

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة أمطار تلدجي بالآعواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT  
كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES

Département Des Sciences de la matière



**Mémoire de MASTER**

**Domaine :** Sciences de la matière  
**Filière :** Chimie  
**Option :** Chimie organique appliquée

**Par :**  
Ghris Aicha

**THEME**

---

**Détermination quantitative des composés phénoliques de la  
plante médicinale locale (*Arbutus unedo.L*)**

---

*Soutenu publiquement devant le jury composé de :*

<i>Mr.Saidat Boubaker .</i>	<i>M.C.A</i>	<i>Président</i>
<i>Mr.Harizi Abd-Allah</i>	<i>M.A.A</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mr.Koribaa Bakhti</i>	<i>M.A.A</i>	<i>Examineur</i>
<i>M<sup>me</sup>.Noureddine Asmaa</i>	<i>M.A.A</i>	<i>Rapportrice</i>

*Année Universitaire 2016/2017*

## **Remerciements**

*Avant toute chose, je remercie Allah, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de faculté des sciences de la matière de L'Université Amar Telidji de Laghouat sous la direction de Madame Sara Ben Moulay De ce fait, je le remercie vivement pour avoir mis à ma disposition tout le matériel nécessaire et disponible pour bien mener ce travail.*

*Je remercie tout particulièrement mon encadreur madame Noureddine Asma maître-assistant chargé de cours à l'université de Laghouat, pour l'encadrement dont j'ai bénéficié, pour leurs aides lors de la rédaction de ce mémoire et pour le soutien moral qu'ils n'ont cessé de m'apporter durant ces années de mémoire. Je tiens à leur exprimer l'assurance de mes sentiments respectueux et dévoués.*

*J'exprime mes sincères remerciements à l'enseignant Saïdt boubakeure maître conférence-A à l'université de Laghouat et Mr koribaa Bakhti Maîtres assistants à l'université de Laghouat, et Mr.Harizi Abd-Allah maître conférence-A à l'université de Laghouat d'avoir accepté les membres de jury, pour avoir bien voulu considérer et examiner ce travail.*

*Je remerciement le chef de département des sciences matière à L'Université Amar Telidji de Laghouat.*

*D'adresser ici mes remerciements à tous mes enseignants durant ces 5 ans d'études universitaires .Nous avons beaucoup appris avec eux sur les différents domaines, ceux qui nous ont donné un bagage pour la suite de*

*nos carrières. Je n'oublie pas tous ceux qui ont contribué à la réalisation  
de ce travail.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail a :*

*En premier lieu et avant tout, je remercie Dieu de m'avoir donné la volonté et le courage d'achever mes études.*

*Mes parents qui trouvent ici le témoignage d'avoir gratitude envers leurs affections, leur amour et les fidélités qu'ils n'ont cessé de me faire durant toute ma vie scolaire.*

*Ma grande famille GHRIS ET GUESMIA.*

*Mon frère et Mes sœurs.*

*Dédicace spécial : Ahmed*

*Mes chères proches*

*Mes chères amies.*

*Mes professeurs.*

*A Tous les enseignants qui ont fortement contribués à nos formations depuis l'école primaire jusqu'à l'université.*



## Tableau des matières

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

\*\*\*\*\*

<b>I. Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>II. Matériel et Méthodes .....</b>	<b>4</b>
<b>II.1 Lieu et période du travail .....</b>	<b>4</b>
<b>II.2. Matériel végétal (Arbutus unedo L.) .....</b>	<b>4</b>
<b>II.3 Réactifs et produits chimiques .....</b>	<b>4</b>
<b>II.4 .Appareillages .....</b>	<b>4</b>
<b>II.5. Tests phytochimiques .....</b>	<b>4</b>
II.5.1. Les tanins .....	4
<b>II.5.2. Les flavonoïdes .....</b>	<b>4</b>
II.5.3 Alcaloïdes .....	5
II.5.4. Les saponines .....	5
<b>II.5. 5 Tests de stéroïdes et de terpénoïdes .....</b>	<b>5</b>
A. Essai de Salkowski .....	5
B .Test de Liebermann-Burchard .....	5
<b>II.5.6. Tests de glycosides .....</b>	<b>6</b>
A. Glycoside d'antraquinone (test de Borntrager .....	6
B .Glycoside cardiaque (test de Keller-Killiani) .....	6
<b>II.6 .Méthodes d'extraction des composés phénoliques .....</b>	<b>6</b>
<i>a. Macération .....</i>	<i>6</i>
<i>b. Dépigmentation .....</i>	<i>6</i>
<i>c.. Extraction liquide-liquide .....</i>	<i>6</i>
<b>II.7. Rendement d'extraction .....</b>	<b>7</b>

<b>II.8. Détermination de la teneur totale en composés phénoliques, flavonoïdes et en flavonols</b> .....	7
<b>II.8.1.Polyphénols totaux</b> .....	7
II.8.2.Flavonoïdes .....	8
II.8.3. Flavonols .....	8
<b>II .9 . Evaluation de l'activité antioxydante</b> .....	9
II .9 .1 . Dosage de la puissance antioxydante réductrice du fer (FRAP) .....	9
II.9 .2. Test de DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) .....	10
<b>II.10. Détermination qualitative de la quercitrine dans les fruits et feuilles d'A.Unedo ....</b>	<b>11</b>
II.10.1.Préparation d'échantillon .....	11
II.10.2.Chromatographie sur couche mince .....	11
<b>III. Résultats et discussion</b> .....	12
<b>III.1. Rendement d'extraction</b> .....	12
<b>III.2.Tests phytochimiques</b> .....	12
<b>III.3. Détermination de la teneur totale en composés phénoliques, flavonoïdes et en flavonols</b> .....	13
III.3.1 Teneur en polyphénols totaux .....	13
III.3.2. Teneur des flavonoïdes .....	15
<b>III.3.3. Teneur des flavonols</b> .....	16
<b>III.4. Evaluation de l'activité antioxydante</b> .....	16
III.4.1. Test au FRAP .....	16
<b>III.4.2. Test au DPPH</b> .....	18
<b>III.5. Chromatographie sur couche mince</b> .....	21
<b>IV. Conclusion</b> .....	22
<b>Liste des références bibliographiques</b> .....	24
<b>Les annexes</b>	



## *Liste d'abréviations*

AGE : Acide Gallique Equivalent  
Ar-FR-ORG : Arbutus unedo-Fruits-Phase organique  
Ar-FR-AQ : Arbutus unedo-Fruits-Phase aqueuse  
Ar-F-ORG : Arbutus unedo-Feuilles-Phase organique  
Ar-F-AQ : Arbutus unedo-Feuilles-Phase aqueuse  
°C : Degré Celsius  
DPPH : Diphényl-2,2 picryl-1 hydrazine  
FRAP : Ferric reducing antioxidant power  
IC : Inhibiteur concentration  
mg : Milligramme  
mL : Millilitre  
mM : Millimolaire  
Ms : Matière sèche  
min : Minute  
nm : Nanomètre  
M : Molaire  
mM : Millimolaire  
Vc : Vitamine C  
RE : Rutine équivalent  
Rf : Rapporte frontale  
TEAC : Trolox équivalents antioxidant capacity ·  
V : Volume  
UV : Ultraviolet

## *Liste des Figures*

<i>Figure</i>	<i>Titres des figures</i>	<i>Page</i>
<b>1</b>	Fruits d'Arbutus unedo .L.	3
<b>2</b>	Réduction de radical libre DPPH en présence d'antioxydant.	10
<b>3</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	13
<b>4</b>	Courbes des variations de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits d'A-unedo (Fruits et Feuilles).	17
<b>5</b>	Courbes de la variation de I% en fonction de la concentration des extraits d'A-unedo (Fruits et Feuilles).	19
<b>6</b>	Plaque chromatographie sur couche mince des extraits de FR (fruits) et F (feuilles) d'A.Unedo comparé avec la Quercitrine.	21

## *Liste des Tableaux*

<b>Tableau</b>	<b>Titre des Tableaux</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Classification Taxinomique de l'A. <i>Unedo</i> .L.	2
<b>2</b>	Liste des marques et formules des produits utilisés dans ce travail.	I
<b>3</b>	Propreté physique et le rendement d'extraction.	12
<b>4</b>	Examen physique initial de la plante A- <i>unedo</i> .	12
<b>5</b>	Teneur en composés phénoliques d'A. <i>Unedo</i> (Fruits et Feuilles).	14
<b>6</b>	Teneur en flavonoïdes d'A. <i>Unedo</i> (Fruits et Feuilles).	15
<b>7</b>	Teneur en flavonols d'Arbutus <i>unedo</i> (Fruits et Feuilles).	16
<b>8</b>	Résultats d'activité antioxydant FRAP des différents extraits.	18
<b>9</b>	Le pouvoir d'inhibition IC <sub>50</sub> des différents extraits en (mg/ml).	20
<b>10</b>	Paramètres d'identification des polyphénols analysés.	21

