



Remerciements

*Tout d'abord, on remercie **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de notre Professeure **Mme BENAHMED DJILALI Adiba**, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nous tenons également à remercier tous les **enseignants de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou**, spécialement les enseignants qui ont contribué à notre formation en Biotechnologie Microbienne.*


Nous tenons à remercier les membres du jury :

***Mr YEZID H.**, pour avoir accepté de présider ce travail*

***Mme BENZAZZOUZ K.**, pour avoir accepté d'examiner ce travail*

*Un grand remerciement pour tous les **Ingénieurs** de laboratoire physico-chimique de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou et aussi de Microbiologie de centre hospitalier universitaire de Tizi-Ouzou.*

*Enfin, nous tenons à exprimer notre gratitude à **nos familles** et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*





Dédicace

*Je dédie ce mémoire à l'âme de mon
père que Dieu le garde dans son paradis.*

*À ma chère maman que Dieu la garde,
pour son amour, ses encouragements, ses sacrifices et son
soutien et la confiance qu'elle m'a accordés.*

*À mon fiancé qui a été une source de force et m'a encouragé
pendant toute la période de préparation de ce travail.*

À ma petite sœur Sarah.

À tous les membres de ma famille.

*À mon binôme : Kenza, avec qui j'ai partagé ce modeste travail
et qui n'a pas toujours été facile.*

Kahina



Dédicace

*Je remercie tout d'abord mon dieu le tout
puissant qui m'a donné, la santé, la volonté et
le courage, pour réaliser ce travail*

Je dédie ce modeste travail :

*À mes très chers parents qui ont toujours à mes côtés durant toutes
les années d'études, qui ont toujours sacrifié pour ma
réussite, que Dieu les protège durant une longue vie.*

À mon frère Mohammed Amine et ma petite Sœur Ziham.

*À mes chères amies et tous ceux qui m'ont encouragé et soutenu tout
au long de mes études.*

*Sans oublier ma chère binôme Kahina avec sa patience et sa
gentillesse tout au long de ce travail.*

Kenza

Liste des abréviations

CPG : Chromatographie Phase Gazeuse

DPPH : 2,2-DiPhényl-1-PicrylHydrazyl

DO : Densité Optique

AGMI : Acides Gras Mono Insaturés

AGS : Acides Gras Saturés

AGPI : Acides Gras Poly Insaturés

pH : Potentiel Hydrogène

N : Normalité

EC : Equivalent de β -Carotène

EQ : Equivalent de la Quercétine

SM : Solution mère

CHE : Centre Hospitalier Universitaire

P.aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

• Liste des figures

Figure 01 : Aspect de <i>Bunium incrassatum</i>	05
Figure 02 : Différentes parties de pin d'alep (<i>Pinus halpensis</i>)	08
Figure 03 : Voies aériennes supérieures	12
Figure 04 : Poudre et tubercules de <i>Bunium incrassatum</i> coupés en morceaux	18
Figure 05 : Poudre et pierres de la résine de pin d'alep	19
Figure 06 : Solutions préparées pour le dosage des flavonoïdes	29
Figure 07 : Pourcentages d'inhibition de DPPH des différentes formes nutraceutiques.....	42

Liste des tableaux

Tableau I : Classification scientifique de <i>Bunium incrassatum</i>	05
Tableau II : Classification scientifique de <i>Pinus halepensis</i>	09
Tableau III : Souches bactériennes utilisées	19
Tableau IV : Dilutions des différentes formes nutraceutiques	29
Tableau V : Interprétation des résultats d'antibiogramme	35
Tableau VI : Conditions opératoires de l'analyse de CPG ..	36
Tableau VII : Résultats d'analyses phytochimiques de la poudre des racines de <i>Bunium incrassatum</i>	37
Tableau VIII : Résultats d'analyses physico-chimiques de la poudre de la racine de <i>Bunium incrassatum</i> et les différentes formes nutraceutiques ..	39
Tableau IX : Résultats du dosage des substances bioactives de la poudre de racine de <i>Bunium incrassatum</i> et les différentes formes nutraceutiques ..	40
Tableau X : Diamètres des zones d'inhibition des échantillons purs.....	43
Tableau XI : Diamètres des zones d'inhibition de différentes formes nutraceutiques.....	43
Tableau XII : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques.....	44
Tableau XIII : Composition des racines de <i>Bunium incrassatum</i> en acides gras.....	46

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction.....01

Chapitre I : Généralités sur la plante *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep

I.1 Introduction.....03

1.2 *Bunium incrassatum*

1.2.1. Familles des *Apiaceae*.....03

1.2.2. Genre *Bunium*.....03

1.2.3. Définition04

1.2.4. Description botanique.....04

1.2.5. Nomenclature et appellation.....05

1.2.6. Classification.....05

1.2.7. Répartition géographique.....05

1.2.8. Utilisation.....06

1.3 Le pin d'alep

1.3.1. Familles des *Pinaceae*.....06

1.3.2. Genre *Pinus*.....07

1.3.3. Définition07

1.3.4. Description botanique.....07

1.3.5. Nomenclature et appellation.....08

1.3.6. Classification.....09

1.3.7. Répartition géographique.....09

Sommaire

1.3.8. Utilisation.....	10
1.3.9. Description de la résine de pin d'alep.....	10
1.3.9.1. Méthodes de récolte de la résine	10
1.3.9.2. Traitement de la gemme.....	11

Chapitre II : Généralités sur les maladies respiratoires

1. Généralités.....	12
2. Anatomie des voies respiratoires.....	12
2.1. Voies respiratoires supérieures.....	12
2.2. Voies respiratoires inférieures.....	13
3. Types des infections respiratoires.....	13
3.1. Infections respiratoires hautes.....	13
3.1.1. Angine.....	13
3.1.2. Rhinopharyngites aiguës.....	13
3.1.3. Sinusites aiguës.....	14
3.1.4. Laryngites.....	14
3.2. Infections respiratoires basses.....	14
3.2.1. Bronchite aiguë.....	14
3.2.2. Broncho-pneumopathie chronique obstructive.....	15
3.2.3. Pneumonie aiguë communautaire de l'adulte.....	15
4. Etiologie.....	15
4.1. Parasites et champignons.....	15
4.2. Virus.....	15
4.3. Bactéries.....	16
4.3.1. Bactéries Gram positif.....	16
4.3.2. Bactéries Gram négatif	17

Chapitre III : Matériel et Méthodes

1. Cadre de l'étude.....	18
--------------------------	----

Sommaire

2. Objectif de l'étude.....	18
3. Matériel et Méthodes.....	18
3.1. Matériel végétale.....	18
3.2. Matériel biologique.....	19
3.3. Appareillages.....	19
4. Méthodes.....	20
4.1. Elaboration des formulations nutraceutiques.....	20
4.2. Screening phytochimique.....	20
4.3. Analyses physico-chimiques.....	22
4.3.1. Acidité titrable.....	22
4.3.2. Mesure du pH.....	23
4.3.3. Détermination de l'humidité.....	24
4.3.4. Dosage des sucres.....	25
4.3.5. Indice de gonflement.....	27
4.3.6. Teneur en cendres.....	27
4.4. Dosage des substances bioactives.....	28
4.4.1. Mucilage.....	28
4.4.2. Flavonoïdes.....	28
4.4.3. Caroténoïdes.....	30
4.5. Activité antioxydante.....	31
4.6. Activité antimicrobienne.....	33
4.7. Profil d'acides gras par CPG (Chromatographie Phase Gazeuse).....	35

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Résultats du screening phytochimique.....	37
2. Résultats d'analyses physico-chimiques.....	38
3. Résultats du dosage des substances bioactives.....	40
4. Résultats de l'activité antioxydante.....	42

Sommaire

5. Résultats de l'activité antimicrobienne.....	43
6. Résultats du profil d'acides gras par CPG (Chromatographie Phase Gazeuse).....	46
Conclusion.....	48

Référence

Annexes

Résumé

Ce travail consiste à élaborer de formulations nutraceutiques à partir des tubercules de *Bunium incrassatum* et de la résine de pin d'alep en combinaison avec des composants naturels, dans un but de déterminer les effets thérapeutiques de ces plantes contre les infections respiratoires.

Des analyses biologiques (activité antibactérienne et antioxydante), physico-chimique et phytochimique de la poudre de *Bunium incrassatum* et les formulations ont été déterminées.

Les résultats trouvés montrent que la poudre de *Bunium incrassatum* possède les coumarines et les glucosides. De plus, elle se caractérise par un pH plus en moins acide (pH=6,3), un taux d'humidité faible, ainsi qu'elle est très faible en matière minérale et possède une quantité importante en sucres totaux, Les acides gras polyinsaturés sont présents avec des teneurs élevées, accompagnée d'autres acides mais à des quantités moyennes comme l'acide gras mono-insaturé et l'acide gras saturé.

Toutes les formulations ont des niveaux extrêmement faibles en caroténoïdes, mais leurs teneurs en flavonoïdes sont plus au moins élevées à part la formulation F5. La formulation F3 présente une activité antioxydante meilleure avec une valeur de (91,3%) en comparaison avec les autres formulations. L'analyse de l'activité antimicrobienne montre que la formulation F9 présente une meilleure zone d'inhibition de $\Phi 24 \pm 0,2$ mm contre *Bacillus cereus* ATCC14579 et la formulation F10 présente une zone d'inhibition de l'ordre de 17 ± 0.1 mm contre *Bacillus cereus* ATCC14579 et *Staphylococcus aureus* HTCC25923

Mots clés : *Bunium incrassatum*, résine de pin d'alep, activité antimicrobienne, activité antioxydante, formules nutraceutiques, infections respiratoires.

Abstract

This work involves developing nutraceutical formulations from *Bunium incrassatum* tubers and Aleppo pine resin in combination with natural components, with the aim of determining the therapeutic effects of these plants against respiratory infections.

Biological (antibacterial and antioxidant activity), physicochemical and phytochemical analyses of *Bunium incrassatum* powder and formulations were determined.

The results show that *Bunium incrassatum* powder contains coumarins and glucosides. It is also characterized by a more or less acidic pH (pH=6.3), a low moisture content, very low mineral content and a high total sugar content. Polyunsaturated fatty acids are present in high concentrations, accompanied by other acids in moderate quantities, such as monounsaturated fatty acids and saturated fatty acids.

All formulations have extremely low levels of carotenoids, but their flavonoid contents are more or less high, with the exception of formulation F5. Formulation F3 shows better antioxidant activity, with a value of (91.3%) compared with the other formulations. Analysis of antimicrobial activity shows that formulation F9 has a better inhibition zone of Φ 24 \pm 0.2 mm against *Bacillus cereus* ATCC14579, and formulation F10 has an inhibition zone of around 17 \pm 0.1 mm against *Bacillus cereus* ATCC14579 and *Staphylococcus aureus* HTCC25923.

Key words: *Bunium incrassatum*, Aleppo pine resin, antimicrobial activity, antioxidant activity, nutraceutical formulas, respiratory infections.

A photograph showing a person wearing white gloves using a pipette to add liquid to a petri dish. Inside the petri dish, there is a small green plant. The background is a blurred laboratory setting with green and white elements. The image is framed in an oval shape.

Introduction générale

Introduction générale

À l'Antiquité, l'homme a toujours dépendu de la nature pour subvenir à ses besoins fondamentaux, notamment la nourriture, les vêtements, le logement, le transport, les engrais, les senteurs et les parfums et, enfin, les médicaments (Ababsa et *al.* 2014).

Les plantes médicinales sont à la base de systèmes médicaux traditionnels complexes depuis des milliers d'années et elles sont couramment employées dans la médecine moderne dans le cadre des thérapies alternatives et considérées comme une matière première. Chacune d'entre elles possède des qualités uniques et des composants naturels qui peuvent être utilisés pour traiter toute une série d'affections.

La résistance aux médicaments s'est développée en raison de l'augmentation de la consommation de médicaments et de la prescription excessive, en particulier d'antibiotiques. A cet effet, le développement de nouvelles classes de substances naturelles puissantes non toxiques, et des médicaments est dérivé de ces plantes (El Kolli et *al.* 2017 ; Bousetla et *al.* 2015).

Selon OMS, près de 80 % de la population mondiale utilise les plantes médicinales pour répondre à leurs besoins de base en problèmes de santé (Adoui et *al.* 2022).

La situation géographique particulière de l'Algérie, sa vaste superficie, d'une gamme de climats et de sols variés, favorise le développement d'une flore extrêmement riche en plantes médicinales et aromatiques (Ababsa et *al.* 2014). , ce qui constitue un champ intrigant pour des recherches ethno-médicinales et phytochimiques (Toul et *al.* 2022). Les régions orientales et sahariennes sont connues pour leur médecine traditionnelle et la préparation artisanale de plantes riches en substances bioactives, utilisées pour leurs vertus nutritionnelles et thérapeutiques (Aiouaz et Bitam, 2022). Parmi ces plantes, on trouve *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep (*Pinus halepensis*).

Bunium incrassatum est une espèce endémique du nord de l'Algérie appartenant à la famille des *Apiacées* fréquemment mentionnée dans la pharmacopée traditionnelle algérienne. Les tubercules séchés et fragmentés en poudre sont utilisés pour le traitement de plusieurs désordres tels que la thyroïdiens, les calculs rénaux, les anthelminthiques, les hémorroïdes inflammatoires, la diarrhée, la bronchite et la toux. En outre, sont considérés comme une source alimentaire remarquable (Toul et *al.* 2022). Cette plante, est utilisée aussi dans le but d'augmenter le poids et la sécrétion laitière de quelques animaux d'élevage (Chentouh et *al.* 2018).L'étude de la phytochimie des tubercules de cette plante a montré que les coumarines,

Introduction générale

les sesquiterpènes et, surtout, l'huile essentielle (monoterpénoïdes) sont des métabolites fréquemment trouvés. En outre, il est largement connu que les huiles essentielles des extraits de certaines espèces de *Bunium* ont des propriétés antihistaminiques, antibactériennes et antifongiques en plus de leurs propriétés antioxydantes (Bousetla et *al.* 2015).

L'arbre de *Pinus halepensis* secrète une matière visqueuse appelée résine. La réponse naturelle de l'arbre aux attaques des herbivores et des microorganismes se traduit par la résine, composée de la térébenthine et de la colophane (Ghanmi et *al.* 2017). La résine est utilisée en médecine traditionnelle, comme analgésique, antibactérien et antiseptique des voies respiratoires et urinaires (Motte-Florac, 2000).

L'objectif principal de ce travail est d'élaborer des formulations nutraceutiques à base des tubercules de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep. Les propriétés physico-chimiques et biologiques (antimicrobienne et antioxydante) de ces formulations nutraceutiques ont été déterminées.

Notre travail est divisé en deux parties, une synthèse bibliographique sur *Bunium incrassatum*, la résine de pin d'alep et les maladies respiratoires. La deuxième partie est réservée au travail expérimental qui regroupe les protocoles et les différentes méthodologies mises en place, et les résultats trouvés. Les deux parties se terminent par une conclusion générale, plus des références et annexes.



Chapitre I :
Généralités sur *Bunium*
***incrassatum* et la résine**
de pin d'Alep

I.1 Introduction

Les plantes médicinales et aromatiques sont considérées comme une source précieuse de substances bioactives (Benarba et *al.* 2015) qui sont ré pondues soit dans les racines, les écorces, les feuilles, les fruits ou les graines (Dillemann, 1991). Parmi ces molécules, on trouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les lignines, les terpènes et les flavonoïdes (Karouche et *al.* 2022). Elles trouvent ses applications dans de nombreux domaines, l'alimentaire, cosmétique, dermatopharmacie, pharmacologie, fabrication de détergents, teinture et les produits de massage.

Dans nos jours, ces plantes conservent une large place du fait leur efficacité dans diverses procédures thérapeutiques (Lazli et *al.* 2019), au moins 25 % des médicaments modernes contiennent un ou plusieurs principes actifs d'origine végétale (Enyew et *al.* 2014). Ces composés constituent la matière première essentielle dans l'industrie pharmaceutique. (Karouche et *al.* 2020).

1.2. *Bunium incrassatum*

1.2.1 Famille des *Apiaceae*

La famille d'*Apiaceae* appartenant à la classe des Magnoliopsida est l'une des plus importantes familles de plantes à fleurs, avec 3780 espèces réparties en 434 genres dans le monde, principalement dans les régions tempérées du nord et en haute altitude sous les tropiques. Les caractéristiques les plus communes des espèces d'*Apiaceae* sont de nature herbacée aromatique, les feuilles altérables avec des tiges creuses, les petites fleurs et les inflorescences qui se présentent en ombelles simples ou composées. Sont fréquemment utilisés dans l'alimentation, les arômes, les parfums et la médecine ; elles sont également utilisées comme médicaments à domicile depuis l'Antiquité (Sayed-Ahmada et *al.* 2019).

