradictoire à nos résultats.

3.2. Evaluation du pouvoir antioxydante par la méthode de DPPH

• Extrait brut

Nous remarquons dans la figure 26 que les pourcentages d'inhibition de DPPH varient proportionnellement par rapport aux concentrations de l'extrait brut.

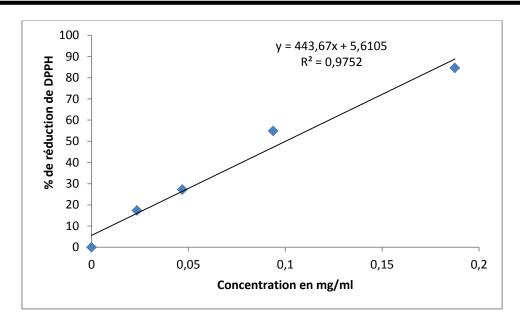


Figure 26 : Effet d'extrait de mucilages brut sur la réduction du radical DPPH

• Extrait purifié

La figure 27 montre le pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait de mucilage purifié évaluée proportionnellement en fonction des concentrations l'extrait purifié ; à 0,8 mg/ml 44% de DPPH sont réduits.

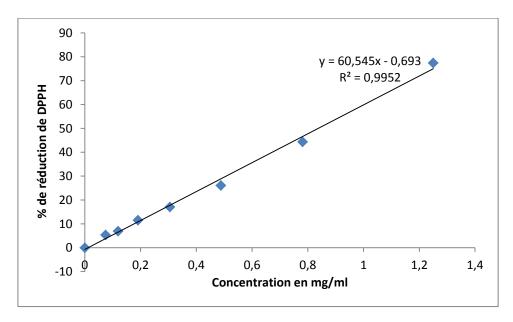


Figure 27: Effet d'extrait de mucilages purifié sur la réduction du radical DPPH

Acide ascorbique

La figure 28 on observe que le standard (acide ascorbique) a présenté la meilleure activité antioxydant par apport aux extraits de mucilage brut et purifié, où la concentration de 0,037

mg/ml a produit un pourcentage d'inhibition de 32 % ; ce qui est confirmé par la valeur $d'IC_{50}$.

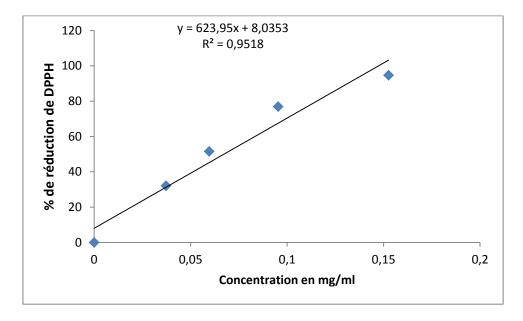


Figure 28: Effet d'extrait de l'acide ascorbique sur la réduction du radical DPPH

Calculer des IC₅₀

Le tableau 8 présente les valeurs d'IC₅₀, la concentration qui réduit 50% du DPPH déterminée à partir de l'équation des droites linéaires précédemment données.

Tableau 8: valeurs d'IC₅₀ des extraits et de l'acide ascorbique

Extraits	Brut	Purifié	Acide ascorbique
IC ₅₀ %	0,103±0,005	0,799±0,060	0,0644±0,009

D'après les valeurs obtenues, l'extrait brut a une IC₅₀ inferieure à celle de l'extrait purifié, et donc une activité meilleure. L'IC₅₀ obtenue pour l'acide ascorbique, utilisé comme molécule de référence, est bien plus inferieure à ceux des extraits, est donc, l'acide ascorbique possède une activité antioxydant très élevé.

Les valeurs d' IC_{50} de l'extrait de mucilage brut (0,103 mg/ml) et de mucilage purifié (0,799 mg/ml) ont confirmé qu'il s'agit d'un fruit possèdant un très bon pouvoir antioxydant.

