

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة سعيدة الدكتور مولاي الطاهر

Université de Saida "Dr Moulay Tahar"

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

N° d'Ordre

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème :

Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques des extraits d'une plante médicinale de la famille des Apiacées

(*Bunium incrassatum*)

Présenté par :

- M^{elle} : OULD KADA Maroua
- M^{elle} : FARAH Ouissal Yassia

Soutenu le : 22 /06/2026

Devant le jury composé de :

Président	Mr. KEFIFA Abdelkrim	MCA Université UMTS
Examinatrice	Mme. HADJADJ Hassina	MCA Université UMTS
Encadreur	Mr. SAIDI Abdelmoumene	MCA Université UMTS

Année universitaire 2025-2026

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة سعيدة الدكتور مولاي الطاهر

Université de Saida "Dr Moulay Tahar"

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

N° d'Ordre

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème :

Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques des extraits d'une plante médicinale de la famille des Apiacées

(*Bunium incrassatum*)

Présenté par :

- M^{elle} : OULD KADA Maroua
- M^{elle} : FARAH Ouissal Yassia

Soutenu le : 22 /06/2026

Devant le jury composé de :

Président	Mr. KEFIFA Abdelkrim	MCA Université UMTS
Examinatrice	Mme. HADJADJ Hassina	MCA Université UMTS
Encadreur	Mr. SAIDI Abdelmoumene	MCA Université UMTS

Année universitaire 2025-2026

Remerciements

Louange à Allah, le Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude et nos remerciements à notre encadreur, **Monsieur Abdelmoumene Saidi**, pour toutes les directives et les informations précieuses qu'il nous a fournies.

Nous adressons nos sincères remerciements aux membres de notre jury : **M. Kefifa Abdelkrim**, président du jury, **Mme Hadjadj Hassina**, examinatrice, Nous leur exprimons notre profonde gratitude pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail, pour le temps consacré à son évaluation, ainsi que pour leurs remarques, conseils et suggestions, qui ont contribué à l'amélioration de ce mémoire.

Nous remercions également **M. Nabi Othmane** et **Mme Djebiri Hadjira**, ingénieurs au laboratoire de biochimie et de microbiologie, pour leur aide, leur disponibilité et leur précieux accompagnement tout au long de la phase expérimentale de ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à **M. Benmhamed El Hadj** et **Mme Lahrach Saadia**, pour leur assistance technique, leurs conseils avisés et leur disponibilité.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance à **Mme Sidi Ikhlef Amel**, **Mme Bouchikhi Noria** et **M. Boudou Farouk** pour leur bienveillance, leur disponibilité, leurs précieux conseils et leur accompagnement tout au long de la réalisation de ce mémoire. La richesse des connaissances qu'ils nous ont transmises, ainsi que leur soutien constant, ont grandement contribué à notre développement académique et scientifique.

Enfin, nous remercions l'Université Dr Moulay Tahar de Saïda pour la qualité de la formation dispensée et les moyens mis à notre disposition. Nous adressons également nos plus vifs remerciements à nos familles, à nos amis, ainsi qu'à toutes les personnes qui nous ont soutenus, encouragés et accompagnés, de près ou de loin, dans la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Ce mémoire est le reflet d'un long chemin parcouru, rempli d'efforts, de rêves et de soutiens précieux. Il est dédié à ceux qui ont été mes repères, mes inspirations tout au long de ce parcours.

Je dédie également ce travail à moi-même, pour tous les efforts fournis, les nuits de fatigue, les moments de doute surmontés et la détermination à ne jamais abandonner.

***À ma chère mère Fatima,** Tu as traversé tant d'épreuves avec une force et un courage admirable. Malgré les difficultés de la vie, tu es toujours restée présente à mes côtés, m'offrant amour, soutien et réconfort sans jamais faiblir. Ton sacrifice silencieux, ta patience et ta tendresse ont été ma plus grande force. Ce travail est un hommage à tout ce que tu as enduré pour me voir réussir. Que Dieu te protège et te récompense pour tout ce que tu as fait pour moi.*

***À mon père Ahmed,** Même si tu n'as pas eu la chance de poursuivre tes études, tu as tout fait pour que je puisse poursuivre les miennes. Tu as sacrifié ton confort et porté mes rêves comme les tiens. Ton courage, ton amour et tous tes efforts resteront gravés dans mon cœur à jamais. Cette réussite est avant tout la tienne.*

***À ma grand-mère Mokhtaria et à mon grand-père Bouya El Hadj Ahmed,** Vous avez toujours occupé une place unique dans ma vie, comme de véritables parents. Votre amour, vos prières m'ont accompagnée tout au long de ce parcours.*

***À ma chère Aïcha,** La distance n'a jamais réussi à affaiblir le lien qui nous unit. Tu es bien plus qu'une amie, tu es une sœur que la vie m'a offerte. Dans mes moments de doute, tu étais ma voix de courage. Dans mes moments de fatigue, tu étais mon réconfort. Même loin l'une de l'autre, ta présence a été constante, sincère et profonde. Merci d'avoir cru en moi, parfois plus que je ne croyais en moi-même.*

***À ma sœur Mouna,** Tu es partie bien avant que je n'obtienne même mon baccalauréat. Aujourd'hui, en tenant ce mémoire entre mes mains, j'espère de tout cœur que tu me vois et que tu es fière de moi. Ton souvenir m'a toujours donné la force d'avancer.*

***À mes petites sœurs, Safaa et Israa,** Vous êtes ma motivation, ma douceur et ma lumière. Que ce travail soit un exemple pour vous et une source de fierté.*

***À mon amie Rania Zoubir,** Tu as été à mes côtés durant tous ces mois de préparation. Merci pour ta patience, ta présence a rendu ce chemin plus léger.*

***À mon binôme Wissal,** Merci pour ce travail partagé, pour la coopération, la patience et les efforts communs. Cette réussite est aussi le fruit de notre engagement ensemble.*

***À mes amis, Maria, Lina, Ghizlene,** merci pour votre présence, votre soutien et tous les moments partagés tout au long de ce parcours. Chacun d'entre vous a occupé une place précieuse dans ma vie et a contribué, d'une manière ou d'une autre, à rendre ce chemin plus beau.*

Maroua.

Dédicace

Avec l'aide et la volonté de Dieu Tout-Puissant, j'ai pu accomplir ce modeste travail. Al hamdoullah qui m'a donné la force et la joie de le voir aboutir. Avec toute ma gratitude et mon amour, je dédie ce travail :

À mes très chers parents, ma tendre mère Fatiha et à mon cher père Abdeslam.

Pour votre amour infini, vos innombrables sacrifices, votre soutien inconditionnel et vos prières bienveillantes qui m'ont toujours accompagnée. Aucun mot ne saurait exprimer ma profonde reconnaissance. Que Dieu vous garde en excellente santé, vous accorde une longue vie et vous récompense pour tout ce que vous m'avez donné.

À mon frère Abdessamad et ma sœur Nour El Houda,

Pour votre présence précieuse à mes côtés, votre soutien infaillible et vos encouragements constants. Que Dieu vous accorde une vie épanouie, pleine de succès, de bonheur et de complicité.

À mon amie Khadija, ma meilleure amie,

Pour ta présence précieuse et ton amitié sincère, ta gentillesse et tous les moments que nous avons partagés ensemble. Merci d'avoir été présente à chaque étape de ce parcours. Que notre amitié dure éternellement et que Dieu te protège et t'accorde tout le bonheur que tu mérites.

À mes chères cousines Sarah et Amina,

Pour votre affection, votre bienveillance et vos encouragements et votre soutien indéfectible tout au long de ce parcours.

À une personne qui occupe une place particulière dans mon cœur, Merci d'avoir été une source de force, d'inspiration et de réconfort dans les moments les plus difficiles.

À mon chère binôme Maroua,

Avec qui j'ai partagé les moments de doute, de fatigue et de joie, et avec qui j'ai traversé toutes les étapes pour réaliser ce travail. Merci pour cette magnifique collaboration, ton investissement et ton esprit d'équipe.

À tous mes enseignants,

*Qui ont contribué à ma formation tout au long de mon parcours universitaire.
Merci pour votre patience, votre disponibilité, vos précieux conseils ainsi que les connaissances que vous nous avez transmises avec sérieux et dévouement.
Votre soutien et vos encouragements ont été une véritable source de motivation et ont grandement participé à ma réussite.*

À toute ma famille, mes proches et mes amis,

Sans exception, et tous ceux qui m'ont donné amour et optimisme et qui ont contribué à mon succès de près ou de loin. Merci à tous.

Wissal

Résumé

Bunium incrassatum (Talghouda) est une plante médicinale traditionnellement utilisée en Algérie pour le traitement de diverses affections. Cette étude vise à explorer ses propriétés phytochimiques et biologiques afin de valoriser son usage traditionnel et d'identifier d'éventuels composés bioactifs.

Un criblage phytochimique qualitatif, une analyse FTIR ainsi que des évaluations *in vitro* des activités antioxydante, anti-hémolytique et antibactérienne ont été réalisés sur des extraits de polarité croissante (éther de pétrole, chloroforme et acétate d'éthyle, méthanol) obtenus à partir des tubercules et des feuilles.

Les résultats du criblage phytochimique ont révélé une différence marquée entre les deux organes. Les tubercules sont riches en amidon, flavonoïdes, coumarines et terpénoïdes, tandis que les feuilles présentent principalement des tanins, stéroïdes et anthocyanosides. Les analyses FTIR ont confirmé la présence de différents groupes fonctionnels caractéristiques des composés phénoliques, carbonylés et aliphatique.

L'évaluation de l'activité antioxydante par les tests DPPH et FRAP a montré des comportements distincts selon les extraits. L'extrait méthanolique des feuilles a présenté la meilleure activité antioxydante par le test DPPH avec une IC_{50} de 0,0048 mg/mL. En revanche, le test FRAP a révélé une meilleure capacité réductrice pour l'extrait chloroformique des tubercules ($EC_{50} = 2,98 \mu\text{g}/\mu\text{L}$).

L'activité anti-hémolytique a montré une forte protection des membranes érythrocytaires, dépendante de l'organe et du solvant d'extraction. Les extraits polaires des tubercules ont présenté les meilleurs taux de protection, tandis que les feuilles étaient plus actives dans les fractions peu polaires.

Concernant l'activité antibactérienne, seuls les extraits chloroformiques et à l'acétate d'éthyle des tubercules ont montré une activité modérée contre *Staphylococcus aureus*. Aucune activité notable n'a été observée contre *Escherichia coli*.

Mots-clés : *Bunium incrassatum*, plante médicinale, tubercules, feuilles, criblage phytochimique. Activité biologique.

Abstract

Bunium incrassatum (Talgouda) is a medicinal plant traditionally used in Algeria for the treatment of various diseases. This study aimed to investigate its phytochemical and biological properties in order to support its traditional use and identify potential bioactive compounds.

Qualitative phytochemical screening, FTIR analysis, and *in vitro* evaluations of antioxidant, anti-hemolytic, and antibacterial activities were carried out on extracts of increasing polarity (petroleum ether, chloroform, and ethyl acetate, methanol) prepared from tubers and leaves.

Phytochemical screening revealed clear differences between the two organs. Tubers were rich in starch, flavonoids, coumarins, and terpenoids, whereas leaves mainly contained tannins, steroids, and anthocyanosides. FTIR analysis confirmed the presence of functional groups characteristic of phenolic, carbonyl, and aliphatic compounds.

Antioxidant activity assessed using DPPH and FRAP assays showed distinct behaviors among extracts. The methanolic leaf extract exhibited the strongest DPPH radical scavenging activity with a IC_{50} value of 0.0048 mg/mL, while the chloroform tuber extract showed the highest reducing power in the FRAP assay with an EC_{50} value of 2.98 μ g/ μ L.

Anti-hemolytic assays demonstrated significant erythrocyte membrane protection depending on the plant organ and extraction solvent. Polar tuber extracts showed the highest protective effects, whereas leaves were more active in low-polarity fractions.

Regarding antibacterial activity, only chloroform and ethyl acetate tuber extracts exhibited moderate activity against *Staphylococcus aureus*. No significant activity was observed against *Escherichia coli*.

Keywords: *Bunium incrassatum*, medicinal plant, tubers, leaves, phytochemical screening, biological activity.

ملخص

يُعتبر نبات *Bunium incrassatum* (تلغودة) من النباتات الطبية المستعملة تقليدياً في الجزائر لعلاج العديد من الأمراض. تهدف هذه الدراسة إلى استكشاف خصائصه الكيميائية النباتية والبيولوجية من أجل تثمين استعماله التقليدي والكشف عن مركبات حيوية فعالة محتملة.

تم إجراء تحري كيميائي نباتي نوعي، وتحليل FTIR، بالإضافة إلى تقييم في المختبر للأنشطة المضادة للأكسدة، والمضادة لانحلال الدم، والمضادة للبكتيريا على مستخلصات ذات قطبية متدرجة (إيثر البترول، الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل، الميثانول) محضرة من الدرنات والأوراق.

أظهرت نتائج التحري الكيميائي النباتي اختلافاً واضحاً بين العضوين؛ إذ تميزت الدرنات بغناها بالنشاء والفلافونويدات والكومارينات والتربينويدات، بينما احتوت الأوراق أساساً على التانينات والستيرويدات والأنثوسيانوزيدات. كما أكدت تحاليل FTIR وجود مجموعات وظيفية مميزة للمركبات الفينولية والكربونيلية والأليفاتية.

أظهرت اختبارات النشاط المضاد للأكسدة (DPPH) و (FRAP) اختلافاً في فعالية المستخلصات. فقد سجل المستخلص الميثانولي للأوراق أفضل نشاط مضاد للأكسدة في اختبار (DPPH) بقيمة IC_{50} بلغت 0.0048 mg/mL، في حين أظهر المستخلص الكلوروفورمي للدرنات أفضل قدرة اختزالية في اختبار (FRAP) بقيمة EC_{50} بلغت 2.98 μ g/mL.

كما أظهرت اختبارات النشاط المضاد لانحلال الدم قدرة مهمة على حماية أغشية كريات الدم الحمراء، وكانت مرتبطة بنوع العضو والمذيب المستعمل. وقد سجلت المستخلصات القطبية للدرنات أفضل نسب حماية، بينما كانت الأوراق أكثر فعالية في الكسور قليلة القطبية.

أما بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا، فقد أظهرت فقط مستخلصات الكلوروفورم وأسيتات الإيثيل للدرنات نشاطاً متوسطاً ضد *Staphylococcus aureus*، في حين لم تُظهر أي من المستخلصات نشاطاً ملحوظاً ضد *Escherichia coli*.

الكلمات المفتاحية: *Bunium incrassatum* النباتات الطبية، الدرنات، الأوراق، التحري الكيميائي النباتي، النشاط البيولوجي.

Liste des abréviations

- **FTIR** : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.
- **ATR** : Réflexion totale atténuée.
- **DPPH** : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl (radical libre).
- **FRAP** : Pouvoir antioxydant réducteur du fer.
- **ATCC** : Collection américaine de cultures types.
- **IC₅₀** : Concentration inhibitrice médiane (50 %).
- **EC₅₀** : Concentration efficace médiane (50 %)
- **HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance.
- **GC/MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
- **CCM** : Chromatographie sur couche mince.
- **SM** : Spectrométrie de masse.
- **RMN** : Résonance magnétique nucléaire.
- **IR** : Infrarouge.
- **UV** : Ultraviolet.
- **LLE** : Extraction liquide-liquide.
- **SPE** : Extraction sur phase solide.
- **SLE** : Extraction solide-liquide.
- **TCA** : Acide trichloroacétique
- **KBr** : Bromure de potassium.
- **NaCl** : Chlorure de sodium.
- **PBS** : Tampon phosphate salin.
- **DMSO** : Diméthylsulfoxyde.
- **UFC/mL** : Unités formant colonies par millilitre.
- **OMS** : Organisation mondiale de la Santé.
- **Da** : Dalton (unité de masse moléculaire).
- **Nm** : Nanomètre.
- **cm⁻¹** : Nombre d'onde (centimètre réciproque).
- **µg/µL** : Microgramme par microlitre.
- **mg/mL** : Milligramme par millilitre.
- **K₃Fe(CN)₆** : Ferricyanure de potassium.
- **FeCl₃** : Chlorure ferrique.

- **Fe³⁺ / Fe²⁺** : Ion ferrique / ion ferreux.
- **m/z** : Rapport masse/charge.
- **δ**: Déplacement chimique (RMN, en ppm).
- **λ_{max}** : Longueur d'onde d'absorption maximale.
- ***B. incrassatum*** : *Bunium incrassatum* (abréviation du nom d'espèce).
- ***Spp.*** : Plusieurs espèces du genre.
- **v/v** : Volume/volume.
- **m/v** : Masse/volume.
- **H₂O** : Eau.
- **S. bactérienne** : Souche bactérienne.
- **DO** : Densité optique.

Liste des figures

N°	Titre de la Figure	Page
Figure 01	Caractéristiques morphologiques de la famille des Apiacées.	4
Figure 02	Morphologie végétative de <i>Bunium incrassatum</i> .	6
Figure 03	La morphologie de <i>Bunium incrassatum</i> .	6
Figure 04	Morphologie de <i>Bunium incrassatum</i> : Tubercule hivernal (A) et appareil aérien printanier (B).	8
Figure 05	Présentation des fleurs et des tubercules de <i>Bunium</i> .	8
Figure 06	Répartition géographique du genre <i>Bunium</i> .	9
Figure 07	Structures chimiques des principaux composés des huiles essentielles de différentes espèces du genre <i>Bunium</i> .	12
Figure 08	Structures chimiques des principaux composés phénoliques identifiés chez certaines espèces du genre <i>Bunium</i> .	13
Figure 09	Structures chimiques des principaux acides gras présents dans <i>Bunium persicum</i> .	13
Figure 10	Structures chimiques des mono et oligosaccharides identifiés dans <i>Bunium persicum</i> .	13
Figure 11	Structure de base des flavonoïdes.	16
Figure 12	Structures des tanins : (A) tanins hydrolysables (Bruneton, 2009) ; (B) tanins condensés ou proanthocyanidines.	19
Figure 13	Structure de base des coumarines.	19
Figure 14	Structure de base des saponosides.	20
Figure 15	Classification des terpènes et de leurs différents sous-groupes.	21
Figure 16	Structure chimique des anthocyanidines présentes dans la nature.	22
Figure 17	Étapes impliquées dans le processus d'extraction.	23
Figure 18	Principales techniques d'extraction : extraction liquide-liquide, extraction sur phase solide et extraction solide-liquide.	26
Figure 19	Aperçu général des techniques d'extraction par solvant.	28
Figure 20	Schéma de principe d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier.	31
Figure 21	Dispositif expérimental en spectrophotométrie UV-Visible.	32
Figure 22	Schéma de l'instrumentation de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC).	34
Figure 23	Schéma des étapes de la récolte à l'obtention des extraits bruts.	35
Figure 24	Étapes de préparation physique et de mise en place de l'échantillon sur le cristal ATR.	40
Figure 25	Interface logicielle et flux de travail pour l'acquisition, le traitement et l'analyse du spectre FTIR.	41

N°	Titre de la Figure	Page
Figure 26	Réaction entre le radical DPPH• et un antioxydant conduisant à la formation de la forme réduite du DPPH (DPPH-H).	42
Figure 27	Représentation schématique du mécanisme réactionnel du test FRAP avec le ferricyanure de potassium.	43
Figure 28	Schéma illustrant les protocoles de diffusion par disque et de la méthode de stries croisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.	45
Figure 29	Comparaison des rendements d'extraction des tubercules et des feuilles selon le solvant utilisé.	47
Figure 30	Observation des réactions phytochimiques des extraits de tubercules de <i>Bunium incrassatum</i> .	49
Figure 31	Spectres FTIR des différents extraits organiques des tubercules.	56
Figure 32	Spectres FTIR des différents extraits organiques des feuilles.	57
Figure 33	Valeurs IC ₅₀ des extraits étudiés dans la méthode de piégeage du DPPH.	63
Figure 34	Profil de décoloration du radical DPPH par les différents extraits organiques (feuilles vs tubercules)	63
Figure 35	Valeurs des EC ₅₀ du test pouvoir réducteur (FRAP).	66
Figure 36	Évaluation visuelle du pouvoir réducteur (Test FRAP) des différents extraits de <i>Bunium incrassatum</i>	66
Figure 37	Évaluation de l'activité antihémolytique des extraits des tubercules et des feuilles de <i>Bunium incrassatum</i> .	71
Figure 38	Mise en évidence de l'activité stabilisatrice de différents extraits de <i>Bunium incrassatum</i> sur la membrane des érythrocytes.	72
Figure 39	Spectres de Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) des différents extraits de Tubercules. (Annexe)	99
Figure 40	Spectres de Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) des différents extraits de Feuilles. (Annexe)	100
Figure 41	L'Évaporateur Rotatif utilisé pour la concentration des extraits. (Annexe)	101

Liste des tableaux

N°	Titre du Tableau	Page
Tableau 01	Classification systématique de <i>B. incrassatum</i> .	7
Tableau 02	Modes de préparation et applications thérapeutiques de « Talghouda ».	10
Tableau 03	Principaux composés phytochimiques identifiés chez Talghouda (<i>Bunium spp.</i>) selon différentes études.	12
Tableau 04	Classification des flavonoïdes.	17
Tableau 05	Tests de criblage phytochimique des métabolites secondaires et leurs principes de détection.	29
Tableau 06	Principaux tests phytochimiques et leurs principes.	37
Tableau 07	Rendements d'extraction des deux parties de la plante (feuilles et tubercules) de <i>Bunium incrassatum</i> .	47
Tableau 08	Résultats du criblage phytochimique des extraits des feuilles des <i>Bunium incrassatum</i> .	50
Tableau 09	Résultats du criblage phytochimique des extraits de tubercules des <i>Bunium incrassatum</i> .	50
Tableau 10	Résultats de la caractérisation phytochimique de l'amidon (Tubercules et Feuilles)	51
Tableau 11	Illustration des résultats des tests phytochimiques des extraits de feuilles de <i>Bunium incrassatum</i> .	54
Tableau 12	Activité d'inhibition du radical DPPH par les extraits de <i>Bunium incrassatum</i> (feuilles et tubercules).	62
Tableau 13	Absorbance du pouvoir réducteur (FRAP) des différents extraits des feuilles et des tubercules de <i>Bunium incrassatum</i> .	67
Tableau 14	Résultats de l'activité protectrice des extraits (Tubercules et Feuilles) sur la membrane érythrocytaire.	72
Tableau 15	Critères d'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque.	74
Tableau 16	Évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits des tubercules de <i>Bunium incrassatum</i> .	75
Tableau 17	Évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits des feuilles de <i>Bunium incrassatum</i> .	76
Tableau 18	Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques de référence.	78
Tableau 19	Liste des disques d'antibiotiques utilisés comme témoins positifs.	78
Tableau 20	Résultats de l'activité antibactérienne des extraits de tubercules à différentes concentrations.	79
Tableau 21	Résultats de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles à différentes concentrations.	80
Tableau 22	Composition du PBS (annexe)	98
Tableau 23	Composition de la solution d'Alsever (annexe)	99

Table des matières

Remerciements.....	<i>I</i>
Dédicace.....	<i>II</i>
Résumé.....	<i>IV</i>
Abstract.....	<i>V</i>
ملخص.....	<i>VI</i>
Liste des abréviations.....	<i>VII</i>
Liste des figures	<i>IX</i>
Liste des tableaux	<i>XI</i>
Introduction générale.....	<i>1</i>
Chapitre I : Étude bibliographique sur <i>Bunium incrassatum</i>	<i>3</i>
1. Généralités sur les plantes médicinales	<i>3</i>
1.1 Définition des plantes médicinales.....	<i>3</i>
1.2 Importance des plantes médicinales	<i>3</i>
2. Présentation de la famille des Apiacées	<i>3</i>
3. Dénominations du genre <i>Bunium</i>	<i>5</i>
4. <i>Bunium incrassatum</i>	<i>5</i>
5. Classification systématique	<i>7</i>
6. Description botanique	<i>7</i>
7. Répartition géographique et écologie.....	<i>8</i>
8. Usages traditionnels de <i>Bunium</i> en Algérie	<i>9</i>
8.1. Synthèse des usages ethnomédicinaux du genre <i>Bunium</i> en Algérie	<i>9</i>
8.2. Propriétés thérapeutiques et efficacité sur la thyroïde.....	<i>10</i>
8.3. Utilisation culinaire et contexte historique.....	<i>11</i>
9. Composition chimique rapportée dans la littérature	<i>11</i>
Chapitre II : Généralités sur les substances naturelles et techniques d'analyse	<i>14</i>
1. Définition des substances naturelles	<i>14</i>

2.	Métabolites primaires des plantes	14
2.1.	Les glucides.....	14
2.2.	Les protéines	15
2.3.	Les acides aminés.....	15
2.4.	Les lipides	15
2.5.	Les acides gras	15
2.6.	Les acides nucléiques	15
3.	Métabolites secondaires des plantes.....	15
4.	Classification des métabolites secondaires	16
4.1.	Flavonoïdes	16
4.2.	Tanins	18
4.3.	Coumarines.....	19
4.4.	Saponosides.....	20
4.5.	Terpénoïdes	20
4.6.	Stéroïdes	21
4.7.	Anthocyanosides	22
5.	Généralités sur l'extraction des composés bioactifs	22
6.	Méthodes d'extraction.....	23
6.1.	Séchage pré- et post-extraction	23
6.2.	Réduction de taille des particules	23
6.3.	Filtration et concentration	23
7.	Le choix du solvant	24
8.	Solvants utilisés pour l'extraction	24
8.1.	Eau.....	24
8.2.	Méthanol et Éthanol	24
8.3.	Solvants hydroalcooliques.....	24
8.4.	Chloroforme	25

8.5.	Acétate d'éthyle.....	25
8.6.	N-Hexane et Éther de pétrole	25
9.	Types d'extraction.....	25
9.1.	Extraction liquide-liquide (LLE).....	25
9.2.	Extraction sur phase solide (SPE)	25
9.3.	Extraction solide-liquide (SLE)	26
10.	Les techniques d'extraction.....	26
10.1.	Extraction par solvants	26
10.2.	Macération	27
10.3.	Infusion.....	27
10.4.	Décoction	27
10.5.	Percolation.....	27
10.6.	Digestion	27
10.7.	Extraction Soxhlet.....	27
10.8.	Distillation.....	27
10.9.	Enfleurage	28
10.10.	Expression mécanique.....	28
10.11.	Méthodes biologiques	28
11.	Criblage phytochimiques.....	29
12.	Techniques de séparation et méthodes d'identification des composés bioactifs	30
12.1.	Spectroscopie Infrarouge (IR).....	30
12.2.	Spectroscopie UV-Visible	31
12.3.	Spectrométrie de masse (SM)	32
12.4.	Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	32
12.5.	Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).....	33
Chapitre III : Matériel et méthodes		35
I.	Matériel et méthodes	35

1.	Matériel	35
1.1.	Matériel végétal.....	35
1.2.	Matériel microbien	36
1.3.	Matériel chimique et réactifs pour les activités biologiques	36
II.	Méthodes	36
1.	Extraction des composés	36
2.	Rendement d'extraction	37
3.	Caractérisation phytochimique.....	37
4.	Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	38
5.	Activités antioxydantes	41
5.1.	Capacité de piégeage du radical libre DPPH.	41
5.1.	Capacité de réduire l'ion ferrique (pouvoir réducteur) (FRAP).....	42
6.	Activité anti-inflammatoire	43
6.1.	Test de stabilisation de la membrane des globules rouges (érythrocytes).....	43
7.	Activité antimicrobienne	44
7.1.	Évaluation de l'activité antimicrobienne par diffusion sur gélose	44
Chapitre IV : Résultats et discussion.....		47
1.	Rendement d'extraction	47
2.	Caractérisation phytochimique.....	49
3.	Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	55
3.1.	Analyse des extraits des tubercules	56
3.2.	Analyse des extraits des feuilles.....	58
4.	Activités antioxydantes	61
4.1.	Test de piégeage du radical DPPH	61
4.1.1	Activité du pouvoir réducteur (FRAP).....	65
5.	Activité anti-inflammatoire	71

5.1.	Activité anti-hémolytique (Test de stabilisation de la membrane des globules rouges.)	71
6.	Évaluation de l'activité antibactérienne	74
	Conclusion.....	83
	Références bibliographiques.....	85
	Annexes.....	99

Introduction générale

Introduction générale

Depuis longtemps, les plantes médicinales occupent une place essentielle dans la vie de l'homme grâce à leurs nombreuses utilisations thérapeutiques, alimentaires et pharmaceutiques. Les populations se sont toujours appuyées sur les ressources naturelles pour traiter différentes maladies, ce qui fait des plantes une base fondamentale des systèmes de médecine traditionnelle. Aujourd'hui encore, une part importante de la population mondiale, surtout dans les pays en développement, continue de recourir aux remèdes à base de plantes pour les soins de santé primaires (**Gurib-Fakim, 2006**).

L'intérêt scientifique pour les plantes médicinales s'est fortement développé ces dernières années, principalement en raison de leur richesse en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes et les terpènes. Ces molécules sont connues pour leurs diverses activités biologiques, notamment antioxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires. Les effets observés sont généralement liés à la composition chimique des extraits ainsi qu'à la concentration de ces composés dans les différentes parties de la plante (**Trease & Evans, 2009**).