1.2.2 Genre *Bunium*

Le genre *Bunium* est nommé aussi *Carum* comprend 50 espèces réparties en Europe, Afrique et l'Asie parmi eux on trouve 31 espèces non résolues et 4 espèces endémiques; aussi 7 espèces dans la flore algérienne leur nom apparaitre au début *Bunium mauritanicum* mais il s'agit d'autres appellations citées par (Quezel et Santa, 1962) tels que :

- *Bunium incrassatum*, commune dans les champs ;
- *Bunium fantanesii* ayant comme synonyme de *Bunium mauritanicum* ;

- *Bunium chaberti*, endémique à Lalla Khedidja dans le Djurdjura ;
- *Bunium elatum* très rare et endémique au Bibans ;
- *Bunium crassifolium*, très rare elle aussi et endémique à El-Kala ;
- *Bunium macua*, très rare à Zaccar et Bou Maâd ;
- *Bunium alpinum* sous les cèdres de l'Atlas tellien (Algérois, Kabylie et Aurès).

Les espèces de ce genre poussent dans les régions arides et subarides, sont des plantes aromatiques aux propriétés médicinales, leurs graines ainsi que leurs huiles essentielles sont souvent utilisées en alimentation et en médecine (Adoui et *al.* 2022).

1.2.3 Définition

Bunium incrassatum est une plante médicinale largement répandue en Algérie, appartenant à la famille des *Apiaceae*, connue sous le nom Talghouda. C'est une plante spontanée et non cultivable, joue un rôle très important dans la médecine traditionnelle et en alimentation (Adoui et *al.* 2022).

1.2.4 Description botanique

Bunium incrassatum est une plante herbacée vivace et sauvage qui pousse de 10 jusqu'à 50 cm de hauteur. Les tiges sont moins épaisses, minces, longs et robustes, de 8 à 12 rayons étalés avec des fleurs sont petites et blanches, groupées en ombelles avaient un involucre à cinq feuilles à la base, Chaque fleur est constituée d'un calice aux lobes triangulaires, aux dents bien marquées et rigides, et d'un stylopode conique aux styles persistants. Les fruits de 3 à 4 mm, sans rostre, avec des côtes primaires fines bien marqués au moins sur la face sèche, 4 à 5 fois plus longues que larges. La partie souterraine (fig.01, b) est composée d'un tubercule volumineux (2 à 5 cm), rugueux caractérisé par une couleur blanche à l'intérieur et une écorce écailleuse brun-noir à l'extérieur, elle se ressemble à la pomme de terre sauvage. Cette plante fleurit au printemps entre de mois de Mars jusqu'à Juillet (Adoui et *al.* 2022 ; Aiouaz et Bitam, 2022).

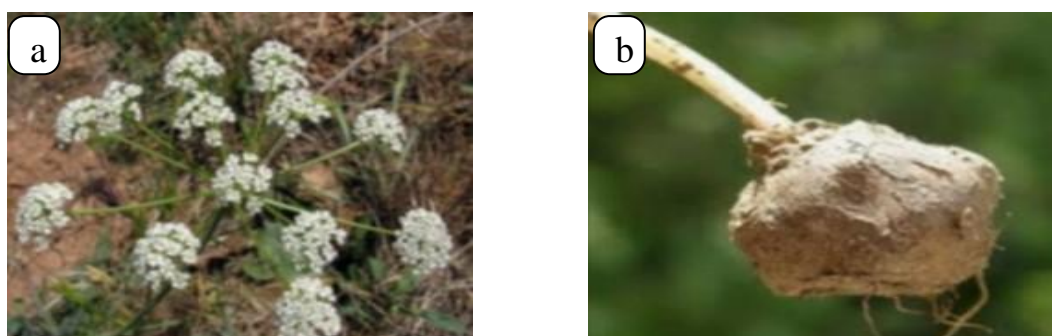


Figure 01 : Aspect de *Bunium incrassatum*, a) partie aérienne ; b) partie sous terraine (Chentouh et al. 2018).

1.2.5 Nomenclature et appellation

Nom en français: gland de terre; noix de terre

Nom en arabe: Talghouda

Nom scientifique : *Bunium incrassatum*

1.2.6 Classification

La classification de *Bunium incrassatum* est présentée dans le tableau I.

Tableau I : Classification scientifique de *Bunium incrassatum* (Quezel et Santa, 1963).

Règne	Plantae
Phylum	Tracheophyta
Division	Magnophyta
Classe	Magniliopsida
Ordre	Apiales
Famille	<i>Apiaceae</i>
Genre	<i>Bunium</i>
Espèce	<i>Bunium incrassatum</i>

1.2.7 Répartition géographique

Cette plante spontanée en Europe est actuellement largement ré pondue en Angleterre, en Italie et en Sicile, en Espagne, dans la péninsule balkanique et dans la région méditerranéenne où il est très commun. En Afrique du Nord, pousse à l'état naturel au Maroc

et on Tunisie. On peut la trouver dans l'est de l'Algérie, en particulier à Oum Elbouaghi, où il est très commun.

Les plantes de la famille *Apiaceae* poussent dans plusieurs habitats : dans les clairières et les lisières des garrigues et broussailles méditerranéennes, sur des sols calcaires, argilo-calcaires, rocailleux et très communs dans les moissons du Tell. Elles sont assez communes dans les champs rudéraux, arides et semi-arides (Adoui et *al.* 2022).

1.2.8 Utilisation

L'huile essentielle et les tubercules de *Bunium incrassatum* sont utilisés en médecine traditionnelle pour traiter les affections telles que la bronchite, la toux, les douleurs abdominales, l'angine, les calculs rénaux, les maladies thyroïdiennes, les hémorroïdes inflammatoires, les infections respiratoires et la diarrhée. Les composés antioxydants et anti-inflammatoires de cette plante sont efficaces contre les maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite, le diabète et les risques de maladies cardiovasculaires et cancéreuses (Adoui et *al.* 2022 ; Aiouaz et Bitam, 2022). Les troubles thyroïdiens sont traités avec des tubercules, seuls ou associés à d'autres composants comme le lait de chèvre, le miel ou l'huile d'olive (Toul et *al.* 2022).

En Algérie, les tubercules de cette plante sont utilisés en alimentation humaine, sont soit transformés en poudre pour préparer des galettes, consommés à l'état frais ou comme épice (Benkhalifa et *al.* 2018). Le pain consommé sans couverture de grasse peut provoquer des hypnoses et un gonflement de la langue et la gorge (Benkhalifa et Toumi, 2019).

1.3 Le pin d'Alep

1.3.1 Famille des *Pinaceae*

La famille des *Pinaceae* (*Abietaceae*) comprend 11 genres et entre 220 et 250 espèces distinctes. L'ensemble de ces espèces fait partie de l'ordre des Pinales, qui comprend également les sapins, les mélèzes, les épicéas, les cèdres et les pins. Bien que certaines espèces de *Pinaceae* poussent dans des régions plus froides et plus chaudes, la plupart d'entre elles poussent dans des zones tempérées. Cet arbre est très présent à travers le monde, on le trouve dans les forêts d'altitude de Californie et du Mexique (Site web 01).

1.3.2 Genre *Pinus*

Le *Pinus* existe depuis le Wealdien (Jurassique supérieur) et ses diverses sections ont été reconnues dès le Crétacé inférieur (Nahal, 1962). Cet arbre présente une grande valeur économique, écologique et sociale dans les pays, il est exploité dans la production de produits ligneux (résine) et le bois (Motte-Florac, 2000).

1.3.3 Définition

Le pin d'alep (*Pinus halepensis* Mill.) est une espèce autochtone la plus répandue dans le bassin méditerranéen (Khouja et al. 2020). On trouve environ 800 espèces de genre *Pinus* (Mahdhi et al. 2021). Ce type d'arbre a une durée moyenne de vie varie de 120 à 130 ans et une durée maximale de croissance de 150 ans (Nahal, 1962)

1.3.4 Description botanique

Pinus halepensis Mill, est un arbre généralement tordu, d'une hauteur moyenne de 12 à 14 m, normalement semi-décidu, bien qu'il puisse atteindre jusqu'à 22-24 m dans les meilleures situations écologiques. Sa distribution est essentiellement circum-méditerranéenne, formant des bandes proches de la côte, où elle ne dépasse généralement pas les 700-800 m d'altitude, sauf dans certaines zones d'Afrique du Nord où elle peut atteindre jusqu'à 2000 m (Torres et al. 1999).

Ces feuilles (aiguilles) (Fig.02, B) sont de couleur vert jaunâtre et mesurent environ 5 à 10 cm de long. Elles sont très fines (moins de 1 mm) et délicates, regroupées en deux et rarement en trois et en pinceau à l'extrémité des rameaux (Nahal, 1962).

Les cônes (Fig.02, D) ont une forme conique allongée et sont fortement pédonculés et réfléchis vers la base de rameaux, seuls ou par paires. Les graines (Fig.03, C) à l'intérieure des cônes sont de 40 à 50 000 kg, et l'aile allongée et presque droite des deux côtés (Nahal, 1962).

L'écorce (Fig.02, A) à la base du tronc est composée de fines écailles aplaties et presque lisse pendant assez longtemps. À l'âge adulte, elle devient gercée. L'écorce adulte est composée d'écailles minces et plates qui ne sont pas cassées (Nahal, 1962).

Le bois de cet arbre est résineux de couleur jaune pâle à marron clair et a une texture fine qui est souvent utilisé dans la construction et la fabrication du papier (Site web 02).



Figure 02 : Différentes parties de pin d'alep (*Pinus halepensis*)

A : Tige et écorce ; B : feuilles ; C : Graines ; D : Cône mûr (Khouja et *al.* 2020).

1.3.5 Nomenclature et appellation

Nom en français : Pin d'alep

Nom en arabe : Senouber (الصنوبر)

Nom scientifique : *Pinus halepensis*

1.3.6 Classification

La classification de la plante *Pinus halepensis* est donnée dans le tableau II.

Tableau II : Classification scientifique de *Pinus halepensis* (Seladji, 2014).

Règne	Plante
Embranchement	Spermaphytes (Phanérogames)
Sous-embranchement	Gymnospermes
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinale
Famille	<i>Pinaceae</i>
Sous-famille	<i>Pinoidée</i>
Genre	<i>Pinus</i>
Sous-genre	<i>Pinus</i>
Espèce	<i>Pinus halepensis</i>

1.3.7 Répartition géographique

Pinus halepensis est un arbre spontané, a une aire de répartition indigène de plus de 25 000 km² dans la région méditerranéenne, où il domine les formations forestières dans les zones semi-arides et aride. Son aire de répartition continentale s'étend de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye) et le Moyen-Orient (Syrie, Liban, Jordanie, Palestine et Turquie), jusqu'au sud de l'Europe méditerranéenne (Grèce orientale et Turquie). L'Europe méditerranéenne méridionale (Grèce orientale, Croatie, Italie du Nord, Est de la France et Est de l'Espagne) (Rigane et al. 2019).

Pinus halepensis est largement répandue dans les zones thermo- et méso-méditerranéennes, et dans une moindre mesure dans les zones supra-méditerranéennes inférieures. Les milieux semi-arides riches en matériaux provenant de dépôts néogènes-quadernaires (limons, marnes et conglomérats), à faible capacité de rétention d'eau, constituent des environnements optimaux pour le développement de cette espèce. D'autres milieux riches en substrats calcaire-domitiques d'édaphisation difficile constituent un facteur déterminant le développement de *Pinus halepensis* (Torres et al. 1999).

1.3.8 Utilisation

Dans les pratiques médicinales et pharmaceutiques traditionnelles du monde entier, le pin d'alep est fréquemment utilisé pour traiter un large éventail de maladies humaines, notamment les affections respiratoires, la toux, le rhume, les douleurs rhumatismales, les éruptions cutanées et les maux de dents (Khouja et al. 2020).

L'huile extraite des aiguilles de certaines espèces de pin rentre dans les préparations aromatiques et cosmétiques. Dans de nombreux pays arabes, le pudding sucré "Assida Zgougou" est préparé avec des graines de *Pinus halepensis*. Récemment, il a été ajouté comme ingrédient dans les glaces et les bonbons (Mahdhi et al. 2021).

1.3.9 Description de la résine de pin d'alpe

La résine de pin s'appelle aussi gemme (la résine coulant de l'arbre), est une substance visqueuse et collante qui est produite par les arbres de pin. Elle est souvent utilisée pour fabriquer des produits tels que les vernis, les encres, les adhésifs et les parfums. Cette substance est également utilisée dans les produits de soins personnels tels que les savons et les shampoings en raison de ses propriétés antiseptiques et anti inflammatoires et divers produits résineux obtenus à partir de pins sont employés dans la médecine traditionnelle locale (Motte-Florac, 2000).

Cette résine est contenue soit dans le bois tout entier bourré de canaux résinifères (pins) soit seulement dans l'écorce et dans les branches (sapins). Elle se sépare avec le temps en deux couches superposées, dont l'une est transparente et semi-fluide, tandis que l'autre est d'aspect cristallin. C'est à la couche semi-fluide que s'applique le nom de « résine fluide» (Jacques, 1964).

1.3.9.1 Méthodes de récolte

Généralement, la résine est récupérée des pins les plus âgés et les plus volumineux selon deux méthodes du gemmage (traditionnel et moderne) durant une période s'étalant du début de mars à la fin octobre (Serge, 1960).

Le gemmage traditionnel consiste à enlever l'écorce de l'arbre à l'aide d'un outil spécial appelé hapchot pour libérer la résine, qui est ensuite recueillie dans de minuscules pots. Le traitement de la plaie s'effectue par l'acide sulfurique afin d'empêcher la cicatrisation,

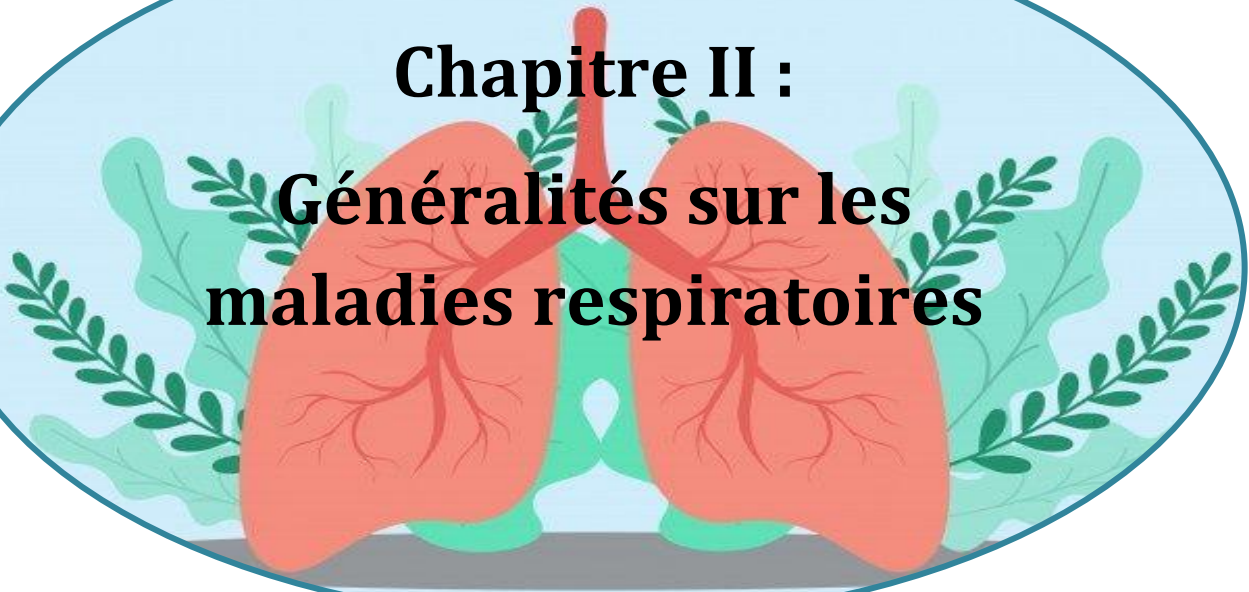
stimuler la production de résine et d'augmenter la durée de l'écoulement limitée à quelques jours en condition naturelle.

Le gemmage moderne consiste à utiliser une perceuse munie d'une scie cloche pour couper l'écorce et atteindre le bois. Une pâte biologique à base d'acide organique naturel est appliquée sur la plaie, afin de récupérer la gemme dans un récipient en plastique qui est fixé au niveau de l'entaille (Cabaret, 2018).

1.3.9.2 Traitement de gemme

La gemme récupérée est composée de deux composants la colophane et l'essence de térébenthine. La séparation des deux composés nécessite un prétraitement suivi d'une distillation. Le prétraitement consiste à fondre et à purifier la gemme à l'aide d'un appareil approprié. Cette étape de traitement a pour but d'éliminer les impuretés organiques solides telles que les aiguilles et l'écorce ainsi que les impuretés minérales telles que le sable et la poussière (Ghanmi et al. 2007). Le filtrat fondu obtenu va subir une hydro-distillation dans un appareil de type Clevenger jusqu'à l'épuisement total de l'essence de térébenthine. À la fin de l'opération, l'essence de térébenthine se sépare de la colophane qui reste comme résidu de la distillation (Ghanmi et al. 2007).

