

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Mouloud Mammeri -TIZI OUZOU -
Faculté de Sciences Biologique et des Sciences Agronomiques

Département de biologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention de diplôme de Master II

Spécialité : Biologie Végétale

Option : Diversité et adaptation de la flore méditerranéenne

Thème

Contribution à l'étude de la répartition et la variabilité des polyphénols en fonction de l'âge des différents organes chez l'arbousier (Arbutus unedo) dans la forêt d'Ait Ghobri (wilaya de Tizi-Ouzou)

Présenté par Milles :

CHOUCHA SONIA & CHABANI DIHIA

Soutenu le 26-09-2016

Devant le jury composé de :

Président : M^r ALLILI .N

Maitre assistante à l'UMMTO

Promoteur : M^r ASLA .T

Maitre assistant à l'UMMTO

Co-Promoteur : M^{me} LOUNI .D

Maitre assistant à l'UMMTO

Examineur : M^r LIMANE .K

Maitre assistant à l'UMMTO

Examineur : M^r MEDJEBEUR .D

Maitre assistant à l'UMMTO

« Dans la touffeur des forêts primaires, le long des bancs coralliens, sous la terre et au fond des océans, les formes vivantes, innombrables, survivent grâce à leurs armes chimiques. Un arsenal de molécules demeure dissimulé dans notre environnement proche. Cet entrepôt bien fourni a été lentement constitué ; plusieurs milliards d'années ont été nécessaires.

*Peut-on parler de Magasin du Bon Dieu ? Il permit aux premiers hommes de se soigner.
Reste encore à explorer. »*

Pierre Potier Dans Le Magasin du Bon Dieu, les extraordinaires richesses thérapeutiques des plantes et des animaux (2001).

Remerciements

Remerciements

*Tout d'abord nous tenons à adresser nos plus vifs
remerciements à M^r Asla. T, qui nous a permis de réaliser ce
travail sous sa direction*

*Un grand merci pour
M^r Allili .N., d'avoir accepté de présider*

L'honorable jury

A M^{me} Louni . D., pour sa disponibilité

A M^r. Medjebeur. D et M^r. Limane .K

D'avoir examiné notre travail

*A toutes les personnes qui de près ou de loin, ont
Contribué à l'élaboration de ce travail*



Merci

Dédicaces

+ À mes très chers parents,

Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte. Jamais il n'aurais vu le jour sous les conseils que vous avez consentis pour mon éducation.

Que DIEU vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

+ À mes très chers frères et mes adorables sœurs,

Qui m'on beaucoup soutenu et m'encourager avec tous les moyens.

+ À toute ma famille, mes neveux, Walid, Yacine, Rayane et Nazim.

Mes nièces, Damia, Thiziri et Dihia.

+ À tous mes amis (es)

+ A toi Dihia, merci d'être toujours là pour moi, merci de m'avoir

supportée, tu me donne toujours confiance en moi. Que DIEU te bénisse.

Sonia



Dédicaces

✚ **À la mémoire de ma sœur FAROUDJA,**

Que le bon DIEU t'accueille en son vaste paradis.

✚ **À mes très chers parents,**

Pour leur présence constante au cours de toutes ces années d' « études », en espérant que ce travail sera digne de leurs espoirs et de leur confiance. Avec toute ma tendresse.

✚ **À mes très chers frères Amar et Idir**

✚ **A toute la famille CHABANI**

✚ **A mon neveu Imad, Que DIEU te bénisse**

✚ **A mes très chers amis (es), Sonia, Malika, Rabea, Souad et**

Mariém

Dihia



Abs :	Absorbance
OMS :	Organisation mondiale de la santé.
S :	Sépale
P :	Pétale
Fr :	Fruit
Ecj :	Ecorce jeune
Ecag :	Ecorce âgée
Fej :	Feuille jeune
Feag :	Feuille âgée
NaCO₃ :	Carbonate de sodium
PPT :	Polyphénols totaux
F.C :	Folin-ciocalteau
ANOVA :	Analyse de la variance
PPDS :	La petite différence significative
AG :	Acide gallique
EAG :	Equivalent l'acide gallique
MST :	La matière sèche totale
CV :	Coefficient de la variance
DDL :	Degré de liberté
SC :	Somme des carrés
CM :	Moyenne des carrés
F :	Est une variable de Fisher-Snedecor
P :	Probabilité
E.T.R :	Ecart type relative
r :	Corrélation

Listes des figures

- Figure 1 : Quelques phénols et acides phénoliques
- Figure 2 : Quelques exemples de coumarines
- Figure 3 : Deux exemples de lignane
- Figure 4 : Squelette de base des stilbénoides et des xanthones
- Figure 5 : Squelette de base des flavonoïdes
- Figure 6 : Structure chimique
- Figure 7 : Répartition mondiale des Ericacées
- Figure 8 : Photo d'Arbousier
- Figure 9 : Présentation des feuilles d'Arbousier
- Figure 10 : Présentation des feuilles jeunes d'Arbousier
- Figure 11 : Présentation des fruits d'Arbousier
- Figure 12 : Répartition mondiale de l'Arbousier
- Figure 13 : Présentation d'un fruit cru d'Arbousier
- Figure 14 : Carte de situation du massif (Beni Ghobri).
- Figure 15 : Les échantillons utilisés en poudre
- Figure 16 : Broyage de l'écorce d'Arbousier
- Figure 17 : Photo d'un Balance "Précisa"
- Figure 18 : Préparation des filtrats
- Figure 19 : Matériels utilisés pour le dosage des polyphénols
- Figure 20 : Courbe étalon avec l'acide gallique à 0.5g/L.
- Figure 21 : Résultats de teneur en polyphénols au niveau de différents organes d'Arbousier
- Figure 22 : Courbe de corrélation pour le variable Fruit-Ecorce jeune.
- Figure 23 : Courbe de corrélation pour le variable Ecorce jeune-Ecorce âgée
- Figure 24 : Courbe de corrélation pour le variable Ecorce jeune-Feuille jeune
- Figure 25 : Courbe de corrélation pour le variable Ecorce âgée-Feuille jeune
- Figure 26 : Courbe de corrélation pour le variable Fruit-Feuille âgée

Liste des Tableaux

- Tableau 1 :** Principales classes des polyphénols
- Tableau 2 :** Concentrations de polyphénols dans différentes organes d'*Arbutus unedo*
- Tableau 3 :** Les moyennes des concentrations de polyphénol présenté dans les différents organes d'arbousier (*Arbutus unedo*).
- Tableau 4 :** Analyse de la variance pour les paramètres étudiés
- Tableau 5 :** groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour le variable Ecorce âgée et Ecorce jeune.
- Tableau 6 :** groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour le variable Ecorce âgée- Feuille jeune
- Tableau 7 :** groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour le variable Ecorce âgée - Fruit
- Tableau 8 :** groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour le variable Ecorce âgée - Feuille âgée
- Tableau 9 :** groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour le variable Feuille âgée – Fruit
- Tableau 10 :** Analyse de la variance pour les paramètres étudiés
- Tableau 11 :** groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour les variables (Fruits-Ecorce jeune-Ecorce âgée-Feuille jeune-Feuille âgée).
- Tableau 12 :** Matrice de corrélation pour tous les organes étudiés

Sommaire

Sommaire

Introduction générale.....	01
-----------------------------------	-----------

Chapitre I

Généralité sur les polyphénols

Introduction	03
1. Les composés phénoliques	04
2. Classification des composés phénoliques	04
2.1. La classification des composés phénoliques selon les auteurs	05
2.2. La classification des composés phénoliques selon la voie de la biosynthèse	05
2.2.1 Les skikimates.....	06
2.2.1.1. Les phénols	06
2.2.1.2. Les coumarines.....	07
2.2.1.3. Les lignanes et composés apparentés.....	08
2.2.1.4. Les dérivés d'extinction du phénylpropane.....	09
2.2.1.5. Les tanins.....	10
2.2.2. Les polyacétates ou polykétides.....	11
3. rôles des polyphénols.....	12

Chapitre II

Généralité sur l'arbousier (*Arbutus unedo* L.)

Introduction.....	13
1. Famille des Ericacées.....	14
2. Caractères botaniques de la famille des Ericacées	16
2.1. Appareil végétatif.....	16
2.2. Appareil reproducteur	16
2.3. Formule florale	17
3. Genre <i>Arbutus</i>	17
4. Arbousier (<i>Arbutus unedo</i>).....	17
4.1. Généralité sur l'arbousier.....	17
4.2. Classification taxonomique.....	18
4.3. Noms vernaculaires.....	19
4.4. Description botanique.....	19

Sommaire

4.5. Origine et répartition géographique.....	22
4.6.Composition chimique d'arbousier	23
4.7.Divers intérêt d'arbousier.....	23
4.7.1. Intérêt médicinal	23
4.7.2. Intérêt alimentaire.....	24
4.7.3. Autres utilisations d'arbousier.....	25

Chapitre III

Matériels et méthodes

1. Présentation de la zone d'étude (la forêt d'Ait Ghobri).....	27
1.1.Situation administrative et géographique de la zone d'étude.....	27
1.2.Caractéristiques de la zone d'étude.....	28
1.2.1. Géologie, sol et topographie	28
1.2.2. Composition floristique.....	28
1.2.3. Climat.....	29
2. Matériels et méthodes	29
2.1. Matériels.....	29
2.1.1. Matériel végétal	29
2.1.2. Appareillages.....	30
2.1.3. Réactifs utilisés au laboratoire.....	30
2.2.Méthodes	30
2.2.1. Méthode d'échantillonnage	30
2.2.2. Préparation de la farine (poudre) pour les échantillons.....	31
2.2.3. Extraction des composés phénoliques	31
2.2.4. Dosage des polyphénols totaux.....	32
2.2.5. Courbe d'étalonnage.....	33
3. Analyses statistiques.....	34

Chapitre IV

Résultats et discussion

1. Détermination de la teneur en composés phénoliques par spectroscopie à uv.....	35
2. Analyse des paramètres de position et de dispersion des différents échantillons....	36
3. Analyse de la variance (ANOVA).....	37

Sommaire

4. Matrice de corrélation.....	43
5. Discussion	44
Conclusion.....	47
Références bibliographiques.....	49

Introduction

Depuis la nuit des temps, les plantes aromatiques et médicinales fascinent les Hommes. Aujourd'hui encore, leurs principes actifs sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soin. Ceux qui font confiance aux pouvoirs de guérison de la nature sont de plus en plus nombreux et souhaitent approfondir leurs connaissances des plantes. et parmi ces composants on trouve les polyphénols.

L'Arbousier est une espèce qui possède une importance économique et traditionnelle dans les pays méditerranéens et en Asie. Il se développe en compagnie d'autres plantes marqueuses du maquis comme le chêne ligé (*Quercus suber*), la bruyère arborescente (*Erica arborea*) et laurier tin (*Viburnum tinus*) (Silberfeld, 2011).

L'Arbousier (*Arbutus unedo*) contient de nombreux métabolites secondaires notamment les polyphénols.

Les phénols totaux ou composés phénoliques sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées, qu'il est difficile de définir simplement (Bruneton, 1993). Ils ont attiré une attention considérable par les chercheurs en raison de leurs rôles bénéfiques sur la santé humaine (Djouadi, 2012).

Dans le but de mieux comprendre la répartition et la variabilité des polyphénols dans la plante, nous nous sommes intéressés à l'étude de quelques organes de différents âges, et à la composition en polyphénols chez l'Arbousier. Notre choix de cette espèce est justifié par sa large gamme de répartition et sa richesse en polyphénols.

Ce travail est réparti en deux parties :

- Une première partie, consacrée à une revue bibliographique, notamment une généralité sur les polyphénols et une autre généralité sur notre espèce *Arbutus unedo*.
- Une seconde partie qui traite en deux chapitres, la partie expérimentale :
 - Chapitre 1 est consacré à la présentation de station d'étude et il décrit aussi les matériels et les méthodes utilisés dans le cadre de la réalisation de cette étude.
 - Chapitre 2 se focalise sur la description et la discussion des résultats obtenus.

Et en fin, une conclusion générale pour présenter les principales conclusions aux quelles nous sommes arrivés.