Parmi les espèces médicinales utilisées en Algérie, *Bunium incrassatum*, appelée localement « Talghouda », occupe une place importante dans la pharmacopée traditionnelle. Appartenant à la famille des Apiacées, elle est utilisée aussi bien à des fins thérapeutiques que culinaires. Ses tubercules sont particulièrement connus en médecine traditionnelle algérienne, notamment pour le traitement des troubles thyroïdiens (**Toul, 2022**). Dans ce travail, nous nous sommes intéressés aux feuilles ainsi qu'aux tubercules de cette plante afin d'étudier leurs propriétés phytochimiques et biologiques. Cette étude s'inscrit dans une démarche de valorisation de cette espèce en raison de ses usages traditionnels et de son potentiel en composés bioactifs.

Le choix du solvant d'extraction constitue une étape essentielle dans les études phytochimiques, car il influence directement le rendement et la nature des composés extraits. Ce choix repose sur le principe d'affinité chimique entre le solvant et les métabolites présents dans la matrice végétale. Ainsi, les composés lipophiles sont préférentiellement extraits par des solvants apolaires, tandis que les composés hydrophiles sont mieux solubilisés dans des solvants polaires. L'utilisation de solvants de polarités différentes permet donc d'obtenir une extraction plus large et plus représentative des métabolites secondaires (**Ahmed et al., 2026**).

Dans ce contexte, l'objectif principal de cette étude est d'explorer les caractéristiques phytochimiques et les activités biologiques de *Bunium incrassatum* (feuilles et tubercules) à travers une approche expérimentale basée sur l'utilisation de différents solvants d'extraction. Cette étude vise à mieux comprendre la richesse chimique de cette espèce ainsi que son potentiel pharmacologique. Ce choix méthodologique permet d'obtenir différents extraits destinés à la détermination des métabolites totaux, aux tests phytochimiques qualitatifs ainsi qu'à l'évaluation in vitro des activités biologiques, notamment antioxydante, antibactérienne et anti-hémolytique des différents extraits obtenus.

Notre travail est structuré en quatre chapitres comme suit :

- Dans le premier chapitre, nous présentons une analyse bibliographique sur *Bunium incrassatum*, incluant ses aspects botaniques, ses usages traditionnels et ses propriétés biologiques rapportées dans la littérature scientifique.
- Dans le deuxième chapitre, nous abordons les substances naturelles et les métabolites secondaires, ainsi que les techniques d'analyse utilisées en phytochimie (extraction, séparation et caractérisation).
- Le troisième chapitre présente le matériel utilisé ainsi que les méthodes expérimentales adoptées au cours de cette étude, Il détaille les protocoles expérimentaux utilisés dans cette étude, notamment l'extraction, les tests phytochimiques et les évaluations des activités biologiques.
- Le quatrième chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus ainsi qu'à leur analyse et leur interprétation.
- Enfin, une conclusion générale met en évidence les principaux résultats de l'étude et ouvre sur des perspectives de recherche futures.

Chapitre I :
Étude bibliographique sur
Bunium incrassatum

1. Généralités sur les plantes médicinales

1.1 Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des végétaux renfermant des substances actives susceptibles de prévenir ou de traiter diverses pathologies. Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS, 2002), une plante médicinale est définie comme toute plante contenant des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou comme précurseurs dans la synthèse de médicaments.

Les plantes peuvent être utilisées sous diverses formes, notamment les infusions, les décoctions, les extraits, les poudres ou encore les préparations végétales. Leur utilisation constitue l'une des formes les plus anciennes de thérapie dans l'histoire de l'humanité (Fabricant & Farnsworth, 2001).

1.2 Importance des plantes médicinales

L'utilisation des plantes médicinales remonte aux civilisations anciennes, notamment en Égypte, en Chine et en Inde. Actuellement, environ 80 % de la population mondiale fait appel à la médecine traditionnelle pour les soins de santé primaires, en particulier dans les pays en développement (OMS, 2002).

Les plantes constituent également une source importante de molécules thérapeutiques modernes. En effet, de nombreux médicaments commercialisés aujourd'hui sont dérivés de plantes ou de composés naturels (Rates, 2001). Plus de 25 % des médicaments prescrits dans le monde proviennent de plantes médicinales (Fabricant & Farnsworth, 2001). L'activité thérapeutique des plantes est principalement liée à leurs métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponines et les terpénoïdes (Rates, 2001). Ces composés possèdent diverses activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et antifongiques (Fabricant & Farnsworth, 2001).

2. Présentation de la famille des Apiacées

Les Apiacées, anciennement appelées Umbellifères, constituent une famille de plantes dicotylédones facilement reconnaissables par leur inflorescence en ombelles composées (Gagi & Toubal, 2018).

Il s'agit majoritairement de plantes herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces, parfois arbustives.

- Feuilles : alternes, composées, rarement simples. La base du pétiole est souvent renflée et entoure la tige. La tige est souvent creuse.
- Fleurs : disposées en ombelles simples, avec des bractées involucrelles à la base. Les fleurs possèdent 5 pétales et 5 étamines ; l'ovaire est biloculaire.
- Fruit : composé de 2 méricarpes reliés par un axe central (chaque méricarpe présente deux faces : une plate et une convexe).

La face dorsale comporte au moins 5 côtes, séparées par des sillons contenant des canaux sécréteurs (Baadache & Merrouche, 2019).



Figure 01 : Caractéristiques morphologiques de la famille des Apiacées. (Reichenbach., 1863).

3. Dénominations du genre *Bunium*

Le genre *Bunium* (Apiacées), dont l'étymologie grecque *boúunion* fait référence à la morphologie charnue de ses tubercules, regroupe environ 50 espèces réparties entre l'Europe, l'Asie et l'Afrique du Nord (Mohammad Hosseini et al., 2021). En Algérie, ce genre revêt une importance particulière : sur les sept espèces recensées dans la flore nationale, quatre sont considérées comme endémiques (Quézel & Santa, 1963). La taxonomie de ce genre reste complexe, comptant 128 synonymes et 31 taxons non résolus parmi les géophytes des zones arides (Adoui et al., 2022).

Le genre *Bunium* est reconnu pour ses propriétés médicinales et aromatiques. En Algérie, notamment dans les régions septentrionales, l'usage thérapeutique de la Talghouda connaît un regain d'intérêt. Les tubercules sont traditionnellement employés pour traiter diverses affections, notamment les troubles respiratoires (bronchite, asthme), les pathologies thyroïdiennes, les kystes, ainsi que les inflammations hémorroïdaires et les troubles digestifs. Par ailleurs, ces organes souterrains possèdent une valeur nutritive élevée, justifiant leur consommation comme ressource alimentaire (Adoui et al., 2022).

4. *Bunium incrassatum*

Bunium incrassatum Localement nommée « Talghouda », la nomenclature scientifique varie selon les auteurs et les régions. Bien que *Bunium incrassatum* soit fréquemment identifiée dans les zones cultivées, d'autres dénominations telles que *B. fontanesii* Batt, *B. mauritanicum* ou encore le genre équivalent *Carum* sont documentées dans la littérature botanique algérienne (Quézel & Santa, 1963 ; Adoui et al., 2022).

Reconnu pour l'importance de ses graines et de ses huiles essentielles, le *Bunium* est employé à travers le monde depuis des générations, tant pour ses apports nutritionnels que curatifs. Cette plante, autrefois l'un des piliers de la pharmacopée traditionnelle, se trouve désormais au centre de recherches scientifiques rigoureuses. Ces travaux visent à valider son potentiel thérapeutique et à favoriser son intégration dans les protocoles médicaux actuels (Mezzou & Meghouache, 2024).



Figure 02 : Morphologie végétative de *Bunium incrassatum* (Chentouh et al., 2018)



Figure 03 : La morphologie de *Bunium incrassatum* (Gagi & Toubal, 2018).

5. Classification systématique

Tableau 01 : Classification systématique de *B. incrassatum* (El Kolli et al., 2017).

Règne	Plantae
Subdivision	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Superordre	Asteranae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Bunium</i>
Espèce	<i>Bunium incrassatum</i>

6. Description botanique

Bunium incrassatum est une espèce appartenant à la famille des Apiacées, un groupe botanique comprenant de nombreuses plantes herbacées caractérisées par leurs inflorescences en ombelles et leurs organes souterrains souvent développés. Cette espèce présente plusieurs particularités morphologiques qui permettent de la distinguer au sein de ce genre.

La floraison survient généralement entre les mois de mars et juillet (Adoui et al., 2022). Le tubercule est de forme globuleuse avec un diamètre compris entre 1 et 2 cm, possède un cortex brunâtre renfermant une chair interne de couleur blanche.

La partie aérienne de la plante peut atteindre une hauteur comprise entre 30 et 70 cm. Les tiges sont fines, élancées et légèrement sillonnées, en particulier dans leur partie supérieure. Les feuilles, disposées de manière alterne le long de la tige, présentent une forme générale triangulaire et une division complexe de type pennatiséquée, comportant généralement deux à trois segments qui se terminent par des lanières étroites.

L'appareil reproducteur se manifeste par des inflorescences en ombelles mesurant approximativement 5 à 7 cm de diamètre et composées de fleurs blanches. Les pédicelles qui portent ces fleurs sont relativement souples et ne présentent ni rigidité marquée ni disposition étoilée (Couplan, 1994).



Figure 04 : Morphologie de *Bunium incrassatum* : Tubercule hivernal (A) et appareil aérien printanier (B) (Dehimi et al., 2020)



Figure 05 : Présentation des fleurs et des tubercules de *Bunium* (Adoui et al., 2022).

7. Répartition géographique et écologie

Le genre *Bunium* présente une distribution spontanée étendue en Europe, dans le bassin méditerranéen et en Afrique du Nord. En Europe, sa présence est documentée du nord de l'Angleterre jusqu'à la péninsule balkanique, en passant par l'Italie, la Sicile et l'Espagne (Tutin, 1980).

- Au Maghreb, *Bunium mauritanicum* est indigène au Maroc et largement répandu en Algérie, particulièrement dans les zones orientales comme la région d'Oum El Bouaghi (Chentouh et al., 2018).
- En Tunisie, où l'espèce est localement nommée « Telghoudi », elle a historiquement été consommée comme aliment de subsistance en période de disette (Adoui et al., 2022).

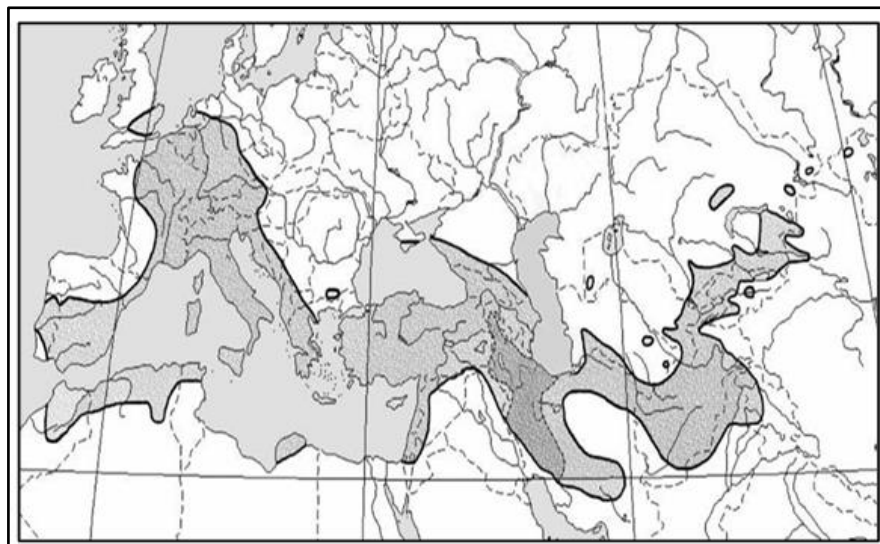


Figure 06 : Répartition géographique du genre *Bunium* (Mezzou & Meghouache, 2024).

8. Usages traditionnels de *Bunium* en Algérie

En Algérie, les espèces du genre *Bunium*, localement connues sous le nom de « Talghouda », occupent une place importante dans la pharmacopée traditionnelle et l'alimentation. Selon Adoui et al. (2022), leurs applications varient en fonction de l'organe utilisé et du mode de préparation.

8.1. Synthèse des usages ethnomédicinaux du genre *Bunium* en Algérie

Selon les données rapportées par Adoui et al. (2022), l'efficacité thérapeutique de « Talghouda » repose sur une diversité de préparations galéniques :

- **La voie orale (Infusion et Poudre) :** C'est la méthode prédominante pour traiter les affections systémiques comme les troubles endocriniens (thyroïde) et respiratoires. La poudre de tubercule est particulièrement citée pour son action directe sur les muqueuses gastriques.
- **La décoction et macération :** Ces méthodes sont privilégiées pour extraire les principes actifs des graines (contexte oncologique) ou des tubercules destinés aux douleurs chroniques.
- **L'usage topique et mécanique :** Moins fréquent, il concerne la santé mentale (anxiété) ou le traitement immédiat des symptômes grippaux par trituration de la plante fraîche.

Tableau 02 : Modes de préparation et applications thérapeutiques de « Talghouda » (Adoui et al., 2022).

Organe utilisé	Mode de préparation	Pathologies ou usages visés	Espèce concernée
Tubercule	Infusion / Poudre (voie orale)	Asthme, allergies, toux, amygdalite, troubles thyroïdiens et kystes	<i>B. incrassatum</i>
Tubercule	Poudre	Douleurs gastriques (maux d'estomac)	<i>B. incrassatum</i>
Tubercule	Macération (voie orale)	Douleurs osseuses	<i>B. mauritanicum</i>
Tubercule	Cru / Cuit	Usage culinaire et nutritionnel (alimentation locale)	<i>B. incrassatum</i>
Tubercule	Non spécifié	Hémorroïdes inflammatoires, diarrhée et galactogogue (élevage)	<i>B. incrassatum</i>
Graines	Décoction (brute)	Traitement des stades précoces de cancer	<i>B. mauritanicum</i>
Plante entière	Trituration	Symptômes de la grippe (influenza)	<i>B. mauritanicum</i>
Racines	Usage topique	Troubles de l'anxiété et hypocondrie	<i>B. incrassatum</i>

8.2. Propriétés thérapeutiques et efficacité sur la thyroïde

En médecine traditionnelle algérienne, la Talghouda est principalement reconnue pour son efficacité contre les pathologies thyroïdiennes, telles que les goitres et les kystes (Taïbi et al., 2021). Les guérisseurs l'utilisent également pour traiter des affections respiratoires (asthme, bronchite) et des troubles digestifs (Belhouala & Benarba, 2021).

Des recherches expérimentales récentes ont validé ces connaissances empiriques. L'étude de Bouthaina et al. (2022) a notamment démontré que l'administration de poudre de tubercules de *B. incrassatum* permet d'améliorer significativement les dommages tissulaires au niveau de la glande thyroïde chez les rats. Par ailleurs, d'autres travaux ont mis en évidence l'impact de ces extraits sur les paramètres hématologiques et la structure des glandes surrénales (Hammoudi et al., 2021).

8.3. Utilisation culinaire et contexte historique

Durant la période coloniale, alors que les ressources alimentaires étaient extrêmement limitées, les populations locales utilisaient les tubercules de *B. incrassatum* pour pallier la famine. Les tubercules étaient alors nettoyés, séchés, puis transformés en poudre fine. Cette poudre servait de substitut à la farine pour la confection de pains et de gâteaux, permettant ainsi aux populations de survivre malgré l'épuisement des stocks de céréales (Boutheina et al., 2022). Cette culture de subsistance était particulièrement adaptée aux régions montagneuses (Benkhalifa, 2018).

9. Composition chimique rapportée dans la littérature

La caractérisation chimique de la Talghouda met en évidence une grande diversité de métabolites secondaires, dont les propriétés pharmacologiques soutiennent son potentiel thérapeutique. Le profil phytochimique de la plante est principalement marqué par une forte concentration en composés polyphénoliques. Les analyses quantitatives révèlent que les polyphénols constituent la classe prédominante, suivis par une teneur importante en coumarines et une présence significative de flavonoïdes. Bien que détectés en proportions plus réduites, les alcaloïdes complètent cette diversité moléculaire (Mezzou & Meghouache, 2024).

En complément de ces grandes classes de métabolites, des investigations antérieures ont permis d'identifier des molécules spécifiques à visée nutritionnelle et bioactive. Les travaux de Berroukeche et al. (2022) rapportent notamment la présence de saccharose, d'acide oléique et de β -sitostérol. Plusieurs molécules d'intérêt pharmacologique ont également été isolées, telles que la scopolétine et la scoparone. Par ailleurs, malgré leur faible concentration, des composés phénoliques comme le thymol et le carvacrol ont été identifiés, pouvant exercer une influence notable sur l'activité biologique globale de l'extrait (Mezzou & Meghouache, 2024).

Plusieurs études ont rapporté la présence de divers composés phytochimiques dans les différentes parties de *Bunium spp.* Les principaux métabolites identifiés dans les extraits de Talghouda sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Principaux composés phytochimiques identifiés chez Talghouda (*Bunium spp.*) selon différentes études (Adoui et al., 2022).

Espèce	Partie étudiée	Type d'extrait / Méthode	Principaux composés identifiés
<i>Bunium incrassatum</i> (Algérie)	Fruits	Huile essentielle	(Z)-farnésène Oxyde de caryophyllène Germacrène B β -caryophyllène
<i>Bunium incrassatum</i> (Algérie)	Racines	Extrait méthanol-chlorométhane (MS, NMR)	Acide oléique β -sitostérol Scoparone Saccharose
<i>Bunium incrassatum</i> (Algérie)	Parties aériennes	Huile essentielle (GC-MS)	Acide palmitique
<i>Bunium mauritanicum</i> (Algérie)	Tubercules	Extraits méthanolique et aqueux	Stérols, triterpènes, saponines, tanins, alcaloïdes, flavones aglycones
<i>Bunium incrassatum</i> (Algérie)	Racines	Extraits acétone et hexane	Flavonoïdes et tanins en forte concentration

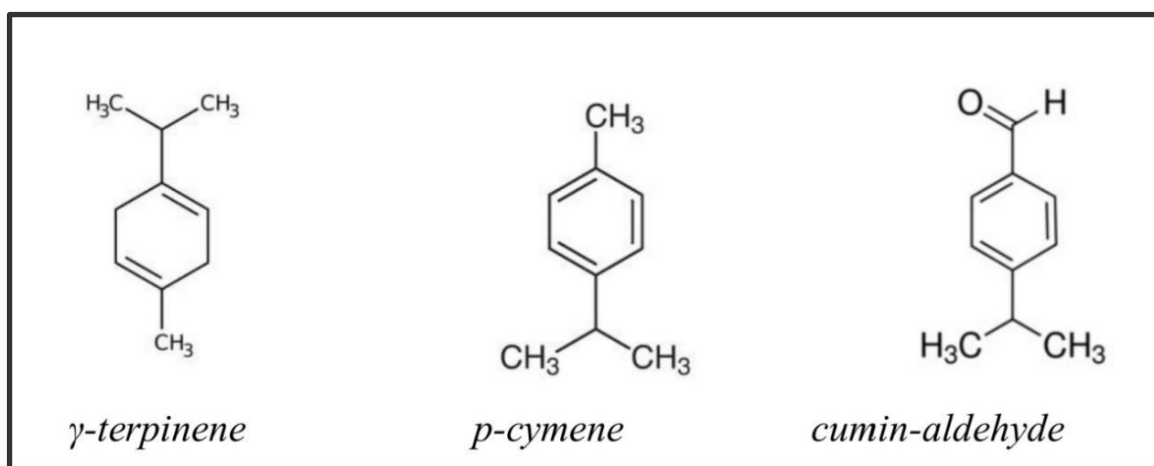


Figure 07 : Structures chimiques des principaux composés des huiles essentielles de différentes espèces du genre *Bunium* (Adoui et al., 2022).

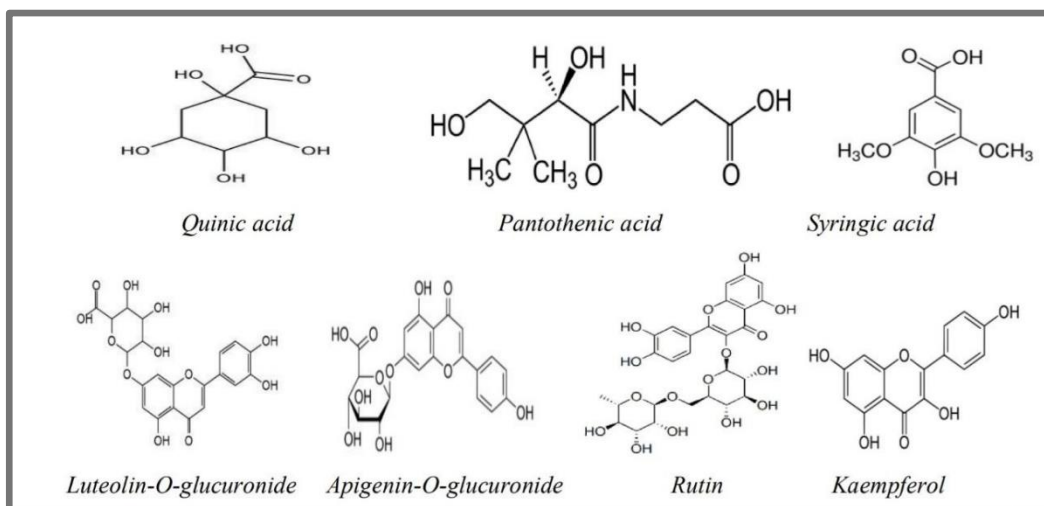


Figure 08 : Structures chimiques des principaux composés phénoliques identifiés chez certaines espèces du genre *Bunium* (Adoui et al., 2022).

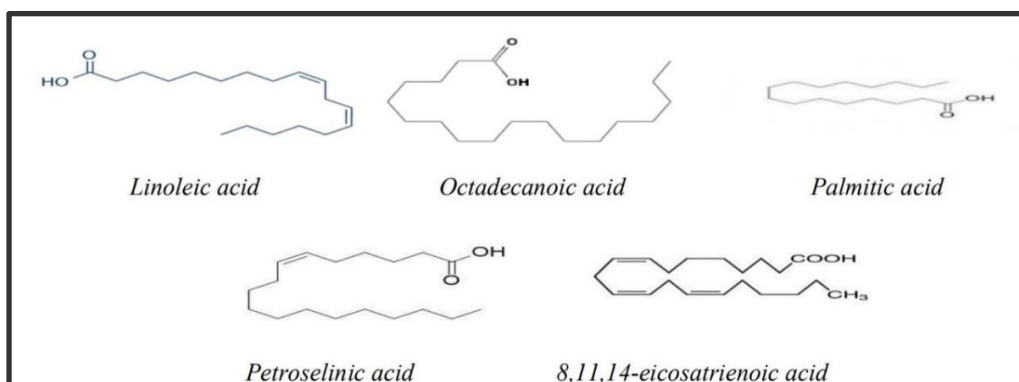


Figure 09 : Structures chimiques des principaux acides gras présents dans *Bunium persicum* (Adoui et al., 2022).

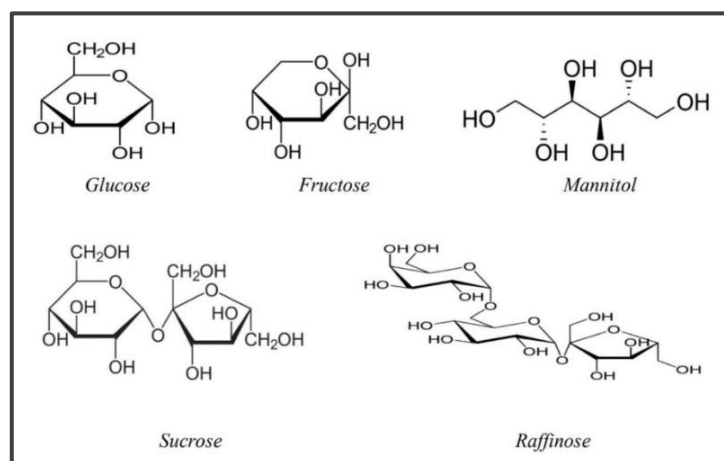


Figure 10 : Structures chimiques des mono et oligosaccharides identifiés dans *Bunium persicum* (Adoui et al., 2022).

***Chapitre II : Généralités sur
les substances naturelles et
techniques d'analyse***

1. Définition des substances naturelles

Les substances naturelles sont définies comme des composés chimiques organiques produits par des organismes vivants et isolés à partir de sources biologiques. Elles proviennent des voies métaboliques primaires ou secondaires et incluent une grande variété de molécules, allant des métabolites essentiels (glucides, acides aminés, lipides) aux métabolites secondaires spécialisés tels que les alcaloïdes, flavonoïdes et terpènes. Cette définition, largement reconnue en chimie organique et en biochimie, souligne leur complexité structurale et leurs propriétés bioactives, pertinentes pour la découverte de médicaments et l'analyse métabolomique (Dewick, 2009).

2. Métabolites primaires des plantes

Les métabolites primaires sont essentiels au fonctionnement des organismes, participant à la croissance, la reproduction et les activités cellulaires. Ils incluent principalement les glucides, lipides, protéines et acides nucléiques, produits durant la phase de croissance active (trophophase). Ils interviennent dans la production d'énergie (respiration, photosynthèse), assurent des fonctions structurelles (membranes, parois cellulaires, cytosquelette) et le stockage, transmission de l'information génétique. Certains jouent également un rôle dans la signalisation cellulaire et la défense grâce à des molécules comme les peptides et phytohormones (Elshafie et al., 2023).

2.1. Les glucides

Issus de la photosynthèse, ils constituent la principale réserve énergétique des plantes et servent de précurseurs à la synthèse d'autres composés organiques (Diemer, 2024).

Classification (Diemer, 2024) :

- Monosaccharides : glucose, fructose, xylose.
- Oligosaccharides : lactose, saccharose, maltose.
- Polysaccharides : amylose, cellulose, inuline.

2.2. Les protéines

Sont des macromolécules indispensables à la nutrition humaine. Leur rôle principal est d'assurer l'apport en acides aminés essentiels nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme (Diemer, 2024).

2.3. Les acides aminés

Constituent les unités de base des protéines et jouent un rôle essentiel dans de nombreux processus biologiques. Chez de nombreuses espèces végétales, les acides aminés dominants incluent la glutamine, le glutamate, l'aspartate, l'asparagine, la glycine, la sérine et l'arginine (Diemer, 2024).

2.4. Les lipides

Les lipides sont des molécules naturelles (huiles, cires, stérols, vitamines liposolubles telles que les vitamines A, D, E et K, phospholipides) jouant un rôle clé dans la structure des membranes, le stockage d'énergie et la régulation hormonale. Bien qu'ils soient des métabolites primaires des plantes, certains présentent également des activités pharmacologiques (Hussein & El-Anssary, 2018).

2.5. Les acides gras

Sont décrits comme des composants principalement présents sous forme liée, généralement estérifiés au glycérol pour former des graisses ou lipides. Ils constituent une réserve énergétique dans les graines et fruits et participent à la composition des membranes des chloroplastes et mitochondries. Certains acides gras insaturés sont également essentiels à l'alimentation humaine (Harborne, 1973).

2.6. Les acides nucléiques

Les acides nucléiques, ADN et ARN, sont des polymères constitués d'un phosphate, d'un sucre pentose et de bases azotées. L'ADN contient la cytosine, la thymine, l'adénine et la guanine, tandis que l'ARN remplace la thymine par l'uracile. Ils assurent le stockage et la transmission de l'information génétique (Diemer, 2024).

3. Métabolites secondaires des plantes

Contrairement aux métabolites primaires, les métabolites secondaires ne sont pas indispensables à la croissance ou à la reproduction des plantes, mais ils jouent un rôle essentiel dans le développement végétal, la défense immunitaire, la signalisation des réponses aux stress

et l'adaptation aux conditions environnementales. Ils protègent également contre les pathogènes et les ravageurs, facilitent les interactions symbiotiques avec les micro-organismes et influencent la composition des communautés microbiennes associées aux plantes (Pang et al., 2021). Ces composés suscitent un intérêt majeur en biologie végétale et en biotechnologie, étant étudiés *in vitro* et *in vivo* pour isoler de nouvelles molécules, caractériser leurs propriétés biochimiques et évaluer leur activité biologique ou leur toxicité potentielle. Selon leur composition chimique, les métabolites secondaires se répartissent principalement en trois grandes familles : les terpénoïdes, les composés phénoliques et les composés azotés (Elshafie et al., 2023).

4. Classification des métabolites secondaires

4.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent le groupe le plus important des composés phénoliques naturels. Leur classification repose essentiellement sur le degré d'oxydation du cycle central. Ces métabolites secondaires sont principalement présents chez les plantes supérieures, où ils jouent un rôle biologique essentiel, notamment dans la pigmentation florale et les processus de fixation de l'azote (Elshafie et al., 2023). À ce jour, plus de 2000 molécules ont été identifiées, dont environ 500 existent sous forme libre. Leur structure de base repose sur un squelette comportant un noyau chromane associé à un cycle aromatique positionné en C2, C3 ou C4 (Hussein & El-Anssary, 2018).

Dans les plantes, les flavonoïdes jouent un rôle essentiel dans la pigmentation et les mécanismes de défense. Ils possèdent également de nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé et sont des composants clés de nombreux produits cosmétiques, médicaments et préparations pharmaceutiques. Grâce à leurs activités anticancéreuses, antioxydantes, anti-inflammatoires et antimutagènes, ils peuvent moduler des processus enzymatiques cellulaires cruciaux (Pramanik et al., 2024).