## Résumé

L'objectif de l'étude actuelle était d'évaluer le contenu phénolique et flavonoïde total et d'étudier les capacités antioxydantes des extraits de fruits et feuilles d'*Arbutus unedo*. L qui se développent dans la région de Tiaret (Algérie occidentale). D'abord, les résultats des analyses phytochimiques effectuées sur les fruits et les feuilles d'*A.Unedo* révèlent la présence des flavonoïdes, terpenoïdes, glycoside cardiaque et saponines de grandes proportions dans les feuilles par rapport aux fruits, nous notons également la présence de stéroïdes dans les feuilles, et son absence dans les fruits. Le rendement d'extraction par la macération dans un solvant hydro méthanolique des fruits ont montré le meilleur rendement d'extraction (54,92%) par rapport les feuilles d'*Arbutus unedo* (31,97%). L'estimation quantitative évaluées selon la procédure Folin-Ciocalteu, et la méthode de  $AlCl_3$  a montré que l'extraits Ar-F-ORG contiennent le meilleur de ces composés phénolique totaux ( $46,0338 \pm 2,1840$  mg EAG/g Ms), des flavonoïdes ( $0,1907 \pm 0,0007$  mgRE /g Ms) et des flavonols ( $0,1469 \pm 0,0007$  mgRE/g Ms). L'évaluation du pouvoir anti-oxydant par les méthodes du piégeage des radicaux libres et le test de FRAP a montré qu'Ar-F-ORG révèle toujours l'activité la plus élevé suivi par Ar - F- AQ et Ar-FR-ORG puis Ar-FR-AQ qui donne l'activité la plus faible. L'analyse qualitative des polyphénols par la technique chromatographique sur couche mince a montré la présence de la *quercitrine* dans les feuilles et les fruits d'*A.Unedo*.

**Mots-clés:** *A.Unedo*, flavonoïdes, flavanols, phénols totaux, activité antioxydant, CCM

الهدف من هذه الدراسة لتقييم المحتوى الفينولي ومجموعه الفلافونويد ودراسة القدرات المضادة للأكسدة من مقتطفات من الفواكه و اللقطلب اونيدو. والنامية في منطقة تيارت (غرب الجزائر). أولا، نتائج التحليلات الكيميائية النباتي من الفواكه والأوراق للقطلب اونيدو تكشف عن وجود مركبات الفلافونويد، تيربينويدس، الصابونين والجليكوسيدات القلبية نسب كبيرة في الأوراق مقارنة مع الفاكهة، ونلاحظ أيضا وجود المنشطات في الأوراق، وعدم وجوده في الفواكه. وأظهرت كفاءة الاستخراج عن طريق النقع في الميثانول الفاكهة مذيب مائي أفضل كفا ( $54.92\%$ ) من أوراق قطلب أونيدو ( $31.97\%$ ). أظهر التقدير الكمي قياسها باستخدام الإجراء فولين-سيوكالتو، وطريقة  $AlCl_3$  الذي يستخرج AR-F-ORG الفينولية ( $46,0338 \pm 2,1840$  mg EAG/g Ms)، الفلافونويد ( $0,1907 \pm 0,0007$  mgRE /g Ms) Ar-F-ORG أظهر تقييم القوة المضادة للأكسدة من DPPH FRAP يكشف عن أعلى نشاط للعينة Ar-F-ORG تليها AR-F-AQ AR-FR-ORG الذي يعطي أدنى النشاط. وأظهر التحليل النوعي للمادة البوليفينول أظهرتها تقنية طبقة رقيقة الكروماتوغرافي وجود كيرسيتين في أوراق وثمار *A.Unedo*.

**كلمات المفتاحية:** قطلب اونيدو الفلافونويد، الفلافانول، مجموع الفينولات، والنشاط المضادة للأكسدة، طبقة رقيقة اللوني

## Abstract

The objective of the present study was to evaluate the total phenolic and flavonoid content and to study the antioxidant capacities of *Arbutus unedo* fruit and leaf extracts. L that are developing in the Tiaret region (Western Algeria). First, the results of the phytochemical analyzes carried out on the fruits and leaves of *A.Unedo* reveal the presence of flavonoids, terpenoïdes, cardiac glycoside and saponins of large proportions in the leaves relative to the fruits, we also note the presence of Steroids in the leaves, and its absence in fruits. The extraction yield by maceration in a hydro methanolic solvent of the fruits showed the best extraction yield (54.92%) compared to the leaves of *Arbutus unedo* (31.97%). The quantitative estimation evaluated according to the Folin-Ciocalteu procedure and the  $AlCl_3$  method showed that the Ar-F-ORG extracts contained the best of these total phenolic compounds ( $46.0338 \pm 2.1840$  mg EAG / g Ms) , Flavonoids ( $0.1907 \pm 0.0007$  mgRE / g Ms) and flavonols ( $0.1469 \pm 0.0007$  mgRE / g Ms). Evaluation of antioxidant potency by free radical scavenging methods and FRAP test showed that Ar-F-ORG always revealed the highest activity followed by Ar-F-AQ and Ar-FR- ORG then Ar-FR-AQ which gives the lowest activity. The qualitative analysis of polyphenols by the thin-layer chromatographic technique showed the presence of quercitrin in the leaves and fruits of *A.Unedo*.

**Keywords :** *A.Unedo*, flavonoids, flavanols, total phenols, antioxidant activity, thin-layer chromatography

## I. Introduction

Les composés phénoliques sont présents en abondance dans l'alimentation humaine et agissent comme des antioxydants et sont constituants largement répandus des fruits, des légumes, des céréales, de l'huile d'olive, des légumineuses sèches, du chocolat et des boissons [1]. On les trouve également dans des plantes comestibles et non comestibles. Ils peuvent exercer des effets antioxydants en tant que piègeurs de radicaux libres, comme source d'hydrogène ou comme inhibiteurs d'oxygène singlet et chélateurs d'ions métalliques [2]. Les composés phénoliques sont connus pour contrer le stress oxydatif dans le corps humain en aidant à maintenir un équilibre entre les substances oxydantes et antioxydants [3, 4].

Les antioxydants sont des composés qui neutralisent les produits chimiquement actifs du métabolisme, comme les radicaux libres qui endommagent le corps. Les sources d'antioxydants naturels sont principalement des composés phénoliques qui peuvent se produire dans tous les produits et parties d'une plante comme les fruits, les légumes, les noix, les graines, les feuilles, les racines et l'écorce. En raison de leur action antioxydante potentielle, Les phénols et les polyphénols, avec leur potentiel pour agir comme antioxydants [5].

Certaines plantes se rencontrent à l'état spontané et s'adaptent aux multiples sols et climats notamment les fruits comme l'arboise «*Arbutus unedo L.*» [6]. En effet, *Arbutus unedo L.* est un fruit sauvage qui se développe dans les régions méditerranéennes et connu en Algérie sous le nom vulgaire de «*Lendj*» [7, 8] (Fig.1). Il est très répandu en raison de sa tolérance à la sécheresse et sa capacité à se régénérer et recoloniser les forêts incendiées [9].

Selon les classifications botaniques la position taxonomique de *l'Arbutus unedo L.* est représentée dans le tableau 1.

**Tableau 1** : Classification Taxinomique de l'A. Unedo .L. [10]

<i>Rang taxonomique</i>	<i>Signification</i>
Règne	plante
Sous - règne	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Embranchement	Spermaphytes
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnolopsida (Dicotylédones)
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Ericales
Sous-ordre	Ericanae
Famille	Ericaceae
Sous- famille	Arbutoideae
Genre	Arbutus
Espèce	<i>Arbutus unedo L.</i>

*Arbutus unedo L.* (Ericaceae, fraise anglaise) est un arbuste à feuilles persistantes ou un petite arbre atteignant jusqu'à 12 m de hauteur. , Gommage à feuilles persistantes. Les feuilles de *A. unedo* sont alternées, simples, oblitérâtes, vert foncé, coriaces, à courte tige et dentées. Les fleurs sont en forme de cloche, avec des lobes recourbés, de 8 à 9 mm de long, blancs, souvent teinté de rose ou vert et de parfum au miel. Les fruits sont des baies globules d'environ 15 à 20 mm de diamètre, mûrissant par le jaune à l'écarlate et au fond Cramoisi. Puisque les fruits prennent environ 12 mois pour mûrir, un arbre porte des fruits et des fleurs matures en même temps [11, 12].



