

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur  
et de la recherche scientifique  
Université Chadli Bendjedid  
El Tarf



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة الشاذلي بن جديد  
الطارف

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Agronomiques

جامعة الشاذلي بن جديد  
UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم العلوم الفلاحية



## Mémoire de Fin d'Études

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche

« Sécurité Agroalimentaire et Assurance Qualité »

### THÈME

**Caractérisation phytochimique des feuilles de l'arbousier pour  
l'emploi comme agents de conservation des produits alimentaires**

Soutenu le : 29/06/2022.

Présenté par : Adem Boudellal.

Devant le jury composé de :

<b>Benrachou Noura</b>	MCA	Présidente	UCBET
<b>Rékioua Naouel</b>	MAA	Examinatrice	UCBET
<b>Boudjema Boughrara</b>	MCB	Co-promoteur	UCBET
<b>Medjeldi Saida</b>	MCA	Promoteur	UCBET

Année universitaire 2021 - 2022

# Remerciements

*Tout d'abord, je voudrais remercier le Dieu Tout-Puissant et Miséricordieux de m'avoir donné la force et le courage de faire cet humble travail.*

*J'exprime ma respectueuse gratitude à :*

***Mme Saida Medjeldi**, directrice de ce projet de fin d'étude, pour son encadrement, ses conseils et ses sacrifices afin d'offrir le meilleur la période de préparation de ce travail ;*

***Dr Boudjema Boughrara**, Co-promoteur, pour son soutien continu, son sens de l'humour intemporel, ainsi que pour ses conseils et sa présence lors de la préparation de ce mémoire ;*

***Mme Benrachou Noura**, présidente, qui m'a honoré d'accepter de juger cet humble travail.*

***Mme Rékioua Naouel**, examinatrice, qui m'a honoré d'accepter de juger cet humble travail.*

*Mes sincères remerciements à tous les professeurs qui avec leurs conseils et leurs efforts au cours des dernières années, merci beaucoup pour la qualité de l'enseignement qui nous a été dispensé.*

## *Dédicace*

*Je dédie cet humble travail à mes chers proches :*

*A mes chers parents : **ma mère Yasmina et mon père Lounis** dans leur  
amour et leur tendresse,*

*Et de les accompagner dans toutes les étapes de ma vie. J'espère qu'un jour je  
pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, et que Dieu leur  
donne tout le bonheur.*

***A mon cher frère Muhammad et ma soeur Kawthar** pour leurs  
encouragements et leur soutien moral et matériel.*

*À tous ceux qui m'ont enseigné tout au long de ma vie scolaire, pour tout  
leur amour, leur soutien, leurs encouragements, leur aide et leur présence  
dans ma vie.*

*A tous mes chers amis : Fares, Badri, Rahim...*

*Merci d'être venu, de m'avoir soutenu et encouragé à aller de l'avant.*

*A tous les autres que je n'ai pas cités mais auxquels je pense aussi.*

*Pour toute ma famille*

## Résumé

L'étude s'insère dans le cadre général de l'incidence des produits chimiques de synthèse dans la conservation des aliments et leur impact sur la santé humaine. Face à ce fléau, la recherche s'est axée sur la substitution de ces produits par des substances bioactives isolées à partir de plantes ou de microorganismes. Ce travail porte sur la valorisation des feuilles de l'arbousier (*Arbutus unedo*) collectées dans deux régions de l'Est Algérien (Guelma et El-Tarf). Le rendement d'extraction des polyphénols par macération avec l'eau (100%), s'est avéré meilleur que celui avec le méthanol (30%) que ce soit pour l'extrait de provenance de Guelma (EG) ou celui d'El-Tarf (EE). Par ailleurs, le rendement d'extraction des huiles essentielles par hydro distillation était plutôt faible. L'analyse par spectrophotométrie de la fraction phytochimique a révélé que les extraits les plus riches en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés sont respectivement, l'extrait aqueux (EG1 : 68,02 mg EAG /g RS), l'extrait méthanol (EG2 : 39,26 mg EC /g RS) et l'extrait méthanol (EG2 : 65,56 mg EC /g RS). L'activité antibactérienne des extraits aqueux (EG1 et EE1) a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton, sur contre cinq souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabelis* et *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*). Les résultats ont montré un effet inhibiteur contre *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabelis* et *Klebsiella pneumoniae*. L'activité antioxydante testée avec le radical DPPH et le molybdène a montré des IC<sub>50</sub> remarquables respectivement de l'ordre de 12.56 et 502.67 µg/ ml. A la lumière de ces résultats, les feuilles de l'arbousier pourraient être exploitées comme une source d'agents antioxydants et antibactériens naturels pour des applications pharmaceutiques cosmétiques et alimentaires.

**Mots clés :** *Arbutus unedo*, huiles essentielles, extraction et dosage des polyphénols, activités antibactérienne et antioxydante.

## Abstract

The study is part of the general framework of the incidence of synthetic chemicals in food preservation and their impact on human health. Faced with this scourge, research has focused on the substitution of these products by bioactive substances isolated from plants or microorganisms. This work deals with the valorization of the leaves of the strawberry tree (*Arbutus undedo*) collected in two regions of Eastern Algeria (Guelma and El-Tarf). The extraction yield of polyphenols by maceration with water (100%) was better than that with methanol (30%) for both the Guelma (EG) and El-Tarf (EE) extracts. On the other hand, the extraction yield of essential oils by hydro distillation was rather low. The spectrophotometric analysis of the phytochemical fraction revealed that the extracts richest in polyphenols, flavonoids and condensed tannins are respectively, the aqueous extract (EG1: 68.02 mg EAG /g RS), the methanol extract (EG2: 39.26 mg EC /g RS) and the methanol extract (EG2: 65.56 mg EC /g RS). Antibacterial activity of the aqueous extracts (EG1 and EE1) was done by the diffusion method on Mueller-Hinton agar, against five bacterial strains *écrire les noms des souches en italique* (*Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*). The results showed that there is an effect with (*Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* and *Klebsiella pneumoniae*). The antioxidant activity tested with DPPH radical molybden reagent showed interesting IC<sub>50</sub> in the range of 12.56 and 502.67 µg/ ml respectively. In the light of these results, the leaves of the strawberry tree could be exploited as a source of natural antioxidant and antibacterial agents for cosmetic and food pharmaceutical applications.

**Key words:** *Arbutus undedo*; essential oils; extraction and analysis of polyphenols; antibacterial and antioxidant activities.

## الملخص

الدراسة هي جزء من الإطار العام لتأثير المواد الكيميائية الاصطناعية في حفظ الأغذية وتأثيرها على صحة الإنسان. في مواجهة هذه الآفة، ركز البحث على استبدال هذه المنتجات بمواد نشطة بيولوجيًا معزولة عن النباتات أو الكائنات الحية الدقيقة. يركز هذا العمل على تثمين أوراق شجرة الفراولة (*Arbutus unedo*) التي تم جمعها في منطقتين بشرق الجزائر (قالمة والطارف). ثبت أن مردود استخلاص البوليفينول بالنقع بالماء (100%) أفضل من الميثانول (30%) سواء بالنسبة لمستخلص قالمة (EG) أو مستخلص الطارف (EE). بالإضافة إلى ذلك، كان إنتاج استخراج الزيوت العطرية بالتقطير المائي منخفضًا نوعًا ما. أظهر التحليل الطيفي للكسر الكيميائي النباتي أن المستخلصات الأكثر ثراءً في البوليفينول والفلافونويدات والعفص المكثف هي على التوالي المستخلص المائي (EG1: 68.02 مجم / EAG جم / RS) ومستخلص الميثانول (EG2: 39.26 مجم / EC جم / RS) ومستخلص الميثانول (EG2: 65.56 مجم / EC جم / RS). أجريت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المائية (EG1 و EE1) عن طريق طريقة الانتشار على أجار Mueller-Hinton، على خمس سلالات بكتيرية (*Staphylococcus aureus* و *mirabelis Proteus* و *Klebsiella pneumoniae* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli*). أظهرت النتائج تأثير مثبط ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* و *mirabelis Proteus* و *Klebsiella pneumoniae*. أظهر النشاط المضاد للأوكسدة الذي تم اختباره باستخدام جزيء DPPH والموليبيدين IC50s ملحوظًا على التوالي بترتيب 12.56 و 502.67 ميكروغرام / مل. في ضوء هذه النتائج، يمكن استغلال أوراق شجرة الفراولة كمصدر لمضادات الأوكسدة الطبيعية والعوامل المضادة للبكتيريا لتطبيقات مستحضرات التجميل والأدوية الغذائية.

**الكلمات المفتاحية:** *Arbutus unedo*، الزيوت الأساسية، استخراج وجرعة البوليفينول، الأنشطة المضادة

للبيكتيريا ومضادات الأوكسدة.

# Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
<b>PARTIE 1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>3</b>
<b>CHAPITRE I DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>4</b>
I. LA PLANTE ETUDIÉE : <i>ARBUTUS UNEDOL</i> .....	3
I.1. Description botanique.....	3
I.2. Distribution géographique .....	3
I.3. Classification.....	4
II. LES ANTIOXYDANTS.....	5
II.1. Généralités .....	5
II.2. Les types d'antioxydants .....	5
II.2.1. Les antioxydants enzymatiques .....	5
II.2.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	5
III. LES POLYPHENOLS .....	6
III.1. Généralités .....	6
III.2. Classification des phénols.....	7
III.2.1. Les acides phénoliques .....	7
III.2.2. Les flavonoïdes.....	8
III.2.3. Les lignanes.....	9
III.2.4. Les stilbènes .....	9
III.2.5. Les tanins .....	9
III.3. Propriétés biologiques des polyphénols .....	10
IV. LES HUILES ESSENTIELLES.....	10
IV.1. Généralités .....	10
IV.2. Composition des huiles essentielles.....	11
IV.2.1. Terpènes et terpénoïdes.....	11
IV.2.2. Composés aromatiques .....	12
IV.2.3. Composés d'origine divers.....	12
IV.3. Propriétés biologiques des terpènes.....	12
V. LES SOUCHES BACTÉRIENNES TESTÉES.....	13
V.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
V.1.1. Définition.....	13
V.1.2. Classification.....	13
V.2. <i>Escherichia coli</i> .....	13
V.2.1. Définition.....	13
V.2.2. Classification.....	14
V.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	14
V.3.1. Définition.....	14

V.3.2. Classification.....	14
V.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	15
V.4.1. Définition.....	15
V.4.2. Classification.....	15
<b>PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE</b>	
<b>CHAPITRE II MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>16</b>
I. MATERIEL VEGETAL .....	17
II. PREPARATION DES EXTRAITS BRUTS DE LA PLANTE .....	17
III. ANALYSE DES COMPOSES PHYTOCHIMIQUES .....	18
III.1. Dosage des polyphénols totaux .....	18
III.2. Dosage des flavonoïdes.....	19
III.3. Dosage des tanins condensés .....	20
IV. EVALUATION DU POUVOIR ANTIOXYDANT .....	21
IV.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	21
IV.2. Capacité antioxydant totale.....	23
V. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES FOLIAIRES .....	24
V.1. Détermination du rendement.....	24
VI. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE .....	25
VI.1. Matériel.....	25
VI.1.1. Souches bactériennes .....	25
VI.1.2. Milieux de culture.....	25
VI.2. Méthodes .....	26
VI.2.1. Préparation des extraits .....	26
VI.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne par diffusion sur milieu solide .....	26
<b>CHAPITRE III RESULTATS ET DISCUSSIONS.....</b>	<b>27</b>
I. RENDEMENTS D'EXTRACTION DES POLYPHENOLS.....	28
II. RENDEMENTS D'EXTRACTION EN HUILES ESSENTIELLES .....	29
III. CARACTERISTIQUE PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS D'A. UNEDO .....	30
III.1. Teneur en phénols totaux .....	30
III.2. Teneur en flavonoïdes totaux .....	31
III.3. Teneur en tanins condensés.....	33
IV. ACTIVITES ANTIOXYDANTES DES DIFFERENTS EXTRAITS AQUEUX D'A. UNEDO.....	34
IV.1. Activité Balayage DPPH.....	34
IV.2. Capacité antioxydante totale.....	35
V. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE .....	36
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>39</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>40</b>

## *Liste des Abréviations*

**Abs** : Absorbance

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**C°** : degré Celsius

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle)

**EAG / gE** : Equivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

**g** : gramme

**HE** : huile essentielle

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : acide phosphotungstique

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice de 50%.