Chapitre II :
Généralités sur les
maladies respiratoires



1 Généralités

Les infections respiratoires sont des pathologies très fréquentes affectent les adultes et les enfants, selon leur localisation dans l'arbre respiratoire, sont également très graves et causent d'énormes problèmes pour la santé humaine (Dorin, 2018). À l'échelle mondiale, 30 à 40% des cas ont entraîné l'hospitalisation d'enfants alors que le nombre de décès est élevé, atteignant environ de 2.000.000 par ans (Sanogo, 2010). Ces infections se déclinent en infection haute qui est localisée au niveau des voies respiratoires supérieures entre la cavité nasale et la trachée ; aussi en infection basse se concentre au niveau des voies respiratoires inférieures qui concernent l'arbre bronchique. Ils sont causés par des agents pathogènes différents tels les bactéries, les virus, les parasites et les champignons (Dorin, 2018).

2 Anatomie des voies respiratoires

2.1 Voies respiratoires supérieures

Les voies aériennes supérieures (Fig.03) regroupent le nez, les fosses nasales, le pharynx et le larynx. L'air passe par le pharynx puis le larynx après atteindre aux trachées (Bessaguet et Desmoulière, 2021).

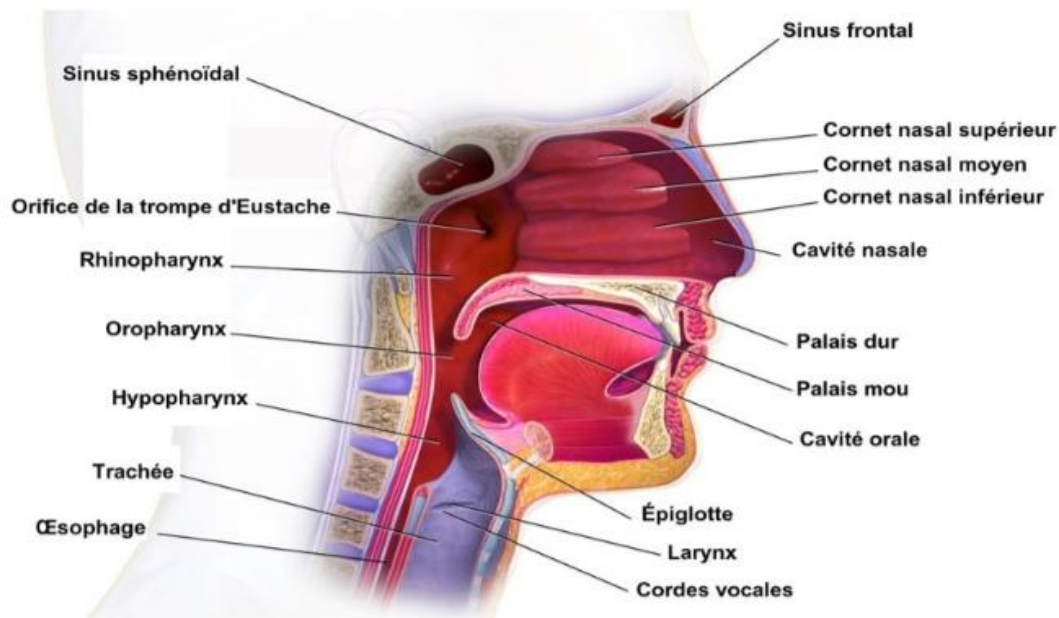


Figure 03 : Voies aériennes supérieures (Blausen, 2014).

2.2 Voies respiratoires inférieures

Les voies aériennes inférieures forment le système bronchique grâce à de très nombreuses ramifications (les bronches lobaires, bronches segmentaires, bronches sub-segmentaires, bronchioles, bronchioles terminales et les bronchioles respiratoires qui regroupent les canaux alvéolaires et les alvéoles pulmonaires).

3 Types des infections respiratoires

3.1 Infections respiratoires hautes

3.1.1 Angine

L'angine est une infection respiratoire aiguë au niveau de la gorge touche les amygdales et le pharynx. Elle est d'origine virale sa fréquence varie entre 60 à 90%. Les virus les plus fréquents, on trouve adénovirus, influenza, syncytial, para-influenza. Par contre, l'infection bactérienne est due aux Streptocoques du Groupe A représente que 25 à 40% chez les enfants et 10 à 25% chez les adultes. L'infection causée par les Streptocoques bêta hémolytique C et G est plus rare. Cette inflammation génère plusieurs symptômes, qui sont variables en fonction de l'agent étiologique et de l'âge du patient tel que la fièvre, les maux de tête, la faiblesse, les douleurs abdominales, l'éruption, la toux, une gêne douloureuse à la déglutition, et des modifications de l'aspect de l'oropharynx. Dans le cas d'origine virale il existe d'autres symptômes comme l'absence de fièvre, de la toux, d'un enrouement, d'une diarrhée et la présence des vésicules et d'une stomatite (Dumarcet, 2005).

L'angine nécessite toujours une consultation médicale, car elle peut se révéler à des stades plus graves, qui mène à une détérioration de la santé de l'individu et leur prévention passe par un traitement d'antibiotiques tel que Pénicilline, Amoxicilline,...etc qui sont considérés comme agents antibactériens et bactéricides (Marchina, 1994).

3.1.2 Rhinopharyngite aiguë

La rhinopharyngite est une inflammation du pharynx et des voies nasales, elle touche les enfants de moins de 6 ans. De nombreux virus peuvent provoquer ces infections, il existe plus de 200 virus parmi eux : rhinovirus, coronavirus, syncytial, influenza et para-influenza, adénovirus, entérovirus,...etc. Cependant, ces infections peuvent être provoquées par certaines bactéries comme *S.pneumoniae*, *Hémophiles influenza*, *Branhamella catarrhalis*,

Staphylococcus. La rhinopharyngite est plus fréquente pendant la saison froide (Demoré et Charmillon, 2018).

Les principaux symptômes de la rhinopharyngite sont, éternuement-obstruction nasale, fièvre, toux. Ces signes ne sont pas constants et pouvant associer à d'autres signes respiratoires ou extra-respiratoires (Marchina, 1994).

3.1.3 Sinusite aiguë

La sinusite est une inflammation des cavités sinusiennes causée par un agent viral ou bactérien. Elle est plus fréquente chez les enfants et se manifeste bien de façon aiguë.

Les sinusites se produisent par les voies nasales lorsqu'un rhume s'accompagne des douleurs faciales et elle s'appelle sinusite éthmoïdale, leur localisation plus rare.

La sinusite maxillaire, plus fréquente, est se localise dans une dent infectée et se manifeste également par les voies dentaires (Marchina, 1994).

3.1.4 Laryngites

Laryngite c'est une inflammation qui touche le larynx, survient souvent à la suite d'un refroidissement, qui inflamme les régions glottiques et sous-glottiques et apparait la dysphonie comme premier symptôme après elle associait la fatigue, l'écoulement de nez, une sécheresse locale, une toux sèche (Buiret et *al.* 2015 ; Marchina, 1994).

Étiologie la plus fréquente est les virus, ainsi que les bactéries chez les enfants tels que *Haemophilus influenza*, *Pneumocoques*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*,...etc (Buiret et *al.* 2015).

3.2 Infections respiratoires basses

3.2.1 Bronchite aiguë

Une bronchite aiguë est une inflammation de l'arbre trachéo-bronchique secondaire. Elle est d'origine virale infectée par adénovirus, rhinovirus, coronavirus, etc. Certaines bactéries sont responsables de cette inflammation aussi elle est très rare comme *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* et *Bordetella pertussis*. Les symptômes de cette inflammation se traduisent par une toux sèche au début, parfois prolongée, des douleurs en

arrière du sternum à type de brûlures, une expectoration muqueuse et une fièvre inconstante (38-39°C) (Demoré et Charmillon, 2018).

3.2.2 Broncho-pneumopathie chronique obstructive

La broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une maladie chronique, progressive et irréversible. Les pathogènes en cause peuvent être des bactéries (*Haemophilus influenza*, *Streptococcus pneumoniae*, *Branhamella catarrhalis*), du tabac. Elle associe la toux, les expectorations et encore dyspnée (Dorin, 2018).

3.2.3 Pneumonie aiguë communautaire de l'adulte

La pneumonie est définie comme une infection du parenchyme pulmonaire d'évolution aiguë. Elle est plus grave et représente moins de 5% des infections respiratoires basses aiguës. Acquise avant la 48^{ème} heure de survie dans le milieu hospitalier et causée par plusieurs germes pathogènes le plus fréquent *Streptococcus pneumoniae*, environ de 30 à 47% des infections sont causées par ce germe qui est responsable de décès précoce. On peut trouver d'autres bactéries avec fréquence très faible comme *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* et *Legionella pneumophila* (Demoré et Charmillon, 2018). Quelques signes associés à cette infection : toux, dyspnée, expectoration, douleurs thoraciques, fièvre, frisson, ...etc (Dorin, 2018).

4 Etiologie

Une maladie infectieuse est véhiculée par plusieurs infections très fréquentes, s'intégrant dans trois grandes entités : bactérienne, virale et fongique (Marchina, 1994).

4.1. Parasites et champignons

Sont des agents opportunistes causant des infections généralisées chez les patients immunodéprimés ; peuvent provoquer des infections en cas de présence des contaminations de l'environnement par des germes aéroportés comme *Aspergillus spp*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* qui sont présentes dans les poussières et le sol et également très répandus dans le milieu hospitalier (Saidoun, 2021).

4.2 Virus

Les viroses sont des maladies provoquées par de virus regroupant les infections respiratoires (hautes et basses), qui sont responsables de 15 à 40% d'étiologie infectieuse.

Les infections respiratoires diffèrent selon la localisation anatomique de l'infection, l'âge et la période de l'année et les plus souvent incluent sont : les Orthomyxoviridae (virus influenza A et B), les Paramyxoviridae (virus respiratoire syncytial, virus para-influenza de type 1, 2 ou 3), les adénovirus, les rhinovirus, les coronavirus,...etc (Dorin, 2018 ; Pediatr, 2007).

4.3 Bactéries

4.3.1 Bactéries à Gram positif

a. *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae c'est un important agent pathogène chez l'homme, est une bactérie commensale des voies respiratoires supérieures, souvent est responsable de nombreuses infections (otites moyennes aiguës, méningites, sinusites et septicémie). Il est considéré comme agent mortel et contribue au développement de la résistance contre antibiotiques (Traore, 2008).

b. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie Gram positive en forme cocci, peut se développer de manière aérobie ou anaérobie facultative et des températures comprises de 18 à 40°C. Se trouve dans l'environnement et également dans la flore humaine normale.

Cette bactérie est considérée comme un agent pathogène responsable de plusieurs infections qui sont courantes dans les milieux communautaires et hospitaliers. Parmi ces infections on trouve l'endocardite infectieuse, les infections de la peau et les infections pulmonaires (pneumonie et empyème) (Taylor et Unakal, 2022).

c. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est une bactérie à Gram positif, aérobie ou anaérobie facultative, mobile, sporulée, en forme de bâtonnet, largement répandue dans l'environnement.

Bacillus cereus est un agent pathogène chez l'humain, est principalement associé à des intoxications alimentaires. Ce germe peut provoquer des maladies gastro-intestinales très graves et mortelles. Elle provoque d'autres infections telles que la méningite, l'endophtalmie, la pneumonie et les infections cutanées (Bottone, 2010).

4.3.2 Bactéries Gram négative

a. *Haemophilus influenzae*

Haemophilus influenzae est un bacille à Gram négative, aéro-anaérobie facultative, appartient à la famille des *Pasteurellaceae*, immobile non sporulé et parfois capsulé.

Cette espèce c'est un parasite obligatoire qui fait partie de la flore normale des voies respiratoires supérieures et de la cavité buccale de l'Homme. Mais dans certains cas considéré comme un agent pathogène et causés des infections graves au niveau des voies aériennes au-dessus du larynx et pouvant être mortelles telles que la bactériémie, la pneumonie, l'épiglottite, la grippe (Tiecoura, 2011).

b. *Entérobactéries*

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif présents au sein de la flore intestinale normale des hommes et des animaux. Parmi les espèces bactériennes appartenant à cette famille des *Enterobacteriaceae*, on identifie des pathogènes humains responsables d'infections variées : infections urinaires (cystites, pyélonéphrites), septicémies, pneumonies, infections hépato-digestives (péritonites, cholangites), méningites (Dortet et al. 2013).

c. *Pseudomonas*

Les bacilles *Pseudomonas*, qui sont des bactéries Gram-négatives, sont des occupants fréquents du sol, de l'eau douce et des environnements marins. *P.aeruginosa* est un pathogène opportuniste qui provoque des infections chez l'homme (Michel-Briand et al. 2022).

Lorsqu'un individu a un système immunitaire endommagé ou est particulièrement vulnérable, *P.aeruginosa* provoque des maladies graves. C'est *P.aeruginosa* qui est à l'origine des infections nosocomiales. Elle est liée à un large éventail de maladies, notamment les infections pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose, la kératite, la pneumonie contractée sous ventilation mécanique et les infections des voies urinaires (Youenn, 2019).



Chapitre II :
Matériel et méthodes

1. Cadre de l'étude

La partie pratique de cette étude a été réalisée au sein de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou au niveau des laboratoires pédagogiques communs I et II d'analyses physico-chimiques de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, aussi au niveau du laboratoire microbiologique du Centre Hospitalier Universitaire NEDIR Mohamed (CHU). La durée de réalisation de cette partie s'étale du 19 Mars 2023 jusqu'au 10 Juillet 2023.

2. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de cette étude est de mettre en évidence des formulations nutraceutiques à base des racines de la plante *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'Alep.

Certaines propriétés physico-chimiques, biologiques (activité antioxydante et antimicrobienne) ont été déterminées.

3. Matériel et méthodes

3.1 Matériel végétale

Les tubercules de la plante *Bunium incrassatum*, connus sous le nom « Talghouda » ou « noix de terre », ont été utilisés dans cette étude (Fig.04, A). Ces racines sont achetées chez un herboriste de la ville Bordj-menaiel le mois de février 2023. Le broyage de ces racines a été réalisé en utilisant un broyeur électrique. La poudre obtenue (Fig.04, B) a été tamisée à l'aide d'un tamis puis conservée dans un flacon en verre jusqu'à leur utilisation.

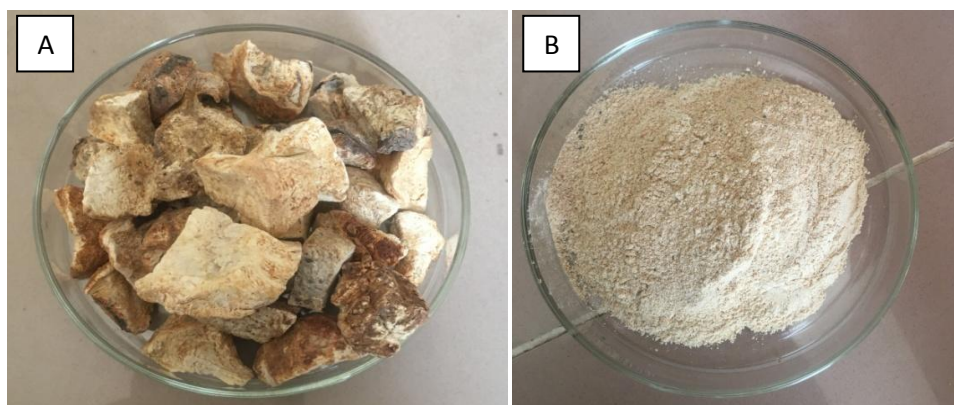


Figure 04 : Poudre et tubercules de *Bunium incrassatum* coupés en morceaux.

La résine de pin d'alep connue sous le nom de « Aselghagh » aussi achetée chez un herboriste de la région de Fréha de la ville de Tizi-Ouzou. Les petites pierres de cette résine (Fig.05, A) ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue (Fig.05, B) a été tamisée à l'aide d'un tamis puis conservée dans un flocon en verre jusqu'à leur utilisation.



Figure 05: Poudre et pierres de la résine de pin d'alep

3.2 Matériel biologique

L'activité antibactérienne des extraits préparés à base de *Bunium incrassatum* et des formulations nutraceutiques élaborées a été effectuée sur quatre souches bactériennes de référence, fournies par le laboratoire de microbiologie du centre hospitalier universitaire Nedir Mohamed « Tizi-Ouzou » (Tableau III).

Tableau III : Souches bactériennes utilisées.

Souche	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	D'un malade
<i>Staphylococcus aureus</i>	MU 50
<i>Staphylococcus aureus</i>	HTCC 25923
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14579

3.3 Appareillages

Pour les différentes expériences, nous avons utilisé un ensemble de matériel formé de verreries, réactifs, produits chimiques et appareillages sont présentés dans l'annexe 01.

4. Méthodes

4.1 Elaboration des formulations nutraceutiques

6 formulations nutraceutiques ont été élaborées à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep. Ces formulations ont été conservées un mois à température ambiante et à l'obscurité, sauf les matrices à base du lait ont été préparées et analysées fraîchement.