**Figure. 1 :** Le plant d'Arbutus unedo L. [7].

Arbutus unedo L. (*A. unedo*) est largement utilisé dans la médecine traditionnelle, et aujourd'hui, beaucoup de ses vertus ont été scientifiquement prouvées comme antioxydants, antihypertenseurs, anti-hyperglycémiques et anti-inflammatoires [13,14 ,15].

L'objectif de ce travail de recherche est :

- Réalisé les tests phytochimiques pour chercher les différentes classe des métabolites secondaires constituant dans les extraits des feuille et des fruits du plante de *A.Unedo*.
- L'estimation des teneurs phénoliques totaux, ainsi que les teneurs totales en flavonoïdes et flavonols
- Etude de l'activité antioxydant des extraits par deux tests chimiques. Le choix de premier test est fixé sur le pouvoir réductible, tandis que le deuxième est une analyse mesurant le pouvoir antioxydant des extraits à balayer le radicale stable DPPH.
- L'identification des composés individué (flavonoïdes) en utilisant la technique de chromatographie en couche mince.

Enfin en conclusion, nous résumons l'ensemble des résultats obtenus, en soulignant les caractéristiques générales de plante d'*A.Unedo*.

## **II. Matériel et Méthodes**

### **II.1 Lieu du travail**

Ce travail a été réalisé dans les laboratoires de la faculté des sciences de la matière – Université de Amar Telidji – Laghouat.

### **II.2. Matériel végétal (*Arbutus unedo* L.)**

L'Arbousier (*Arbutus unedo* L) a été récolté durant la période du mois d'Octobre 2016 de la région de Tiaret. La partie aérienne (feuilles et fruits) de la plante est séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Après le séchage, cette plante est broyée en poudre fine puis stockées dans des sacs en papier jusqu'à leur utilisation.

### **II.3 Réactifs et produits chimiques**

La liste des produits utilisés dans ce travail est regroupée dans le tableau 1 Annexe 1.

### **II.4 .Appareillages**

Le spectrophotomètre utilisé pour effectuer les analyses est Spectrophotomètre UV/Visible est de mark « JENWAY »

### **II.5. Tests phytochimiques**

Nos tests sont réalisés sur les poudres de plante d'*A.Unedo* (fruits et feuilles)

#### **II.5.1. Les tanins**

Une quantité de 1 g de chaque échantillon broyée est macérée dans 50 ml d'éthanol 50 % pendant une nuit, après le mélange est filtré, nous avons pris quelques millilitres du filtrat et nous avons ajouté quelques gouttes de chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ).

L'apparition d'une couleur verte foncée indique la présence des tanins [16].

#### **II.5.2. Les flavonoïdes**

Une quantité de 1 g de chaque échantillon broyée est macérée dans 10 ml de méthanol 80 % pendant une nuit, après le mélange est filtré, nous avons pris quelques millilitres du filtrat et nous avons ajouté quelques millilitres de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ).

L'apparition d'une couleur jaune foncée indique la présence des flavonoïdes [17].

### II.5.3 Alcaloïdes

0.5ml d'acide chlorhydrique à 1% plus 0.1ml de chaque extrait, le mélange est chauffé au bain marie puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par 5 gouttes de réactif de Mayer, l'autre par 5goutte de réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révéle la présence des alcaloïdes [18].

- Réactif de Mayer : 5 g de KI et 1,358 g de HgCl<sub>2</sub> solubilisés dans 100 ml d'eau distillée [20].
- Réactif de Wagner : 2 g de KI et 1,27g d'I<sub>2</sub> solubilisé dans 100 ml d'eau distillée [19].

### II.5.4. Les saponines

Une quantité de 2 g de chaque échantillon broyée est chauffée avec 40 ml d'eau distillée jusqu'à l'ébullition, après refroidissement et filtration, nous avons agité les filtrats puis ils sont laissés pendant 15 min.

L'apparition des mousses stables après 15 min indique la présence des saponines [20].

### II.5. 5 Tests de stéroïdes et de terpénoïdes

**A. *Essai de Salkowski*** : L'extrait brut (environ 100 mg) a été mélange séparément avec du chloroforme (2 ml) suivi de l'addition de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré (2 ml) le long du bord du tube à essai, une coloration brun rougeâtre de l'interface indique la présence de Terpénoïde [21].

**B. *Test Liebermann-Burchard*** : Chaque extrait (100 mg) a été mélange avec du chloroforme dans un tube à essai ; Quelques gouttes d'anhydride acétique ont été ajoutées au tube à essai et bouillies dans un bain d'eau et rapidement refroidies dans de l'eau glacée. Du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré (2 ml) a été ajouté à côté du tube à essai. Formation d'un anneau brun à la jonction de deux.

Les couches rotationnelles de la couche supérieure en vert montrent la présence de stéroïdes tandis que la formation de couleur rouge foncé indique la présence de terpénoïdes [22].

## II.5.6. Tests de glycosides

- A. **Glycoside d'antraquinone (test de Borntrager)** : à la solution d'extrait (1 ml), on ajoute 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5%). Le mélange a été bouilli dans un bain d'eau puis filtré. Le filtrat a ensuite été secoué avec un volume égal de chloroforme et maintenu pendant 5 minutes. Ensuite, la couche inférieure de chloroforme a été secouée avec la moitié de son volume avec Ammoniac dilué. La formation du rose à la couleur rouge de la couche ammoniacale donne une indication des glycosides anthraquinone [22].
- B. **Glycoside cardiaque (test de Keller-Killiani)** : Un extrait (0,5 g) a été secoué avec de l'eau distillée (5 ml). A cela, on a ajouté de l'acide acétique glacial (2 ml) contenant quelques gouttes de chlorure ferrique, suivi de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 ml) le long du tube à essai. La formation d'un anneau brun à l'interface donne une indication positive pour le glycoside cardiaque et un anneau violet peut apparaître sous l'anneau brun (Ayoola et al. 2008) [22].

## II.6 .Méthodes d'extraction des composés phénoliques

La méthode d'extraction utilisée pour les composés phénoliques est celle d'Amiot [23].

Elle est réalisée en trois étapes :

**a. Macération** : 1 g de poudre fine des fruits ou feuilles séchés ont été macérés dans un mélange hydro alcoolique 100 ml (méthanol / eau 80/20 : v / v) pendant 72 heures, dans l'obscurité à la température ambiante .Après filtration, le filtrat a été évaporé sous pression réduite à une température de 55°C.

**b. Dépigmentation** : Le volume de la phase aqueuse ainsi obtenue de chaque extrait est ensuite lavé une ou plusieurs fois avec un même volume de l'hexane dans une ampoule à décanter afin d'éliminer toutes traces de composés apolaires (pigments, lipides, etc.).

**c. Extraction liquide-liquide** : 2ml de sulfate d'ammonium (20%) et 0.5ml de l'acide orthophosphorique (2%) sont mélange à la phase aqueuse les polyphénols sont extraits par l'acétate d'éthyle avec un rapport 1/1 (V/V). l'extraction est répétée trois fois.

On obtient deux phase : Une phase aqueuse stockées au réfrigérateur jusqu'à leur analyse et une phase organique qui séchée par une quantité de sulfate de sodium anhydre. Ensuite le solvant est évaporé à sec à 40°C, le résidu obtenu est repris par un volume de 10ml de méthanol.

## II.7. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par Falleh et al. [24].

$$R (\%) = 100 * (M_{ext} / M_{éch}).$$

Où :

**R** : est le rendement en %.

**M<sub>ext</sub>** : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg

**M<sub>éch</sub>** : est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

## II.8. Détermination de la teneur totale en composés phénoliques, flavonoïdes et en flavonols

### II.8.1. Polyphénols totaux

La détermination de la teneur totale en phénol dans nos extraits de *A. Unedo* été effectuée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu avec quelques modifications [25]. Pour ce faire, On a transféré 200 µl de chaque extraits de plantes dilué dans un tube à essai, puis on a ajouté 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10% et 800 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7,5% suivi d'une agitation vigoureuse et finalement on a laissé reposer pendant 30 min après on a pris l'absorbance à 765 nm.. On utilise une courbe d'étalonnage standard obtenue à partir de diverses concentrations d'acide gallique.