Une étude de **Belkhatir** (2017) sur les racines d'arbousiers par la méthode de réduction du DPPH a montré que l'extrait hydroacétonique avait une activité significative, suivi de la fraction acétate d'éthyle.

Résultats et discussion

De plus l'étude de **Mahamane** (2023) sur le pouvoir antioxydant des mucilages du fruit de l'arbousier montre que l'extrait brut est plus puissant sur la réduction du DPPH que le mucilage purifié. Ce qui est similaire à nos résultats.

3.3. Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de CAT

Les résultats de capacité antioxydante totale (CAT) des extraits des mucilages brut et purifié qui sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg AA/g).

Le tableau 9 englobe les valeurs de capacité antioxydante totale de l'extrait brut et purifié de l'*Arbutus unedo*.

Tableau 9: capacité antioxydante totale de l'extrait brut et purifié d'Arbutus unedo L

Extrait	Brut	Purifié
Capacité Antioxydante totale (mg équivalent AA/g)	100,54±26,36	98,92±12.36

Les résultats montrent que la capacité antioxydante totale(CAT) varie entre 100,54 pour mucilage brut et 98,92 mg AAE /g d'extrait. La différence est négligeable et statistiquement non significative.

Les travaux de **Hashash et al. (2017**), qui ont étudié la capacité antioxydante totale sur les extraits de deux parties différentes (les fruits et les grains) de *Cucurbita pepo* L., où ils ont trouvé une valeur égale à 201,37±1,30 mg AAE/g d'extrait méthanolique des fruits, et une valeur égale à 222,1±1,40 mg AAE/g d'extrait méthanolique des graines. Ces valeurs montrent une efficacité supérieure à celle de nos extraits.

D'après **El-Sayed et al. (2017**) ils ont trouvé que la capacité antioxydante totale est égale à 92,60; 179,13 et 210,96 mg AAE /g d'extrait aqueux, n-butanolique et acétate d'éthyle des feuilles de *C. pepo* L., respectivement

Donc, nous constatons que la capacité antioxydante totale varie d'un extrait à l'autre.

Les résultats obtenus dans ce travail sont prometteurs et montrent que cette fraction de polysaccharide pourrait être à l'origine d'une activité antioxydante puissante. Les extraits sont riches en molécules qui peuvent engendrer une telle activité, à savoir les composés phénoliques représentés par les tanins.

Résultats et discussion

La présente étude a été reconduite après les travaux de **Mahamane** (2023) et mérite d'être poursuite pour bien confirmer les résultats obtenus.

Conclusion générale

Cette étude a été réalisée pour évaluer l'activité antioxydante d'extraits de mucilages préparés à partir du fruit d'*Arbutus unedo* L.

L'extraction a permis d'obtenir le rendement en mucilage brut de 3,92±0,76 et le mucilage purifié de 1,76±0,27%, ce qui a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante.

Les résultats montrent la présence d'acides aminés et de composés phénoliques (tanins) dans les deux types de mucilages et l'absence de flavonoïdes. Le pH est neutre de l'ordre de 7,21 pour le mucilage brut et acide pour l'extrait purifié avec un pH acide de 5,94.

De plus, les tests de caractérisation révèlent que, l'extrait de mucilage brut est légèrement riche en protéines (36,10±16,07 %) que le mucilage purifié (34,30±6,79%); la même allure est remarquée pour les sucres totaux où le mucilage contient 39,86±1,004 % tandis que le mucilage purifié contient 40, 14±3,72 %.

Pour la réduction du fer, les valeurs d' EC_{50} enregistrées sont 0,547 et 3,56 mg/ml pour l'extrait brut et l'extrait purifié. Cela indique que l'extrait brut est plus efficace. Le même résultat est obtenu pour la réduction du DPPH où l'extrait brut (IC_{50} = 0,103 mg/ml) et plus efficace que l'extrait purifié (IC_{50} = 0,799 mg/ml).

Ainsi l'étude de la capacité antioxydante totale des extraits a donné les valeurs suivantes 100,54 mg EAA/g pour l'extrait brut et 98,92 mg EAA/g pour l'extrait purifié.