Chapitre I

Introduction

Dans le monde végétal, les molécules naturellement synthétisées peuvent être classées en deux grandes catégories. Le premier groupe ou on trouve les composés qui sont produits dans toutes les cellules et qui jouent un rôle central dans le métabolisme et la reproduction de ces cellules. Ces molécules comprennent les acides nucléiques, les acides aminés communs, les acides gras et les sucres. Ces molécules correspondent aux métabolites primaires.

Par contre, les composés du deuxième groupe qui sont des métabolites secondaires, sont des molécules caractéristiques de certaines familles et/ou espèces végétales et qui ne sont pas indispensables à la survie de la plante. Ces métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes: les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes. Ces molécules ont la particularité d'avoir des effets biologiques sur d'autres organismes, d'où leur intérêt dans les domaines cosmétique, pharmaceutique et agronomique, notamment le cas des polyphénols végétaux suscitent actuellement beaucoup d'intérêt en raison de leur pouvoir antioxydant et anti-radicalaire élevé (**Bonnaillie et al., 2012**).

Tous les végétaux contiennent des composés phénoliques mais, comme c'est le cas pour la plupart des substances naturelles qualifiées de métabolites secondaires, leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes, les tissus et les stades physiologiques. Ils correspondent à une très large gamme de structure chimique et sont un bon témoin de l'extraordinaire capacité de biosynthèse des plantes, capacité qui permet à l'homme de les utiliser dans les domaines aussi variés que l'agroalimentaire ou la pharmacologie (**Sarni et al., 2006**).

Les polyphénols sont très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Jean-Jacques Macheix et al., 2005**).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**Boizot et charpentier, 2006**).

1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques prennent en compte, à la fois des éléments structuraux et l'origine biogénétique des composés. Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Le ou les noyaux aromatiques peuvent être synthétisés soit par la voie du shikimate, soit par celle de l'acétate, ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques. Par ailleurs, la voie des polyacétates intervient chez les végétaux supérieurs pour des composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie des shikimates. Les composés obtenus sont dits mixtes (flavonoïdes) (Krief, 2003).

2. Classification des composés phénoliques

Toutes les classes de composés phénoliques (tab.1) comportent un grand nombre de structures différentes en fonction du nombre et de la position des groupements hydroxyles sur le squelette de base. Ces structures peuvent également être diversement substituées (glycosylées, estérifiées, acylées...) (Muanda, 2010).

Tableau (1) : Principales classes des polyphénols (d'après Harborne, 1989 ; Macheix et *al.*, 1990).

Squelette carboné	Classe	Exemple
C6	Phénols simple	Catéchol
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydrobenzoïque
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acide caféique Scopolétine
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone
C6-C2-C6	Stilbénes	Resvératrol
C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine Daidzéine
(C6-C3) ₂	Lignanes	Pinorésinol

(C6-C3) _n	Lignines	
(C6-C3-C6) _n	Tannins condensés	

2.1- La classification des composés phénoliques selon les auteurs :

- Selon **Macheix et al. (2005)**, les composés phénoliques sont regroupés en de nombreuses classes qui se différencient par :
 - La voie de la biosynthèse.
 - La complexité du squelette de base (de simple C6 a des formes polymérisées).
 - Les degrés de modification de se squelette (degrés d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation).
 - Liaison possible de ses molécules de base d'autres molécules (glucides, lipides, protéines et d'autres métabolites secondaires qui peuvent être des composés phénoliques).

- Selon **Ribereau Gayon(1968)**, les composés phénoliques se regroupent en quatre groupes :
 - Les acides benzoïques, les acides cinnamiques et coumarines .
 - Les flavones, flavols et dérivés voisins.
 - Les chalcones, dihydrochalcones et aures.
 - Les anthocyanes.

2.2- Classification des polyphénols selon La voie de la biosynthèse

Les polyphénols peuvent être synthétisés soit par la voie des shikimates, soit par celle de l'acétate.

2.2.1- Les shikimates

Le 3-déhydroshikimate, formé à partir de la condensation du phosphoénolpyruvate Avec l'érythrose-4-phosphate, est réduite en shikimate, puis la phosphorylation de ce dernier et sa condensation avec une autre molécule de phosphoénolpyruvate, conduit à la formation du chorismate. Le chorismate occupe une position-clé dans le métabolisme, en particulier dans la formation des acides aminés aromatiques. Les phénylpropanes, tel l'acide cinnamique, sont des métabolites du shikimate susceptibles de se cycliser et d'aboutir à la formation des coumarines, de se dimériser comme dans le cas des lignanes, ou de se polymériser formant alors des lignines. Les flavonoïdes et les stilbènes résultent d'un allongement de la chaîne latérale **(Kreif, 2003)**.

2.2.1.1. Les phénols

Petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être également estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ayant tendance à s'isomériser et à se polymériser, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires. Ce sont surtout des antiseptiques (arbutoside de la busserole), des antalgiques (dérivés salicylés de la reine des prés et du saule) et des anti-inflammatoires **(Makhloufi, 2010)**.

La plupart de ces acides phénoliques se résume en cinq acides hydroxybenzoïques (l'acide salicylique, l'acide ρ -hydroxybenzoïque, l'acide protocatéchique, l'acide gallique et l'acide vanillique) et quatre acides hydroxycinnamiques (l'acide cinnamique, l'acide ρ -coumarique, l'acide caféique et l'acide férulique) **(Fig .1)**. **(Michel ,2011)**.

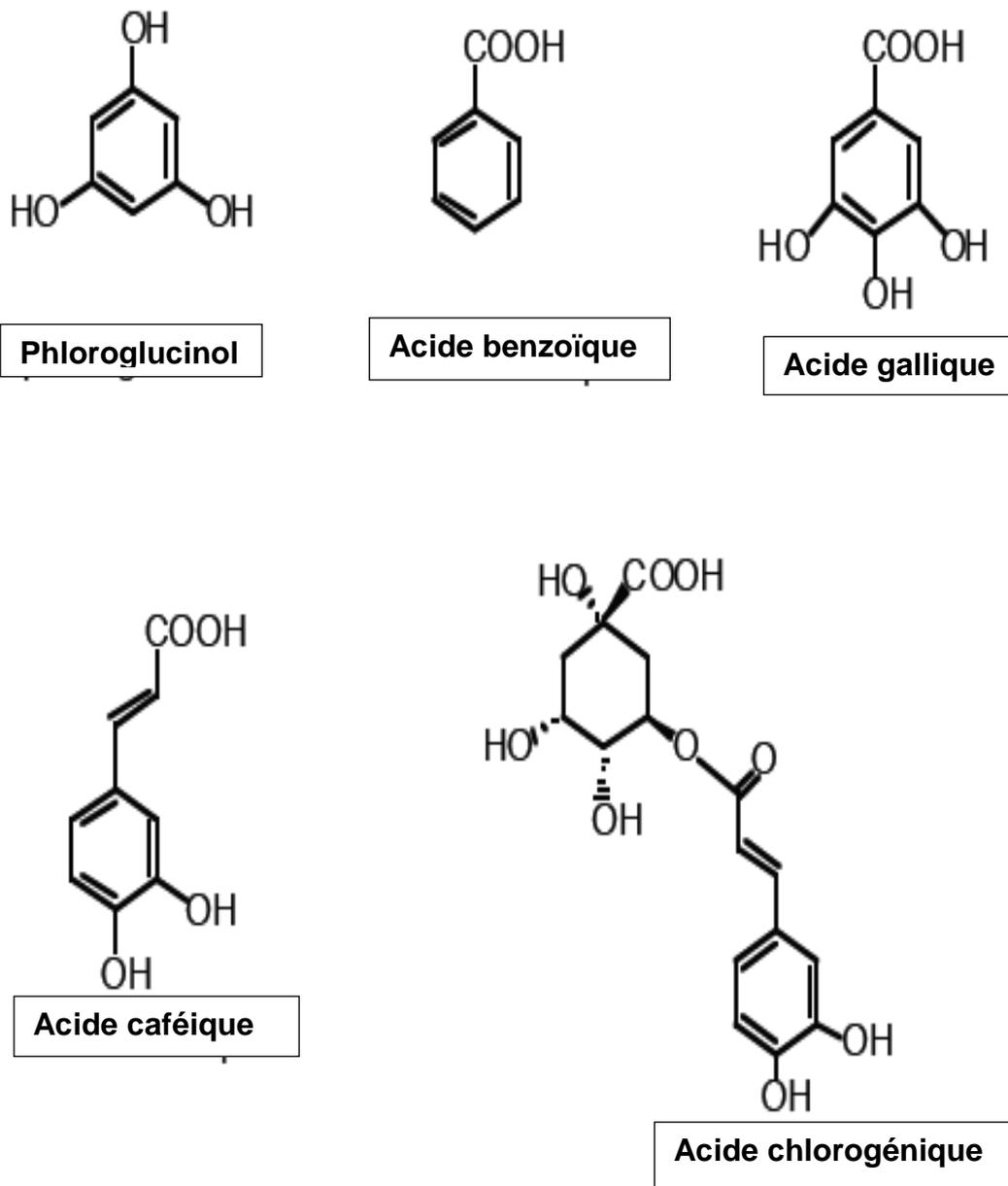


Figure (1) : Quelques phénols et acides phénoliques (Kreif, 2003)

2.2.1.2. Les coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale et certaines formes complexes. Les aflatoxines peuvent être des contaminants très dangereux de denrées alimentaires (Fig.2) (Kebbabe, 2014).

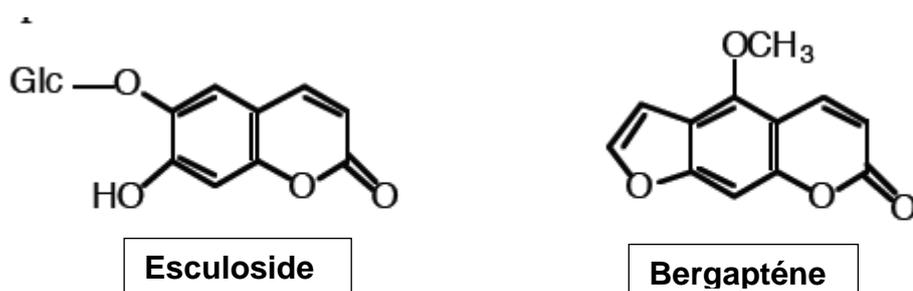


Figure (2) : Quelques exemples de coumarines (Kreif, 2003).

2.2.1.3. Les lignanes et composés apparentés

Les lignanes désignent des molécules qui résultent, le plus souvent, de l'établissement d'une liaison entre deux carbones de la chaîne latérale de deux acides hydroxycinnamiques. Ils interviennent dans les mécanismes de défense de la plante (Michel, 2011).

Quatre groupes peuvent être considérés :

- Les lignanes (liaison entre deux carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du phénylpropane).
- Les néolignanes (un seul carbone β est en jeu).
- Les "oligomères", (condensation de 2 à 5 unités phénylpropaniques).
- Enfin les norlignanes avec un squelette en C17 (Kreif, 2003).

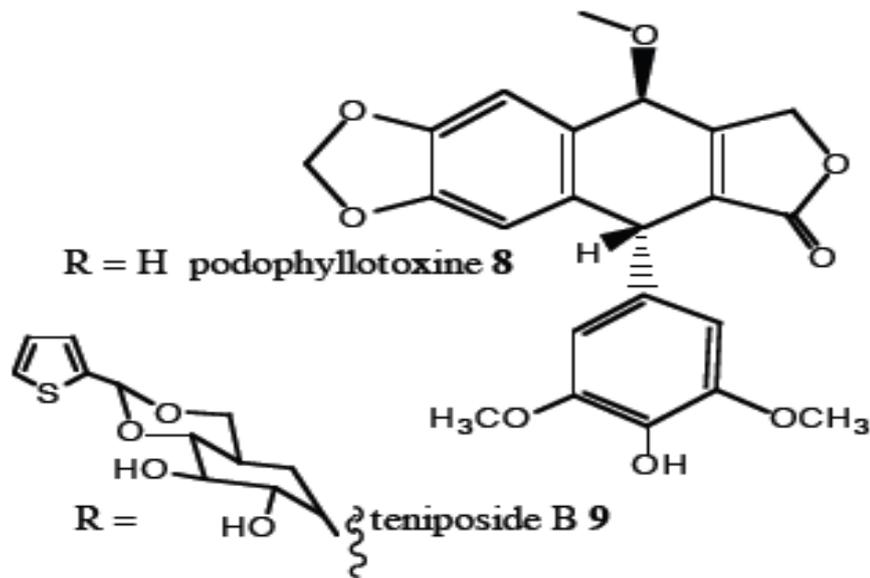


Figure (3) : Deux exemples de lignane (Kreif, 2003).