Le teneur en composé phénolique est déterminé en milligramme équivalant acide gallique mg EAG par un gramme de matière sèche (mg EAG/g Ms).

## II.8.2.Flavonoïdes

Pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes, la méthode du chlorure d'aluminium est incorporée en utilisant la rutine comme standard [26]. Le procédé est basé sur la formation du complexe flavonoïde-aluminium qui a un maximum d'absorption à 415 nm.

100 µl des extraits de plantes ont été mélangés avec 100 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 2% dans du méthanol et une goutte d'acide acétique, puis dilués avec du méthanol à 5 ml. L'absorption à 415 nm a été lue après 40 minutes. Des échantillons blancs ont été préparés à partir de 100 µl méthanol avec 100 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 2% dans du méthanol et d'acide acétique, puis dilués à 5 ml avec du méthanol. L'absorption de solution de la rutine standard (0,5 mg / ml) dans du méthanol a été mesurée dans les mêmes conditions. Toutes les déterminations ont été effectuées en trois exemplaires. La teneur en flavonoïdes dans les extraits de plantes est exprimé en équivalents de la rutine (RE) et calculée par la formule suivante.

$$X = (A * m_0) / (A_0 * m)$$

Ou :

**X** : est la teneur en flavonoïdes, mg / g d'extrait végétal dans RE.

**A** : est l'absorption de la solution d'extrait végétal.

**A<sub>0</sub>** : est l'absorption de la solution de rutine standard.

**m** : est le poids de l'extrait de médicament brut mg.

**m<sub>0</sub>** : est le poids de la rutine dans la solution en mg.

## II.8.3. Flavonols

La teneur totale en flavonols a également été déterminée selon la méthode du chlorure d'aluminium [26] avec quelques modifications en utilisant la rutine comme composé de référence. Cette méthode est également basée sur la formation d'un complexe avec absorption maximale à 440 nm. On mélange 1 ml de chaque extrait végétal avec 1 ml de trichlorure d'aluminium (20 mg/ml) et 3 ml d'acétate de sodium (50 mg/ml). L'absorbance à 440 nm a été lue après 2:30 heures.

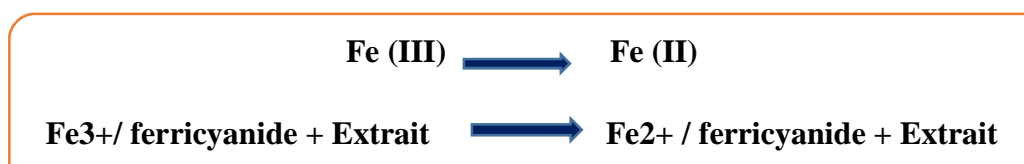
Dans les mêmes conditions, on a mesuré l'absorbance d'une solution standard la rutine 0,5 mg/ml. Toutes les déterminations ont été effectuées en trois exemplaires. La quantité de flavonols dans les extraits de plantes est exprimée en équivalents de rutine (RE) et a été calculée par la même équation précédente.

## II .9 . Evaluation de l'activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de nos extraits a été réalisée par deux tests chimiques in vitro. Dans le premier test nous avons évalué le potentiel à réduire l'ion ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en ion ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) à faible pH (FRAP). Dans le deuxième on s'intéresse à mesurer l'activité de balayage du radical hydroxyle DPPH.

### II .9 .1 . Test de FRAP

Dans le test FRAP, un antioxydant potentiel réduit l'ion ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en ion ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) à faible pH, avec formation d'un complexe bleu ( $\text{Fe}^{2+}$  / TPTZ) [27]. Dont le principe de ce test est basé sur la réaction chimique suivante.

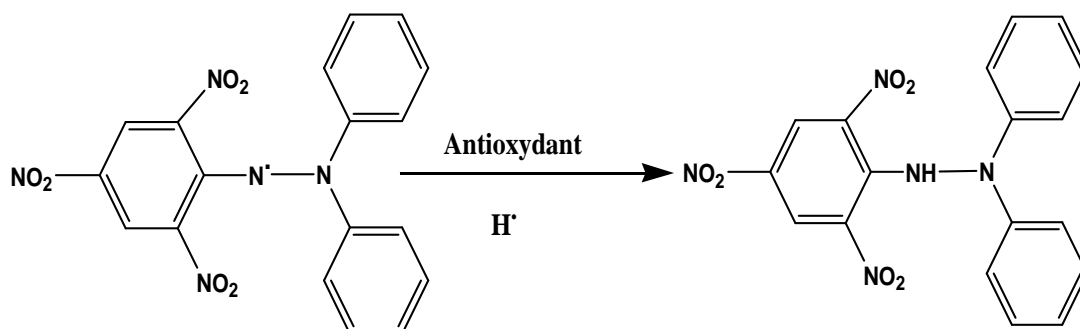


Le réactif FRAP a été fraîchement préparé en mélangeant ensemble du tampon acétate 0,3 M (pH =3,6), 10 mM TPTZ (2, 4,6-tris-2, 4,6-tripyridyl-2-triazine) dans HCl 40 mM et 20 mM de  $\text{FeCl}_3$  dans la proportion 10: 1: 1 (v / v / v), respectivement.

L'essai a été réalisé par 20  $\mu\text{l}$  de chaque extrait dilué et 2980  $\mu\text{l}$  du réactif FRAP. Après 30 minutes d'incubation dans l'obscurité à 37 °C, l'absorbance a été mesurée à 593 nm. La Vitamine C (0.05-0.5mg/ml) est utilisé comme antioxydant standard avec les mêmes conditions expérimentales. Toutes les mesures sont répétées 3 fois. Les résultats ont été comparés à une courbe standard préparée avec différentes concentrations de Trolox afin d'exprimées l'activité antioxydant en équivalent trolox.

### III.9 .2. Test de DPPH

L'activité antioxydant est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques. En présence d'un radical libre, 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) ; l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable DPPH (Figure 2), ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène [28].



**Figure 2** : Réduction de radical libre DPPH en présence d'antioxydant

Le DPPH présente une coloration violette sombre mais lorsqu'il est piégé par des substances antioxydants sa couleur vire vers le jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de cette coloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance anti-radicalaire.

Pour réaliser ce test, un volume de 50 µl des divers concentrations préparées de chaque extraits a été mélangé avec 1950 µl de solution méthanoïques de DPPH (60µM), le mélange a été secoué vigoureusement et incubé à l'obscurité pendant 30 minutes .La réduction du radical DPPH a été mesurée en surveillant en continu la diminution de l'absorption à 517nm contre un blanc contenant la solution de DPPH et du solvant.

La capacité à piéger le radical libre DPPH a été calculé comme pourcentage d'inhibition I % utilisant l'équation suivante [29].

$$I\% = \left| \frac{A_0 - A}{A_0} \right| \times 100$$

Où :

**A** : est l'absorbance de l'extrait de l'échantillon lorsque la solution a été ajoutée.

**A<sub>0</sub>** : est l'absorbance de la solution DPPH.

La concentration en extrait fournissant 50% d'inhibition (IC50) a été calculée à partir du graphe de pourcentage d'effet de balayage en fonction la concentration en extrait [29]. Nous avons comparé le pouvoir antioxydant de nos extrais à la vitamine C comme des antioxydants naturel et synthétiques.

## **II. 10. Détermination qualitative de la quercitrine dans les fruits et les feuilles d'A-unedo**

### **II.10.1. Préparation d'échantillon**

Des extraits d'A. Unedo ont été préparés par extraction au reflux de la poudre (10g) de feuilles ou fruits dans du méthanol (100ml) pendant 5 minutes, La concentration finale étant de 0,1 g / ml. Un standards de « Quercitrine » a été préparées sous forme d'une solution à 1 mg /ml dans du méthanol.

### **II.10.2. Chromatographie sur couche mince :**

Une Chromatographie sur couche mince a été effectuée sur des plaques de gel de silice HPTLC 60 F<sub>254</sub> 7 x 9 cm (Merck, Allemagne).

L'acétate d'éthyle-acide formique-acide acétique-et eau en rapport volumique 100 : 11: 11: 26 a été utilisé comme phase mobile [30].