Au vu de ces résultats, il serait intéressant de réaliser des études complémentaires en s'intéressant à :

- Réaliser des études plus approfondies sur l'activité antioxydante de différentes parties de l'arbousier (*Arbutus unedo* L.) afin d'identifier d'autres efficacités.
- Identifier la structure des molécules actives d'arbousier principalement des polysaccharides.
- Effectuer d'autres tests pour évaluer les effets antioxydants, tels que le test de blanchiment du β-carotène et ABTS.
- Effectuer d'autres tests pour évaluer les activités antibactériennes, antifongiques, antidiabétiques, et autres activités biologiques.
- Évaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes *in vivo*.
- Effectuer des recherches sur la toxicité de la plante.

Références bibliographiques

Ait-Youssef, M. (2006). Les plantes médicinales en Kabylie. Édition Ibis presse, Paris, 349 p.

Alalor, Californie, Avbunudiogba, JA Et Augustine, K. (2014). Isolement et caractérisation du mucilage obtenu à partir de *Colocasia esculenta*. Revue internationale de pharmacie et des sciences biologiques, 4 (1), 25-29.

Alarcão-E-Silva, M.L.C.M.M., Leitão, A.E.B., Azinheira, H.G., & Leitão, M.C.A. (2001). The Arbutus Berry: Studies on its Color and Chemical Characteristics at Two Mature Stages. Journal of Food Composition and Analysis, 14(1), 27-35.

Ali-Delille, L. (2013). Les plantes médicinales d'Algérie. 3ème Édition, Berti, 239 p.

Angelos, M., G.Kutala , V.K . Torres, C. A .He, G .Stoner, J. D.Mohammed, M, Oernnan , K .(2005) . Hypoxic resrfusion of ischemic heart and oxygen radical generation .Am J physiol Heart circ physiol . Vol 290:341 -347.

Ardestani A, Razieh Yazdanparast,(2007) "Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on in vitro protein glycoxidation". Food and Chemical Toxicology 45 2402–2411,

Atig A, Malti S.(2019). Caractérisation des mucilages de *Zygophyllum geslini Coss*. et leur effet inhibiteur sur l'α-amylase. Master en Biologie .Option : Biochimie Appliquée, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.

Azwanida, N. (2015). A review on the extraction methods uses in medicinal plants, principal, strength and limitation. Med Aromat Plants, 4(196), 2167-0412.

Barros, L., Carvalho, A. M., Morais, J. S., & Ferreira, I. C. (2010). Strawberry-Tree, blackthorn and rose fruits: Detailed 53haracterization in nutrients and Phytochemicals with antioxidant properties. Food chemistry, (120)1(, 247-254).

Beckmank B, Amesbn. (1998). The radical theory of aging matures physiol Rev, 78:547-581.

Belfekih, F., El, O., Mariam, Y., & Lella, C. (2017). Screening phytochimiques D' *Arbutus unedo L.* The American Journal of Innovative Research & Applied Sciences, *5*(3), 237-245.

Belkadi S, (2018). Evaluation de l'activité antioxydante des fruits de l'arbousier *Arbutus unedo* L. Université Abou Bekr Belkaid.

Bellakhdar, J. (1997). La Pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine

Belyagoubi Née Benhamou Nabila,(2012) « Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien ». Thèse Doctorat, Université Abou bakr Belkaid-Tlemcen,.

Boizot Nathalie, Charpentier Jean-Paul. (2006): Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques.

Bonnefont-Rousselot, D, Gardès-Albert, M., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. L'actualité chimique, 91.

Borrelli, GM et Trono, D. (2016). Approches moléculaires pour améliorer génétiquement l'accumulation de métabolites secondaires bénéfiques pour la santé dans les cultures de base - Une étude de cas : les gènes de la lipoxygénase-B1 et la régulation de la teneur en caroténoïdes dans les pâtes alimentaires. Journal international des sciences moléculaires, 17(7), 1177.