Les différentes formulations nutraceutiques élaborées sont :

F1 : Extrait aqueux de poudre de racines de *Bunium incrassatum* ; **F2** : Lait à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* ; **F3** : Miel à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* ; **F4** : Extrait aqueux de poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F5** : Lait à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F6** : Miel à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep.

4.2 Screening phytochimique

Le but de cette analyse est de caractériser les substances naturelles et la composition des extraits de *Bunium incrassatum* et identifier leurs molécules actives.

A fin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux familles chimiques des métabolites secondaires, nous avons réalisé des tests phytochimiques spécifiques fondés sur des réactions de coloration et de turbidité (Haddouchi et al. 2016). Nous avons suivi les méthodes standards de screening phytochimique (Dahou et al. 2003 ; Kumar et al. 2010)

4.2.1 Préparation de l'infusion de *Bunium incrassatum*

- Dans un bécher, contient 100ml d'eau distillée additionner 20g de poudre de *Bunium incrassatum*;
- Chauffer le mélange jusqu'à ébullition, puis filtrer après refroidissement ;
- Verser le filtrat dans une fiole et ajuster avec de l'eau distillée jusqu'à 100ml.

L'infusion obtenue est utilisée pour la recherche de quelques composés chimiques.

4.2.2 Anthocyanes

Prélever 5ml de l'infusion par une pipette puis les introduire dans un bécher et ajouter quelques gouttes d'HCl concentré. Une réaction positive est traduite par l'apparition d'une couleur rouge qui indique la présence d'anthocyanes.

4.2.3 Tannins

Dans un bécher, on ajoute quelques gouttes de FeCl_3 (5 %) à 5ml de l'infusion et on laisse le mélange réagir. La présence des tannins révèle une coloration bleu-noir de la solution.

4.2.4 Tannins galliques

5ml du filtrat sont saturés par l'acétate de sodium (CH_3COONa), puis on additionne quelques gouttes de FeCl_3 . Lorsque la couleur bleue foncée se manifeste la réaction est dite positive.

4.2.5 Flavonoïdes

Dans un bécher, additionner à 5ml du filtrat une pincée de magnésium et 1ml d'alcool 2-butanol, puis laisser réagir quelques secondes. L'apparition d'une couleur rouge orange désigne la présence des flavonoïdes.

4.2.6 Saponosides

Dans deux tubes à essai introduire, dans le 1^{er} tube 5ml de NaOH et dans le 2^{eme} tube 5ml d'HCl puis ajouter dans chacun trois gouttes du filtrat. Pour dire qu'une réaction est positive, nécessite d'avoir une mousse persistante. Le volume de la mousse indique le type de saponines :

Le même volume de mousse dans les 2 tubes indique la présence des saponines stéroïdiennes.

Différents volumes de mousse dans les 2 tubes indiquent la présence des saponines triterpéniques.

4.2.7 Quinones combinées

Dans un ballon en verre mélanger 2g de la poudre de *Bunium incrassatum* avec 5ml d' H_2SO_4 puis chauffer pendant 1h dans un chauffe ballon. Après un refroidissement, 20ml de

chloroforme ont été additionnés au mélange. Evaporer le mélange sur une plaque chauffante puis ajouter une petite quantité de l'ammoniaque. L'apparition de la couleur rouge indique la présence des quinones combinées.

4.2.8 Quinones libres

Additionner à 2g de poudre de *Bunium incrassatum*, 2ml d'HCl (1N) et 20ml de chloroforme, puis laisser reposer 3h. Par la suite, réaliser une filtration à l'aide du papier filtre. Additionner au filtrat obtenu 5ml d'ammoniaque (1/2V : V). L'apparition d'une couleur violette prouve la réaction positive.

4.2.9 Glucosides

Quelques gouttes d'H₂SO₄ ont été ajoutées à 2g de poudre de *Bunium incrassatum*. L'apparition d'une couleur rouge brique qui se transforme directement en violet indique la présence des glucosides.

4.2.10 Coumarines

10ml d'éthanol et 10ml d'eau distillée sont ajoutés à 2g de poudre *Bunium incrassatum*, Le mélange a été chauffé pendant 15min, après on réalise un refroidissement suivi d'une filtration.

10 gouttes de KOH (10%) et quelques gouttes d'HCl (10%) ont été ajoutées à 5ml du filtrat, puis laisser réagir. La formation d'un trouble indique la présence des coumarines dans la plante.

4.3 Analyses physico-chimiques

4.3.1 Acidité titrable

- **Principe**

Un titrage de la poudre *Bunium incrassatum* et les formulations élaborées par la solution d' NaOH (0,1N) en présence de phénolphthaléine comme un indice de couleur (NF V 05-101, 1974).

- **Mode opératoire**

-Dans une fiole conique de 100ml, mélanger 10g de l'échantillon et 70ml d'eau distillée bouillie et refroidie ;

-Homogénéiser le mélange et chauffer au bain-marie pendant 30min ;

-Laisser refroidir, compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée, bien mélanger et filtrer ;

-Dans un bécher, introduire 10ml de filtrat puis ajouter 10ml d'eau distillée et 3 gouttes de phénolphthaléine ;

-Titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1 N) jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistant pendant 30 secondes.

- **Expression des résultats**

L'acidité titrable est calculée par la formule suivante :

$$A(\%) = \frac{175 \times V1}{V0 \times M}$$

Soit :

A(%) : Pourcentage d'acidité.

M : Masse, en grammes du produit prélevé.

V0 : Volume en ml de la pris d'essai.

V1 : Volume en ml de la solution NaOH (0,1 N) dépensé.

4.3.2 Mesure du pH

- **Principe**

La mesure du pH de la poudre *Bunium incrassatum*, ainsi que les formulations élaborées a été réalisée à l'aide d'un pH mètre, selon la méthode potentiométrique (NF V 05-108, 1997).

- **Mode opératoire**

-Peser 1g de l'échantillon, mélangé avec 25ml d'eau distillée chaude ;

-Laisser refroidir ;

-Étalonner le pH mètre par une solution tampon ;

-Prélever un volume (V) suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode ;

-Noter ensuite la valeur du pH (effectuer 3 essais).

- Rincer l'électrode avec l'eau distillée avant et après chaque mesure puis sécher à l'aide du papier absorbant.

4.3.3 Détermination de l'humidité

- **Principe**

La poudre de *Bunium incrassatum* et les formulations préparées ont été séchées dans une étuve à $105 \pm 3^\circ\text{C}$, jusqu'à avoir un poids constant.

- **Mode opératoire**

-Peser trois capsules en aluminium vides pour chaque échantillon, puis tarer la balance ;

-Dans chaque capsule mesurer 5g de chaque échantillon, puis placer dans l'étuve à $105 \pm 3^\circ\text{C}$;

-Retirer les capsules de l'étuve chaque 30min, et les placer dans un dessiccateur jusqu'à leur refroidissement ;

-Répéter l'opération jusqu'à avoir un poids constant.

- **Expression des résultats**

L'humidité est calculée par la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{M1 - M2}{P} \times 100$$

Soit :

H(%) : Pourcentage de l'humidité.

M1 : Masse de la capsule vide + matière fraîche avant le séchage en g.

M2 : Masse de la capsule vide + matière après séchage en g.

P : Masse de la prise d'essai en g.

$$\text{Matière sèche} = 100 - H\%$$

4.3.4 Dosage des sucres

Trois catégories de sucres ont été mises en évidence, à savoir : les sucres totaux, les sucres réducteurs et le saccharose.

Avant de réaliser les dosages, les solutions de Fehling A et B et les solutions du filtrat 1 et 2 ont été préparées comme suit :

- **Fehling A**

Mélanger dans 100ml d'eau distillée, 4g de sulfate de cuivre et 0.2ml d'acide sulfurique pur.

- **Fehling B**

Additionné à 100ml d'eau distillée, 20g de tartrate de sodium et de potassium avec 15g d'hydroxyde de sodium.

- **Filtrat 1**

-Dans un bécher de 100ml, peser 10g de poudre de *Bunium incrassatum*, puis ajouter 2.5ml d'acétate de plomb ;

-Remplir le bécher jusqu'au 2/3 de son volume avec de l'eau distillée ;

-Agiter le mélange à plusieurs reprises et laisser reposer pendant 15 min ;

-Ajuster jusqu'à 100ml avec l'eau distillée ;

- Homogénéiser puis filtrer sur papier filtre et récupérer le filtrat.

- **Filtrat 2**

-Prélever 50ml de filtrat 1 et ajoutée 5ml d'HCl concentré ;

-Chauffer au bain marie à 70°C pendant 5 min ;

-Neutraliser avec NaOH (10N) en présence de phénolphaléine à 1%, jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

4.3.4.1 Dosage des sucres totaux

- **Mode opératoire**

-Prélever 5ml de Fehling A et 5ml de Fehling B et les introduire dans un bécher conique;

-Ajuster jusqu'à 100 ml d'eau distillée, puis chauffer jusqu'à l'ébullition durant 2 min ;

-Titrer le contenu par le filtrat (2) jusqu'à la disparition de la couleur bleue ;

-Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène et continuer le titrage jusqu'à la manifestation d'une couleur marron cuivré ;

-Arrêter le titrage et noter le volume du filtrat (2) dépensé.

- **Expression des résultats**

Pour calculer la quantité des sucres totaux nous avons utilisé l'équation suivante :

$$ST = \frac{500}{V(V2 - 0.05)} \times 10$$

Soit :

ST : Quantité des sucres totaux (g/l).

V : Volume de l'extrait de poudre *Bunium incrassatum* (ml).

V2 : Volume du filtrat (2) dépensé (ml).

4.3.4.2 Dosage des sucres réducteurs

- **Mode opératoire**

-Prélever 5ml de Fehling A et 5ml de Fehling B et les introduire dans un bécher conique ;

-Ajuster jusqu'à 100ml d'eau distillée, puis chauffer jusqu'à l'ébullition durant 2min ;

-Titrer le contenu par le filtrat (1) jusqu'à la disparition de la couleur bleue ;

-Ajouter 2 gouttes de bleue de méthylène et continuer le titrage jusqu'à la manifestation d'une couleur rouge brique,

-Arrêter le titrage et noter le volume de filtrat (1) dépensé.

- **Expression des résultats**

Pour calculer la quantité des sucres réducteurs, l'équation suivante est utilisée

$$SR = \frac{240}{V(V1 - 0.05)}$$

Soit :

ST : Quantité des sucres réducteurs (g/l).

V : Volume de l'extrait de la poudre de *Bunium incrassatum* (ml).

V1 : Volume du filtrat (1) dépensé (ml).

4.3.5 Indice de gonflement

L'indice de gonflement est mesuré par la moyenne des volumes d'eau occupé par la poudre des 3 essais, selon l'équation suivante :

$$IG = \frac{(V1 + V2 + V3)}{3}$$

4.3.6 Teneur en cendres

- **Principe**

La teneur en cendres est déterminée par la calcination de la matière organique qui se transforme en résidus de matière minérale (cendres blanchâtres) au moyen d'un four à moufle à $550 \pm 15^\circ\text{C}$ (NF V 05-113,1972).

- **Expression des résultats**

L'équation suivante détermine la quantité de la matière organique :

$$MO (\%) = \frac{M1 - M2}{P} \times 100$$

Soit :

MO : Matière organique en (g).

M1 : Masse de creuset + la prise d'essai en (g).

M2 : Masse de creuset après incinération en (g).

P : Masse de la prise d'essai (g).

Le taux de cendres est calculé par l'équation suivante :

$$Tc (\%) = 100 - MO(\%)$$

4.4 Dosage des substances bioactives

4.4.1 Mucilage

Le rendement en mucilages obtenus après évaporation est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement \%} = \frac{Mm}{Mv} \times 100$$

Soit :

Mm : Masse des mucilages obtenus en gramme.

Mv : Masse initiale de la poudre *Bunium incrassatum* en gramme.

4.4.2 Flavonoïdes

- **Principe**

La teneur en flavonoïdes des extraits préparés à base de *Bunium incrassatum*, la résine de pin d'alep et les formulations élaborées a été déterminée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium proposée par Djeridane et *al.* (2006).

- **Mode opératoire**

Avant d'entamer le dosage des flavonoïdes, les matrices élaborées ont été diluées sauf la matrice préparée à base de l'eau (Tableau IV), puis une filtration a été réalisée.

Tableau IV: Dilutions des différentes formes nutraceutiques

Matrices	Quantité de matrices	Dilution dans l'eau distillée	
F2	1 ml	20 ml	
F5			
F3			
F6	1 g		

Après l'obtention des filtrats à base des plante (*Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep), préparer ces solution dans chacune effectué 3 essais (figure 07).

Incubation des solutions à l'obscurité pendant 10 min, puis mesurer leur absorbance à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

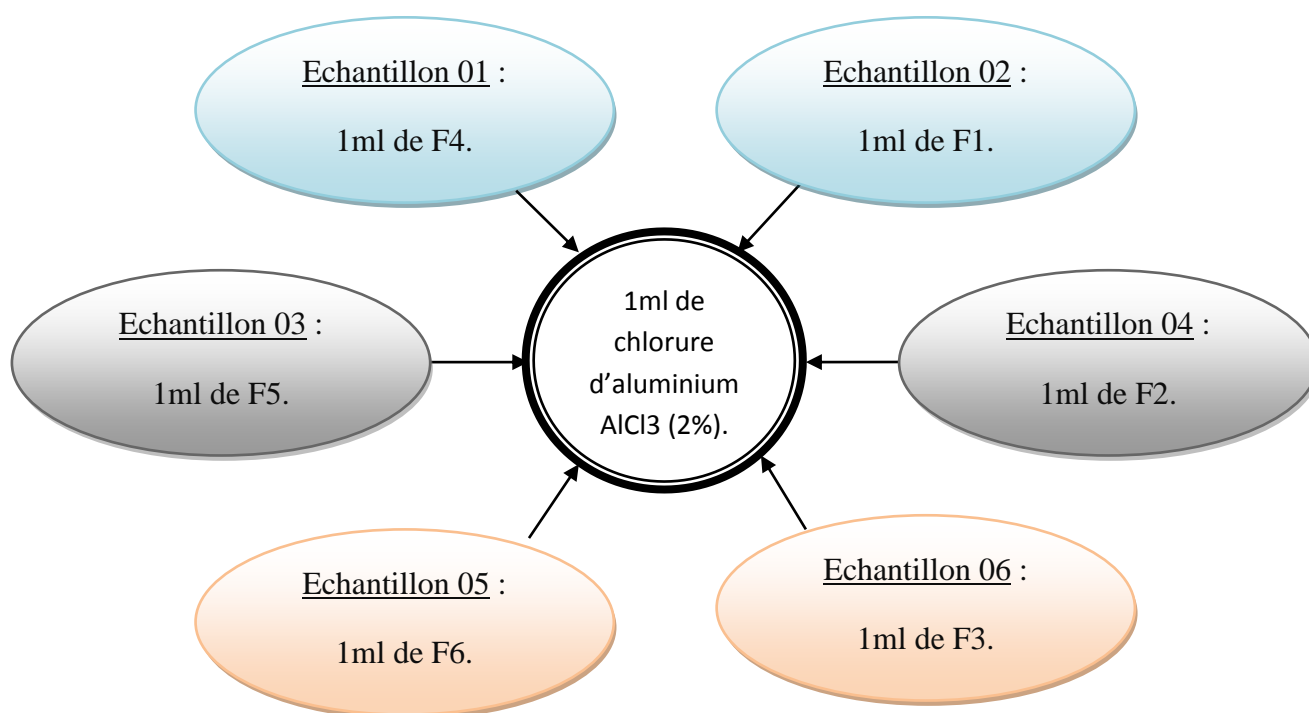


Figure 06 : Solutions préparées pour le dosage des flavonoïdes.

- **Courbe d'étalonnage**

La quantification des flavonoïdes se fait au moyen d'une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant la Quercétine comme un flavonoïde standard (Annexe 2).