2.2.1.4. Les dérivés d'extension du phénylpropane

L'addition successive d'unités dicarbonées sur des composés de type phénylpropane est à l'origine de la formation des stilbénoides, des flavonoïdes et des isoflavonoïdes. Ainsi, les xanthones comme la bellidifoline, les isoflavones comme la génistéine, les styrylpyrones comme la kawaine (Michel, 2012).

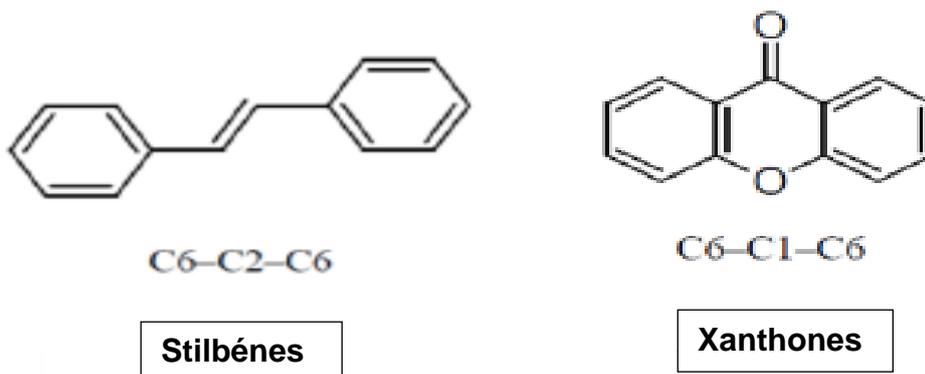


Figure (4) : Squelette de base des stilbénoides et des xanthenes (Michel, 2012).

Les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques ce sont des flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane formant une structure C6-C3-C6 (Achat, 2013).

Ce sont des composés qui ont en commun la structure du diphénylpropane (C6-C3-C6) ; les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C.

On distingue différentes structures de flavonoïdes parmi lesquels se trouvent : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanes, les flavan - 3-oles, les flavylum, les chalcones, les auronnes, les isoflavones, les isoflavonols, les isoflavanes, les ptérocarpanes, les coumaronochromones, les 3-arylcoumarines, les coumestanes et les roténoïdes (Muanda, 2010).

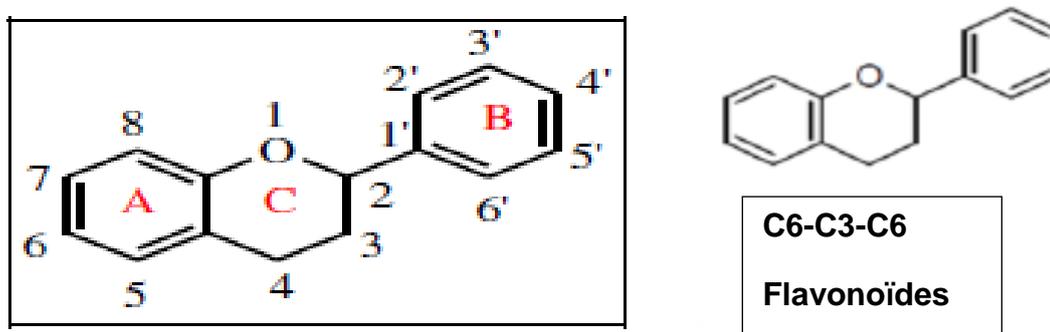


Figure (5) : Squelette de base des flavonoïdes. (Achat, 2013)

2.2.1.5. Les tanins

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux, On distingue: les tanins hydrolysables et condensés (Muanda, 2010).

- ❖ **Tanins hydrolysables** : ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase)
- ❖ **Tannins condensés** : les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6. (Fig. 6)

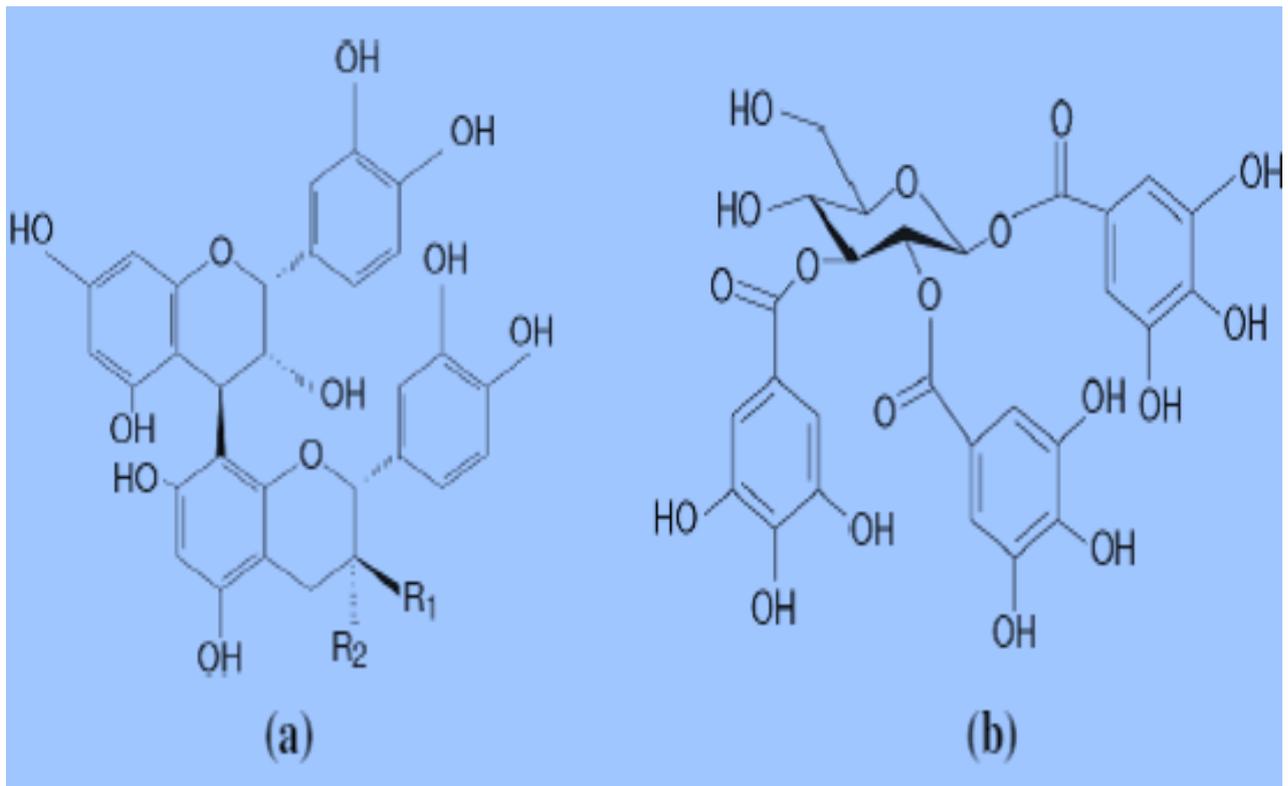


Figure (6) : Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) dun gallotanin (1, 2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose) (Achat, 2013).

2.2.2- Les polyacétates ou polykétides

Résultant de l'union de plusieurs unités d'acétyl-CoA, leur réarrangement conduit à de nombreux métabolites importants. Les acétogénines dérivent de l'acétyl-CoA et sont apparentés aux acides gras. Ce sont des composés aliphatiques à longue chaîne (35 à 37 carbones) terminée par une lactone. Rencontrées quasi-exclusivement dans la famille des Annonacées, les acétogénines ont des propriétés pharmacologiques variées, liées en général à leur toxicité (Kreif, 2003).

Parmi ces composés on trouve :

- Les quinones.
- Orcinols et phloroglucinols.

3. Rôles des polyphénols

Quelques activités biologiques de certains composés phénoliques selon **Bruneton (1999)**; **Balasundram et al, (2006)** ; **Hennebelle, (2007)** ; **Li et al, (2007)** ; **Habauzit et Horcajada, (2008)** ; **Bondia-Pons et al, (2009)** ; **Gresele et al, (2011)**.

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

Chapitre II

Introduction

L'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) a répertorié plus de 22000 plantes utilisées par la médecine traditionnelles, dont environ 1200 sont inscrites dans la pharmacopée française. Elles ont toute une activité reconnue (**Jean-Claude Roland, 2002**). Parmi ces plantes on trouve certaines qui se rencontrent à l'état spontané et s'adaptent aux multiples sols et climats notamment l'arbousier (**Doukani, 2013**).

L'arbousier est un arbuste très intéressant parce qu'il résiste bien aux gels jusqu'à des températures -15°C , et qu'il s'adapte à une très large gamme de sols et d'expositions. Il pousse en plein soleil, et il supporte le calcaire (**Morris, 2007 in Didi, 2009**).

L'arbousier pousse sur sol siliceux et occupe une place très importante dans le maquis, les forêts de chênes verts, de chêne-liège et de pins maritimes (**Anonyme, 2004**).

Il se développe également bien dans les sols argileux et dans les sols secs. C'est un arbuste qui peut se développer dans les villes parce qu'il tolère la pollution industrielle (**Anonyme, 2007**).

Aussi c'est une plante médicinale, fréquemment utilisée dans la médecine traditionnelle au Maroc Orientale comme un remède naturel contre l'hypertension et le diabète (**El houari, 2007 in Didi, 2009**). Ses feuilles et ses racines possèdent de nombreuses vertus médicinales utilisées depuis des siècles pour traiter divers maux.

Parfois l'arbousier est planté pour l'ornementation. Il croit naturellement dans la région méditerranéenne occidentale. Dans le sud de l'Europe et le long des côtes de l'atlantique jusqu'en Irlande (**Couplan, 2009**). L'arbousier appartient à la famille des Ericacées.

1. Famille des Ericacées

Grande famille cosmopolite qui est représentée par 124 genres dont *Arbutus* (arbousier), *Calluna* (calune), *Erica* (bruyère) et environ 4 100 autres espèces (Maberley, 1987).

C'est la famille la plus importante de l'ordre des éricales avec une centaine de genres, qui nous donnent au final plus de 4000 espèces. Cette richesse et cette diversité se confirment dans la répartition des éricacées que l'on retrouve sur l'ensemble de la planète (Fig.7).

Les Ericacées prédominent en Arctique, dans les régions tempérées et dans les montagnes tropicales et extratropicales du sud-est de l'Asie et d'Amérique avec une forte concentration dans l'Himalaya, en Nouvelle-Guinée et dans les Andes.

En générale, la plus grande diversité des Ericacées se retrouve sous les climats méditerranéens (Didi, 2009).

Chez les autres Ericacées, les feuilles sont plates et coriace, ce qui les rend résistantes à la sécheresse.

Certaines d'entre elles ont un intérêt alimentaire limitée grâce à leurs baies comestibles (*myrtilles*, *airilles*), d'autres ont un très grand intérêt ornemental : bruyères et surtout Rhododendrons. Ces derniers possèdent cependant une réelle toxicité et représentent donc un danger potentiel (Reymand, 2002).



● La présence des espèces de la famille Ericacées dans le monde.

Figure 7 : Répartition mondiale des Ericacées (Stevens, 2001).

2. Caractères botaniques de la famille des Ericacées

2.1. Appareil végétatif :

Ce sont des arbres, arbustes, des chaméphytes, des lianes, étroitement associés à des endomycorhizes ou rarement saprophytes non chlorophylliens, parfois épiphytes. Beaucoup d'espèces sont caractéristiques par leur port dit « éricoïde », à tiges très contournées portant des feuilles linéaires (**Botineau, 2010**).

Feuilles alternes, opposées ou verticillées, simples. Dans les zones montagneuses extratropicales. Souvent feuilles en aiguilles adaptées à des régimes hydriques défavorables. Pas de stipules (**Spichiger, 2004**). Sont parfois enroulées sur les bords, afin de protéger les stomates.

2.2. Appareil reproducteur :

Inflorescence souvent racémeuse ou paniculée. Parfois fleurs solitaires et parfois sans-tendues par des bractées colorées.