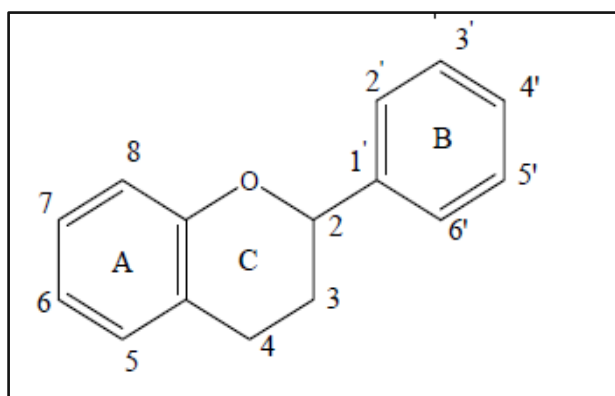
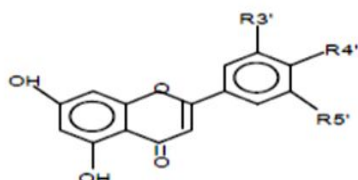
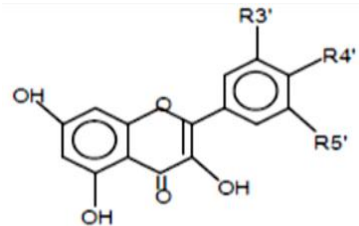
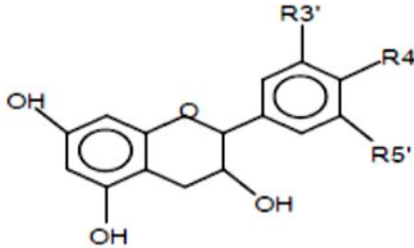
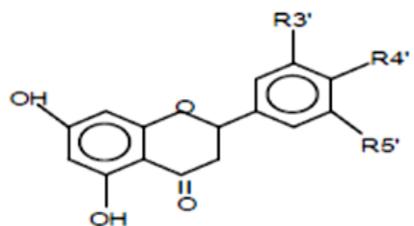


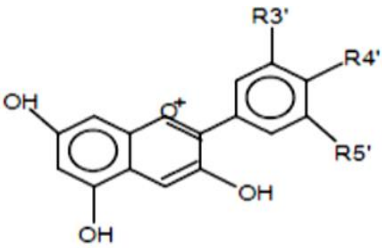
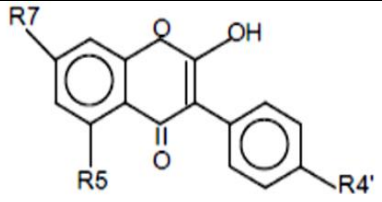
Figure 11 : Structure de base des flavonoïdes (Apak et al., 2007).

4.1.1. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent être classés en divers sous-groupes basés sur les types de modifications chimiques qu'ils comportent, y compris l'hydroxylation, la O-méthylation, la C-méthylation, l'isoprénylation ou encore la substitution par un groupement méthylènedioxy. Les flavones, les flavanones, les flavonols, les anthocyanidines et les isoflavones sont les sous-classes qui sont les plus représentées (Gharboudje & Hellous, 2023).

Tableau 04 : Classification des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Classe	Exemples	R3'	R4'	R5'	Structures chimiques
Flavones	Apigénine	H	OH	H	
	Lutéoline	OH	OH	H	
	Diosmétine	OH	OCH ₃	H	
Flavonols	Kaempférol	H	OH	H	
	Quercétine	OH	OH	H	
	Myricétine	OH	OH	OH	
Flavanols	Catéchine	OH	OH	H	
Flavanones	Naringénine Ériodictyol	H OH	OH OH	H H	

Anthocyanidines	Pelargonidine	H	OH	H	
	Cyanidine	OH	OH	H	
	Delphinidine	OH	OH	OH	
Isoflavones	Génistéine	OH	OH	OH	
	Daidzéine	H	O-Glu	OH	

4.2. Tanins

Les tanins représentent un groupe majeur de composés phénoliques, caractérisés par leur structure oligomérique ou polymérique et leur capacité à interagir avec diverses biomolécules telles que les protéines, les polysaccharides et les minéraux (**Pramanik et al., 2024**). Classiquement, ils sont définis comme des composés phénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da, capables de précipiter les protéines et les alcaloïdes (**Bruneton, 2009**). Par ailleurs, ces polyphénols possèdent des propriétés antioxydantes et antiseptiques. Ils sont largement distribués chez les dicotylédones, notamment dans les tissus ligneux et les organes de réserve (**Gharboudje & Hellous, 2023**).

4.2.1. Classification des tanins

Chez les végétaux supérieurs, les tanins sont généralement classés en deux grandes catégories, en fonction de leur structure chimique et de leur origine biosynthétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 2009**).

- **Tanins hydrolysables** : Sont des composés phénoliques résultant de l'estérification d'un sucre, généralement le glucose, avec des acides phénoliques. Ils se caractérisent par leur facilité d'hydrolyse sous l'action d'agents chimiques ou enzymatiques et se divisent en deux sous-groupes : les tanins galliques et les tanins ellagiques, selon l'acide phénolique impliqué (**Bruneton, 2009**).
- **Tanins condensés** : Les tanins condensés, ou proanthocyanidols, sont des polymères constitués d'unités flavaniques, principalement des flavan-3-ols. Ils se distinguent des tanins hydrolysables par leur résistance à l'hydrolyse et leur grande stabilité chimique, due à des liaisons carbone-carbone entre les monomères (**Bruneton, 2009**).

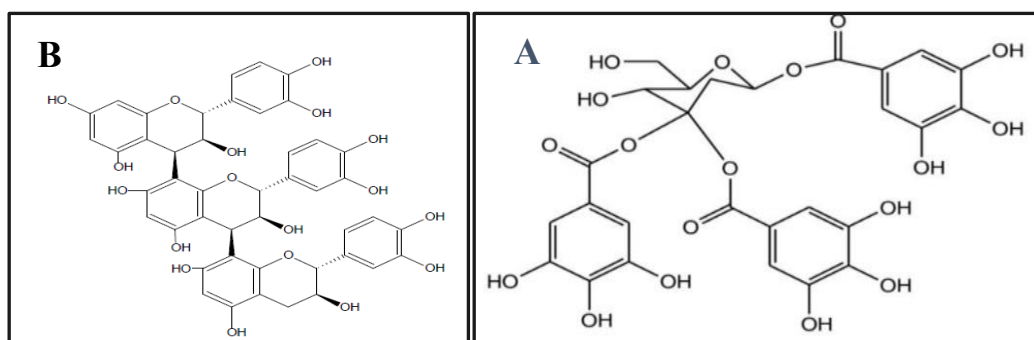


Figure 12 : Structures des tanins : (A) tanins hydrolysables (Bruneton, 2009) ; (B) tanins condensés ou proanthocyanidines (Apak et al., 2007).

4.3. Coumarines

Les coumarines sont des composés phénoliques simples de type benzo-2-pyrone, résultant de la fusion d'un cycle benzénique et d'un cycle α -pyrone. Elles présentent diverses activités biologiques, notamment antibactériennes et antifongiques, et jouent un rôle de défense chez les plantes, avec une concentration souvent élevée dans les graines (Pramanik et al., 2024). Environ 1000 coumarines ont été identifiées dans plus de 800 espèces végétales et certains microorganismes, particulièrement au sein de plusieurs familles botaniques. Sur le plan structural, elles se répartissent en plusieurs classes, telles que les coumarines simples, les furanocoumarines, les pyranocoumarines et les formes dimériques plus complexes (Muanda, 2010).

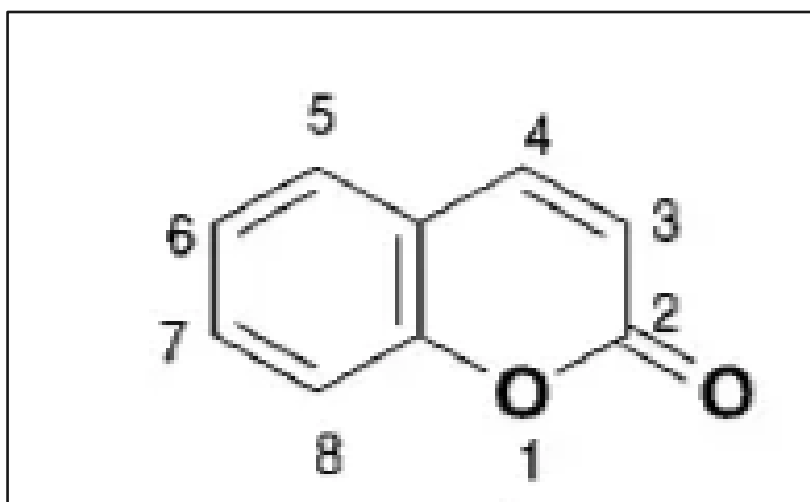


Figure 13 : Structure de base des coumarines (Bruneton, 2009).

4.4. Saponosides

Les saponines sont des composés amphiphiles constitués d'un aglycone polycyclique (stéroïdien ou triterpénoïde) lié à une fraction glucidique composée de différents sucres. Largement répandues dans le règne végétal, elles sont présentes dans diverses parties des plantes, avec une concentration souvent élevée dans les racines. Grâce à leur structure, elles possèdent des propriétés tensioactives (formation de mousse, hémolyse) et présentent une grande diversité d'activités biologiques, notamment antitumorales, anti-inflammatoires, expectorantes et analgésiques. (Hussein & El-Anssary, 2018).

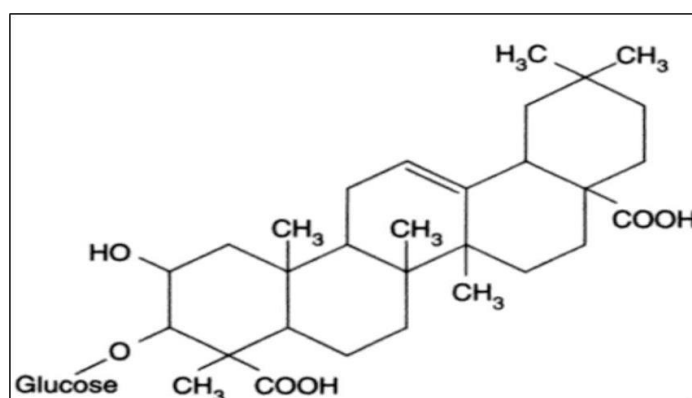


Figure 14 : Structure de base des saponosides (Gharboudje & Hellous, 2023).

4.5. Terpénoïdes

Les terpènes, ou terpénoïdes, sont des composés liposolubles dérivés d'unités d'isoprène ou de précurseurs métaboliques tels que l'acétyl-CoA. Ils présentent une grande diversité structurale et jouent des rôles essentiels dans les fonctions physiologiques des plantes, notamment dans la formation de pigments, de stérols et de phytohormones, ainsi que dans l'attraction des pollinisateurs et la défense contre les herbivores (Pramanik et al., 2024). Constituants majeurs des huiles essentielles, ils sont responsables des arômes et des saveurs des plantes (Gharboudje & Hellous, 2023). Classés selon le nombre d'unités isoprène (C5), ils comprennent notamment les sesquiterpénoïdes, diterpénoïdes et triterpénoïdes, et sont généralement étudiés par des techniques chromatographiques (Harborne, 1973).

4.5.1. Classification des terpénoïdes

- **Hémiterpènes (C5)** : Composés d'une seule unité isoprénique. Exemples : isoprène, acide angélique (*Angelica archangelica*), acide isovalérique (*Vaccinium myrtillus*) (Hussein & El-Anssary, 2018).
- **Monoterpènes (C10)** : Constitués de deux unités isopréniques (C₁₀H₁₆). Présents dans les huiles essentielles de familles comme Lamiaceae, Pinaceae, Rutaceae et Apiaceae.

Diverses structures : hydrocarbures, alcools, esters, aldéhydes, cétones. Activités : antalgiques, antiprurigineuses, anthelminthiques, vasodilatatrices (**Hussein & El-Anssary, 2018**).

- **Sesquiterpènes (C₁₅)** : Trois unités isopréniques (C₁₅H₂₄), structures acycliques, monocycliques ou bicycliques. Activités : antibactériennes, antifongiques, antiparasitaires ; applications thérapeutiques : anti-inflammatoires, analgésiques, cardiotoniques (**Hussein & El-Anssary, 2018**).
- **Diterpènes (C₂₀)** : Quatre unités isopréniques (C₂₀H₃₂), diversifiés structurellement. Activités : anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antitumorales, antiparasitaires. Exemples : vitamine K₁, gibbérellines, précurseurs de la vitamine A (**Hussein & El-Anssary, 2018**).
- **Triterpènes (C₃₀)** : Six unités isopréniques (C₃₀H₄₈), présents dans les lipides végétaux. Précurseurs des stéroïdes, formes libres ou glycosidées. Exemples : acides β- et α-boswelliques (anti-inflammatoires, antirhumatismales) (**Hussein & El-Anssary, 2018**).
- **Tétraterpènes (C₄₀)** : Huit unités isopréniques (C₄₀H₆₄). Composés principaux : caroténoïdes, impliqués dans la photosynthèse et la protection contre le stress oxydatif (**Hussein & El-Anssary, 2018 ; Mecheri & Rahali, 2025**).
- **Polyterpènes (C>40, jusqu'à C₄₀₀₀)** : Chaînes longues d'unités isopréniques répétées, assurant des fonctions structurales et protectrices dans les plantes (**Mecheri & Rahali, 2025**).

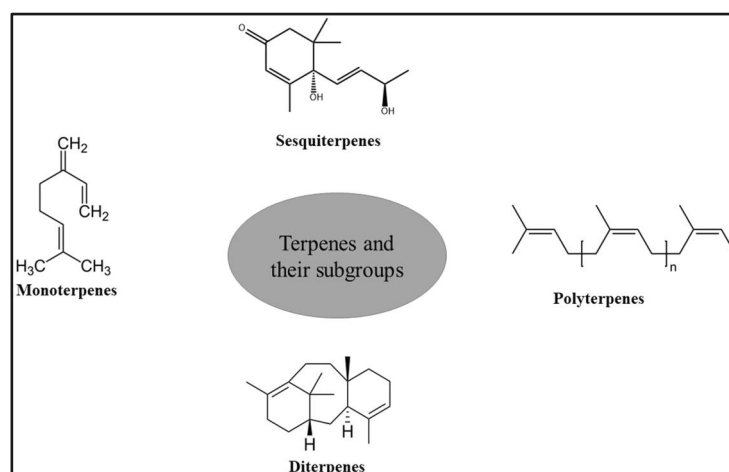


Figure 15 : Classification des terpènes et de leurs différents sous-groupes (**Pramanik et al., 2024**)

4.6. Stéroïdes

Les stéroïdes sont des composés tétracycliques dérivés des triterpénoïdes et caractérisés par un noyau cyclopentanopérhydrophénanthrène formé de quatre cycles fusionnés. Chez les plantes, ils sont principalement représentés par les phytostérols, qui jouent un rôle essentiel dans la structure et la stabilité des membranes cellulaires. Leur identification repose sur leurs

propriétés chromatographiques ainsi que sur des réactions colorées spécifiques (Harborne, 1973).

4.7. Anthocyanosides

Les anthocyanosides sont des formes glycosylées des anthocyanidines appartenant à la classe des flavonoïdes, responsables des couleurs rouges, violettes et bleues des fleurs, fruits et feuilles. Leur structure repose sur le noyau flavylum, auquel sont généralement attachées une ou plusieurs unités glucidiques en position 3. La coloration et les propriétés spectrales de ces composés varient selon le pH, expliquant les changements de teinte observés dans différents environnements. Outre leur rôle dans la pigmentation, les anthocyanosides possèdent des propriétés antioxydantes, ce qui les rend intéressants pour des applications alimentaires (Harborne, 1973 ; Dias et *al.*, 2021).

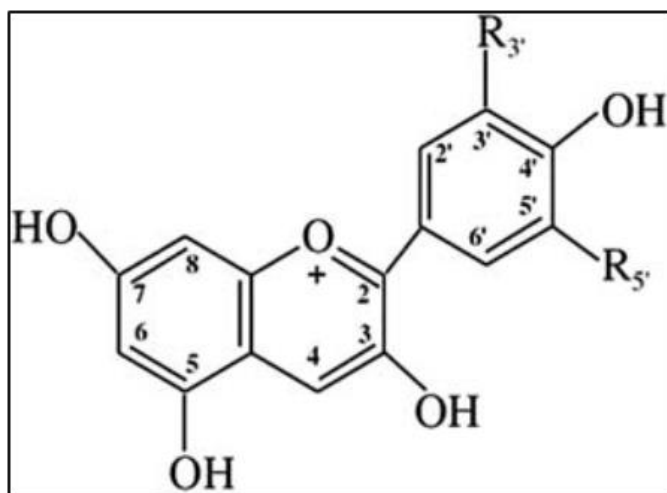


Figure 16 : Structure chimique des anthocyanidines présentes dans la nature (Cavalcanti et *al.*, 2022).

5. Généralités sur l'extraction des composés bioactifs

L'extraction est un processus de séparation sélective permettant d'isoler les composés bioactifs présents dans les matrices biologiques, qu'elles soient d'origine végétale ou animale, grâce à l'emploi de solvants spécifiques (Agarwal et *al.*, 2016). Dans le cas des plantes, ce processus vise à séparer un mélange complexe de métabolites tels que les alcaloïdes, glycosides, phénols, terpénoïdes et flavonoïdes selon des protocoles standardisés. L'objectif des méthodes d'extraction est de récupérer ces composés solubles, responsables de diverses activités biologiques, tout en éliminant les résidus cellulaires insolubles. Plusieurs techniques

d'extraction sont couramment utilisées, en fonction de la nature des composés et de leurs applications pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires (Dekebo, 2018).

6. Méthodes d'extraction

6.1. Séchage pré- et post-extraction

Le séchage avant extraction élimine l'humidité des plantes, favorise l'extraction des composés bioactifs et prévient la dégradation ou la croissance microbienne. Il peut se faire à l'air, au four, à l'ombre, par micro-ondes ou par lyophilisation, cette dernière étant idéale pour les matériaux sensibles à la chaleur (Ozdemir & Karagoz, 2024)

6.2. Réduction de taille des particules

L'optimisation de la taille des particules est essentielle pour l'extraction des plantes, car elle influence l'efficacité et la qualité des extraits. Des particules plus fines augmentent la surface de contact avec le solvant, mais un excès de finesse peut limiter la diffusion du solvant (Prasedya et al., 2021).

6.3. Filtration et concentration

Après l'extraction, les extraits végétaux contiennent souvent des impuretés solides et des débris végétaux. La filtration permet d'éliminer ces particules à l'aide de filtres en papier, tissu ou membrane, clarifiant ainsi l'extrait (Brendler et al., 2023). La concentration consiste ensuite à réduire le solvant pour augmenter la teneur en composés actifs. Elle peut être réalisée par évaporation, distillation ou évaporation sous vide, cette dernière préservant les molécules sensibles à la chaleur. Ces étapes garantissent des extraits plus puissants et efficaces, adaptés aux usages pharmaceutiques, cosmétiques ou nutraceutiques (Yannick Stéphane et al., 2021 ; Bommakanti et al., 2023).

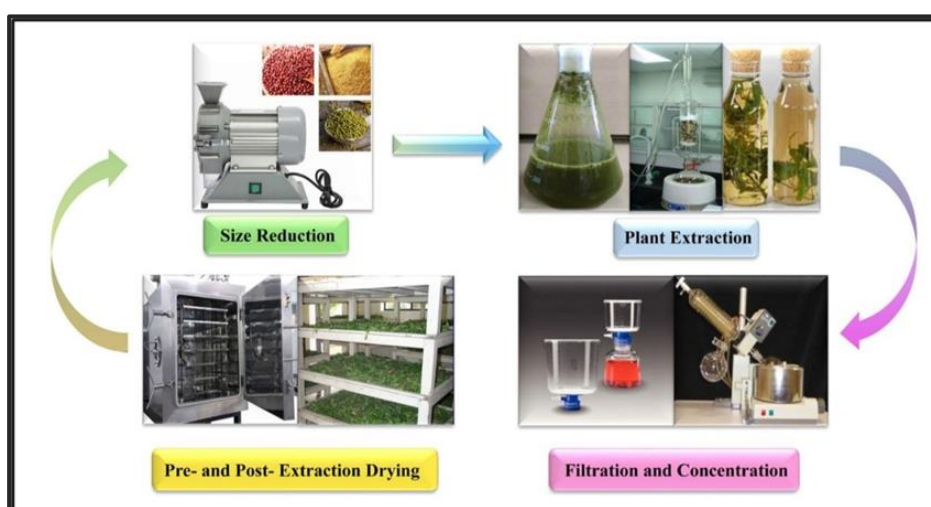


Figure 17 : Étapes impliquées dans le processus d'extraction (Ahmed et al., 2026).

7. Le choix du solvant

Le choix du solvant doit concilier sécurité, efficacité et coût. Les solvants toxiques comme le benzène sont à éviter, tandis que l'eau, bien que peu coûteuse, peut favoriser la croissance microbienne et l'hydrolyse (Byrne et al., 2016). La polarité, le point d'ébullition, la stabilité chimique et la faible viscosité sont essentiels pour assurer une bonne extraction, préserver les composés et faciliter la récupération du solvant. Les solvants organiques sont souvent préférés pour leur action conservatrice et leur meilleure absorption physiologique des extraits (Lee et al., 2024).

8. Solvants utilisés pour l'extraction

Lorsqu'une plante sèche est exposée à un solvant, les pores remplis d'air sont remplacés par le liquide, ce qui provoque le gonflement des tissus et la rupture des cellules à paroi fine, permettant au solvant de pénétrer et de dissoudre les composés actifs. Pour la fractionation, il est recommandé de choisir des solvants selon leur polarité : deux à faible polarité (n-hexane, chloroforme), deux à polarité moyenne (dichlorométhane, n-butanol) et un à forte polarité (eau) (Abubakar & Haque, 2020).

8.1. Eau

L'eau est un solvant polyvalent, sûr et respectueux de l'environnement, largement utilisé pour l'extraction des composés végétaux. Elle est particulièrement efficace pour les substances polaires et offre un coût faible et une disponibilité facile (Lajoie et al., 2022). Toutefois, sa capacité à dissoudre les composés hydrophobes est limitée, et elle peut favoriser la croissance microbienne, l'hydrolyse ou la dégradation enzymatique des extraits (Flórez-Fernández et al., 2017)

8.2. Méthanol et Éthanol

Le méthanol et l'éthanol sont des solvants organiques polaires largement employés pour extraire des phytoconstitués. Ils offrent une excellente solubilité et efficacité d'extraction tout en étant compatibles avec de nombreuses techniques analytiques (Awad et al., 2021). Ces solvants possèdent également des propriétés auto-conservatrices et facilitent la récupération du solvant. Cependant, leur toxicité, leur volatilité et leur impact environnemental nécessitent une utilisation prudente (Borges et al., 2020).

8.3. Solvants hydroalcooliques

Les solvants hydroalcooliques, composés d'eau et d'alcool (éthanol ou isopropanol), combinent les avantages des deux types de solvants. Ils permettent d'extraire sélectivement divers composés tout en conservant l'efficacité des extraits (Tourabi et al., 2023). Ces mélanges sont utilisés dans la médecine traditionnelle, l'industrie pharmaceutique, cosmétique et alimentaire. Bien qu'efficaces, ils peuvent co-extraire des substances indésirables, ce qui

nécessite un contrôle précis du processus (**Plaskova & Mlcek, 2023**). Leur utilisation offre un compromis entre sécurité, polyvalence et efficacité, mais doit respecter les réglementations environnementales et sanitaires.

8.4. Chloroforme

Le chloroforme (CHCl_3) était historiquement apprécié pour sa volatilité et sa capacité à dissoudre de nombreux composés organiques, facilitant l'extraction (**Chigayo et al., 2016**). Toutefois, sa toxicité élevée, ses effets cancérogènes et son impact environnemental persistent ont conduit à des restrictions sévères (**Rasul, 2018**).

8.5. Acétate d'éthyle

L'acétate d'éthyle ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$) est un solvant organique modérément polaire. Il se distingue par sa faible température d'ébullition, permettant une concentration facile sans dégrader les composés sensibles. Cependant, il présente des risques pour la santé et l'environnement en raison de sa volatilité et de sa toxicité potentielle. Son efficacité est limitée pour les composés très polaires, nécessitant parfois l'usage de solvants complémentaires. (**Babu et al., 2016**).

8.6. N-Hexane et Éther de pétrole

Le n-hexane et l'éther de pétrole sont des solvants non polaires idéaux pour extraire les composés lipophiles comme les huiles et les graisses (**Norazlina et al., 2021**). Le n-hexane est notamment utilisé pour les huiles végétales alimentaires, tandis que l'éther de pétrole sert à isoler les terpènes et huiles essentielles. Leur faible point d'ébullition facilite la concentration des extraits. Cependant, leur toxicité, notamment neurotoxique, et leur impact environnemental imposent des précautions strictes (**Nawaz et al., 2020**).

9. Types d'extraction

9.1. Extraction liquide-liquide (LLE)

Cette méthode sépare les composés végétaux en utilisant deux solvants immiscibles, l'un polaire et l'autre non polaire. Les composés hydrophiles sont d'abord extraits avec le solvant polaire, puis les composés lipophiles avec le solvant non polaire. La distribution des composés entre les phases dépend de leur solubilité. L'évaporation du solvant concentre les extraits, et des étapes de purification comme la chromatographie peuvent suivre. LLE permet d'adapter les solvants et les conditions selon la nature des composés ciblés, optimisant le rendement et la pureté (**Fierascu et al., 2020**).

9.2. Extraction sur phase solide (SPE)

L'extraction sur phase solide (SPE) est une technique de préparation d'échantillon sélective. Elle repose sur la distribution des analytes entre une phase liquide (échantillon) et

une phase stationnaire solide (appelée adsorbant ou sorbant). Lors du passage de l'extrait, les molécules d'intérêt sont retenues par l'adsorbant contenu dans la cartouche, tandis que les interférences sont éliminées. Les composés sont ensuite récupérés par élution avec un solvant approprié. (Mencin *et al.*, 2021).

9.3. Extraction solide-liquide (SLE)

Aussi appelée lixiviation, cette méthode transfère les composés des matières solides vers un solvant liquide. Le choix du solvant dépend de la solubilité des composés, et la préparation du matériau végétal vise à augmenter la surface d'extraction. Le mélange est agité ou percolé pour faciliter le transfert, puis filtré et concentré. La récupération du solvant rend la méthode économique et durable. SLE est adaptée à de nombreux types de plantes et composés. Par exemple, l'extraction de caféine du thé montre que le chloroforme est plus efficace que l'eau en raison de meilleures interactions avec la caféine (Senol & Aydin, 2006).



Figure 18 : Principales techniques d'extraction : extraction liquide-liquide, extraction sur phase solide et extraction solide-liquide (Ahmed *et al.*, 2026).

10. Les techniques d'extraction

10.1. Extraction par solvants

L'extraction par solvants est une méthode polyvalente utilisée pour isoler des huiles essentielles et autres composés bioactifs à partir de matériaux végétaux à l'aide de solvants organiques. Le choix du solvant dépend de sa capacité à dissoudre efficacement les composés ciblés. Le matériau végétal peut être préparé et réduit en particules pour augmenter la surface d'extraction. Après contact avec le solvant, l'extrait est séparé du résidu végétal par filtration ou centrifugation. Le solvant peut être récupéré pour réduire les coûts et l'impact environnemental. L'extrait concentré est obtenu par évaporation sous conditions contrôlées et stocké pour usage ultérieur, illustrant l'efficacité et la scalabilité de cette méthode (Kant & Kumar, 2022).

10.2. Macération

La macération est une méthode d'extraction consistant à immerger des matières végétales, sous forme grossière ou en poudre, dans un solvant afin de libérer leurs composés bioactifs. Cette technique est largement utilisée, notamment dans la vinification et pour l'isolement de principes actifs à partir de plantes. Le mélange est laissé à reposer à température ambiante pendant au moins trois jours, avec des agitations régulières, puis est soumis au pressage ou à la filtration pour récupérer l'extrait (Dekebo, 2018).

10.3. Infusion

L'infusion est une technique qui repose sur la mise en contact de la drogue végétale avec de l'eau chaude ou froide pendant une période relativement courte. Cette méthode permet d'obtenir des préparations diluées contenant principalement les composés hydrosolubles facilement extractibles (Malini et al., 2023)

10.4. Décoction

La décoction consiste à faire bouillir le matériau végétal pour extraire les composés thermostables (alcaloïdes, flavonoïdes). Idéale pour racines et écorces dures, elle permet de récupérer des composés liposolubles (Li et al., 2010).

10.5. Percolation

Méthode exhaustive où le solvant traverse lentement le matériau végétal pour dissoudre les composés. Elle combine infusion, macération et passage continu du solvant. Utilisée pour la fabrication de teintures (Hidayat & Wulandari, 2021).

10.6. Digestion

La digestion représente une forme particulière de macération réalisée sous l'effet d'une chaleur modérée. Elle est utilisée lorsque les composés à extraire tolèrent une élévation de température. Cette condition thermique améliore l'efficacité du solvant, en augmentant sa capacité d'extraction. (Malini et al., 2023)

10.7. Extraction Soxhlet

L'extraction Soxhlet utilise un dispositif permettant une extraction continue par reflux. Le solvant s'évapore, condense et s'écoule sur le matériau, répétant le cycle jusqu'à extraction complète. Avantages : rendement élevé, utilisation minimale de solvant, adaptée aux matériaux partiellement solubles. (Sahne et al., 2016).

10.8. Distillation

La distillation (souvent par vapeur) est la technique privilégiée pour extraire les huiles essentielles. La vapeur sépare les composés volatils à une température inférieure à leur point

d'ébullition. L'huile essentielle est ensuite récupérée séparément de l'eau. Convient pour les huiles légères et lourdes, avec efficacité selon le type de solvant utilisé (Machado et al., 2022).

