

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT SCIENCE DE LA NATURE ET DE
LA VIE

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Par

HATTAB Djihan, KHATIBI Belkis Aicha

et GUENDOUZ Miloud.

Intitulé

**Valorisation phytochimique de la plante
médicinale *Bunium muritanucum* L.**

Soutenu devant le jury composé de:

Dr. BENDIF Hamdi.

MCA Université Mohamed Boudiaf M'sila

Président

Dr. KHALFA Hanane.

MAA Université Mohamed Boudiaf M'sila

Examineur

Dr. ADOUI Nabila.

MCB Université Mohamed Boudiaf M'sila

Encadreur

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

Le premier à qui est dirigé ma reconnaissance c'est Dieu, c'est avant tout grâce à lui que j'ai pu trouver la force de surmonter ces épreuves durant mon parcours, chacune de mes réussites grandes ou petites c'est à lui que je les dois. Merci **Allah**.

Nombre de personnes ont eu un impact sur nous durant notre parcours et nous ont permis de réussir. J'aimerais exprimer ma gratitude au **Dr. ADOUI Nabila** qui aura été de très bon conseil pour nous. **Mme Fadila AKRIB** qui grâce à sa discipline et son intelligence nous a accompagné durant la fin de notre cursus. Le professeur **BOUNAR**

Rabeh grâce à qui nous avons pu avoir notre chance ici. Et enfin le **Dr. Hamdi BENDIF** maître de conférences qui nous a suivi depuis nos premiers jours passé ici, sa présence a été d'un grand soutien que ce soit par son intelligence sa pédagogie sa bonté ainsi que l'énergie positive qu'il possède, il nous a tiré nombre de fois vers le haut lorsque nous étions au plus bas et a toujours cru en notre réussite. Si ça avait été quelqu'un d'autre que lui nous n'aurions certainement pas eu le succès que nous connaissons actuellement car c'est lui qui nous a donné toutes les armes fondatrices de notre réussite.

Nous adressons aussi ce travail à tous les étudiants de promotion de biotechnologie végétale et à tous qui ont contribué dans le succès de ce travail de loin ou de près

Dédicace

A mon **Allah** louange

Le plus Grand merci à Dieu de m'avoir accordé la force, la patience et la volonté, qu'il m'a donné la force, les moyens et le courage pour terminer ce travail.

A celui qui il a travaillé dur et qu'il m'a inspiré l'esprit militantisme et la lutte que devenir si que je suis maintenant. Mon papa **Mohamed Bouzid**

A ma chère mère **Hassina** qui m'a illuminé mon chemin m'a aidé par ses prières et ses invocations .que Dieu me soutienne.

A mes belles sœurs **Ramla** et **Wissal** que Dieu les gardes pour moi.

A mon amie intime **Belkis** .Nous avons passé 5 ans pleines d' aventures, surprises, la joie, la tristesse, rires et larmes qui restent dans le cœur jusqu'à la mort.

À mes amis proches **Romaissa, Aicha, Taha et Mustapha** a qui je leur souhaite le bonheur.

A toutes les personnes qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Djihane

Mes prochains mots sont quant à eux destiné à mes proches. Ma mère le **Dr. Hacina khadraoui** qui m'a élevé, qui m'a laissé décider de mon avenir et m'a soutenu quelque soit mon choix. Mon père **Dr. khatibi abed elfatah Nour elislam** Bien qu'il soit décédé son souvenir est l'un des piliers de ma réussite, lui qui plaçait la réussite dans les études au-dessus de tout m'a transmis cette

philosophie grâce à laquelle je suis devant vous aujourd'hui. Mes frères **Haythem, Zakaria, taki eddine, chouib** dont chacun d'entre eux sont les artisans qui m'ont influencé afin de toujours visé la réussite et ne jamais m'en éloigné. **Maroua** ma belle-soeur et **Abed elfatah** mon neveu qui m'ont apporté tant de bonheur et de joie. Mon amie intime **djihane** avec qui j'ai tout traversé tout vécu, depuis le premier jour à l'université jusqu'à aujourd'hui chacune de mes victoires aura été en partie grâce à elle mon amie, Enfin le **Dr. merzoug yahiaoui** décédé mais dont l'existence restera à jamais gravé dans ma réussite

Belkis

Dieu soit loué, dont la grâce de bonnes actions s'accomplit." Après un voyage d'étude qui a entraîné beaucoup de difficultés, d'épreuves et de fatigue, nous en récoltons aujourd'hui les fruits. Dieu soit loué. Je dédie ma remise de diplôme à mon espérance pour la vie, le confort de mes yeux, et le secret de ma réussite. J'écris des mots sans regret et à tous ceux qui m'ont appris une lettre. Je dédie ce succès à mes amis d'enfance comme je le dédie aux étudiants en biologie en général et à ceux qui ont étudié avec moi et me connaissais en particulier.

Miloud

Liste des figures

Figure 01 : représentent la famille Apiaceae.....	2
Figure 02 : la Répartition géographique des Apiaceae dans le monde	3
Figure 03 : la Répartition du genre <i>Bunium</i> . La zone de coexistence des espècesmonocotylédones et dicotylédones est la plus foncée.....	4.
Figure 04 : l'espèce <i>Bunium mauritanicum</i>	5
Figure 05 : les différentes classes des composées phénoliques.	8
Figure 06 : deux exemples des flavonoïdes	9
Figure 07 : deux exemples de tannins hydrolysables.....	10
Figure 08 : Exemple de structure d'un tannin condensé	11
Figure 09 : La structure de la lignine	12
Figure 10 : la structure chimique de coumarine.....	14
Figure 11 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes.....	16
Figure12 : image présente l'espèce <i>Bunium mauritanicum</i>	18
Figure 13 : l'extrait aqueux par infusion.....	19
Figure 14 : image présente le rotavapeur (l'évaporateur rotatif)	24
Figure 15 : l'image présente l'extraction par l'Acétate d'éthyle.....	25
Figure 16 : l'image présente l'extraction par n - butanol.....	26
Figure 17 : Réaction du piégeage du radical libre DPPH 2,2-diphényl-1-pyrcril-hydrazyl par un antioxydant	30
Figure 18 : chromatographie sur couche mince de l'extrait brute et d'acétate et de n-butanol	42

Figure 19 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques	44
Figure 20 : courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes	45
Figure 21 : Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait méthanolique de l'espèce <i>bunium mauritanicum</i> (les tubercules).....	46
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de Trolox	46
Figure 23 : les résultats de l'activité antibactérienne selon la méthode de diffusion sur puits d'agar.....	59
Figure 24 : les résultats de l'activité antifongique	5.

Liste des tableaux

Tableau 01: La classification de l'espèce <i>Bunium mauritanicum</i>	6
Tableau 02: La composition chimique <i>Bunium mauritanicum</i>	6
Tableau 03: la Classification des terpénoïdes.	17
Tableau 04: Tableau : résumer les étapes de dosage des polyphénols.	28
Tableau 05: Caractéristiques et pouvoirs pathogènes des souches bactériennes testées.	33
Tableau 06: montre les résultats fortement positifs.	36
Tableau 07: montre les résultats moyennement positifs	37
Tableau 08: montre les résultats faiblement positifs.	38
Tableau 09: montre les résultats négatifs.	41
Tableau 10: les résultats des tests chromatographique CCM.	43
Tableau 11: relation entre la fluorescence sous UV et les flavonoïdes.	43

Liste des abréviations

- **%**: Pourcentage.
- **°**: Degré.
- **C°**: Degré Clesius.
- **DPPH**: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.
- **g**: Gramme.
- **IC₅₀**: Concentration inhibitrice 50 %.
- **Mg**: Milligramme.
- **min** : Minute
- **ml** : Millilitre.
- **mm**: Millimètre.
- **nm**: Nanomètre.
- **R²**: Coefficient de corrélation.
- **UV**: Ultra-Violet.
- **liq – liq** : liquide liquide.
- **RF** : la distance parcourue par le composé.
- **V**: volume.
- **BAW** : les solvants organiques (n butanol- acétate d'éthyle -l'eau).
- **CCM** : Chromatographie sur couche mince.
- **EAGmg/g** : Equivalent acide ascorbique par gramme.

Sommaire

Remerciement

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

Chapitre 01 : **étude bibliographique**

I. Généralités sur la plante étudiée	1
1. Définition de la famille Apiaceae	1
1.1 Caractéristiques botaniques des Apiaceae	1
1.2 Distribution géographique	3
1.3 Intérêt économique	3
1.4 Le genre <i>bunium</i> L.....	3
1.5 <i>Bunium mauritanicum</i>	4
1.5.1 Nomenclature.....	4
1.5.2 Description botanique de l'espèce <i>bunium mauritanicum</i>	4
1.5.3 La classification de l'espèce <i>bunium mauritanicum</i>	5
1.5.4 La composition chimique <i>Bunium mauritanicum</i> L	6
1.5.5 L'utilisation traditionnelle	6
I.2. Les métabolites secondaires	6
2.1. Les composés phénoliques.....	7
2.1.1 Les flavonoïdes.....	8
2.1.2 Les tanins.....	9

2.1.3 Les lignines.....	11
2.1.4 Coumarine	12
2.2 Les Alcaloïdes	14
2.2.1 La classification des alcaloïdes.....	14
2.2.2 Structure des alcaloïdes	15
2.2.3 Le rôle des alcaloïdes.....	16
2.3. Les terpénoïdes	16
2.3.1 Classification des terpénoïdes	17
2.3.2 Le rôle des terpénoïdes.....	17

Chapitre02 : Matériel et Méthodes

II.Matériel et Méthodes	18
1. La récolte de la plante	18
2. préparations de l'échantillon	18
3. Analyses qualitatives	18
3.1 Criblages phytochimique.....	18
3.1.1 Préparation d'extrait aqueux par infusion	18
3.1.2 Les tests de screening phytochimique	19
3.2 Extraction des composés actifs.....	23
3.2.1 Extraction solide –liquide.....	23
3.2.2 Extractions liquide-liquide.....	24

3.3. Analyse chromatographique sur couche mince	26
3.3.1 Mode opératoire.....	27
4. Analyse quantitative des composés photochimiques	27
4.1 Dosages des composés phénoliques	27
4.2 Dosages des flavonoïdes	28
5. L'étude des activités biologiques	29
5.1 L'étude de l'activité antioxydant.....	29
5.1.1 Piégeage du radical DPPH.....	30
5.1.2 Protocol.....	30
5.1.3 Évaluation du potentiel antiradicalaire : calcul IC ₅₀	31
5.2 L'étude l'activité antibactérienne	31
5.2.1 La Description des souches bactériennes choisies.....	32
5.2.2 Préparation de l'extrait	33
5.2.3 Enrichissement de la bactérie	33
5.3L'étude de l'activité antifongique	33
5.3.1Le fongique choisie.....	34
5.3.2. Préparation de l'extrait	34
5.3.3. Protocol.....	34

Chapitre03 Résultats et Discussion

1. Les résultats Analyses qualitatives et quantitatives des composants photochimiques	35
1.1 Les résultats des tests.....	35

1.2 Les résultats d'analyse chromatographique sur couche mince	41
1.3. Résultats de dosage des polyphénols totaux	44
2. Les résultats les activités biologiques	45
2.1 Résultat et discussion Activité Antioxydant	45
2.2 Résultat et discussion anti bactérienne	48
2.3 Résultat et discussion antifongique	59
Conclusion	50

Les références bibliographiques.

Résumé.

Chapitre01 : étude bibliographique

I.1. Généralités sur la plante étudiée

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les Régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes,

Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines.

Dans ce contexte, le choix de notre plante s'est basé sur leur utilisation fréquente dans nos traditions usages, afin de revaloriser et redécouvrir notre patrimoine national.

1. Définition de la famille Apiaceae

Les Apiacées anciennement appelées Umbellifères, comprennent environ 3.000 espèces se répartissant dans toutes les régions tempérées mais surtout dans l'hémisphère Nord. C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres (**Filliat, 2012**).

1.1 Caractéristiques botaniques des Apiaceae

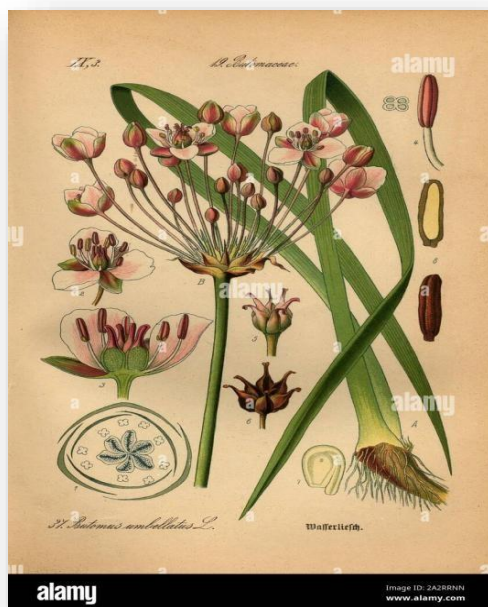
Plante herbacées à lianes, buissons ou arbres, aromatiques ; tiges à entre-nœuds souvent creux ; à canaux sécréteurs contenant des huiles essentielles et des résines, des saponines triterpéniques, des coumarines des polyacétylènes falcarinone, des monoterpènes et des sesquiterpènes ; à umbelliférose (un trisaccharide) comme matière de réserve (**Christophe et al., 2002**).

Poils variables, certains pouvant être aiguillonnés. Feuilles alternes, composées pennées ou palmées, à simples, et alors profondément découpées ou lobées, entières ou dentées serrées à nervation pennée à palmée ; à pétioles engainants ; stipulées ou exstipilées inflorescences déterminées, modifiées et formants des ombelles simple, celles-ci disposées .Celle-ci disposées en ombelles, racèmes, épis ou panicules, parfois condensées en capitules, souvent sous-tendues par un verticille de bractées, terminales (**Christophe et al., 2002**).

Fleurs généralement hermaphrodites, mais parfois unisexuées (et alors plantes monoïques ou dioïques), généralement actinomorphes, petites. Sépales généralement 5, libres, très réduits (Christophe et al., 2002).

Pétales généralement 5, parfois plus libres, mais se développant sur un primordium annulaire, parfois nettement soudés, souvent infléchis, imbriqués à valvaires. Étamines 5, mais parfois nombreuses ; à fichiers libres ; grains de pollen généralement tricolporés. Carpelles généralement 2-5, rarement nombreuses, soudées ; ovaire inférieur, à placentation Généralement axile ; styles + renflés à la base, formant un organe nectarifère (le stylopode) au sommet de l'ovaire ; stigmates généralement 2-5, réduits, capités à tronqués, ovules 1 par log, unitégumentés et ténuinucellés ou plus rarement crassinucellés. Fruit une drupe à 2-5 noyaux, ou un diakène0.

Les deux méricarpes fixés sur un axe central (carpophore) entier à profondément bifurqué ; canaux à huiles essentielles, globuleux à allongés, souvent présents sur les diakènes ; surface du fruit lisse à côtelée, parfois couverte de poils, écailles, ou soies, parfois comprimée à ailée albumen à acide pétrosélinique. Formule florale : $*$, 55, 5, 2-5 ; drupe, diakène (Christophe et al. 2002).



Figures 01: La fleur de la famille apiaceae (Christophe et al., 2002).