Fleur cyclique, hétérochlamyde, gamopétale et rarement dialypétales, pentamère, actino-ou-zygomorphe hypogyne, bisexuée. Le périanthe comporte d'une part un calice de 4 ou 5 sépales, libres ou légèrement soudés, d'autre part 4 ou 5 pétales, soudés en une corolle qui peut être :

- Urcéolée ou cylindrique.
- Campanulée ou infundibuliforme.
- Rarement dialypétale.
 - Chez quelques espèces, le périanthe est réduit à 2 ou 3 sépales et pétales, ou 3-4 tépales (**Botineau, 2010**).

L'androcée est obdiplostémone, avec 8 à 10 étamines, mais peut être réduit à 2 ou 3 étamines lorsque le périanthe est lui-même réduit. Les filets sont libres ou soudés à la corolle. Les anthères peuvent présenter une paire d'appendices en éperon qui leur ont valu le surnom de « bicolore ». Par ailleurs, ces anthères deviennent oscillantes. Elles possèdent 1 ou 2 loges, et sont généralement poricides. Le pollen est généralement en tétrades (**Botineau, 2010**).

Fruit : capsule baie ou drupe, petite graine souvent ailée, albumen charnu et embryon droit (**Spichiger, 2004**).

2.3. Formule florale de la famille des Ericacées :

$$(4-5) S + (4-5) P + (4-10) E + (2-10) C$$

3. Le genre *Arbutus*

Arbutus petit arbre à écorce brunâtre serrés 2-5 ou 1-3 cm luisants. Inflorescences en grappe lâche terminale. Calice à lobes triangulaires très courts, corolle en grelot, rétrécie au sommet du tube, baie rouge globuleuse 1-2 cm, hérissée des tubercules lignifiés pyramidaux-garrigues (Quezel et Santa, 1963).

4. Espèce *Arbutus unedo***4.1. Généralités sur l'arbousier**

Les arbousiers constituent le genre *Arbutus* de la famille des Ericacées. L'arbousier de Méditerranée a pour nom scientifique *Arbutus unedo*, et celui d'Amérique du Nord *Arbutus menziesii* (Anonyme, 2007).

Arbutus unedo est un nom qui dérive du celt Arbois : bois austère. Le nom latin « unedo » est réutilisé par Carl Linnaeus (1753), puis décrit par Pline comme étant une dérive de « unum edo » je mange un seul fruit (Aksil, 2015).

Il est très répandu en raison de sa tolérance à la sécheresse et sa capacité à se régénérer et recoloniser les forêts incendiées (Doukani, 2014).

Espèce méditerranéenne où les fleurs et les fruits sont présents en même temps.

L'arbousier est un arbuste de croissance relativement lente, très décoratif par son écorce, son port, son feuillage persistant, sa floraison, et sa fructification (**Fig.8**). Bien que son fruit soit comestible, on ne cherchera pas particulièrement à le planter en tant qu'arbre fruitier mais en tant que plante médicinale importante aux vertus thérapeutiques multiples.



Figure 8 : photo d'*Arbutus unedo* (Origine, 2016).

4.2. Classification taxonomique

Cette espèce appartient à la famille des Ericacées :

Règne : Planta

Sous règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Eudicotylédones

Division : Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsidées

Sous-classe : Astéridées

Ordre : Ericales

Sous ordre : Ericanae

Famille : Ericacées

Sous famille : Arbutoideae

Genre : Arbutus

Espèce : Arbutus unedo (L., 1753).

4.3. Noms vernaculaires

Nom scientifique : *Arbutus unedo* (L., 1753)

Nom Français : Arbre aux fraise (**Bartels, 1998 ; Brosse, 2000 ; Reyman, 2002**), Arbousier (**Beniston, 1984 ; Bartels, 1998 ; Brosse, 2000 ; Delille, 2007**).

Nom Espagnol : Madrono (**Ait-Youssef, 2006**).

Nom Portugais : Medronheiro.

Nom Italien : Corbizzolo.

Nom Allemand : Westliche erdbeebaum.

Nom Targuis ou Bérébère : Sisnou, Ticisnou, Bahenou (**Beloued, 2001**), Asesno, Assisnou, Issinsou (**Delille, 2007**).

Nom Anglais : Strawberry tree, Apple of Cain (**Anonyme, 2003**).

Nom Arabe : Mathronia, Qatelabihia, Acir ed dob, Hennahameur, Lendj (**Delille, 2007 ; Bloued, 2001**).

4.4. Description botanique

Les arbousiers sont souvent des arbustes à feuilles persistantes, généralement inférieur à 4 m de hauteur, à tige dressée, à jeunes rameaux rouges, rudes et poilus (**Stevens, 1978 ; Baytp, 1984 in Aksil, 2015**).

Les feuilles persistantes et à pétiole très court, sont coriaces, ovales, allongées, dentelées et glabres (**fig.9**). Elles sont plus pâles à la face inférieure et vert brillant et foncé à la face supérieure, elles réfléchissent la lumière (**Bizouard et Favier, 1962**).



Figure 9 : Présentation des feuilles d'Arbousier (Origine, 2016).



Figure 10 : Présentation des feuilles jeunes d'Arbousier (Origine, 2016).

L'*Arbutus unedo* produit de belles fleurs blanches en novembre et décembre en forme de clochettes regroupées en panicules terminales, régulières bisexuées (Didi, 2009).

Les fleurs sont regroupées en courtes grappes pendantes (Silberfeld, 2011), sont blanchâtre, vertes au sommet, en forme de petites cruches ventrues à ouverture rétrécie (Bizouard et Favier, 1962).

Les 5 pétales sont soudés (on parle de corolle gamopétale) pour former une clochette ventrue de couleur blanc-verdâtre parfois lavée de rose. Les 5 petits sépales sont libres et de couleur verte. La fleur comporte 10 étamines à filet blanc velu. A maturité, les anthères libèrent le pollen par un pore terminal comme c'est le cas chez de nombreuses Ericacées (Silberfeld, 2011).

Le fruit est une baie sphérique de 1,5 à 2 cm de diamètre (Silberfeld, 2011).

Appelé arbose (ou fraise chinoise), rouge orange a maturité, est baie charnue, a peau rugueuse, couverte de petites pointes coniques (Fig.12).

C'est un fruit comestible sans gout très prononcé, qui arrive a maturité en hiver .il est riche en vitamine C. La chair est molle, un peu farineuse, acidulée et sucrée en même temps, et elle contient de nombreux petits pépins (Anonyme, 2005).



Figure 11 : Présentation des fruits d'Arbousier (Origine, 2016).

La racine, pivotante, à nombreuses ramifications ligneuses (Bizouard et al, 1962).

Le tronc est recouvert d'une écorce écailleuse rouge brun. Son diamètre peut aller jusqu'à 35 cm (**Bizouerd et al, 1962**). Devenu âgé, il devient brun terne, se fissure et finit par s'exfolier par petites plaques.

4.5. L'origine et répartition géographique

L'arbousier est un arbre typique des maquis, qui est la principale formation végétale sur sol silicieux en climat méditerranéen ou il se développe en compagnie d'autres plantes marqueuses du maquis comme le chêne liège (*Quercus suber*), la bruyère arborescente (*Erica arborea*) et laurier tin (*viburnum tinus*) (**Silberfeld, 2011**).

Il se trouve aussi dans l'ouest, le centre et le sud de l'Europe, au nord-est de l'Afrique, les îles canaries et en Asie occidentale (**Torres et al, 2002**).

La distribution d'*Arbutus unedo* s'aperçoit, principalement dans les zones côtières et intérieures de la région méditerranéenne caractérisée par une sécheresse allant de 4 à 5 mois (**Torres et al, 2002**).

L'arbousier en Algérie, est bien représenté dans le tell algérien (**anonyme, 2005**).



● : la présence d'*Arbutus unedo*.

Figure 12 : Répartition mondiale de l'*Arbutus unedo* (**Kirkaldyella & Siphoninus, 2000**)

4.6. Composition chimique d'*Arbutus unedo* :

Les feuilles d'Arbousier sont renferment des composés phénoliques parmi lesquels :

Des phénols : environ 3 % d'arbutine, de la méthyl-arbutine, 0,1 % d'hydroquinone libre.

Des acides phénoliques : acide gallique, gaulthérine

Des flavonoïdes : flavonols (arbutoflavonols A et B)

Environ 37 % de tanins

- Des terpénoïdes : tri terpènes : saponines telles que l'acide ursolique, l'acide arbutolique (acide-alcool polyterpénique) ; caroténoïdes (Anonyme, 2013).

Le fruit contient du sucre renversé du saccharose et de l'acide malique (Couplan, 2009).

Il contient une grande concentration de glucides, de 42% à 52% (Ayaz *et al.*, 2000 in Didi, 2009).

La teneur en phénols totaux est estimée par Alarcao-E-Silva *et al.*, (2001) à 14,6 mg/g de fruit sec, dont 1,01 mg/g sont des anthocyanines. Les tannins avec les autres composés phénoliques contribueraient au goût amer du fruit. Parmi les anthocyanines, la cyanidine a été identifié comme étant le principal contribuant à la couleur rouge caractéristique du fruit.

D'autres flavonoïdes ont été découverts comme l'anthocyanine delphinidine-galactoside et les flavonols tell que la quercetine et kaempferol (Pallauf *et al.*, 2008 in Didi, 2009).

4.7. Divers intérêts d'*Arbutus unedo*

Actuellement, l'arbousier attire l'attention de nombreux chercheurs à travers le monde incluant ceux de l'Amérique du Nord principalement pour les valeurs nutritives et médicinales.

4.7.1. Intérêt médicinal

L'arbousier commun a des propriétés astringentes efficaces en cas de diarrhée et de dysenterie, et antiseptiques, pour soigner cystite et urétrite (Iserin, 2001 in didi 2009) .En gargarisme, il soulage les maux de gorge (Iserin, 2001 in didi 2009) .

Il est fréquemment utilisé dans la médecine traditionnelle au Maroc Orientale comme un remède naturel pour l'hypertension et le diabète (El houari, 2007 in DIDI 2009).

Elle a une action bénéfique sur l'artériosclérose et la tension artérielle trop élevée (Anonyme, 2013).

Les feuilles pourraient également être employées dans le traitement des infections rénales mineures (**Couplan, 2009**).

Les fruits ont été utilisés dans la médecine traditionnelle car ils possèdent des propriétés astringentes, diurétiques et antiseptiques, Ils sont également utilisés pour traiter les pathologies cardio-vasculaires, le diabète et les pathologies inflammatoires (**Doukani et Tabak, 2014**).

L'écorce brun rouge est diurétique. En décoction, la racine de l'arbousier est utilisée contre l'hypertension. On lui attribue des propriétés anti-inflammatoires, il est également efficace contre les rhumatismes (**Anonyme, 2013**).

4.7.2. Intérêt alimentaires

Le fruit s'emploie en confiture puisque frais il n'est pas aussi agréable au goût (**Boullard, 1997 ; 2001 ; Iserin, 2001 in Didi, 2009**).

Les arbouses peuvent être cuisinées aussi en gelée, compote. On peut en faire du vinaigre, de la liqueur, du vin. On sait que l'arbose était utilisée pour faire des alcools au Moyen-Age.

Donc les fruits sont comestibles, crus ou cuits, mais c'est dans le deuxième cas qu'ils sont le plus savoureux.



Figure 13 : Présentation d'un fruit cru d'Arbousier (Anonyme, 2013).

4.7.3. Pour autres utilisations :

On recommande par conséquent l'utilisation des extraits d'arbousier dans les produits suivants :

- Des shampoings pour cheveux gras à tendance pelliculaire ;
- Des produits d'hygiène corporelle ;
- Des crèmes pour peaux grasses à tendance acnéique ;
- Des lotions démaquillantes pour peaux mixtes ;
- Des produits de massage pour les pieds et les jambes lourdes (Anonyme, 2013).

Pendant le risorgimento (indépendance italienne) l'arbousier était un symbole patriotique : l'arbre porte en même temps des feuilles vertes, des fleurs blanches et des fruits rouges, couleurs du drapeau de la nation italiennes naissantes (Couplan, 2009).

L'arbousier donne un bon bois de chauffage, et aussi un bel arbre décoratif de jardin.