Boullard, B. (2001). Plantes médicinales du monde : Réalités et Croyances. Estem

Bouzid, K. (2015). Contribution à l'étude des options de valorisation de l'espèce Arbutus unedo L. dans l'Ouest Algérien. Thèse de Doctorat 3^{ème} Cycle en Science de l'Environnement, option : Gestion, Valorisation des Ressources Naturelles et Développement Durable. Université Djilali Liabés, Sidi Bel-Abbés, Algérie, 168 p.

Bruneton J. (1999). Les tanins. Ed. Editions médicales internationales, Paris, 369-404.

Chabrier, **J.-Y.** (2010). Plantes Médicinales Plantes Médicinales Et Formes Et Formes D'utilisation En Phy D'utilisation En Phytothérapie Tothérapie Tothérapie.

Chateigner-Boutin, A.-L., Saulnier, L., Lessire, M., Wacrenier, N., & Alleman, F. (2020). Les polymères de mannose en production animale. 1. focus sur les structures chimiques rencontrées dans les aliments et les propriétés biologiques. INRAE Productions Animales, 33(4), 283-294.

Dacosta E. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (éd). Paris, 317p.

Dauchet, L., Amouyel, Ph., Dallongeville, J. (2005) .Consommation de fruits et légumes et risque d'accident vasculaire cérébrale et cardiaque : Méta-analyse des études épidémiologique prospectives. 40(1) ,31-40.

Defraigne J-O, Pincemail J. 2008 Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. Rev Médicale Liège. ;63 :10–19.

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

Djellouli F. (2013). Aspect qualitatif et quantitatif des lipoprotéines sériques chez les agriculteurs utilisant les pesticides. Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en biologie.

Doukani, K., & Tabak, S. (2014). Profil Physicochimique du Fruit « Lenj » (*Arbutus unedo* L.). Nature & Technology, 7(1), 51-64.

Dubois M., Gille KA., Hamilton JD.Colorometric methods for determination of sugars and related substances. *Anal Chem.* 1956; 28:350-356.

EL Amri, J., Elbadaoui, K., Zair, T., Bouharb, H., Chakir, S., & Alaoui, T. I. (2014). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de Teucrium capitatium L et l'extrait de Silénevulgaris sur différentes souches testées. Journal of Applied Biosciences, 82, 7481-7492. fabrication. Polymers, 13(7), 1066.

El-Sayed, M. M., Hashash, M. M., Abdel-Hady, A. A., Abdel-Hady, H., Abdel-Lateef, E. E., Morsi, E. A. 2017. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of *Lantana camara* and *Cucurbita pepo (Squash)* extracts as well as GC-MS analysis of *Lantana camara essential* oils. World J Pharm Res, 6(1): 137-153.

Erik A-R, Hector C-N, Raquel G-R, Victor V-G, Jose A-R, César P-A,(2017). Functional properties and physicochemical characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage powder as a novel hydrocolloid, Journal of Food Engineering,(209),0260-8774.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108(10), 863-832.

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. Annales Pharmaceutiques Françaises, 64(6), pp.390-396.

Frątczak A, Bylka W i Studzińska-Sroka E(2015). Fenolokwasy – budowa, działanie biologicznei znaczenie w kosmetologii. *Polish Journal of Cosmetology*, 18(4): 270-274.

Gawlik-Dziki U: Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość (2004); 4(41): 29 – 40.

Georgetti, S.R., Casagrande, R., Di Mambro, V.M., Azzolini, A.E., Fonseca, S., Maria, J.V. (2003). Evaluation of the antioxidant activity of Different flavonoids by *the Chemilumine scence* Method. AAPS Pharm Sci, 5(2), 1-5.

Ghedira, K., & Goetz, P. Bruyère commune: *Calluna vulgaris (L.)* Hull. Ou *Calluna vulgáris Salisb.(Ericaceae)*. Phytothérapie.2013; 11(1), 52-55.