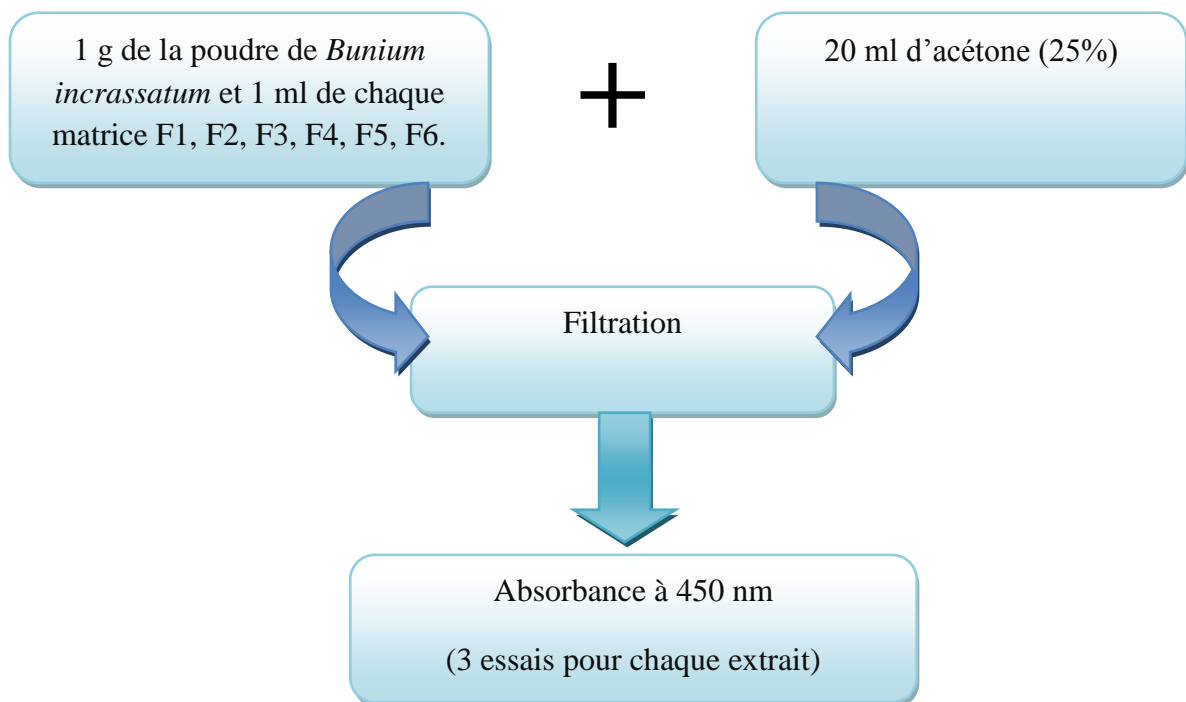
- **Expression des résultats**

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de Quercétine par un gramme de chaque échantillon macéré.

4.4.3 Caroténoïdes

- **Mode opératoire**

La préparation des solutions est résumée dans le schéma suivant :



- **Courbe d'étalonnage**

La courbe d'étalonnage pour la quantification des caroténoïdes est faite par des dilutions de la solution mère qui contient la bêta-carotène.

- **Expression des résultats**

La teneur en caroténoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de bêta-carotène par un gramme de chaque échantillon.

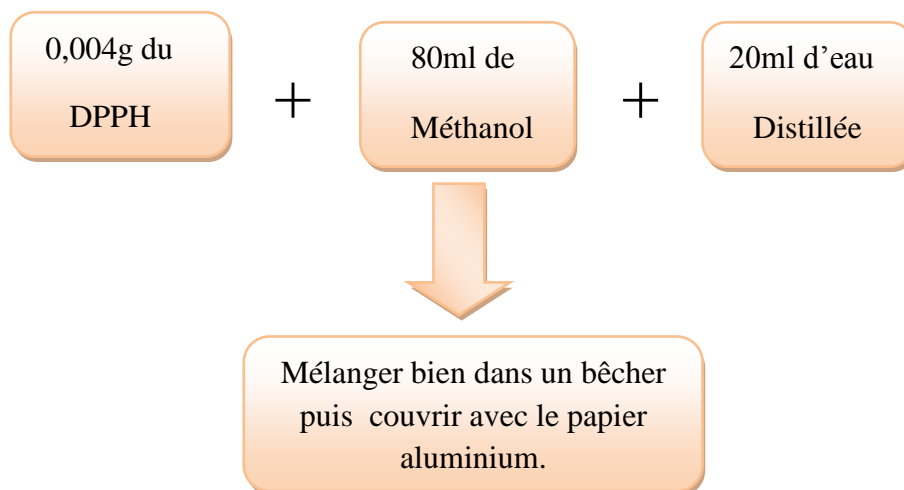
4.5 Activité antioxydante

- **Principe**

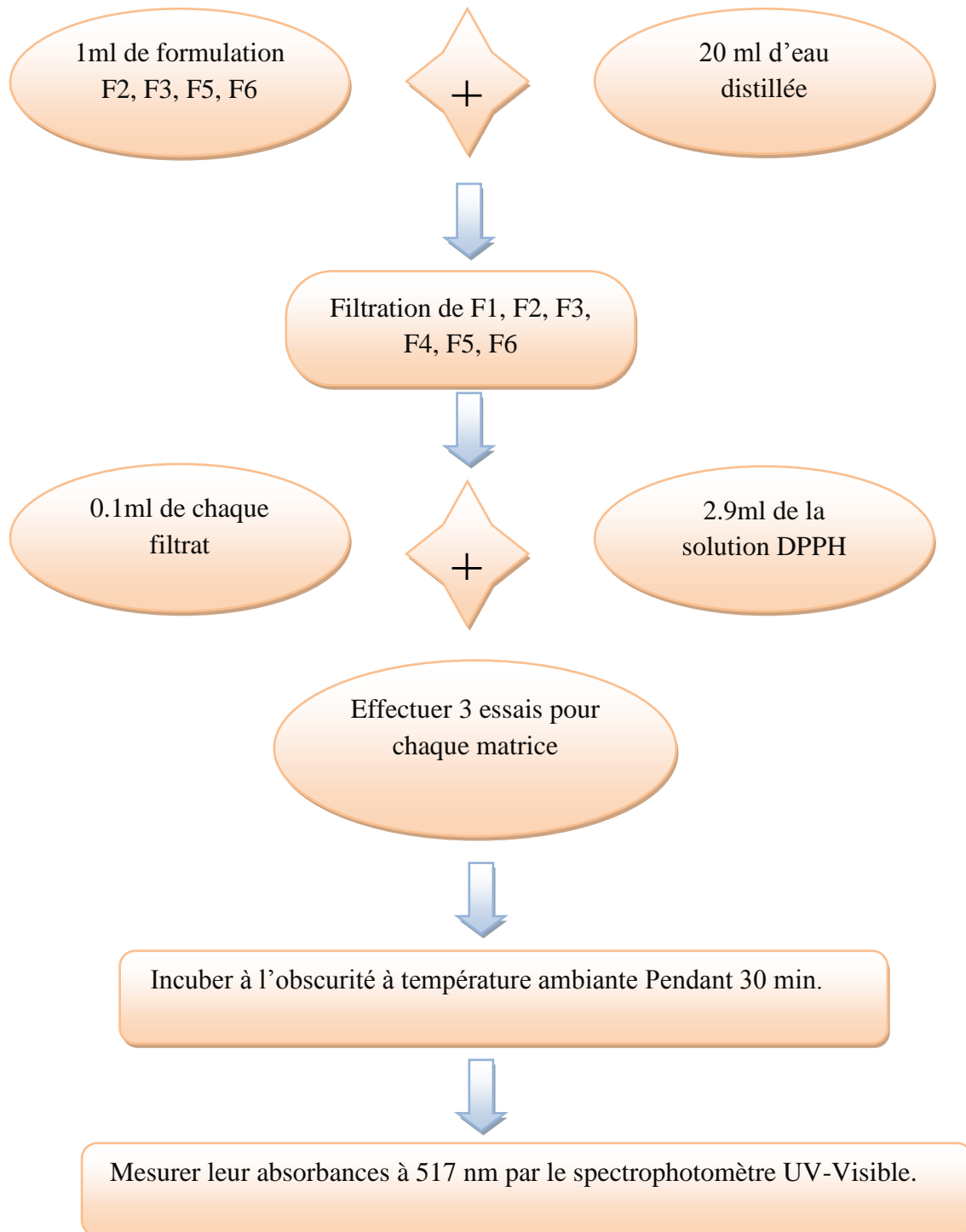
Le test de l'activité anti-oxydante consiste à mettre le radical libre DPPH de couleur violette en présence des molécules dites « antioxydantes » qui sont capables de transférer des atomes hydrogène et entraîne une décoloration de la solution (Haddouchi et *al.* 2016)

- **Préparation de la solution DPPH**

Les étapes suivies pour la préparation de la solution DPPH sont résumées dans le schéma suivant :



- **Mode opératoire**



- **Expression des résultats**

Les résultats de l'activité antioxydante sont exprimés en pourcentage d'inhibition de DPPH et calculés par l'équation suivante :

$$PI = 100 \times \frac{(A0 - A1)}{A0}$$

Soit :

PI : Pourcentage d'inhibition.

A0 : Absorbance de la solution du DPPH.

A1 : Absorbance de l'échantillon.

4.6 Activité antimicrobienne

- **Principe**

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de la racine de la plante *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'Alep, a été effectuée par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé (Mueller Hinton) qui est préalablementensemencé par les bactéries suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* MU50, *Staphylococcus aureus* HTCC25923, *Bacillus cereus* ATCC14579. Les zones d'inhibition apparaitront après l'incubation, désignent la sensibilité de la souche bactérienne contre les extraits des plantes et les antibiotiques.

Mode opératoire

- **Préparation et stérilisation des disques de papier Wattman**

Couper les disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre à l'aide d'un appareil, ensuite introduire ces disques dans un tube à essai et stériliser dans l'autoclave à 121°C, puis conserver jusqu'à leur utilisation.

- **Préparation de la pré-culture**

Les souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* MU50, *Staphylococcus aureus* HTCC25923, *Bacillus cereus* ATCC14579 ont étéensemencées dans des tubes contenant le bouillon BHIB et incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24h.

Après incubation, ces souches ont été repiquées dans un milieu nutritif et dans le milieu Muller Hinton par la méthode des stries, puis incubées à 37°C pendant 24h dans le but de vérifier leur pureté.

- **Préparation de l'inoculum**

Quelques colonies isolées de chaque souche à l'aide d'une Pipette Pasteur sont mises dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau physiologique stérile. La densité optique a été mesurée pour chaque solution mère à une longueur d'onde de 620 nm elle doit être comprise entre [0.08-0.1]. Les suspensions bactériennes ont été transvasées dans des tubes contenant un écouvillon.

- **Préparation des extraits**

Préparer 10 formulations nutraceutiques à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep, puis conservées au réfrigérateur pendant 24 h. Ensuite filtrer à l'aide du papier filtre et récupérer le filtrat.

F1 : Extrait aqueux de poudre des racines de *Bunium incrassatum* ; **F2** : Lait à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* ; **F3** : Miel à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* ; **F4** : Extrait aqueux de poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F5** : Lait à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F6** : Miel à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F7** : Extrait ethanolique de poudre des racines de *Bunium incrassatum* ; **F8** : Extrait méthanolique de poudre des racines de *Bunium incrassatum* ; **F9** : Ethanol à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F10** : Méthanol à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep.

- **Antibiogramme**

Dans une zone stérile couler la gélose Mueller Hinton dans des boites Pétri d'une épaisseur de 4 mm, puis laisser refroidir à température ambiante.

Ensemencer la totalité de la surface de toutes les boites Pétri par un écouvillon qui est trempé dans la suspension bactérienne et appliquer la méthode des stries sériées en tournant la boite 3 fois~60°C, ensuite déposer 2 à 3 disques de papier Wattman et 2 disques d'antibiotique [un disque d'Amoxicilline (AX) et l'autre Gentamycine (CN)] à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose ; puis Imbiber les disques de papier Wattman par 10ul de chaque filtrat à l'aide d'une micropipette.

Enfin, conserver ces boites Pétri dans le réfrigérateur pendant 30 min, puis placer dans l'étuve à 37°C pendant 24h.

- **Lecture des résultats**

Après incubation, on observe la présence ou l'absence des zones d'inhibition autour des disques imprégnés. La sensibilité de la souche bactérienne est définie par le diamètre d'inhibition.

Le tableau V symbolise des signes de la sensibilité de souches vis-à-vis de l'extrait (Ponce et al. 2003).

Tableau V : Interprétation des résultats d'antibiogramme.

Valeurs des diamètres des zones d'inhibition (mm)	Sensibilité de la souche
> 8	Souche résistante (-)
Entre 9 et 14	Souche sensible (+)
Entre 15 et 19	Souche très sensible (++)
> 20	Souche extrêmement sensible (+++)

4.7 Profil d'acides gras par la CPG (Chromatographie Phase Gazeuse)

- **Définition**

La CPG est une technique physico-chimique réservée à l'analyse des composés volatils et thermostables. Elle permet de séparer et d'identifier les composants d'un mélange. (Bouchonnet et Libong, 2004).

- **Principe**

Le profil d'acides gras de la racine de la plante *Bunium incrassatum* a été identifié par la Chromatographie Phase Gazeuse (CPG). Le tableau VI résume les conditions opératoires respectées au cours de cette analyse.

Tableau VI : Conditions opératoires de l'analyse de CPG

Chromatographe	Chrompack CP 9002
Détecteur	FID (260 °C)
Injecteur	SPLIT 1/100 (250C°)
Gaz vecteur	Azote
Colonne Capillaire	DB23 (50% Cyanopropyl)
Longueur	30 m
Diamètre intérieur	0,32 mm *0.25 UM
Epaisseur	0,25 µm
Températures	
Injecteur	250°C
Détecteur	260°C
Four	150 C°-----3C°/mn 230C° (10 mn)
Quantité injectée	01 UI
Vitesse du papier	0.5 cm/ mn





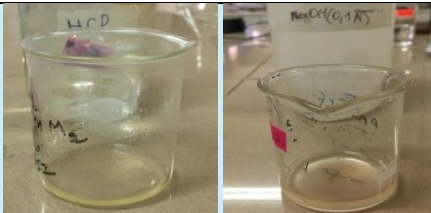





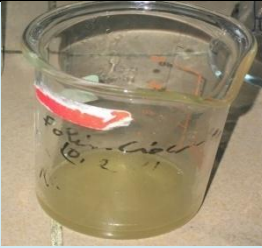
Chapitre IV :
Résultats et discussion

1. Résultats du screening phytochimique

Le tableau suivant présente les résultats expérimentaux de l'analyse phytochimique réalisée sur la poudre des racines de *Bunium incrassatum*.

Tableau IX : Résultats d'analyses phytochimiques de la poudre des racines de *Bunium incrassatum*.

Composés phytochimiques	Résultats	Aspect de coloration
Anthocyanes	Absence	
Tannins	Absence	
Tannins galliques	Absence	
Flavonoïdes	Absence	
Saponosides	Absence	
Quinones combinées	Absence	

Quinones libre	Absence	
Glucosides	Présence	
Coumarines	Présence	

Les résultats d'analyse phytochimique de la poudre des racines de la plante *Bunium incrassatum* indiquent la présence des glucosides et les coumarines. Par contre, les anthocyanes, les tannins, les tannins galliques, les flavonoïdes, les saponosides, les quinones libres et les quinones combinées sont absents.

Les résultats obtenus dans cette étude sont différents à celle qui est signalés par Aiouaz et Bitam (2022) , ils ont indiqué la présence des flavonoïdes et des coumarines dans les tubercules de cette plante. Cette différence est due à des facteurs édaphiques, physiologiques et génétiques ou de l'environnement. En effet, cette plante stocke ses réserves alimentaires dans les tubercules. Ces métaboliques secondaires ayant des effets pharmacologiques importants.

La plante produit les coumarines et les glucosides pour se protéger des champignons, des insectes et des maladies, peuvent également aider à renforcer la plante et à favoriser sa croissance.

2. Résultats d'analyses physico-chimiques

Les résultats de certains paramètres physico-chimiques de poudre de racine de *Bunium incrassatum* et les matrices élaborées sont présentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Résultats d'analyses physico-chimiques de la poudre de la racine de *Bunium incrassatum* et les différentes formes nutraceutiques.

Paramètres	Matrices analysées						
	BI	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Acidité (%)	2.975 ± 0	0.175 ± 0	0.175 ± 0	0.35 ± 0	0.175 ± 0	0.35 ± 0	0.525 ± 0
Ph	6.3 ± 0,2	4.23 ± 0.04	7.22 ± 0,05	4.62 ± 0,04	4.16 ± 0.04	5.25 ± 0,04	4.6 ± 0,03
Humidité (%)	10.715 ± 0,064	98.669 ± 0,125	88.420 ± 0,213	15.942 ± 0,751	99.282 ± 0,292	88.787 ± 0,139	15.55% ± 1.068
Cendres (%)	3.56 ± 0.044	Non analysés					
Indice de gonflement(%)	6.66 ± 0,44						
Sucres totaux (g/l)	7.27						
Sucres réducteurs	Absence						

BI : Poudre de la racine de la plante *Bunium incrassatum* ; **F1** : Extrait aqueux de poudre de racines de *Bunium incrassatum* ; **F2** : Lait à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* ; **F3** : Miel à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* ; **F4** : Extrait aqueux de poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F5** : Lait à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F6** : Miel à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep.

Les résultats du tableau révèlent que la poudre des racines de la plante *Bunium incrassatum* se caractérise par une acidité très faible, un pH plus en moins neutre ($6.3 \pm 0,2$), ainsi, le taux d'humidité est faible. Cela indique que cette matière végétale peut conserver une longue durée sans avoir des altérations au moment de conservation. De plus, ces racines ont également une faible teneur en cendres ($3.56 \pm 0.044\%$), cela indique que notre échantillon contient une quantité importante en substances organiques ($96.43 \pm 0.044\%$) et pauvre en matières minérale. Aussi, elles possèdent une quantité moyenne des sucres totaux de l'ordre de 7.27 g/l, alors que les sucres réducteurs sont absents.