### III. Résultats et discussion

#### III.1. Rendement d'extraction

**Tableau 2 :** Propreté physique et le rendement d'extraction.

	Arbutus unedo (Fruits)	Arbutus unedo Feuilles
<b>Aspect</b>	Visqueux	Visqueux
<b>Couleur</b>	Rouge claire	Verte
<b>R%</b>	54,92859	31,97442

D'après les résultats obtenus, les extraits des feuilles et des fruits montrent des aspects visqueux et des couleurs différentes. Le rendement d'extraction des fruits ont montré le meilleur rendement d'extraction (54,92%) par rapport les feuilles d'Arbutus unedo (31,97%).

#### III.2. Tests phytochimiques

La plante Arbutus unedo (fruit et feuilles) a été testée pour la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, des stéroïdes, des terpenoïdes, des saponines et les glycosides.

**Tableau 3:** Examen physique initial de la plante *A- unedo*.

<i>Tests phytochimiques</i>		<i>A. unedo (Fruits)</i>	<i>A. unedo (Feuille)</i>
Tanins		-	-
Flavonoïdes		+	+++
Alcaloïdes	Réactif de Mayer	-	-
	Réactif de Wagner	-	-
Saponines : test de mousse		+	++
Terpénoïdes : Test de Salkowski		++	+++
Stéroïdes : Test Libermann-Burchard		-	+
Glycoside d'antraquinone : test de Borntrager		-	-
Glycoside cardiaque : test de Keller-Killiani		++	+++

(-) absent ; (+) Présent ; (++) présent en quantité modérée ; (+++) : présent dans une quantité considérable.

Les résultats obtenus présentent que la plante *A.Unedo* contient des flavonoïdes, terpénoïdes, glycoside cardiaque et saponines de grandes proportions dans des feuilles par rapport aux fruits. Nous notons également la présence de stéroïdes dans les feuilles mais ils sont absents dans les fruits. Des tests négatifs sont observés sur les Tanins, les Alcaloïdes, et les Glycoside d'antraquinone dans la plante d'*A. Unedo*.

Ces composés phytochimiques identifiés dans les extraits de feuilles et fruits peuvent être responsables des activités biologiques montrées par *A.Unedo* et la raison de leur utilisation comme médicament traditionnel par les indigènes des régions méditerranéennes et connu en Algérie.

### III.3. Détermination de la teneur totale en composés phénoliques, flavonoïdes et en flavonols

#### III.3.1 Teneur en polyphénols totaux :

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de plante a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure3) en prenant l'absorbance en fonction de la concentration (mg/ml).

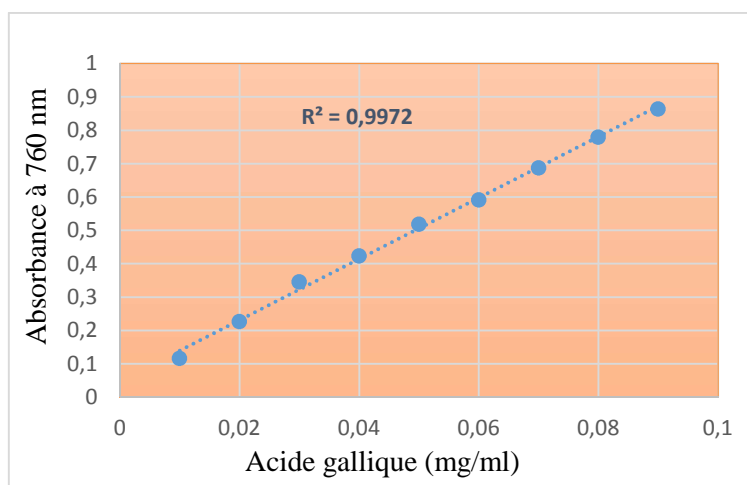


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique ( $y = 9,165x + 0,0481$ ). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de la matière sèche (mg EAG/g Ms). Ces résultats ont permis de donner des estimations sur les quantités des polyphénols totaux contenus dans les échantillons *d'A-unedo* (Fruits et Feuilles). Chaque essai a été répété trois fois. Les valeurs reportées dans le tableau suivant est une moyenne.

**Tableau 4 :** Teneur en composés phénoliques d'*A.Unedo* (Fruits et Feuilles).

Echantillons	Teneur en phénols totaux (mg EAG/g Ms) $\pm$ SD
<b>Ar-FR-ORG</b>	3,1667 $\pm$ 0,1113
<b>Ar-FR-AQ</b>	5,0943 $\pm$ 0,2392
<b>Ar-F-ORG</b>	46,0338 $\pm$ 2,1840
<b>Ar-F-AQ</b>	1,6864 $\pm$ 0,0892

Les résultats obtenus de la teneur en phénols totaux des *A-unedo* étudiées montrent ces composés varient entre 1,6864 $\pm$ 0,0892 mg EAG/g et 46,0338 $\pm$ 2,1840 mg EAG/g de la matière sèche. Les taux des composés phénoliques les plus élevés ont été détectés dans les extraits Ar-F-ORG, tandis que, le teneur le plus basse est observé pour l'extrait de l'échantillon Ar-F-AQ, Ar-FR-ORG, et Ar-FR-AQ.

La méthode de Folin-Ciocalteu a été choisie pour le dosage des polyphénols pour certaines raisons. Tout d'abord, c'est une technique qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité vue la disponibilité du réactif de Folin-Ciocalteu et la standardisation de la méthode. De plus, la grande longueur d'onde (765nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré. En fin, c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche d'antioxydants alimentaires à travers le monde [31,32].

### III.3.2. Teneur des flavonoïdes

La raison principale pour laquelle on a choisi cette classe de composés phénoliques réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits [33]. Selon Elâgoun et ses collaborateurs [34]. La teneur totale en flavonoïdes déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) pour chaque extrait a et exprimée en milligrammes par gramme de la matière sèche (Ms) équivalent en rutine. Ces résultats ont permis de donner des estimations sur les quantités des flavonoïdes contenus dans les échantillons d'*A. unedo* (Fruits et Feuilles). Chaque essai a été répété trois fois ainsi que, chaque valeur reportée dans le tableau est une moyenne.

**Tableau 5** : Teneur en flavonoïdes d'*A. unedo* (Fruits et Feuilles).

Echantillons	Teneur en flavonoïdes (mg ER/g Ms) $\pm$ SD
Ar-FR-ORG	0,0130 $\pm$ 0,0004
Ar-FR-AQ	0,0184 $\pm$ 0,0007
Ar-F-ORG	0,1907 $\pm$ 0,0007
Ar-F-AQ	0,0258 $\pm$ 0,0006

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux révèle que les extraits d'échantillon Ar-F-ORG (0,1907 $\pm$ 0,0007 mg ER/g de la matière sèche) est riche en composés flavonoïdiques comparativement aux échantillons Ar-FR-AQ, Ar-FR-ORG, et Ar-F-AQ.

### III.3.3. Teneur des flavonols

La teneur totale en flavonols a également été déterminée selon la méthode du chlorure d'aluminium [26], en utilisant la rutine comme composé de référence. Les résultats obtenus sont présentés dans le (Tableau 6).

**Tableau 6 :** Teneur en flavonols d'Arbutus unedo (Fruits et Feuilles).

Echantillons	Teneur en flavonols (mg RE/g Ms) $\pm$ SD
Ar-FR-ORG	0,0987 $\pm$ 0,0010
Ar-FR-AQ	0,0344 $\pm$ 0,0004
Ar-F-ORG	0,1469 $\pm$ 0,0007
Ar-F-AQ	0,0107 $\pm$ 0,0001