Son écorce est encore utilisée actuellement, mais en Grèce, pour le tannage des cuirs. Sa floraison semble intéresser les apiculteurs, mais il faut reconnaître qu'elle favorise chez les abeilles la sécrétion de cire plutôt que de miel (**Bizouard et Favier, 1962**). Quoiqu'il en soit, *Arbutus unedo* n'a pas la Caractéristique de certaines Ericacées (en particulier *Androneda caluria*) dont les fleurs font produire aux abeilles un miel toxique (**Bizouard et Favier, 1962**).

Matériels et Méthodes

1. Présentation de la zone d'étude :

Notre étude a été réalisée dans la forêt d'Ait Ghobri (Canton El-Ainseur), située administrativement dans la commune d'Azazga wilaya de TIZI-OUZOU.

1.1. Situation administrative et Géographique de la zone d'étude :

Le massif forestier de Beni Ghobri (**Fig. 14**), découle de la chaîne littorale de la grande Kabylie. Il dépend de la daïra d'Azazga ; à une quarantaine de kilomètre au Nord-est de la wilaya de Tizi-Ouzou et à 140km à l'est d'Alger.

La forêt de Beni Ghobri, d'une superficie de 5710 hectares, répartie en 28 cantons, s'étend entre 342 m et 1306 m d'altitude

Elle est limitée :

- A l'est par la forêt d'Akfadou ;
- A l'ouest par la route régionale 134 ;
- Au nord par une ligne de crête séparant de la forêt domaniale de Tamgout ;
- Au sud par les villages de Cheurfa n bahloul, Assiekh Bouada et Chebel .

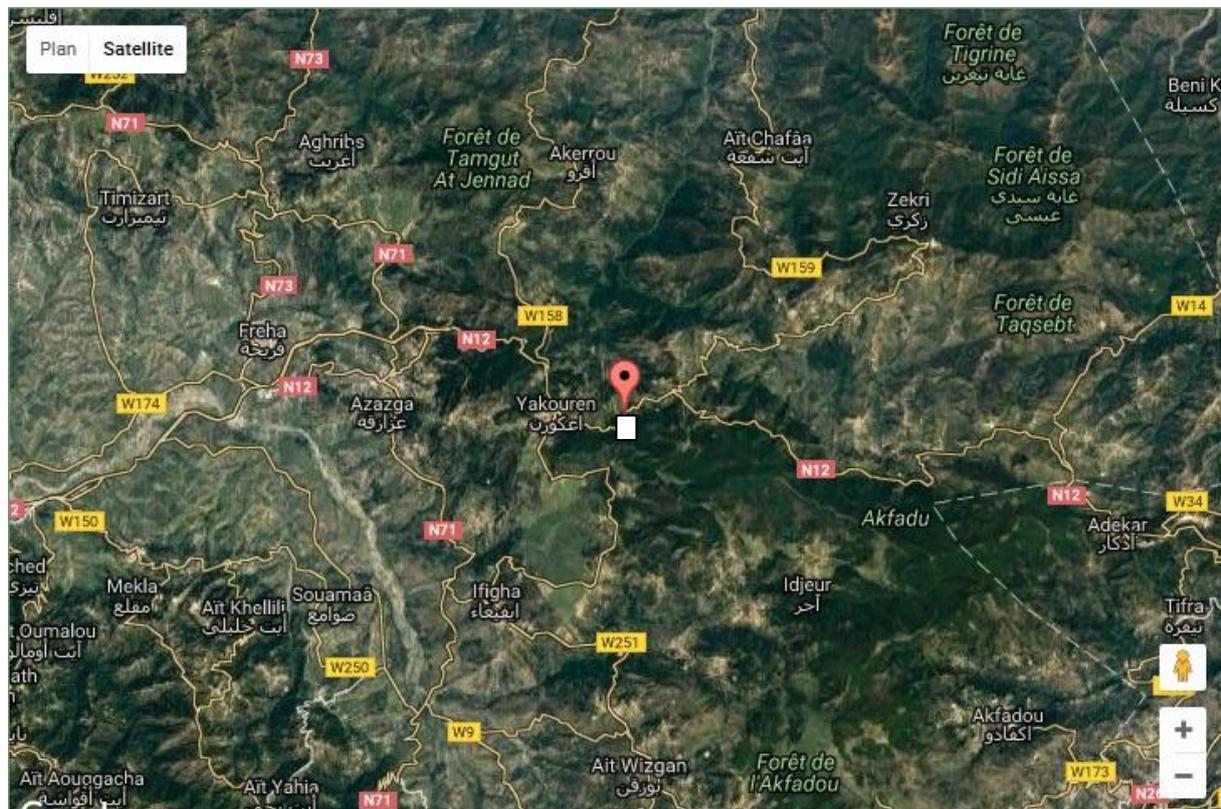


Figure (14) : carte de situation du massif (Beni Ghobri). **Source :** Google Earth (2011)

La forêt de Béni Ghobri est caractérisée par une variabilité topographique, édaphique, géologique et floristique. Cette multitude de facteurs physiques crée de nombreuses conditions microclimatiques, d'où une différence à l'échelle des peuplements.

1.2. Caractéristiques de la zone d'étude

1.2.1. Géologie, sol et topographie

D'après **Gelard (1979)**, la structure géologique de cette partie de la grande Kabylie a trois types de substrat : Les grés numidiens, les argiles sous numidiens et les flysch à micro brèches.

D'un point de vue pédologique, les sols sont dans la plupart des cas de type brun forestier, dont l'évolution tend vers une podzolisation, ceci étant dû à l'acidité du substrat jointe à l'humidité qui y persiste en été (**Rahmani, 2011**). Ce sont des sols bruns lessivés de type ABC dont la profondeur de l'horizon d'accumulation argileux dépend de la pente.

La forêt de Beni Ghobri présente une grande diversité topographique. Le relief est très accidenté et s'articule autour d'une succession de ligne de crêtes orientés Est-Nord-Est et Ouest-Sud-Ouest dans la partie Nord et Nord-Est et Sud-Sud-Ouest dans la partie orientale.

Les principaux sommets sont gréseux et culminent à des altitudes qui dépassent 1300 m : Djebel Affroun (1317 m), Djebel Toukra (1465 m), Akrou El Mokser (1539 m), Azrou n'Taghate (1542 m), Azrou El Mesbah (1450 m), Tala Guizane (1623) et Djebel Ezzéen (1646 m). Les pentes varient en moyenne entre 15 et 45 %.

1.2.2. Composition floristique

La végétation du site d'étude est représentée par une formation forestière mixte à chêne caducifoliés et à chêne liège. Il s'agit d'une formation ouverte avec une strate arbustive très dense en exposition Nord-ouest. La couverture végétale de cette région est formée de trois strates : la strate arborescente, la strate arbustive et la strate herbacée (**El-djouzi, 2004**).

La strate arborescente est composée par trois espèces de chênes : *Quercus suber*, *Quercus canariensis* et *Quercus afares* (**El-djouzi, 2004**). Par contre la strate arbustive est très abondante et variée, composée essentiellement de : *Arbutus unedo*, *Erica arborea*, *Cistus monspeliensis*, *Calycotome spinosa*.....etc. ensuite, les herbacées qui concernent les graminées, des fougères et des lianes (**Ikheteah et Kabeche, 2014**).

1.2.3. Climat

La forêt de Beni Ghobri est situé selon le climagramme D'EMBERGER dans l'étage climatique humide avec un hiver doux (El-djouzi., 2004), caractérisée par une distribution variable de la pluviométrie ; faible à réduite dans la période estivale et moyenne à importante dans les autres périodes d'où la période sèche est sévère, s'étalant sur les trois mois, de la seconde quinzaine de juin à la première quinzaine de septembre (Ikheteah et Kabeche, 2014).

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériels

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est : les feuilles Jeunes, les feuilles âgées, les écorces jeunes, les écorces âgées et les fruits d'arbousier (*Arbutus unedo*) qui sont récoltés en Mars 2016. Nos échantillons ont été séchées dans un Four à la température 60°C jusqu'à stabilisation de poids, puis broyées très finement afin d'obtenir une poudre farineuse (Fig.15), puis tamisées, et classées selon les individus pour faire l'extraction et dosages des polyphénols totaux.



(a) : Feuilles âgées



(b) : Feuilles jeunes



(c) : Ecorce âgée



(d) : Ecorce jeune



(e) : les fruits

Figure (15) : Echantillons en poudre (Originale, 2016)

2.1.2. Appareillages

Pour notre expérimentation, nous avons utilisés les matériels suivants :

- Fiole jaugée de 250ml, bécher, erlenmeyer ;
- Pipettes, pro pipettes ;
- Spectrophotomètre, Cuve (cellule) en plastique ;
- Bain-marie, balance ;
- Agitateurs, broyeur ;
- Etuve, tubes à essai.

2.1.3. Réactifs utilisés au laboratoire

Pour l'extraction et dosage, nous besoin des réactifs suivant :

- Réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois (2.5ml de F.C+ 25ml d'eau distillé) ;
- Méthanol à 80% (80% de méthanol+20% d'eau distillée) ;
- Solution de NaCO₃ (carbonate de sodium) à concentration 74g/l ;
- Solution d'acide gallique (0.5g dissout dans un litre d'eau distillée).

2.2. Méthodes

2.2.1. Méthode d'échantillonnage :

Le prélèvement de notre matériel biologique autrement dit, des feuilles (jeunes et âgées), de fruit et d'écorces (jeunes et âgées) a été effectué sur des individus d'arbousier au niveau de la forêt d'Ait Ghobri (Azazga) au lieu dit : Canton El Ainseur le mois de Mars 2016 (16 Mars). Nous avons adopté un échantillonnage aléatoire des individus d'arbousiers, une fois qu'une population de cette espèce a été délimitée et supposée représentative de la grande population

d'arbousier du Canton El Ainseur. C'est une population de même classe d'âge et située sur versant Nord.

12 individus ont été choisis d'une façon aléatoire par l'utilisation de la table des nombres aléatoires. Sur chaque individu ont été prélevées des feuilles âgées, des feuilles jeunes, des fruits d'arbousier jeunes et des écorces âgées et jeunes. Notons que certains organes de différents âges manquaient.

2.2.2. Préparation de la farine (poudre) pour les échantillons

Les échantillons (**Fig.16**), des feuilles, de l'écorce et de fruits d'arbousier de la station étudiée, sont broyés à l'aide d'un Moulin à café.



(a) : Ecorce



(b) : Poudre

Figure (16) : Broyage de l'écorce d'arbousier (**Originale, 2016**).

2.2.3. Extraction des composés phénoliques :

L'objectif de cette extraction (**Fig.18**) est de libérer les polyphénols présents dans des Structures vacuolaires par rupture du tissu végétal et par diffusion. Ces derniers sont extraits par extraction liquide-solide en utilisant le méthanol comme solvant.

Une pesée de 50 mg pour chaque échantillon (Feuilles jeunes, Feuilles âgées, Ecorces jeunes, Ecorces âgés et Fruits) est préparée à l'aide d'une balance à 0,0001 de précision (**Fig. 17**).

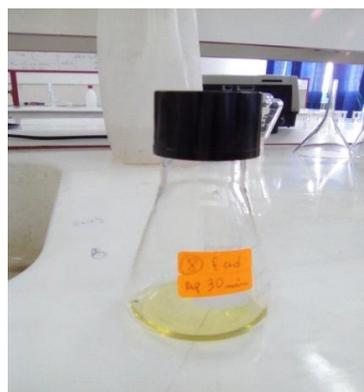


Figure (17) : Balance « Précisa »

Par la suite, on ajoute 10ml de méthanol pour chaque pesée à 80% (80% de Méthanol+20% d'eau distillée). Ces dernières sont mises sous agitation pendant 30mn, puis filtrées et récupérées dans un erlenmeyer fermé.



(a) : agitation des filtrats



(b) : Filtrats dans un erlenmeyer

Figure (18) : Préparation des filtrats (originale, 2016)

2.2.4. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans le matériel végétal étudié (Feuilles, Ecorce et Fruit d'Arbousier), a été effectué au niveau de laboratoire de chimie de département de biologie 'SNV' de la faculté des sciences biologiques et agronomiques à TAMDA de U.M.M.T.O, par un spectrophotomètre à UV visible à une longueur d'onde de 760nm selon la méthode au réactif de Folin Ciocalteu.