**I%** : Pourcentage d'inhibition

**Mg** : milligramme

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**O<sub>2</sub>** : Oxygène

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>** : Anion super oxyde

**REH** : Rendement en huile essentielle

**ROO** : Radical peroxyde

**ROOH** : Hydroperoxyde

**µg** : micro gramme

## *Liste des figures*

<i>Figure</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
<b>01</b>	Arbutus unedo L	<b>03</b>
<b>02</b>	Carte de répartition approximative d'Arbutus unedo L. dans la région méditerranéenne.	<b>04</b>
<b>03</b>	Structure générale des flavonoïdes	<b>08</b>
<b>04</b>	La structure des stibines	<b>09</b>
<b>05</b>	(a.c). la plante Arbutus unedo L. (b.d). La localisation géographique du lieu de récolte. (Région de Guelma). (Région d'el Tarf)	<b>17</b>
<b>06</b>	filtrer puis sécher l'extrait	<b>18</b>
<b>07</b>	Dosage des polyphénols dans les différents extraits Des feuilles d' <i>A. unedo</i> photo montrant la différence des Couleurs entre « témoins » et « extraits »	<b>19</b>
<b>08</b>	Dosage des flavonoïdes montrant la différence de couleur Entre « témoins » et « extraits »	<b>20</b>
<b>09</b>	Dosage des tanins condensés montrant la différence de couleur Entre « témoins » et « extraits »	<b>20</b>
<b>10</b>	Réaction du radical DPPH avec un donneur d'hydrogène (antioxydant).	<b>22</b>
<b>11</b>	Activité antioxydante : tubes montrant la différence De couleur entre « témoin » et différentes concentrations « d'extrait ».	<b>23</b>
<b>12</b>	Capacité antioxydante totale : tubes montrant la différence De couleur entre « témoin » et différentes concentrations « d'extrait »	<b>23</b>
<b>13</b>	Extraction par hydro distillation	<b>24</b>
<b>14</b>	Rendements des différents extraits des feuilles <i>Arbutus unedo</i> L.	<b>28</b>
<b>15</b>	Rendements en huiles essentielles des feuilles de d' <i>Arbutus unedo</i>	<b>29</b>
<b>16</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	<b>30</b>

<b>17</b>	Teneur en phénols totaux des différents extraits des feuilles d' <i>A. unedo</i> .	<b>31</b>
<b>18</b>	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux	<b>32</b>
<b>19</b>	Teneur en flavonoïdes des différents extraits des feuilles d' <i>A. unedo</i> .	<b>32</b>
<b>20</b>	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins	<b>33</b>
<b>21</b>	Teneur en tanins dans des différents extraits des feuilles d' <i>A. unedo</i> .	<b>33</b>
<b>22</b>	L'activité de piégeage des radicaux DPPH de Trolox et de l'extrait aqueux des feuilles d' <i>A. unedo</i> .	<b>34</b>
<b>23</b>	La capacité antioxydant pour le trolox et de l'extrait aqueux des feuilles de <i>A. unedo</i> .	<b>35</b>

## *Liste des tableaux*

<i>Tableau</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
<b>01</b>	Quelques classes des polyphénols	<b>7</b>
<b>02</b>	Rendements des extraits	<b>28</b>
<b>03</b>	Diamètres d'inhibition des souches bactériennes par l'huile essentielle d' <i>Arbutus unedo</i> (région de Guelma)	<b>36</b>
<b>04</b>	Diamètres d'inhibition des souches bactériennes de huile essentielle d' <i>Arbutus unedo</i> (région d'el Tarf)	<b>37</b>

# *Introduction*

De nos jours, l'utilisation de certains antioxydants synthétiques a été suspendue en raison de leurs effets néfastes sur la santé humaine entre autres, l'effet cancérigène. De ce faite, les traitements à base de plantes et le retour à la médecine traditionnelle sont revenus au premier plan, d'autant plus que la phytothérapie propose des remèdes à base d'extraits naturels qui sont bien acceptés par l'organisme. La recherche s'est alors concentrée sur l'investigation de nouvelles sources d'antioxydants naturels extraits à partir de plantes ou de microorganismes.

Les plantes médicinales représentent une source naturelle d'antioxydants grâce à leurs principaux métabolites secondaires, principalement les polyphénols et les huiles essentielles [Bursal et Köksal, \(2011\)](#). Ces derniers mise à part leur implication dans le processus de défense de la plante, sont doués d'activités biologiques importantes et variées et incluent les effets antiallergique, antibactérien, anti carcinogène, anti-inflammatoire, anti thrombotique, antiviral, cardioprotecteur, hépatoprotecteur, vasodilatateur etc. [Noureddine et al.,\(2019\)](#) ; [Medjeldi et al., \(2021\)](#). En outre, de nombreuses substances bioactives purifiées à partir d'extraits phénoliques ou de composés volatils de plantes, sont employées comme ingrédients dans de nombreux secteurs, tels que le cosmétique, l'industrie pharmaceutique, l'agroalimentaire, l'agriculture, la pêche. La plupart de ces molécules bioactives ont été caractérisées comme étant d'excellents antioxydants qui interviennent dans le contrôle de deux types de réaction : i) le transfert d'atomes d'hydrogène et ii) le transfert d'un électron unique [Zuzarte et Salgueiro, \(2015\)](#) ; [Noureddine et al., \(2019\)](#).

La richesse de la flore algérienne en plantes médicinales et aromatiques est incontestable. Selon certains auteurs, on dénombre, dans la nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, 289 espèces assez rares, 647 rares, 640 très rares, 35 rarissimes et 168 endémiques [Blama et Mamine, \(2013\)](#). La majorité d'entre elles poussent en milieux fragiles et demeurent très peu étudiées. Leur utilisation au niveau de n'importe quel secteur, sollicite l'intérêt récent des études pharmacologiques où de tests de toxicité.

Diverses propriétés médicinales ont été attribuées aux fruits, aux feuilles, aux racines et/ou son écorce de l'arbousier. Des études chimiques effectuées sur les feuilles et les fruits de l'arbousier ont montré la présence d'huile essentielle, de flavonoïdes, de proanthocyanidines, de glucosides iridoïdes, de sucres, d'acides non volatils et phénoliques, de vitamines C et E et de caroténoïdes [Barros et al., \(2010\)](#) ; [Maleš et al., \(2013\)](#). Les feuilles d'A. unedo sont utilisées comme antiseptique urinaire, antidiabétique, antidiarrhéique, astringent, dépuratif, antioxydant, antihypertenseur, antithrombotique, anti-inflammatoire ([Andrade et al., 2010](#) ; [Maleš et al., 2013](#)).

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer les activités antioxydante et antibactérienne de l'extrait phénolique et celui des composés volatiles des feuilles de l'arbousier en vue de leur utilisation comme additifs dans la conservation des produits alimentaires. Pour se faire, nous avons tout d'abord testé l'existence des huiles essentielles au niveau des feuilles sèches et fraîches. Après avoir vérifié l'effet des solvants d'extraction sur la quantité de la fraction phénolique totale, cette dernière a été évaluée du point de vue activités antioxydante et antibactérienne.

*Partie 1*

*Synthèse bibliographique*

*Chapitre I*  
*DONNÉES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

## I. LA PLANTE ETUDIEE : *Arbutus unedo* L

### I.1. Description botanique

*Arbutus unedo* L. C'est un arbuste à feuilles persistantes, de moins de 4 m de hauteur avec des tiges dressées, de petites branches rouges et une longue vie. Les feuilles riches en tanin restent fermes toute l'année, avec des bords dentelés de 5 à 10 cm de long et une tige courte de 7 à 15 mm de long. Les fleurs en forme de cloche, vert-vert, tombent en grappes et apparaissent en septembre et octobre, avec les fleurs lorsque le fruit comestible (ou arbousier) mûrit à l'automne [Celikel et al., \(2008\)](#). Il a un diamètre de 1 à 1,7 cm. Le fruit est de texture granuleuse et légèrement délicat, avec une peau rugueuse recouverte de petits points coniques, et la couleur passe du vert au jaune et de l'orange au rouge vif à maturité [\(Tutin et al., 1972\)](#).



**Figure 1.** *Arbutus unedo* L (photo, [Boudellal](#))

### I.2. Distribution géographique

*Arbutus unedo* L, communément appelé arbousier, se trouve en Europe occidentale, centrale et méridionale, dans le nord-est de l'Afrique, dans les îles Canaries et dans la majeure partie de l'Asie occidentale.

La distribution d'*Arbutus unedo* L peut être observée, principalement dans les zones côtières et intérieures avec un climat tempéré et un été sec [Tores et al., \(2002\)](#), et la Méditerranée, en particulier le Portugal, l'Espagne, la France, l'Italie, l'Albanie, la Croatie, la Bosnie, le Monténégro, la Grèce, la Turquie et la Iles méditerranéennes, à environ 600 m d'altitude [Ayaz et al., \(2000\)](#), la fraise d'Algérie est bien représentée dans les montagnes algériennes (liste des plantes médicinales d'Afrique du Nord), notamment dans les forêts de

chêne-liège (dans les régions de Jijel, Skikda et El Tarf). *Arbutus unedo*. L préfère les substrats siliceux non carbonatés et les sols alcalins relativement acides (Celikel et al., 2008).



**Figure 2.** Carte de répartition approximative d'*Arbutus unedo* L dans la région méditerranéenne (Oliveira, 2010).

### I.3. Classification

- Règne : végétal.
- Embranchement : Spermatophytes
- Sous-embranchement : Angiospermes.
- Classe : Magnoliopsidées
- Sous-classe : Gamopétales.
- Ordre : Ericales
- Famille : Ericacées
- Genre : *Arbutus*
- Espèce : *Arbutus unedo* L (Guignard, 2001).

## II. Les antioxydants

### II.1. Généralités

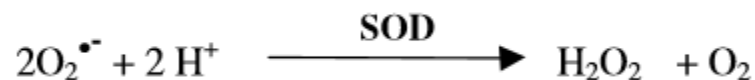
Un antioxydant est une substance à faible concentration qui a la capacité de concurrencer les substrats oxydants et de retarder ou d'empêcher l'oxydation (Tanoh et al., 2018).

### II.2. Les types d'antioxydants

#### II.2.1. Les antioxydants enzymatiques

##### II.2.1.1. La super oxyde dismutase (SOD)

Les SOD sont des métalloprotéines qui représentent une des premières lignes de défense contre les oxydants. Elles assurent la catalyse de la dismutation mono-électronique de l'oxygène ( $O_2^{\bullet-}$ ) en dioxygène et  $H_2O_2$  (Hamma et al., 2015).



##### II.2.1.2. La catalase

C'est une hémoprotéine qui décompose le  $H_2O_2$  en  $H_2O$  et  $O_2$ . Elle est localisée dans les peroxysomes Medjeldi, (2012). L'activité de la catalase est liée avec la concentration



##### II.2.1.3. La glutathion peroxydase (GPX)

Les GPX sont des sélène-protéines qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène et les hydro-péroxydes de lipides en  $H_2O$  et en alcools lipidiques, respectivement (Hamma et al., 2015).

### II.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

#### II.2.2.1. L'acide ascorbique

C'est le meilleur piègeur des ROS. Il empêche la peroxydation lipidique par renouvellement de la vitamine E. Il a plusieurs fonctions au système immunitaire, synthèse du collagène et des globules rouges, aussi dans le métabolisme de fer (Haleng et al., 2007).

### II.2.2.2. La vitamine E

C'est un ensemble d'isomères, les tocophérols et tocotriénols, son rôle est la formation d'un radical tocophéryle à partir de la réaction avec le radical peroxy (ROO-), elle inhibe aussi la propagation de la peroxydation lipidique (Haleng et al., 2007).

### II.2.2.3. Le $\beta$ carotène

C'est le précurseur de la vitamine A. Il a la capacité de piéger l'oxygène singulet, et peut inhiber les réactions en chaîne de lipo-péroxydation (Goudable et Favier, 1997).

### II.2.2.4. Le sélénium

C'est un oligoélément qui se trouve dans les aliments riches en protéines animales et certains fruits secs, il joue un rôle de cofacteur de la glutathion peroxydase et réduit l'oxydation des lipoprotéines, d'ADN et des lipides (Bennamara, 2017).

## III. Les polyphénols

### III.1. Généralités

Les composés phénoliques peuvent être définis comme des molécules indirectement nécessaires à la vie végétale et donc appelés métabolites secondaires. Il se caractérise par la présence de cycles aromatiques avec des groupes hydroxyle libres ou des glucides.

Les polyphénols sont biologiquement actifs : ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, agents anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes, antioxydants, agents antibactériens et antibactériens (Djemai et al., 2008).

Ils sont présents dans toutes les parties des plantes (racines, tiges, feuilles, fleurs), et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques d'une plante tels que la croissance cellulaire et la germination des graines. Ces composés phénoliques permettent de distinguer les signaux entre les plantes. Ils protègent plantes de diverses attaques, telles que celles causées par des organismes pathogènes, ainsi que de divers stress. Ces composés jouent donc un rôle (Macheix et al., 2005).

### III.2. Classification des phénols

Le terme de composés phénoliques couvre un groupe très vaste et diversifié de produits chimiques. Le tableau 01 montre quelques classes des polyphénols en fonction du nombre d'atomes de carbone dans la molécule.

**Tableau 1.** Quelques classes des polyphénols (Bruneton, 1999).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
<b>C6</b>	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
<b>C6-C1</b>	Acides Hydroxybenzoïques	Acide p-hydroxybenzoïque	Epices, Fraise
<b>C6-C3</b>	Acides Hydroxycinnamiques	Acide caféique, Acide férulique	Pomme de terre, pomme
	Caumarines	Scopolétine	Citrus
	Naphtoquinones	Juglone	Noix
<b>C6-C2-C6</b>	Stilbènoïdes	Résvératrol	Vigne
<b>C6-C3-C6</b>	Flavonoïdes	Kaempférol, Catéchine, Naringénine	Fruits, légumes, pomme, Raisin
	Iso flavonoïdes	Daidzéine	Soja, Pois
	Anthocyanes	Dalphinol	Dalbergia sissoo
<b>(C6-C3)<sub>2</sub></b>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
<b>(C6-C3)<sub>n</sub></b>	Lignines		Bois, Noyau des fruits
<b>(C6-C3-C6)<sub>n</sub></b>	Tanins	Procyanidol	Raisin rouge, Kaki

#### III.2.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts qui sont les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques.