1.2 Distribution géographique

Quasi cosmopolites, différenciées depuis les régions tropicales jusqu'aux régions tempérées

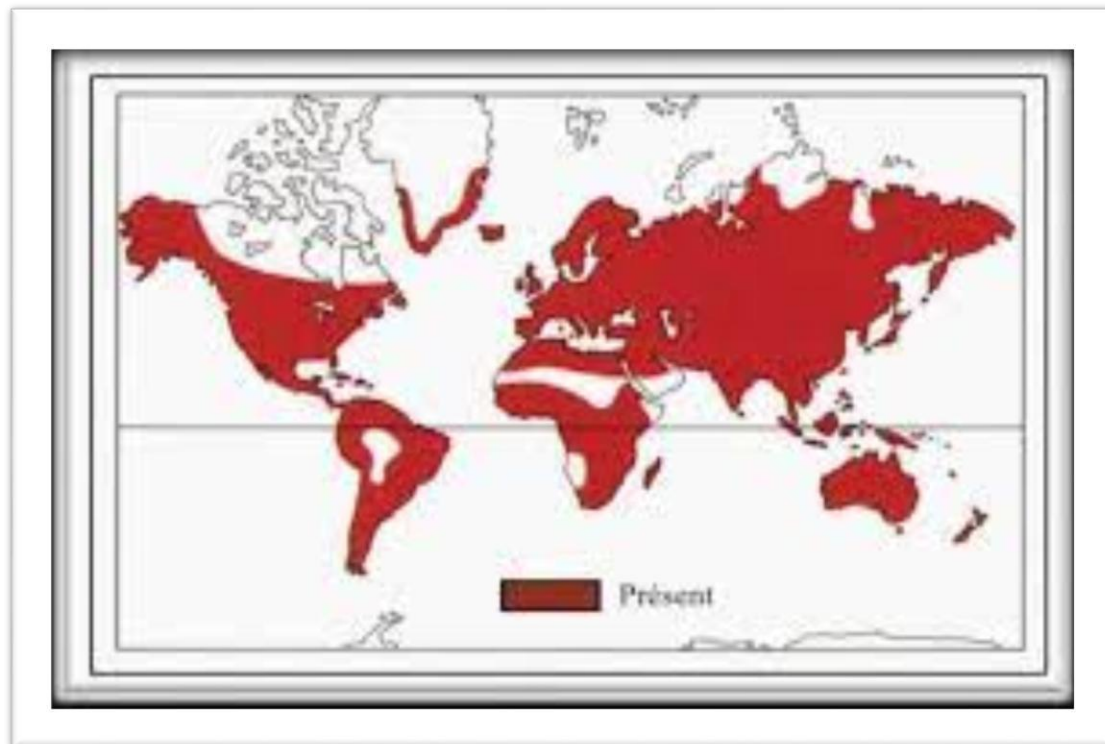


Figure 02 : Répartition géographique des Apiaceae dans le monde (Heywood, 1996)

1.3 Intérêt économique

Les Apiaceae renferment de nombreuses plantes alimentaires et aromatiques : *Anethum* (l'aneth), *Apium* (le céleri), *Carum* (le carvi), *Coriandrum* (le coriandre), *Cuminum* (le cumin), *Daucus* (la carotte), *Foeniculum* (le fenouil), *Pastinaca* (le panais), *Petroselinum* (le persil) et *Pimpinella* (l'anis).

Certains genres sont cependant très toxiques, comme *Conium* (la ciguë, dont on dit qu'elle a été utilisée pour le suicide de Socrate), et *Cicuta* (la ciguë vireuse). *Panax quinquefolia* et *P. ginseng* (le ginseng) (Christopher et al., 2002).

1.4. le genre *bunium* L

Le genre de taille moyenne *Bunium* L. (Apiaceae–Apioidae Seem.), avec environ 50 espèces, est réparti en Asie, en Europe et en Afrique du Nord. Tous les *Bunium* spp.

Sont des géophytes arides ou subarides. Ils ont des racines de stockage tubériformes, des segments primaires pétiolulés de limbes foliaires bi- ou tripinnatifides, des calices sans dents et des pétales blancs avec des lobes terminaux infléchis.

Les fruits ne sont pas significativement comprimés dorsalement ou latéralement. Ils ont des côtes carénées ou filiformes plus ou moins égales, aucun élément lignifié particulier dans le mésocarpe et l'endosperme est aplati du côté commissural (**degtjareva, et al . 2009**).

Espèce : *Bunium mauritanicu m L*

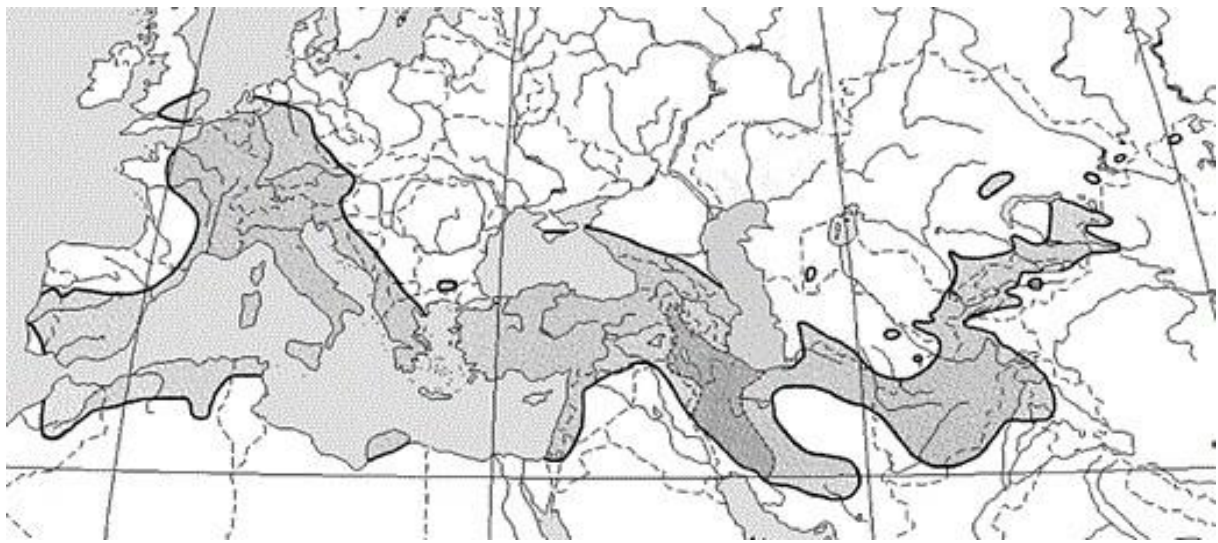


Figure 03 : la Répartition du genre Bunium. La zone de coexistence des espèces monocotylédones et dicotylédones est la plus foncée (degtjareva, G. et al .2009).

1.5. *Bunium mauritanicum* L

1.5.1. Nomenclature

- *Bunium incrassatum sensu* H.J.Coste
- *Bunium incrassatum* Lange
- *Carum incrassatum* Boiss.
- *Bunium pachypodum* P.W.Bal (**Julve, 2021**).

1.5.2. Description botanique de l'espèce *bunium mauritanicum* :

Plante vivace de 40-60 cm, glabre, à racine grosse, d'abord globuleuse, puis irrégulièrement dressée, raide, sillonnée-anguleuse au sommet, à rameaux dressés feuille bi-tripennatiséquées,

à lanières linéaires, les caulinaires sessiles sur une gaine allongée ombelles à 7-14 rayons inégaux,

Les fructifères rigides, épais, divariqués-ascendants involucre à 6-8 folioles lancéolées linéaires calice à dents courtes et raides styles arqués-divergents, à peine plus longs que le stylopode pédicelles et carpophores très épaissis après la floraison fruit linéaire-cylindrique, à méricarpes non contigus, à côtes carénées, aiguës. Floraison Mai-juillet (Julve, 2021).



Figure 04 : L'espèce *bunium mauritanicum*

1.5.3. La classification

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	bunium
Espèce	bunium mauritanicum

Tableau 01 : La classification de l'espèce *bunium mauritanicum* (Julve, 2021)

1.5.4. La composition chimique

Eau	15.66
cendres	5.50
Matières azotées	7
Matières grasses	1.34
Amidon et congénères	63.12
Cellulose	6.40
Matières non-dosées	0.98

Tableau 02 : La composition chimique *Bunium mauritanicum* (Abderahmane .2018) :

1.5.5. L'utilisation traditionnelle

Talghouda / Targhouda, ou “Noix ou gland de terre” est une plante familière des milieux ruraux dans toutes les régions du tell en Algérie.

Elle évoque pour certains une source alimentaire remarquable mais pour d'autre, un symbole de misère qui rappelle la famine des années de disette en particulier durant la deuxième guerre mondiale et la période de révolution nationale.

De nos jours, elle intéresse certains cueilleurs herboristes pour son usage thérapeutique.

Par contre, elle cache une qualité nutritive et peut avoir un double intérêt pour sa valorisation. Elle pourrait être vue comme une culture adaptée pour les régions de montagne et possède également un trésor à creuser pour le traitement du goitre et le dysfonctionnement de la thyroïde (Abderahmane .2018).

I.2. Les métabolites secondaires

Sont soit des produits terminaux ou de déchet du métabolisme primaire, soit des substances des réserves sujettes à une mobilisation réorientée.

Ils sont considérés comme étant l'expression d'une spécialisation des cellules, initiée par le processus de différenciation au cours du développement de la plante. Ils trouvent leur origine dans des produits du métabolisme des glucides, des lipides et des acides aminés. Ils peuvent être divisés principalement en 3 grandes familles : les terpènes, les composés phénoliques et les substances azotées (**Marouf et al., 2007**).

Ces métabolites s'accumulent dans les plantes en petites quantités, parfois dans des cellules spécialisées, ce qui rend leur extraction difficile et onéreuse. De nombreux métabolites secondaires intéressants pour l'Homme : alcaloïdes, substances de croissance des plantes, toxines, antibiotiques, pesticides, pigments, arômes, etc. sont produits actuellement à l'échelle industrielle par culture de cellules végétales dans des bioréacteurs. Ces produits relèvent principalement des domaines pharmaceutiques, agroalimentaire, cosmétique (**Marouf et al., 2007**).

2.1. Les composés phénoliques

Considérés comme des métabolites secondaires, sont présents chez tous les végétaux supérieurs. Ils correspondent à une très large gamme de structures chimiques et sont caractérisés par une répartition qualitative et quantitative très inégale selon les espèces considérées mais aussi les organes, les tissus et les stades physiologiques. Depuis longtemps, le biologiste s'est intéressé aux composés phénoliques en raison de leur participation bien connue à des Sociétés botanique de France 1996. ISSN 1253-8078 structures essentielles comme la lignine, la coloration bleue, rouge ou jaune de certains tissus végétaux (Jean-Jacques Macheix, 1996) (**Jean-Jacques et al., 2005**).

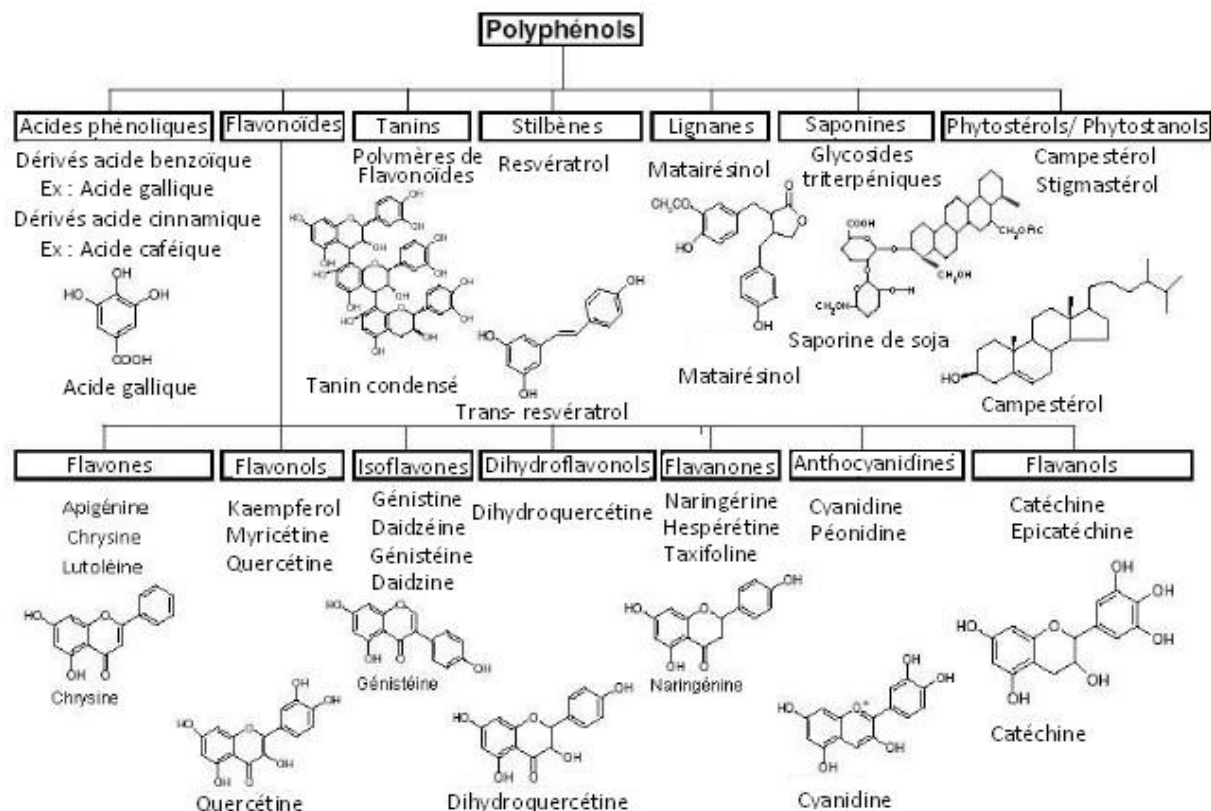


Figure 05 : Différentes classes des composées phénoliques. (Jean-Jacques, .et al., 2005).

2.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques généralement produits par cyclisation intermédiaires dérivé de l'acide cinnamique et de trois molécules de malonyl CoA .ils interviennent probablement pour protéger les plantes des herbivores et contrôler le transport des auxines.

Les flavonoïdes sont beaucoup utilisés en systématique des plantes, probablement parce que leur extraction et leur identification sont assez faciles. On les rencontre chez tous les embryophytes (ainsi que chez algues charophytes) ; ils possèdent divers groupements latéraux insérés sur un système commun de cycles. Bien que surtout utilisés pour estimer les relations entre espèces étroitement apparentées (ou dans les recherches sur la variation infrasécifique), les flavonoïdes sont parfois utiles pour estimer les relations phylogénétiques aux niveaux supérieurs (Bate - Smith 1968 ; Crawford 1978 ; Gornall et al., 1979 ; Harborne and Turner 1984) (Christophe et al., 2002).

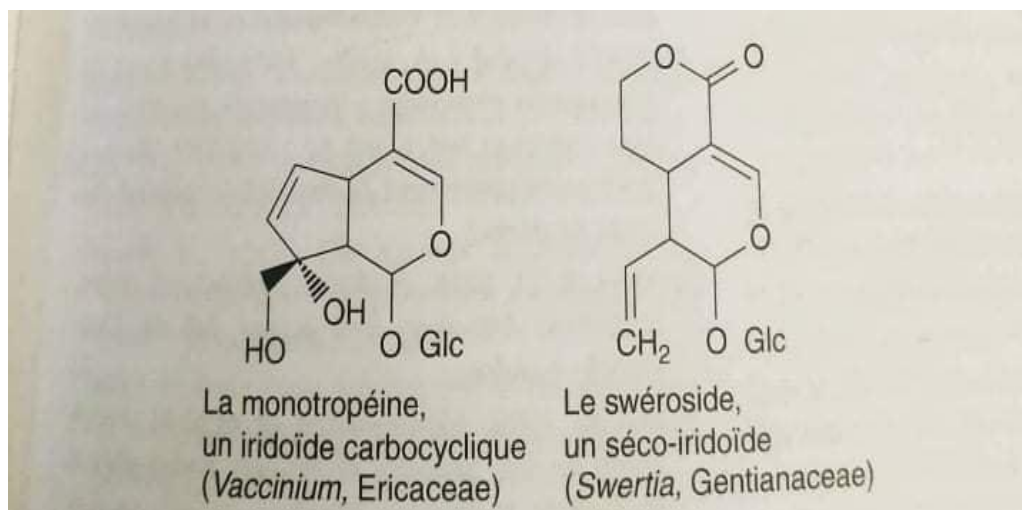


Figure 06 : Deux exemples des flavonoïdes (Christophe et al., 2002).