10.9. Enfleurage

L'enfleurage extrait les huiles essentielles de fleurs délicates en saturant un support gras avec les composés aromatiques. Les fleurs sont remplacées régulièrement jusqu'à ce que le gras soit totalement parfumé. L'huile est ensuite isolée par alcool et évaporation, produisant un concentré appelé « *absolute* », préservant les fragrances sensibles (Salomé-Abarca et al., 2015).

10.10. Expression mécanique

L'expression mécanique, par pressage hydraulique ou à vis, permet d'extraire des huiles à partir de graines, fruits ou zestes sans utiliser de chaleur élevée ni de solvants. Cette méthode conserve les propriétés naturelles des huiles mais peut avoir un rendement limité pour les matériaux peu riches en huile (Yusuf, 2018).

10.11. Méthodes biologiques

Les méthodes biologiques, comme la fermentation et l'extraction enzymatique, utilisent des microorganismes ou des enzymes pour libérer des composés bioactifs. Elles offrent une extraction durable et douce, adaptée aux composés non volatils, et améliorent la biodisponibilité des phytoconstitués tout en réduisant l'utilisation de solvants chimiques (Lemes et al., 2022).

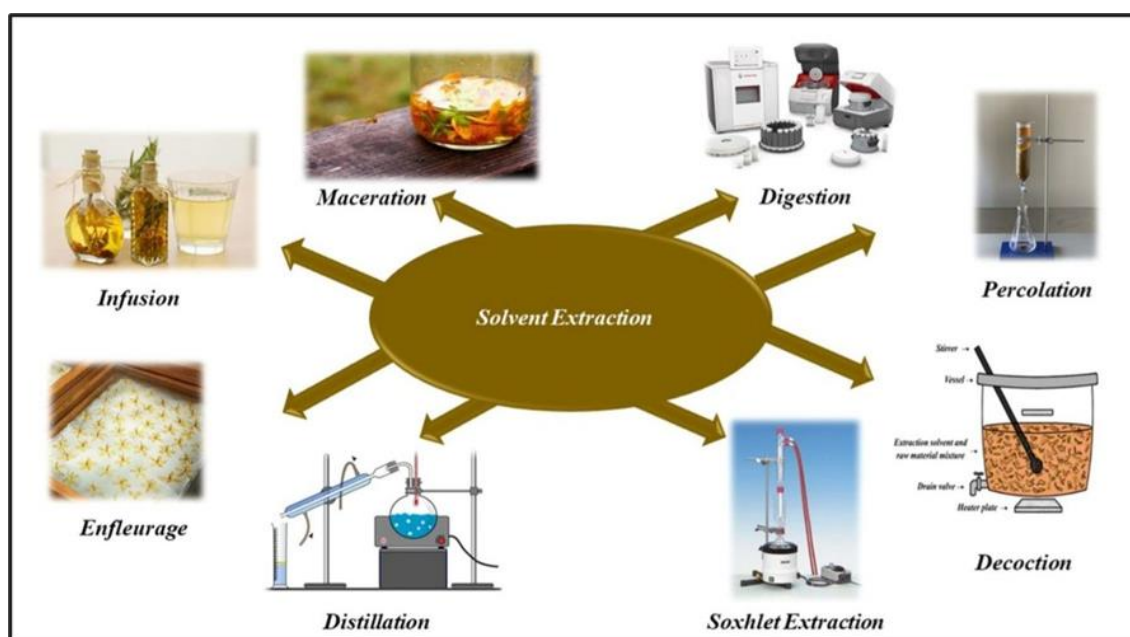


Figure 19 : Aperçu général des techniques d'extraction par solvant (Ahmed et al., 2026).

11. Criblage phytochimiques

Tableau 05 : Tests de criblage phytochimique des métabolites secondaires et leurs principes de détection (adapté de Agarwal *et al.*, 2016 ; Nortjie *et al.*, 2022 ; Trease & Evans, 1989).

Groupe de composés	Test	Réactif / Principe	Résultat positif
Alcaloïdes	Dragendorff	Réactif de Dragendorff	Précipité rouge
	Mayer	Iodure mercurique potassique	Précipité crème/jaune
	Wagner	Réactif de Wagner	Précipité brun-rouge
	Hager	Acide picrique	Précipité jaune
Flavonoïdes	Test alcalin	NaOH	Coloration jaune
	Acétate de plomb	Pb (CH ₃ COO) ₂	Précipité jaune
	Test à H ₂ SO ₄	Acide sulfurique	Coloration orange
Glycosides	Legal	Nitroprussiate + NaOH	Coloration rose-rouge
	Borntrager modifié	FeCl ₃ + NH ₃	Coloration rose
Anthraquinones	Borntrager	HCl + CHCl ₃ + NH ₃	Coloration rose
Phénols	Chlorure ferrique	FeCl ₃	Coloration bleu-noir
	Acétate de plomb	Pb (CH ₃ COO) ₂	Coloration jaune
Tanins	Gélatine	Solution de gélatine	Précipité blanc
	FeCl ₃	Chlorure ferrique	Coloration vert foncé
Saponines	Test de mousse	Agitation dans l'eau	Mousse persistante
Stéroïdes	Test à l'anhydride acétique	Anhydride acétique + H ₂ SO ₄	Coloration violet → vert
Terpénoïdes	Salkowski	CHCl ₃ + H ₂ SO ₄	Coloration brun-rouge
Diterpènes	Acétate de cuivre	Cu (CH ₃ COO) ₂	Vert émeraude
Protéines / AA	Ninhydrine	Réactif de ninhydrine	Bleu
	Xanthoprotéique	HNO ₃	Jaune
Glucides	Benedict	Chauffage	Précipité rouge

	Fehling	Fehling A et B	Précipité rouge
--	---------	----------------	-----------------

12. Techniques de séparation et méthodes d'identification des composés bioactifs

12.1. Spectroscopie Infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge est une technique analytique fondamentale en phytochimie, principalement utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels au sein des métabolites secondaires. La détermination de ces fonctions chimiques est cruciale, car elle permet de définir les propriétés physiques et chimiques globales des composés isolés (Abubakar & Haque, 2020 ; Harborne, 1998).

- **Principes Fondamentaux et Instrumentation**

Le processus repose sur le passage d'un rayonnement infrarouge à travers un échantillon organique. Les liaisons chimiques (simples, doubles ou multiples) absorbent l'énergie à des fréquences spécifiques, provoquant des vibrations moléculaires mesurables (Abubakar & Haque, 2020). Le résultat est généralement exprimé sous la forme d'un spectre de transmittance (%), où les bandes d'absorption pointent vers le bas.

Selon Harborne (1998), le balayage spectral s'effectue classiquement entre 4000 et 667 cm^{-1} . Cette plage permet de distinguer :

- 1) La zone des groupes fonctionnels ($> 1200 \text{ cm}^{-1}$) : où l'on identifie les vibrations de valence spécifiques (ex : C=O, O-H).
- 2) La zone de l'empreinte digitale ($< 1200 \text{ cm}^{-1}$) : qui reflète la structure squelettique unique de la molécule.

- **Préparation des Échantillons**

La méthode de préparation varie selon l'état physique de l'extrait ou du composé purifié (Abubakar & Haque, 2020 ; Harborne, 1998) :

- **Échantillons solides** : La technique la plus répandue consiste à broyer environ 1 mg de substance avec du bromure de potassium (KBr), puis à compresser le mélange sous haute pression pour obtenir une pastille fine et translucide.
- **Échantillons liquides** : Ils sont généralement analysés sous forme de film mince placé entre deux pastilles de chlorure de sodium (NaCl), un matériau transparent aux radiations infrarouges.

- **Analyse et Identification**

L'interprétation finale repose sur la comparaison des pics obtenus (nombres d'ondes) avec des standards de référence ou des bases de données spectrales (**Abubakar & Haque, 2020**). Cette approche comparative est particulièrement efficace pour confirmer la pureté d'un échantillon ou pour différencier des structures étroitement liées, comme c'est le cas pour certains alcaloïdes ou terpénoïdes (**Harborne, 1998**)

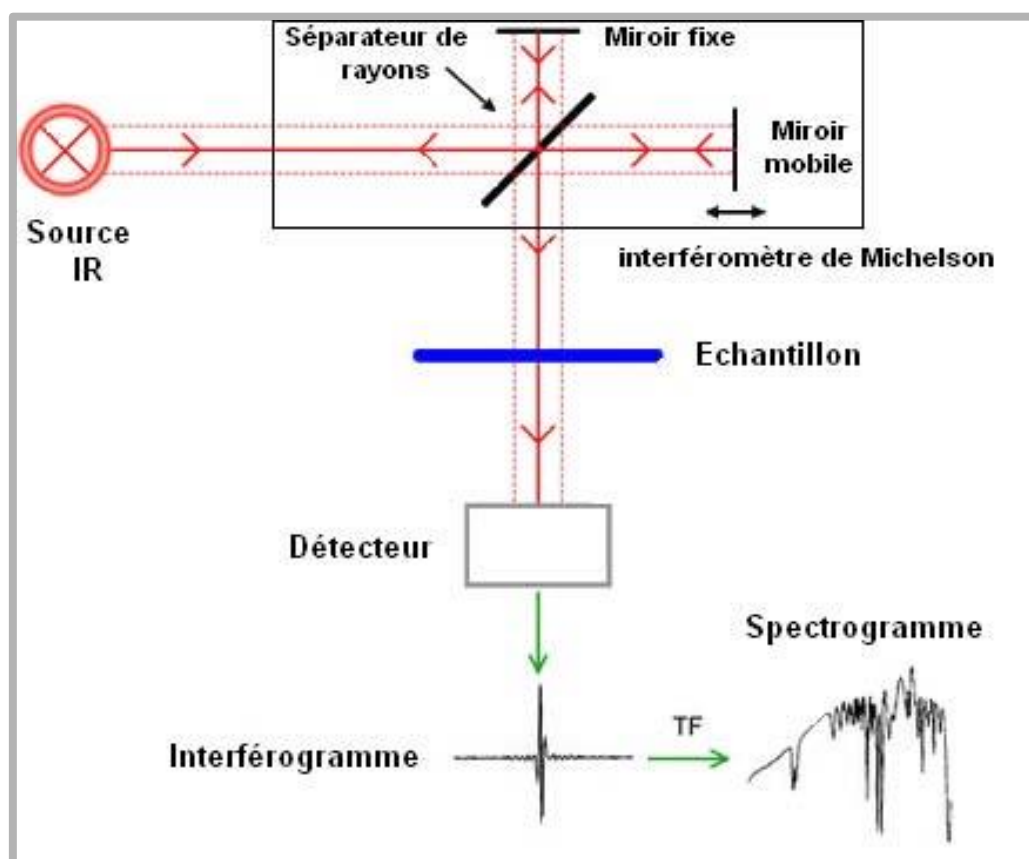


Figure 20 : Schéma de principe d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier
Truche, C. (2010).

12.2. Spectroscopie UV-Visible

La spectroscopie UV-Visible repose sur l'absorption du rayonnement dans les domaines ultraviolet (180–400 nm) et visible (400–700 nm), induisant des transitions électroniques des électrons de valence, principalement de type $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$. Cette technique est particulièrement adaptée à l'étude des molécules possédant des systèmes conjugués, tels que les composés aromatiques et les pigments naturels. La longueur d'onde d'absorption maximale (λ_{max}) constitue une signature caractéristique de la structure électronique de la molécule et permet son identification (**Skoog et al., 2014 ; Silverstein et al., 2015**)

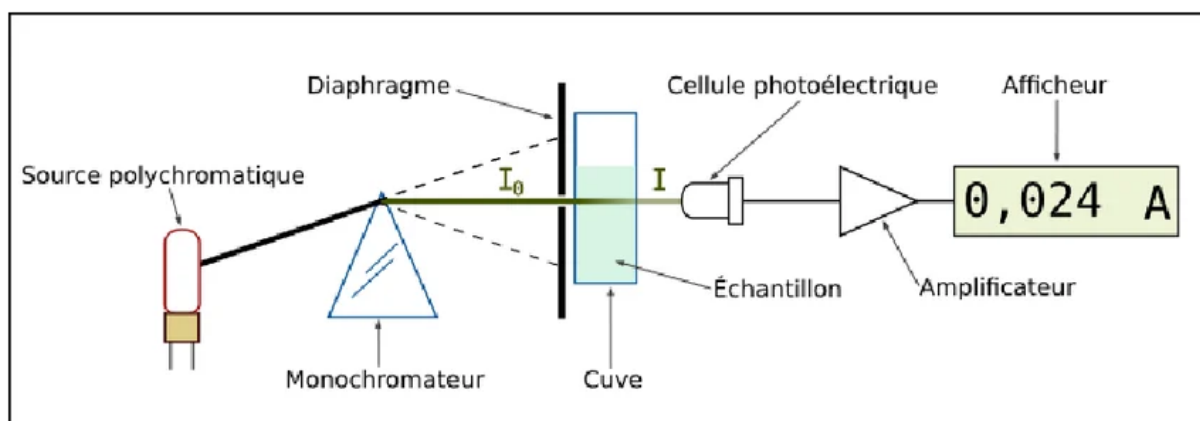


Figure 21 : Dispositif expérimental en spectrophotométrie UV-Visible (Nouairia et *al.*, 2010)

12.2.1. Loi de Beer-Lambert (Kiteto & Mecha, 2024)

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

➤ La loi de Beer-Lambert établit une relation linéaire entre l'absorbance (A) d'une solution et la concentration (c) de l'espèce absorbante :

- **A** : absorbance (sans unité)
- **ε** : coefficient d'extinction molaire ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), dépend de la substance et de la longueur d'onde
- **l** : longueur du trajet optique (cm)
- **c** : concentration ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

Cette loi permet la quantification des substances en solution sous des conditions idéales : solution diluée, rayonnement monochromatique, absence d'interactions moléculaires (Skoog et *al.*, 2014).

12.3. Spectrométrie de masse (SM)

La spectrométrie de masse permet de déterminer la masse moléculaire et la formule brute d'un composé en mesurant le rapport masse/charge (m/z) des ions formés. Elle fournit également des informations structurales grâce aux fragments issus de la fragmentation de la molécule. L'ion moléculaire (ion parent) est particulièrement important pour l'identification des composés organiques (Gross, 2017).

12.4. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La RMN repose sur l'interaction des noyaux (notamment ^1H) avec un champ magnétique. Elle permet de déterminer l'environnement chimique des protons dans une molécule. Les déplacements chimiques (δ , en ppm), les multiplicités et les constantes de

couplage fournissent des informations détaillées sur la structure moléculaire, rendant cette technique indispensable pour l'élucidation structurale (Claridge, 2016).

12.5. Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

- **Définition**

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) constitue une technique analytique essentielle permettant de séparer, identifier et quantifier les composés présents dans un mélange complexe. Elle est largement utilisée en chimie pharmaceutique, biochimique et environnementale grâce à sa précision, son efficacité et sa reproductibilité, fournissant des données fiables dans divers domaines (Ahmed, 2024 ; Sonti, 2024). Chaque composé possède un temps de rétention spécifique, ce qui permet de confirmer sa présence dans un échantillon en comparant ce temps de rétention à celui d'un standard connu, et d'estimer ensuite sa concentration (Ahmed, 2024).

- **Principe**

Le principe fondamental de la chromatographie liquide à haute performance repose sur l'adsorption. Lorsqu'un mélange d'échantillons est introduit dans la colonne, les différents composants migrent à des vitesses distinctes en fonction de leur affinité relative pour la phase stationnaire. Les composés ayant une affinité élevée pour la phase stationnaire se déplacent plus lentement, tandis que ceux ayant une affinité moindre migrent plus rapidement. Comme chaque composé possède une affinité unique pour la phase stationnaire, cela permet une séparation efficace des composants du mélange (Sonti, 2024).

- **Instrumentation**

L'instrumentation de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) comprend plusieurs composants essentiels qui assurent la séparation et l'analyse des composés chimiques. Parmi ces éléments principaux figurent le réservoir de solvants, les pompes, les injecteurs, les colonnes, les détecteurs, ainsi que les enregistreurs et intégrateurs. Chaque composant joue un rôle précis : les pompes assurent la circulation du solvant à haute pression, les injecteurs introduisent l'échantillon dans le système, la colonne effectue la séparation des composés, et les détecteurs combinés aux intégrateurs permettent d'obtenir et d'enregistrer les signaux analytiques (Sonti, 2024).

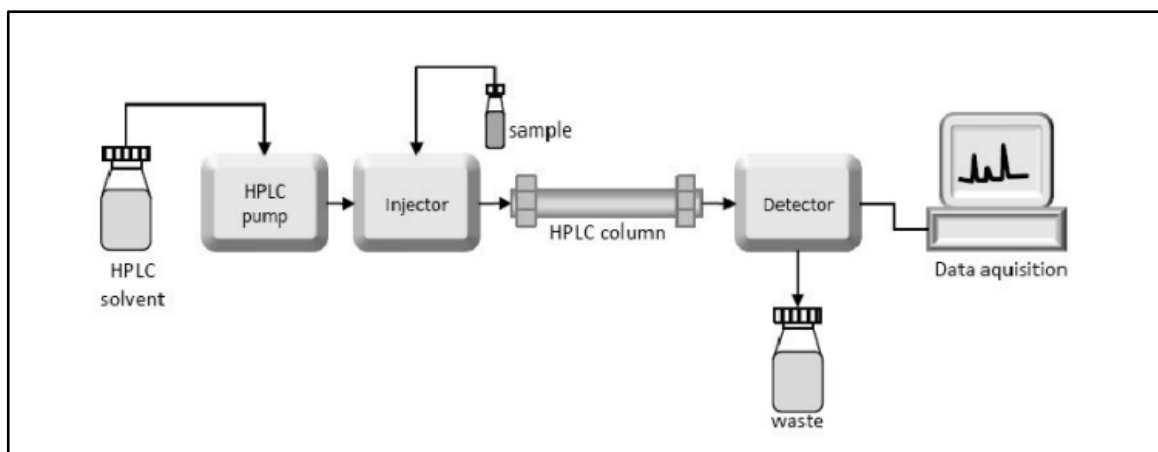


Figure 22 : Schéma de l'instrumentation de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) (Sonti, 2024).

Chapitre III :

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

La présente étude vise la caractérisation phytochimique et l'évaluation des activités biologiques des extraits de *Bunium incrassatum* (Apiacées). Les travaux ont été réalisés au laboratoire n°10 du département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Moulay Tahar de Saïda.

Les différentes étapes expérimentales, depuis la récolte du matériel végétal jusqu'à l'obtention des extraits, sont schématisées dans la figure ci-dessous :

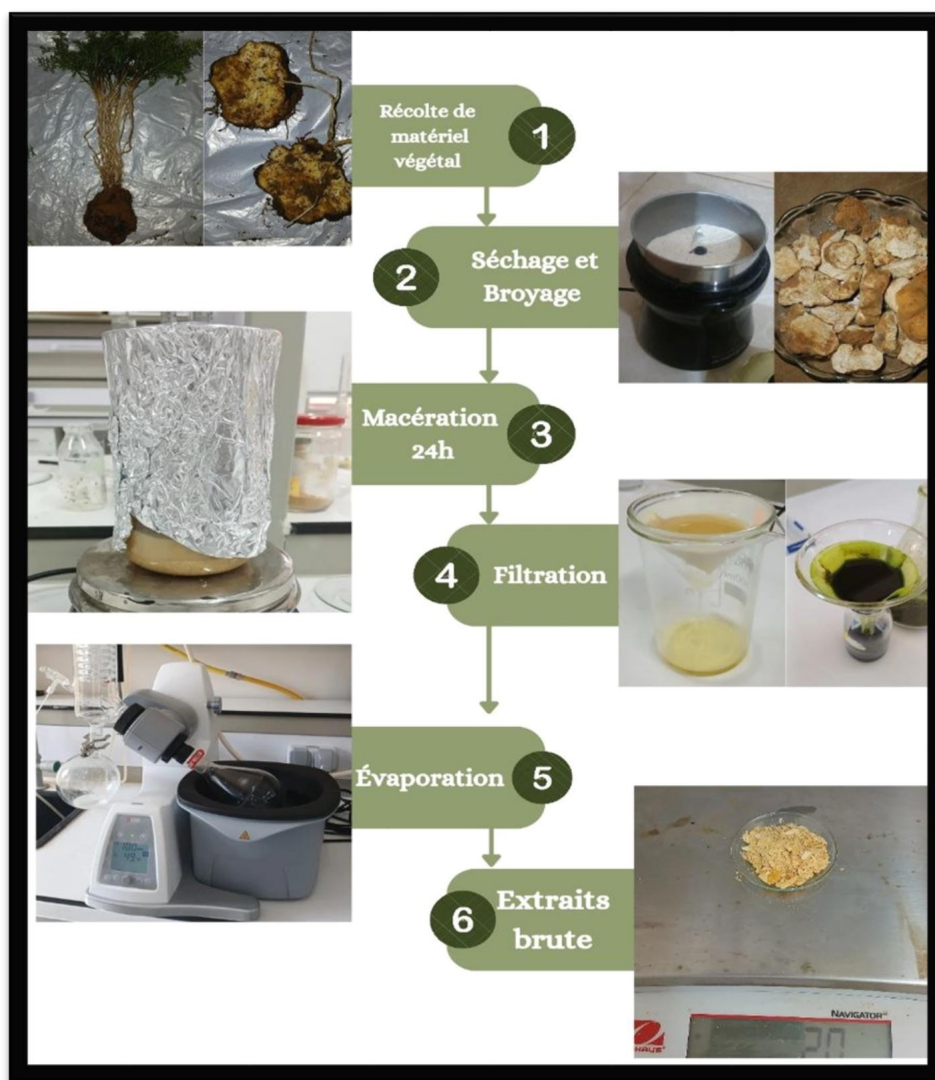


Figure 23 : Schéma des étapes de la récolte à l'obtention des extraits bruts (Photo réelle).

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

La plante étudiée (*Bunium incrassatum*) a été récoltée à l'état frais au mois de février 2026 dans la région d'Aouf (wilaya de Mascara, Algérie). Après la récolte, un tri manuel a été effectué afin

de séparer les différentes parties de la plante, notamment les tubercules et les parties aériennes (feuilles). Les échantillons ont été lavés, puis séchés à l'air ambiant pendant une durée de 15 jours, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Une fois le séchage terminé, les différentes parties de la plante ont été broyées à l'aide d'un broyeur de type domestique (broyeur à café) afin d'obtenir une poudre fine, conservée dans des conditions appropriées jusqu'à leur utilisation.

1.2. Matériel microbien

L'activité antimicrobienne a été évaluée sur deux souches de référence : *Escherichia coli* (ATCC 25922, Gram-) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923, Gram+).

Ces microorganismes de référence sont largement utilisés pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux. Ces souches ont été fournies et conservées par le laboratoire de microbiologie de l'Université Dr. Moulay Tahar de Saïda.

1.3. Matériel chimique et réactifs pour les activités biologiques

L'évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire a nécessité l'utilisation de réactifs spécifiques de pureté analytique :

- **Activité antioxydante (DPPH et FRAP)**

Le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) a été utilisé pour le test de piégeage radicalaire. Les autres réactifs incluent le méthanol (solvant de dilution), le ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à 1%, l'acide trichloroacétique (TCA) à 10%, et le chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0,1%. L'acide ascorbique a servi de standard de référence pour quantifier le pouvoir réducteur.

- **Activité anti-hémolytique (Test de stabilisation de la membrane des globules rouges)**

Ce test a requis une solution d'Alsever fraîchement préparée (composée de 2% de dextrose, 0,8% de citrate de sodium, 0,5% d'acide citrique et 0,42% de NaCl) pour la stabilisation des érythrocytes. Un tampon phosphate a été utilisé pour maintenir le pH du milieu réactionnel.

II. Méthodes

1. Extraction des composés

L'extraction des composés bioactifs a été réalisée par macération en utilisant des solvants de polarité croissante : éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et méthanol. Pour chaque partie de la plante, 10 g de poudre ont été macérés dans 100 ml de solvant (ratio 1 :10 m/v). La macération a été effectuée pendant 24 heures à température ambiante, sous agitation constante afin de favoriser l'extraction des métabolites secondaires.

À l'issue de la macération, les mélanges ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre Whatman n°1 afin d'éliminer les résidus solides. Les filtrats ont été concentrés sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (DAB RE100), puis les résidus ont été séchés à l'étuve à 40 °C pour éliminer les traces résiduelles de solvant.

Les extraits ainsi obtenus ont été conservés à l'abri de la lumière, et à une température de 4 °C, jusqu'à leur utilisation ultérieure pour les analyses phytochimiques et biologiques.

2. Rendement d'extraction

Le rendement correspond à la quantité d'extrait obtenue à partir de la poudre de plante utilisée. Il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la matière végétale (10 g). L'extraction a été réalisée par macération de 10 g de matériel végétal en poudre dans 100 ml de solvant, suivie d'une filtration puis d'une évaporation du solvant afin d'obtenir l'extrait brut.

Le rendement, déterminé sous forme d'extrait sec, a été calculé selon la relation suivante (Harborne, 1998) :

$$R (\%) = [(Me / Mv)] \times 100$$

Où :

- **R (%)** : Le pourcentage d'extrait récupéré.
- **Me** : La masse de l'extrait végétal sec (obtenu après évaporation du solvant).
- **Mv** : La masse de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction (10 g).

3. Caractérisation phytochimique

Le criblage phytochimique correspond à un ensemble de tests qualitatifs visant à détecter les principales classes de composés bioactifs présents dans un extrait végétal, grâce à des réactions spécifiques de coloration ou de précipitation (Baadache & Merrouche, 2019).

➤ Protocole :

Ce tableau présente les principaux tests phytochimiques qualitatifs utilisés ainsi que leurs protocoles, selon Bruneton (2009).

Tableau 06 : Principaux tests phytochimiques et leurs principes (Bruneton, 2009)

Métabolites	Protocole	Résultats attendus
Amidon	1 g de poudre végétale est dispersé dans 10 ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition pendant 2 minutes afin de favoriser la gélatinisation de l'amidon, puis laissé refroidir à température ambiante. Ensuite, 2 à 3 gouttes de réactif de Lugol sont ajoutées.	En présence d'amidon, apparition d'une coloration bleu-noir foncé

Flavonoïdes	10 ml d'extrait + Traitement d'extrait par H ₂ SO ₄ concentré	Observation de la couleur orange
Tanins	10 ml d'extrait + quelques gouttes du réactif FeCl ₃	Observation de la Formation d'un précipité bleu noir
Coumarines	1 ml d'extrait + 1 ml de la solution KOH en éthanol	Observation du précipité
Saponosides	9 ml d'eau distillée + 1 ml d'extrait, secoué vigoureusement	Apparence d'une mousse stable
Terpénoïdes	2 ml d'extrait + 1 ml du chloroforme + quelques gouttes de l'anhydride acétique + quelques gouttes de H ₂ SO ₄ concentré additionné sur les parois	Observation de la couleur rouge/marron
Stéroïdes	Traitement de 1 ml d'extrait par 1 ml d'éthanol et quelques gouttes de H ₂ SO ₄	Observation de la couleur bleu violet ou une couleur verte
Anthocyanosides	1 ml d'extrait est traité par 1 ml NaOH	Observation d'une couleur bleu vert

4. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique analytique à haute résolution permettant d'identifier les composés bioactifs en fonction de leurs groupements fonctionnels et de mettre en évidence leur structure. En FTIR, les molécules présentent des bandes d'absorption dans des plages de fréquences caractéristiques. Les composés organiques absorbent principalement dans la région comprise entre 4000 et 400 cm⁻¹, ce qui constitue un élément clé pour leur identification et leur caractérisation dans les extraits étudiés (Salunke et al., 2025).

➤ Protocole :

L'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) a été réalisée afin d'identifier les groupements fonctionnels présents dans les extraits végétaux. Ce protocole expérimental a été réalisé selon une succession d'étapes permettant d'assurer la fiabilité et la reproductibilité des résultats :

A. Préparation de l'appareil : Le spectrophotomètre Agilent Cary 630 FTIR a été mis en marche et laissé stabiliser selon les recommandations du fabricant. L'accessoire ATR à cristal diamant a été vérifié et nettoyé avant utilisation.

B. Acquisition du spectre de fond : Un spectre de référence (background) a été enregistré sans échantillon afin de corriger les interférences atmosphériques et instrumentales, conformément aux protocoles décrits dans la littérature (**Stuart, 2004 ; Coates, 2000**).

C. Préparation de l'échantillon : Une petite quantité de l'extrait végétal (sec ou concentré) a été directement déposée sur le cristal ATR. Aucun traitement préalable complexe n'a été effectué, conformément aux méthodes ATR-FTIR utilisées pour les extraits naturels (**Smith, 2011 ; Agilent Technologies, 2024**).

D. Mise en contact avec le cristal ATR : Une pression a été appliquée sur l'échantillon afin d'assurer un contact optimal entre la matière et le cristal diamant, garantissant une bonne qualité du signal.

E. Acquisition des spectres FTIR : Les spectres ont été enregistrés dans la gamme spectrale de **4000 à 400 cm^{-1}** , avec une résolution de **4 cm^{-1}** . Plusieurs scans ont été réalisés afin d'améliorer le rapport signal/bruit et la reproductibilité des résultats (**Agilent Technologies, 2024**).

F. Traitement des données : Les spectres obtenus ont été traités à l'aide du logiciel associé à l'appareil. Les bandes d'absorption ont été identifiées et analysées pour déterminer les groupements fonctionnels présents.