### ❖ *Acides hydroxycinnamiques*

Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale le base de type (C6-C3). Existents souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, sont responsables de la réactivité chimique importante de ces molécules (Harrar, 2012).

### ❖ *Acides hydroxybenzoïques*

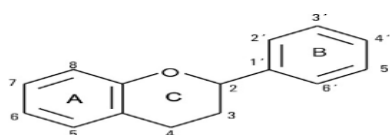
Ils sont les dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type (C6-C1). Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont : l'acide benzoïque, l'acide vanillique, l'acide gallique et l'acide protocatéchique (Harrar, 2012).

## III.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont généralement de puissants antioxydants ; ils constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 5000 composés différents identifiés dans le règne végétal La structure chimique de base est constituée de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné (**Figure 3**), que désigne Synthèse bibliographique Plantes et métabolites secondaires la lettre C. Selon le degré d'hydroxylation et l'insaturation des cycles, on distingue 5 classes de flavonoïdes : les flavanones, les flavonols, les flavones, les flavanols, et les isoflavones Massaux, (2012).

Les flavonoïdes sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antiseptiques vasculoprotectrices, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et même anti tumorales significatives (Bruneton, 2009 ).

Ils sont principalement retrouvés dans les agrumes : citrons, oranges, pamplemousses et dans une moindre mesure dans les abricots, cerises, mûres, raisins, papayes, brocolis, et dans les tomates (Heim et al., 2002).



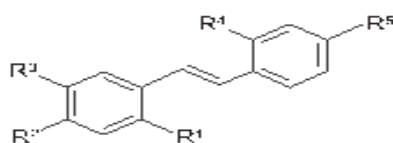
**Figure 3.** Structure générale des flavonoïdes

### III.2.3. Les lignanes

Certains lignanes présentent la particularité d'avoir des caractéristiques structurales (cycle et groupements hydroxyle en particularité) communes avec les hormones sexuelles, leur permettant de se lier aux récepteurs d'œstrogènes. On les qualifie alors de SERM (specificestrogenre ptormodulators) ou, plus couramment, de phytoestrogènes. Par ailleurs, comme de nombreux composés phénoliques, ils peuvent être qualifiés d'antioxydants. Les graines de lin sont une source alimentaire importante de lignanes, bien que ces composés se trouvent également en quantités moindres dans plusieurs autres céréales, dans les légumineuses et dans les légumes.

### III.2.4. Les stilbènes

Ils existent en petites quantités dans l'alimentation humaine. Le polyphénol représentatif de cette classe est le resvératrol qui est le plus couramment étudié. Cette molécule que l'on trouve en abondance dans le raisin et le vin, présente des activités pharmacologiques dans la régression de certains, des désordres neurologiques et du processus inflammatoire (*Figure 4*) (Ines, 2010).



**Figure 4.** La structure des stilbènes

### III.2.5. Les tanins

Les tanins sont des substances végétales de la famille des polyphénols, le plus souvent hydrosolubles, qui possèdent la capacité de précipiter les protéines, les alcaloïdes, et les polysaccharides, à partir de leur solution aqueuse. Ces métabolites secondaires sont utilisés par les plantes supérieures (arbres, plantes à fleur, etc) comme moyen de défense chimique contre les parasites Bruneton, (2009). Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes :

#### ❖ Les tanins condensés

Dans la littérature, les tanins condensés peuvent être également nommés proanthocyanidines ou tanins catéchiques. Ces composés, qui correspondent à des

polymères de flavan-3-ols, peuvent être répertoriés en différentes classes : les monomères, les dimères, les oligomères et les polymères (Tarascou, 2005).

#### ❖ Les tanins hydrolysables

Ce sont des oligo-ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acide-phénol. Le sucre est généralement le glucose. L'acide -phénol est soit l'acide gallique dans les tannins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins ellagiques (Jean, 2009).

Les tanins sont doués d'un pouvoir antioxydant. C'est ainsi que les tanins hydrolysables inhibent la peroxydation des lipides et que les tanins condensés inhibent la formation des superoxydes (Bruneton, 1999).

### III.3. Propriétés biologiques des polyphénols

Les polyphénols jouent également un rôle dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant avec diverses hormones de croissance des plantes. Il permet aux plantes de tolérer les rayons ultraviolets. Certains agissent comme des phytoalexines, comme les isoflavones, pour combattre les infections causées par des champignons ou des bactéries.

Les colorants sans azote participent au processus de pollinisation : ils attirent l'attention des insectes pollinisateurs ou, au contraire, dessinent des silhouettes pour éloigner les prédateurs. D'autres sont des inhibiteurs d'enzymes qui interfèrent avec la protection des humains contre certaines maladies.

Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs, colorants, arômes ou conservateurs (Bruneton, 1999).

## IV. Les huiles essentielles

### IV.1. Généralités

Les huiles essentielles appelées encore « essences » ou « essences aromatiques végétales » sont les substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes. Elles peuvent être obtenues par expression, enfleurage, mais la méthode de distillation à la vapeur est la plus couramment utilisée Burt, (2004). La plupart des végétaux renferment des huiles essentielles, mais habituellement en quantité infime, seules les plantes dites «aromatiques» en produisent en quantité suffisante

## IV.2. Composition des huiles essentielles

Ce sont des mélanges complexes et variables de différents composés qui se dissolvent les uns dans les autres et forment une solution homogène. Ces composants appartiennent presque exclusivement à deux groupes aux origines biologiques et génétiques différentes : les terpénoïdes d'une part, et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part (Sellah, 2018).

Selon Bruneto, (1999), cette structure varie en fonction :

Du nombre d'atomes de carbone qui la constitue tel que les monoterpènes et les sesquiterpènes rarement les di terpènes ;

Du caractère saturé ou insaturé des liaisons ;

De leur agencement linéaire ou cyclique ;

De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...) et de la nature des groupes fonctionnels à savoir :

- Terpènes : RI-HC=CH-R2.
- Alcools terpéniques : R-OH.
- Cétones : RI-CO-R2.
- Phénols : C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>-OH.
- Aldéhydes : R-CHO.
- Esters : RI-COO-R2.
- Ethers : RI-O-R2.

### IV.2.1. Terpènes et terpénoïdes

Une huile essentielle renferme majoritairement des terpénoïdes ou terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques. Seuls les monoterpènes en C<sub>10</sub> et les sesquiterpènes en C<sub>15</sub> peuvent être extraits par distillation contrairement aux autres terpènes (di terpènes en C<sub>20</sub> et triterpènes en C<sub>30</sub>). Ces derniers sont de formule générale (C<sub>5</sub> H<sub>8</sub>)<sub>n</sub> Meghazi, (2015).

#### ❖ Monoterpènes

Et sont surtout présents chez les Conifères. Les mono terpènes sont issus de la condensation de l'isopentényle pyrophosphate (IPP) et le diméthylallyl Pyrophosphate (DMAPP), si la condensation s'effectue entre 2 molécules DMAPP, on parlera de mono terpènes irréguliers par opposition à ceux dits réguliers obtenus par

condensation entre l'IPP et le DMAPP). Ils ne contribuent pas seulement à donner leurs odeurs et leurs arômes aux plantes aromatiques, mais se révèlent également actifs dans le contrôle des insectes phytophages et sont considérés comme des composés anti-infectieux ; bactéricides, virucides et fongicides (Meghazi, 2015).

#### ❖ *Sesquiterpènes*

C'est la classe la plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000 molécules. Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents.

#### **IV.2.2. Composés aromatiques**

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. On peut citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle.

#### **IV.2.3. Composés d'origine divers**

En générale, ils sont de faibles poids moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions par exemple : l'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille (Hessas et Simoud, 2018).

#### **IV.3. Propriétés biologiques des terpènes**

Les fonctions les plus combinées des terpènes/toutes classes sont des phytoalexines efficaces (agissant dans les maladies à tâche des plantes), comme insecticides naturels contre certaines familles de petits insectes, et comme défense contre diverses agressions extérieures.

De plus, ils sont également connus sous le nom de phéromones et de molécules de signalisation. Présents principalement dans les tissus et aiguilles des conifères et des résines, les terpènes peuvent jouer de nombreux rôles différents chez les conifères.

La famille de molécules connues pour être des agents défensifs contre diverses attaques sur les conifères sont principalement les monoterpènes et les sesquiterpènes.

Selon certaines études, les changements environnementaux tels que le changement de température (augmentation en majorité) et l'augmentation de pollution dans

l'atmosphère ainsi que les changements saisonniers auraient un effet sur la quantité de terpènes présents (en majorités les mono et les sesquiterpènes) dans les aiguilles des conifères (Nault, 2003).

Cela confirme que les terpènes jouent un rôle important dans la défense des arbres, car en produisant des quantités différentes de terpènes en période de stress, cela démontre que les arbres sont aptes à répondre à d'autres stimuli et qu'ils ne répondent pas seulement aux variations des saisons.

## V. Les SOUCHES BACTERIENS TESTES

### V.1. *Staphylococcus aureus*

#### V.1.1. Définition

Les *staphylocoques* appartiennent à la famille des *Micrococcaceae* et regroupent des espèces bactériennes (cocci à Gram positif) constituées de cellules rondes. Sa croissance optimale est atteinte à 37°C, mais la germination a lieu à 10°C et 40°C. Cultiver dans un milieu à forte concentration de sel, tel que le milieu de Chapman avec 7,5 % de NaCl (Djenadi, 2011).

#### V.1.2. Classification

- Domaine : Bactéria
- Phylum : Ficcus
- Classe : Micrococci
- Ordre : Micrococcales
- Famille : *Micrococcaceae*
- Genre : *staphylococcus*
- Espèce : *staphylococcus aureus* (Prescott et al., 2003).

### V.2. *Escherichia coli*

#### V.2.1. Définition

Les *Escherichia coli* Ce sont des Bacilles à gram négatif, qui se développent sur gélose ordinaire (par exemple : gélose nutritive GN). Ils sont habituellement mobiles et pourvus defimbriae, ont un métabolisme respiratoire lorsque les conditions sont anaérobies. Leur réactions typiques sont les suivantes : fermentent le glucose, indol+,

uréase-négative, H<sub>2</sub>S- négative, lactose positif, gazogène, mais ne produisent pas d'acétone (Singleton, 2005).

### V.2.2. Classification

- Domaine : Bactéria
- Phylum : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Enterobacteriales
- Famille : Enterobacteriaceae
- Genre : *Escherichia*
- Espèce : *Escherichia Coli* (Prescott et al., 2003).

### V.3. *Pseudomonas aeruginosa*

#### V.3.1. Définition

*P. aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif, fine, droite et très mobiles grâce à un flagelle polaire. Elle a une ciliature monotriche et est dépourvue de spores et de capsules. Cette bactérie croit à 37°C et même à 42°C. Elle dégage une odeur aromatique de seringa. La caractéristique fondamentale de cette espèce est la production de pigments spécifiques : pyoverdine et pyocyanine (Fauchère et Avril, 2002).

#### V.3.2. Classification

- Domaine : Bactéria
- Phylum : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Pseudomonasales
- Famille : Pseudomonaceae
- Genre : *Pseudomonas*
- Espèce : *Pseudomonas Aeruginosa* (Prescott et al., 2003).

## V.4. *Klebsiella pneumoniae*

### V.4.1. Définition

*Klebsiella* est toujours une bactérie intestinale inactive, un bacille à Gram négatif, Généralement affiché sous forme de capsule, caractères positifs ONPG, caractères positifs VP ; Ils sont une voiture Une partie de la police de Kish. Le genre *Klebsiella* comprend cinq espèces, dont des espèces Il s'agit de *Klebsiella pneumoniae*. Ce type a toutes les caractéristiques entériques. Taille 2 à 6 de long et un de large, ce sont des bactéries La coexistence de l'homme et de l'animal mène-t-elle à l'infection ? Infections communautaires (voies urinaires et voies respiratoires) et infections opportunistes chez les patients à l'hôpital (Freney et al., 2000).

### V.4.2. Classification

- Règne : Bactéria
- Embranchement : Protéobactéria
- Classe : Gamma Proteobacteria
- Ordre : Enterobacterales
- Famille : Enterobacteriaceae
- Genre : *Klebsiella*
- Espèce : *Klebsiella pneumoniae*

*Partie 2 :*  
*Etude expérimentale*

*Chapitre II*  
*Matériel et méthodes*

## I. Matériel végétal

La plante étudiée est l'arbousier (*Arbutus unedo* L.) Les plantes ont été récoltées de deux zones situées à l'Est Algérien (régions d'El-Tarf et Guelma) et ceci durant le mois de janvier de l'année 2022.