➤ Principe :

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu caractérisé par une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéropolyacides). En milieu alcalin, il consiste à oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu (Daels-rakotoarison, 1999).

- Nous avons mélangé 0.5ml de la solution à doser ou du filtrat avec 2.5ml de réactif F.C (dilué dix fois dans l'eau distillée).
- Après 1 mn de contact du F.C avec le filtrat, 2ml de carbonate de sodium (NaCO_3) à concentration 74g/L ont été ajouté au filtrat, puis mélangées dans un tube à essai.
- Nous avons met les tubes à essai dans le bain marie à température $T = 50\text{C}^\circ$ pendant 5mn.
- On mesure ensuite l'absorbance de chaque échantillon à 760nm.



Bain marie
«MEMMERT »



Spectrophotomètre
« HELIOSEPSILON »



Tube
à essai

Figure (19) : Matériels utilisés pour le dosage des polyphénols (Originale, 2015)

2.2.5. Courbe d'étalonnage

Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax+b$), établie avec des concentrations précises d'acide gallique (g/l), comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon.

0.5g de l'acide gallique, ont été dissouts dans un litre d'eau distillée ;

Ensuite, quatre solutions filles de concentration de 0.06, 0.12, 0.20 et 0.28 g/l ont été préparées à partir de la solution mère (acide gallique à 0.5g/L).

- Les résultats sont exprimés sous forme d'une courbe d'étalonnage (**Annex1**).

Analyses statistique :

Tous les calculs de moyennes et les histogrammes ont été effectués au moyen du logiciel Microsoft Office Excel 2007 de Microsoft® sur Windows ®.

Une analyse de variance a été réalisée dans le but de comparer les moyennes de concentration des polyphénols entre déférente organes de l'arbousier est faite par les logiciels STATISTICA et STATBOX.

Résultats et Discussion

Dans ce chapitre nous résumons les résultats descriptifs de caractère de notre étude (teneur en polyphénols) : les moyennes, écart type et coefficients de variation sont calculés pour chaque organe de la plante étudié. Par la suite, nous présentons les résultats de l'analyse de la variance (ANOVA) et son interprétation avec une matrice de corrélation.

1. Détermination de la teneur en composés phénoliques par spectroscopie à UV :

La concentration des polyphénols totaux est déterminée par la méthode de Folin Cialcolteau à partir d'un courbe étalon utilisant l'AG (acide gallique) comme standard, la quantité de polyphénols totaux a été exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique(EAG) /g de la matière sèches totales (MST).En plus, la sensibilité de cette méthode de dosage présente une reproductivité puisque l'absorbance est étroitement corrélée à la concentration de l'acide gallique utilisé dans la gamme d'étalon.

Dans notre étude les polyphénols extraits dans différents organes d'arbousier sont dosés. Leurs taux a été déterminé puis représenté en histogramme.

Les résultats (**Fig. 20**) montrent que les organes étudiés contiennent tous des polyphénols.

D'après nos résultats (**Fig.21**), la teneur en polyphénols est élevée dans les fruits (**Fig.21a**) et varie de 171,6 mg/g à 210 mg/g.

Des quantités plus élevées dans l'écorces jeunes (**Fig.21b**) qui arrivent jusqu'à 197,46 mg/g par rapport a l'écorces âgées (**Fig.21c**) ont été enregistrées avec des concentrations qui varient entre 11,02 mg/g et 18,54 mg/g.

En ce qui concerne les feuilles, nous pouvons dire que des teneurs importants sont observés dans les feuilles jeunes par rapport aux feuilles âgées mais avec de petites différences.

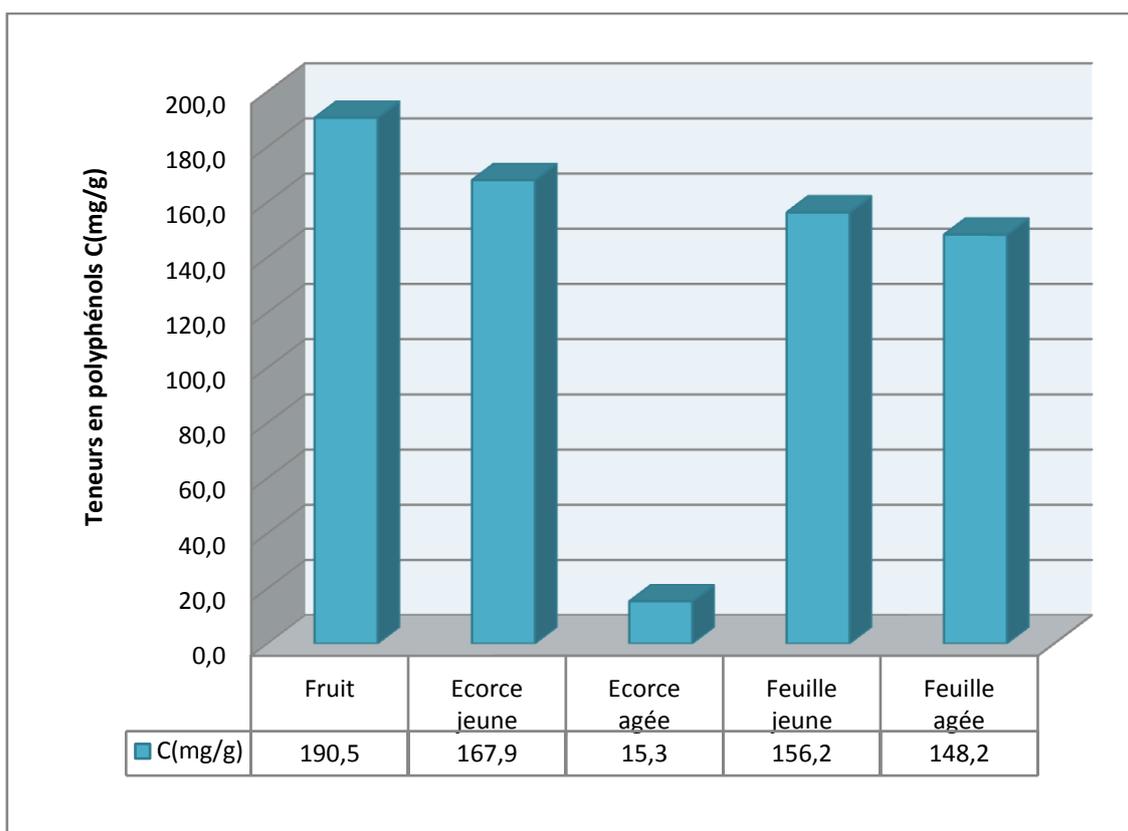


Figure (21) : Résultats de l'étude biochimique (Moyennes des teneurs en polyphénols) au niveau de différents organes d'Arbousier

Ces variations de teneurs en polyphénols dans tous les organes pourraient être dues aux facteurs extrinsèques (géographiques et climatiques), facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante.

2. Analyse des paramètres de position et de dispersion des différents échantillons :

Avant de passer à toute analyse statistique des variables étudiées, nous avons voulu savoir si notre échantillonnage a été exécuté d'une façon homogène.

Autrement dit, s'il n'y a pas trop de différences entre les répétitions qui pourraient se répercuter sur les analyses de variances qui vont suivre. Pour ce faire, nous avons calculé l'écart type et le coefficient de variation entre les répétitions de chaque organe échantillonné.

Le tableau (3), montre que le coefficient de variation pour tous les organes échantillonné n'excède pas les 7% de variation, ce qui indique que globalement il y'a une homogénéité d'échantillonnages.

De plus des 95% en moyenne au niveau de tous les échantillons. Ceci dit, les moyennes des concentrations en polyphénols calculées sont très représentatives des populations échantillonnées, condition obligatoire à vérifier avant de passer aux analyses paramétriques.

Le tableau (3) : Les moyennes des concentrations de polyphénol présenté dans les différents organes d'arbousier (*Arbutus unedo*).

Organes	Moyenne	Ecart type	CV %
Fruit	190,5	8,95	4,70
Ecorce jeune	167,9	11,27	6,71
Ecorce âgée	15,31	1,07	7,01
Feuille jeune	156,22	6,3	3,76
Feuille âgée	148,16	5,36	3,47

LEGENDE : CV : coefficient de variation.

3. Analyse de la variance (ANOVA) :

Les résultats obtenues ont été soumis au test de l'analyse de la variance (ANOVA) à un critère de classification (organe). Lorsque cette analyse révèle des différences significatives, il est complété par le test de NEWMAN et KEULS au seuil $\alpha = 0,05$.

Les résultats de l'analyse de la variance de chaque paramètre étudié sont présentés dans le **tableau 4** :

Tableau (4) : Analyse de la variance pour les paramètres étudiés.

Variables	Sources de variation	ddl	SC	CM	F	P	E.T.R	CV %
Fr-EcJ	Individus	1	628,71	628,71	1,26	0,3	22,33	12,63
	Var.résiduelle	6	2991,22	498,54				
	Var.totale	7	3619,93					
Fr-Ecag	Individus	1	58012,7	58012,7	412,92	0,000001	11,85	11,8
	Var.résiduelle	6	842,97	140,49				
	Var.totale	7	58855,66					
Fr-Feag	Individus	1	2807,25	2807,25	7,68	0,03	11,19	11,45
	Var.résiduelle	6	2192,04	365,34				
	Var.totale	7	4999,29					

Résultats et discussion

Fr-FeJ	Individus	1	1460,7	1460,7	2,21	0,19	25,73	14,95
	Var.résiduelle	6	3971,98	662				
	Var.totale	7	5432,68					
EcJ-Ecag	Individus	1	46562,84	46562,84	126,57	0,000029	19,18	20,94
	Var.résiduelle	6	2207,3	367,88				
	Var.totale	7	48770,13					
EcJ-FeJ	Individus	1	172,79	172,79	0,19	0,67	29,82	18,27
	Var.résiduelle	6	5336,31	889,39				
	Var.totale	7	5509,1					
EcJ-Feag	Individus	1	778,94	778,94	1,31	0,3	24,35	15,41
	Var.résiduelle	6	3556,37	592,73				
	Var.totale	7	4335,31					
Ecag-FeJ	Individus	1	41062,62	41062,62	77,28	0,00012	23,05	26,51
	Var.résiduelle	6	3188,06	531,34				
	Var.totale	7	44250,67					
Ecag-Feag	Individus	1	35296,92	35296,92	150,4	0,000018	15,32	18,74
	Var.résiduelle	6	1408,11	234,68				
	Var.totale	7	36705,03					
FeJ-Feag	Individus	1	217,99	217,99	0,29	0,61	27,5	17,93
	Var.résiduelle	6	4537,12	756,19				
	Var.totale	7	4755,11					

LEGENDE : En Gras : les valeurs significatives, Fr : Fruit, Ecag : Ecorce âgée, Ecj : Ecorce jeune, Fej : Feuille jeune, Feag : Feuille âgée, CV : coefficient de variation, DDL : Degré de liberté, SC : Somme des carrés, MC : Moyenne des carrés, P : Probabilité.

Les résultats du test d'ANOVA (**Tableau 4**) montrent des différences très hautement significatives, hautement significatives, significatives et non significatives entre les organes étudiés, et que nous permettent de rejeter l'hypothèse d'égalité des variances (H_0).

- Une différence très hautement significative est enregistrée dans le Variable Ecorce âgée - Fruit avec $P = 0,000001$.
- Une différence hautement significative pour Ecorce âgée – Feuille âgée

($P = 0,000018$), Ecorce âgée –Ecorce jeune ($P = 0,000029$) et Ecorce âgée-Feuille jeune ($P = 0,00012$).

- Une différence significative observée dans le variable Feuille âgée - Fruit avec une probabilité de 0,03.
- Des différences non significatives pour les autres variables avec une probabilité supérieure à 0,05.

Le test de NEWMAN et KEULS pour l'organe Ecorce, classe les deux variables (âgée et jeune) en deux groupes 1 et 2 (**Tableau. 5**) :

- Le groupe (1) est représenté par l'organe Ecorce âgée avec une moyenne de 15,313.
- Le groupe (2) est représenté par l'organe Ecorce jeune avec une moyenne de 167,89.

Tableau(5) : groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour le variable Ecorce âgée et Ecorce jeune.