2.1.2. Les tanins

Utilisés depuis l'Antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux, les tanins ont une importance économique et écologique considérable et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et des produits qui en sont dérivés (vin, thé, bière...).

En première approximation, on peut considérer que les tanins sont des formes Phénoliques condensées capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter. Aussi les premières estimations quantitatives des tanins ont-elles utilisées la condensation avec des protéines modèles : gélatine, albumines, hémoglobine...

Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins différant à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition :

• Les tanins hydrolysables

Sont abondants chez les Dicotylédones et certains arbres en sont des sources Industrielles : tanins de chêne, de châtaignier, tannin de Chine ou de Turquie extraits respectivement d'un arbuste du genre *Rhus* ou de *Quercus* tinctoria*... Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique.

Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (cas des gallotannins comme le tannin de Chine, quelquefois appelé «acide tannique») soit un dimère de ce même acide, l'acide ellagique (cas des tanins ellagiques ou ellagitannins comme ceux du châtaignier).

Une forme simple de tannins hydrolysables est le penta-galloylglucose, molécule très réactive qui est à l'origine de la plupart des formes complexes, par exemple la castalagine chez le châtaignier ou le chêne. **(Jean-Jacques et al., 2005).**

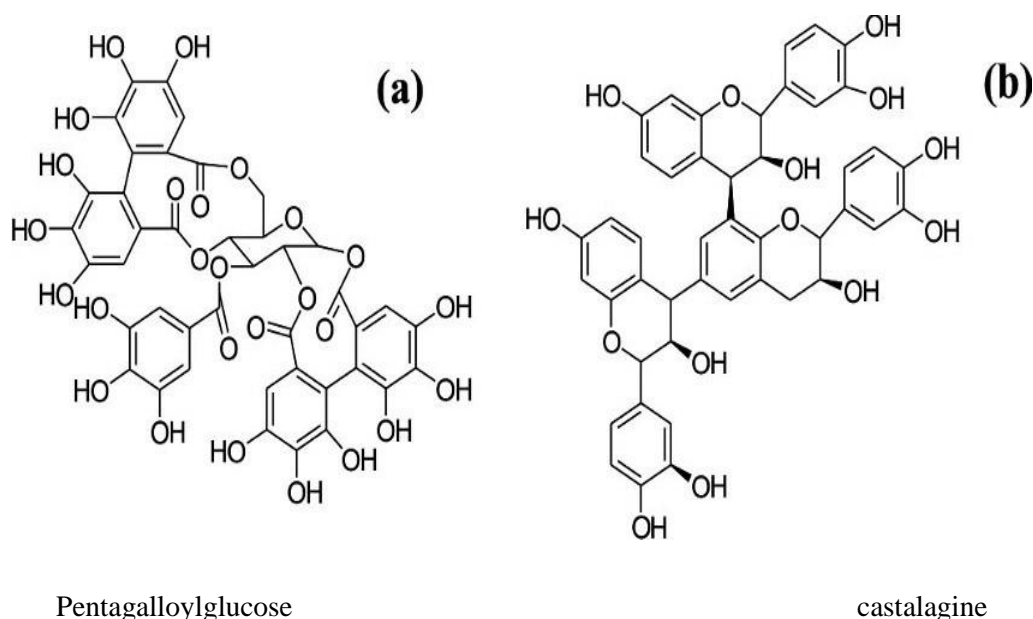


Figure 07 : Deux exemples de tannins hydrolysables. **(Jean-Jacques, et al., 2005).**

• Les tannins condensés

Sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ols (éventuellement de flavane-3,4-diols) dérivés de la (+)-catéchine ou de ses nombreux isomères.

Contrairement aux tannins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Ainsi, par traitement acide à chaud, ils se transforment en pigments rouges et, pour les formes dimères et oligomères sont dénommées «proanthocyanidines».

Les proanthocyanidines dimères présentent déjà une affinité pour les protéines et des propriétés tannantes mais ces deux paramètres augmentent avec la taille moléculaire des polymères qui sont formés par adjonction de nouveaux monomères aux dimères initiaux. **(Jean-Jacques et al., 2005).**

L'enchaînement des différentes unités constitutives se fait soit de manière linéaire grâce à des liaisons C-C soit par des ramifications grâce à des liaisons C-O-C conduisant à des structures de plus en plus complexes qui restent cependant solubles dans l'eau des vacuoles.

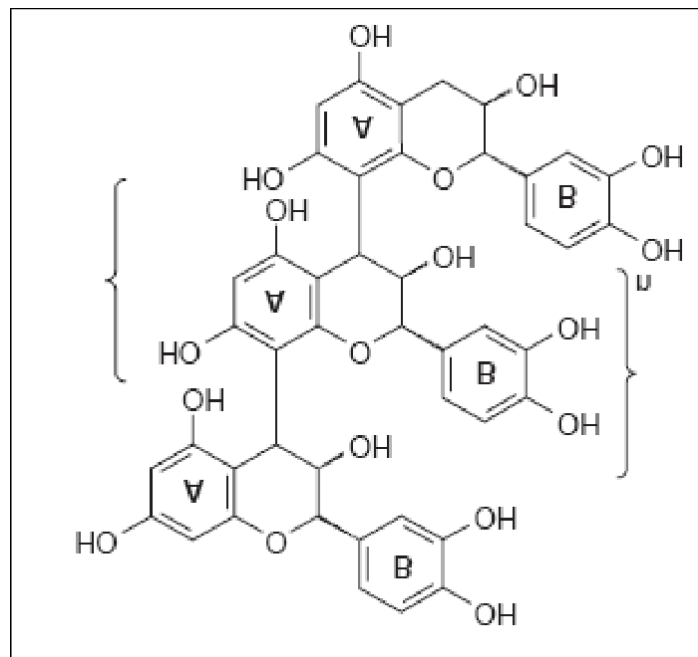


Figure 08 : Exemple de structure d'un tannin condensé. (Jean-Jacques et al., 2005).

Les tannins condensés sont très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme, par exemple de nombreux fruits (pomme, prune, fraise...) ou des boissons fermentées ou non (thé, vin, cidre...).

Dans tous les cas, la matière première végétale de départ, les traitements technologiques et les conditions de conservation du produit influencent fortement la capacité tannante donc ses propriétés organoleptiques. (Jean-Jacques et al., 2005).

2.1.3 Les lignines

Les lignines résultent de la polymérisation tridimensionnelle de trois molécules phénoliques de base dénommés monolignols et qui sont les alcools coumarylique, coniférylique et sinapylique correspondant respectivement aux acides p-coumarique, férulique et sinapique.

Dans le polymère lui-même, les monolignols incorporés sont alors désignés sous le nom d'unités dites H (dérivées de l'alcool p-coumarylique), G (dérivées de l'alcool coniférylique) et S (dérivées de l'alcool sinapylique), unités qui peuvent être dosées après dégradation de la lignine. La relative simplicité de la structure et du nombre des monomères de base contraste

fortement avec la complexité du qui sont beaucoup plus difficiles à dégrader et qui associent des unités dites condensées.

Des approches spécifiques de dégradation permettent de caractériser chacun des deux groupes de liaisons dont la proportion est variable avec la nature des bois et le type d'organe végétal. Là encore, les facteurs hormonaux (auxine, acide abscissique) peuvent jouer sur ce niveau d'hétérogénéité en fait, elle est présente chez toutes les Trachéophytes, arborescentes ou herbacées, dans la mesure où elle est un constituant essentiel de la paroi de tous les systèmes conducteurs de la sève brute. Elle est également constitutive des tissus végétaux présentant une forte résistance mécanique, comme. Les sclérenchymes des chaumes ou le noyau des fruits :

La lignine a un caractère hydrophobe marqué et s'accumule au niveau des parois des cellules du bois ou du sclérenchyme où elle peut être mise en évidence par des colorants d'utilisation quelquefois très ancienne (phloroglucinol chlorhydrique, réactif de Maïle...), chacun de ces réactifs révélant des fonctions chimiques bien définies dans la molécule. (Jean-Jacques et al., 2005).

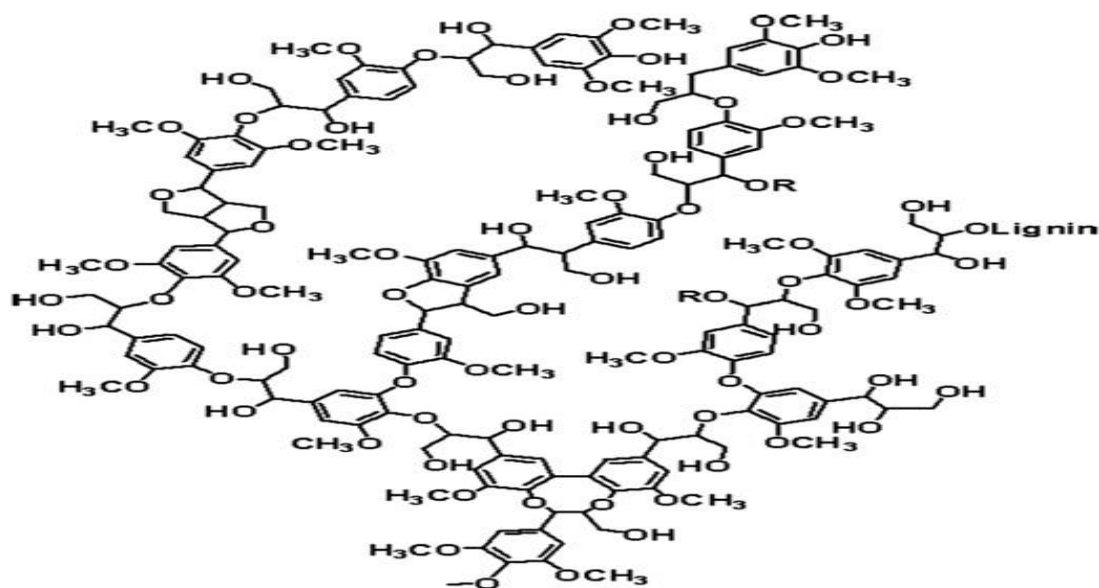


Figure 09 : La structure de la lignine. (Jean-Jacques.et al., 2005).

2.1.4 Coumarine :

Les coumarines présentent toutes une structure composée d'un cycle benzène et d'un noyau lactone (benzo- α -pyrone) formant alors un noyau coumarine simple. À ce noyau peuvent

s'ajouter différents groupements chimiques à l'origine de quatre types de coumarines différentes rencontrées chez les plantes supérieures (**Sahraoui .2018**).

Les coumarines et furocoumarines sont présentes dans toute la plante, mais certains compartiments en contiennent plus que d'autres. Les organes ou tissus comportant le plus de composés sont : les fruits (ex : myrtille, **Venugopala et al., 2013 ; agrumes, Chen et al., 2011**), les graines (ex : fève tonka, Spino et al., 1998 ; graines de psoralée, Jan et al., 2012), les racines (ex : racines d'angélique, (**Zheng et al., 2010; Kim et al., 2014**) et les feuilles (ex : feuilles de pois **Barilli et al., 2015 ; feuilles d'angélique Kim et al., 2014**) .

• **La classification :**

- ✓ Les coumarines simples (benzo- α -pyrones.
- ✓ Les furocoumarines (furobenzo- α -pyrones) qui résultent de la fusion d'un cycle furane en position 6 et 7 (furocoumarines linéaires) ou en position 7 et 8 (furocoumarines angulaires) sur un noyau coumarine simple
- ✓ Les pyranocoumarines (benzodipyran-2-ones) qui résultent de la fusion d'un cycle pyrane sur un noyau coumarine simple, formant alors aussi des pyranocoumarines linéaires et angulaires.
- ✓ Les phénylcoumarines (benzo-benzo-pyrones) qui résultent de la fusion d'un cycle phényl sur un noyau coumarine simple et sont issues du métabolisme de l'isoflavone, contrairement aux autres coumarines qui dérivent toutes de la même voie de biosynthèse. (**Sahraoui .2018**).

• La structure chimique de coumarine

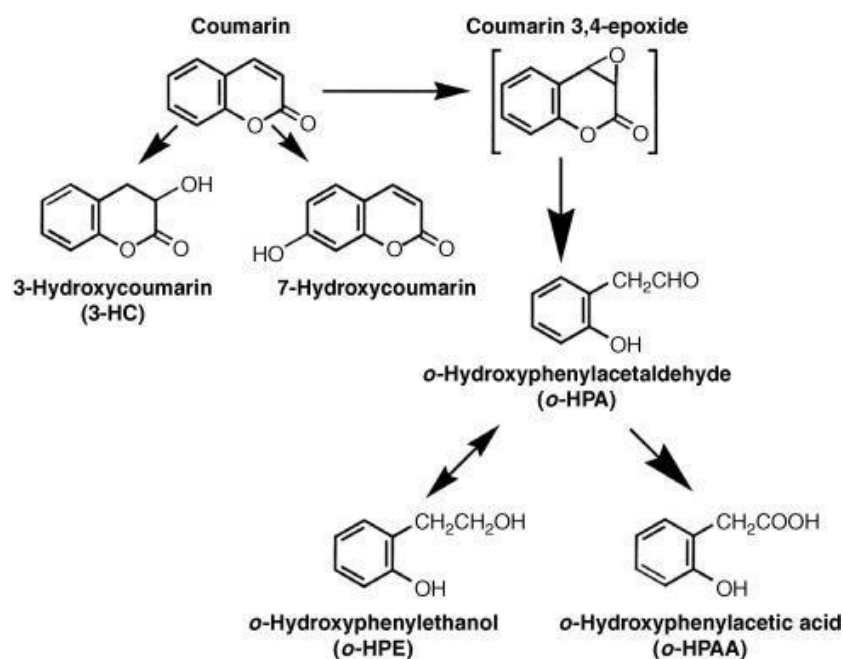


Figure10 : Structure chimique de coumarine (Sahraoui, W.2018).

• Le rôle

Le principal rôle physiologique des coumarines et furocoumarines décrit à l'heure actuelle, réside dans la défense de la plante contre les attaques par des pathogènes ; on les qualifie de phytoalexines. Les pathogènes en question peuvent être assez diversifiés, comme par exemple : Les champignons, les bactéries, les insectes (**Sahraoui .2018**).

2.2 Les Alcaloïdes

Au début du XIX^{ème} siècle, la notion d'alcaloïdes est inventée à partir du mot "alcali" qui signifie "base" et le suffixe "oïde" synonyme de "comme". Il n'existe pas de définition simple, courte et précise de ces molécules et il est parfois difficile de les distinguer des autres métabolites azotés naturels. D'après (**Jean 2009**), les alcaloïdes sont des composés organiques d'origine naturelle, éventuellement reproductibles par voie synthétique, le plus souvent végétale, azotés, plus ou moins basiques.

L'étude sur la localisation et la distribution des alcaloïdes montre qu'ils sont rarement libres dans la plante, ils existent sous forme de glycosides ou de sels d'acide citrique, malique, tartrique, ou combinés avec les tanins (**Jean, 2009**).

2.2.1 La classification des alcaloïdes

• Les alcaloïdes vrais

Il s'agit seulement du règne végétal, ils existent à l'état de sels et sont dérivés d'acides aminés, notamment ceux qui comportent au moins un cycle d'azote y est présent au sein d'un hétérocycle, par exemple : la strychnine dérivée du tryptophane. Les alcaloïdes vrais possèdent un goût amer et apparaissent comme un solide blanc, à l'exception de la nicotine qui est un liquide brun. (Aniszewski , 2007).