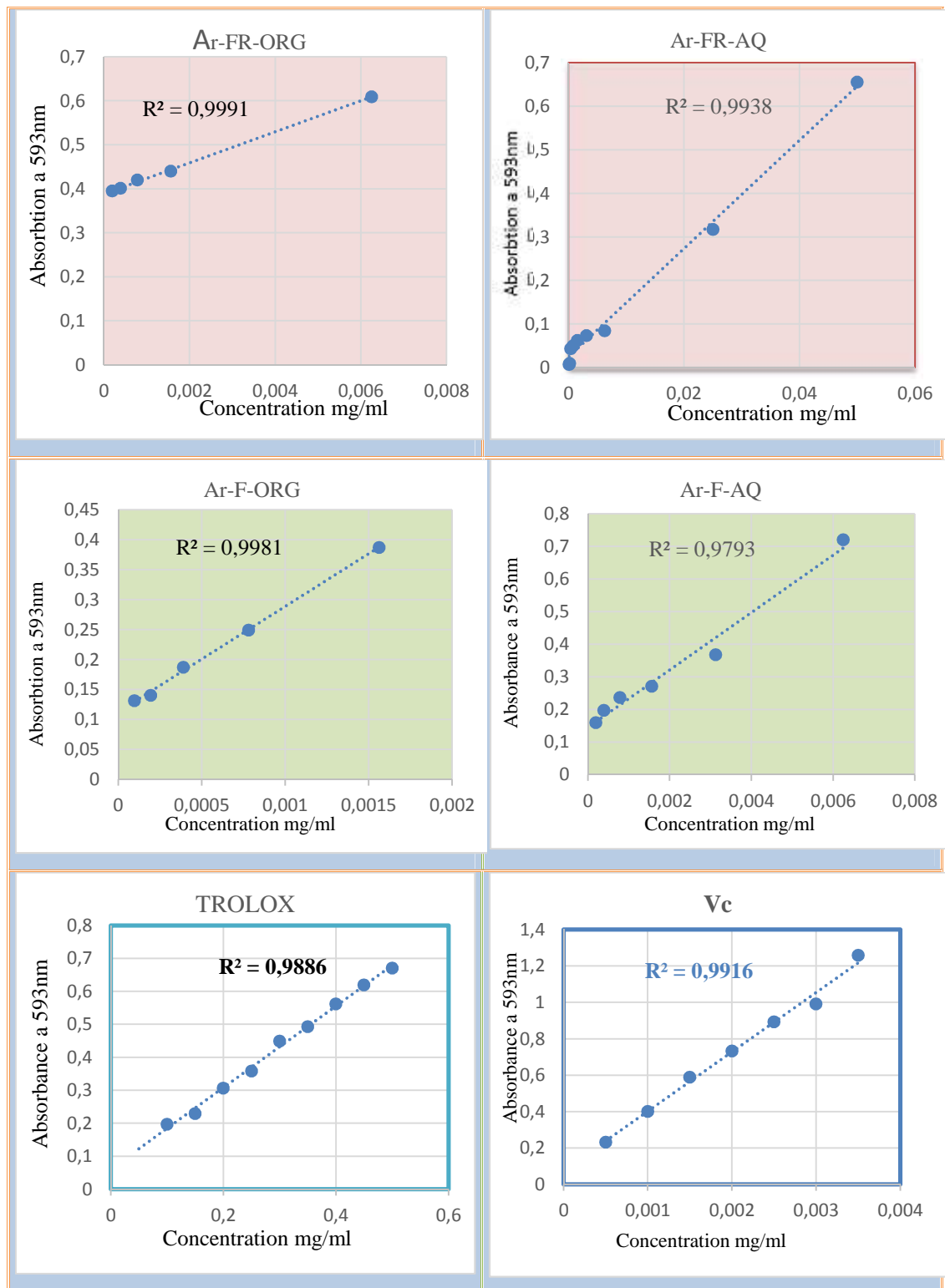
Les résultats de la teneur en flavonoïdes des de différentes parties d'A-unedo ( Fruits et Feuilles) (tableau5) montrent que Ar-F-ORG est préférable pour extraire les flavonools à savoir une moyenne de 0,1469 $\pm$ 0,0007mg ER/g Ms avec Ar-FR-ORG (0,0987 $\pm$ 0,0010mg ER/g Ms) contre le teneur le plus basse est observé pour l'extrait de l'échantillon Ar-FR-AQ et Ar-F-AQ

### III.4. Evaluation de l'activité antioxydante

#### III.4.1. Test au FRAP

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe<sup>3+</sup>/ complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe<sup>2+</sup> peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 593nm.

La variation du l'absorbance en fonction de la concentration des extraits sont présentés dans la figure 4 suivantes.



**Figure.4 :** Courbes des variations de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits d'A-  
unedo (Fruits et Feuilles).

Le pouvoir réducteur des extraits est exprimées en valeur de TEAC « Trolox équivalents antioxydante capacity » ·

$$TEAC = \text{pente (extrait)} / \text{pente(TROLOX)}$$

**Tableau 7 :** Résultats d'activité antioxydante FRAP des différents extraits.

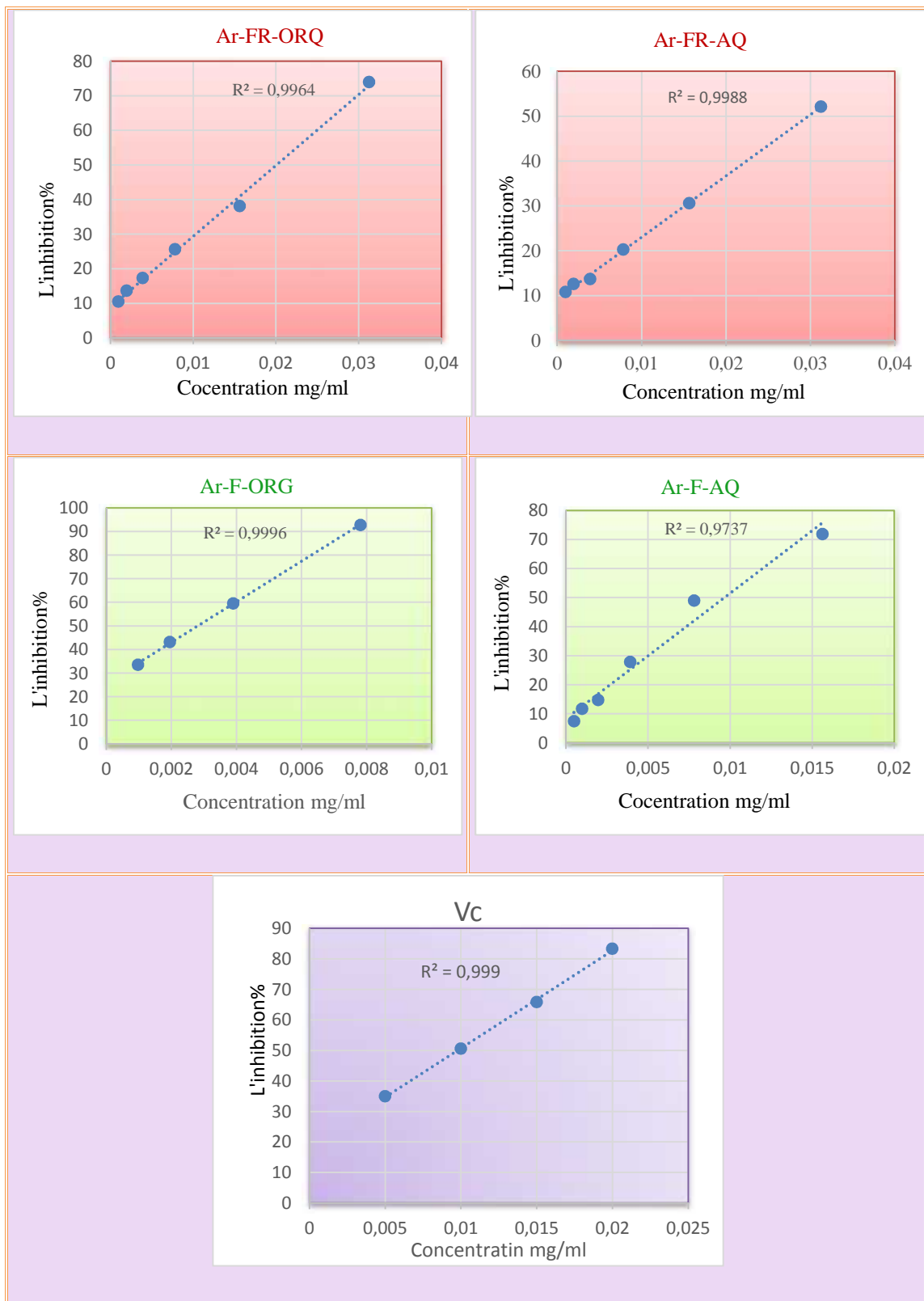
<i>Echantillon</i>	<i>TEAC</i>
<b>Ar-FR-ORG</b>	33,2368±1,79645
<b>Ar-FR-AQ</b>	15,0290±0,24213
<b>Ar-F-ORG</b>	152,8700±6,8732
<b>Ar-F-AQ</b>	73,8939±1,1088
<b>Vc</b>	280,1107±2,9806

Les résultats (tableau7) du test de FRAP sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec TROLOX ( $y = 1,1916x + 0,049$ ). Les résultats montrent que les feuilles d'*A.unedo* portent des valeurs plus élevée en TEAC, TEAC Ar-F-ORG = 152,8700±6,8732 et TEAC Ar-F-AQ = 73,8939±1,1088. Les Ar-FR-ORG et Ar-FR-AQ donnent un pouvoir réducteur faible avec des TEAC allant de 33,2368±1,79645 au 15,0290±0,24213.