Gheraibia, M., & Lahcene, A. (2020). Etude biologique de l'Arbouse fruits de l'Arbousier (*Arbutus unedo L.*) de la région de Souk-Ahras (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

Gourissi Houda et Amari Imene(2017). Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne vitro des extraits méthanolique et aqueux des feuilles du *Zizyphus lotus*. Mémoire du diplôme de Master en Biochimie moléculaire et santé. Université de frères mentouri Constantine 01.

Grunwald J. Janick C. (2006). Guide de la phytothérapie. 2éme édition. Italie : marabout.

Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. and Bernigault R,(2005). Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole; 554-558.

Gupta, S., Parvez, N., Sharma, P. K. (2015). Extraction and characterization of *Hibiscus rosasinensis* mucilage as pharmaceutical adjuvantù. World Appl. Sci. J, 33(1), 136-141.

Hadim, K., Ben Aissou, C. (2018). Effet de traitement thermique sur l'activité antioxydante, anti inflammatoire et antimicrobienne de l'extrait aqueux d'Arbutus unedo L (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Hadjila A. 2016.Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'extrait de *Salvia officinalis* (Sauge) Diplôme de Master en Agronomie Option : En Technologie des industries Agro-Alimentaire Universite De Tlemcen.

Halis, S., & Hassouni, I. (2022). Élaboration et caractérisation d'un emballage comestible actif à base de mucilage *d'Opuntia ficus indica* et de *la gomme de caroube*.

Halliwel B. & M. Whiteman, 2004.- Mesure des réactifs espèces et dommages oxydatifs in vitro et dans les cultures cellulaires. British J. Pharmacol., 142, 31-32.

Haouchine L.,Khennache O.(2017). Etude de l'activité antibactérienne d'extraits de quatre plantes médicinales de Kabylie : *Arbutus unedo* L., *Phlomis bovei* de Noé., *Rosa sempervirens* L. et *Verbascum sinuatum* L. diplôme de Mastère Sciences de la Nature et de la Vie . Option : Microbiologie Appliquée. . Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie.

Harborne, **A.** (1998). Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. springer science & business media.

Hashash, M. M., El-Sayed, M. M., Abdel-Hady, A. A., Hady, H. A., Morsi, E. A. 2017. Nutritional potential, mineral composition and antioxidant activity squash (*Cucurbita pepo L.*) fruits grown in Egypt. Inflammation, 9(10): 11-12.

Henry, R. J. (1964). Clinical chemistry, principles and technics.

Houël Emeline. (2011). Etude De Substances Bioactives Issues De La Flore Amazonienne, Thèse de Doctorat, Spécialité : Chimie des Substances Naturelles Université de Guyane.

Hulya Cakmak ,Hulya Ilyasoglu Buyukkestelli ,Ece Sogut ,V.Hazal Ozyurt ,CansuEkin Gumus-Bonacina ,Sebnem Simsek .(2023),Une revue des avancées récentes des mucilages végétaux et de leurs applications dans l'industrie alimentaire : extraction, propriétés fonctionnelles et bienfaits pour la santé. hydrocolloïdes alimentaires pour la santé vol(3), (100131).

Iserin, P., Masson, M., & Restillini, J. P. (2001). Larousse des plantes médicinales.

Jacques R. Poortmans.(2009) . Biochimie des activités,, physique et sportives, Edition De Boeck université; pp: 501-510

Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina (Balsam Apple)* Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.

Kohen R. and Nyska A,(2002). Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative .Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. Toxicol. Path.; 30:620-650.

Koula, D., & Souhila, T. (2014). Antibacterial Effect of Arbutus Unedo L. Fruit and It's Essential Oils on *Salmonella Typhi* (Atcc 14028) and *Pseudomonas Aeruginosa* (Atcc 27853). International Journal of Applied and Natural Sciences (IJANS), 3(6), 25-30.

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schwein furthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).

Kunkele U et Lobmeyer T.R.,(**2007**)_ Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés .

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

Labbani, Pr. (2021-2022).Chap 4: Composés phénoliques. Biochimie végétale.L3- BPV-FSNV/UFM.

Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P. et Prost M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines. La Presse médicale. 30 : 1076-1081.

Leonti, M., Casu, L., Sanna, F., & Bonsignore, L. (2009). A comparison of medicinal plant use in Sardinia and Sicily—De Materia Medica revisited. Journal of ethnopharmacology, 121(2), 255-2 Prajapati, V. D., Jani, G. K., Moradiya, N. G., Randeria, N. P., Nagar, B. J.,

Mahamane, C. B. (2023). Evaluation du pouvoir antioxydant des fruits de l'arbousier (*Arbutus unedo*) (Doctoral dissertation, University of Tlemcen).

Mahdjar Salha, « Contribution à l'Etude de la composition chimique de la *plante Matricaria pubescens* et à l'évaluation de son activité antioxydante. » Mémoire de Master Académique, Université Kasdi Merbah Ouargla, 2013.

Maleš, Ž., Plazibat, M., Bilušić Vundać, V., & Žuntar, I. (2006). Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree-*Arbutus unedo* L. (Ericaceae). Acta Pharmaceutica, 56(2), 245-250.

Martin LP., Larry Gb.(1977).Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of *Sorghum grain*. J Agri Food Chem.; 25(6): 1268-1273

Martin LP.(2002). Les fruits du québec: histoire et traditions des douceurs de la table .les éditions du septentrion.

Maurice, **N.** (1997). L'herboristerie d'antan à la physiothérapie moléculaire du XXIe siècle .Ed .Lavoisier, Paris.12-14p.

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.

Milbury P-., Richer A.,(2008). Understanding the Antioxidant Controversy. Ed. Praeger:81p Biological Macromolecules

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.

Naikwadi, N. N., &Variya, B. C. (2013). Galactomannan: A versatile biodegradableseed polysaccharide. International Journal of, 60, 83-92.

Nelly Cazau-Beyret. (2013): Prise En Charge Des Douleurs Articulaires Par Aromathérapie Et Phytothérapie, Université Toulouse Iii Paul Sabatier, Faculté Des Sciences Pharmaceutiques, p 192.

Oliveira, I., Baptista, P., Malheiro, R., Casal, S., Bento, A., & Pereira, J. A.(2011) Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo L.*) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. Food Research International. ; 44 (5), 1401-1407.

Ouedraogo, S., Yoda, J., Traore, T. K., Nitiema, M., Sombie, B. C., Diawara, H. Z., Yameogo, J. B., Djande, A., Belemnaba, L., & Kini, F. B. (2021). Production dematières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. International Journal of Biological and Chemical Sciences, *15*(2), 750-772.

Özcan, H., Hacıseferoğulları. (2007). The Strawberry (*Arbutus unedo L.*) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. Journal of Food Engineering. 78(3):1022–1028.

Pallauf, K., Rivas-Gonzalo, J.C., Del Castilloc, M.D., Cano, M.P., & De Pascual-Teresa, S. (2008). Caracterization of the 60haracteriz composition of strawberry tree (*Arbutus unedo L.*) Fruits. Journal of Food Composition and Analysis, 21(4), 273-281.

Parus A : Przeciwutleniające i farmakologiczne właściwości kwasów fenolowych. *Postępy Fitoterapii* 2013; 1 : 48-53.

Peyenet ;Vasson MP.(2003) . An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of met formin towards oxidative stress .métabolisme, 52(5):586-9

Prajapati, V. D., Jani, G. K., Moradiya, N. G., Randeria, N. P., Nagar, B. J., Naikwadi, N. N., &Variya, B. C. (2013). Galactomannan: A versatile biodegradableseed polysaccharide. International Journal of Biological Macromolecules, 60, 83-92.

Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical biochemistry, 269(2), 337-341.