• Les proto-alcaloïdes

Ils ne possèdent pas un azote intra-cyclique, ils ont une structure proche des amines (Aniszewski, 2015)

• Les pseudo-alcaloïdes

Sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils dérivent aussi d'acides aminés (Aniszewski, 2007).

2.2.2 Structure des alcaloïdes

Les alcaloïdes ne constituent pas une catégorie définie de composés chimiques en raison de la variété de leurs structures moléculaires. Toutefois, d'une façon constante, ils possèdent un squelette hétérocyclique azoté, si l'on excepte quelques substances où l'azote est extracyclique (colchicine, éphédrine).

La classification la plus accessible est donc fondée sur la nature du système cyclique fondamental de la molécule, mais elle est purement descriptive. Les deux groupes de loin les plus importants sont représentés par les alcaloïdes isoquinoléiques (plus de 1 500) et indoliques (plus de 700) (Aniszewski, 2007).

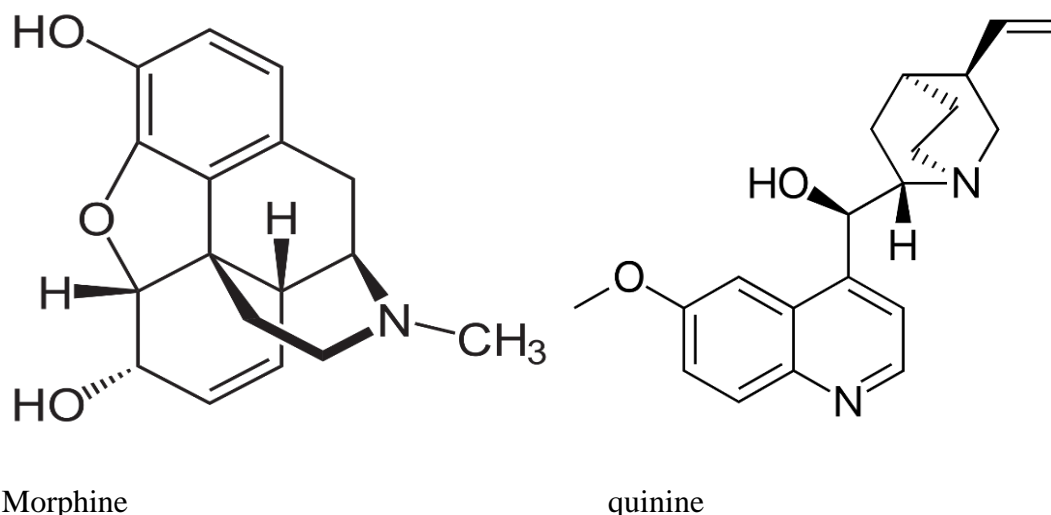


Figure 11 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes (Aniszewski. 2015)

2.2.3 Le rôle des alcaloïdes

Ils ont joué un rôle important dans la découverte des médicaments chimiques (morphine, quinine, cocaïne, atropine...) et dans le développement de l'industrie pharmaceutique en France à la fin du XIXe siècle.

Cela ne les empêche pas d'être encore d'actualité en thérapeutique et de constituer d'importants réactifs biologiques (Aniszewski. 2015).

2.3 Les terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_8)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 .

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (Malecky. 2008).

2.3.1 Classification des terpénoïdes :

Monoterpénoïdes	C10
Sesquiterpénoïdes	C15
Diterpénoïdes	C20
Sesterpénoïdes :	C25
Triterpénoïdes	C30
Caroténoïdes	C40
Polyprénoïdes	C5n

Tableau 03 : la Classification des terpénoïdes (Malecky . 2008)

2.3.2 Le rôle des terpénoïdes :

L'étude des structures, des réactions et des synthèses des terpénoïdes a joué un rôle extrêmement important dans le développement de la chimie organique, de transposition de squelette, de synthèse stéréospécifique, d'analyse conformationnelle, de polymérisation des oléfines, etc., trouvent leur origine immédiate dans l'étude des terpénoïdes.

Ceux-ci constituent l'une des bases des industries des parfums, des arômes, des colorants alimentaires. En outre, ils possèdent parfois des propriétés physiologiques puissantes et spécifiques : vitamines, hormones ou phéromones d'invertébrés, substances de croissance de végétaux, alcaloïdes, antimétabolites. Le nom de terpènes (du nom de l'arbuste méditerranéen le térébinthe, est en principe réservé aux hydrocarbures terpénoïdes en C5, C10, C15, ..., C5n.) (Malecky. 2008).

Chapitre02 : Matériel et Méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel et les produits

1. La récolte de la plante :

La plante a été récoltée au niveau des montagnes de la région de Bordj Bou Arreridj par Dr. Hamdi Bendif en février 2022.

2. préparations de l'échantillon

Après la récolte du matériel végétal (les tubercules), nous avons d'abord les éplucher, ensuite on les nettoie bien par l'eau, après on coupe les tubercules en fragments, en les conservent à température ambiante (20-25°C) pendant environ 3 jour à 5. Après on a broyé les fragments dans un broyeur pour l'obtention d'une poudre fine.



Figure 12 : Image présente l'espèce *Bunium mauritanicum*.

3. Analyse qualitative

3.1 Criblages phytochimique

3.1.1 Préparation d'extrait aqueux par infusion

A l'aide d'une balance, on a pesé 50g du poids sec dissoudre dans un volume de 100 ml d'eau bouillante, on les laisse 30 min sur la paillasse puis on les filtre à fin d'obtenir un extrait aqueux.



Figure 13 : l'extrait aqueux par infusion

3.1.2 Les tests de screening phytochimique :

• Glucosides (test borntrager) :

On met extrait de plante avec la solution de chlorure ferrique, puis on fait une ébullition de 5 min et ont refroidi, ensuite on ajoute un volume égal de benzène. Puis la couche de benzène est séparée.

Enfin on ajoute la solution ammoniacqueLe résultat positif est l'apparition une solution de couleur rose à rouge sang (Tiwari *et al.*, 2011 ; Pandey et Tripathi, 2014).

• Tanin (test na oh)

Dans un tube à essai, on met 0,4 mL ; d'extrait de plante avec 4 mL de NaOH à 10 et on agite bien Le résultat positif est la formation d'émulsion (présence de Tanins hydrolysables (singh et kumar ,2017)

• Les composés phénoliques (test iode)

Dans un tube à essai, on met 1mL d'extrait avec quelques gouttes de Sol d'iode dilué.

Le résultat positif est l'apparition d'une couleur rouge passagère (**Singh et Kumar2017**).

• Les alcaloïdes (test iode)

Dans un tube à essai on met 3mL de la solution (de la plante) et on ajoute quelques gouttes de solution iode. Le résultat positif est l'apparition d'une couleur bleue, qui disparaît à l'ébullition et réapparaît au refroidissement (**Bhatt et Dhyani, 2012 ; Basumatary, 2016**).

• Flavonoïdes (test alcalin)

Dans un tube à essai, on met 1mL d'extrait avec 2mL de solution NaOH à 2% (on ajoute quelques gouttes de l'HCl dilué. Le résultat positif est l'apparition d'une couleur jaune intense, devient incolore par addition acide dilué (**Audu et al. 2007 ; Singh et Kumar, 2017 ; Gul et al. 2017**).

• Glucides (test starch)

On met l'extrait aqueux avec 5mL de solution de KOH à 5%. Le résultat positif est l'apparition d'une coloration cinaire (**Audu, 2007**).

• Phlobotanins (test HCL)

Dans un tube à essai, on met 2mL l'extrait aqueux et on ajoute 2mL de HCl à 1% (déjà bouilli)

Le résultat positif est l'apparition d'un précipité rouge (**Njoku et Obi, 2009 ; Auwal et al ,2014**).

• Saponines (test d'huile d'olive)

Dans un tube à essai, on met l'extrait aqueux et on ajoute 5 ml l'eau distillée on secoue vigoureusement et on rajoute quelques gouttes ; huile d'olive (on secoue vigoureusement).

Le résultat positif est l'apparition de la mousse (**Gul et al. 2017 ; Kumar et al., 2017**).

• Phytostérol test de réponse de hess)

Dans un tube à essai, on met 5mL de l'extrait aqueux et on ajoute 2mL de chloroforme et 2mL de H₂SO₄ concentréLe résultat positif est l'apparition d'un anneau rose ou Couleur rouge (dans la couche inférieure de chloroforme) (**Gul et al., 2017 ; Kumar et Jat, 2018**).

• Anthocyanes (Test de l'HCl)

Dans un tube à essai, on met 2 mL de l'extrait de plante avec 2 ml de HCl 2N (puis on ajoute quelques mL ammoniac) Le résultat positif est l'apparition d'un sol rose-rouge qui vire au bleu-violet après addition d'ammoniac (Obouayeba et al., 2015 ; Savithamma et al., 2011).

• Coumarine (test Na oh)

Dans un tube à essai, on met l'extrait de plante avec du NaOH à 10% et du chloroformeLe résultat positif est l'apparition d'une couleur jaune (**Kumar et al., 2018**).

• Proteine et AA (Test de Xanthoproteic)

Dans un tube à essai, on met l'extrait de plante avec quelques gouttes de l'acide nitrique concentréLe résultat positif est l'apparition d'un sol de couleur jaune (**Silva et al., 2017, Tiwari et al., 2011**).

• Glucosides cardiaques (test de keller-killani)

Dans un tube à essai, on met 1 ml de filtrat avec 1,5 ml d'acide acétique glacial et on ajoute une goutte de chlorure ferrique à 5 % et de l' H₂SO₄ concentré (sur le côté du tube à essai)Le résultat positif est l'apparition d'une solution de couleur bleue (en couche;acide acétique) (**Singh et Kumar, 2017 ; Nanna et al., 2013**).

• Lignine (Test de Labat)

Dans un tube à essai, on met la solution d'extrait avec de l'acide gallique.Le résultat positif est l'apparition d'une couleur vert olive (**Bhatt et Dhyani, 2012 Nanna et al., 2013**)

• Triterpinoïdes (salkowk)

Dans un tube à essai, on met le filtrat (f) et on ajoute quelques gouttes de H₂SO₄ concentré (on secoue bien et on laisse reposer). Le résultat positif est l'apparition d'une couche jaune doré (au fond) (**Singh et kumar ,2017**).

• Terpénoïdes

Dans un tube à essai, on met 2 ml de chloroforme et on ajoute 5 ml extrait de plante (évaporé sur le bain-marie) puis on ajoute 3mL de H₂SO₄ concentré (bouilli au bain-marie). Le résultat positif est l'apparition d'une solution de couleur grise (**Gul et al., 2017**).

• Quinones (HCL)

Dans un tube à essai, on met l'extrait de la plante avec de HCl concentré. Le résultat positif est l'apparition d'une couleur verte (**Basumatary, 2017**).

• Anthraquinones (test bontrage)

Dans un tube à essai, on met quelques mL du filtrat (g) avec 10 mL Sol ammoniac à 10 % puis on secoue vigoureusement pendant 30 secondes. Le résultat positif est l'apparition d'une solution de couleur rose, violette ou rouge (**Njoku et Obi, 2009 ; Gul et al. 2017 ; Uma et al., 2017**).

• Leuconthocyanine (isoamelique)

Dans un tube à essai, on met 5 mL de l'extrait de plante avec 5 ml de l'alcool isoamylique. Le résultat positif est l'apparition d'une couche supérieure rouge (**Savithramma et al . ,2011**).

• Emodine

Dans un tube à essai, on met l'extrait de plante avec 2 mL de NH₄OH et 3 mL benzène. Le résultat positif est l'apparition d'une couleur rouge (**Rauf et al., 2013**).

• Des gommés et mucilage (test l'alcool)

Dans un tube à essai, on fait dissoudre 100 mg l'extrait dans 10 ml l'eau distillée. Puis on ajoute 25 ml alcool absolu (puis on fait une agitation constante). Le résultat positif est l'apparition d'un précipité blanc ou trouble (**Raaman, 2006**).

• Résine (test turbidité)

Dans un tube à essai, on fait dissoudre 1mL l'extrait de plante dans de L'acétone, et on verse dans de l'eau distillée. Le résultat positif est l'apparition d'une turbidité (Pooja et Vidyasagar, 2016).

• Sucre réducteurs (test Fehling)

Dans un tube à essai on met 1 mL du filtrat (b) avec 1 mL de chacune des solutions de Fehling A et B, puis on bouilli au bain-marie. Le résultat positif est l'apparition d'un précipité rouge (Silva et al., 2017; Singh et kumar 2017).

• Cholestérol

Dans un tube à essai, on met 2mL l'extrait et on ajoute 2mL de chloroforme et 10 gouttes anhydride acétique et 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré. Le résultat positif est l'apparition d'une couleur rouge-rose (Jagessar, 2017).

• Acide carboxilique (Test de l'effervescence)

Dans un tube à essai, on met 1 mL de l'extrait de plante avec 1 mL de la solution de bicarbonate de sodium. Le résultat positif est l'apparition d'effervescence (Singh et Kumar, 2017; Kumar et al., 2013).

• Détection des huiles et graisses fixes (test de tache)

On presse une petite quantité l'extrait de plante entre les papiers filtres. Le résultat positif est l'apparition d'une tache huile sur le papier (Raaman, 2006 et Nanna et al., 2013).

3.2 Extraction des composés actifs (les flavonoïdes)

Le but principal de l'extraction par solvant est l'attraction des composés chimiques parmi les autres constituants de la plante à l'aide des solvants de différentes polarités.

3.2.1 Extraction solide –liquide

A l'aide d'une balance analytique, on a pesé 50mg de la plante en poudre, on les mets dans un bécher ; auquel on ajoute le solvant éthanol pendant 24h, ce procédé est répété 3 fois. Le mélange obtenu pour chaque jour subit une filtration avec papier filtre au quelle l'obtention d'un extrait brute.

Les diverses fractions récupérées sont réunies et évaporées sous pression réduite à une température inférieure à 40°C jusqu'à l'obtention d'un résidu sirupeux par rotavapeur.

Après l'évaporation de l'extrait éthanolique, on met l'extrait brute (évaporé) dans un flacon et on l'ajoute 100ml d'eau distillée bouillante, on le conserve à température de 4°C pendant 24h, on obtient donc la phase aqueuse.



Figure14 : Le rotavapeur (l'évaporateur rotatif).

3.2.2 Extractions liquide-liquide

Après l'évaporation de l'extrait éthanolique, on met l'extrait brute (évaporé) dans un flacon et on l'ajoute 100ml d'eau distillée bouillante, on le conserve à température de 4°C pendant 24h, on obtient donc la phase aqueuse.

La phase aqueuse obtenue subit à une extraction liq - liq dans une ampoule à décanter par les solvants suivant :

- **Extraction par l'Acétate d'éthyle**

Il permet d'extraire la majorité des hétérosides et les flavonoïdes pourtant des groupements phénoliques (Acétate d'éthyle est un solvant plus polaire que le chloroforme).

On extrait la phase aqueuse par 100 ml d'acétate d'éthyle, ce procédé est répété 3 fois. Après l'agitation et décantation, on récupère dans un erlenmeyer la phase organique supérieure dont la couleur est jaune (Ben Hamida et Belmiloud, 2008).



Figure 15 : L'extraction par l'Acétate d'éthyle

• **Extraction par n - butanol :**

Il permet d'extraire les alcaloïdes, les flavonoïdes, tanins et saponosides. (Le n - butanol est un solvant organique plus polaires que l'acétate d'éthyle).

On extrait la phase aqueuse par 100 ml de n - butanol traité précédemment 3 fois. Après l'agitation et décantation on récupère dans un erlenmeyer la phase organique supérieure dont la couleur est jaune claire (Ben Hamida et Belmiloud, 2008). On fait l'évaporation de fractions organiques obtenues dans l'évaporateur rotatif à température 40°.



Figure 16 : L'extraction par n – butanol.