Comparant ces valeurs obtenus avec la standard vitamine C, on trouve que ces extraits ont une pouvoir réducteur moins actif que la vitamine C (TEAC=280,1107±2,9806).

#### **III.4.2. Test au DPPH**

Le radical DPPH. Est un radical libre organique stable, avec une bande maximum d'absorption entre 515-528 nm. Dans cet essai les antioxydants réduit et décolore le radical DPPH, à un composé jaune le diphényle picryl hydrazine, l'ampleur de la réaction dépendra de la capacité des antioxydants de donner l'hydrogènes [35]. Les résultats peuvent être exprimés en tant que : pourcentage de l'activité anti radicalaire ou en pourcentage de DPPH restant ou peuvent également être exprimés en utilisant le paramètre IC<sub>50</sub>, qui est défini comme la concentration du substrat qui cause une perte de 50% de l'activité de DPPH. Nos résultats exprimés en IC<sub>50</sub>. Les figures suivantes représentent la variation du pouvoir antioxydant (I%) en fonction de la concentration des extraits.



**Figure 5 :** Courbes de la variation de I% en fonction de la concentration des extraits d'A-unedo (Fruits et Feuilles).

Il faut rappeler que plus la valeur de l'IC<sub>50</sub> est petite plus la capacité antioxydants de nos extraits est importantes. Les résultats obtenus de ce test sont regroupés dans le (Tableau 8). De même, nous avons calculé les IC<sub>50</sub> de l'acide ascorbique choisis comme antioxydants standard dans ce test.

**Tableau 8 :** Le pouvoir d'inhibition IC<sub>50</sub> des différents extraits en (mg/ml).

<i>Echantillon</i>	<i>IC<sub>50</sub> d'extrait (mg/ml)</i>
<b>Ar-FR-ORG</b>	0,0199±4,72092*10 <sup>-5</sup>
<b>Ar-FR-AQ</b>	0,0295±0,0002
<b>Ar-F-ORG</b>	0,0028±5,8693*10 <sup>-6</sup>
<b>Ar-F-AQ</b>	0,0080±0,0008
<b>Vitamine C</b>	0,0097±0,0003

Concernant les extraits phénoliques, nos résultats montrent que l'A-unedo à partir de l'extraction par macération porte des valeurs plus élevée en IC<sub>50</sub>, IC<sub>50</sub> Ar-F-ORG =0,0028±5,8693 mg/ml et IC<sub>50</sub>Ar-F-AQ = 0,0080±0,0008 mg/ml. Comparant ces valeurs obtenus avec la standard vitamine C, on trouve que ces extraits ont une activité anti radicalaire puissante ils sont plus actif que la vitamine C (IC<sub>50</sub> =0,0097±0,0003 mg/ml).

Les Ar-FR-ORG et Ar-FR-AQ donnent un statut anti radicalaire faible avec des IC<sub>50</sub> allant de 0,0199±4,72092 au 0,0295±0,0002 mg/ml.

### III.5. Chromatographie sur couche mince

Après le développement, les plaques ont été séchées à l'air et enregistrées à 254 et 365 nm



**Figure 6 :** Plaque chromatographie sur couche mince des extraits de FR (fruits) et F (feuilles) d'*A. Unedo* comparé avec la Quercitrine.

L'analyse qualitative des polyphénols dans les feuilles et les fruits d'*A. Unedo* a montré la présence des taches dans les extraits de méthanol. Un standard de flavonoïdes a été utilisé, dont nous avons pu déterminer le contenu de la *quercitrine* dans nos extraits étudiés. L'identification était basée sur la couleur de la bande observée en  $\lambda = 365$  nm, et la valeur de  $Af$  calculé. (Tableau 9).

**Tableau 9 :** Paramètres d'identification des polyphénols analysés.

Polyphénol	$Af$ Quercitrine	Couleur onde $\lambda = 365$ nm
Quercitrine pure	0,974	Vert-jaunâtre
Fruits <i>A. Unedo</i>	0,942	Vert-jaunâtre
Feuilles <i>A. Unedo</i>	0,957	Vert-jaunâtre

L'analyse qualitative des polyphénols par la technique de chromatographie sur couche mince a montré la présence de la quercitrine dans les feuilles et les fruits d'*A. Unedo*

## IV. Conclusion

Différentes études ont montré des effets bénéfiques d'*A. Unedo* pour la santé humaine et ont suggéré l'utilisation d'extraits standardisés dans les produits médicaux. Bien que l'activité antioxydante soit bien en corrélation avec la teneur totale en polyphénols, flavonoïdes et flavonols [36], une action spécifique, par exemple une action anti-agrégatoire [37] ou anti-inflammatoire [38].

La présente étude s'est proposée de réaliser la quantification de composés phénoliques et l'évaluation par spectrophotométrie de l'activité antioxydante de plantes de la flore algérienne utilisées dans le traitement traditionnel. Les résultats de cette présente étude indiquent que la plante aromatique sélectionnée est riche en antioxydants tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes et flavonols qui possèdent la propriété de piéger les radicaux libres et de réduire les oxydants.

Les résultats obtenus au cours de ce travail sont :

- Le rendement d'extraction par macération des fruits a montré le meilleur rendement d'extraction (54,92%) par rapport aux feuilles d'*Arbutus unedo* (31,97%).
- Les résultats des analyses phytochimiques effectuées sur les fruits et feuilles d'*A. Unedo*, il est riche en flavonoïdes, terpénoïdes, glycoside cardiaque et saponines de grandes proportions dans les feuilles par rapport aux fruits, nous notons également la présence de stéroïdes dans les feuilles et les fruits en son absence.
- L'étude comparative des analyses physico-chimiques de fruits et feuilles d'*Arbutus unedo* L. montrent que les taux des composés phénoliques les plus élevés ont été détectés dans les extraits Ar-F-ORG, tandis que, la teneur la plus basse est observée pour l'extrait de l'échantillon Ar-F-AQ, Ar-FR-ORG, et Ar-FR-AQ. En outre, la plante d'*A. Unedo* L. comporte des teneurs considérables en flavonoïdes. Leur teneur est plus élevée pour l'échantillon Ar-F-ORG et décroît pour les échantillons Ar-F-AQ, Ar-FR-ORG, et Ar-FR-AQ.
- La teneur en flavonols de l'échantillon Ar-F-ORG est relativement élevée par rapport à Ar-FR-ORG, Ar-FR-AQ, et Ar-F-AQ.
- L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques et l'antioxydant standard pris comme références (la vitamine C) a été réalisée par des tests de DPPH et de FRAP,

- Les résultats montrent qu'Ar-F-ORG révèle toujours l'activité la plus élevée suivi par Ar - F- AQ et Ar-FR-ORG puis Ar-FR-AQ qui donne l'activité la plus faible. Comparant ces valeurs obtenues avec la standard vitamine C, on trouve que ces extraits ont un pouvoir réducteur moins actif que la vitamine C.
- L'analyse qualitative des polyphénols par la technique de chromatographie sur couche mince *a* montré la présence de la quercitrine dans les feuilles et les fruits d'*A.Unedo*.

A travers ce qui précède, nous concluons que l'échantillon Ar-F-ORG est le plus montre la meilleur source précieuse de composés bioactifs à activité antioxydant.

Enfin, la prise de conscience de l'intérêt de consommer la plante d'*A.Unedo* provenant des plantes sauvages est aujourd'hui relayée par une volonté de connaître cette plante et ces fruits et leurs qualités nutritionnelles ainsi que leurs applications technologiques. Ce type d'étude ouvre des perspectives dans l'exploitation des plantes méditerranéennes.