Selon Moyes, (1976), les plantes qui contiennent des mucilages possèdent un indice de gonflement supérieur ou égal à 10. Dans notre étude la poudre des racines de *Bunium incrassatum* a gonflé en contact avec de l'eau et à un indice de gonflement de l'ordre $6.66 \pm 0,44\%$, cela explique la présence d'une quantité moyenne des mucilages.

Les matrices analysées enregistrent des valeurs en acidité très faibles (taux d'acidité varie de 0,1% à 0,5%), un pH acide, à part la formulation F2 préparée à base du lait et la poudre des racines de *Bunium incrassatum* qui présente un pH neutre ($\text{pH} = 7.22 \pm 0,05$).

Les formulations F3 et F6 ont des valeurs en humidité plus faibles ($15,942 \pm 0,751\%$ et $15.55 \pm 1.068\%$) en comparaison avec les formulations F1, F2, F4 et F5 préparées à base du lait et de l'eau présenter des valeurs plus élevées. Les formulations qui sont préparées à base de l'eau et du lait peuvent subir des altérations lors de la conservation et dans des conditions défavorables parmi ces conditions la conservation à long durée.

3. Résultats du dosage des substances bioactives

Le tableau IX représente concentrations des flavonoïdes et caroténoïdes dans les différentes formes nutraceutiques et le pourcentage de mucilage de la poudre de racine de la plante *Bunium incrassatum*.

Tableau IX : Résultats du dosage des substances bioactives de la poudre de racine *Bunium incrassatum* et les différentes formes nutraceutiques.

La plante et les matrices	Caroténoïdes concentration (mg E Carotène/ g d'extrait)	Flavonoïdes concentration (mg E Quercétine/g d'extrait)	Pourcentage de mucilage
BI	Non analysés		10.66
F1	0.002 ± 0	7.22 ± 0.55	Non analysé
F2	$0.218 \pm 0,001$	5.09 ± 0.22	
F3	0.006 ± 0	1.72 ± 0.22	
F4	0.009 ± 0.002	8.99 ± 0.04	
F5	$0.220 \pm 0,001$	14.50 ± 0.26	
F6	0.008 ± 0	1.25 ± 0.11	

BI : Poudre de la racine de la plante *Bunium incrassatum* ; **F1** : Extrait aqueux de poudre de racines de *Bunium incrassatum* ; **F2** : Lait à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* ; **F3** : Miel à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* ; **F4** : Extrait aqueux de poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F5** : Lait à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F6** : Miel à base de la poudre des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep.

- **Mucilage**

Les mucilages sont des substances d'origine végétale dont le principe actif est un produit de nature macromoléculaire. Au contact avec de l'eau ces substances s'hydratent et gonflent en s'entourant d'une enveloppe de molécules d'eau et en donnant des solutions visqueuses ou des gels (Aellig, 1952).

Les racines de *Bunium incrassatum* a une teneur moyenne en mucilages de 10,66%, ce qui montre que ces racines sont composées de polysaccharides qui gonflent au contact de l'eau et peuvent absorber et conserver l'eau à l'intérieur de la plante.

- **Flavonoïdes**

Le taux en flavonoïdes pour chaque matrice est déterminé par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), cette information est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage qui est modélisée par équation $y = 0.0942x - 0.0387$ sachant que $R^2 = 0.9982$. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de Quercétine /g d'extrait (Annexe 02).

Selon le tableau XI, la formulation F5 est la plus riche en flavonoïdes (14.50 mg EQ /g d'extrait), par rapport aux autres formulations. Suivi par les formulations F4 et F1 (8.99 et 7.22 mg EQ/g d'extrait) représenter respectivement, puis la matrice F2 (5.09 mg EQ / g d'extrait). Tandis que, les formulations préparées à base du miel F6 et F3 sont les plus pauvres en flavonoïdes avec des teneurs proches (1.25 et 1.72 mg EQ/g Extrait) respectivement.

Ces résultats démontrent d'une part que l'eau est un agent solvant plus approprié que le miel qui favorise la libération des substances bioactives (flavonoïdes) et d'autre part, il existe une synergie entre les deux matières végétales étudiées, lorsqu'elles sont combinées, la libération des substances bioactives est importante.

- **caroténoïdes**

L'équation de la droite d'étalonnage du bêta-carotène ($y = 5.976x + 0.168$ avec $R^2 = 0.943$) est utilisée pour calculer les concentrations de caroténoïdes des matrices analysées. Les résultats sont donnés en (mg E Carotène/g d'extrait). (Annexe 04).

Les résultats du tableau XI indiquent que toutes les matrices présentent des teneurs extrêmement faibles en caroténoïdes. Néanmoins, elles peuvent également contenir d'autres substances riches en antioxydants et bénéfiques pour la santé.

4. Résultats de l'activité anti-oxydante

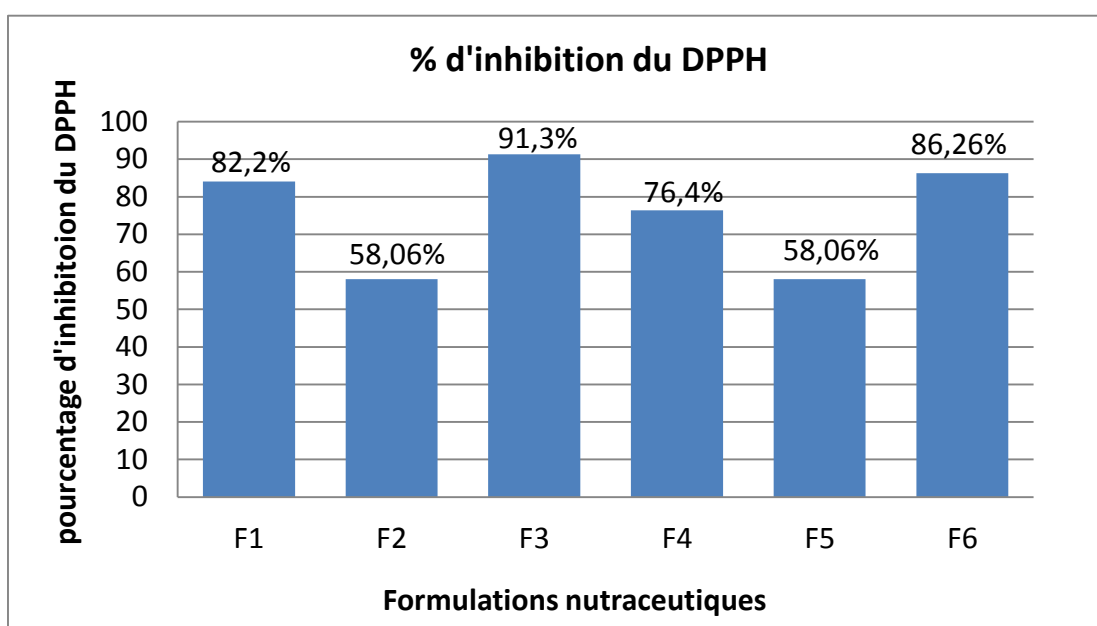


Figure 07 : Pourcentages d'inhibition de DPPH des différentes formes nutraceutiques

La formulation F3 préparée à base du miel, a montré un pourcentage d'inhibition le plus puissant à une valeur de (91.3%), Les autres formulations présentent des pourcentages moins variés entre 86% et 58%.

Le pourcentage d'inhibition de piégeage de radical DPPH dans le miel représente la plus grande valeur car le miel contient de nombreux composés antioxydants qui peuvent réduire les radicaux libres et protéger contre les dommages oxydatifs. Les composés antioxydants du miel comprennent des acides phénoliques, des flavonoïdes, des acides ascorbiques, des enzymes, des acides aminés et d'autres micronutriments. Ces facteurs antioxydants combinés peuvent contribuer à un équilibre oxydatif sain dans le corps.

Certains solvants sont plus efficaces pour extraire les composés antioxydants des plantes ce qui peut expliquer que le mélange des matières végétales dans le miel a eu un meilleur pourcentage d' inhibition du radical DPPH que le mélange des matières végétales dans le lait et l'eau distillée. Cela indique à la différence de composition des antioxydants qui sont présents dans chaque extrait (lait, miel, aqueux).

5. Résultats de l'activité antimicrobienne

Les résultats de la mesure des zones d'inhibition de différentes matrices à base de la poudre des racines de la plante *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep, aussi les antibiotique (Amoxicilline, Gentamicine). Contre les souches : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* Mu50, *Staphylococcus aureus* HTCC25923 et *Bacillus cereus* ATCC14579 sont résumés dans les tableaux **X, XI, XII**.

Tableau X : Diamètres des zones d'inhibition des échantillons purs.

	Diamètre des zones d'inhibition des échantillons purs (mm)				
	Eau distillée pur	Lait frais	Miel pur	Ethanol pur	Méthanol pur
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	6 ± 0.125	5 ± 0	4 ± 0.04
<i>Staphylococcus aureus</i> Mu50	-	-	-	8 ± 0.13	4 ± 0
<i>Staphylococcus aureus</i> HTCC25923	-	-	-	6 ± 0.08	9 ± 0.1
<i>Bacillus cereus</i> ATCC14579	-	-	-	9 ± 0.08	-

Tableau XI: Diamètres des zones d'inhibition de différentes formes nutraceutiques en mm.

Souches / Matrices	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> Mu50	<i>Staphylococcus aureus</i> HTCC25923	<i>Bacillus cereus</i> ATCC14579
F1	-	-	7 ± 0.4	-
F2	-	8 ± 0.04	6 ± 0.04	-
F3	-	-	7 ± 0	-
F4	8 ± 0.17	-	6 ± 0.3	-

F5	4 ± 0.04	5 ± 0.08	-	-
F6	7 ± 0	-	-	-
F7	4,5 ± 0.04	7 ± 0.04	13 ± 0.13	11 ± 0.1
F8	5 ± 0.1	5 ± 0	12 ± 0.04	-
F9	8,3 ± 0.17	10 ± 0.05	13 ± 0.05	24 ± 0.2
F10	3 ± 0.04	3 ± 0.08	17 ± 0.15	17 ± 0.1

F1 : Extrait aqueux de poudre de racine de la plante *Bunium incrassatum* ; **F2** : Lait à base de la poudre des racines de la plante de *Bunium incrassatum* ; **F3** : Miel à base de la poudre des racines de la plante de *Bunium incrassatum* ; **F4** : Extrait aqueux de poudre des racines de la plante *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep, **F5** : Lait à base de la poudre des racines de la plante de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F6** : Miel à base de la poudre des racines de la plante de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F7** : Ethanol à base de la poudre des racines de la plante de *Bunium incrassatum* ; **F8** : Méthanol à base de la poudre des racines de la plante de *Bunium incrassatum* ; **F9** : Ethanol à base de la poudre des racines de la plante de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep ; **F10** : Méthanol à base de la poudre de la racine de la plante de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep.

Tableau XII : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques.

Souches bactériennes testées	Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques (mm)	
	Amoxicilline (AX)	Gentamicine (CN)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 ± 0.27	22.5 ± 0.168
<i>Staphylococcus aureus</i> Mu50	7 ± 0.3	20 ± 0.2
<i>Staphylococcus aureus</i> HTCC25923	16 ± 0.37	22.6 ± 0.09
<i>Bacillus cereus</i> ATCC14579	7 ± 0.17	21.8 ± 0.28

Les effets antimicrobiens de l'extrait végétal de *Bunium incrassatum* et d'un mélange d'extraits de *Bunium incrassatum* et de résine de pin d'alep par rapport à la croissance des quatre souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* MU50,

Staphylococcus aureus HTCC25923 et *Bacillus cereus* ATCC14579) qui peuvent apparaître dans certaines maladies respiratoires comme l'angine, la toux et la pneumonie.

Les figures (Annexe 05) montrent les résultats de l'antibiogramme de 2 souches (*Staphylococcus aureus* HTCC25923 et *Bacillus cereus* ATCC14579).

Nous remarquons une activité variée des échantillons testés (eau distillée, miel, lait, éthanol, méthanol) en fonction de chaque bactérie.

Les échantillons purs tels que l'eau, le lait et le miel n'ont aucun effet contre les souches bactériennes testées. Le miel seul échantillon qui a faible effet inhibiteur avec une zone d'inhibition de l'ordre 6 ± 0.125 mm contre la souche *Staphylococcus aureus*. Cela indique que le miel peut être utilisé comme un agent antibactérien et qu'il est efficace pour calmer les symptômes des voies respiratoires. Par contre, l'éthanol et le méthanol ont enregistré un effet inhibiteur contre les souches testées mais avec des diamètres faibles, à l'exception de la souche de *Bacillus cereus* ATCC14579 qui est sensible à l'éthanol avec une zone d'inhibition de l'ordre $9 \pm 0,08$ mm et la souche *Staphylococcus aureus* HTCC25923 qui est sensible au méthanol avec une zone d'inhibition de l'ordre de $9 \pm 0,1$ mm.

Les formulations F1, F2, F3, F4, F5 et F6 n'ont exercé aucune activité antibactérienne contre les quatre souches testées ; à l'exception des extraits éthanolique et méthanolique des formulations F7, F8, F9, F10 ont montré une activité bactérienne contre les souches testées. La formulation F9 a enregistré une meilleure activité contre *Bacillus cereus* ATCC14579 avec une zone d'inhibition de $\Phi 24 \pm 0,2$ mm ; la formulation F10 donne aussi une meilleure activité contre *Staphylococcus aureus* HTCC25923 et *Bacillus cereus* ATCC14579 qui révèlent des zones d'inhibitions de l'ordre 17 ± 0.15 mm et 17 ± 0.1 mm mentionner respectivement.

Les extraits éthanolique et méthanolique de formulation de F9 et F10 étaient plus actifs que les autres formulations (F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8). Ils présentent un effet bactéricide à large spectre contre les deux souches (*Staphylococcus aureus* HTCC25923 et *Bacillus cereus* ATCC14579). De ce fait, ils peuvent être utilisés comme des agents antibactériens contre les infections respiratoires que peuvent causer ces souches comme l'angine, la toux et la pneumonie.

Les résultats de l'activité antibactérienne des différents antibiotiques testés (Amoxicilline et Gentamicine) vis-à-vis des souches *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*

aureus MU50, *Staphylococcus aureus* HTCC25923 et *Bacillus cereus* ATCC14579. Ces souches sont très sensibles à l'antibiotique Gentamicine avec des zones d'inhibition supérieures à 20 mm. La souche *Staphylococcus aureus* HTCC25923 est moins sensible contre l'Amoxicilline avec une zone d'inhibition de l'ordre de $16 \pm 0,37$ mm.

6. Résultats du profil d'acides gras

Les résultats des acides gras présents dans la poudre des racines de la plante *Bunium incrassatum* sont présentés dans le tableau XIII.

Tableau XIII: Composition des racines de *Bunium incrassatum* en acides gras

Acide gras	Dénomination	Pourcentage dans l'échantillon
C14 :0	A. myristique	1.14
C16 :0	A. palmitique	20.36
C16 :1ω7	A. pentadécanoïque	0.05
C17 :0	A. margarique	1.53
C18 :0	A. stéarique	4.11
C18 : 1ω9	A. oléique	14.03
C18 : 2ω6	A. linoléique	49.05
C18 : 3ω3	A. linolénique	3.41
C20 : 1	A. arachidique	-
C22 : 0	A. béhénique	1.41
C24 : 0	A. lignocérique	3.54
Acides gars saturés (AGS)		33.57
Acides gras mono insaturés (AGMI)		14.08
Acide gras poly insaturés (AGPI)		52.46

Les acides gras sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe, saturés ou insaturés. Appartient à la catégorie des lipides, connus sous le nom d'Oméga. Les acides gras saturés sont les plus largement distribués parmi eux se trouvent C16 et C18, par contre les acides gras insaturés, ceux en C18 pourvus de 1 2 3 doubles liaisons et sont les plus répons dans le monde végétal et animal terrestre (Cuvelier et *al.* 2004).

L'analyse de la CPG révèle que les racines de *Bunium incrassatum* ont une teneur élevée en acide linoléique de l'ordre de 49.05 %, suivi par l'acide palmitique avec une teneur de 20.36% et par l'acide oléique avec une teneur de 14.03%. L'acide myristique, l'acide margarique et l'acide béhénique sont présents à des quantités similaires et plus faibles, aussi l'acide stéarique et l'acide lignocérique sont présents à des faibles quantités. L'acide pentadécanoïque et l'acide arachidique sont absents.

Ces résultats montrent que les acides gras majoritaires dans les racines de la plante de *Bunium incrassatum* sont les acides gras polyinsaturés (AGPI) avec une teneur de 52,46%. Ainsi que les acides gras saturés (AGS) présentent une teneur moyenne et les acides gras mono-insaturés (AGMI) sont présents avec une faible teneur de (14,08%).