3.3 Analyse Chromatographique sur couche mince :

La chromatographie est une méthode analytique largement utilisée pour la séparation, l'identification et éventuellement le dosage des constituants chimiques dans des mélanges complexes (analyse qualitative et quantitative). Les facteurs qui interviennent dans le partage des molécules à séparer entre la phase stationnaire et la phase mobile sont :

La solubilité dans un solvant liquide, la taille (la forme), la polarité, la charge électrique et la présence de groupements d'atomes formant des sites particuliers (**Lagnika, 2006**). Le système choisis :

• Le principe

Dans un support solide remplie d'un solvant (phase mobile) on place un mélange de composés qu'on souhaite séparer et que l'on appelle phase stationnaire.

Par capillarité, la phase mobile se déplace le long de la phase stationnaire (Diallo, 2005) et va entraîner les composés qui migreront à une hauteur variant en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile.

L'identification des composés se fait selon la distance parcourus qu'on appelle rapport frontal RF (RF est le rapport de la distance de migration du composé par rapport à celle du solvant).

3.3.1 Mode opératoire :

Pour la mise en évidence des composés phénolique par la chromatographie sur couche mince, on va suivre le protocole décrit par Wagner (1996) et repris par **Bengag (2009)**.

- On prépare la plaque ccm, on trace 2 lignes inférieure et supérieure en laissant un 1 des bords, à l'aide d'une pipette pasteur on met les spots des fractions (extrait brute, fraction acétate éthyle évaporé, fraction n butanol évaporé) en laissant 1,5 cm entre chaque spot.
- La cuve de migration est partiellement remplie du mélange des solvants choisé (phase mobile BAW 5v.1v.4v) afin qu'elle soit saturée en vapeur d'éluant qui facilite et améliore la migration.
- à l'aide d'une pipette pasteur on dépose les spots des fractions (extrait brute, fraction acétate éthyle évaporé, fraction n butanol évaporé) en laissant 1,5 cm entre chaque spot.
- La plaque est mise en contact avec la phase mobile dans la cuve jusqu'à migration de la phase mobile à 0,5 cm du bord supérieur de la plaque.
- On met la plaque sous l'UV après qu'elle bien sécher à température ambiante.
- On fait la pulvérisation de la plaque par AlCl₃ (réactif des flavonoïdes) pour voir La fluorescence des spots sous l'UV.

4. Analyse quantitative des composés phytochimiques :

4.1 Dosages des composés phénoliques :

Détermination de la teneur phénolique totale (TPC) par dosage de Folin-Ciocalteu. Le test de Folin-Ciocalteu est couramment appliqué pour évaluer le TPC des produits naturels (Singleton et *al.* 1999), avec quelques modifications. Ce test est basé sur l'oxydation des groupements phénoliques par les acides phosphomolybdique et phosphotungstique (réactif FC).

Après oxydation, l'absorbance d'un complexe vert bleu peut être mesurée à 750 nm. Extraits : stock sol, $c=1\% = 0,01\text{ g/ml}$ Nous utilisons $0,1\% = 0,001\text{ g/ml}$ dans MeOH ou H₂O Pour l'analyse, chaque extrait a été préparé à une concentration de 1% dans un solvant approprié.

Solution de Folin-Ciocalteu : a été préparée par dilution stock sol 1v :10 v dans de l'eau. Solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ (7,5 % = 75 g/L) : 7,5 g/100 ml d'eau. Standard : Acide galique : Solution mère 0,5mg/ml dans l'eau.

Différentes concentrations (0-400 mg/l H₂O) ont été utilisées pour l'étalonnage. Blanc : eau

Tableau 04 : Résumé des étapes de dosage des polyphénols

Biesaga et al. 2013	blanc	extraits	standarts
extrait	-	0.2ml	-
Acide Galice 0-400 mg/l	-	-	0.2ml
Réactif de folin-ciocalteu	2ml	2ml	2ml
L'eau	0.2ml	-	-
Solution Na ₂ Co ₃ 7.5	1.8ml	1.8ml	1.8ml
Incubation dans l'obscurité pendant 2h à température ambiante			
L'absorbance a été mesurée à 750nm à l'aide d'un spectromètre			
Volume totale	4ml	4ml	4ml

Courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0,5 _ 0,00048 mg/ml).

4.2 Dosages des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode de colorimétrie au chlorure d'aluminium (Biesaga et al .2013).

Une solution méthanolique de quercétine a été préparée. Des solutions filles préparées à partir de la solution mère à différentes concentrations comprises entre 25 et 200 micro g/ml, permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

Dans un tube on met un volume de 0.5ml d'extrait et on ajoute 0.3ml la solution de NaNO_2 5% en conservant le tube dans l'obscurité pendant 5 min, après on ajoute un volume de 0.3 ml de solution AlCl_3 a 10% plus un volume 2 ml de Naoh ensuite on ajoute immédiatement 1.9 ml l'eau distillé avec agitation vigoureuse .ainsi on obtient un volume totale 5 ml. Puis on le observe dans obscurité à 15 min, pour la lecture de son absorbance dans un spectrophotomètre UV a 510 nm contre un blanc de dépourvue de l'extrait ,on le prépare aussi par mettre un volume de 0.5 ml de méthanol et 0.3 ml de solution na no2 5% on le laisse dans l'obscurité pendant 5 min après on ajoute 0.3 ml de solution de AlCl_3 a 10% et 2ml de NaoH après on met immédiatement 1.9 ml d'eau distillé avec agitation vigoureuse ,ainsi on obtient un volume totale 5ml en le conservant dans l'obscurité pendant 15 min.la lecture ça sera dans spectrophotomètre UV a 510 nm.

La quercetine a été utilisé comme un standard de référence pour la quantification de la teneur des flavonoïdes totaux. Dans un tube on prend un volume 0,5 ml de quercetine, on le met dans un tube, et on l'ajoute 0,3ml de solution de NaNO_2 5% puis on incube 5 min dans l'obscurité. Après on l'ajoute 0,3 ml de AlCl_3 10%, plus 2 ml de solution de NaoH. Ensuite on ajoute immédiatement 1,9ml d'eau distillée et on agit vigoureusement, on obtient un volume total 5 ml La lecture de standard sera réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre UV à 510 nm.

5. l'étude des activités biologiques

5.1 L'étude de l'activité antioxydant

La plante, tout comme tout être vivant, consomme beaucoup d'énergie au cours de son développement, enregistrant une forte consommation d'oxygène et produisant par conséquent des radicaux libres (**Alitonou et al., 2004**), ce qui induit un mécanisme de défense réactionnelle par la production d'antioxydants naturels, entre autres les composés phénoliques.

À cet effet, le monde végétal a largement été exploré pour ses potentialités antioxydantes par le fait que les composés phénoliques y sont fortement répandus et sont donc à ce titre sources potentielles d'antioxydants. Les extraits végétaux naturels à usage antioxydant auraient des

propriétés biologiques pouvant contribuer à réduire le risque de certaines pathologies (DeReynal et Multon, 2009).

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques purs ou des extraits. Dans notre étude, nous avons utilisé test chimiques à savoir le piégeage du radical libre DPPH.

5.1.1 Piégeage du radical DPPH

Piégeage du radical DPPH Le test DPPH a été largement utilisé pour évaluer l'efficacité de piégeage des radicaux libres de diverses substances antioxydantes (Knežević et al., 2011). Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le radical libre 2,2-diphényl-1-pycrid-hydrazyl, soit par un mécanisme de libération d'un atome d'hydrogène du groupement hydroxyle, soit par libération d'un électron. Le radical a un maximum d'absorption mesurable par spectrophotométrie à 517 nm et sa neutralisation par un antioxydant peut-être facilement suivie par spectrophotométrie UV/vis (Afonso et al., 2016).

L'avantage de cette méthode est que le radical libre de DPPH peut rester lentement en contact avec la totalité de l'échantillon pendant suffisamment de temps, lui permettant ainsi de réagir même avec des antioxydants faibles (Prakash, 2001).

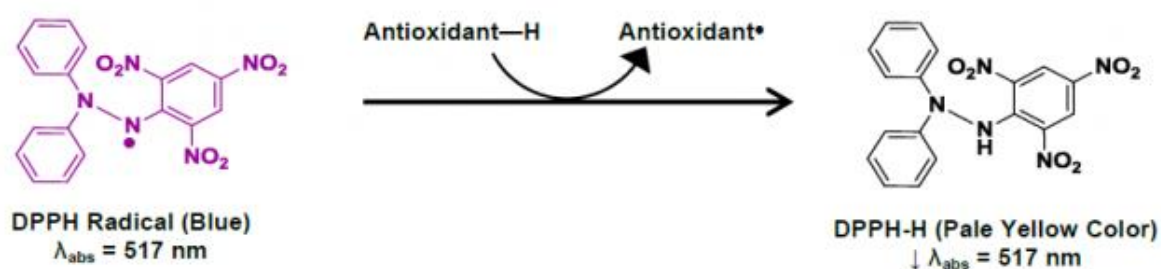


Figure 17 : Réaction du piégeage du radical libre DPPH 2,2-diphényl-1-pycrid-hydrazyl par un antioxydant (Pisoschi et al., 2009).

5.1.2 Protocol

L'activité antiradicalaire des différents extraits a été déterminée selon la méthode de Sánchez-Moreno (2002). Pratiquement, une solution de DPPH à 0.2 mM est fraîchement préparée dans le méthanol. Un volume de 50 μL des solutions des extraits et de l'antioxydant

de référence à différentes concentrations, est ajouté à 1.95 ml de DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 515 nm contre un blanc de méthanol. Le contrôle négatif contient tous les réactifs à l'exception de l'extrait à tester qui est remplacé par un volume égal de méthanol. La solution de l'antioxydant de référence (acide ascorbique) représente le témoin positif.

Le pourcentage de l'activité antiradicalaire, exprimé en pourcentages d'inhibition est estimé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ PI} = \{(\text{Abs}_{\text{Contrôle}} - \text{Abs}_{\text{Extrait}}) / \text{Abs}_{\text{Contrôle}}\} \times 100\%$$

% PI : Pourcentage d'inhibition.

Abs_{Contrôle} : Absorbance du contrôle négatif.

Abs_{Extrait} : Absorbance de l'extrait.

5.1.3 Évaluation du potentiel antiradicalaire : calcul IC₅₀

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC₅₀. Ce paramètre employé pour estimer le pouvoir antioxydant est défini comme étant la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Les IC₅₀ sont déterminés graphiquement par les régressions linéaires ou logarithmiques des graphes tracés (pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait).

Le pouvoir antiradicalaire est inversement proportionnel à l'IC₅₀ (**Prakash et al., 2007**).

5.2 L'activité l'étude antibactérienne

Nous avons étudié in -vitro le pouvoir antibactérien d'extrait de la plante contre les souches de référence *pseudomonas aeruginosa*, *staphylococcus aureus*, *escherichia coli* en utilisant la technique de la d'effusion en puis sur un milieu gélosé solide (gélose nutritif).en suivant le protocole (**Iqbal .2017**) avec quelque modification.

L'activité antibactérien d'extrait est valorisé par le diamètre des zones d'inhibition autour des puis contenant l'extrait a testé.

5.2.1 La Description des souches bactériennes choisies

On a évalué l'activité antibactérienne in vitro en utilisant trois souches bactériennes de références préparées au niveau de laboratoire microbiologie de l'université de m'sila

Tableau 06 : Caractéristiques et pouvoirs pathogènes des souches bactériennes testées.

Espèces	Caractères bactériologiques	Habitat / hôte	Caractéristiques / Boudoir pathogène
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	Bacille aérobie Gram négatif	Eau et sols humides Surface des végétaux. (germe ubiquitaire).	Responsable d'infections nosocomiales. Infections urinaires, oculaires et pulmonaires. C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	Cocci, Gram positif.	Ubiquitaire, Les fosses nasales, La gorge, Le tube digestif.	Commensal de l'homme et se révèle être pathogène opportuniste. Responsable d'infections nosocomiales, d'intoxications alimentaires et sa résistance aux antibiotiques est parfois un grand problème pour le traitement des patients.

<i>Escherichia coli</i> ATCC2592	Bacille aérobie Gram négatif.	Tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud	Septicémie du nourrisson, de plaies opératoires et gastroentérites. Douleurs abdominales et des diarrhées sanglantes.
-------------------------------------	-------------------------------	--	--

5.2.2 Préparation de l'extrait

Dissoudre 20mg d'extrait brute dans 2ml d'éthanol dans un tube, agitation vigoureusement.

5.2.3 Enrichissement de la bactérie :

Dans un tube on met un volume de bouillon nutritif, et on ajoute une colonie de bactérie à l'aide d'une anse de platine. En les incubant dans l'étuve 37° à 24h ces pour le 1^{er} jour. Le 2^{eme} jour on ajoute une goutte de solution (bouillon +bactérie) par une micropipette stérile dans une boîte pétri remplis par du milieu GN (gélose nutritive).

En les incubant 24h dans l'étuve température 37°c pour les bactéries, Le 3^{eme} jour, on met 9ml d'eau physiologique stérile dans un tube. On isole une colonie de bactérie par un écouvillon et en la met dans le tube qui contient l'eau physiologique stérile. On fait la comparaison les tubes des bactéries avec le tube de Mc Farland pour ajuster la turbidité des suspensions bactériennes. On coule la gélose nutritive liquide dans les boîtes pétrie jusqu'à le volume 20 ml. On laisse les milieux gélifiés. Écouvillonnage des bactéries par l'écouvillon dans les boîtes pétries .on a perforé 3puis.En lesincubant dans le frigidaire pendant 2h à 4°. On dépose 20 micros litre d'extrait par une micro pipette dans chaque puis. En les incubant dans l'étuve 37° pendant 24h pour les souches bactériennes. On mesure les zones d'inhibition par une règle graduée.

5.3L'activité antifongique

L'activité antifongique de l'extrait éthanolique de l'espèce *bunium mauritanicum* a été évaluée in vitro en utilisant la levure *candida albicans* (ATCC10231) préparé au niveau de laboratoire de microbiologie de l'Université de M'sila. Elle est réalisée selon la méthode de la diffusion en milieu gélosé solide, en suivant le protocole d'Iqbal et al avec quelques modifications. (Iqbal, et al ., 2017).

5.3.1 Le fongique choisie

Candida albicans est un champignon bidimensionnel qui provoque des maladies diffuses et localisées chez différentes personnes et est l'une des principales causes d'invalidité chez les patients dont le système immunitaire est affaibli.

5.3.2 Préparation de l'extrait

Dissoudre 20mg d'extrait brute dans 2ml d'éthanol dans un tube, agitation vigoureusement.

5.3.3 Protocol

On met dans un tube stérile un volume de bouillon nutritif et on ajoute une colonie de *C.albican* puis on l'incube dans l'étuve à température 25C° pendant 48h, après l'incubation on met le milieu saboraud liquide dans la boîte pétri jusqu'à le volume 20 ml en ajoutant une goutte de solution (bouillon +levure) par une micropipette stérile et on agit bien après qu'il devient sous forme d'un gel on l'incube à 25C° pendant 48 h . On met dans tube à essai 9ml de l'eau physiologique stérile et à l'aide d'un écouvillon on ajoute une colonie de levure dans le tube en ajustant la suspension microbienne par un spectrophotomètre à longueur d'onde 530 nm avec intervalle compris entre [0,12_0,15] l'équivalent de $1_5 \times 10^6$ UFC/ ml (**Pfaller et al.,1988**).

On a écoulé le milieu saboraud liquide dans une boîte pétri stérile et on le laisse jusqu' il devient sous forme d'un gel, à l'aide d'un écouvillon On fait écouvillonnage de *C.albicans* à l'abri de toute contamination puit, on creuse le milieu par la tête d'une pipette pasteur stérile en faisant trois puits, on incube la boîte pétri 2h à température 4C°. On ajoute 30 microlitres de l'extrait dans chaque puits après on ferme la boîte pétri et on l'incube dans l'étuve à 25C° pendant 48h.