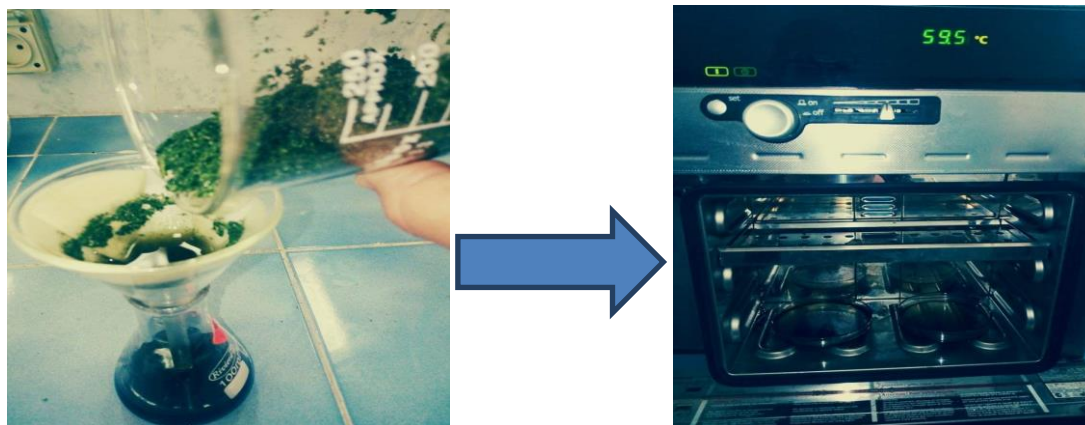
**Figure 5.** L'arbousier (*Arbutus unedo* L) (a,c) (photo prise par Boudellal)

Localisation géographique du lieu de récolte : (b) région d'El-Tarf, (d) région d'El-Tarf.

## II. Préparation des extraits bruts de la plante

Les extraits des feuilles de la plante sont obtenus par **macération**. Cette méthode d'extraction consiste en un simple contact entre les feuilles et le solvant.

Les feuilles préalablement séchées à l'ombre, sont broyées finement au mixeur. 5 g de la poudre obtenue sont mélangés à 100 ml de solvant (**eau 100% ou méthanol 30%**). Le mélange est porté sous agitation douce pendant 24h, à température ambiante. Ensuite, il est filtré sur papier filtre (wattman). Le filtrat obtenu est transvasé dans une grande boîte de pétrie en verre qui est placée dans une étuve (50°C) jusqu'à complète évaporation. La pâte sèche obtenue est conservée au congélateur jusqu'à utilisation ultérieure.



**Figure 6.** Filtration et séchage de l'extrait (photo, Boudellal).

**Remarque :** Au final, on a quatre extraits : extrait aqueux El-Tarf (EE1) ; extrait aqueux Guelma (EG1) ; extrait méthanol El-Tarf (EE2) ; extrait méthanol Guelma (EG1).

Les rendements des extraits ont été calculés en utilisant la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = m_0/m_1 \times 100$$

**m<sub>0</sub>** : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé.

**m<sub>1</sub>** : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche (5 g).

### III. Analyse des composés phytochimiques

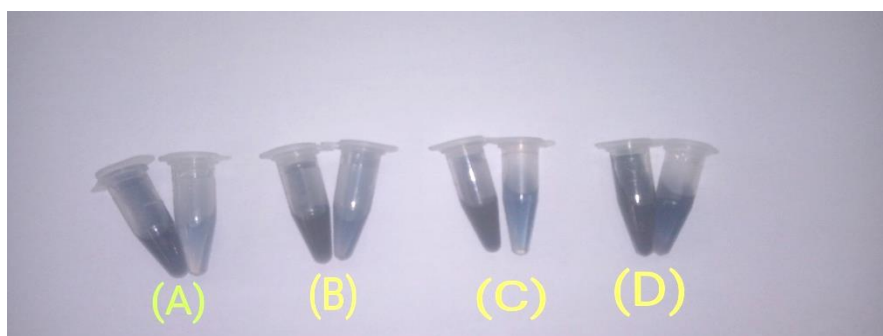
#### III.1. Dosage des polyphénols totaux

##### a/Principe

Une réaction d'oxydoréduction est à la base de ce dosage. Le réactif de Folin-ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acides phosphotungstique ( $H_3 PW_{12} O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3 PMO_{12} O_{40}$ ). Il est réduit au cours de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8 O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8 O_{23}$ ). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption entre 700 et 750 nm.

## b/ Protocole

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode de Dewanto et al., (2002) reprise et modifiée par Medjeldi et al., (2018). A 100 µl d'extrait (dilution appropriée) ou de standard, on ajoute 400 µl du réactif de Folin-ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau ultra pure). Le mélange réactionnel est agitée, puis après 5 mn, la couleur bleue apparue est intensifiée et stabilisée par l'ajout de 500 µl de sodium ( $\text{Na}_2 \text{CO}_3$ ) à 7.5 %. Après agitation au vortex, le mélange est incubé pendant 1h à l'obscurité et à température ambiante. La densité optique (DO) est mesurée à  $\lambda=725$  nm, à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 6300). Le tube « blanc » ne contenant pas d'extrait, sert à ajuster le zéro de l'appareil. La quantification des polyphénols est réalisée à partir d'une gamme étalon d'acide gallique en concentrations finales (0.031 à 0.5 mg/ml) en milieu aqueux. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de résidu sec (mg EAG/g RS).



**Figure 7.** Dosage des polyphénols dans les différents extraits  
Des feuilles d'*A. unedo* photo montrant la différence des  
Couleurs entre « témoins » et « extraits » (photo, Boudellal).

**A** : extrait aqueux d'El-tarf (EE1) ; **B** : extrait aqueux Guelma (EG1) ; **C** : extrait méthanol-eau (EE2) ; **D** : extrait méthanol-Eau (EG1).

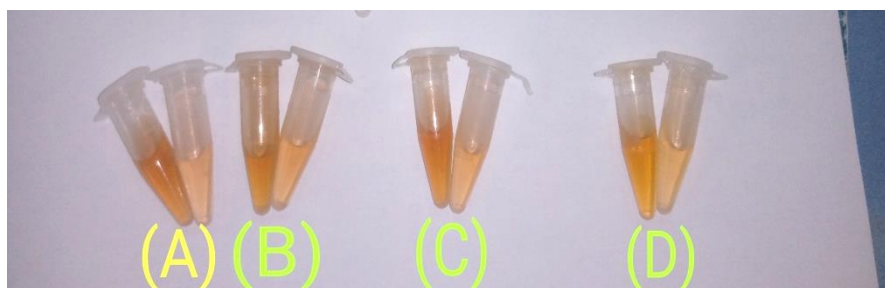
## III.2. Dosage des flavonoïdes

### a/ Principe

La formation d'un complexe entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium est à la base de ce dosage spectrophotométrique.

### b/ Protocole

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode rapportée par [Medjeldi et al., \(2018\)](#). Une prise de 100  $\mu\text{l}$  d'échantillon convenablement dilué est mélangée à 400  $\mu\text{l}$  d'eau distillée et 30  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaNO}_2$  (5%). Après 5 mn de repos, on ajoute 60  $\mu\text{l}$  d'une solution d' $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (10%) fraîchement préparée puis après 6 mn d'incubation, on ajoute 200  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaOH}$  (1M). le mélange réactionnel est ajusté à 1 ml avec de l'eau distillé. Après une incubation de 1 h à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est faite à 510 nm contre le tube « blanc » dans lequel l'extrait est remplacé par le solvant d'extraction. Une gamme étalon de catéchine à des concentrations finales allant de 0 à 60 $\mu\text{g/ml}$  est utilisée pour la quantification des flavonoïdes. Les teneurs en flavonoïdes sont exprimés en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de résidu sec (mg EC/g RS).



**Figure 8.** Dosage des flavonoïdes montrant la différence de couleur  
Entre « témoins » et « extraits » (photo, Boudellal).

### III.3. Dosage des tanins condensés

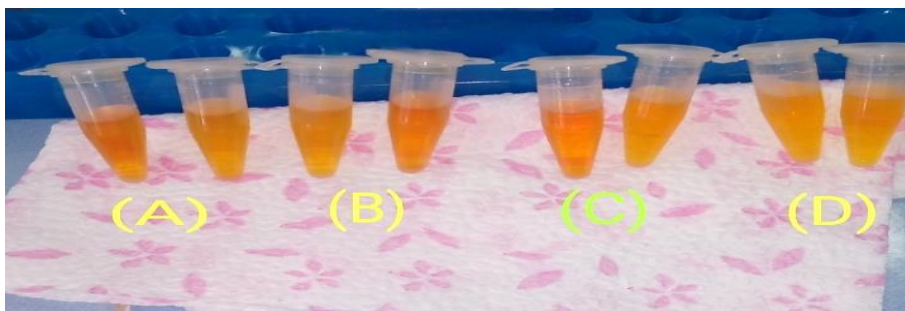
#### a/ Principe

En présence d'acide concentré, les tanins condensés se dépolymérisent et en réagissant avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge spécifique, mesurable par spectrophotométrie.

#### b/ Protocole

Les tanins condensés sont analysés par la méthode colorimétrique [Medjeldi et al., \(2018\)](#). Une prise de 100  $\mu\text{l}$  de l'extrait convenablement dilué est mélangée avec 600  $\mu\text{l}$  de vanilline (4%) fraîchement préparé et 300  $\mu\text{l}$  de  $\text{HCL}$  concentré. La solution obtenue est homogénéisée par agitation, puis maintenue au repos pendant 30 mn à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 500 nm. La gamme étalon est préparée avec à des

concentrations finales de catéchine allant de 0 à 60  $\mu\text{g/ml}$ . Les teneurs en tanins sont exprimées en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de résidu sec (mg EC/g RS).



**Figure 9.** Dosage des tanins condensés montrant la différence de couleur Entre « témoins » et « extraits » (photo, Boudellal).

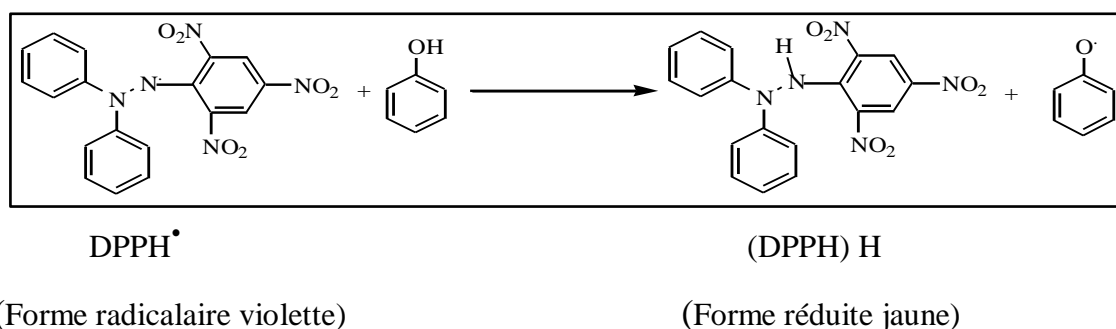
## IV. Evaluation du pouvoir antioxydant

### IV.1. Piégeage du radical libre DPPH

Cette méthode est décrite par plusieurs auteurs entre autres, [Iwashima et al., \(2005\)](#) ; [Rigane et al., 2011](#) ; [Medjeldi et al.,\(2018\)](#). C'est une technique avantageuse du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide.

#### a/ Principe

Le DPPH<sup>\*</sup> (2,2 diphényl-1 picrylhydrazyl) est un radical stable qui absorbe dans le visible entre 515 à 520 nm. Le test consiste à faire réagir le DPPH de coloration violette avec des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à le réduire en DPPH-H de coloration jaune. Ce changement de couleur reflète le pouvoir de l'extrait végétal à piéger ce radical. Le phénomène peut donc être suivi par spectrophotométrie visible.



**Figure 10.** Réaction du radical DPPH avec un donneur d'hydrogène (antioxydant).

### b/ Protocole

L'estimation de l'activité antiradicalaire est déterminée selon la méthode décrite par [El-Haci et al., \(2011\)](#) avec quelques modifications. A 975  $\mu\text{l}$  d'une solution méthanolique de DPPH à (4%) sont ajoutés 25  $\mu\text{l}$  de l'extrait à différentes concentrations ou standards. Après agitation vigoureuse, le mélange est gardé à l'obscurité pendant 1h. L'absorbance est mesurée à 517 nm en se référant à un témoin sans extrait. Le méthanol est utilisé comme blanc.

### Expression de l'activité antiradicalaire

Elle est exprimée en pourcentage d'inhibition qui est calculé selon la formule suivante :

$$\text{PI}\% = [(\text{DO}_{\text{témoin}} - \text{DO}_{\text{extrait}}) / \text{DO}_{\text{témoin}}] \times 100$$

PI% : **pourcentage** d'inhibition

DO<sub>témoin</sub> : Absorbance de la solution témoin (DPPH)

DO<sub>extrait</sub> : Absorbance de la solution antioxydante (extrait)

La régression linéaire de la courbe :  $\text{PI}\% = f[\text{C}_{\text{extrait}}]$  permet de déterminer l'IC<sub>50</sub> qui correspond à la concentration en extrait responsable de l'inhibition de 50% de radical DPPH<sup>•</sup>. L'IC<sub>50</sub> est exprimée en unités de concentration de l'extrait.