G. Interprétation des résultats : Les spectres obtenus ont été traités et analysés à l'aide du logiciel **OriginLab**. Ce logiciel a permis de visualiser les données, d'identifier les principaux pics spectraux et de déterminer leurs positions. L'interprétation a été réalisée par comparaison des pics observés avec les données de la littérature et des bases spectrales, notamment celles décrites par **Stuart (2004), Smith (2011) et Coates (2000)**, ainsi que les applications récentes de la spectroscopie FTIR ATR.

Les figures ci-dessous résument les différentes étapes suivies lors de l'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) :



Figure 24 : Étapes de préparation physique et de mise en place de l'échantillon sur le cristal ATR (Photo réelle).

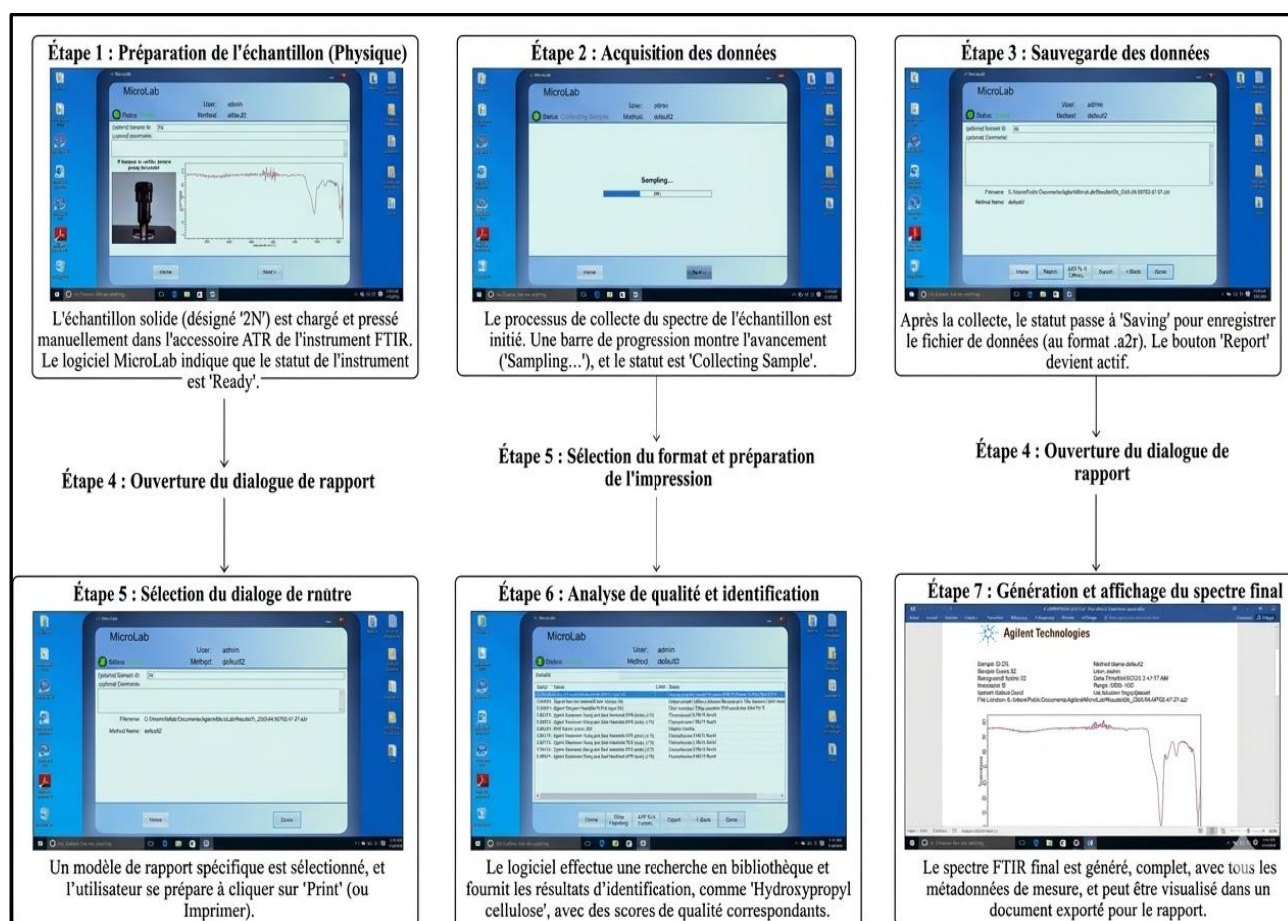


Figure 25 : Interface logicielle et flux de travail pour l'acquisition, le traitement et l'analyse du spectre FTIR.

Une fois les spectres obtenus, le traitement des données (correction de la ligne de base et identification des pics) a été réalisé à l'aide du logiciel OriginLab. Ce programme a permis d'extraire avec précision les nombres d'ondes correspondant aux groupements fonctionnels caractéristiques de nos extraits.

5. Activités antioxydantes

L'activité antioxydante correspond à la capacité des composés bioactifs à neutraliser les radicaux libres et à réduire les dommages liés au stress oxydatif, impliqué dans plusieurs maladies telles que le cancer, les maladies neurodégénératives et cardiovasculaires. Son évaluation est donc essentielle pour estimer le potentiel protecteur des extraits étudiés. Plusieurs méthodes existent pour mesurer cette activité, et dans cette étude, les tests suivants ont été sélectionnés (Kiran *et al.*, 2023).

5.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH.

Le test DPPH repose sur la réduction d'un radical libre stable de couleur violette en une forme réduite jaune en présence d'un antioxydant, phénomène évalué par la diminution de l'absorbance entre 515 et 528 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé à partir des absorbances du témoin et de

l'échantillon selon la formule établie, puis utilisé pour tracer une courbe de régression en fonction des différentes concentrations des extraits étudiés. L'IC₅₀, correspondant à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % du radical DPPH, est ensuite déterminé par interpolation linéaire à partir de l'équation de la droite ($y = ax + b$) en remplaçant y par 50 afin de calculer la valeur de x (Xiao et al., 2020 ; Mezzou & Meghouache, 2024).

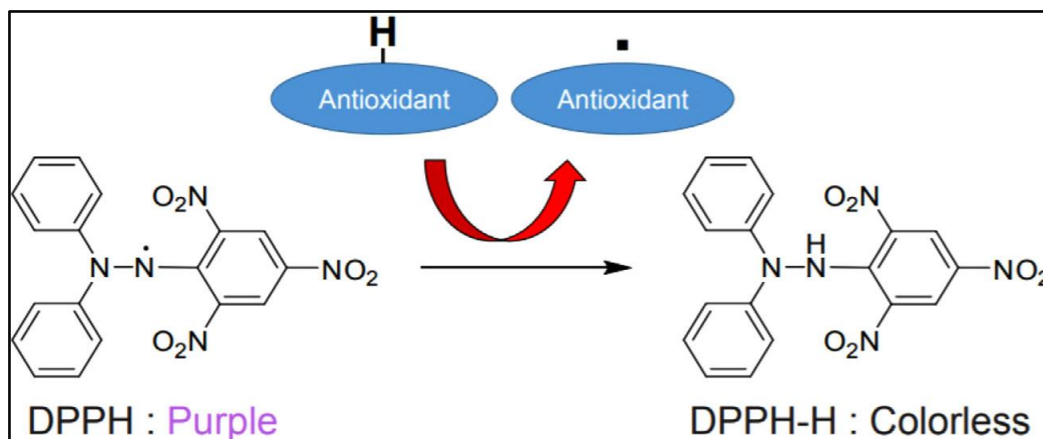


Figure 26 : Réaction entre le radical DPPH• et un antioxydant conduisant à la formation de la forme réduite du DPPH (DPPH-H). (Xiao et al., 2020).

➤ Protocole :

L'activité antioxydante des différents extraits (méthanolique, chloroformique, éther de pétrole et acétate d'éthyle), obtenus à partir des tubercules et des feuilles de la plante étudiée, a été évaluée par le test au DPPH. Le protocole initial a été adapté aux tubes à essai au lieu des microplaques.

Ainsi, 400 µL de chaque extrait ont été mélangés avec 1600 µL de solution de DPPH dans des tubes à essai. Les mélanges ont ensuite été incubés pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. Un témoin positif a été réalisé en utilisant l'acide ascorbique, reconnu pour son activité antioxydante, tandis qu'un témoin négatif a été préparé en remplaçant l'extrait par du méthanol. L'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Blois, 1958).

5.1. Capacité de réduire l'ion ferrique (pouvoir réducteur) (FRAP)

L'activité réductrice d'un extrait est déterminée à travers une réaction d'oxydoréduction entre les composés antioxydants qu'il contient et des ions métalliques de transition, en particulier ceux du fer. Dans ce test, le ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) constitue une source d'ions Fe^{3+} , qui sont réduits en Fe^{2+} sous l'action des substances antioxydantes présentes dans l'extrait végétal (Benkoumar et al., 2022).

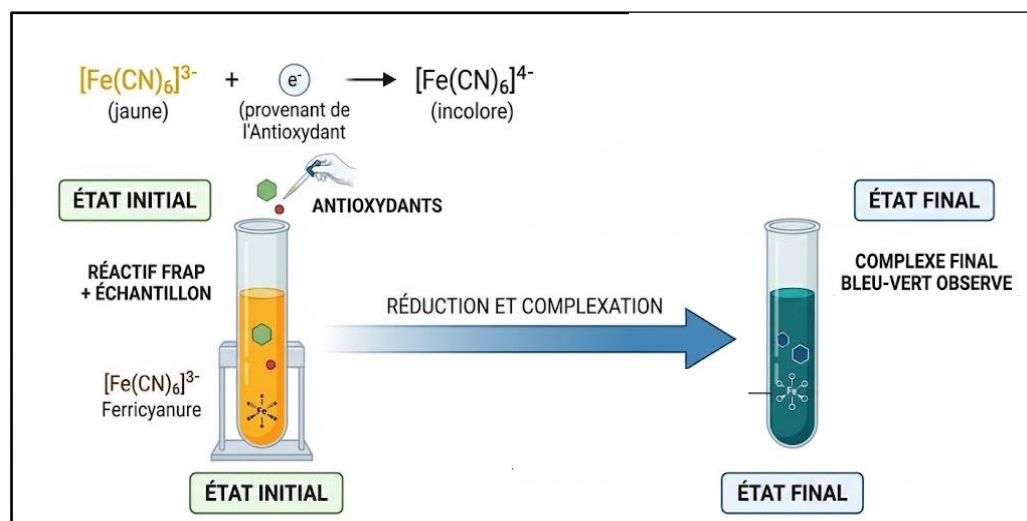


Figure 27 : Représentation schématique du mécanisme réactionnel du test FRAP avec le ferricyanure de potassium.

➤ Protocole :

L'activité réductrice des extraits a été évaluée selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**, avec une adaptation du protocole aux tubes à essai en appliquant un facteur d'échelle de 20. Dans un premier temps, 200 μL de la solution d'échantillon, préparée à différentes concentrations, ont été mélangés avec 800 μL de tampon phosphate (pH 6,6) et 1000 μL de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 1 %). Le mélange a ensuite été incubé à 50 °C pendant 20 minutes. Après l'incubation, 1000 μL d'acide trichloroacétique (TCA, 10 %) ont été ajoutés pour arrêter la réaction. Afin de clarifier le mélange, les tubes ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Par la suite, 1000 μL du surnageant récupéré ont été transférés dans un nouveau tube, puis mélangés avec 800 μL d'eau distillée et 200 μL de chlorure ferrique (FeCl_3 , 0,1 %). Un témoin positif a été préparé en utilisant l'acide ascorbique comme standard de référence, tandis qu'un témoin négatif a été réalisé en remplaçant l'extrait par du méthanol. Enfin, l'absorbance a été mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

6. Activité anti-inflammatoire

6.1. Test de stabilisation de la membrane des globules rouges (érythrocytes)

Le principe de cette méthode repose sur l'analogie structurale entre la membrane des érythrocytes et celle des lysosomes. Les substances possédant une activité anti-inflammatoire sont capables de stabiliser ces membranes et de prévenir leur rupture sous l'effet d'un stress hypotonique (**Nurtamin et al., 2018**). Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est d'évaluer la capacité des extraits à protéger les globules rouges contre l'hémolyse induite par des conditions hypotoniques.

➤ **Protocole :**

Le sang a été prélevé chez un volontaire sain n'ayant pas consommé d'anti-inflammatoires durant les deux semaines précédentes, puis immédiatement mélangé à volume égal avec la solution d'Alsever (2 % de dextrose, 0,8 % de citrate de sodium, 0,5 % d'acide citrique et 0,42 % de NaCl). Le mélange a ensuite été centrifugé à 3 000 tr/min pendant 10 minutes, et le surnageant a été éliminé. Le culot érythrocytaire obtenu a été lavé à trois reprises avec une solution saline isotonique, puis une suspension de globules rouges à 10 % (v/v) a été préparée.

Le milieu réactionnel, d'un volume total de 4,5 ml, a été constitué de 1 ml de tampon phosphate, 2 ml de solution hyposaline, 0,5 ml de suspension érythrocytaire (10 %) et 1 ml d'extrait. Un témoin négatif a été préparé en remplaçant l'extrait par 1 mL d'eau distillée. Les tubes ont été incubés à 37 °C pendant 30 minutes, puis centrifugés à 3 000 tr/min pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pourcentage de protection contre l'hémolyse a été calculé selon la formule suivante (Nurtamin et *al.*, 2018)

$$\text{Protection (\%)} = 100 - (\text{DO échantillon} / \text{DO contrôle} \times 100)$$

7. Activité antimicrobienne

7.1. Évaluation de l'activité antimicrobienne par diffusion sur gélose

Les méthodes de diffusion sur gélose (disque, puits, plug, spot) sont des techniques simples utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne. Elles reposent sur la diffusion d'un agent antimicrobien dans la gélose, ce qui inhibe la croissance des micro-organismes. L'efficacité du composé est déterminée par la mesure de la zone d'inhibition (Hossain, 2024).

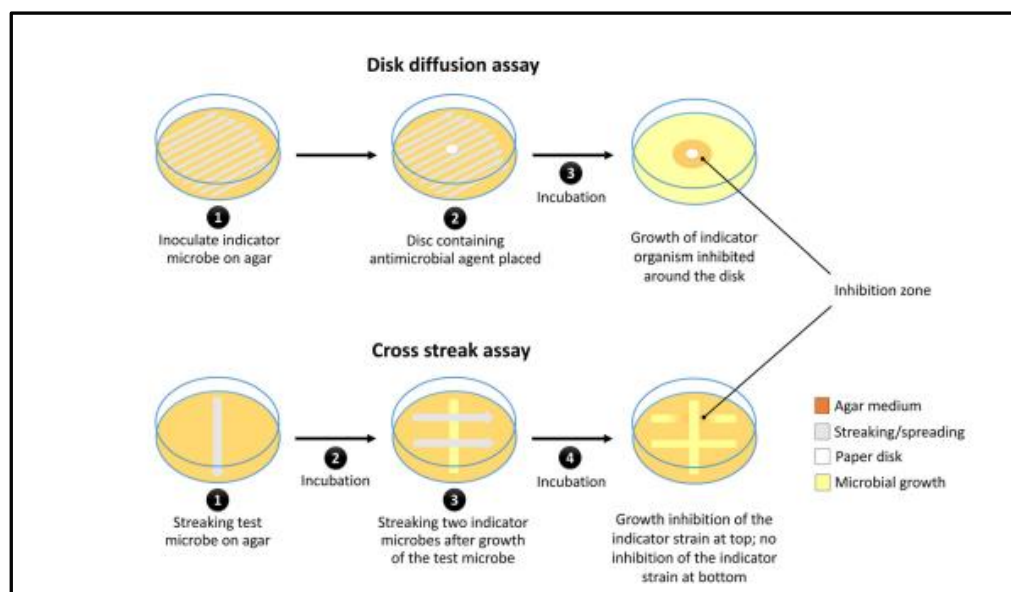


Figure 28 : Schéma illustrant les protocoles de diffusion par disque et de la méthode de stries croisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne (Hossain, 2024).

➤ **Protocole :**

L'activité antibactérienne a été évaluée selon la méthode décrite par Mouas et al. (2017).

A. Préparation du milieu de culture

La gélose Mueller-Hinton stérile a été préparée puis coulée dans des boîtes de Pétri. Les boîtes ont été laissées à température ambiante jusqu'à solidification complète du milieu.

B. Préparation de l'inoculum bactérien

Les souches de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922 ont été cultivées sur gélose nutritive pendant 24 heures à 37 °C. Une colonie isolée de chaque souche a ensuite été prélevée à l'aide d'une anse stérile et mise en suspension dans 9 mL d'eau distillée stérile. La suspension a été homogénéisée au vortex, puis ajustée à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à 660 nm, correspondant à environ $(10^7) - (10^8)$ UFC/ml.

C. Ensemencement des boîtes

Une quantité de 100 µL de suspension bactérienne a été étalée uniformément sur la surface de la gélose Mueller-Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile selon des stries serrées. Les boîtes ont ensuite été laissées quelques minutes à température ambiante afin de permettre l'absorption de l'inoculum par le milieu.

D. Préparation et application des disques

Des disques de papier filtre Whatman n°1 (6 mm de diamètre) ont été stérilisés à l'autoclave (121 °C, 15 minutes). Chaque disque a été imprégné de 10 µL d'extraits végétaux obtenus à partir de feuilles et de tubercules. Les extraits bruts sous forme de poudre ont été solubilisés dans une solution

de DMSO à 1 % préparée dans de l'eau distillée stérile, afin d'assurer une bonne dissolution des composés actifs tout en limitant l'effet antimicrobien du solvant. Les extraits testés étaient :

- Extrait chloroformique
- Extrait méthanolique
- Extrait à l'éther de pétrole
- Extrait à l'acétate d'éthyle

➤ Les extraits ont été préparés à différentes concentrations :

- 1) 0,15 g/mL
- 2) 0,075 g/mL
- 3) 0,0375 g/mL

Les disques imprégnés ont été déposés sur les boîtes ensemencées à l'aide d'une pince stérile, en attribuant trois disques correspondant aux différentes concentrations pour chaque extrait. Un disque témoin négatif contenant du DMSO à 1 % (dans eau distillée stérile) a été utilisé afin de vérifier l'absence d'activité antibactérienne du solvant. En parallèle, des antibiotiques standards ont été utilisés comme témoins positifs :

- Vancomycine (5 µg)
- Érythromycine (60 µg)
- Pénicilline G (10 UI)
- Amoxicilline (30 µg)
- Acide pipémidique (20 µg)

E. Diffusion et incubation

Les boîtes ont été laissées à température ambiante pendant 30 minutes afin de permettre la diffusion des composés dans la gélose, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures.

F. Lecture des résultats

Après incubation, l'activité antibactérienne a été déterminée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle millimétrique. Les résultats ont été exprimés en millimètres (mm).

Chapitre IV :
Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction obtenus à partir des différentes parties de la plante *Bunium incrassatum* (feuilles et tubercules), en utilisant des solvants de polarité croissante, sont présentés dans le **Tableau 07**. Ces résultats permettent d'apprécier l'efficacité de chaque solvant dans l'extraction des métabolites secondaires présents dans le matériel végétal.

Tableau 07 : Rendements d'extraction des deux parties de la plante (feuilles et tubercules) de *Bunium incrassatum*.

Extraits	Méthanol		Éther de pétrole		Chloroforme		Acétate d'éthyle	
	Tubercules	Feuilles	Tubercules	Feuilles	Tubercules	Feuilles	Tubercules	Feuilles
Masse de la matière végétale(g)	15	15	15	15	15	15	15	15
Masse de l'extrait (g)	2.4	0.9	0.8	0.2	0.9	0.7	1.8	0.9
Rendement (%)	16%	6%	5%	1.3%	6%	4.6%	12%	6%

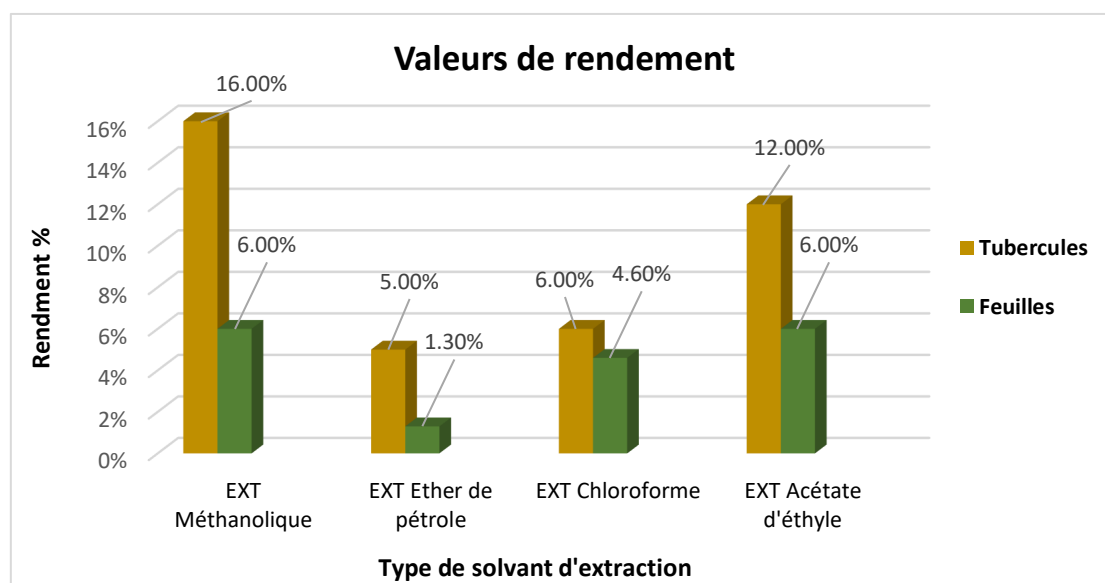


Figure 29 : Comparaison des rendements d'extraction des tubercules et des feuilles selon le solvant utilisé.

Les résultats consignés dans le **Tableau 07** et représentés sous forme d'un histogramme (**Figure 29**) mettent en évidence une variation significative des rendements d'extraction en fonction du solvant utilisé et de l'organe étudié. Les tubercules présentent les rendements les plus élevés, avec un maximum de 16 % pour l'extrait méthanolique, suivis de 12 % pour l'acétate d'éthyle, 6 % pour le chloroforme et 5 % pour l'éther de pétrole. En revanche, les

feuilles affichent des rendements globalement plus faibles, atteignant 6 % pour les extraits méthanolique et à l'acétate d'éthyle, 4,6 % pour le chloroforme et seulement 1,3 % pour l'éther de pétrole.

Les tubercules ont présenté des rendements d'extraction supérieurs à ceux des feuilles pour tous les solvants, avec une différence plus marquée pour les solvants polaires et semi-polaires. De plus, les rendements augmentent avec la polarité du solvant, suivant l'ordre : méthanol > acétate d'éthyle > chloroforme > éther de pétrole dans les deux organes. La supériorité systématique des rendements des tubercules par rapport aux feuilles peut être expliquée par leur composition chimique particulière. En effet, les tubercules constituent des organes de réserve riches en polysaccharides, notamment l'amidon, ainsi qu'en sucres solubles et en composés hydrophiles, qui sont facilement extractibles par les solvants polaires tels que le méthanol et l'acétate d'éthyle. Cette richesse en composés de réserve confère aux tubercules une masse extractible plus importante que celle des feuilles, dont la composition est davantage dominée par des composés phénoliques présents en moindre quantité totale. Ces observations sont cohérentes avec les données du criblage phytochimique qui ont révélé une forte présence d'amidon dans les tubercules, absente dans les feuilles.

Nos résultats pour l'extrait méthanolique des tubercules **16%** sont en parfaite adéquation avec ceux rapportés par **Toul et al. (2022)** et **Berroukeche et al. (2022)**, qui ont également obtenu un rendement de **16 %** pour le même organe en utilisant le méthanol. Cette concordance confirme la reproductibilité de l'extraction méthanolique pour les tubercules de *B. incrassatum*.

Cependant, une divergence notable est observée pour l'extrait à l'acétate d'éthyle : alors que nous avons obtenu **12 %**, **Toul et al. (2022)** rapportent un rendement nettement plus faible de **1,3 %** pour les tubercules. Cette différence peut s'expliquer par les conditions expérimentales (temps de macération, température) ou par la provenance géographique des échantillons les facteurs environnementaux influençant la teneur en métabolites secondaires extractibles.

Concernant les feuilles, nos rendements diffèrent de ceux rapportés par **El Kolli et al. (2017)**. Cette divergence s'explique par la méthodologie employée : alors que ces auteurs ont utilisé l'hydrodistillation pour isoler les huiles essentielles, obtenant un faible rendement de 0,09 %, notre recours à des solvants polaires a permis une extraction plus exhaustive de biomolécules, notamment les polyphénols et les flavonoïdes.

L'efficacité et le rendement de l'extraction sont conditionnés par plusieurs facteurs interdépendants, notamment la nature chimique des composés phytochimiques, la méthode

employée, la granulométrie de l'échantillon, le pH, la température, la durée de l'opération ainsi que la polarité du solvant (Do et al., 2014). À température et durée constantes, les caractéristiques physico-chimiques du solvant (point d'ébullition, stabilité chimique et faible viscosité) jouent un rôle essentiel dans l'optimisation du processus en permettant une meilleure solubilisation ainsi qu'une récupération efficace. Dans ce contexte, les solvants organiques sont fréquemment privilégiés en raison de leur capacité à préserver l'intégrité des composés extraits (Lee et al., 2024).

2. Caractérisation phytochimique

Le criblage phytochimique consiste en une série de tests qualitatifs basés sur des réactions de coloration et de précipitation, visant à détecter les grandes familles de métabolites secondaires présentes dans un extrait végétal. Dans le cadre de ce travail, cette analyse a été entreprise afin d'identifier les principes bioactifs des tubercules et des feuilles de *Bunium incrassatum*. Les données qualitatives issues de ces essais sont synthétisées dans les **Tableaux 08 et 09**. En complément, les virages colorés et les réactions caractéristiques observés sont présentés dans la **Figure 30** ainsi que par le **Tableau 10**.

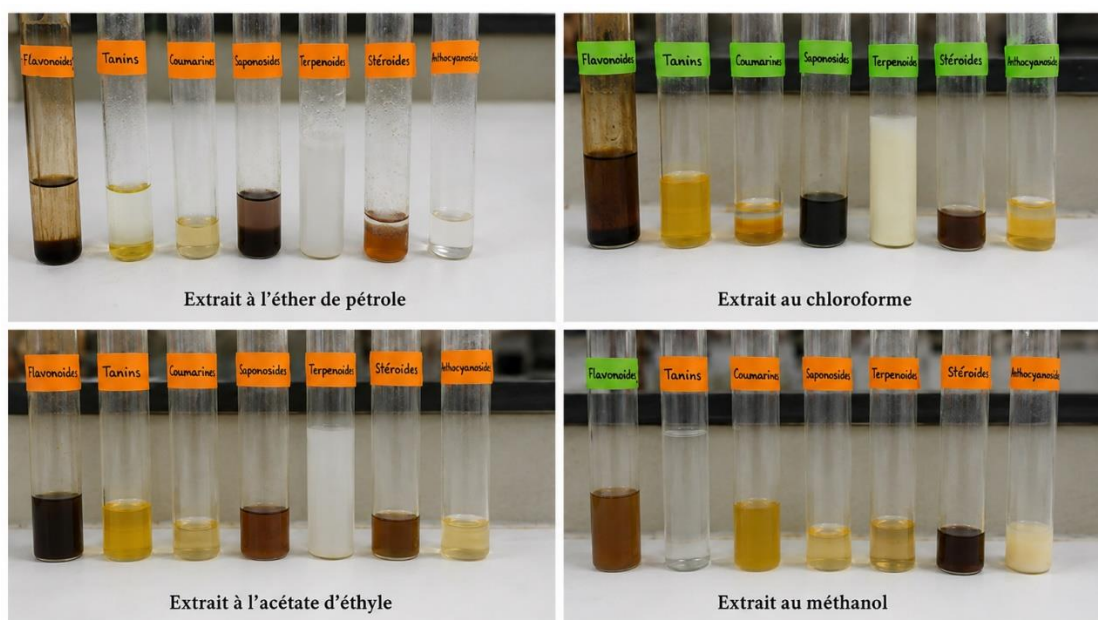


Figure 30 : Observation des réactions phytochimiques des extraits de tubercules de *Bunium incrassatum* (Photo réelle).

Tableau 08 : Résultats du criblage phytochimique des extraits des feuilles de *Bunium incrassatum*.

	Métabolites	Résultats attendus (Feuilles)	Éther de pétrole	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Méthanol
01	Flavonoïdes	Observation de la couleur Orange	(-)	(-)	(-)	(-)
02	Tannins	Observation de la formation d'un précipité bleu noir	(-)	(+2)	(+2)	(+3)
03	Coumarines	Observation du précipité	(-)	(+)	(-)	(-)
04	Saponosides	Apparence d'une mousse stable	(-)	(-)	(-)	(-)
05	Terpénoïdes	Observation de la couleur rouge– marron	(+2)	(-)	(-)	(-)
06	Stéroïdes	Observation de la couleur bleu violet ou une couleur verte	(+2)	(+2)	(+3)	(+2)
07	Anthocyanosides	Observation d'une couleur Bleu vert	(-)	(+1)	(+1)	(+1)

Tableau 09 : Résultats du criblage phytochimique des extraits de tubercules de *Bunium incrassatum*

	Métabolites	Résultats attendus (Tubercules)	Éther de pétrole	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Méthanol
01	Flavonoïdes	Observation de la couleur Orange	(+2)	(+2)	(+2)	(-)
02	Tannins	Observation de la formation d'un précipité bleu noir	(-)	(-)	(-)	(-)
03	Coumarines	Observation du précipité	(-)	(+1)	(-)	(-)
04	Saponosides	Apparence d'une mousse stable	(-)	(-)	(-)	(-)
05	Terpénoïdes	Observation de la couleur rouge marron	(+1)	(-)	(-)	(-)
06	Stéroïdes	Observation de la couleur bleu violet ou une couleur verte	(-)	(-)	(-)	(-)
07	Anthocyanosides	Observation d'une couleur bleu vert	(-)	(-)	(-)	(-)

Tableau 10 : Résultats de la caractérisation phytochimique de l'amidon (Tubercules et Feuilles) (**Photo réelle**).