La lecture de résultat se fait en mesurant la Zone d'inhibition de chaque puits par une règle graduée.

Chapitre03 : Résultats et Discussion




Chapitre03 : Résultats et Discussion**1. Les résultats Analyses qualitatives et quantitatives des composants actifs**






L'étude phytochimique qualitative permet de détecter les différentes familles chimiques présentes dans les tubercules de l'espèce *Bunium mauritanicum* par des réactions de coloration et de précipitation et des observations.

1.1 Les résultats des tests

- Une réaction franchement positive






Tableau 07 : les résultats fortement positifs.

Glucoside			
Saponines			
Glucosides cardiaques			

<p>Terpénoïdes</p>			
<p>Des gommés et mucilage</p>			
<p>Résine</p>			
<p>Sucre réducteurs</p>			
<p>les huiles et graisses fixes</p>			

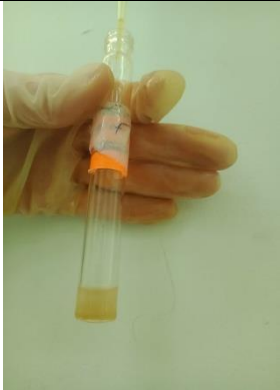


- Une réaction moyennement positive

- **Tableau 08** : montre les résultats moyennement positifs.

Tanin			
Les composés phénoliques			
Les alcaloïdes			
Phytostérol			
Protéine et AA			



- Une réaction faiblement positive :






Tableau 09 : les résultats faiblement positifs.

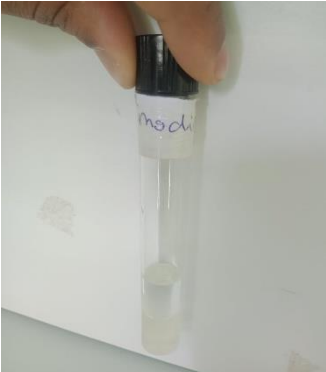
Flavonoïdes			
Glucides			
Triterpénoides			

- L'absence de la substance

Tableau 10 : les résultats négatifs.

Phlobotanins			
Anthocyanes			
Coumarine			
Lignine			

<p>Quinones</p>			
<p>Anthraquinones</p>			
<p>Leuconthocyanine</p>			
<p>Cholestérol</p>			
<p>Acide carboxylique</p>			

Emodine	
----------------	--

L'examen phytochimique réalisé sur les tubercules de l'espèce *bunium mauritanicum* a révélé la présence et l'absence des différentes substances.

On a remarqué la présence des glucides, les saponosides, les sucres réducteurs, les glucosides cardiaque, les terpénoides, les gomme et mucilage..., On a remarqué également l'absence totale des anthocyanes, les coumarines, les quinones, lignines, Emodine, l'acide carboxylique...

Tandis que le criblage phytochimique a Montré aussi des résultats faiblement positifs consternant les substances suivant : les flavonoïdes, les protéines et acides aminés, les phytostéroles, les glucides ... En remarquant l'apparition d'un faible résultat par rapport les données de protocole.

1.2 Les résultats d'analyse chromatographique sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une technique de séparation qui nous a permis d'avoir une idée sur la nature des différents composants de nos extraits examinés.

Le système utiliser (la phase mobile) BAW a donné des bons résultats visuels sous UV, apparus sous forme de spots et ont différents couleurs, rapports frontale.

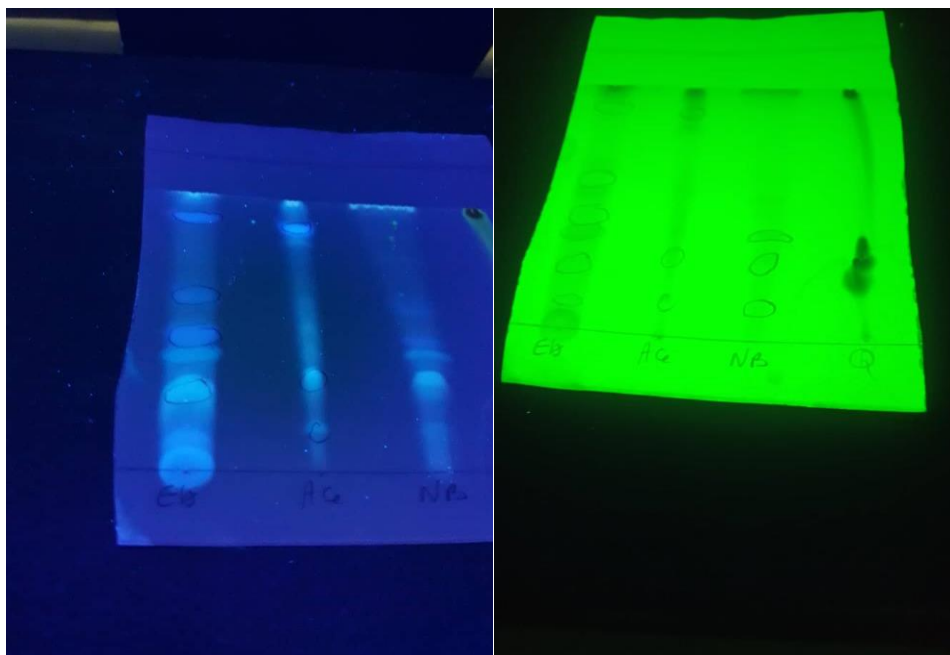


Figure 18 : chromatographie sur couche mince de l'extrait brute, d'acétate et de n-butanol.

Le résultat observé sous UV dans la fraction extrait brute montre l'apparition de sept spots des couleurs violets, bleu clair, bleu blanc qui sont répétés, tandis que dans la fraction acétate éthylique on a remarqué la présence de cinq spots de couleurs bleu, bleu clair, violet, bleu blond. Dans la fraction n-butanol on a observé quatre spots de couleurs violets, bleu clair, bleu, bleu blanc.

Tableau 11 : les résultats des tests chromatographique CCM.

extrait	Extrait brut	Extrait de l'acétate d'éthyle	Extrait de n-butanol
système	BAW (5v.1v.4v)	BAW (5v.1v.4v)	BAW (5v.1v.4v)
révélateur	AlCl ₃ +UV	AlCl ₃ +UV	AlCl ₃ +UV
Nbr de spots	7	5	4
Couleur de spots	violet bleu clair bleu clair	Bleu Bleu clair Bleu clair	Violet Bleu clair Bleu

	violet violet c violet bleu blanc	Violet Bleu blanc	Bleu blanc
RF	0.07 0.2 0.31 0.39 0.55 0.87 1	0.09 0.25 0.35 0.85 1	0.09 0.23 0.34 1

D'après les résultats de tableau au-dessus (les couleurs de spots, Rf).on peut dire que les tubercules de *Bunium mauritanicum* sont riches en composants qui peuvent être les polyphénols. Après la pulvérisation de la plaque CCM par AlCl₃ (réactif des flavonoïdes), on est arrivé à la nature de ces composants tableau 2 qui sont donc les flavonoïdes,

Tableau 12 : relation entre la florescence sous UV et les flavonoïdes (Lahouel . 2005).

Couleur sous UV 366 nm	La nature des spots
violet	Flavones
bleu	AC phénol
Bleu clair*	Flavones
Bleu blanc*	Flavonols, flavones, isoflavones et flavonones.

On a trouvé aussi une faible fluorescence probablement due à la pauvreté des tubercules en flavonoïdes, cette faiblesse en flavonoïdes a été remarquée également dans le résultat de criblage photochimique.

Finalement, on déduit qu'il y a une relation étroite entre la fluorescence de composant, sa structure et son mode de substitution.

1.3. Résultats de dosage des polyphénols totaux

On a déterminé la teneur en polyphénols à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracé en utilisant l'acide gallique comme standard figure 19 :

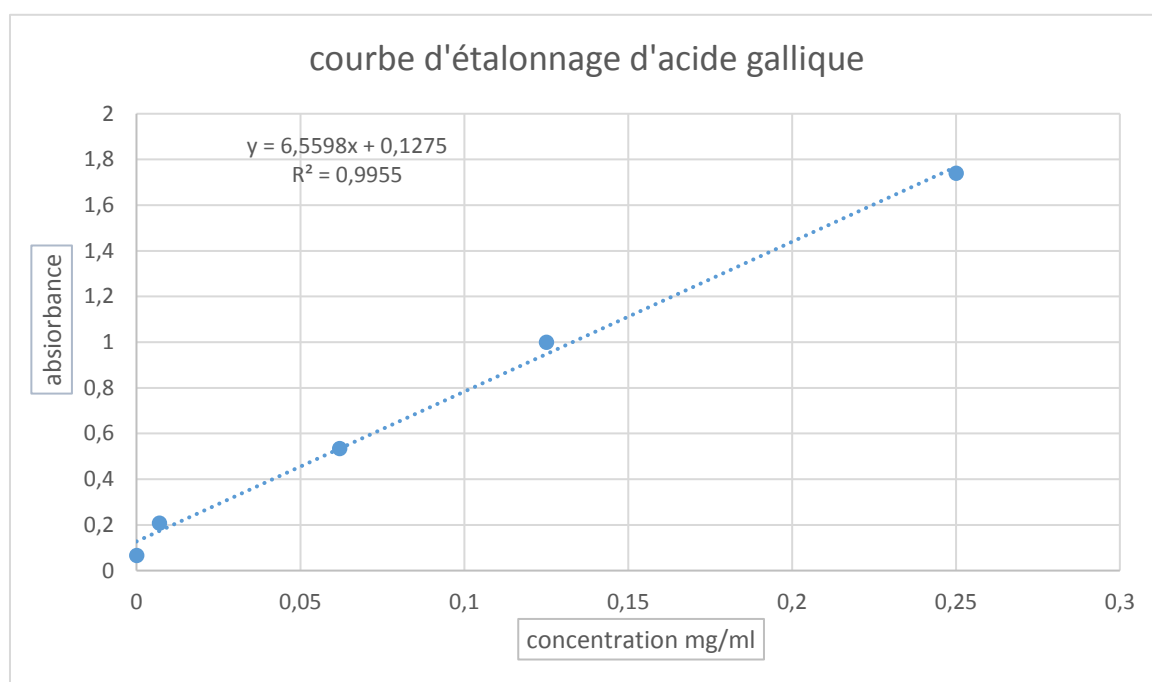


Figure 19 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0-0.25 mg/ml) pour le dosage des composés phénoliques

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique utilisé est environ de 0,5 EAG mg/g de l'extrait. Ce résultat a convergé les résultats issus des travaux de Karouche et *al.* 2021 Qui ont examiné la teneur en polyphénols des tubercules de l'espèce *Bunium mauritanicum*.

- **Résultats de dosage des flavonoïdes totaux**

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique. La quercétine est considérée comme un standard qui a permis de tracer une courbe d'étalonnage linéaire de quercétine dont laquelle on a déterminé la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique figure 20.

- **Courbe d'étalonnage de la quercétine :**

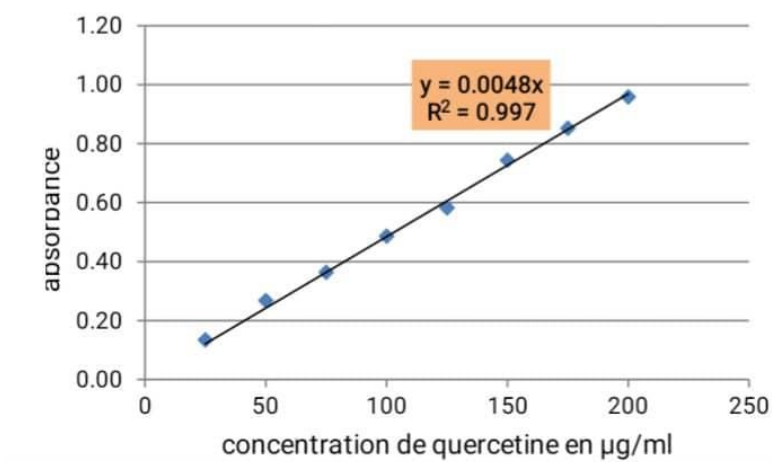


Figure 20 : courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes

On a trouvé que la teneur en flavonoïdes est environ de 0,005 EQmg/g d'extrait méthanolique. Ces résultats montrent clairement que les tubercules de *B.mauritanicum* sont pauvres en flavonoïdes, cette différence dans les teneurs trouve probablement son explication dans la méthode d'extraction ainsi que les conditions environnementales, climatiques, période de collecte, les facteurs génétiques et les conditions périméntales (**Atmani,**) .Il a été prouvé que les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre (**Apak, 2007**). En effet, la distribution des métabolites secondaires peut fluctuer entre les différents organes de la plante (**Bano, 2003 et Ksour, 2008**).

2. Les résultats des activités biologiques

2.1 Résultat l'activité Antioxydant

Les résultats d'activité anti-radicalaire de l'extrait testé et de l'acide ascorbique sont présentés dans les figures 21, 22 :

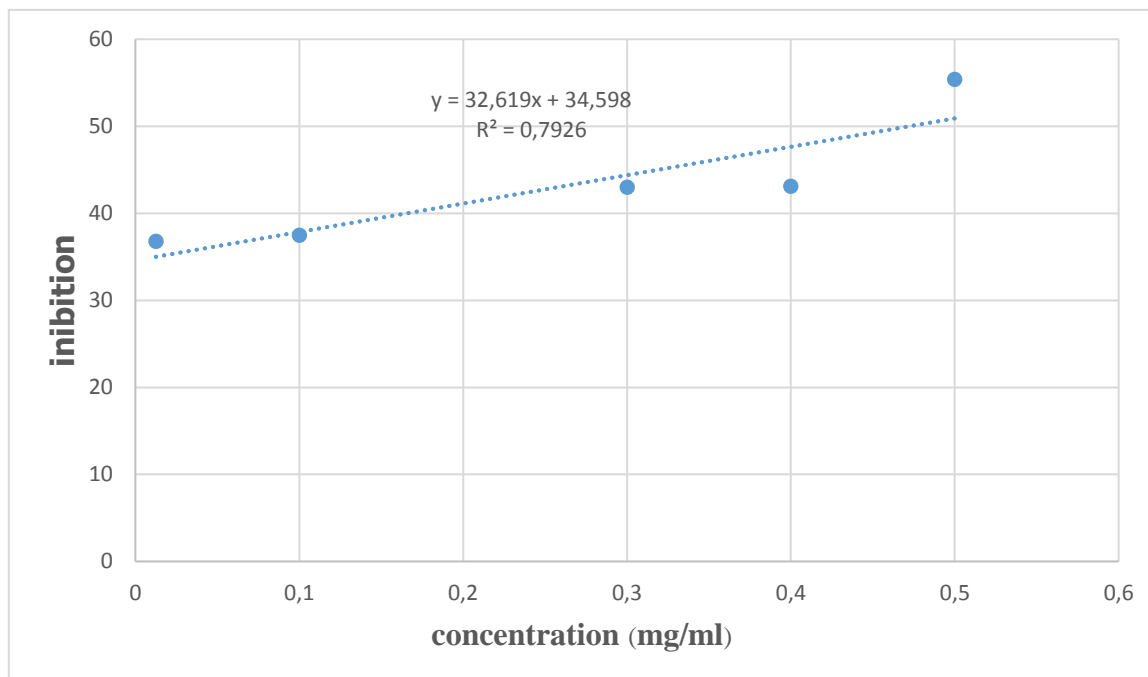


Figure 21 : Les résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) d'extrait méthanolique de l'espèce *bunium mauritanicum* (les tubercules).