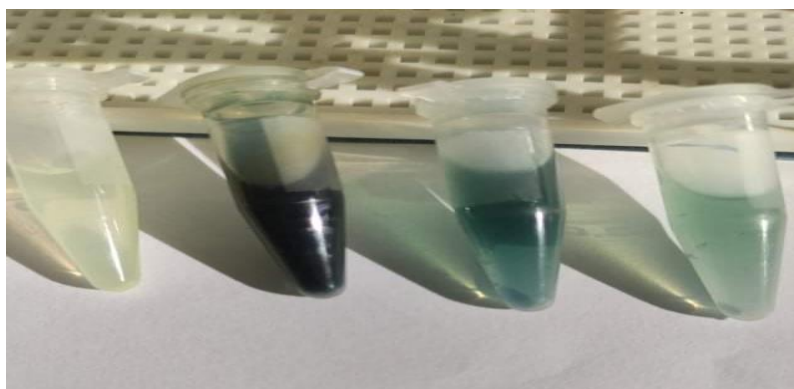


**Figure 11.** Activite antioxydante : tubes montrant la différence

De couleur entre « témoin » et différentes concentrations « d'extrait » (photo, Boudellal).

## IV.2. Capacité antioxydant totale

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait végétal à pH acide. Le complexe phosphate/molybdène (V) formé est de couleur verte. La capacité antioxydante totale (% TAC) a été déterminée par le test phospho-molybdène Prieto et al., (1999) ; Uchôa et al., (2015). Brièvement, 0,1 ml d'échantillon convenablement dilué a été ajouté à 1 ml de solution réactionnelle (600 Mm d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) et 4 mM de molybdate d'ammonium). Le mélange est ensuite incubé dans un bain d'eau bouillante pendant 60 mn. L'absorbance est mesurée à 695 nm par rapport à un tube « à blanc » contenant 1 ml de solution réactive et 0,1 ml de solvant. L'activité antioxydante totale a été exprimée par rapport à trolox.



**Figure 12.** Capacité antioxydante totale : tubes montrant la différence

De couleur entre « témoin » et différentes concentrations « d'extrait » (photo, Boudellal).

## V. Extraction des huiles essentielles foliaires

L'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles *d'A.unedo* a été réalisée par hydro distillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Dans le ballon du montage d'hydro distillation, on place 100 g de feuilles (préalablement séchées à l'ombre et broyées) qu'on recouvre avec 500 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 4 heures.

Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant et se condensent. L'eau aromatique et l'huile essentielle se séparent par différence de densité. L'huile essentielle est récupérée du haut de l'essencier à l'aide d'une micropipette. Elle est placée dans des tubes en verre fermés hermétiquement pour les préserver de l'air et de la lumière, puis elle est préservée à 4°C.



Figure 13. Extraction par hydro distillation (photo, Boudellal).

### V.1. Détermination du rendement

Le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction ( $M'$ ) et la masse de la matière végétale utilisée ( $M$ ). Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = M'/M \times 100$$

**RHE** : Rendement en huile essentielle en %.

**M'** : Masse d'huile essentielle en gramme.

**M** : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

## VI. Evaluation de l'activité antibactérienne

### VI.1. Matériel

#### VI.1.1. Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans les tests font partie des microorganismes pathogènes. Il s'agit une souche **Gram+** (*Staphylococcus aureus*) et de trois souches **Gram-** (*Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, *Proteus mirabelis* et *Klebsiella pneumoniae*).

Ces souches ont été isolées cliniquement et fournies par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital Chadli Benjedid d'El-Tarf.

#### VI.1.2. Milieux de culture

##### ◆ Milieu Luria –Bertani (LB)

Le milieu LB solide, de composition ci-dessous, a été utilisé pour la culture (repiquage) des bactéries indicatrices.

- Extrait de levure	5 g/l
- Tryptone	10 g/l
- NaCl	10 g/l
- Agar	15 g/l

Le milieu LB liquide (sans agar), a été utilisé pour le test de micro-dilution sur les plaques de 96 puits à fond plat.

##### ◆ Milieu MH (Muller Hinton)

Le milieu MH a été utilisé dans les tests d'activités antibactériennes sur milieu solide. Ce milieu présente la composition suivante :

- Infusion de viande de bœuf	300 ml
- Peptone de caséine	17.5 g
- Amidon de maïs	1.5 g
- Agar	17 g

## VI.2. Méthodes

### VI.2.1. Préparation des extraits

### VI.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne par diffusion sur milieu solide

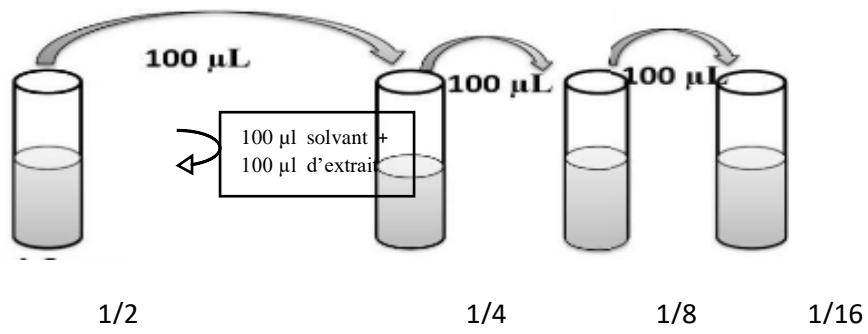
#### VI.2.2.1. Test préliminaire

Tout le matériel utilisé ainsi que les milieux de culture ont été préalablement stérilisés. Ce test consiste à déterminer la présence ou l'absence d'inhibition de la croissance bactérienne qui sera visualisée par l'existence d'une zone d'inhibition. A cet effet, les souches testées ont été repiquées sur culture solide LB et incubées pendant une nuit à 30°C. Des suspensions bactériennes ont été préparées dans l'eau physiologique stérile à raison de 10<sup>8</sup> CFU/ml, puis étalées à l'aide d'un écouvillon sur des boîtes de Petri contenant le milieu Muller Hinton.

30 µl de différents extraits non aqueux, sont entreposés délicatement sur des disques Whatman de 6 mm de diamètre. Cette quantité a été choisie arbitrairement selon la littérature [Benzekri et al., \(2015\)](#). Après séchage, ces disques sont ajustés, sur les boîtes de Petri préalablement ensemencées avec les souches indicatrices. Pour ce qui est des extraits aqueux, ils sont déposés dans des puits creusés dans la gélose nutritive préalablement ensemencée avec les bactéries. Les puits sont réalisés à l'aide des embouts pour micropipette (embouts bleus pour le dépôt de 100 µl d'extrait et embouts jaunes pour 50 µl) tout en prenant la précaution d'enfermer le fond des puits avec la gélose et de laisser bien sécher sous la hotte. Après incubation pendant une nuit à 30°C, le test d'activité antibactérienne est estimé par la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition autour du disque ou du puits. Deux répétitions ont été effectuées pour chaque test.

#### VI.2.2.2. Détermination de la quantité minimale inhibitrice (QMI)

La Quantité Minimale Inhibitrice (QMI) est définie comme étant la plus petite quantité de produit en dessous de laquelle aucune zone d'inhibition n'est visible. La QMI a été déterminée pour les extraits ayant révélé une activité antibactérienne lors du test préliminaire. Des dilutions en cascade de 1/2 ont été réalisées avec les solvants d'extraction correspondants selon le schéma ci-dessous : par exemple, 100 µl d'extrait sont mélangées à 100 µl de solvant (dilution 1/2). Après homogénéisation, on prélève 100 µl de cette dilution auxquels on leur ajoute 100 µl de solvant (dilution 1/4) et ainsi de suite jusqu'à la dernière dilution à laquelle on lui retranche 100 µl.



On prélève 30 µl de chaque dilution et on teste l'activité anti bactérienne selon les mêmes conditions expérimentales décrites dans le test préliminaire d'évaluation.

*Chapitre III*  
*Résultats et discussions*

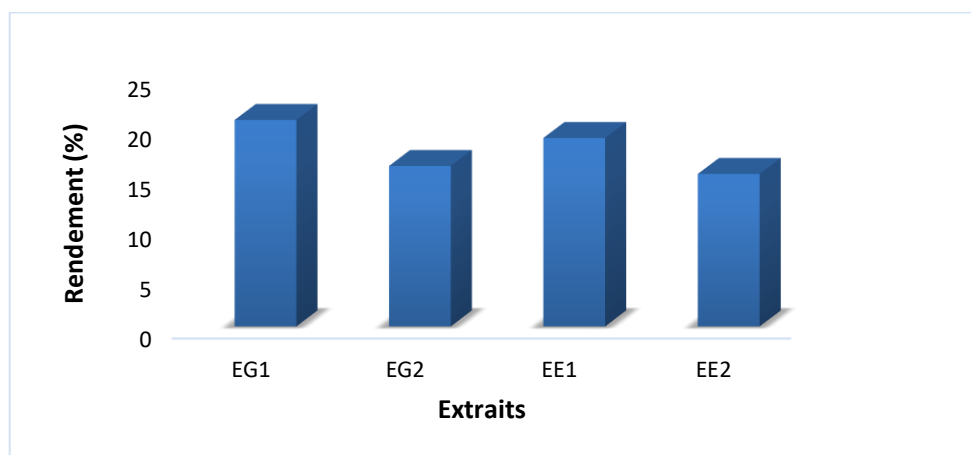
## I. Rendements d'extraction des polyphénols

Le rendement d'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait et celui du matériel végétal initial.

Les résultats de ses différents extraits sont mentionnés en tableau 02.

**Tableau 2.** Tableau récapitulatif des rendements d'extraction.

Matériel végétal	Extrait	Rendement
<i>Arbutus unedo</i> (région de Guelma)	Aqueux (EG1)	20.6 %
	Méthanol à 30% (EG2)	16 %
<i>Arbutus unedo</i> (région d'El-Tarf)	Aqueux (EE1)	18.8 %
	Méthanol à 30% (EE2)	15.2 %



**Figure 14.** Rendements des différents extraits des feuilles *Arbutus unedo*. L.

On remarque que le rendement d'extraction avec l'eau est meilleur que celui avec le mélange méthanol-eau et ceci, pour les deux extraits (EG et EE).

Cette constatation est conforme à certaines études que le rendement des extraits aqueux plus supérieurs que celle des extraits méthanoliques. Comme plusieurs d'autres études ont trouvées que les taux de rendement de l'extraction des polyphénols réalisés avec de l'eau sont supérieurs à ceux obtenus avec des solvants [Khelifi et al, \(2011\)](#). Par exemple, les

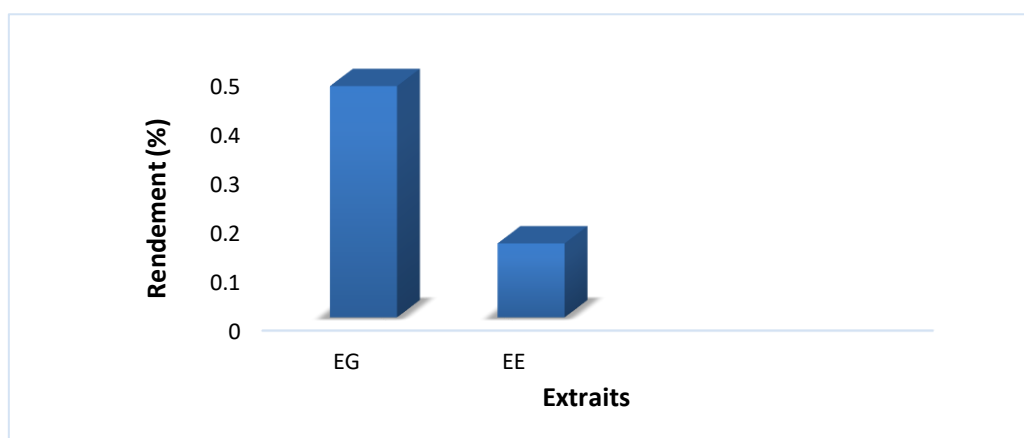
rendements d'extraction déterminés à partir d'*A.unedo* L étaient de l'ordre de 2,3 %, 2,6 % et 24 % d'extraits à l'acétone, à l'éthanol et à l'eau respectivement.

Le rendement d'extraction semble être influencé par le degré de polarité du solvant, ainsi que par le degré de polarité des divers composants de l'extrait tels que les constituants phénoliques.

## II. Rendements d'extraction en huiles essentielles

L'extraction par hydrodistillation des feuilles de *A. unedo* a fourni **des huiles essentielles** (HEs) ayant une coloration blanche et une odeur presque insignifiante et passablement persistante.

Les rendements en HEs sont de l'ordre de 0,47% et 0,15% respectivement pour l'arbousier collecté dans la région de Guelma (*A. unedo* **G**), et celui issu de la région d'El-Tarf (*A. unedo* **E**).



**Figure 15.** Rendements en huiles essentielles des feuilles d'*A. unedo*.

Les facteurs qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements en HEs sont entre autres, la de séchage (Vekiari et al., 2002).

Dans notre cas, l'extraction des HEs a été faite à partir du même organe à savoir la partie foliaire, et la récolte ainsi que le séchage ont été réalisés à la même période. On admet alors que le climat, la zone géographique ainsi que le type de sol sont probablement les facteurs qui sont à la tête de cette différence dans le taux des rendements.