Les acides gras polyinsaturés sont impliqués dans les processus physiologiques et jouent un rôle essentiel sur la santé de l'homme et peuvent prévenir de certaines maladies telles que les maladies cardiovasculaires, l'hypertension, le diabète, les troubles inflammatoires (Simon et *al.* 2019). Ces acides gras de type oméga 3 contiennent un effet bénéfique contre les maladies cardio-respiratoire et les pathologies pulmonaires chez l'adulte, aussi permettent de réduire les pathologies cardiovasculaires et améliorent la mortalité du syndrome de détresse respiratoire aiguë (Houeiijeh, 2018).

Dans le règne végétal, les plantes synthétisent en abondance les acides linoléiques et alpha linoléique par désaturation progressive de l'acide oléique. Les désaturases sont actives pendant une courte période, lors du développement des graines ou des feuilles (Mazliak, 1980). Les racines de notre plante sont riches en cet acide que l'organisme ne peut pas fabriquer lui-même mais qu'il peut trouver dans l'alimentation, ce qui lui confère une valeur nutritionnelle.



Conclusion

Conclusion

Le travail réalisé consiste à valoriser des matières végétales locales, il s'agit de préparer des formulations nutraceutiques à base des racines de *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep et d'autres ingrédients naturels (miel, lait, l'eau). Certaines propriétés phytochimiques, physicochimiques et biologiques des formulations élaborées ont été déterminées.

Les résultats du screening phytochimique des racines de *Bunium incrassatum* montrent une variété de métabolites secondaires tels que les coumarines et les glucosides. Elles présentent un pH légèrement acide (pH=6,3) et une humidité très faible. Par contre, les formulations (F1, F2, F3, F4, F5, F6) possèdent un pH très acide et une humidité très élevée. En outre, ces racines sont très riches en acides gras essentiels, tels que l'Acide linoléique, l'Acide palmitique et l'Acide oléique.

La formulation F5 présente un meilleur rendement en caroténoïdes et en flavonoïdes avec des valeurs de 0.220% et 14.50% respectivement en comparaison avec les formulations (F1 F2 F3 F4 F6). Ces valeurs indiquent que notre plante a une teneur plus au moins élevée en flavonoïdes mais une quantité très faible en caroténoïdes.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits selon la méthode de DPPH a montré que les formulations F3 et F6 possèdent une meilleure activité (86% à 91%), aussi les formulations F1 et F4 révèlent une bonne activité (76% à 82%), ce qui explique que les deux plantes contiennent des substances bioactives.

Selon le test de l'activité antibactérienne d'extraits de *Bunium* et d'extraits d'un mélange de *Bunium* et de résine de pin d'alep effectué sur quatre souches bactériennes, la formulation F9 a enregistré un effet inhibiteur potentiel contre la souche *Bacillus cereus* ATCC14579 avec une zone d'inhibition de l'ordre 24 ± 0.2 mm. Ainsi que, La formulation F10 a enregistré une meilleure zone d'inhibition de l'ordre de 17 ± 0.1 mm contre *Staphylococcus aureus* HTCC25923 et *Bacillus cereus* ATCC14579.

Au terme de ce travail, nous proposons de compléter la présente étude par :

- Une étude de l'activité anti-inflammatoire des plantes *Bunium incrassatum* et la résine de pin d'alep.
- Une étude in vivo, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne de ces plantes.
- Evaluation des seuils de la toxicité et d'efficacité de ces plantes.

-A-

- 1. Ababsa, Z.E.A., Kara, A., Abidli, N., Akkal, S., Medjroubi, K. (2014).** Chemical Characterization and Biological Study of the Species *Senecio Cineraria*. *World Journal of Environmental Biosciences* 7, 112-121.
- 2. Adoui, N., Bendif, H., Benabdallah, A., Souilah, N., Daoud, N., Miara, M.D. (2022).** Ethnomedicinal uses phytochemistry and biological activities of *Talghouda (Bunium Fontanesii Batt and Related Synonyms)*. *Journal of EcoAgriTourism* 18, 1844-8577.
- 3. Aellig, R. (1952).** Etudes sur le dosage pharmaceutique de quelques drogues à mucilages. Thèse de doctorante. s.l.: présentée à l'Ecole Polytechnique Fédérale, Zurich pour l'obtention du grade de Docteur Sciences Naturelles.
- 4. Aiouaz, M., Bitam, A. (2022).** *Bunium incrassatum* Bois. Batt. Trab. (*Talghouda*) in the improvement of thyroid tissue damages in female rats. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science* 2 (2), 93-108.

-B-

- 5. Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., Bakkar, A.A., Elouissi, E., Khaldi, A., Hamimed, A. (2015).** Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*, 626-637.
- 6. Benkhalifa, A., Toumi, M., Berberi, M. (2018).** “*Talghouda*” une ancienne source alimentaire et une culture adaptée aux régions montagneuses.
- 7. Benkhalifa, A., Toumi, M. (2019).** *Talghouda* تالغودة, une ancienne source alimentaire bien évoquée dans les soins traditionnels en Algérie. *Valorisation des ressources* .
- 8. Bessagnet, F., Desmoulière, A. (2021).** Les poumons. [en ligne], URL :<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S05153700203005504>.
- 9. Blausen, G. (2014).** Anatomie de l'appareil respiratoire. [en ligne], URL : <http://www.microbiologiemedicale.fr>.
- 10. Bottone, E.J. (2010).** *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews* 23, 382-398.
- 11. Bouchonnet, S., Libong, D. (2004).** Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse.
- 12. Bousetla, A., Zellagui, A., Derouiche, K., Rhouati, S. (2015).** Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 313-316.
- 13. Buiret, G., Tringali, S., Céruse, P. (2015).** *Laryngites aiguës de l'adulte*. Elsevier Masson SAS 10, 20-645.

-C-

- 14. Cabaret, T. (2018).** L'exsudation de la résine dans le bois de pin maritime (*Pinus Pinaster*) : Etude et mise en place d'un système de prévention. Thèse de doctorat.
- 15. Chentouh, S., Boulahbel, S., Adjal, F., Tolba, M., Alloua, N., Moumen, Y., Bentayeb, Y. (2018).** Effets des extraits organiques de *Bunium incrassatum* sur quelques paramètres hématologiques chez les lapines de population la race locale. *Revue des Bioressources*, 34-42.
- 16. Cuvelier, C ; Cabaraux, J.F ; Dufrasne, I ; Hornick, J.L ; Istasse, L. (2004).** Acide gras : nomenclature et sources alimentaires 148, 133-140.

-D-

- 17. Demoré, B., Charmillon, A. (2018).** Traitement des infections respiratoires basses et hautes. *Pharmacie clinique et thérapeutique* 44, 801-814.
- 18. Dillemann, G. (1991).** des plantes médicinales parmi les arbres d'alignement des rues de paris. *REVUE D'HISTOIRE DE LA PHARMACIE* 288, 36-38.
- 19. Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.*, 97: 654-660.
- 20. Dorin, J. (2018).** Etude épidémiologique des infections respiratoires virales des Hivers 2009 à 2012 en milieu hospitalier et apport des nouvelles technologies au diagnostic viral. *Sciences pharmaceutiques*.
- 21. Dortet, L., Poirel, L., Nordmann, P. (2013).** Epidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénèmases. *Bactériologie Carbapénèmases* 312.
- 22. Dumarcet, N. (2005).** Antibiothérapie par voie générale en pratique courante dans les infections respiratoires hautes de l'adulte et l'enfant *Argumentaire*. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé 35, 578-618.

-E-

- 23. El Kolli, H., Laouer, H., El Kolli, M. (2017).** Chemical composition and biological activities of the essential oils and the methanolic extracts of *Bunium incrassatum* and *Bunium alpinum* from algéria. *J. Chil. Chem. Soc* 62(1).
- 24. Enyew, A., Asfaw, Z., Kelbessa, E., Nagappan, R. (2014).** Ethnobotanical study of traditional medicinal plants in and around fiche district. *Central Ethiopia* 6, 154-167.

-G-

25. Ghanmi, M., Satrani, B., Chaouch, A., Aafi, A., Abid, A.E.I., Moulay R., Farah, A. (2007). Copmposition chimique et activité antimicrobienne de l'essence de térébenthine du pin maritime (*Pinus pinaster*). *Acta Botanica Gallica* 154(2), 293-300.

-H-

26. Haddouchi, F., Chaouche, T.M., Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. Lavoisier.

27. Houeijeh, A. (2018). Etude de la cnétique de l'adaptation respiratoire à la naissance par la résonance magnétique : les effets des acides gras polyinsaturés oméga 3 sur la transition périnatale. <https://theses.hal.science/tel-01692076>. S.1 : Université du Droit et de la Santé Lille II Ecole Doctorale Biologie-Santé.

-J-

28. Jacques, A. (1964). La résine et la poix dans l'antiquité technique et terminologie. *L'antiquité classique*, 86-97.

-K-

29. Karouche, S., Benbott, A., Henouda, S. (2022). Contenu phenolique et activités biologique des feuilles de l'espèce *Bunium mauritanicum*. *Revue des BioRessources* 12, 13-22.

30. Karouche, S., Benbott, A., Henouda, S., Malki, S., Boudchicha, I. (2020). Evaluation of phenolic content and biological activities of *Bunium mauritanicum* tubers. *Journal of fundamental and applied science* 12, 916-930.

31. Khouja, M L., Fezzani, T., Khouja, M., Hamrouni, L. (2020). Le Pin d'Alep en Tunisie : Ecologie, Gestion et Usage. s.l. : Institut National de Recherche en Génie Rural, Eaux et Forets, 1-369.

32. Khouja, M; Elaissi, A., Ghazghazi, H., Boussaid, M., Khouja, M L., Khaldi, A., Messaoud, C. (2020). Variation of Essential Oil Composition, Antioxidant and Anticholinesterase Activities between *Pinus halepensis* Mill. *Plant Organs. Journal of Essential Oil Bearing Plants* 23(6), 1450-1462. <https://dio.org/10.1080/0972060X.1868348>.

-L-

33. Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., Nouri, N H. (2019). Etude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous. El Kala, Nord-est Algérien.

-M-

- 34. Mahdhi, A., Ghazghazi, H., Aloui, M El., Salem, R Ben., Rigane, G. (2021).** Identification and quantification of phenolic and fatty acid profiles in *Pinus halepensis* mill. seeds by LC-ESI-MS and GC: Effect of drying methods on chemical composition. *Food Sci Nutr* 9, 1907-1916.
- 35. Marchina, J.C. (1994).** Les infections O.R.L (rhume, angite, sinusite, otite). [éd] S A Albin Michel. Rue Huyghens 22. 9961.61.002.4.
- 36. Mazliak, P. (1980).** Formation des acides gras polyinsaturés dans le règne végétal. JSTOR. *Annales de la nutrition et de l'alimentation*, 189-206.
- 37. Michel-Briand, Y., Baysse, C. (2022).** The pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimie* 84, 499-510.
- 38. Motte-Florac, E. (2000).** Les utilisations médicinales de la résine de pin dans le centre du Mexique : la disparition d'un savoir. *Acta Botanica Gallica* 147(3), 303-304.

-N-

- 39. Nahal, I. (1962).** Le Pin d'Alep (*Fines halepensis* Mill.). Étude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. *Annales de l'école National des eaux et forêts et de la station de recherches et expériences forestières* 19 (4), 477-688.

-P-

- 40. Pediatr, A. (2007).** Diagnostic virologique des infections respiratoires. Elsevier, Provided to the PMC COVID-19 Collection by. M. Leruez, 14, 404-409.
- 41. Ponce, A.G., Fritz, R., Del valle, C., Roura, S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Food science and Technology* 36 (7) 679-684.

-Q-

- 42. Quezel, P., Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions destriques méridionales. CNRS.

-R-

- 43. Rigane, G., Jebali, J., Ghazghazi, H., Riguene, H., Khouja, M L., Salem, R Ben. (2019).** Chemical composition and biological activities of *Pinus halpensis* Mill. Oil. *Revue Roumaine de Chimie* 64(11), 999-1006.

-S-

- 44. Saidoun, A.A. (2021).** Surveillance des infections nosocomiales en pédiatrie au CHU Beni Messous. HAL open science. S.1 : Faculté de Médecine d'Alger département de Pharmacie.
- 45. Sanogo, B. (2010).** Etude des infections respiratoires Aigues en milieu communautaire chez les enfants de mois de 5ans dans les régions de Kayes, Sikasso, Segou et Mopti. Thèse de doctorat, Bamako : Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université de Bamako.
- 46. Sayed-Ahmada, B., Talou, T., Saad, Z., Hijaz, A., Mera, O. (2019).** The Apiaceae : Ethnomedicinal family as source for industrial uses. HAL open science.
- 47. Serge, L. (1960).** Le gemmage et l'industrie de la gemme dans les Landes. Revue géographique des Pyrénées et du Sud-ouest, 441-446.
- 48. Seladji, D. (2014).** Composition chimiques, propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles des racines de trois pinaceae d'Algérie. Tlemcen : Université ABOU BEKR BELKAID.
- 49. Simon, N., Buaud, B., Tressou, J., Guesnet, P., Pasteau, S. (2019).** Place des acides gras polyinsaturés précurseurs essentiels dans l'alimentation des populations particulières en France. BULLETIN D'INFORMATIONS SCIENTIFIQUES, 1-6.

-T-

- 50. Taylor, A., Unakal, G. (2022).** Staphylococcus aureus infection.
- 51. Tiecoura, B. (2011).** Etude de l'infection à Haemophilus Influenzae type b en 2008 après l'introduction du vaccin anti Haemophilus Influenzae type b chez les enfants de 0-15ans Hospitalisés dans le service. De pédiatrie du CHU Gabriel Toure. Thèse de Doctorat. S.1 : Faculté De Médecine, De Pharmacie et D'Odonto Stomatologie.
- 52. Traore, S.B. (2008).** Incidence des infections à Streptococcus pneumoniae chez les enfants de 0 à 15 ans hospitalisés dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré de Mai 2005 à Juin 2006. Université de Bamako Faculté de Médecine, de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie.
- 53. Torres, J A., Garcia-fuentes, A., Salazar, C., Cano, E., Valle, F. (1999).** Characterisation of Pinus halpensis Mill, pine forests in southern Iberian Peninsula. Ecologia mediterranea 25,2, 135-146.
- 54. Toul, F., Djendar, A., Seladji, M., Berroukeche, F. (2022).** Algerian Bunium incrassatum Seeds : Effects of Extraction Solvent Polarity on Phenolic Profile and Antioxidant Activity. JOTCS 9 (2), 415-422.

-Y-

55. Youenn, A. (2019). Développement d'une application oropharyngée de lactobacilles pour lutter contre les infections respiratoires à *Pseudomonas aeruginosa*. HAL open science. Bactériologie.

-Site Web-

56. Site web 01 [En ligne] // Conservation nature. - Juin 2023. - <https://www.conservation-nature.fr/plantes/pinaceae/>.

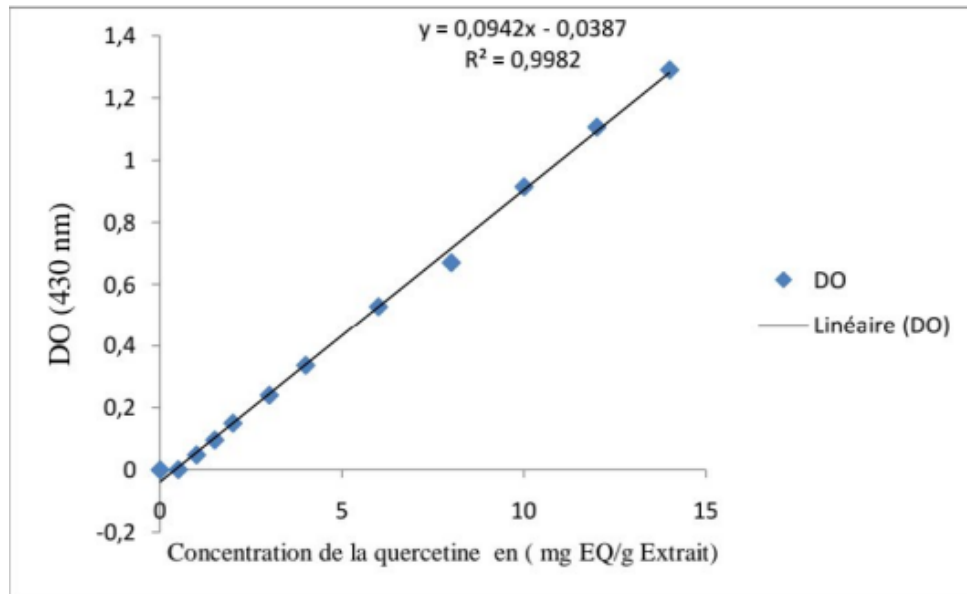
57. Site web 02 [En ligne] // conservation nature. - juin 2023. - <https://www.conservation-nature.fr/plantes/pinus/>.