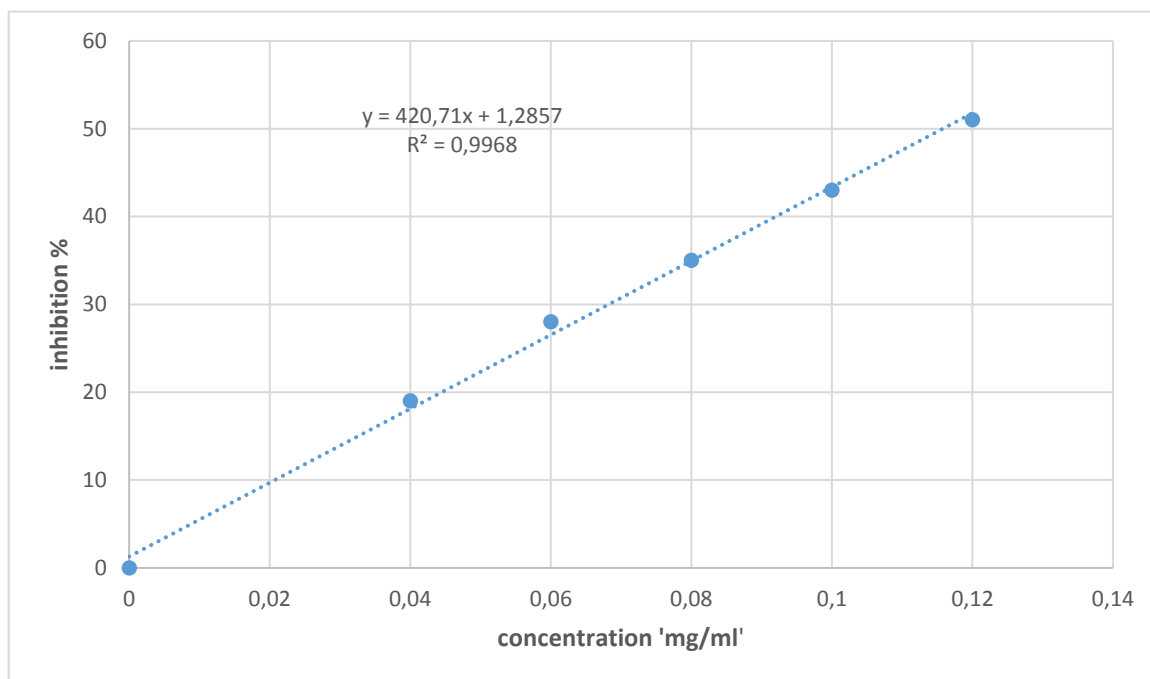


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de l'acide ascorbique

D'après les courbes illustrées dans les figures 21 et 22 on remarque que l'activité antioxydante d'extrait méthanolique de *Bunium mauritanicum* ainsi que l'acide ascorbique est fortement dépendante de leurs concentrations. Plus l'extrait est concentré, plus le pourcentage d'inhibition est élevé.

La plus haute capacité à piéger le radical DPPH était enregistrée pour l'extrait méthanolique avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de (36.8 %, 37.5 %, 43 %, 46.1 %, 55.4 %) Ces pourcentages restent significativement supérieur à ceux du standard (19%, 28%, 37%, 43%, 51%). on note que le pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique de la partie souterraine (les tubercules) de l'espèce végétale *Bunium mauritanicum* est supérieur à celui de l'acide ascorbique.

D'après de nombreux auteurs, plusieurs facteurs influencent le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport antioxydant/DPPH, type de solvants, pH) et le profil phénolique en particulier.

➤ Détermination d'IC₅₀

L'IC₅₀ est considérée comme un paramètre d'efficacité antiradicalaire. Elle exprime la quantité d'antioxydants requise pour diminuer la concentration de DPPH de 50 %.

L'IC₅₀ d'un composé est inversement proportionnelle à sa capacité antioxydante (pouvoirs antiradicalaires). Donc les valeurs moyennes des concentrations inhibitrices (IC₅₀) des extraits méthanolique de la partie souterraine de l'espèce végétale *bunium mauritanicum* est : IC₅₀ = 0.47 mg/ml Les valeurs moyennes des concentrations inhibitrices (IC₅₀) de l'acide ascorbique (standard) est : IC₅₀=0.11mg/ml.

Les valeurs d'IC₅₀ obtenus dans ce test montrent que l'extrait méthanolique des tubercules de *B. mauritanicum* possède de faible capacité réductrice, ceci est dû à la faible teneur en flavonoïdes dans les tubercules étudiés. Cette catégorie de composés bioactifs sont signalés dans plusieurs recherches comme les meilleurs antioxydants. Les acides phénoliques et les diterpènes phénoliques peuvent être aussi impliqués dans cette activité (Prosper-Cabral N B 2007). Néanmoins, la variabilité structurale de ces mêmes flavonoïdes affecte de façon non négligeable cette activité (Marfak A. 2003).

Diverses études ont déterminé expérimentalement les capacités des extraits naturels à piéger les radicaux libres. Cette activité dépend d'un certain nombre de paramètres : la dose, la structure, les substituants et le degré de polymérisation de la molécule (Belhadj Tahar, S .2015).

2.2 Résultat de l'activité antibactérienne

Les résultats obtenus montrent les différentes réactions de l'extrait contre les souches bactériennes. On a remarqué que l'extrait éthanolique a réagi positivement contre les souches de référence *Staphylococcus aureus*(ATCC25923) , et *pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) avec une zone de d'inhibition de diamètre de 2 cm pour la souche staphylococcus et 1cm pour la souche *Pseudomonas*, ce qui confirme que les tubercules de *Bunium mauritanicum* ont un pouvoir d'inhiber ces deux souche bactériennes de références en revanche la souche bactérienne de référence *E. coli* a résisté l'extrait éthanolique de la plante ce qui montre que tubercules n'ont pas un pouvoir d'inhiber la souche de référence *E. coli*. De nombreuses études ont déjà signalé la sensibilité des bactéries Gram+ par rapport aux Gram- (Riahi et al., 2013 ; Brahmi et al., 2016). La résistance des bactéries Gram négatif peut être attribuée à la présence de la membrane externe entourant la paroi de la cellule, pratiquement

impermeable aux composés lipophiles grâce aux charges négatives de la surface de son revêtement lipopolysaccharidique.

D'après les résultats obtenus on constate que la pauvreté de l'extrait en flavonoïdes, alors que dans littérature l'activité antibactérienne est due à ce composé chimique actif.

Effectivement, plusieurs auteurs ont démontré que les flavonoïdes sont connus pour leurs propriétés antibactériennes (Cowan, 1999).

L'activité bactérienne des flavonoïdes a été expliquée par leur capacité de former des complexes avec des protéines extracellulaires solubles et avec la paroi cellulaire bactérienne (Tsuchiya et Inuma, 2000; Cushine et Lamb, 2005)

Pseudomonaceae :

E. coli :

Staphylocoques :

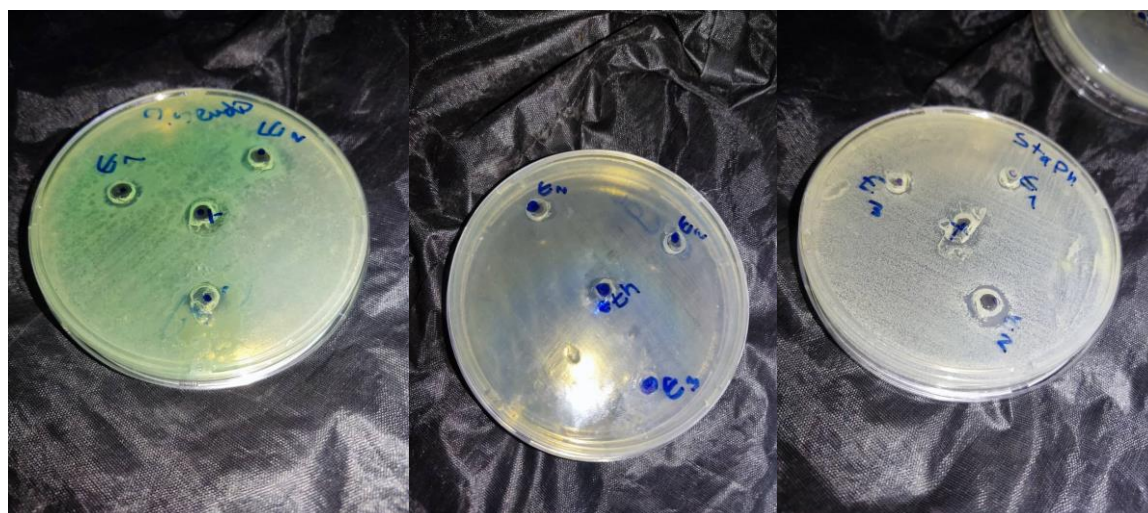


Figure 23 : les résultats de l'activité antibactérienne selon la méthode de diffusion sur puits d'agar

2.3 Résultat de l'activité antifongique :

On a remarqué l'absence Totale de la zone d'inhibition ce qui montres que l'extrait a réagi négativement .ce résultat prouve que les tubercules de *bunium mauritanicum* n'ont pas un pouvoir d'inhiber la levure *candida albicans* ATCC (10231). Cette absence d'activité antifongique pourrait s'expliquer par le fait que la souche de *C. albicans* ait développé des mécanismes de résistance aux molécules antifongiques présentes dans l'extrait. Parmi ces mécanismes la capacité de *C. albicans* à switcher ou capacité à changer de phénotype «switch

phénotypique» (Millon et *al.*, 2002), alors que dans littérature, il a été indiqué que les activités antimicrobiennes des extraits de plantes dépendent de la nature et de la structure des composés phénoliques. Par leur groupe hydroxyle, (Zongo et coll. 2011).



Figure 24 : les résultats de l'activité antifongique.

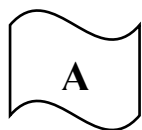
Conclusion :

L'Algérie comme tous les pays du monde possèdent une biodiversité immense des plantes médicinales, ces derniers sont devenus aujourd'hui une source naturelle utilisée dans plusieurs domaines pharmacologie, médecine..., Grâce à son réservoir inépuisable des métabolites primaires et secondaires. L'une de ces plantes on a l'espèce *Bunium mauritanicum* qui appartient à la famille des ombellifères. Talghouda ou comme les gens la nommer contient un stock des différentes substances biologiques y sont la qualifié d'être un remède à beaucoup de maladies chroniques spécialement le traitement de l'insuffisance thyroïdienne. Dans ce contexte, on a fait une étude qualitative et quantitative des composants des tubercules en commençant d'abord par un criblage phytochimique dont le quel on a constaté la richesse de tubercules par les tanins, les alcaloïdes, les sucres réducteurs, les saponosides, les glucosides, les terpenoïdes,etc.

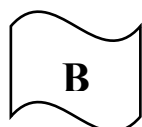
Ensuite on a fait l'extraction des polyphénols et les flavonoïdes pour faire des analyses par la technique chromatographie sur couche mince qui a montré la pauvreté des tubercules en flavonoïdes, pour confirmer ces résultats on a réalisé un analyse quantitative (dosage) qui a confirmé que la teneur en polyphénols et les flavonoïdes est faible dans les tubercules ,on a examiné également son pouvoir antioxydant vis à vis le DPPH , on a remarqué que les tubercules ont un faible pouvoir antioxydant , on a aussi étudié son pouvoir antibactérien sur les souches de référence *staphylococcus aureus* , *E. coli* , *Pseudomonas aeruginosa* on a observé l'inhibition de l'extrait les souches *staphylococcus* et *Pseudomonas* par contre la souche *E. Coli* a résisté l'extrait , on a terminé ce travail en examinant le pouvoir antifongique des tubercules qui a prouvé un manque remarquable de capacité antifongique (avec levure candidat) . Enfin on peut dire que l'espèce *Bunium mauritanicum* est un trésor naturel riche en substances alimentaire et thérapeutique au même temps.

Liste des Références

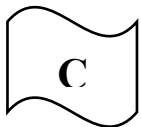
Références bibliographiques :



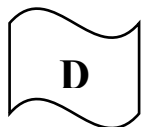
- Abderahmane .B . Laboratoire d'ethnobotanique et substances naturelles, ENS El-Ibrahim Kouba, Alger, 2018.
- Atmani D. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants.
- Aniszewski, T. Alkaloids: chemistry, biology, ecology, and applications: Elsevier. (2015).
- Aniszewski, T. Alkaloids-Secrets of Life:: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role: Elsevier.(2007).
- Audu SA, Mohammad I, Kaita HA. Phytochemical screening of the leaves of *Lophira lanceolata* (Ochanaceae). *Life Science Journal*. 2007; 4(4):75-79
- Auwal MS, Saka S, Mairiga IA, Sanda KA, Shuaibu A and Ibrahim A.-Preliminary phytochemical and elemental analysis of aqueous and fractionated pod extracts of *Acacia nilotica* (Thorn mimosa). *Veterinary Research Forum*. 2014; 5(2):95-100.
- Apak R, Güçlü K, Demirata B, Özyürek M, Çelik SE, Burcu Bektaşoğlu, B, Berker K I, Özyurt D. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*, 2007, (12), 1496-1547.
- Afonso, C.A.M., Candeias, N.R., Simao, D.P., Trindade, A.F., Coelho, J.A.S., Tan, B & Franzen, R. (2016). *Comprehensive organic chemistry experiments for the laboratory classroom*. Cambridge, United Kingdom: Royal Society of Chemistry.
- Alitonou, G., Avlessi, F., Wotto, V.D., Ahoussi, E., Dangou, J & Sohounhloué, D.C.K. (2004). Composition chimique, propriétés antimicrobienne et activités sur les tiques de l'huile d'*Eucalyptus tereticornis*. *Sm. Comptes rendus Chimie*, 7(10), 1051-1055.



- Biri, M. Le grand livre des abeilles. Cour d'apiculture moderne. Ed vecchi S. 10 éd, 2003, pp.184-196.
- Bhatt S, Dhyan S. Preliminary Phytochemical Screening of *Ailanthus excelsa* Roxb. International Journal of Current Pharmaceutical Research 4(1):87-89.2012.
- Bendag A., 2009. Caractérisation phytochimique et activité antioxydante de quelques cultivars de *Phoenix dactylifera* L Mémoire de Magistère en Biologie. Université d'Oran EsSénia République Algérienne Démocratique et Populaire, 93 P.
- Basumatary AR. Preliminary Phytochemical Screening of some compounds from plant stem bark extracts of *Tabernaemontana divaricata* Linn. used by Bodo Community at Kokrajhar District, Assam, India. Archives of Applied Science Research. 2016; 8(8):47-52.
- Biesaga, M.; Pyrzyńska, K. Stability of bioactive polyphenols from honey during different extraction methods Food Chem. 2013, 136, 46–54
- Belhadj Tahar S., Hadj-Mahammed M. et Yousfi M. Etude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de l'*Atriplex halimus* L et de l'*Haloxylon scoparium* pomel du Sahara septentrional. Annales des Sciences et Technologie, 2015, 7, (1), 35-42.
- Bano MJ, Lorente J, Castillo J, Benavente-Garcia O, Rio JA, Otuno A, Quirin KW Gerard D. Food Chem, 2003, (51), 42-47.

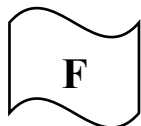


- CARILLON Alain. Place de la Phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème Siècle. Séminaire International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales. Djerba, Mars 2009.
- Christopher s.C et al .Botanique sustéatique une perspective phylogénétique, bibliothèque national,paris ,2002.
- Cajanus cajan L. International Journal of Pharmaceutical Sciences Reviewand Research. 2013; 22(1):11-18.
- Cowan,M (1999).plant products as antimicrobial agents , climal microbiology reviews ,12(4),564-582.



- Degtjarvia ,G . Kljuykov, E .Samigullin ,T.Valiejo-roman ,T .Pimenov ,M *Botanical Journal of the Linnean Society*,volume 160,issue 2,june 2009,page 149-170 .

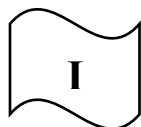
- De-Reynal, B & Multon, J. (2009). Additifs et auxiliaires de fabrication dans les IAA (4e éd.). Paris, France: Lavoisier-Tec & Doc.