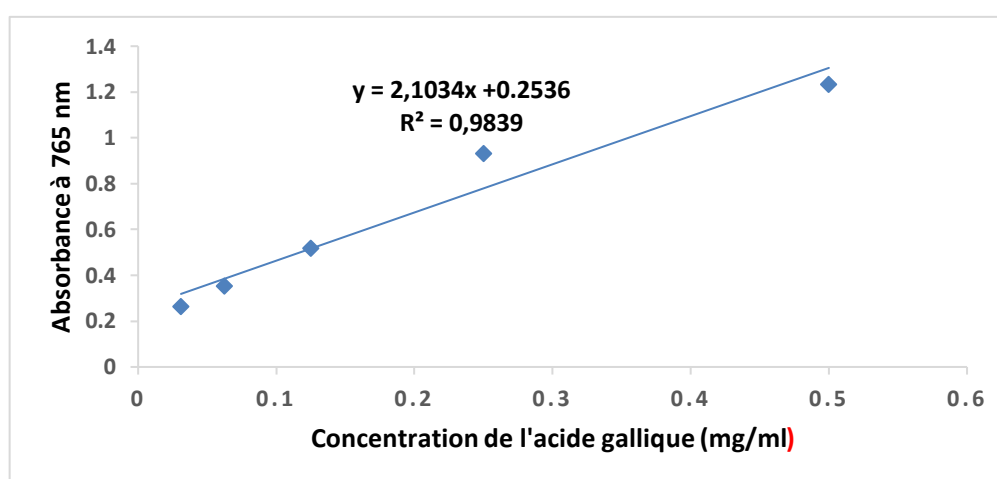
**Remarque :** comme le rendement en HEs étant très faible, toutes les analyses ont été réalisées sur des des extraits.

### III. Caractéristique phytochimique des extraits d'*A.unedo*

#### III.1. Teneur en phénols totaux

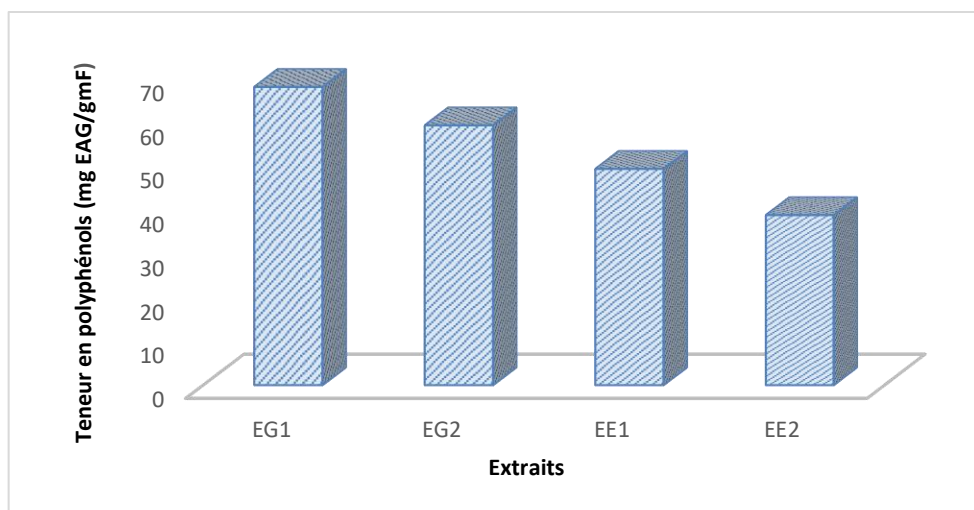
La teneur en phénols totaux est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :  $y = 2.1034x + 0.2536$  (Figure 19) avec un coefficient de régression de la droite ( $R^2 = 0.9839$ ) proche de 1 prouvant ainsi la fiabilité de cette courbe dans la détermination des phénols totaux.

Le résultat est exprimé en milligramme équivalent acide gallique par résidu sec (mg EAG/g RS).



**Figure 16.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g RS) déterminées pour les quatre extraits sont de l'ordre de : 68,02 (EG1) ; 59,26 (EG2) ; 49,32 (EE1) et 38,72 (EE2) (Figure 20).



**Figure 17.** Teneur en phénols totaux des différents extraits des feuilles d'*A. unedo*.

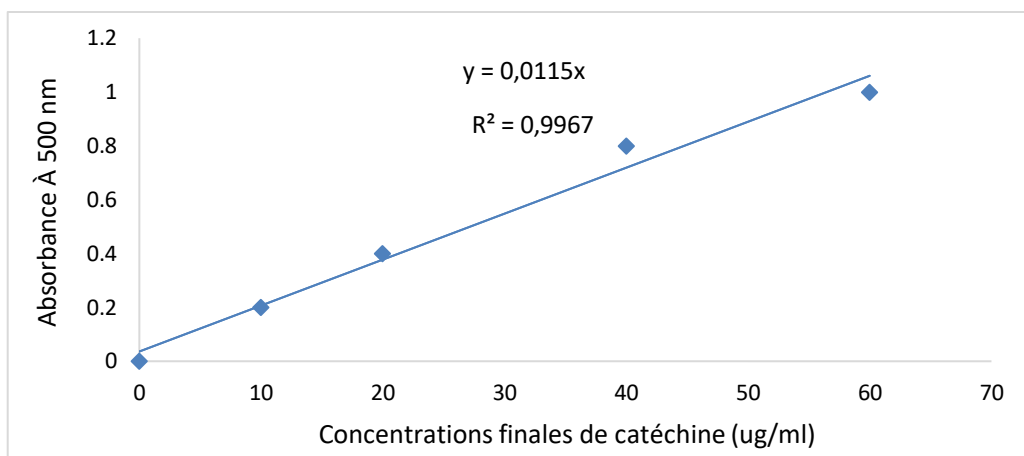
A la lumière de ces résultats, il paraît que la plante collectée de la Guelma (EG) est plus riche en polyphénols que celle issue de la région d'El-Tarf (EE). Par ailleurs, il semble que l'extraction avec l'eau à 100% (EG1 et EE1) est plus rentable qu'avec le méthanol à 30% (EG2 et EE2).

Les travaux réalisés dans différentes régions du monde, ont rapporté, pour les extraits des feuilles de l'arbousier, des concentrations variables en phénols totaux. Par exemple, [Barros et al., \(2010\)](#) et [Heinrich \(2005\)](#) ont indiqué des valeurs respectives de 126,83 et 37,6 (mg EAG/g d'extrait) pour l'arbousier issu de deux régions différentes de l'Espagne. D'autre part, [Doukani et Tabak \(2014\)](#), ont rapporté des concentrations de 17.125 et 59.20 (mg GAE/g d'extrait) pour l'*Arbutus unedo* provenant respectivement de Tlemcen et de Tiaret (deux régions en Algérie).

### III.2. Teneur en flavonoïdes totaux

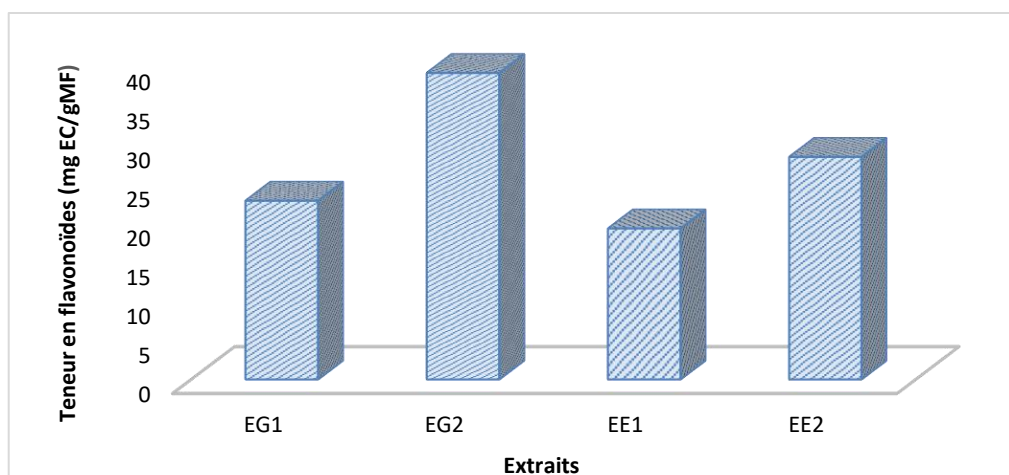
La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine :  $y = 0.0115x$  (Figure 21) avec un coefficient de régression de la droite ( $R^2 = 0.9967$ ) proche de 1 prouvant ainsi la fiabilité de cette courbe dans la détermination des flavonoïdes.

Le résultat est exprimé en milligramme équivalent catéchine par gramme de résidu sec (mg EC/g RS).



**Figure 18.** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Les teneurs en flavonoïdes totaux (mg EC/g RS) déterminées pour les quatre extraits sont de l'ordre de : 22,92 (EG1) ; 39,26 (EG2) ; 19,37 (EE1) et 28,52 (EE2) (Figure 22).



**Figure 19.** Teneur en flavonoïdes des différents extraits des feuilles d'*A. unedo*.

D'après ces résultats, il paraît que la plante collectée de la Guelma (EG) est plus riche en flavonoïdes que celle issue de la région d'El-Tarf (EE). Par ailleurs, il semble que l'extraction avec le méthanol (EG2 et EE2) est plus rentable qu'avec l'eau (EG1 et EE1).

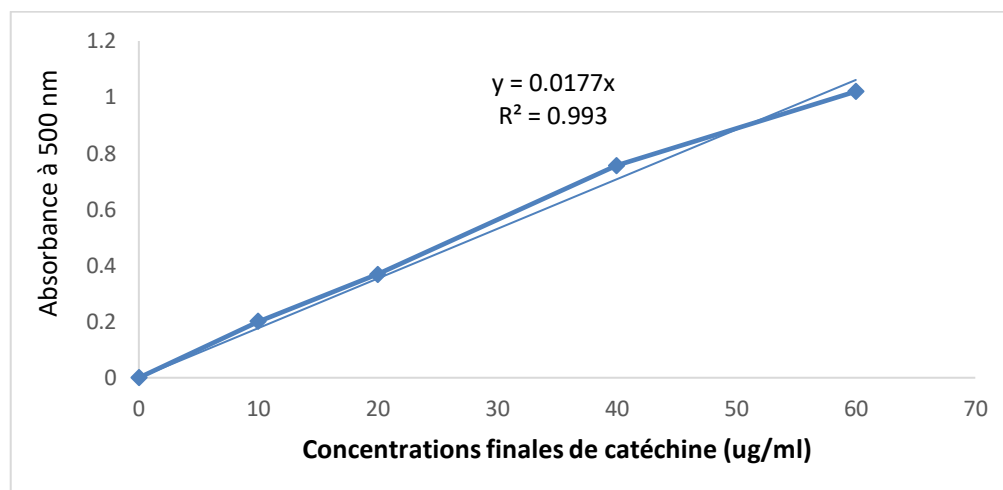
Nos résultats sont en accord avec les travaux de [Bourgou et al, \(2016\)](#), qui ont montré que l'extraction aqueuse est la moins efficace que l'extraction méthanolique.

Il est connu que les flavonoïdes sont responsables de la coloration des plantes. Ils sont facilement ingérés par les humains et présentent d'importantes activités anti-allergiques, anti-inflammatoires et anticancéreuses.

### III.3. Teneur en tanins condensés

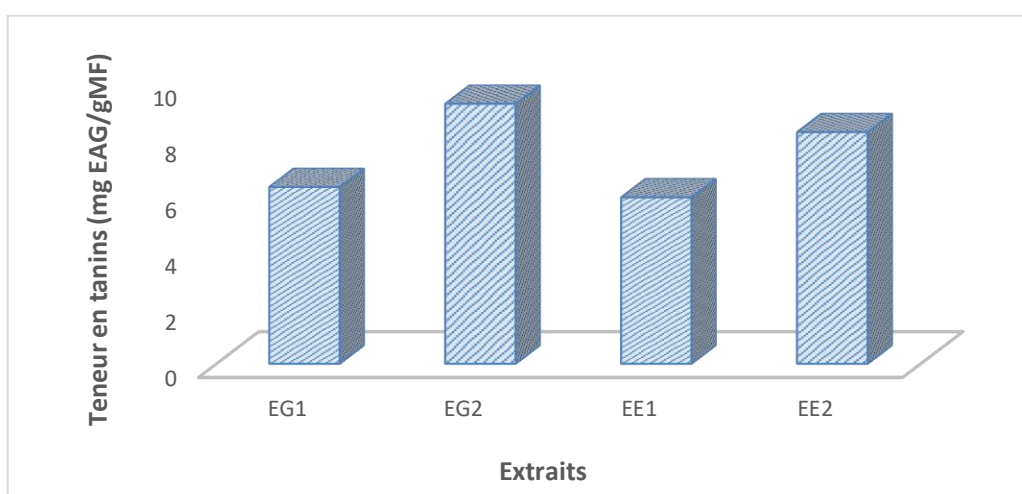
La teneur en tanins est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine :  $y = 0.0177x$  (Figure 23 ) avec un coefficient de régression de la droite ( $R^2 = 0.9966$ ) proche de 1 prouvant ainsi la fiabilité de cette courbe dans la détermination des tanins.