Annexe

1) Appareillages

Appareillages, verrerie de laboratoire	Solvants	Milieu de culture
<p>Spatule, passoire, cuves, papiers filtres, verre de montre, béchers, burettes, fioles, entonnoir, flacons, pipettes graduées, pipettes pasteur, éprouvettes, tubes à essais.</p> <p>Spectrophotomètre visible, plaque chauffante, pH-mètre, agitateur magnétique, balance de précision, balance, bain-marie, étuve, Four a moufle.</p>	<p>Chlorure d'hydrogène (HCL)</p> <p>Chloroforme</p> <p>Chlorure ferrique (FeCl₃)</p> <p>Acétate de sodium (CH₃COONa)</p> <p>Acide sulfurique (H₂SO₄)</p> <p>Hydroxyde de potassium (KOH)</p> <p>Ammoniaque</p> <p>Ethanol</p> <p>Méthanol</p> <p>Eau distillée</p>	<p>Muller Hinton (MH)</p>
Appareillages utilisées pour l'activité antimicrobienne	matériels	Solutions
<p>Bain-marie</p> <p>Autoclave</p> <p>Etuve bactériologique</p> <p>Réfrigérateur</p> <p>Densitomètre</p>	<p>Tubes a essai, portoir, pipettes pasteur, pince, micropipettes, embout, écouvillons, boites de pétri, bec bunsen, disque de papier whatman, stériles, anse de platine.</p>	<p>Eau distillée</p> <p>Eau physiologique stérile</p>

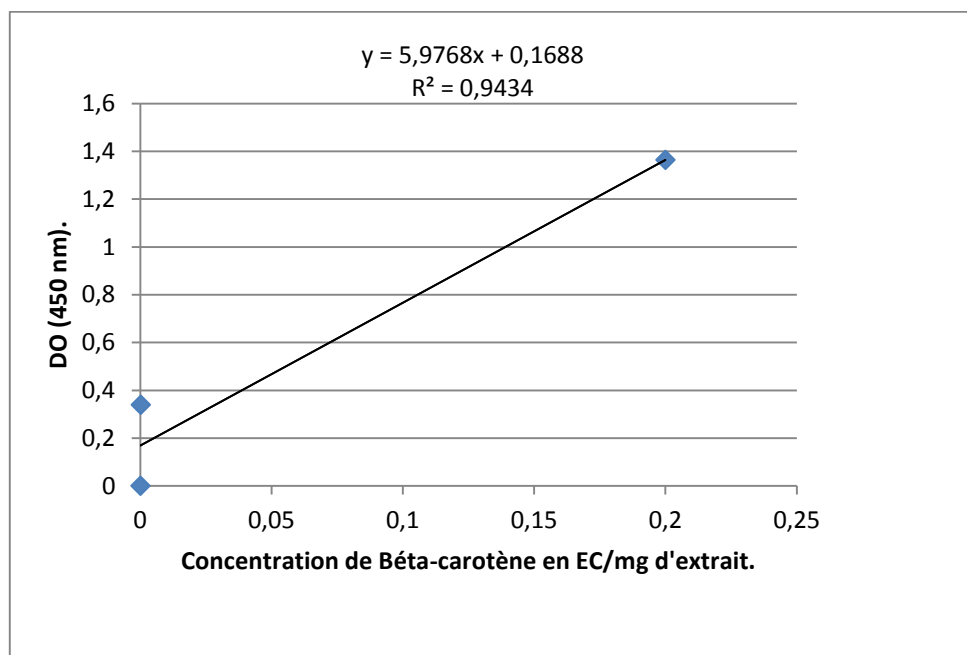
2) Courbe d'étalonnage des flavonoïdes



3) Concentration de la gamme d'étalonnage des caroténoïdes

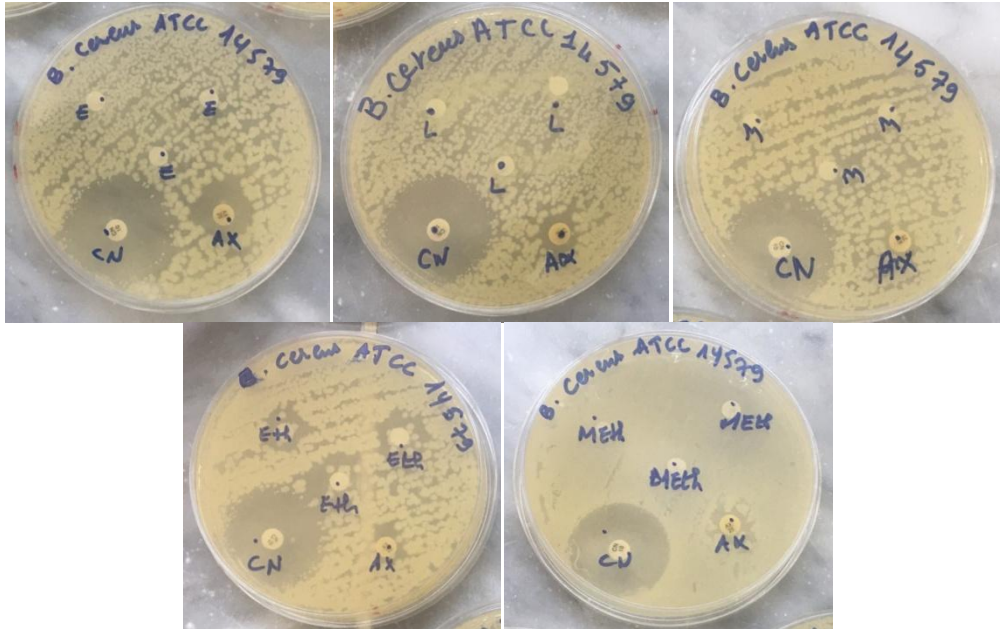
Dilutions	SM	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
Concentrations	0,2	0,02	0,002	0,0002

4) Courbe d'étalonnage des caroténoïdes

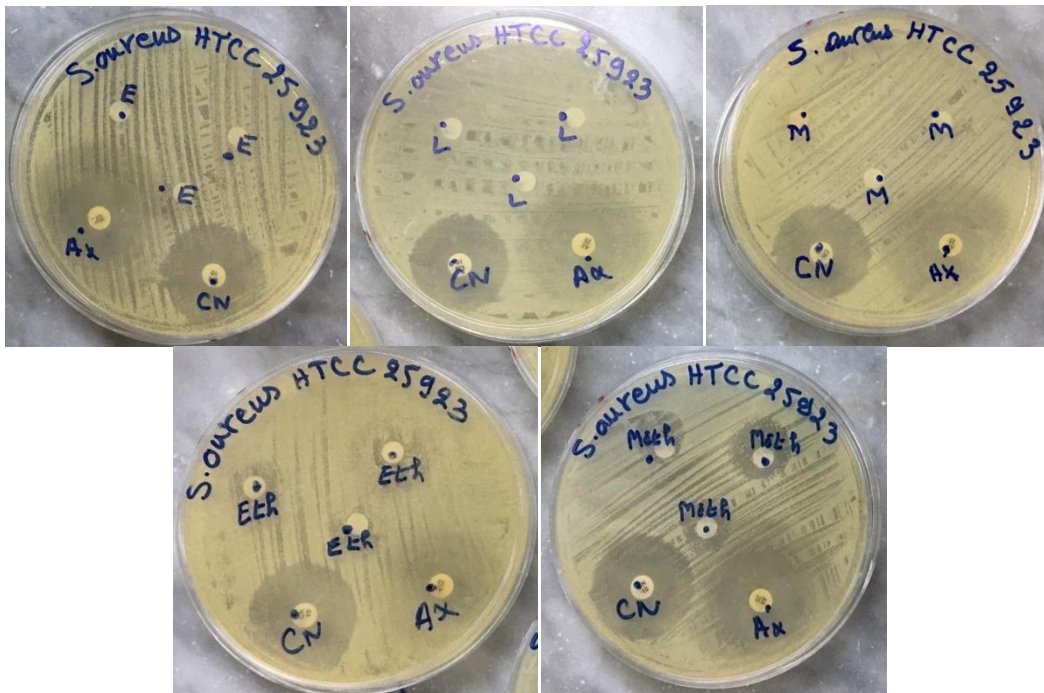


5) Résultats de l'activité antimicrobienne

Résultats de l'antibiogramme des échantillons purs vis-à-vis de la souche *Bacillus cereus* ATCC14579



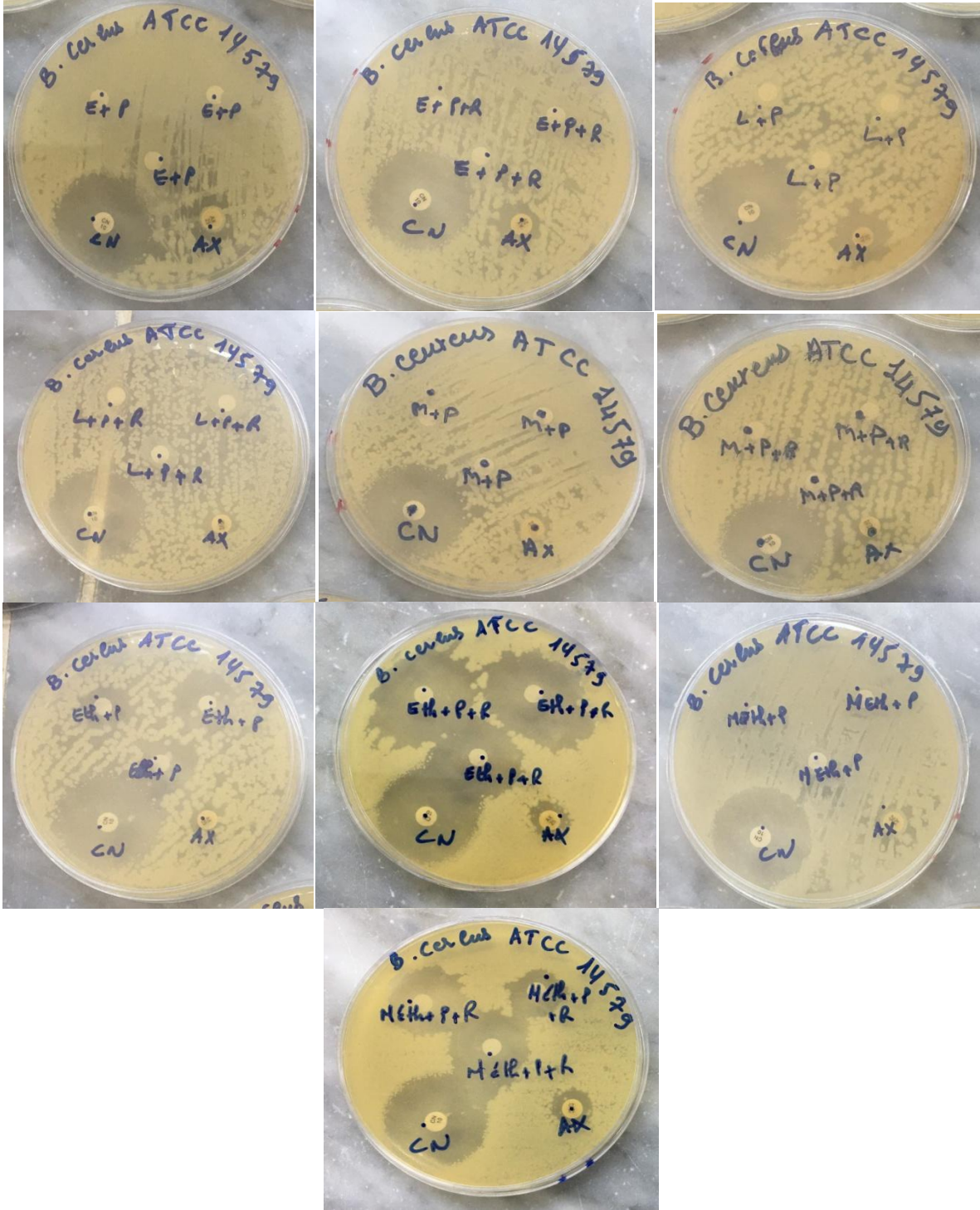
Résultats de l'antibiogramme des échantillons purs vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* HTCC25923



E : l'eau distillé pur ; L : Lait pur ; M : Miel pur ; Eth : Ethanol pur ; Méth : Méthanol pur.

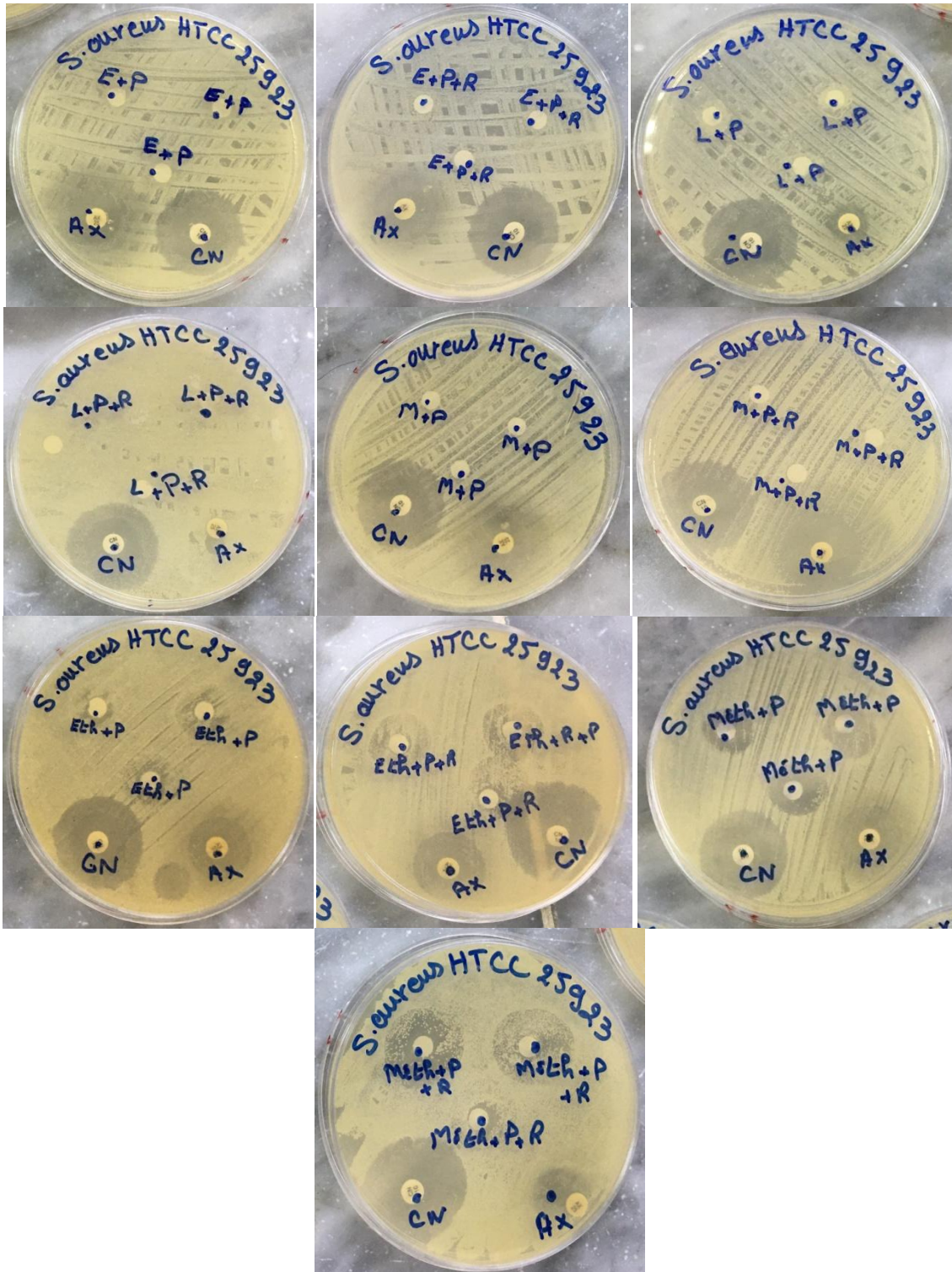
Annexe

Résultats de l'antibiogramme des formulation vis-à-vis de la souche *Bacillus cereus* ATCC14579



Annexe

Résultats de l'antibiogramme des formulations vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* HTCC25923



Annexe

E+P : Eau distillé + Poudre de la racine de *Bunium incrassatum*.

E+P+R : Eau distillé + Poudre de la racine de *Bunium incrassatum* + Résine de pin d'Alep.

L+P : Lait + Poudre de la racine de *Bunium incrassatum*.

L+P+R : Lait + Poudre de la racine de *Bunium incrassatum* + Résine de pin d'Alep.

M+P : Miel + Poudre de la racine de *Bunium incrassatum*.

M+P+R : Miel + Poudre de la racine de *Bunium incrassatum* + Résine de pin d'Alep.

Eth+P : Ethanol + Poudre de la racine de *Bunium incrassatum*.

Eth+P+R : Ethanol + Poudre de la racine de *Bunium incrassatum* + Résine de pin d'Alep.

Méth+P : Méthanol + Poudre de la racine de *Bunium incrassatum*.

Méth+P+R : Méthanol + Poudre de la racine de *Bunium incrassatum* + Résine de pin d'Alep.

CN : Antibiotique Gentamycine.

AX : Antibiotique Amoxicilline.