## V.Références bibliographique

- [1] S Manach; C Morand; C Remesy; L Jimenez. Am. J. Polyphenols: food sources and bioavailability Clin. Nutr. 2004, 79(5), 727-777.
- [2] M Okawa; J Kinjo; J Nohara; M Ono. Evaluation of the Antioxidant Capacity and Phenolic Content of *Agriophyllum pungens* Seed Extracts from Mongolia Biol. Pharm. Bull., 2001, 24, 1202-1205.
- [3] M Materska; I Perucka. Antioxidant Activity of the Main Phenolic Compounds Isolated from Hot Pepper Fruit (*Capsicum annuum* L.) Agric. Food Chem., 2005, 53, 1750-1756.
- [4] P Siddhuraju. Food Chem., 2006, 99, 149-157.
- [5] J.N. Losso; F. Shahidi and D. Bagchi. Anti-angiogenic functional and medicinal foods. Boca Raton, FL : Taylor & Francis., 2007.
- [6] M.A. Dib .Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de quelques polyphénols présents dans *Arbutus unedo* L. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université Abou Bakr Belkaid .Tlemcen. 2008.140 p.
- [7] IUCN. A Guide to Medicinal Plants in North Africa. Ed. IUCN. Malaga (Spain) 2005.256p.
- [8] P. Iseri. Encyclopedia of medicinal plants. Ed. Larousse.Londres. 2001. pp : 170-336.
- [9] D. Espírito Santo, L. Galego, T. Gonçalves et C. Quintas. Yeast diversity in the Mediterranean strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits fermentations. Food Research International.47, 2012. 45–50.
- [10] Mendes, L..Estudo do efeito protector da folha e fruti da espécie *Arbutus unedo* L.na daniicação oxidativa em eritrocitos humanos,Universidade Fernando Pessoa,Porto., 2010.
- [11] R.Domac, Flora of Croatia:Manual ForDetermination of Plants,Školska knjiga, Zagreb, Croatia, 2002.
- [12] ˇ C. ˇSilić, Atlas of Trees and Shrubs, Svjetlost, Sarajevo, Bosnia, 3rd edition, 1988.
- [13] S. Afkir, T.B. Nguelefack, M. Aziz, J. Zoheir, G. Cuisinaud, M. Bnouham, et al. *Arbutus unedo* prevents cardiovascular and morphological alterations in L-NAME-induced hypertensive rats Part I: cardiovascular and renal hemodynamic effects of *Arbutus unedo* in L-NAME-induced hypertensive rats J Ethnopharmacol, 116 (2) (2008), pp. 288–295

- [14] H. Medjdoub, C. Selles, B. Tabti Preliminary phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. and anti-hyperglycemic effect of the root aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic Wistar rats *J Chem Pharm Res*, 6 (11) (2014), pp. 195–199
- [15] S. Mariotto, E. Esposito, R. Di Paola, A. Ciampa, E. Mazzon, A.C. de Prati, et al. Protective effect of *Arbutus unedo* aqueous extract in carrageenan-induced lung inflammation in mice *Pharmacol Res*, 57 (2008), pp. 110–124
- [16] Salehi Surmaghi, M. H., Aynehchi, Y., Amin, G. H., Mahmoodi, Z., Survey of Iranian plants for saponins, alkaloids, flavonoids and tannins, *J. Sch. Of Pharm. Tehran Unive*, 1992, 2: 281-291.
- [17] Quettier Deleu, C., Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat hulls and flour, *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 72: 35-42.
- [18] Joshi, A., Bhohe, M., Saatarkar, A., Phytochemical investigation of the roots of *Grewia microcos* Linn. *J. Chem. Pharm. Res.*, 2013 , 5, 80–87.
- [19] Abdullahi, M.N., Ilyas, N., Ibrahim, H., Evaluation of phytochemical screening and analgesic activity of aqueous extract of the leaves of *Microtrichia perotitii* dc (Asteraceae) in mice using hotplate method. *Med. Plant Res.*, 2013, 3, 37–43.
- [20] Mojab, F., Kamalinejad, M., Ghaderi, N., Vahidipour, H. R., Phytochemical Screening of Some Species of Iranian Plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2003, 77-82.
- [21] Ayoola, G.A., Coker, H.B., Adesegun, S.A., Adepoju-Bello, A.A., Obaweya, K., Ezennia, E.C., Atangbayila, T.O., Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. *Trop. J. Pharm. Res.*, 2008. 7, 1019–1024.
- [22] Joshi, A., Bhohe, M., Saatarkar, A., Phytochemical investigation of the roots of *Grewia microcos* Linn. *J. Chem. Pharm. Res.*, 2013. 5, 80–87.
- [23] Hertog M.G.L et P.C.H. Hollman . Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J. Agric. Food Chem* , 1992.40 :1591-1598
- [24] H. Falleh, R. Ksouri, K. Chaieb, N. Karray-Bouraoui, N. Trabelsi, M. Boulaaba and C. Abdelly. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compt. Rend. Biol.* 2008 Vol. 331. pp. 372-379.
- [25] A Hagerman; I Harvey-Muller; HPS Makkar. Quantification of tannins in tree foliage - A laboratory manual, Vienna: FAO/IAEA, 2000, 4-7.
- [26] A Kumaran ; J Karunakaran . *LWT.*, 2006, 40, 344-352.

- [27] Benzie I.F.F., Strain J.J., The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay, *Anal. Biochem.* 239 (1) 1996 70–76.
- [28] M.S. Blois .Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature* **181**, (1958)., 1199-1200.
- [29] J. Wang and G. Mazza .Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor  $\alpha$  in LPS/IFN- $\gamma$ -activated RAW 264.7. Macrophages. *J. Agric. Food Chem.*, 2002. **50**, 4183-4189.
- [30] Z. Maleš, M. Plazibat, V. B. Vundač, and I. Zuntar, “Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree— *Arbutus unedo* L. (Ericaceae),” *Acta Pharmaceutica*, 2006.vol. 56, no. 2. pp. 245–250.
- [31] V. Nagvani ,T. Raghavarao, Evaluation of antioxidant potential and qualitative analysis of major polyphenols by rphplc in nymphaea nouchalibrum flowers, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, , 2010 .Vol 2,PP:97-104
- [32] Meziti Asma , Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Étude in vitro et in vivo , mémoire de magister, Université El Hadj Lakhdar ,BATNA, 2009,PP :1-71.
- [33] Kamalak,A.,Canbolat,O.,Ozkose,E.,C.O.,Sahin,M.,& Karabay,P.Effect of polyethylene glycol on in vitro gas production,metabolizable energy and organic matter digestibility of *Quercus cerris* leaves.Livestock Research for Rural Development,2005.17(4)
- [34] Proestos,C.,Boziaris,I.S.,Nychas,G.J.,&Komaitis,M.Analysis of flavonoids and phenolic acid in Greek aromatic plants:Investigatiin of their antioxidant capacity and antimicrobial activity.Food Chemistry,2006.95(4),664-671.
- [35] Ardestani A, Yazdanparast R. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* 2007. 104:21–29.
- [36] I. Oliveira, V. Coelho, R. Baltasar, J. A. Pereira, and P. Baptista, “Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals,” *Food and Chemical Toxicology*, 2009. Vol. 47, no. 7, pp. 1507-1511.
- [37] M. El Haouari, J. J. Lopez, H. Mekhfi, J. A. Rosado, and G. M. Salido, “Antiaggregant effects of *Arbutus unedo* extracts in human platelets,” *Journal of Ethnopharmacology*, 2007. Vol. 113, no. 2, pp. 325-331.
- [38].S. Mariotto, E. Esposito, R. Di Paola et al. “Protective effect of *Arbutus unedo* aqueous extract in carrageenan-induced lung inflammation in mice,” *Pharmacological Research*, 2008.vol. 57, no. 2, pp. 110-124.

## Annexe I

**Tableau 2 :** Liste des marques et formules des produits utilisés dans ce travail.

Les produits	Formule	Les marques
<b>Méthanol - Rutine</b>	$\text{CH}_4\text{O} - \text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	SIGMA -ALDRECH
<b>L'acétate d'éthyle</b>	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	
<b>Acide sulfurique – DPPH</b>	$\text{H}_2\text{SO}_4 - \text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$	
<b>Réactif de Folin-Ciocalteu</b>		
<b>L'acide acétique</b>	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	Riedel-de Haen
<b>Acide formique</b>	$\text{CH}_2\text{O}_2$	
<b>l'acide orthophosphorique</b>	$\text{H}_3\text{PO}_4$	Panreac
<b>Anhydride acétique</b>	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$	Laboratry reagents
<b>Trichlorure d'aluminium</b>	$\text{AlCl}_3$	GPR Rectapur
<b>Chloroforme</b>	$\text{CHCl}_3$	Scharlau
<b>Ammoniac</b>	$\text{NH}_3$	Cheminova
<b>Quercitine</b>	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	SIGMA -ALDRECH

## Annexe II : Structures chimiques