Le résultat est exprimé en milligramme équivalent catéchine par résidu sec (mg EC/g RS).



**Figure 20.** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.

Les teneurs en tanins condensés (mg EC/g RS) déterminées pour les quatre extraits sont de l'ordre de : 6.29 (EG1) ; 9.26 (EG2) ; 5.92 (EE1) ; 8.25 (EE2) (Figure 24).



**Figure 21.** Teneur en tanins dans des différents extraits des feuilles d'*A. unedo*.

D'après ces résultats, il paraît que la plante collectée de la Guelma (EG) est plus riche en flavonoïdes que celle issue de la région d'El-Tarf (EE). Par ailleurs, il semble que l'extraction avec le méthanol (EG2 et EE2) est plus rentable qu'avec l'eau à (EG1 et EE1).

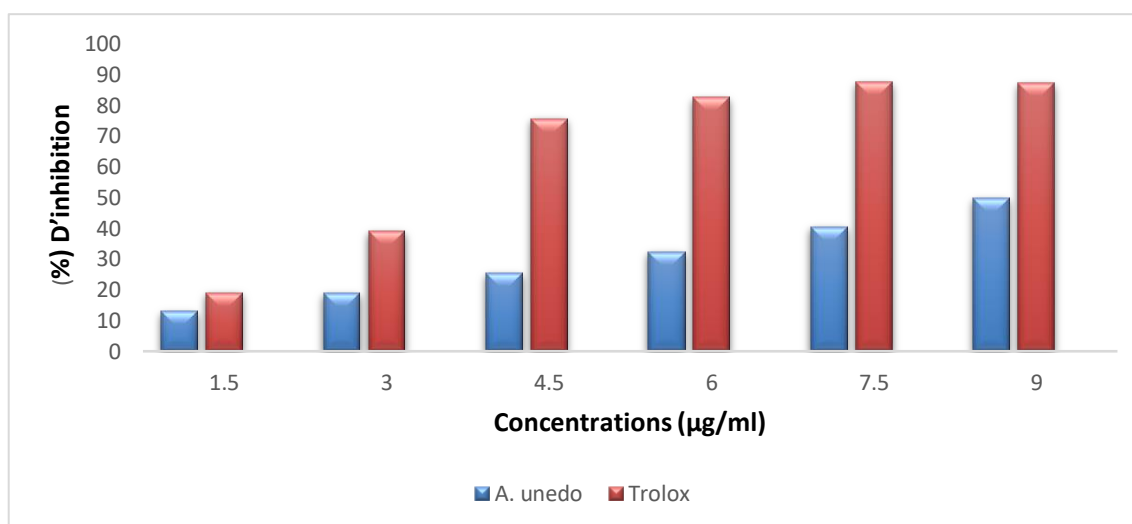
par comparitons, [Bachiri et al., \(2013\)](#), ont rapporté pour l'extrait aqueux de *l'Arbutus unedo* une teneur en tanins condensés par sont 18,06 (mg EC/g d'extrait) d'extrait sec.

La variation qualitative et quantitative du contenu polyphénolique dans les quatre extraits peut être attribué à plusieurs facteurs à savoir : le climat, la zone géographique, les agressions et maladies...etc ([Miliauskas et al., 2004](#)) ; le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante ([Lee et al., 2003](#)). Par ailleurs, les méthodes d'extraction et de quantification peuvent également influencer l'estimation de la composition phytochimique ([Morais et al., 2011](#)).

#### IV. Activités antioxydantes des différents extraits aqueux d'*A.unedo*

L'activité antioxydant a été déterminée arbitrairement sur l'extrait aqueux de Guelma (EG) car s'est montré le plus riche en polyphénols totaux.

##### IV.1. Activité Balayage DPPH



**Figure 22.** L'activité de piégeage des radicaux DPPH de Trolox et de l'extrait aqueux des feuilles d'*A. unedo*.

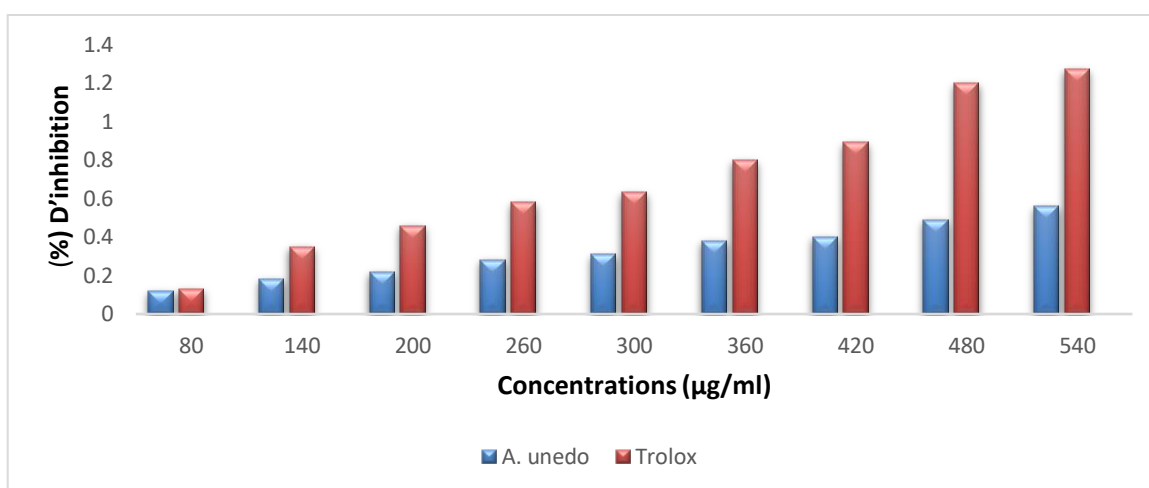
L'activité de piégeage des radicaux DPPH a été enregistrée en termes de pourcentage d'inhibition, comme le montre la figure 25 Le paramètre utilisé pour comparer l'activité de piégeage des radicaux est la valeur IC<sub>50</sub>, définie comme la concentration d'antioxydant

nécessaire pour piéger 50 % des radicaux DPPH. La valeur  $IC_{50}$  du trolox ( $3,31 \pm 0,09$   $\mu\text{g/ml}$ ) est comparativement plus faible que celle de l'extrait aqueux ( $IC_{50} = 12,56 \pm 0,29$   $\mu\text{g/ml}$ ), ce qui signifie que l'activité antioxydant exercée par le trolox est plus grande (3 fois plus) que celle déterminée par l'extrait.

A titre de comparaison, [Moualek et al. \(2016\)](#), ont rapporté pour l'extrait aqueux des feuilles de *A. unedo*, une activité antioxydant DPPH ( $IC_{50} = 7,95$   $\mu\text{g/ml}$ ) plus intéressante que celle déterminée dans cette étude.

Par ailleurs, notre échantillon a présenté une valeur  $IC_{50}$  plus faible en comparaison avec d'autres travaux sur l'extrait aqueux de *A. unedo* [ $48,2$   $\mu\text{g/ml}$  ([Orak et al., 2011](#)) ;  $73,7 \pm 6,3$   $\mu\text{g/ml}$  ([Oliveira et al., 2009](#)) et  $87 \pm 7$   $\mu\text{g/ml}$  ([Mendes et al., 2011](#))], ce qui témoigne d'une activité de piégeage plus élevée.

#### IV.2. Capacité antioxydante totale



**Figure 23.** La capacité antioxydant pour le trolox et de l'extrait aqueux des feuilles de *A. unedo*.

Ce test était basé sur la réduction de  $\text{Mo(VI)}$  en  $\text{Mo(V)}$  par l'extrait et la formation à pH acide d'un complexe phosphate vert/ $\text{Mo(V)}$ . Les résultats ont montré que l'activité antioxydant de l'extrait et du trolox sont de manière dose dépendante à des concentrations de 80-540 mg/ml. La capacité antioxydant pour le trolox ( $IC_{50} = 302 \pm 7,23$   $\mu\text{g/ml}$ ) est plus grande que celle de l'extrait ( $IC_{50} = 502,67 \pm 4,65$   $\mu\text{g/ml}$ ) (Figure 26).

Titre de comparaison, [Moualek et al. \(2016\)](#) ont rapporté pour l'extrait aqueux des feuilles de *A. unedo*, une capacité anti oxydante totale ( $IC_{50} = 461,67 \pm 4,16$   $\mu\text{g/ml}$ ) légèrement plus forte à celle déterminée dans cette étude ( $IC_{50} = 502,67 \pm 4,65$   $\mu\text{g/ml}$ ).

La bio activité des polyphénols peut être liée à leur capacité à chélater les métaux, à leur capacité d'inhiber ou de réduire différentes enzymes telles que la cyclooxygénase, la li oxygénase et la télomères et à leur capacité à piéger les radicaux libres (Yin et al., 2008 ; Korley et al., 2014). En général, les composés polyphénoliques ayant une activité antioxydant sont multifonctionnels. En outre, il est connu que les propriétés antioxydants dépendent du type de solvant d'extraction. Par ailleurs, la complexité des composés antioxydants exige différentes méthodes pour déterminer leur activité antioxydant (Gioti et al., 2009).

## V. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Les résultats de l'aromatogramme sont résumés dans les tableaux suivants :

**Tableau 3.** Diamètres d'inhibition des souches bactériennes par l'extrait aqueux des feuilles d'*A. unedo* (région de Guelma).

	Dilution									
	EA		Dilution ½		Dilution 1/4		Dilution 1/8		Dilution 1/16	
Souches bactériennes	DZI	S	DZI	S	DZI	S	DZI	S	DZI	S
<i>Staphylococcus aureus</i>	29,4	+++	25,4	+++	24	+++	16,4	++	12,8	++
<i>Escherichia coli</i>	6,6	+	5,6	+	5	+	4	+	2	+
<i>Klebsiella pneumoniae carbpenemase</i>	16,4	++	12,6	++	10,6	+	9	+	5,2	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,2	+	7,4	+	6,2	+	5,6	+	2	+
<i>Proteus mirabelis</i>	15	++	13	++	11	+	9	+	5	+

S : Signification, DZI : diamètre de zone d'inhibition (mm), EA : Extrait aqueux, +++ : activité intense, ++ : activité modérée, + : activité faible.

**Tableau 4.** Diamètres d'inhibition des souches bactériennes par l'extrait aqueux des feuilles d'*A. unedo* (région d'el Tarf).

	Dilution									
	EA		Dilution ½		Dilution ¼		Dilution 1/8		Dilution 1/16	
Souches bactériennes	DZI	S	DZI	S	DZI	S	DZI	S	DZI	S
<i>Staphylococcus</i>	24.8	+++	20.4	+++	16.2	+++	14.6	+++	11.6	+
<i>E.coli</i>	4.6	+	4.2	+	3.3	+	2	+	1	+
<i>KPC</i>	25	+++	15	++	10	+	9	+	5	+
<i>Pseudomonas</i>	8.2	+	7.4	+	6.2	+	5.6	+	2	+
<i>Proteus Mirabelis</i>	14.2	++	12.2	++	10.6	+	9	+	5.2	+

S : Signification, DZI : diamètre de zone d'inhibition (mm), EA : Extrait aqueux, +++ : activité intense, ++ : activité modérée, + : activité faible.

Le potentiel antibactérien l'extrait aqueux des feuilles *A. unedo* contre des souches de trois Gram (+) et de deux Gram (-) par la présence de zones d'inhibition. L'activité antibactérienne est caractérisée comme suit : (+) une activité faible (inhibition zone  $\leq 12$  mm), (++) activité modérée (12 mm < inhibition zone < 20 mm) et, (+++) activité intense (zone d'inhibition  $\geq 20$  mm) (Lv et al, 2009).

Comme la montre le tableau 03, la souche *Staphylococcus aureus* s'est avérée être le plus sensible avec une zone d'inhibition maximale. Les souches bactériennes qui sont moyennement sensibles sont : *Proteus mirabelis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* par contre la souche bactérienne qui est faiblement sensible sont : *Escherichia coli*.

Comme la montre le tableau 04, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* sont les souches les plus sensibles l'extrait aqueux des feuilles *A. unedo* L (région d'el Tarf), La souche bactérienne qui est moyennement sensibles : *Proteus mirabelis*. Par contre les souches bactériennes qui sont faiblement sensibles sont suivantes : *E. Coli* et *Pseudomonas aeruginosa*

Des résultats similaires sont rapportés par (ORAK et al 2011 ; HAOUAT et al 2012). D'une façon plus générale, plusieurs études font état d'une activité accrue des composés phénoliques sur les bactéries Gram positif comparativement aux bactéries Gram négatif TODA et al, (1989) ; IKIGAI et al, (1993) ; ARAKAWA et al, (2004). La raison de ce contraste de sensibilité, est attribuée aux différences dans les constituants de la membrane cellulaire ainsi qu'à leur agencement. Il est admis que les bactéries Gram positif contiennent un peptidoglycane, qui est une barrière d'imperméabilité inefficace ce qui permet aux molécules d'atteindre leur cible (SCHERRER et GERHARDT, 1971).