Individu	C Moyenne	1	2
Ecag	15,31	****	
Ecj	167,89		****

Le test de NEWMAN et KEULS pour les organes Ecorce âgée et Feuille jeune classe les deux variables en deux groupes 1 et 2 (**tableau.6**) :

- Le groupe (1) est représenté par l'organe Ecorce âgée avec une moyenne de 15,313.
- Le groupe (2) est représenté par l'organe Feuille jeune avec une moyenne de 158,6.

Tableau (6) : groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour le variable Ecorce âgée- Feuille jeune.

Individu	C Moyenne	1	2
Ecag	15,31	****	
Fej	158,6		****

Le test de NEWMAN et KEULS pour les organes Ecorce âgée et Fruit, classe les deux variables en deux groupes 1 et 2 (**tableau.7**) :

- Le groupe (1) est représenté par l'organe Ecorce âgée avec une moyenne de 15,313.
- Le groupe (2) est représenté par l'organe Fruit avec une moyenne de 185,62.

Tableau (7) : groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour le variable Ecorce âgée - Fruit

Individu	C Moyenne	1	2
Ecag	15,31	****	
Fr	185,62		****

Le test de NEWMAN et KEULS pour les organes Ecorce âgée et Feuille âgée classe les deux variables en deux groupes 1 et 2 (**tableau.8**)

- Le groupe (1) est représenté par l'organe Ecorce âgée avec une moyenne de 15,313.
- Le groupe (2) est représenté par l'organe Feuille âgée avec une moyenne de 148,16.

Tableau (8) : groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour le variable Ecorce âgée - Feuille âgée.

individu	C Moyenne	1	2
Ecag	15,31	****	
Feag	148,16		****

Le test de NEWMAN et KEULS pour les organes Feuille âgée et Fruit classe les deux variables en deux groupes 1 et 2 (**tableau.9**)

- Le groupe (1) est représenté par l'organe Feuille âgée avec une moyenne de 148,16.
- Le groupe (2) est représenté par l'organe Fruit avec une moyenne de 185,65.

Tableau (9) : groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour le variable Feuille âgée – Fruit

individu	C Moyenne	1	2
Feag	148,16	****	
Fr	185,62		****

Donc la comparaison de la p.p.d.s (la plus petite différence significative) entre les moyennes par le test de NEWMAN et KEULS, fait ressortir 02 groupes distincts correspondent aux variables significatives, ce qui confirme bien les différences des résultats significatifs entre ces deux paramètres par l'ANOVA.

Globalement nous pouvons dire qu'il existe une différence très hautement significative entre tous les organes avec une probabilité inférieure à 0,05 (**Tableau.10**).

Tableau (10) : Analyse de la variance pour les paramètres étudiés.

Variables	Sources de variation	DDL	SC	CM	F	P	E.T.R	CV %
Tous les organes	Individus	4	74800,6	18700,1	37,11	0,00000	22,45	16,61
	Var. résiduelle	15	7557,9					
	Var. Totale	19	82358,45	503,9				

La comparaison de la p.p.d.s (la plus petite différence significative) entre les moyennes de tous les organes étudiés par le test de NEWMAN et KEULS, fait ressortir 05 groupes distincts correspondant aux variables significatives, ce qui confirme bien l'existence des différences des concentrations en polyphénols entre les différents organes échantillonnés sur l'Arbousier (*Arbutus unedo*) (**Tableau. 11**).

Tableau (11) : groupes homogènes formés par le test de NEWMAN et KEULS au seuil de +5 % pour les variables (Fruits-Ecorce jeune-Ecorce âgée-Feuille jeune-Feuille âgée).

Individus	C (mg/g)	1	2
Ecag	15,31		****
Feag	148,16	****	
Fej	158,6	****	
Ecj	167,9	****	
Fr	185,62	****	

LEGENDE : Fr : Fruit, Ecj : Ecorce jeune, Ecag : Ecorce âgée, Fej : Feuille jeune, Feag : Feuille âgée, **En gras**, les valeurs significatives.

4. Matrice de corrélation :

L'examen de la matrice de corrélation (**tableau 12**) indique la corrélation **de Pearson** qui a permis de mieux apprécier les relations éventuelles entre les différentes variables analysées. Il ressort de celui-ci que les différents organes utilisés pour la détermination des polyphénols sont corrélés.

La matrice de corrélation montre :

- Une corrélation très hautement significative positive entre le Fruit-Ecorce jeune ($r = 0,80$) et entre le Ecorce âgé-Feuille jeune ($r = 0,82$) ;
- Deux corrélations hautement significatives négatives, l'une entre Ecorce jeune-Ecorce âgé ($r = -0,71$) et l'autre entre Fruit-Feuille âgée ($r = -0,72$) ;
- une corrélation significative négative entre Ecorce jeune-Feuille jeune ($r = -0,56$).

Tableau (12) : Matrice de corrélation pour tous les organes étudiés.

Variable	Fr	Ecj	Ecag	Fej	Feag
Fr	1				
Ecj	0,80	1			
Ecag	- 0,31	- 0,71	1		
Fej	0,04	- 0,56	0,82	1	
Feag	- 0,72	- 0,49	- 0,26	- 0,25	1

En gras, les valeurs significatives

Cette forte corrélation positive ou négative pourrait s'expliquer par la nécessité de ces deux organes d'exister ensemble pour accomplir leur rôle nutritionnelle et même pour s'adapter à leur milieu, car l'absence de l'un limite la présence de l'autre.

Discussion

L'analyse de nos échantillons montre une grande variabilité de teneur en polyphénols selon l'âge de l'organe étudié et selon le type de l'organe sur le même individu d'arbousier.

Notons que cette variabilité ne pourrait être due aux facteurs extrinsèques comme le climat et la situation géographique, vu que notre échantillonnage a été effectué dans une même station au sens strict et en une seule journée, mais nous pensons que cette variabilité pourrait être lié au degré de maturation des différents organes de l'arbousier.

Ce qui rejoint les travaux réalisés par **Aganga et Mosase, (2003)** ; **Pedneault et al, (2001)** et **Giddey, (1992)** in **Doukani et Tabak, (2013)** qui confirment qu'en plus des facteurs extrinsèques qui peuvent influencer les teneurs en polyphénols à travers les différents organes d'une même plante, il y'a des facteurs intrinsèques comme le degré de maturation de la plante et la durée de stockage qui eux aussi ont une forte influence sur le contenu en polyphénols. Par ailleurs, l'existence d'une forte concentration en polyphénols dans les feuilles jeunes de l'arbousier, comparée aux feuilles âgées, pourrait être due à une grande sécrétion de polyphénols dans les jeunes feuilles liée aux stades précoces de leur croissance.

Nos résultats rejoignent ceux de **Achakzai et al, (2009)** qui rapportent que le rapport de la sécrétion des polyphénols à la dégradation diminue selon le vieillissement des feuilles.

Selon **Bryant et Julkunen-Tiitto, (1995)** in **Masa et al, (2016)**, les métabolites secondaires peuvent changer de façon significative à la fois qualitativement et quantitativement durant la croissance des plantes et l'ontogénèse. En règle générale, les stades juvéniles expriment des défenses plus fortes que les stades matures ce qui expliquerait qu'aux stades juvéniles les plantes adaptent des stratégies comme la sécrétion de grandes quantités de polyphénols pour s'adapter aux différents types de stress (**Masa et al, 2016**).

En comparant le taux de polyphénols de nos échantillons *Arbutus unedo* avec d'autres travaux qui font sur l'extraction de polyphénols, nous constatons que la teneur en composés phénoliques de notre étude est plus proche de celle faite par **Didi. (2009)**, qui a trouvé que les teneurs en polyphénols dans les feuilles jeunes d'*Arbutus unedo* est de (192,4 mg/g), dans les rameaux (237,33 mg/g) et pour les feuilles de *Daphne gnidium*, elle est de (131,9 mg/g).

Selon **Doukani et Tabak, (2013)** Le taux de polyphénols dans les fruits sec d'*Arbutus unedo* est de (17.025 mg /g). Ces résultats qui sont proches de ceux décrits par **Tavares et al, (2010)**, et **Orak et al, (2011)**, et qui sont de l'ordre de (18 mg /g) et (14.29 mg /g) respectivement dans le même organe, par contre dans notre travail, les fruits contiennent 190,5 mg/g.de polyphénols, ce qui est énorme par rapport aux travaux cites ci-dessus. Cette différence peut être due au degré de maturité de cet organe.

Globalement, la répartition des polyphénols dans les différents organes d'une même plante été rapportée par plusieurs auteurs : (**Doukani et Tabak, (2013)** ; **Bryant et Julkunen-Tiitto, (1995)** ; **Masa et al, (2016)** ; **Tavares et al, (2010)** ; **Orak et al, (2011)**, **Didi. (2009)**).

Conclusion

Au terme de notre travail qui s'inscrit dans l'étude de l'influence du facteur Age sur les différents organes de la plante Arbousier (*Arbutus unedo*) par rapport aux teneurs en polyphénols, il nous semble important de présenter les principales conclusions aux quelles nous sommes arrivés.

D'une manière générale, les résultats d'extraction et dosage des polyphénols. Effectués sur 05 organes différents d'Arbousier (Fruits, Ecorces jeunes, Ecorces âgées, Feuilles jeunes et Feuilles âgées) et s'agissant de l'étude comparative entre ces différentes parties de la plante, nous avons montré que les polyphénols sont présentés dans tous ces organes.

Notre étude a montré l'existence d'une variabilité au sein d'une même espèce (*Arbutus unedo*), et aussi au sein d'un même organe, les teneurs importantes observés dans les organes jeunes comme les Fruits, Ecorces jeunes et Feuilles jeunes et qui sont de l'ordre de 190,5 mg/g ; 167,9 et 156,22 mg/g respectivement. Pour les organes âgés nous avons l'écorce âgée avec (15,31 mg/g) et les Feuilles âgées avec (148,16mg/g), qui expriment les plus faibles en polyphénols.

La méthode d'extraction menée à température ambiante permet d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées par d'autres méthodes d'extraction (**Lee et al, 2003**).

Macheix et al, (1990) ont rapporté que le patrimoine génétique joue un rôle important dans la variation de la teneur en composés phénoliques, cependant, la concentration des polyphénols est très variable de l'état de la maturité de l'espèce, de l'organe de provenance, d'une espèce à une autre et d'une variété à une autre.

L'analyse de la variance a révélé qu'il y a des différences significatives et non significatives entre les organes par rapport a la teneur en polyphénols, Donc la comparaison de la p.p.d.s (la plus petite différence significative) entre les moyennes par le test de NEWMAN et KEULS, fait ressortir 02 groupes distincts correspondent aux variables significatives, ce qui confirme bien la différence des résultats significatives entre chaque deux paramètres par l'ANOVA à savoir ...

En ce qui concerne la matrice de corrélation, il ressort qu'il y a des corrélations positives et des corrélations négatives, avec des niveaux de significations différents entre les organes étudiés, par exemple Une différence très hautement significative pour le Variable (Ecorce âgée – Fruit), Une différence hautement significative pour (Ecorce âgée – Feuille âgée) et Une différence significative observée dans le variable (Feuille âgée – Fruit).

Les résultats obtenus en termes de teneurs en polyphénols, nous permettons de conclure que l'Age des organes est l'un des facteurs qui peut favoriser l'accumulation de ce composé dans les organes des plantes.

Aussi, Les profils métaboliques (comme les polyphénols) peuvent prédire les niveaux d'une usine de résistance contre différents facteurs environnementaux et leur analyse pourrait aider à caractériser les espèces contre ces facteurs (**Achakzai et al 2009**).

Cette étude pourrait apporter aussi une justification aux divers usages qui sont faites des plantes dans la médecine traditionnelle notamment dans le traitement de l'hypertension artérielle, la bonne connaissance de la répartition des composés phénoliques dans les différents organes végétaux est souvent essentielle pour orienter l'utilisation phytothérapeutique que l'homme souhaite en faire.

Ce travail quoi qu'important doit être compléter et enrichi par des études futures plus approfondies, englobant la répartition et la variabilité des polyphénols dans les plantes, notamment chez l'Arbousier en fonction des saisons et des régions.