Organes	Feuilles	Tubercules
Résultats		
Observation	(-) Coloration vert foncé (Absence d'amidon)	(++++) Coloration bleu-nuit à violet foncé intense. Présence très importante d'amidon.

Les investigations phytochimiques mettent en évidence une hétérogénéité métabolique significative, étroitement liée à la nature de l'organe et à la polarité du solvant d'extraction. L'ensemble des données expérimentales et des observations visuelles est présenté de manière synthétique. Les résultats détaillés de l'analyse phytochimique et de la caractérisation de l'amidon sont consignés dans les **Tableaux 08, 09 et 10**, tandis que le **Tableau 11** regroupe les photographies des tests colorimétriques obtenus. Les observations macroscopiques correspondantes sont également illustrées par la **Figure 30**.

Au niveau des tubercules, les **flavonoïdes** présentent une distribution homogène dans les solvants de polarité faible à moyenne (éther de pétrole, chloroforme et acétate d'éthyle), mais disparaissent totalement dans la phase méthanolique. Les **coumarines** et les **terpénoïdes** manifestent une présence restrictive, localisée respectivement dans les extraits chloroformiques et à l'éther de pétrole. Il est à noter l'absence systématique de tanins, saponosides, stéroïdes et anthocyanosides dans cet organe, quelle que soit la méthode d'extraction. En revanche, la fonction de stockage des tubercules est confirmée par une accumulation massive d'**amidon**, révélée par une réaction colorimétrique intense.

Le profil foliaire se distingue par l'absence totale de flavonoïdes et d'amidon, contrastant avec la richesse en composés de défense. Les **tanins** y sont prédominants, affichant une intensité croissante avec la polarité du solvant, pour culminer dans l'extrait méthanolique. Les **stéroïdes** constituent un groupe majeur, détectés dans tous les extraits avec une affinité particulière pour l'acétate d'éthyle. Par ailleurs, les **anthocyanosides** sont identifiés dans les extraits chloroformiques, à l'acétate d'éthyle et méthanoliques, tandis que les **terpénoïdes** et **coumarines** conservent une présence exclusive dans l'éther de pétrole et le chloroforme.

La comparaison directe des organes révèle une spécialisation biochimique nette : les tubercules sont des centres de stockage glucidique (amidon) et de flavonoïdes, alors que les feuilles sont le siège de la synthèse de tanins, stéroïdes et anthocyanosides. L'efficacité du criblage souligne le rôle déterminant de la polarité des solvants :

- Les **solvants apolaires** (éther de pétrole) ciblent sélectivement les terpénoïdes ;
- Les **solvants de polarité intermédiaire** (chloroforme, acétate d'éthyle) favorisent l'extraction des coumarines et des stéroïdes ;
- Les **solvants polaires** (méthanol) s'avèrent indispensables pour l'isolement des tanins et des anthocyanosides foliaires.

Concernant les tubercules, nos résultats montrent une présence limitée des métabolites secondaires, caractérisée principalement par la détection des flavonoïdes dans les solvants de polarité faible à intermédiaire, ainsi que des coumarines et terpénoïdes de manière restreinte. En revanche, une absence totale de tanins, stéroïdes et saponosides a été observée. Ces observations diffèrent partiellement de celles rapportées par :

- **Bentahar et al. (2025)** rapportent la présence de tanins, de stéroïdes et de composés réducteurs au niveau des tubercules.
- **Dehimi et al. (2020)** signalent la détection de flavonoïdes dans les extraits méthanoliques de tubercules, alors que ces composés sont absents dans nos échantillons.
- **Karouche et al. (2022)** confirment une richesse importante en stérols, triterpènes, saponines, tanins et alcaloïdes dans les extraits méthanoliques et aqueux des tubercules.

Cette variabilité intraspécifique illustre la plasticité métabolique de *B. incrassatum* face à son environnement. La biosynthèse des métabolites secondaires est un processus dynamique, étroitement corrélé aux conditions édapho-climatiques du site de récolte (nature du sol, ensoleillement, stress hydrique) ainsi qu'au stade phénologique de la plante au moment de la

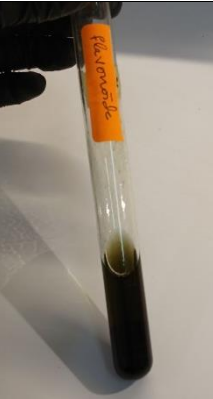
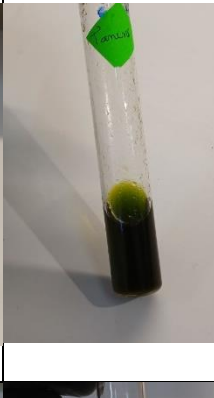
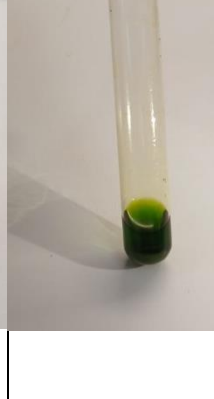
collecte (**Bourgaud et al., 2001**). En outre, les différences méthodologiques notamment les protocoles d'extraction et la polarité des solvants constituent des facteurs déterminants qui influencent directement la sélectivité de l'extraction des molécules bioactives (**Wang & Weller, 2006**). Cette analyse comparative souligne ainsi la nécessité, dans les études phytochimiques, d'une standardisation accrue des conditions expérimentales pour permettre une meilleure reproductibilité des profils métaboliques au sein d'une même espèce végétale.

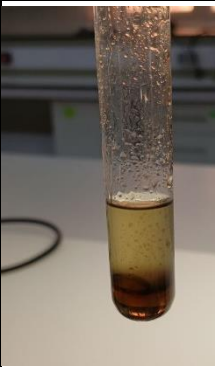
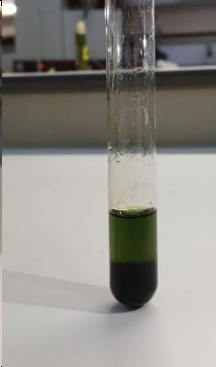
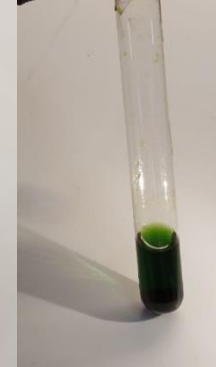
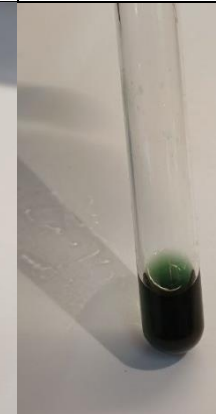
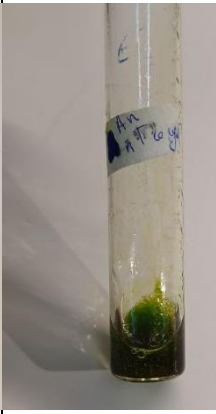
Pour les parties aériennes (feuilles), nos résultats révèlent une richesse marquée en tanins, stéroïdes et anthocyanosides, avec une forte dépendance à la polarité du solvant, en particulier pour les extraits méthanoliques. Cependant, l'absence totale de flavonoïdes dans nos extraits contraste avec les travaux de **Gagi et Toubal (2018)**, qui rapportent leur présence dans les feuilles et les fleurs. De même, **Karouche et al. (2022)** ont mis en évidence une grande diversité de métabolites secondaires dans les feuilles, incluant les flavones aglycones, les coumarines, les anthracénosides, les stérols et triterpènes ainsi que les saponosides. En revanche, l'absence de saponines observée dans notre étude est en accord avec les résultats de **Gagi et Toubal (2018)**. Les différences observées concernant les flavonoïdes et certains autres composés pourraient s'expliquer par des variations liées au stade de développement de la plante, aux conditions écologiques ou aux protocoles d'extraction employés.

D'un point de vue global, nos résultats confirment la spécialisation biochimique des organes, déjà suggérée dans la littérature : les organes souterrains présentent un rôle principalement de stockage (amidon), tandis que les parties aériennes sont plus riches en composés phénoliques impliqués dans les mécanismes de défense. Cette tendance est cohérente avec les dosages quantitatifs rapportés, qui montrent des teneurs plus élevées en polyphénols dans les feuilles et les fleurs comparativement aux tubercules (**Mekraf et al., 2025**). Les résultats de **Karouche et al. (2022)** confirment également cette tendance, avec des teneurs en polyphénols et flavonoïdes nettement plus élevées dans les feuilles que dans les tubercules. Ces différences soutiennent l'idée que les parties aériennes constituent une source plus importante de métabolites bioactifs.

Enfin, l'influence de la polarité des solvants observée dans notre étude est en accord avec les données bibliographiques, où les solvants polaires, notamment le méthanol, permettent une meilleure extraction des composés phénoliques tels que les tanins et les anthocyanosides, tandis que les solvants moins polaires favorisent l'extraction des terpénoïdes et composés lipophiles.

Tableau 11 : Illustration des résultats des tests phytochimiques des extraits de feuilles de *Bunium incrassatum*.

	Métabolites	Ether de pétrole	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Méthanol
01	Flavonoïdes				
02	Tannins				
03	Coumarins				
04	Saponosides				

05	Terpénoïdes				
06	Stéroïdes				
07	Anthocyanosides				

3. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

L'analyse des spectres infrarouges par transformée de Fourier (FTIR), réalisée à l'aide du logiciel OriginLab, a été effectuée afin d'identifier les groupements fonctionnels caractéristiques des métabolites secondaires présents dans *Bunium incrassatum*. Les résultats, présentés dans les Figures 31 et 32, sont organisés selon l'organe étudié et le solvant d'extraction, permettant ainsi de mettre en évidence la diversité moléculaire ainsi que l'influence de la polarité du solvant sur les profils chimiques obtenus.

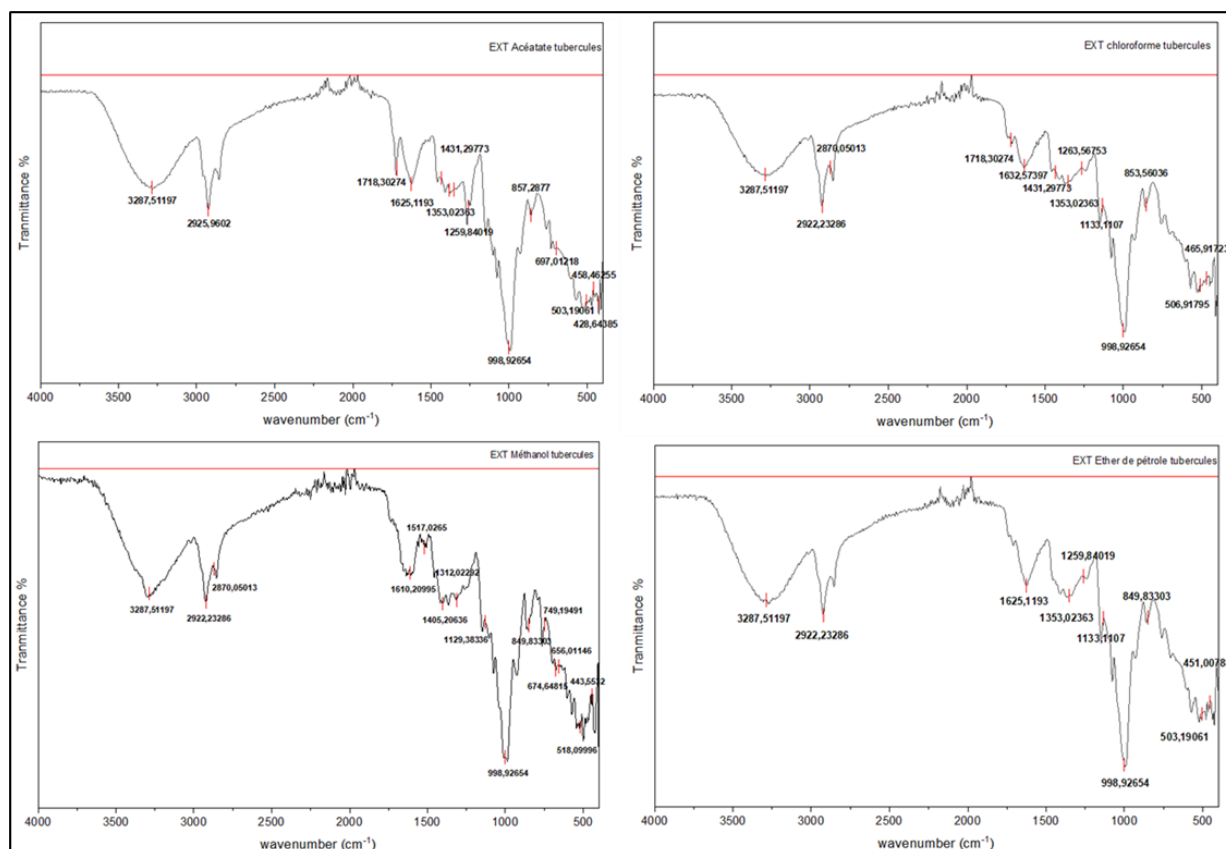


Figure 31 : Spectres FTIR des différents extraits organiques des tubercules (Photo réelle).

3.1. Analyse des extraits des tubercules

L'extrait méthanolique des tubercules se distingue par la présence d'une large bande intense autour de 3287 cm^{-1} , attribuée aux vibrations d'élongation des groupements hydroxyles (O–H) et des composés phénoliques. Cette bande peut également indiquer la présence de molécule d'eau résiduelle (H_2O) ou de polysaccharides. Par ailleurs, la présence d'une bande très marquée à 998 cm^{-1} , caractéristique des liaisons C–O des structures polyosidiques, est en accord avec la richesse du tubercule en amidon, liée à sa fonction de stockage. Une faible absorption autour de 1610 cm^{-1} indique également la présence de structures aromatiques, suggérant la présence de flavonoïdes, composés phénoliques ou protéines.

Comparativement, l'extrait à l'éther de pétrole, solvant apolaire, présente une dominance des bandes à 2922 cm^{-1} et 2870 cm^{-1} , correspondant aux vibrations d'étirement des liaisons C–H des chaînes aliphatiques, témoignant de la présence de composés lipidiques. Contrairement à l'extrait méthanolique, les signaux associés aux composés aromatiques et polaires sont peu marqués, confirmant la faible capacité de ce solvant à extraire ce type de métabolites. Toutefois, la persistance du signal autour de 998 cm^{-1} suggère une co-extraction partielle de composés glycosylés.

L'extrait au chloroforme présente un profil intermédiaire, reflétant la polarité modérée de ce solvant. L'apparition d'une bande à 1718 cm^{-1} , attribuée aux groupements carbonyles (C=O), indique la présence probable d'esters ou d'acides organiques. De plus, les bandes observées à 1632 cm^{-1} et 1535 cm^{-1} suggèrent la présence de composés aromatiques, possiblement des terpènes oxygénés. Le signal caractéristique des polysaccharides autour de 998 cm^{-1} demeure présent, bien que moins dominant que dans l'extrait méthanolique.

L'extrait à l'acétate d'éthyle, solvant de polarité intermédiaire, montre une nette intensification de la bande carbonylée à 1718 cm^{-1} , associée à des bandes aromatiques autour de 1625 cm^{-1} . Ce profil suggère une extraction préférentielle de composés phénoliques moyennement polaires, tels que les flavonoïdes sous forme d'aglycones ou certains acides phénoliques. La présence conjointe de bandes à 1259 cm^{-1} (liaisons C-O-C) et autour de 998 cm^{-1} confirme également la contribution de composés glycosylés.

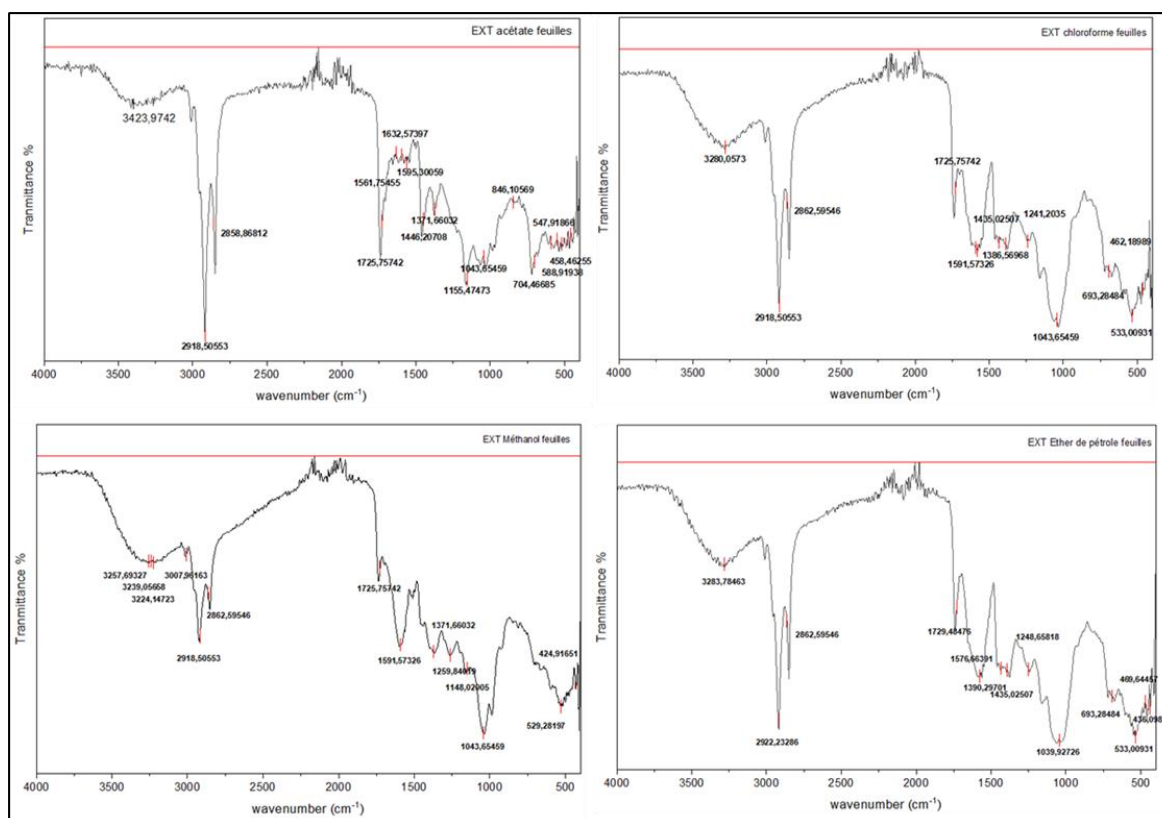


Figure 32 : Spectres FTIR des différents extraits organiques des feuilles (Photo réelle).

3.2. Analyse des extraits des feuilles

L'extrait méthanolique des feuilles présente un spectre particulièrement riche, caractérisé par un ensemble de bandes larges entre 3257 et 3224 cm^{-1} , correspondant aux vibrations d'élongation des groupements hydroxyles (O-H). Cette signature indique une forte

accumulation de composés phénoliques, notamment des flavonoïdes. La présence de bandes à 1591 cm^{-1} (structures aromatiques) et à 1043 cm^{-1} (liaisons C–O) suggère la présence d'hétérosides phénoliques, impliqués dans les mécanismes de défense de la plante. Comparativement aux tubercules, l'intensité relative des signaux aromatiques est plus marquée, traduisant une plus grande richesse en métabolites secondaires.

L'extrait à l'éther de pétrole des feuilles est dominé par des bandes à 2922 cm^{-1} et 2862 cm^{-1} , correspondant aux vibrations d'élongation des liaisons C–H aliphatiques, caractéristiques des chaînes hydrocarbonées. Ces résultats reflètent la présence de cires cuticulaires et de composés lipophiles tels que les phytols. Une bande à 1729 cm^{-1} suggère également la présence d'esters lipidiques. Contrairement à l'extrait méthanolique, les bandes associées aux composés phénoliques sont très peu intenses, confirmant l'extraction sélective des composés hydrophobes par ce solvant.

L'extrait au chloroforme présente des bandes bien définies à 2918 cm^{-1} et 2862 cm^{-1} , associées aux chaînes aliphatiques, ainsi qu'une bande carbonylée à 1725 cm^{-1} . Ce profil est typique de composés tels que les terpènes et les stérols. Le signal à 1043 cm^{-1} , bien que présent, est moins intense que dans les tubercules, suggérant une différence dans la nature des composés oxygénés extraits.

Enfin, l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles met en évidence un ensemble de bandes aromatiques caractéristiques à 1632 cm^{-1} , 1595 cm^{-1} et 1561 cm^{-1} , correspondant aux vibrations des liaisons C=C aromatiques typiques des structures flavonoïdiques. La bande intense à 1725 cm^{-1} confirme la présence de composés carbonylés, suggérant que ce solvant est particulièrement efficace pour l'extraction de métabolites bioactifs moyennement polaires. Comparativement aux tubercules, ces bandes sont plus nettes et mieux résolues, indiquant une plus grande diversité structurale des composés aromatiques dans les feuilles.

Globalement, les résultats mettent en évidence une forte influence de la polarité du solvant sur les profils d'extraction. Les extraits méthanoliques, fortement polaires, sont riches en composés phénoliques et en polysaccharides, tandis que les extraits à l'éther de pétrole, apolaires, sont dominés par des constituants lipidiques. Les solvants de polarité intermédiaire, tels que le chloroforme et l'acétate d'éthyle, permettent l'extraction de métabolites intermédiaires, notamment des composés carbonylés et des flavonoïdes.

Par ailleurs, une différence notable est observée entre les deux organes : les tubercules sont caractérisés par une forte présence de composés de réserve, notamment les polysaccharides, alors que les feuilles présentent une richesse plus importante en métabolites secondaires aromatiques, en lien avec leur rôle physiologique dans la protection et l'adaptation de la plante.

L'analyse spectroscopique FTIR, bien qu'elle permette une identification globale des groupements fonctionnels, constitue une première approche pour la caractérisation chimique des extraits de *Bunium incrassatum*. Les spectres obtenus révèlent notamment la présence de groupements hydroxyles (–OH), caractéristiques des composés phénoliques et des sucres, ainsi que de bandes carbonylées (C=O), indiquant la présence probable d'acides organiques, de coumarines ou encore d'acides gras. Toutefois, cette technique présente certaines limites quant à l'identification précise des molécules présentes dans les extraits. Ainsi, les techniques chromatographiques telles que la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie liquide haute performance (HPLC) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) apportent une complémentarité indispensable, en permettant une identification plus spécifique et plus détaillée des composés chimiques.

Dans ce contexte, l'étude de **Bousetla et al. (2015)** a permis d'isoler, à partir des tubercules, plusieurs composés tels que des coumarines, le β -sitostérol, le saccharose et l'acide oléique. Ces résultats sont en accord avec les données FTIR, notamment la présence de bandes hydroxyles et carbonylées, confirmant que ces groupements fonctionnels sont portés par ces molécules.

Par ailleurs, l'analyse des parties aériennes par **El Kolli et al. (2017)** a révélé que l'huile essentielle est dominée par l'acide palmitique, représentant 18,39 % de la composition totale, avec un total de 31 composés identifiés. Cette richesse en acides gras est cohérente avec les bandes C=O observées dans les spectres FTIR, notamment dans les extraits apolaires.

De plus, la revue réalisée par **Adoui et al. (2022)** confirme la variabilité de la composition chimique selon l'organe étudié. Elle souligne la présence de composés terpénoïdes (tels que le caryophyllène et le germacrène B) ainsi que de composés non terpénoïdes (acide palmitique, nonacosane), ce qui corrobore les profils intermédiaires observés dans les extraits au chloroforme et à l'acétate d'éthyle. Ainsi, la comparaison des différentes approches analytiques met en évidence une forte complémentarité. Le FTIR permet une identification

rapide des fonctions chimiques majeures, tandis que les techniques chromatographiques assurent une caractérisation précise des molécules responsables de ces signaux.

Enfin, une spécificité organo-dépendante est clairement observée : les tubercules apparaissent riches en composés de réserve tels que les sucres et certaines coumarines, tandis que les parties aériennes sont davantage caractérisées par des composés lipidiques et terpénoïdes, en lien avec leur rôle physiologique dans la protection et les interactions avec l'environnement.

L'exploitation conjointe des données FTIR et du criblage phytochimique met en évidence une cohérence globale entre les fonctions chimiques détectées et les métabolites identifiés, tout en révélant l'impact de la polarité des solvants et de la spécificité des organes chez *Bunium incrassatum*.

Dans les tubercules, les spectres FTIR sont dominés par des signatures hydroxyles et des liaisons C–O, indiquant une forte contribution des composés glucidiques. Cette tendance concorde avec le criblage, qui montre une accumulation importante d'amidon, en accord avec le rôle de réserve de cet organe. La présence de signaux aromatiques dans certaines fractions rejoint la détection de flavonoïdes dans les solvants de polarité faible à intermédiaire. L'absence de ces composés dans l'extrait méthanolique peut être attribuée à la prédominance des polysaccharides, susceptibles de masquer leur révélation lors des tests (Wiercigroch et al., 2017).

Les feuilles présentent un profil distinct, marqué par une intensité accrue des bandes hydroxyles et aromatiques, particulièrement dans les extraits polaires. Cette signature reflète la richesse en tanins et en anthocyanosides mise en évidence par le criblage. Les fractions apolaires et intermédiaires montrent des contributions aliphatiques et carbonylées, cohérentes avec la présence de terpénoïdes et de stéroïdes.

Par ailleurs, la polarité du solvant joue un rôle déterminant dans la sélectivité de l'extraction. Les solvants apolaires favorisent l'extraction des composés lipophiles, les solvants de polarité intermédiaire permettent une meilleure solubilisation des structures carbonylées, alors que les solvants polaires assurent une récupération plus efficace des composés phénoliques.

4. Activités antioxydantes

4.1. Test de piégeage du radical DPPH

L'activité antiradicalaire des différents extraits de *Bunium incrassatum* a été évaluée par le test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) à une longueur d'onde de 517 nm. Cette étude a porté sur quatre types d'extraits (méthanolique, chloroformique, acétate d'éthyle et éther de pétrole) obtenus à partir des deux parties de la plante : les feuilles et les tubercules.

La capacité inhibitrice de ces échantillons a été comparée à celle de l'acide ascorbique, utilisé comme témoin positif. Les résultats obtenus, exprimés en pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration et sous forme de valeurs de IC_{50} sont consignés dans le tableau 12, tandis que l'évolution comparative de ces activités est illustrée par l'histogramme de la figure 33.

Tableau 12 : Activité d'inhibition du radical DPPH par les extraits de *Bunium incrassatum* (feuilles et tubercules)

Extraits	Inhibition %									
	5 (mg/mL)	2.5 (mg/mL)	1.25 (mg/mL)	0.62 (mg/mL)	0.31 (mg/mL)	0.15 (mg/mL)	0.07 (mg/mL)	0.03 (mg/mL)	0.01 (mg/mL)	IC ₅₀ (mg/mL)
EXT Méthanolique (tubercules)	35.963	28.297	27.508	25.479	/	/	/	/	/	11.26
EXT Chloroformique (Tubercules)	30.552	20.631	18.038	14.317	/	/	/	/	/	10.51
EXT à l'Acétate d'Ethyle (Tubercules)	30.77	22.322	17.023	13.754	/	/	/	/	/	9.93
EXT à éther de pétrole (Tubercules)	/	31.792	26.155	24.464	24.239	/	/	/	/	7.56
EXT Méthanolique (Feuilles)	93.076	89.487	87.820	86.666	72.435	67.307	37.307	15.38	14.230	0.0048
EXT Chloroformique (Feuilles)	60.428	59.751	56.031	43.517	/	/	/	/	/	0.94
EXT à l'Acétate d'Ethyle (Feuilles)	60.512	45	23.0769	12.820	12.051	15.769	/	/	/	3.72
EXT d'éther de pétrole (Feuilles)	87.30	76.025	53.717	32.435	20.384	/	/	/	/	1.06
Acide ascorbique	99.88	99.54	99.43	99.32	99.09	85.00	67.98	39.34	34.72	0.00034

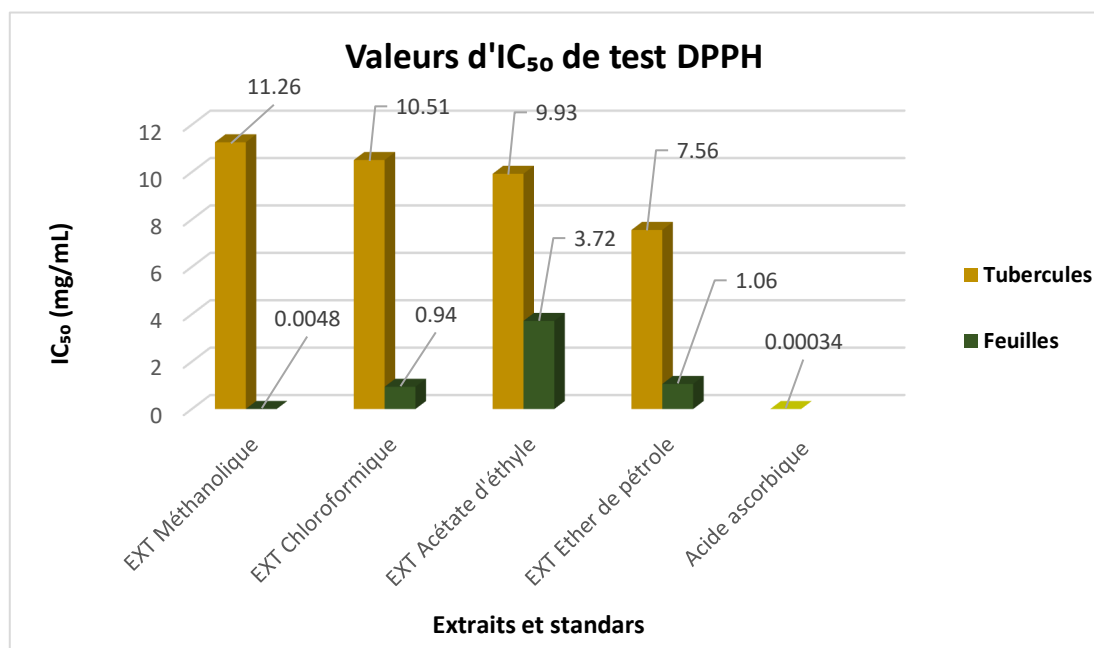


Figure 33 : Valeurs IC₅₀ des extraits étudiés dans la méthode de piégeage du DPPH.