Il existe dans la littérature peu d'études sur l'effet antibactérien de l'extrait aqueux des feuilles d'*Arbutus unedo*, ce qui rend difficile la comparaison de nos résultats. Néanmoins, les diamètres des zones d'inhibition obtenues dans cette étude restent supérieurs à ceux rapportés pour le même extrait par ORAK et al., (2011) ( $10.5 \pm 0.15$  mm pour *S. aureus*) et par MALHEIRO et al., (2012) (*S. aureus* 10 mm, *B. cereus* 10 mm et *P. aeruginosa* 11mm).

Quant au mode d'action des extraits sur les cellules bactériennes, il semble plus probable que l'activité antimicrobienne résulte de l'association conjointe de plusieurs mécanismes sur différentes cibles cellulaires Burt, (2004). Ainsi, les composés phénoliques auraient pour cible la membrane plasmique et la paroi Weber et al., (1996). D'autres agents compromettent plutôt l'intégrité structurale de la membrane plasmique en induisant une perte du matériel cytoplasmique Reichling et al., (2002) au moment où la cible pour d'autres est probablement l'ADN bactérien suite à diffusion à travers les membranes bactériennes Guessennd et al., (2008). Outre les propriétés de extrait, la sensibilité d'un microorganisme dépend du microorganisme lui-même Kalemba et Kunicka, (2003) ; les bactéries Gram (+) sont plus sensibles aux extraits que les bactéries Gram (-), ceci revient en partie à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces dernières qui contient une double membrane, contrairement à la structure simple de la paroi des bactéries Gram (+). Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des extraits confirment ce phénomène Burt, (2004). Ces affirmations n'ont cependant pas été confirmées d'autres travaux, la susceptibilité des bactéries est en effet indépendante du Gram (Usman et al., 2013; Adeola et al., 2012 ; Inouye et al., 2001).

# *Conclusion et perspectives*

Aujourd'hui, la phytothérapie et le retour à la médecine traditionnelle reviennent sur le devant de la scène, d'autant plus que la phytothérapie propose des soins à base d'extraits naturels bien acceptés par l'organisme. Les recherches se sont alors concentrées sur l'exploration de nouvelles sources d'antioxydants naturels extraits de plantes ou de micro-organismes.

Le présent travail vise à évaluer les activités antioxydantes et antibactériennes de l'extrait phénolique et des composés volatils de feuilles d'arbousier récoltées dans deux régions de l'est algérien (Guelma, El Tarf). Il a été prouvé que l'efficacité de l'extraction à l'eau est meilleure que celle du mélange méthanol-eau pour les deux extraits (EG, EE). De plus, le rendement en HEs était plutôt faible (0,47 % EG, 0,15 % EE.)

Au cours de cette étude, nous avons également effectué un dosage antimicrobien d'extraits aqueux (EE, EG) contre cinq types de bactéries en utilisant une méthode médiée par l'agar. Les résultats microbiologiques ont montré une activité antibactérienne plus prononcée dans l'espace de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* et *Proteus mirabilis* (avec un diamètre d'inhibition de 29,4, 25, 15 respectivement). L'activité antioxydante testée avec le radical DPPH et le molybdène a montré des  $IC_{50}$  remarquables respectivement de l'ordre de 12.56 et 502.67  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . À la lumière de ces découvertes, les feuilles de l'arbousier peuvent servir de source d'antioxydants naturels et d'agents antibactériens pour des applications cosmétiques et nutritives.

Sachant que notre pays bénéficie d'une formidable diversité biologique, chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de récepteurs secondaires aux propriétés thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui nécessitent leur exploitation par la recherche à cet effet, et comme perspectives, nous suggérons :

- Mener une étude biochimique en utilisant les méthodes analytiques les plus modernes et les plus efficaces sur les feuilles de fraisier.
- Identification de nouvelles substances naturelles bioactives pouvant répondre à différents problèmes de santé et constituer une alternative aux drogues de synthèse.
- Projet d'autres métabolites secondaires impliqués dans le domaine pharmaceutique dans ce type.

# *Références bibliographiques*

## -A-

- **Ayaz, F.A., Kucukislamoglu, M. Reunanen, M. 2000.** Sugar, Non-volatile and Phenolic Acids Composition of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoidea*) Fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13 (2) : 171-177.
- **Abbes A., (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Arbutus unedo* « Noukha » de la région de Tlemcen .Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master..Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen.
- **Arakawa, H., Maeda, M., Okubo, S., & Shimamura, T. (2004).** Role of hydrogen peroxide in bactericidal action of catechin. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(3), 277-281.

## -B-

- **Burt S., (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in

Foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94 (3): p. 223–253.

- **Boullard, B.,** *Plantes Médicinales du Monde ; Réalités et Croyances*, Edition ESTEM, 2001. p50, 80
- **Belaiche P. (1979)** - *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Tome 1
- **B. Charriere,** “Les composés phénoliques marqueurs de la matière organique terrestre dans deux écosystèmes marins : le delta du Rhône et le pro delta de la Têt”, Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, Université de Perpignan, France (1991).
- **Benlatreche, C. (2015).** *Biologie des espèces réactives et Stress oxydant*. *Journal algérien de médecine*, 23(2), 48-53
- **Bennamara, F. T. (2017).** *Stress oxydant et pathologies humaines* (Doctoral dissertation, Université Mohammed V-Rabat), 106-113.
- **Bouakaz I (2006).** *Etude phytochimique de la plante Génital Microcéphale*

- **Barros L, Carvalho AM, Morais JS, Ferreira I (2010).** Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits : Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chemistry*, 1:247– 254.
- **Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., & Ksouri, R. (2016).** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences*, 28.

## -C-

- **Celikel, G., Demirsoy, L., Demirsoy, H. 2008.** The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey. *Scientia Horticulturae*, 118: 115-119.
- **Cuyckens F., et clays M ., (2004).** mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *JOURNAL OF MASS SPECTROMETR* ,39 :1-15

## -D-

- **D. Podlipna, M.Cichna-Marki,** “Determination of bisphenol A in canned fish by sol–gel immunoaffinity chromatography, HPLC and fluorescence detection”, *European Food Research Technology* 224 (2007) 629-634
- **D. Khlifi, M. Hamdi, A. El-Hayouni, S. Cazaux, J.P. Souchard, F. Couderc, J. Bouajila. (2011)** Global chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis activities of various extracts of *Globularia alypum* L. (*Globulariaceae*) leaves *Molecules*, 16 10592 –60322]

## -E-

- **El Mesbahia, O., Tournigandb, C., Benbrahime, Z. (2011).** Toxicité cardiovasculaire des thérapies antiangiogéniques La Revue de médecine interne 32 ; 369–372.

## -F-

- **Ferguson L (2001).** Role of plant polyphenols in génomique stability. Mutation Research. For cardio-vasculaire Health. Canadian Journal of Cardiology, 26 : 17-21
- **Frenay J, R. F., Hansen W, and Bollet TC. 2000.** Précis de bactériologie clinique.

## -G-

- **Guignard, J.L.,** Botanique : Systématique Moléculaire, édition Masson, **2001.**
- **Goudable, J., & Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition clinique et métabolisme, 11(2), 115-120.
- **Gould K, Lister C (2006).** « Flavonoid functions in plants ».in : Flavonoïdes Chimistry, Biochimistry and applications., O. Anderson ; Et K.R.M- Markhem., Ed. CRC Press, pp :8-39,41-74.
- **Guillouty, A. (2016).** Plantes médicinales et antioxydants (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

## -H-

- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charilier, C., Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. Revue médicale de Liège, 62(10), 628-38.
- **Hessas T ., Simoud S., (2018).** Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Thymus sp. En vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.
- **Hamma, S. A Nouri, N. Fergani, I. Lekhal, A. Cheriet S. Abadi N, Lezzar, A. Benlatreche, C. (2015).** Biologie des.. espèces réactives et Stress oxydant. Journal algérien de médecine, 23(2), 48-53.

- **Heinrich, (2005), M.** Understanding local Mediterranean diets: A multidisciplinary pharmacological and ethnobotanical approach. *Pharmacological Research*, 52, pp.353-366.
- **Haouat, A. C., Sqalli, H., Haggoud, A., Ennabili, A., Ibnsouda, S., & Iraqui, M.** (2012). Extra-and intracellular antimycobacterial activity of *Arbutus unedo* L. *African Journal of Microbiology Research*, 6(6), 1283-1290.

***-I-***

- **Intissar Limam, Angéline Guenne, Mohamed Ridha Driss, Laurent Mazeas.** *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, (2010), 12, 63-70.
- **Ikigai, H., Nakae, T., Hara, Y., & Shimamura, T.** (1993). Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1147(1), 132-136.

***-J-***

- **Judd, W.S, Campbell, C.S., Kellogg, E.A, Stevens, P.,** *Botanique systématique : une perspective phylogénétique*, Editions DeBöeck Université, 2002.
- **J. Moreira del Rio,** “Photocatalytic degradation of phenolic compounds in water :

***-K-***

- **Lardry J-M., Valérie., (2007).** L’aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev*,

(61): p.14-7.

- **L.A. Pacheco Palencia**, “Chemical characterization, bioactive properties and pigments stability of polyphenolics in ACAI (*Euterpe Oleracea* Mart)”, PhD Thesis, Texas A&M University, U.S.A (2009).
- **L. Layton**, “Reversing itself, FDA expresses concerns over health risks from BPA”, Washington Post, U.S.A (2010).
- **Lhuillier, A. (2007)**. Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissatrichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat.

## -M-

- **Medjeldi Marzougui, S. (2012)**. Peroxydase d'origine Végétale : purification, caractérisation biochimique, immobilisation et application dans la détermination des peroxydes au niveau des aliments conservés (Doctoral dissertation, Université de Annaba Badji Mokhtar)
- **Morris, R., Plante for a future, Edible, Medicinal and Useful plants for Healthier World** valable online sur: <http://www.pfaf.org/database/plants>, Mise à Jours : 2007.
- **Méghazi N., (2015)**. Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère en science agronomique. Ecole Nationale Supérieure Agronomique Algérie El-Harrach
- **Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C (2005)**. Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p. 4-5.
- **Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.A. (2004)**. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. Food chemistry, 85 : 231237.
- **Moualek I, Aiche GI, Guechaoui NM, Lahcene S, Houali K.** Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2016 ; 6:937-944.

- **Mendes, L., de Freitas, V., Baptista, P., & Carvalho, M.** (2011). Comparative antihemolytic and radical scavenging activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf and fruit. *Food and chemical toxicology*, 49(9), 2285-2291.
- **Malheiro, R., Sá, O., Pereira, E., Aguiar, C., Baptista, P., & Pereira, J. A.** (2012). *Arbutus unedo* L. leaves as source of phytochemicals with bioactive properties. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 473-478.

## -O-

- **O. Gimeno, M. Carbajo, F. J. Beltrón and F. Javier Rivas.** (2005). “Phenol and substituted phenols AOP remediation”, *Journal of Hazardous Materials B* 119 (2005) 99-108.
- **Orak, H. H., Yagar, H., Isbilir, S. S., Demirci, A. Ş. Gümüş, T., & Ekinci, N.** (2011). Evaluation of antioxidant and antimicrobial potential of strawberry tree (*Arbutus Unedo* L.) leaf. *Food Science and Biotechnology*, 20(5), 1249-1256.
- **Oliveira, I., Coelho, V., Baltasar, R., Pereira, J. A., & Baptista, P.** (2009). Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food and Chemical Toxicology*, 47(7), 1507-1511.

## -P-

- **Papoff, C.M., Floris, I., Vacca, V., Langiu, G.** 1993. Dehydrating strawberry tree (*Arbutus unedo*) honey in a small dehumidifier *Apiculture Moderne*, 84 (3): 97–103.
- **Prieto P., Pineda M., Agguilar M.** (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269: 337–341. doi.org/[10.4236/ajps.2015.619298](https://doi.org/10.4236/ajps.2015.619298)

## -Q-

- **Quezel, P., Santa, S.,** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, TOME II, Centre National de la recherche scientifique, France, Paris, 1963.

## -T-

- **Torres, J.A., Valle, F., Pinto, C., Garcia-Fuentes, A., Salazar, C., Cano, E. 2002.** Arbutus undocommunis in southern Iberia Péninsule montais. *Plant Ecology*, 160: 207- 223
- **Tanoh, S. K., N'Gaman-Kouassi, C., Boa, D., Mamyrbekova-Békro, J. A., & Békro, Y. A. (2019).** Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et hydro cétoniques des organes de quatre plantes de Côte d'Ivoire médicinales. *Nature & Technologie*, (21), 28-34.
- **Toda, M., Okubo, S., Hiyoshi, R., & Shimamura, T. (1989).** The bactericidal activity of tea and coffee. *Letters in applied microbiology*, 8(4), 123-125.

## -U-

- **Uchôa A.D.A., Oliveira W.F., Pereira A.P.C., Silva A.G., Cordeiro B.M.P., Malafaia C.B., Almeida C.M.A., Silva N.H., Albuquerque J.F.C., Silva M.V., Correia M.T.S. (2015).** Antioxidant activity and phytochemical profile of *Spondias tuberosa* Arruda leaves extracts. *American Journal of plant Sciences*, 6: 3038–3044. doi.org/[10.1006/abio.1999.4019](https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019)

## -V-

- **Valnet J. (1984) -** Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544

*-W-*

- **Walton NJ, Brown DE (1999).** Chemicals from plants: Perspectives on plant secondary products. London: Imperial College press.