Références bibliographiques

Annexes

ANNEXE I :

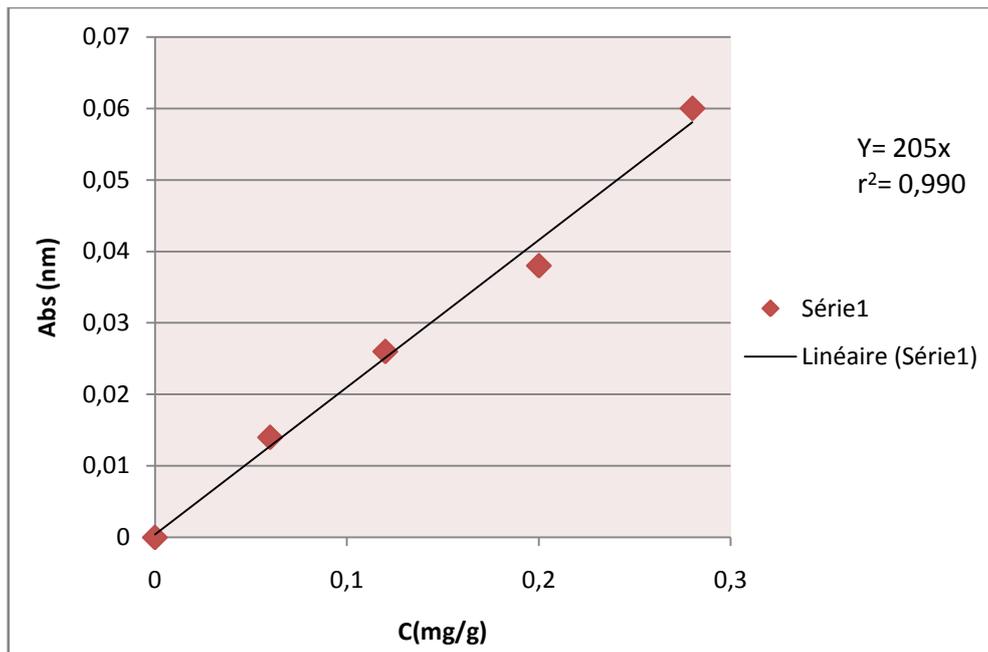


Figure (20) : Courbe étalon avec l'acide gallique à 0.5g/L.

ANNEXE II :

Tableau (2) : Concentrations de polyphénols dans différentes organes d'*Arbutus unedo*

Organes	individus	C mg/g
Fruits	Fr1	173,6
	Fr2	171,6
	Fr3	206,8
	Fr4	210
Ecorces Jeunes	EcJ1	150,24
	EcJ2	140,48
	EcJ3	183,4
	EcJ4	197,46
Ecorces Agées	Ecag1	18,54
	Ecag2	15,6
	Ecag3	16,08
	Ecag4	11,02
Feuilles Jeunes	FeJ1	156,3
	FeJ2	171,7
	FeJ3	185,36
	FeJ4	111,5
Feuilles Agées	Feag1	140
	Feag2	175,6
	Feag3	124,86
	Feag4	152,18

ANNEXE III :

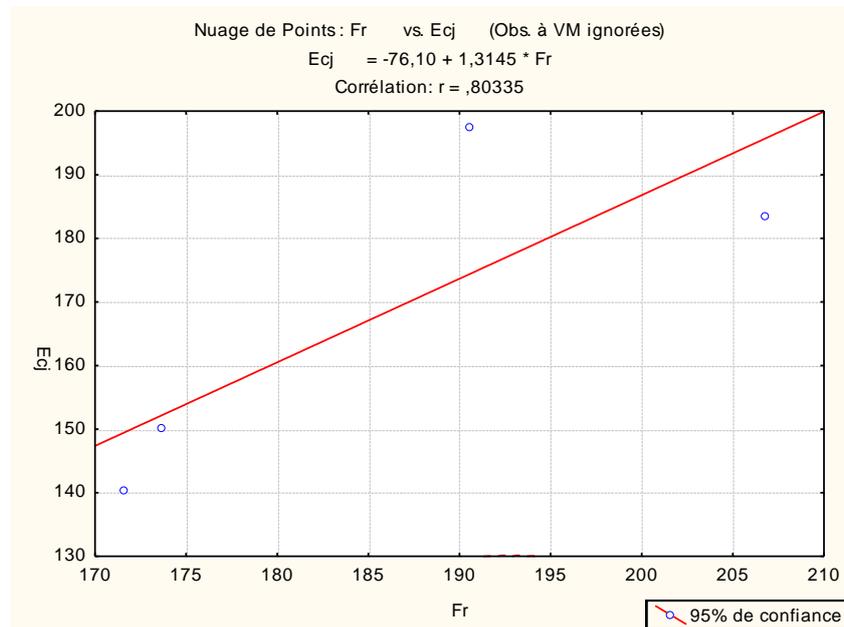


Figure (22) : Courbe de corrélation pour le variable Fruit-Ecorce jeune.

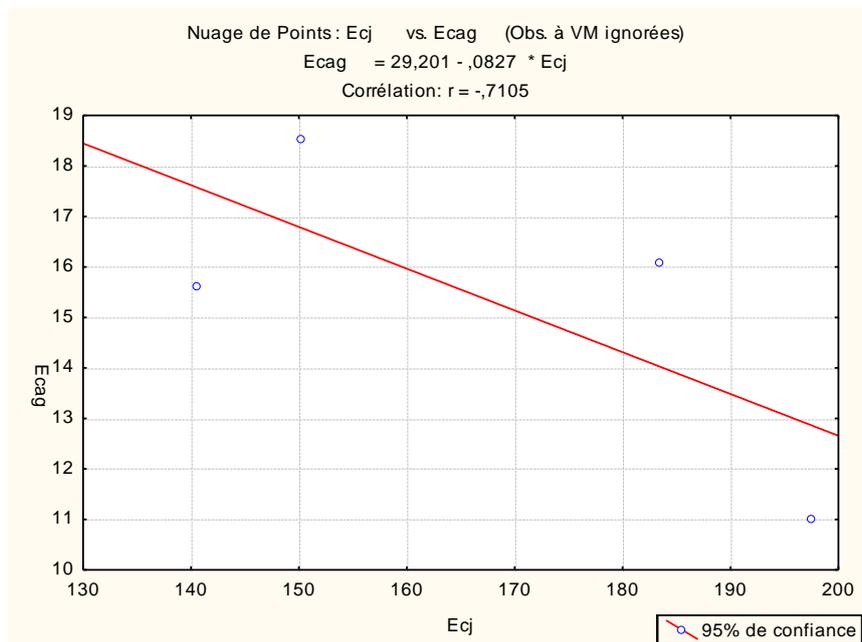


Figure (23) : Courbe de corrélation pour le variable Ecorce jeune-Ecorce âgée.

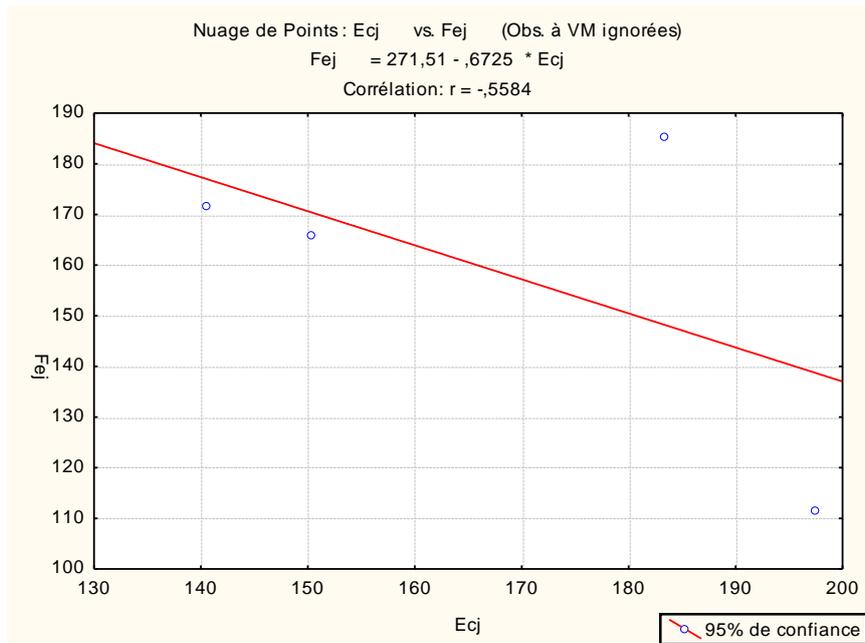


Figure (24) : Courbe de corrélation pour le variable Ecorce jeune-Feuille jeune.

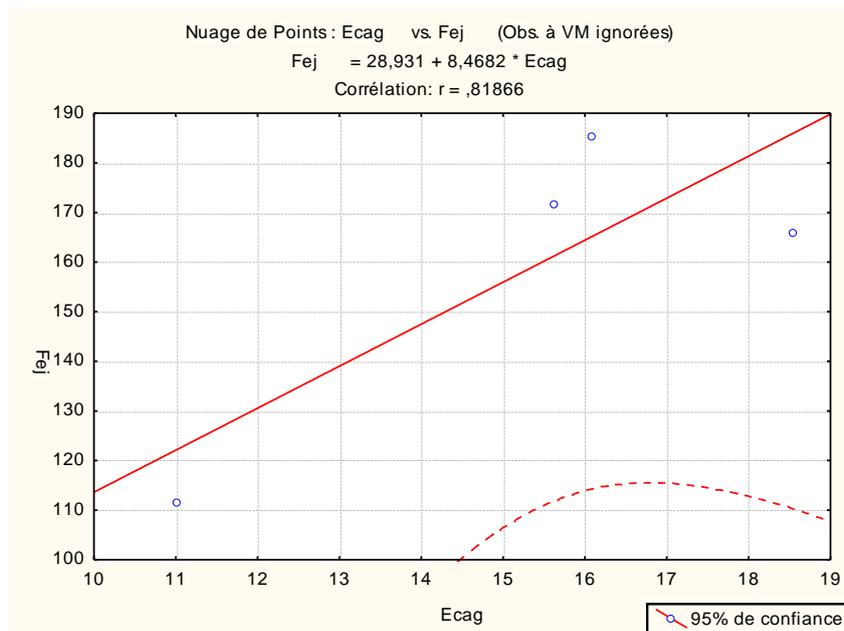


Figure (25) : Courbe de corrélation pour le variable Ecorce âgée-Feuille jeune.

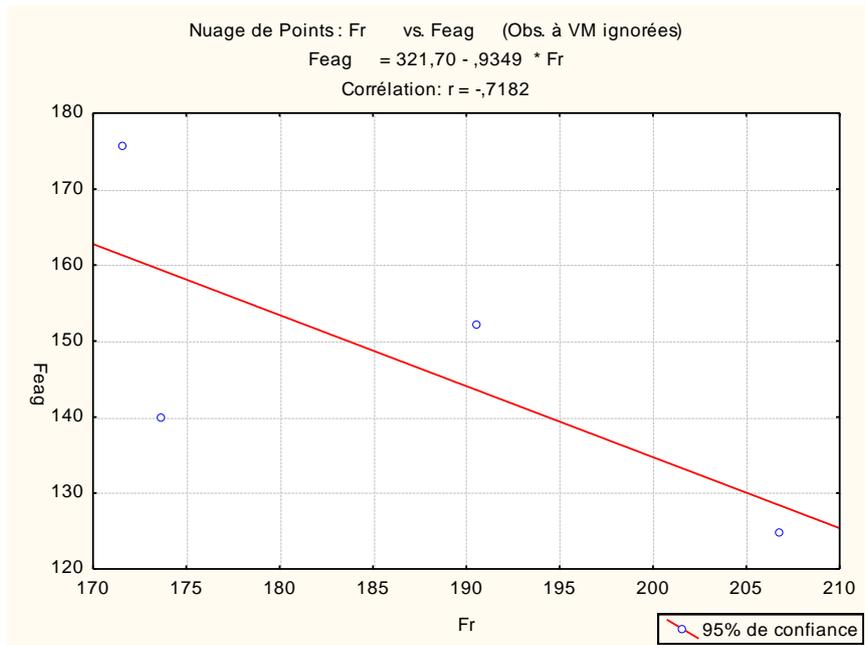


Figure (26) : Courbe de corrélation pour le variable Fruit-Feuille agée.