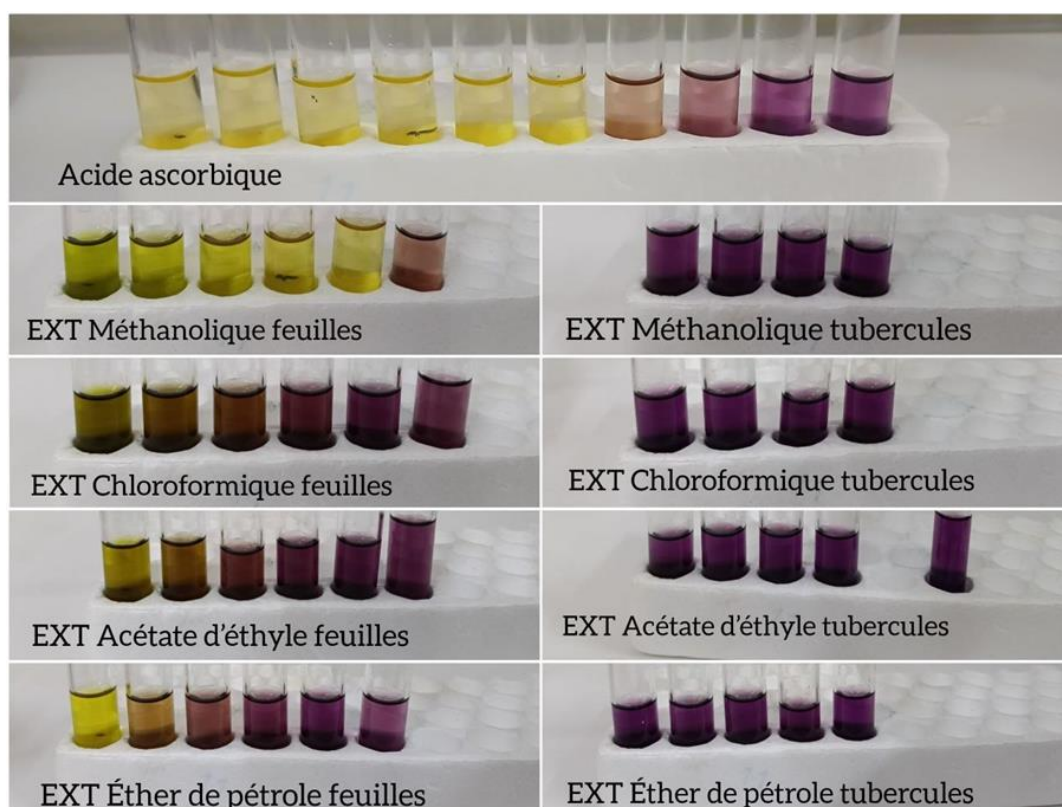


Figure 34 : Profil de décoloration du radical DPPH par les différents extraits organiques (feuilles vs tubercules) (**Photo réelle**).

La Figure 33 présente les valeurs de l'IC₅₀ (mg/ml) pour les différents extraits de *Bunium incrassatum* (feuilles et tubercules) ainsi que pour l'acide ascorbique utilisé comme standard. L'IC₅₀ représente la concentration nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux libres ; plus cette valeur est faible, plus l'activité antiradicalaire est importante.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH montre une différence nette entre les extraits de tubercules et de feuilles. Les extraits de tubercules présentent des valeurs d'IC₅₀ élevées, comprises entre 7,56 et 11,26 mg/ml, indiquant une faible activité antioxydante. Parmi ces extraits, l'éther de pétrole présente la valeur la plus faible, suivi de l'acétate d'éthyle, du chloroforme et du méthanol.

En revanche, les extraits de feuilles présentent des valeurs d'IC₅₀ beaucoup plus faibles, indiquant une activité antioxydante plus importante. L'extrait méthanolique montre la meilleure activité avec une IC₅₀ de 0,0048 mg/ml, suivi des extraits chloroformique (0,94 mg/ml), à l'éther de pétrole (1,06 mg/ml) et à l'acétate d'éthyle (3,72 mg/ml).

La comparaison entre les organes montre clairement que les feuilles possèdent une activité antioxydante nettement supérieure à celle des tubercules. L'acide ascorbique, utilisé comme standard, présente la plus forte activité avec une IC₅₀ très faible (0,00034 mg/ml), confirmant la validité du test.

La comparaison avec les travaux antérieurs révèle certaines similitudes mais également des différences importantes. Concernant les tubercules, **Bentahar et al. (2025)** ont rapporté une IC₅₀ de 0,38 mg/ml pour l'extrait méthanolique, tandis que **Bouhalit et Douaouya (2025)** ont obtenu une IC₅₀ de 1,15 mg/ml. De leur côté, **Berroukeche et al. (2022)** ont observé des activités antioxydantes encore plus élevées avec des IC₅₀ de 0,04 mg/ml pour l'extrait acétonique et de 0,19 mg/ml pour l'extrait éthanolique. Ces valeurs restent nettement inférieures à celles obtenues dans notre étude pour les extraits de tubercules, suggérant une activité antioxydante plus faible de nos échantillons. Cette variabilité peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment les différences de conditions climatiques, de période de récolte, d'origine géographique, de méthode d'extraction, de nature du solvant utilisé ainsi que de concentration en métabolites secondaires.

Par ailleurs, les résultats obtenus pour les feuilles apparaissent particulièrement intéressants. Selon **Karouche et al. (2022)**, l'extrait méthanolique des feuilles de *Bunium mauritanicum*, une espèce appartenant au même genre, présente une IC₅₀ de 19,36 mg/ml. Cette

valeur est considérablement supérieure à celle observée dans notre étude pour l'extrait méthanolique des feuilles de *Bunium incrassatum* ($IC_{50} = 0,0048$ mg/ml), indiquant une activité antioxydante beaucoup plus importante dans notre cas. Cette différence pourrait refléter une richesse plus élevée en composés phénoliques dans *B. incrassatum* ou encore des différences liées à l'espèce, au stade physiologique de la plante et aux conditions écologiques.

Concernant les graines, **Toul et al. (2022)** ont rapporté des IC_{50} de $0,15 \pm 0,02$ mg/ml pour l'extrait méthanolique et de $0,21 \pm 0,03$ mg/ml pour l'extrait à l'éther de pétrole, montrant également une activité antioxydante importante. Ces résultats confirment que certaines parties aériennes ou reproductrices du genre *Bunium* peuvent constituer des sources riches en composés bioactifs antioxydants.

Les différences observées dans l'activité antioxydante des extraits peuvent être expliquées par la nature et la concentration des composés phénoliques présents dans chaque extrait. Le test DPPH repose sur la capacité des antioxydants à neutraliser le radical libre stable DPPH• par transfert d'un électron ou d'un atome d'hydrogène, provoquant une diminution de sa coloration violette. Les composés phénoliques et flavonoïdes agissent ainsi comme des donneurs d'hydrogène capables de stabiliser les radicaux libres et d'interrompre les réactions d'oxydation en chaîne. Par conséquent, plus un extrait est riche en composés phénoliques actifs, plus son activité antioxydante est élevée et plus sa valeur d' IC_{50} est faible. À l'inverse, une IC_{50} élevée traduit une faible capacité de piégeage des radicaux libres, liée soit à une faible teneur en métabolites secondaires, soit à une moindre efficacité des composés extraits. Plusieurs facteurs peuvent influencer cette activité, notamment la polarité du solvant, la partie de la plante étudiée, les conditions environnementales, le stade physiologique de la plante ainsi que la méthode d'extraction utilisée. Les solvants polaires, comme le méthanol, favorisent généralement l'extraction des composés phénoliques, ce qui explique souvent les fortes activités antioxydantes observées dans les extraits méthanoliques (**Brand-Williams et al., 1995 ; Huang et al., 2005 ; Rice-Evans et al., 1997**).

4.1.1. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le test du pouvoir réducteur (FRAP) repose sur la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}), de couleur jaune, en fer ferreux (Fe^{2+}), formant un complexe de couleur bleu-vert dont l'absorbance est mesurée à 700 nm. Cette transformation permet d'évaluer l'activité antioxydante des extraits étudiés. Les résultats sont exprimés en valeurs d' EC_{50} , correspondant à la concentration nécessaire pour obtenir 50 % de l'effet réducteur, et sont comparés à ceux

d'un standard de référence tel que l'acide ascorbique. Une faible valeur d' EC_{50} traduit une forte capacité antioxydante.

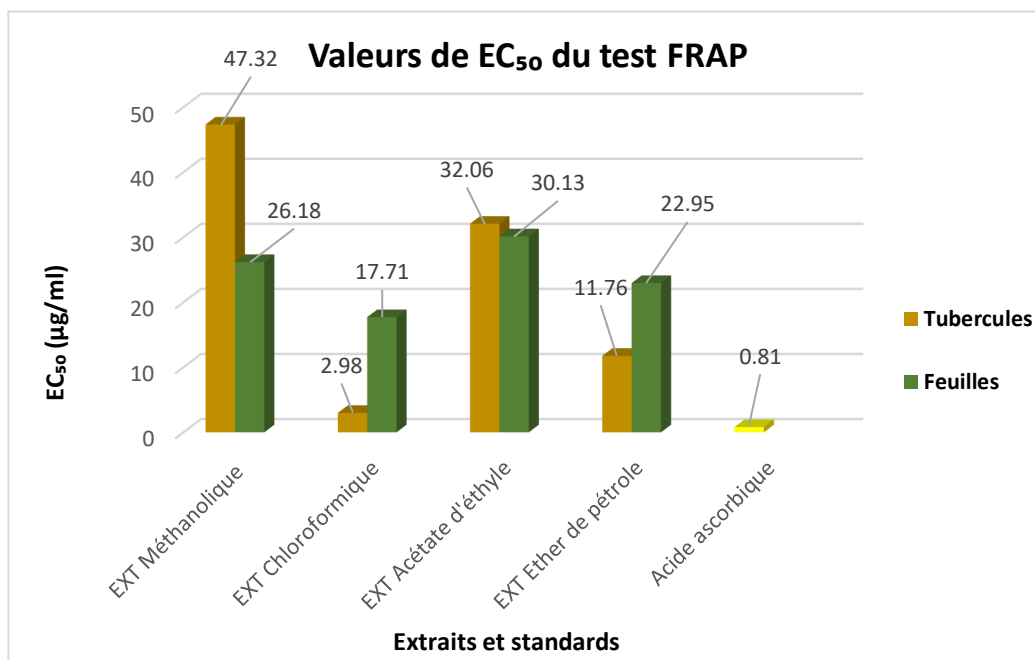


Figure 35 : Valeurs des EC_{50} du test pouvoir réducteur (FRAP).

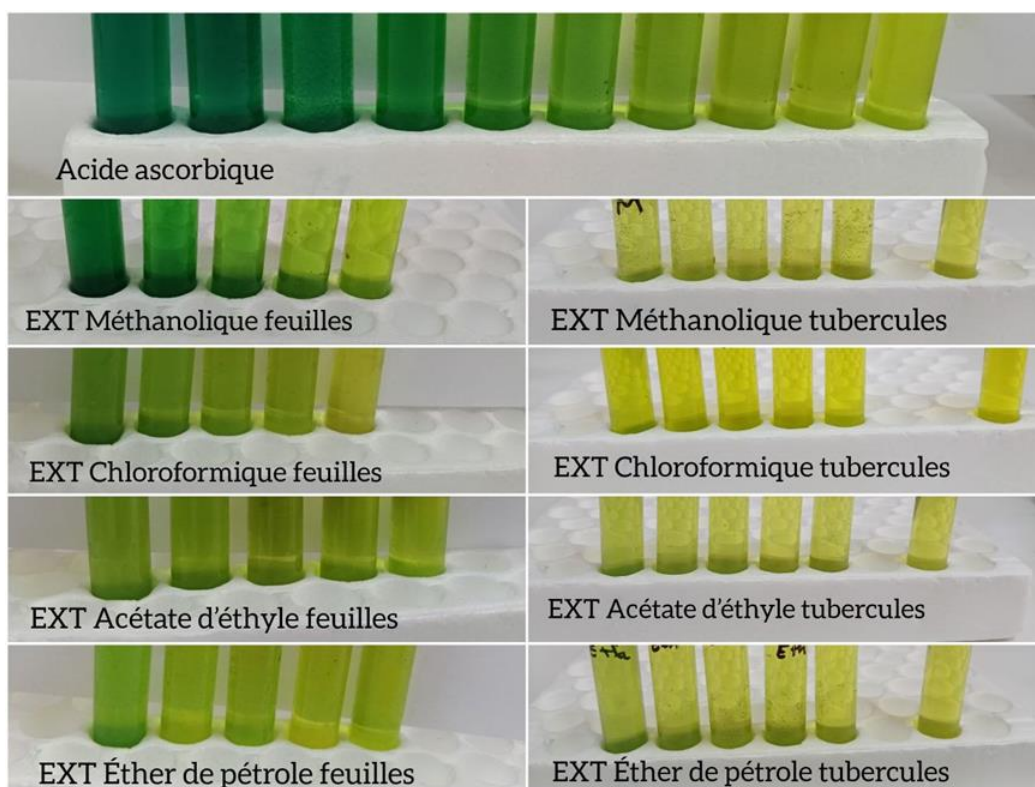


Figure 36 : Évaluation visuelle du pouvoir réducteur (Test FRAP) des différents extraits de *Bunium incrassatum* (Photo réelle).

Tableau 13 : Absorbance du pouvoir réducteur (FRAP) des différents extraits des feuilles et des tubercules de *Bunium incrassatum*.

Extraits ABS	0.391 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	0.781 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	1.563 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	3.125 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	6.25 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	12.5 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	25 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	EC ₅₀ ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)
EXT Méthanolique (Tubercules)	0.158	0.161	0.168	0.190	0.204	0.255	0.335	47.32
EXT Chloroformique (Tubercules)	0.181	0.196	0.206	0.216	0.238	0.297	0.436	2.98
EXT à l'Acétate d'Ethyle (Tubercules)	0.161	0.171	0.185	0.205	0.251	0.363	0.466	32.06
EXT à éther de pétrole (Tubercules)	0.147	0.156	0.173	0.202	0.262	0.388	0.400	11.76
EXT Méthanolique (Feuilles)	0.258	0.392	0.371	0.494	0.776	1.140	1.386	26.18
EXT Chloroformique (Feuilles)	0.121	0.188	0.243	0.293	0.315	0.540	0.870	17.71
EXT à l'Acétate d'Ethyle (Feuilles)	0.185	0.195	0.205	0.248	0.334	0.431	0.610	30.13
EXT d'éther de pétrole (Feuilles)	0.149	0.161	0.176	0.207	0.250	0.359	0.522	22.95
Acide ascorbique	0.340	0.509	0.756	1.197	1.564	1.733	1.851	0.81

Les résultats du test FRAP montrent une augmentation progressive de l'absorbance avec l'augmentation de la concentration pour l'ensemble des extraits. Les extraits de tubercules présentent des valeurs d'EC₅₀ variant entre 2,98 et 47,32 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, avec la meilleure activité

observée pour l'extrait chloroformique, suivi de l'éther de pétrole, de l'acétate d'éthyle et du méthanol.

Les extraits de feuilles présentent des valeurs d'absorbance globalement plus élevées à toutes les concentrations testées. Les valeurs d' EC_{50} varient entre 17,71 et 30,13 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, avec la meilleure activité observée pour l'extrait chloroformique, suivi de l'éther de pétrole, du méthanol. Les résultats obtenus par le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) montrent une augmentation progressive de l'absorbance en fonction de la concentration pour l'ensemble des extraits étudiés, ce qui traduit une capacité réductrice dose-dépendante. Cette relation confirme la présence de composés capables de réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}), caractéristique d'une activité antioxydante via un mécanisme de transfert d'électrons.

Concernant les extraits de tubercules, l'extrait chloroformique a présenté la meilleure activité antioxydante avec une valeur d' EC_{50} de 2,98 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Les autres extraits ont montré des activités nettement plus faibles, avec des valeurs d' EC_{50} atteignant jusqu'à 47,32 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ pour certains solvants. Cette performance supérieure de l'extrait chloroformique suggère que les composés responsables de l'activité antioxydante sont majoritairement de faible à moyenne polarité, ce qui favorise leur extraction par des solvants organiques de polarité modérée.

En revanche, les extraits de feuilles présentent des valeurs d'absorbance globalement plus élevées à toutes les concentrations testées, avec des EC_{50} comprises entre 17,71 et 30,13 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. L'activité la plus élevée est également observée dans l'extrait chloroformique, suivi de l'éther de pétrole, du méthanol et de l'acétate d'éthyle. Bien que les feuilles montrent une activité réductrice notable, celle-ci reste globalement inférieure à celle observée dans certains extraits de tubercules, notamment pour les meilleures fractions.

Selon **Karouche et al. (2022)**, les extraits aqueux et méthanoliques des tubercules de *Bunium mauritanicum* présentent les activités réductrices les plus élevées, avec des valeurs d' EC_{50} respectives de 0,018 mg/ml et 0,048 mg/ml. Comparativement, les résultats obtenus dans la présente étude sur *Bunium incrassatum* révèlent une activité réductrice plus marquée pour les extraits chloroformiques, en particulier celui des tubercules, qui affiche une EC_{50} de 2,98 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, suivi des extraits à l'éther de pétrole, à l'acétate d'éthyle et au méthanol. Les extraits de feuilles présentent également une activité réductrice notable, avec des valeurs d' EC_{50} comprises entre 17,71 et 30,13 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Contrairement aux observations de **Karouche**

et *al.* (2022), où les extraits polaires étaient les plus actifs, nos résultats suggèrent une implication importante des composés moins polaires dans le pouvoir réducteur de *Bunium incrassatum*.

De même, **Mekraf et al. (2025)** ont rapporté une activité réductrice variable de *Bunium incrassatum* selon les organes étudiés, avec une activité plus élevée dans les graines ($IC_{50} = 0,66$ mg/ml), suivies des tiges puis des racines. En comparaison, les résultats de la présente étude mettent en évidence une activité réductrice particulièrement importante des extraits chloroformiques, notamment au niveau des tubercules, où l' EC_{50} atteint $2,98 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, tandis que les extraits de feuilles présentent des valeurs comprises entre $17,71$ et $30,13 \mu\text{g}/\mu\text{L}$. Ainsi, contrairement à l'étude de **Mekraf et al. (2025)** où la variation de l'activité dépend principalement de l'organe végétal, nos résultats soulignent davantage l'influence du solvant d'extraction, les extraits les moins polaires présentant les meilleures capacités réductrices.

Par ailleurs, **Brixi Gormat et al. (2022)** ont mis en évidence une activité réductrice maximale dans les extraits aqueux de *Bunium pachypodum*, suggérant une contribution importante des composés hydrophiles au pouvoir antioxydant. Les auteurs ont également souligné que les tubercules constituent une source riche en métabolites secondaires bioactifs capables de contribuer efficacement à l'activité réductrice. Comparativement, les résultats obtenus dans la présente étude sur *Bunium incrassatum* révèlent une activité réductrice plus marquée pour les extraits obtenus avec des solvants peu polaires, les extraits de tubercules se montrant globalement plus actifs que ceux des feuilles. Contrairement aux résultats de **Brixi Gormat et al. (2022)**, où les extraits polaires étaient les plus performants, nos résultats mettent en évidence une contribution plus importante des composés moins polaires dans l'activité FRAP de *Bunium incrassatum*.

La divergence entre nos résultats et ceux de la littérature s'explique principalement par la différence de polarité des solvants utilisés, qui influence les composés extraits et donc l'activité antioxydante observée. Elle peut également être liée aux variations biologiques (espèce, organe végétal, conditions de croissance) ainsi qu'aux différences méthodologiques entre les études.

Les différences observées dans les résultats du test FRAP s'expliquent essentiellement par la variation de la composition chimique des extraits, notamment leur teneur en composés phénoliques et flavonoïdes, qui sont les principaux responsables de l'activité réductrice. En effet, plus un extrait est riche en molécules donneuses d'électrons, plus sa capacité à réduire le

complexe Fe^{3+} en Fe^{2+} est élevée, ce qui se traduit par une activité antioxydante importante (EC_{50} faible). À l'inverse, une faible teneur en ces composés ou la présence de molécules moins actives conduit à une activité plus faible (EC_{50} élevée). Ces variations sont également influencées par la polarité des solvants d'extraction, qui détermine le type de métabolites extraits, ainsi que par l'organe étudié et les conditions environnementales pouvant modifier la biosynthèse des composés bioactifs. Plusieurs études ont confirmé que l'activité FRAP est fortement corrélée à la richesse en polyphénols et varie selon l'espèce, le solvant et la composition chimique des extraits (**Pulido et al., 2000 ; Apak et al., 2016 ; Karouche et al., 2022**).

La comparaison des résultats obtenus par les deux méthodes antioxydantes révèle une complémentarité importante. Le test DPPH mesure la capacité des extraits à piéger les radicaux libres par transfert d'un atome d'hydrogène ou d'un électron, et est particulièrement sensible aux composés polyphénoliques comme les tanins et flavonoïdes. C'est pourquoi les extraits méthanoliques des feuilles, riches en ces composés, présentent les meilleures performances en DPPH. En revanche, le test FRAP évalue spécifiquement la capacité à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) via un mécanisme de transfert d'électrons, et est davantage sensible aux composés de faible à moyenne polarité. Cela explique pourquoi les extraits chloroformiques des tubercules, moins actifs en DPPH, présentent les meilleures valeurs d' EC_{50} en FRAP. Ainsi, les deux organes possèdent des mécanismes antioxydants distincts et complémentaires : les feuilles agissent principalement par piégeage de radicaux libres grâce à leurs polyphénols, tandis que les tubercules exercent leur activité antioxydante principalement via le transfert d'électrons impliquant des composés moins polaires (**Huang et al., 2005 ; Prior et al., 2005**).

5. Activité anti-inflammatoire

5.1. Activité anti-hémolytique (Test de stabilisation de la membrane des globules rouges.)

L'évaluation de l'activité anti-hémolytique in vitro repose ici sur la capacité des extraits à stabiliser la membrane érythrocytaire face à une agression hypotonique. Puisque la membrane des globules rouges est analogue à celle des lysosomes, sa stabilisation empêche la libération de médiateurs pro-inflammatoires et d'enzymes hydrolytiques dans le milieu extracellulaire. Les résultats sont exprimés en pourcentage de protection.

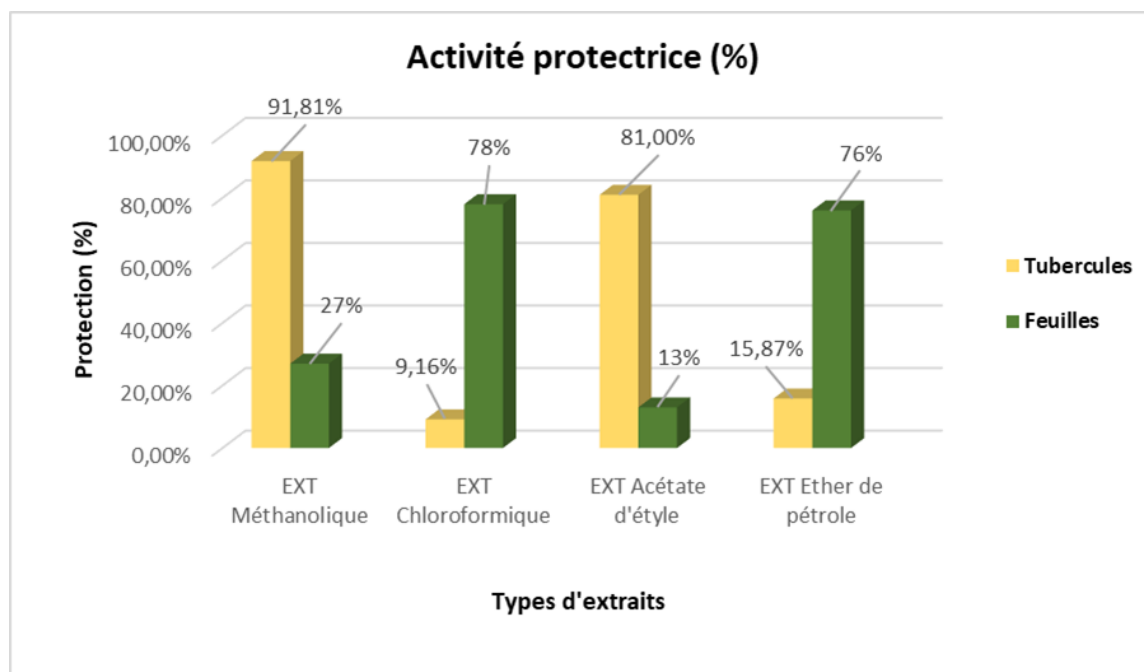


Figure 37 : Évaluation de l'activité antihémolytique des extraits des tubercules et des feuilles de *Bunium incrassatum*.

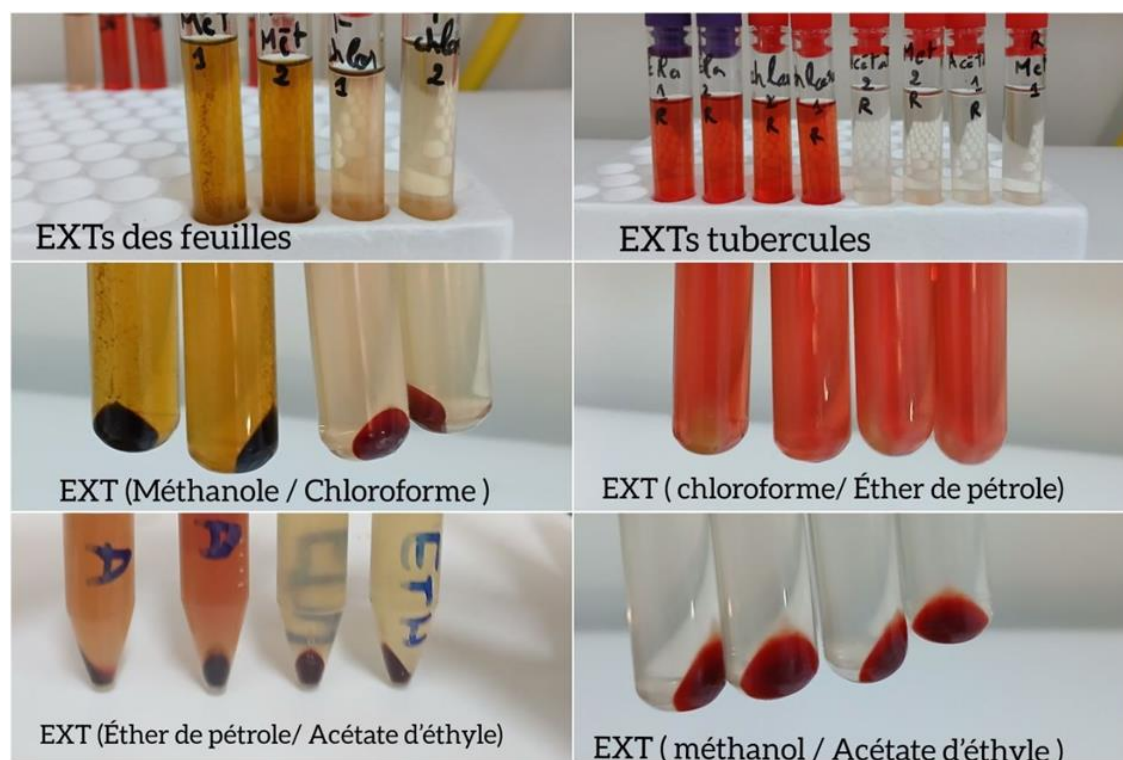


Figure 38 : Mise en évidence de l'activité stabilisatrice de différents extraits de *Bunium incrassatum* sur la membrane des érythrocytes (**Photo réelle**).

Tableau 14 : Résultats de l'activité protectrice des extraits (Tubercules et Feuilles) sur la membrane érythrocytaire.