R. Morales .,Valverde, J. Tardío, H. Pascual. (2002). Alimentos silvestres de Madrid : Guía de plantas y setas de uso alimentario tradicional en Ia Comunidad de Madrid : Madrid (*Comunidad Autónoma*).

Rabie, S., berkani, A. (2015). contribution à l'étude des propriétes émulsifiants du mucilage extrait à partir des grains de « trigonella foenum_graecum ». mémoire en master professionnelle en pharmacie .université Saad Dehleb-Blida-1.

Ramdani, B., Benallal, S.(2023).Contribution à l'évaluation de l'effet inhibiteur de *L'Arbutus unedo* sur l'alpha amylase. Mémoire de master. Option : biochimie appliquée. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen

Reille, M.(2015), Angiospermes Arbres et arbustes feuillus leurs fleurs et leurs fruits, Ulmer, Paris.

Saffidine, K. (2015). Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus* caeruleus L. Et de plantago major L. Thése de doctorat.

Salminen, J.-P. (2003). Effects of sample drying and storage, and choice of extraction solvent and analysis method on the yield of birch leaf hydrolyzable tannins. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 1289-1305.

Sarni-Manchado et Cheynier (2006) Composés Phénoliques Dans La Plante Structure, Biosynthèse, Répartition et Roles, Chap01; in : « Les Polyphénols en Agroalimentaire ». Ed Tec et Doc, Lavoisier, Paris. 389p.

Silanikove, N., Perevolotsky, A. et Provenza, FD (2001). Utilisation de produits chimiques liant les tanins pour analyser les tanins et leurs effets post-ingestifs négatifs chez les ruminants. Science et technologie de l'alimentation animale, 91(1-2), 69-81.

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.*).

Tardio, J., Pardo-De-Santayana, M., & Morales, R. (2006). Ethnobotanical review of wild edible plants in Spain. Botanical Journal of the Linnean Society, 152(1), 27-71.

Tosif, M. M., Najda, A., Bains, A., Kaushik, R., Dhull, S. B., Chawla, P., & Tsai, A. Y.-L., McGee, R., Dean, G. H., Haughn, G. W., & Sawa, S. (2021). Seed vulgáris Salisb.(Ericaceae). Phytothérapie.2013; 11(1), 52-55.

Trik.S, (2020). Synthèse sur les activités Biologiques *d'Arbutus unedo L*, option : biochimie appliquée ,Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou, Faculté Des Sciences Biologiques Et Des Sciences Agronomiques ,Département De Biochimie Et Microbiologie.

Wahid, N., Faida, R., Aabdousse, J., Boulli, A., & Bouda, S. (2019). Ethnobotanical uses and distribution status of Arbutus (*Arbutus unedo L.*) in Morocco. Ethnobotany Research and Applications, 18, 1-12.

Walasek-Janusz,M.(2021). A comprehensive review on plant-derived mucilage: Characterization, functional properties, applications, and its utilization for nanocarrier fabrication. Polymers, 13(7), 1066.

Wassmann ,S .,Wassmann ,K .,Nickenig ,G. (2004) . Modulation of oxidant and antioxidant enzyme Expression and function in vascular cells. Hyperten .Vol 44: 381-386

Wichtl M., Anton R. (2009). Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition Lavoisir, Paris : 38, 41

Willför, Stefan; Sundberg, Kenneth; Tenkanen, Maija; Holmbom, Bjarne (2008). "Mannanes dérivés de l'épicéa - une matière première potentielle pour les hydrocolloïdes et de nouveaux matériaux naturels avancés". Polymères glucidiques. 72 (2): 197-210.

Wolin , M.S.Ahmed , M .Gupte ,S.A. (2005) . Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms: basic concepts, current conteroversise , and potential importance of cytosolic NADPH .Am J Phyisol Lung cell Mol physiol .Vol .289 : 159-173-X.

Yadav, H., & Maiti, S. (2020). Research progress in galactomannan-basednanomaterials: Synthesis and application. International Journal of Biological Macromolecules, 163, 2113-2126.