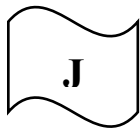
- Fleurentin ,J. 1993. Ethnopharmacologie et aliments : introduction au sujet et réflexions sur l'efficacité biologique. ». Médicaments et aliments : l'approche ethnopharmacologique, IF Colloque européen d'Ethnopharmacologie et X X F Conférence internationale d'Ethnopharmacologie, Heidelberg.
- Filliat, P., Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs. Doctoral paper university Joseph Fourier Grenoble, 139p, 2012.



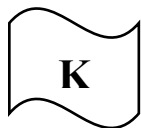
- Gul R, Jan SU, Syed F, Sherani F, Nusrat Jahan. Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Analysis of Alkaloids, and Antioxidant Activity of Crude Plant Extracts from Ephedra intermedia Indigenous to Balochistan The Scientific World Journal, 2017, 1-7.



- Iserin, P. 2001. Encyclopédie des plantes médicinales (2ème Eds) Dorling Kindersiey Limited, Londres ISBN: 2-03- 560252-1, page : 12. ISSN 1991-8631.
- Iqbal, Z; Gul,S; Ul Haq, I; Munawar, A; Ahmad,A; Amin, F.Antibacterial and antifungal activity of Mentha longifolia Mirkalan village of Nizampur region Nowshehra district of KPK, Pakistan. Journal of Entomology and Zoology Studies. 5(6): 318-321.2017.

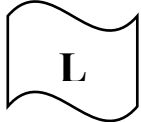


- Jean-Jacques Macheix, Annie Fleuriet, Christian Jay-Allemand les composés phénolique des végétaux un exemple de métabolites secondaire d'importance économique , presse polytechnique et universitaire romandes , Italie .2005.
- Julve, Ph.,et suiv. - Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version : 27 avril 2021.
- Jean, B. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.): Lavoisier.
- Jagessar RC. Phytochemical screening and chromatographic profile of the- ethanolic and aqueous extract of *Passiflora edulis* and *Vicia faba* L. Fabaceae. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2017.



- Knežević, S.V., Blažković, B., Štefan, M.B., Alegro, A., Kőszeg, T & Petrik, J. (2011). Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected *Micromeria* species from Croatia. *Molecules*, 16(2), 14454-1470.
- Kumar V, Jat RK. Phytochemical Estimation of Medicinal Plant *Achyranthes aspera* Root. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2018; 3(1):190-193.
- Kumar RS, Venkateshwar C, Samuel G, Rao SG. Phytochemical Screening of some compounds from plant leaf extracts of *Holoptelea integrifolia* Planch.) and *Celestrus emarginata* (Grah.) used by Gondu tribes at Adilabad District, Andhrapradesh, India. *International Journal of Engineering Science Invention*. 2013; 2(8):65-70.
- Ksouri R, Megdiche W, Falleh H, Trabelsi N, Boulaaba M, Smaoui A, Abdelly C. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol*, 2008, 331, 865- 873.

- .Karouche S, Benbott A, Henouda S ,Malki S ,Boudchicha I. EVALUATION OF PHENOLIC CONTENT AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF BUNIMUM MAURITANICUM TUBERSS 1Laboratory of natural substances, bioactive molecules and biotechnological applications, University of Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, Algeria. 2Laboratory Saharan natural resources, Faculty of Science and Technology, University Ahmed DRAIA Adrar, Published online: 01 May 2020.



- Lee, KH. Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product lead. Journal of Natural Products, 2004, (67), 273-283.
- Lagnika L. 2006. Etude Phytochimique et Activité Antipaludique de Substances Naturelles issues de Plantes Béninoises. Thèse de Doctorat Université Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-calavi, Bénin.
- Lahouel M. 2005. Interaction flavonoïdesmithochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux, Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine.
- Lee JY ,Lee JH, Kim SY, Choi JY, et al la liquiritigénine ,un flavonoids de réglisse ,aide les souris à résister à la candidose disséminée due à candida albicans par la réponse immunitaire Th1, contrairement a la liquiritine, sa forme glycoside.int immunopharmacol.2009 ;9(5) :632-8.
- Lagnika ,L."Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises" Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, 2005, page : 249.

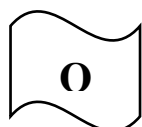


- Marouf Abderrazak, Raynaud Joël La botanique de A à Z : 1662 définitions .352 pages .18 avril 2007.
- Millon L, Piarroux R, Monod M, Meillet D (2002) Physiopathologie de la candidose oropharyngée au cours de l'infection par le VIH. Médecine et Maladies Infectieuses 32 (12):696-703.

- Marfak A. 2003 : Radiolyse gamma des flavonoïdes : étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides ; Thèse de doctorat de l'université de Limoges.
- Malecky Mostafa. The metabolism of terpenoides in caprins. Life Sciences [q-bio]. AgroParisTech, 2008.



- Njoku OV, Obi C. Phytochemical constituents of some selected medicinal plants. African Journal of Pure and Applied Chemistry. 2009; 3(11):228-233.
- Nanna RS, Banala M, Pamulaparthi A, Kurra A, Kagithoju S. Evaluation of Phytochemicals and Fluorescent Analysis of Seed and Leaf Extracts of *Cajanus cajan* L. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 2013; 22(1):11-18.

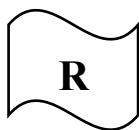


- Obouayeba AP, Diarrassouba M, Soumahin EF, Kouakou TH. Phytochemical Analysis, Purification and Identification of Hibiscus Anthocyanins. Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences. 2015; 3(2):156-168.

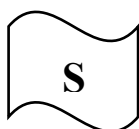


- Pfaller M.A., Burmeister L., Bartlett M.S., Rinaldi M.G. Multicenter Evaluation of Four Methods of Yeast Inoculum Preparation Journal of Clinical Microbiology, 1437-1441. 1988
- Prosper-Cabral N B, Gabriel A A, Julius E O, Jeanne Y N. Phytochemical studies and antioxidant properties of 4 medicinal plants used in Cameroon. Afr. J. Trad. CAM, 2007, 4 (4), 495 – 500
- Pandey A and Tripathi S. Concept of standardization, extraction and prephytochemical screening strategies for herbal drug. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2014; 2(5):115-119

- Prakash, A. (2001). Antioxidant activity. Medallion laboratories analytical progress, 19(2), 1-6.
- Pisoschi, A.M., Cheregi, M.C & Danet, A.F. (2009). Total Antioxidant Capacity of Some Commercial Fruit Juices: Electrochemical and Spectrophotometrical Approaches. *Molecules*, 14(1), 480-493.
- Prakash, D., Upadhyay, G., Brahma, N & Singh, H.B. (2007). Antioxidant and free radical scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). *Food chemistry*, 104(3), 783-790.
- Pooja S, Vidyasagar GM. Phytochemical screening for secondary metabolites of *Opuntia dillenii* Haw. *Journal of Medicinal Plants Studies* 39-43.2016.
- Pfaller M.A., Burmeister L., Bartlett M.S., Rinaldi M.G. Multicenter Evaluation of Four Methods of Yeast Inoculum Preparation. *Journal of Clinical Microbiology*, 26, 1437-1441. 1988.

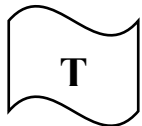


- Rauf A, Rehman W, Jan MR, Muhammad M. Phytochemical, phytotoxic and antioxidant profile of *Caralluma tuberculata* N.E. Brown. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2013; 2(2):021-025.
- -Raaman N. *Phytochemical Techniques*. New India Publishing Agency, New Delhi, 2006, 19-24.
- Riahi, L., Chograni, H., Elferchichi, M., Zaouali, Y., Zoghlami, N., & Mliki, A. 2013 : Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic contents between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 46, 290-296.

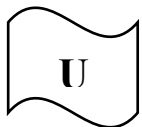


- Sato F, Hashimoto T, Hachiya A, Tamura KI, Choi KB, Morishige T, Fujimoto H, and Yamada Y. Metabolic engineering of plant alkaloid biosynthesis. *Proc. Natl. Acad.Sci. USA*, 2001, 98, (1), 367-372.

- Sahraoui W, les coumarines, Laboratoire de pharmacognosie, université .d'éducation paris 30 mar 2018.
- Singh V, Kumar R. Study of Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of Allium sativum of Bundelkhand Region. International Journal of Life Sciences Scientific Research. 2017; 3(6):1451-1458.
- Savithramma N, Rao ML, Suhrulatha D. Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites. Middle-East Journal of Scientific Research. 2011 Secondary Metabolites. Middle-East Journal of Scientific Research.584-579 2011.
- Silva GO, Abeyesundara AT, Aponso MM. Extraction methods, qualitative and quantitative techniques for screening of phytochemicals from plants American Journal of Essential Oils and Natural Products. 2017; 5(2):29-32
- Savithramma N, Rao ML, Suhrulatha D. Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites. Middle-East Journal of Scientific Research 584-579. 2011.
- Sánchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Science and Technology International, 8(3), 121-137.



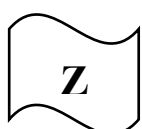
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica Scientia. 2011; 1(1):98 106.
- Tsuchiya, H., & Iinuma, M. 2000: Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from Sophora exigua. Phytomedicine, 7(2), 161-165.



- Uma KS, Parthiban P, Kalpana S. Pharmacognostical and Preliminary-Phytochemical Screening of Aavaarai Vidhai Chooranam. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2017; 10(10):111-116



- Wagner H. et Bladt S., 1996. Plant Drug Analysis, a Thin Layer Chromatography Atlas. Springer-Verlag. Ed., Berlin, second Edition.



- Zongo C., Savadogo A., Somda K.M., Koudou J., Traore A.S., 2011. In vitro evaluation of the antimicrobial and antioxidant properties of extracts from whole plant of *Alternanthera pungens* H.B. & K. and leaves of *Combretum sericeum* G. Don. *International Journal of Phytomedicine*, 3, 182-191 .

Résumé

Le Talghouda est une plante médicinale appartenant à la famille des Apiacées très utilisée en médecine traditionnelle, notamment dans la modulation des hormones thyroïdiennes. L'objectif principal est d'évaluer les activités biologiques des extraits de tubercule de talghouda et d'identifier les différents composés bioactifs. Notre travail est basé sur une étude biochimique et biologique de cette espèce, un examen chimique (tests) a été réalisé sur l'extrait de tubercules de talghouda afin de déterminer les principaux groupements chimiques qu'il contient. Différents extraits ont été obtenus par trempage en utilisant une polarité différente de celle des solvants, et également par chromatographie séparation (CCM) a été réalisée pour déterminer les composés au moyen de la spectrophotométrie utilisant la technologie ultraviolette. Les quantités de polyphénols totaux et de flavonoïdes de l'extrait ont été déterminées par des techniques spectrophotométriques, l'activité antioxydante a également été évaluée par l'inhibition radicalaire du DPPH et l'activité antibactérienne et antifongique a été évaluée. L'examen phytochimique a permis de faire la lumière sur la détection de certains groupes chimiques flavonoïdes, tanins, glycosides de terpènes. Les résultats du dosage des polyphénols totaux dans l'extrait ont montré qu'il s'agissait de 0,5 mg/g équivalent d'acide gallique, et du flavonoïde 0,005 mg/g équivalent de quercétine. En ce qui concerne l'activité antioxydante, il est apparu que l'extrait avait des propriétés antioxydantes $IC_{50}=0.47$ mg/ml faible par rapport le standard acide ascorbique. Ceci est dû à la faible teneur en flavonoïdes dans les tubercules étudiés. La meilleure activité antibactérienne a été obtenue contre *Staphylococcus*, *Pseudomonaceae* et un faible résultat a été obtenu contre la bactérie *E. coli* et les champignons *Candida* levure. Les résultats montrent aussi que les tubercules de cette plante sont une source majeure de divers composants actifs biologiques pouvant jouer un certain rôle dans le maintien de la santé, ce qui explique son utilisation pour traiter diverses maladies.

Abstrat

Talghoda is a medicinal plant belonging to the family Apiaceae that is widely used in traditional medicine, especially in the modulation of thyroid hormones. The main objective is to evaluate the biological activities of talghoda tuber extracts and to identify the various bioactive compounds. Our work is the biochemical study of this species, a chemical examination (tests) was conducted for the extract of talghodum tubers to determine the main chemical groups contained in it. Different extracts were obtained by soaking using different polarity than the solvents, and chromatographic separation (CCM) was carried out to determine the compounds. By means of spectrophotometry using ultraviolet technology. Amounts of total polyphenols and flavonoids from the extract were determined by spectrophotometric techniques. The antioxidant activity was also evaluated by DPPH radical inhibition and antibacterial and antifungal activity was evaluated. Phytochemical examination helped shed light on the detection of some chemical group's flavonoids, tannins, terpenes glycosides. The results of the total polyphenol assay in the extract showed that it was 0.5 mg / g equivalent of gallic acid, and the flavonoid 0.005 mg / g equivalent of quercetin. Regarding the antioxidant activity, it appeared that the extract had low antioxidant properties $IC_{50}=0.47$ mg/ml compared to the standard ascorbic acid. This is due to the low content of flavonoids in the tubers studied. The best antibacterial activity was obtained against *Staphylococci*, *Pseudomonaceae* and a weak result was obtained against *E. coli* bacteria and *Candida* yeast fungi. Our study shows that the tubers of this plant are a major source of various biological active components that can play a certain role in maintaining health, which explains its use to treat various diseases.

الملخص

التالغودة هو نبات طبي ينتمي الى العائلة الخيمية يستخدم على نطاق واسع فب الطب التقليدي خاصة في تعديل هرمونات الغدة الدرقية. الهدف الرئيسي هو تقييم الانشطة البيولوجية لمستخلصات درنات تالغودة وتحديد مختلف المركبات النشطة بيولوجيا يمثل عملنا في الدراسة الكيميونباتية والبيولوجية عن هذا النوع، تم اجراء فحص كيميائي (اختبارات) لمستخلص درنات تالغودة لتحديد المجموعات الكيميائية الرئيسية المحتواة فيها. وقد تم الحصول على مستخلصات مختلفة عن طريق النقع باستخدام قطبية مختلفة عن المذيبات وايضا اجرينا الفصل الكروماتوغرافي لتحديد المركبات عن طريق قياس الاطياف بتقنية الاشعة فوق البنفسجية. تم تحديد كميات من البوليفينول الكلي والفلافونيدات من المستخلص بواسطة تقنيات طيفية. ايضا تم تقييم النشاط المضاد للاكسدة عن طريق تثبيط جذر وتقييم نشاط المضاد للبكتيريا والفطريات. لفحص الكيميائي النباتي ساعد على تسليط الضوء للكشف عن بعض المجموعات الكيميائية الفلافونيدات، التانينات، تريبينات جليكوسيدات. ظهرت نتائج فحص البوليفينول الكلي في المستخلص هي 0.5 ملغ / غ مكافئ حمض غاليك، والفلافونويد 0.005 ملغ / غ مكافئ كارسينين. اتضح أن المستخلص يحتوي على خصائص منخفضة من مضادات الأكسدة $IC_{50} = 0.47$ مجم / مل مقارنة بحمض الأسكوربيك القياسي. ويرجع ذلك إلى المحتوى المنخفض من مركبات الفلافونويد في الدرنات المدروسة. تم الحصول على أفضل نشاط مضاد للجراثيم ضد لمكورات العنقودية والزائفة لزنجرارية وتم الحصول على نتيجة ضعيفة ضد البكتيريا الإشريكية القولونية والفطر خميرة المبيضات. تبين دراستنا أن درنات هذا النبات تعد مصدر رئيسيا للمكونات النشطة البيولوجية المختلفة التي يمكن ان تلعب دورا معينا في الحفاظ على الصحة هذا ما يفسر استخدامه لعلاج امراض مختلفة.