Extrait	Organe	DO échantillon	Contrôle négatif	Protection (%)
Méthanolique	Tubercules	0,067	0,819	91,81%
	Feuilles	0,595	0,819	27%
Chloroformique	Tubercules	0,744	0,819	9,16%
	Feuilles	0,179	0,819	78%
Acétate d'éthyle	Tubercules	0,150	0,819	81%
	Feuilles	0.708	0,819	13%
Éther de pétrole	Tubercules	0,689	0,819	15,87%
	Feuilles	0,193	0,819	76%

Les résultats obtenus, illustrés par les **Figures 37 et 38** ainsi que le **Tableau 14** de l'activité anti-hémolytique, montrent une variation importante selon l'organe végétal et le solvant d'extraction utilisé. Les extraits des tubercules présentent les activités protectrices les plus élevées avec les solvants polaires, notamment le méthanol (91,81 %) et l'acétate d'éthyle (81 %), alors que les extraits chloroformique et à l'éther de pétrole présentent des activités nettement plus faibles, respectivement 9,16 % et 15,87 %. À l'inverse, les feuilles présentent un profil différent, caractérisé par des activités élevées avec les solvants moins polaires, notamment le chloroforme (78 %) et l'éther de pétrole (76 %), tandis que les extraits méthanolique et à l'acétate d'éthyle montrent des activités faibles à modérées.

La comparaison entre les deux organes met en évidence une distribution différente des composés bioactifs selon leur polarité. Les tubercules semblent riches en composés polaires extractibles par le méthanol et l'acétate d'éthyle, alors que les feuilles contiendraient davantage de composés lipophiles ou faiblement polaires mieux extraits par le chloroforme et l'éther de pétrole. Ces différences suggèrent que la polarité du solvant influence fortement l'extraction des molécules responsables de l'activité anti-hémolytique.

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **El Kolli et al. (2017)**, qui ont montré que les extraits méthanoliques de *Bunium incrassatum* et *Bunium alpinum* possèdent une activité anti-hémolytique élevée, atteignant près de 90 % de protection membranaire aux concentrations les plus importantes. Les performances observées pour notre extrait méthanolique de tubercules soutiennent également l'hypothèse d'une contribution majeure des composés polaires à la préservation de l'intégrité des membranes érythrocytaires.

De même, l'étude de **Brixi Gormat et al. (2022)**, réalisée sur les tubercules de *Bunium pachypodium* d'Algérie, a montré que l'activité anti-hémolytique variait en fonction de la concentration. Les auteurs ont mis en évidence un effet protecteur particulièrement marqué pour l'extrait aqueux à forte concentration. Bien que son activité demeure inférieure à celle de l'acide salicylique utilisé comme référence, les extraits aqueux et acétoniques ont néanmoins présenté une protection notable contre l'hémolyse. Dans l'ensemble, ces observations confirment le rôle important des métabolites polaires dans la stabilisation des membranes érythrocytaires et la protection des globules rouges contre les dommages induits par le stress osmotique.

L'effet protecteur des extraits sur les globules rouges peut être expliqué par leur capacité à stabiliser la membrane érythrocytaire face au stress hypotonique. En condition hypotonique, l'entrée excessive d'eau provoque un gonflement cellulaire suivi d'une rupture membranaire et de la libération de l'hémoglobine. Les composés bioactifs présents dans les extraits, notamment les polyphénols, flavonoïdes et tanins, peuvent interagir avec les protéines et phospholipides membranaires, réduisant ainsi les altérations de la membrane et limitant l'hémolyse. De plus, ces composés possèdent des propriétés antioxydantes capables de neutraliser les radicaux libres responsables de la peroxydation lipidique membranaire, contribuant ainsi à la protection des érythrocytes contre les dommages oxydatifs (El Kolli et al., 2017).

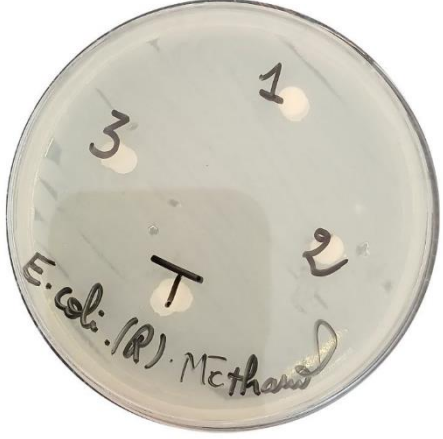
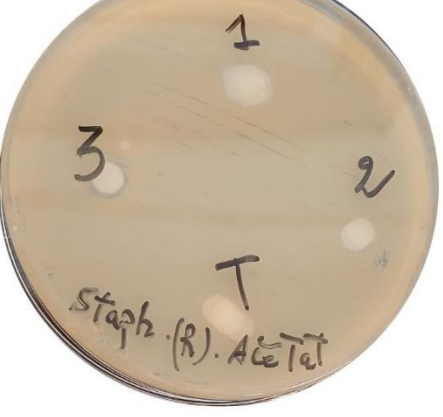
6. Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits issus des tubercules et des feuilles de *Bunium incrassatum* a été étudiée à l'aide de quatre solvants présentant des polarités différentes : le méthanol, l'acétate d'éthyle, le chloroforme et l'éther de pétrole. L'évaluation de cette activité repose sur la mesure du diamètre des zones d'inhibition (exprimées en millimètres) formées autour des disques imprégnés d'extraits, en présence de deux souches bactériennes de référence : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram positif) et *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram négatif).

Tableau 15 : Critères d'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque (Ponce et al.,2003).

Sensibilité	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Résistante / Non sensible (-)	<8
Sensible(+)	$9 \leq \varnothing < 14$
Très sensible (++)	$15 \leq \varnothing < 19$
Extrêmement sensible (+++)	> 20

Tableau 16 : Évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits des tubercules de *Bunium incrassatum* .

S. bactérienne EXTs (T)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
EXT Méthanolique		
EXT Chloroformique		
EXT à l'Acétate d'Ethyle		

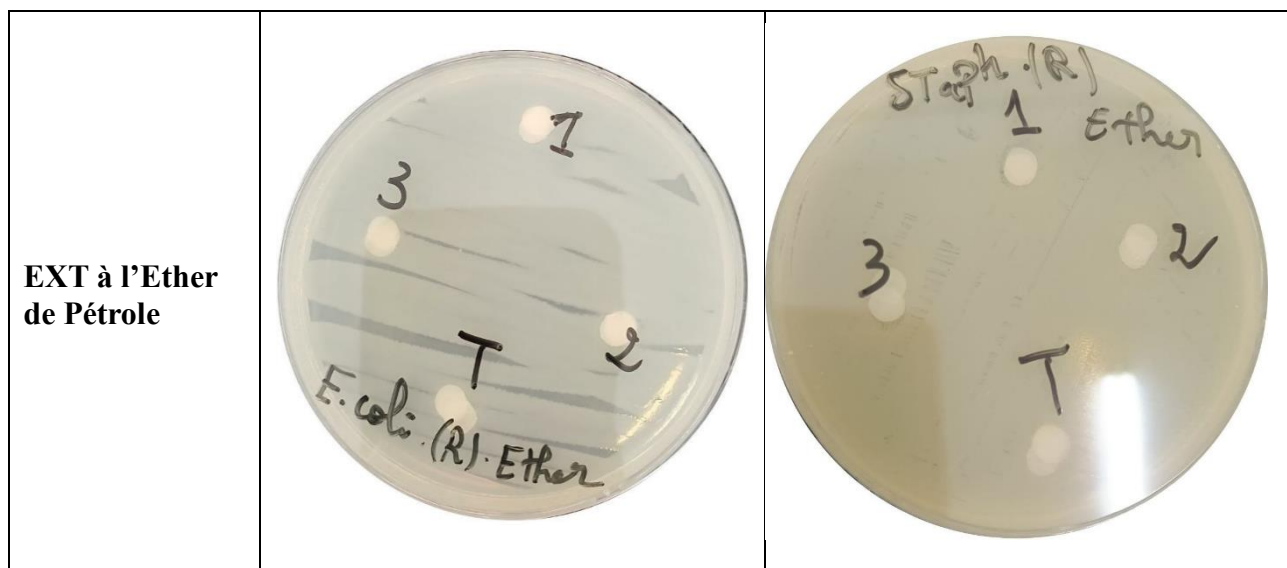
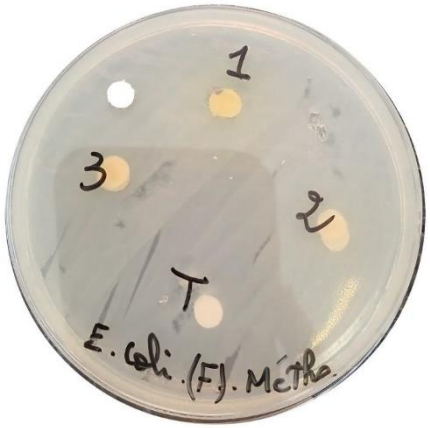
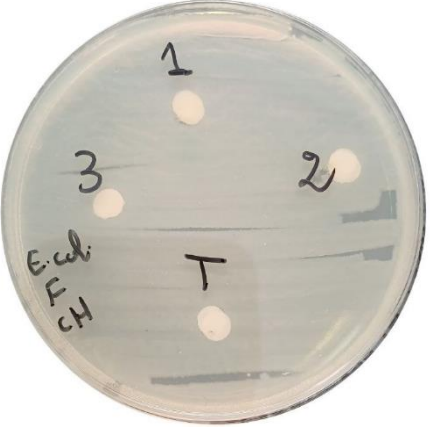
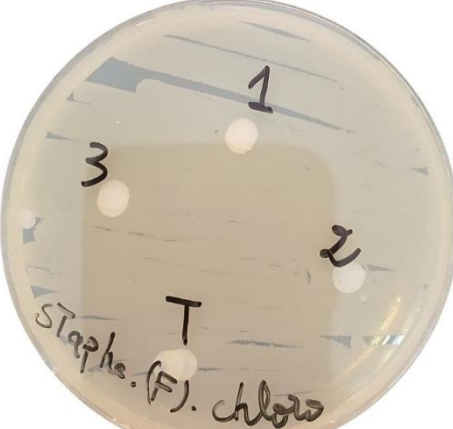


Tableau 17 : Évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits des feuilles de *Bunium incrassatum*.

S. bactérienne EXTs (F)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
EXT Méthanolique		
EXT Chloroformique		

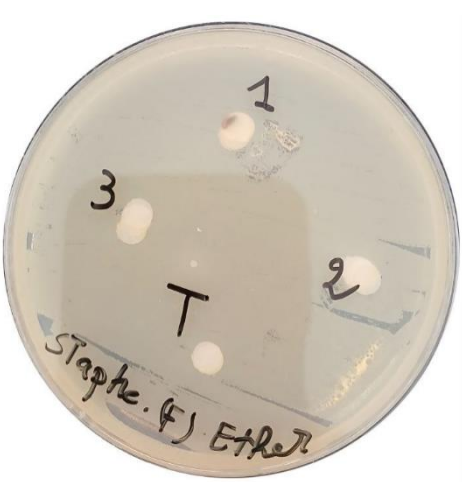
EXT à l'Acétate d'Ethyle		
EXT à l'Ether de Pétrole		

Tableau 18 : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques de référence.

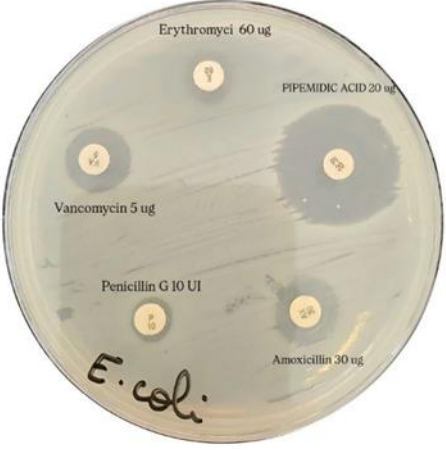
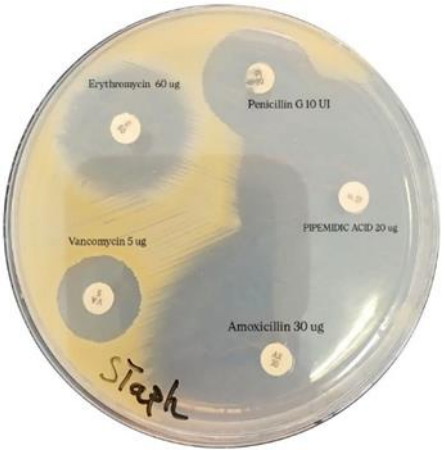
S. bactérienne	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
Contrôle positive		
Vancomycin 5 ug Erythromycin 60 ug Penicillin G 10 UI Amoxicillin 30 ug Pipemidic acid 20 ug		

Tableau 19 : Liste des disques d'antibiotiques utilisés comme témoins positifs.

Antibiotique	Concentration	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
		Apparition de la zone d'inhibition (+/-)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Apparition de la zone d'inhibition (+/-)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Acide pipémidique	20 µg	(+++)	23	(+++)	23
Amoxicilline	30 µg	(+)	13	(+++)	43
Pénicilline G	10 UI	(-)	8	(+++)	40
Érythromycine	60 µg	(+)	10	(+++)	30
Vancomycine	5 µg	(+)	14	(++)	16

Tableau 20 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits de tubercules à différentes concentrations.

Extraits (Tubercules)	Concentration mg/ml	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
		Apparition de la zone d'inhibition (+/-)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Apparition de la zone d'inhibition (+/-)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
EXT méthanolique	150 mg/mL	(-)	ND	(-)	ND
	75 mg/mL	(-)	ND	(-)	ND
	37,5 mg/mL	(-)	ND	(-)	ND
EXT chloroformique	150 mg/mL	(-)	ND	(-)	11
	75 mg/mL	(-)	ND	(-)	9
	37,5 mg/mL	(-)	ND	(-)	9
EXT À l'acétate d'éthyle	150 mg/mL	(-)	ND	(-)	10
	75 mg/mL	(-)	ND	(-)	ND
	37,5 mg/mL	(-)	ND	(-)	9
EXT à l'éther de pétrole	150 mg/mL	(-)	ND	(-)	ND
	75 mg/mL	(-)	ND	(-)	ND
	37,5 mg/mL	(-)	ND	(-)	ND

- **ND** : Absence d'inhibition.

Tableau 21 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles à différentes concentrations.

Extraits (Feuilles)	Concentration (mg/ml)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
		Apparition de la zone d'inhibition (+/-)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Apparition de la zone d'inhibition (+/-)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
EXT méthanolique	150 mg/mL	(-)	ND	(-)	0
	75 mg/mL	(-)	ND	(-)	0
	37,5 mg/mL	(-)	ND	(-)	0
EXT chloroformique	150 mg/mL	(-)	ND	(-)	0
	75 mg/mL	(-)	ND	(-)	0
	37,5 mg/mL	(-)	ND	(-)	0
EXT à l'acétate d'éthyle	150 mg/mL	(-)	ND	(-)	0
	75 mg/mL	(-)	ND	(-)	0
	37,5 mg/mL	(-)	ND	(-)	0
EXT à l'éther de pétrole	150 mg/mL	(-)	ND	(-)	0
	75 mg/mL	(-)	ND	(-)	0
	37,5 mg/mL	(-)	ND	(-)	0

- **ND** : Absence d'inhibition.

Les résultats obtenus, illustrés par les **Tableaux 16 et 17** relatifs à l'activité antibactérienne, montrent une absence d'inhibition pour la majorité des extraits testés, aussi bien pour les tubercules que pour les feuilles, vis-à-vis des souches d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus*. Aucun diamètre d'inhibition significatif n'a été observé pour les extraits de feuilles, quelle que soit la concentration. Pour les tubercules, seules de faibles zones d'inhibition ont été observées contre *Staphylococcus aureus* pour certains extraits, notamment l'extrait chloroformique et celui à l'acétate d'éthyle, avec des diamètres inférieurs à **12 mm**. Aucun effet n'a été observé contre *Escherichia coli*.

Pour les tubercules, seules de faibles zones d'inhibition ont été observées contre *Staphylococcus aureus* pour certains extraits, notamment l'extrait chloroformique et celui à l'acétate d'éthyle, avec des diamètres inférieurs à 12 mm. Aucun effet n'a été observé contre *Escherichia coli*.

La comparaison avec les antibiotiques de référence montre des diamètres d'inhibition nettement plus élevés, supérieurs à 20 mm, indiquant une activité importante. Ainsi, les extraits étudiés présentent une activité antibactérienne faible à absente comparativement aux standards.

Selon **Bouhalit et Douaouya (2025)**, *Bunium incrassatum* présente une activité antibactérienne à la fois sur les bactéries Gram positif et Gram négatif, avec des zones d'inhibition de 10,74 mm pour *Staphylococcus aureus* et de 9,45 mm pour *Escherichia coli*. Les résultats obtenus dans la présente étude confirment l'activité antibactérienne des tubercules, tout en mettant en évidence une sélectivité plus marquée. En effet, seule la souche *S. aureus* a montré une sensibilité aux extraits testés, avec un diamètre d'inhibition maximal de 11 mm observé pour l'extrait chloroformique, tandis qu'aucune activité n'a été détectée contre *E. coli*, contrairement aux résultats rapportés par **Bouhalit et Douaouya (2025)**.

Par ailleurs, une divergence notable concerne la nature des composés bioactifs impliqués. **Bouhalit et Douaouya (2025)** ont mis en évidence une efficacité plus importante de l'extrait méthanolique, suggérant l'implication de composés polaires. À l'inverse, nos résultats montrent une activité plus marquée de l'extrait chloroformique, ce qui indique que les composés antibactériens majoritaires présents dans notre échantillon seraient plutôt de polarité intermédiaire à apolaire.

Comparativement à l'étude de **Bousetla et al. (2015)**, nos résultats confirment la sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux extraits de *Bunium incrassatum*, bien que l'activité observée au niveau des tubercules (11 mm) soit inférieure à celle rapportée pour les racines (20,33 mm). Cependant, une divergence majeure concerne *Escherichia coli* : alors que Bousetla et al. (2015) ont observé une inhibition de 8 mm, nos essais sur les feuilles et les tubercules n'ont montré aucune activité contre cette bactérie Gram négatif. Cette différence peut s'expliquer par l'utilisation de concentrations plus élevées dans l'étude de Bousetla et al. (2015), allant jusqu'à 8 mg/ml, ainsi que par la présence de coumarines spécifiques telles que la scopolétine et la scoparone isolées à partir des racines.

Enfin, l'étude de **Karouche et al. (2020)** sur les tubercules de *Bunium mauritanicum* confirme la résistance de *E. coli* observée dans notre travail. Toutefois, contrairement à notre étude sur *Bunium incrassatum*, qui met en évidence une activité sélective uniquement vis-à-vis de *S. aureus*, **Karouche**

et *al.* (2020) rapportent une activité antibactérienne plus large. Cette sensibilité de *S. aureus* est également confirmée par ces auteurs, avec des zones d'inhibition comprises entre 7 et 15 mm, valeurs comparables à notre diamètre maximal de 11 mm obtenu avec l'extrait chloroformique. Enfin, les deux études s'accordent sur le caractère globalement modéré de l'activité des extraits par rapport aux antibiotiques standards.

L'absence d'activité antibactérienne observée dans l'ensemble des extraits peut s'expliquer par plusieurs facteurs liés à la nature chimique des composés extraits, à leur concentration et à la sensibilité des souches bactériennes testées. Bien que les extraits végétaux soient souvent riches en métabolites secondaires tels que les polyphénols, flavonoïdes et terpènes, la présence de ces composés ne garantit pas systématiquement une activité antibactérienne détectable. En effet, certains composés peuvent être présents sous des formes peu actives ou en concentrations inférieures au seuil minimal inhibiteur nécessaire pour exercer un effet sur la croissance bactérienne (Cowan, 1999).

De plus, l'efficacité antibactérienne dépend fortement de la perméabilité de la membrane bactérienne et des mécanismes de résistance intrinsèque ou acquis des souches utilisées. Certaines bactéries, notamment les Gram négatif, possèdent une membrane externe riche en lipopolysaccharides qui limite la pénétration des composés hydrophobes et réduit ainsi la sensibilité aux extraits naturels (Nikaido, 2003).

Par ailleurs, les conditions d'extraction (type de solvant, rendement, polarité) peuvent influencer la composition chimique finale des extraits, conduisant parfois à des fractions riches en composés antioxydants mais pauvres en molécules réellement antibactériennes. Ainsi, l'absence d'activité observée ne signifie pas nécessairement l'absence de composés bioactifs, mais plutôt une faible affinité ou une concentration insuffisante des molécules actives vis-à-vis des souches bactériennes testées dans les conditions expérimentales utilisées.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales constituent aujourd'hui une source essentielle de molécules bioactives, largement exploitées dans la recherche de nouveaux agents thérapeutiques. Elles représentent un réservoir naturel important de composés à potentiel pharmacologique, tout en restant au cœur du développement de nouvelles molécules d'intérêt biomédical.

Dans ce cadre, notre étude s'est intéressée à la caractérisation phytochimique et à l'évaluation des activités biologiques de deux organes de la plante médicinale *Bunium incrassatum*, à savoir les tubercules et les feuilles, en utilisant des solvants de polarité croissante (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et méthanol). Les résultats ont montré des différences significatives dans les rendements d'extraction, avec un maximum de 16 % obtenu pour l'extrait méthanolique des tubercules. L'analyse phytochimique a mis en évidence une répartition distincte des métabolites secondaires entre les deux organes, caractérisée par une richesse en amidon dans les tubercules et une dominance des composés phénoliques (notamment les tanins) ainsi que des stéroïdes dans les feuilles.

L'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) a confirmé la présence de plusieurs groupes fonctionnels caractéristiques des composés bioactifs présents dans les extraits de *Bunium incrassatum*. Les spectres ont révélé des bandes correspondant principalement aux groupements hydroxyles (O-H), carbonyles (C=O), ainsi qu'aux liaisons C-H aromatiques et aliphatiques. Ces résultats confirment la richesse chimique des extraits et soutiennent les données du criblage phytochimique, notamment la présence de composés phénoliques, de tanins et de stéroïdes.

Sur le plan biologique, les tests réalisés ont permis de mettre en évidence plusieurs activités intéressantes.

Concernant l'activité anti-hémolytique, les extraits de *Bunium incrassatum* ont montré un effet protecteur variable sur la membrane des érythrocytes, dépendant de l'organe, du solvant et de la concentration.

L'évaluation antibactérienne a révélé une activité globalement limitée. Seuls certains extraits chloroformiques et à l'acétate d'éthyle des tubercules ont présenté une faible inhibition vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres inférieurs à 12 mm, tandis qu'aucune activité significative n'a été observée contre *Escherichia coli*.

L'activité antioxydante, évaluée par les tests DPPH et FRAP, a révélé des résultats contrastés mais complémentaires. Le test DPPH a montré une activité antiradicalaire très forte au niveau des feuilles, en particulier pour l'extrait méthanolique ($IC_{50} = 0,0048$ mg/mL), ce qui est attribué à leur richesse en composés phénoliques. À l'inverse, les tubercules présentent une activité plus faible.

Conclusion

Le test FRAP a mis en évidence une activité réductrice dépendant principalement de la polarité des solvants, avec une forte contribution des fractions de faible à moyenne polarité, notamment les extraits chloroformiques, en particulier au niveau des tubercules ($EC_{50} = 2,98 \mu\text{g}/\mu\text{L}$). Ces résultats suggèrent un mécanisme antioxydant basé sur le transfert d'électrons, impliquant des composés moins polaires.

Dans l'ensemble, cette étude confirme l'intérêt scientifique de *Bunium incrassatum* et soutient son usage traditionnel, en mettant en évidence un potentiel biologique notable, particulièrement sur les plans antioxydant et anti-hémolytique, malgré une activité antibactérienne limitée dans les conditions expérimentales testées.

Afin de valoriser davantage cette espèce, plusieurs axes de recherche peuvent être envisagés. Il serait tout d'abord essentiel d'isoler et d'identifier les molécules responsables des activités observées, à partir des fractions les plus actives obtenues avec les différents solvants (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et méthanol), en utilisant des techniques analytiques avancées telles que la HPLC-MS et la GC-MS.

Une caractérisation plus approfondie des fractions riches en composés phénoliques et en molécules de polarité faible à intermédiaire permettrait également de mieux comprendre les mécanismes d'action responsables des activités antioxydantes observées (piégeage des radicaux libres et transfert d'électrons).

Il serait également intéressant d'élargir les investigations biologiques à d'autres activités telles que les effets anti-inflammatoires, cytotoxiques et immunomodulateurs afin d'obtenir une vision plus complète du potentiel pharmacologique de la plante.

Enfin, des études toxicologiques ainsi que des essais *in vivo* seraient indispensables afin de confirmer l'innocuité et l'efficacité des extraits, condition essentielle pour toute valorisation future à l'échelle pharmaceutique ou biotechnologique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12(1), 1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Adoui, N., Bendjil, H., Benabdallah, A., Souilah, N., Daoud, N., & Miara, M. D. (2022). Ethnomedicinal uses, phytochemistry and biological activities of *Talghouda (Bunium fontanesii* Batt. and related synonyms): A review. *Journal of EcoAgriTourism*, 18(1), 76–96.
- Agarwal, A., Kumar, A., Singh, B. K., Trivedi, N., & Jha, K. K. (2016). A review on extraction and phytochemical screening methods. *Research in Pharmacy and Health Sciences*, 2(2), 123–129.
- Agilent Technologies. (2017). Cary 630 FTIR spectrometer user manual. Agilent Technologies. https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/Cary_630_FTIR_User_Manual.pdf
- Agilent Technologies. (2024). Cary 630 FTIR spectrometer applications guide. Agilent Technologies. <https://www.agilent.com/en/product/molecular-spectroscopy/ftir-spectroscopy/ftir-benchtop-systems/cary-630-ftir-spectrometer>
- Agilent Technologies. (2024). FTIR sampling accessories for Cary 630 (ATR). Agilent Technologies. <https://www.agilent.com/en/product/molecular-spectroscopy/ftir-spectroscopy/ftir-accessories/cary-630-ftir-sampling-accessories>
- Ahmed, R. (2024). High-performance liquid chromatography (HPLC): Principles, applications, versatility, efficiency, innovation and comparative analysis in modern analytical chemistry and in pharmaceutical sciences. Preprints. <https://doi.org/10.20944/preprints202409.0057.v1>

- Ahmed, S., Alsharif, K. F., Aschner, M., Alzahrani, K. J., Akkol, E. K., Türkcanoğlu, E. G., & Khan, H. (2026). A deep dive into herbal extraction: Techniques, trends, and technological advancements. *South African Journal of Botany*, 188, 9–37. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2025.11.005>
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I., & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496–1547. <https://doi.org/10.3390/12071496>
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>
- Awad, A. M., Kumar, P., Ismail-Fitry, M. R., Jusoh, S., Ab Aziz, M. F., & Sazili, A. Q. (2021). Green extraction of bioactive compounds from plant biomass and their application in meat as natural antioxidant. *Antioxidants*, 10(9), 1465. <https://doi.org/10.3390/antiox10091465>
- Baadache, I., & Merrouche, K. (2019). Contribution à l'étude phytochimique de deux espèces de la famille des Apiacées et Asteracées [Mémoire de master, Université Les Frères Mentouri Constantine 1].
- Babu, S., Naik, V., Latha, J., & Ramanjaneyulu, K. (2016). Extraction, isolation, and phytochemical investigation of natural products using chromatographic (TLC) method. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*, 7, 380–393.
- Belhouala, K., & Benarba, B. (2021). Medicinal plants used by traditional healers in Algeria: A multiregional ethnobotanical study. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 760492. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.760492>
- Benkhalifa, A. (2018, mai). Talghouda : Une ancienne source alimentaire et une culture adaptée aux régions montagneuses [Communication de conférence]. 1er Séminaire national sur l'agriculture de montagne, Médéa, Algérie. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30611.78884>

- Benkoumar, N., Cheriet, Y., & Garoui, A. O. (2022). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Oudneya africana* R. [Mémoire de master, Université de Ghardaïa, Algérie].
- Bentahar, S., Belattar, H., Bouamrane, Z., & Derbal, N. (2025). Investigation of phytochemical content, antioxidant properties and antibacterial potential of Algerian *Bunium incrassatum*. *Acta Biologica Slovenica*, 68(2), 20029. <https://doi.org/10.14720/abs.68.2.20029>
- Berroukeche, F., Attoui, N., Toul, F., Ziane, M., Soulimane, N. M., & Merzouk, H. (2022). Investigation of antioxidant and anti-hemolytic properties of Algerian *Bunium incrassatum* tubers and their effects as diet on histological and biochemical parameters of normal Wistar rats. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 2022(1), 202007391
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200.
- Bommakanti, V., Puthenparambil Ajikumar, A., Sivi, C. M., Prakash, G., Mundanat, A. S., Ahmad, F., Haque, S., Prieto, M. A., & Rana, S. S. (2023). An overview of herbal nutraceuticals: Extraction, formulation, therapeutic effects and potential toxicity. *Separations*, 10, 456.
- Borges, A., José, H., Homem, V., & Simões, M. (2020). Comparison of techniques and solvents on antimicrobial and antioxidant potential of extracts from *Acacia dealbata* and *Olea europaea*. *Antibiotics*, 9(2), 48. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020048>
- Bouhalit, S., & Douaouya, L. (2025). Comparative analysis of phenolics, flavonoids, antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial potential of methanolic and aqueous extracts from *Bunium incrassatum* tubers. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 8(1), 1–16. <https://doi.org/10.34188/bjaerv8n1-046>
- Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. *Plant Science*, 161(5), 839–851. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00490-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00490-3)

- Bousetla, A., Zellagui, A., Derouiche, K., & Rhouati, S. (2015). Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3), 313–316. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.022>
- Boutheina, B., Ahmed, M., Hamama, B., Safia, D., & Saliha, K. (2022). *Bunium incrassatum* Bois. & Batt. (Talgouda) in the improvement of thyroid tissue damages in female rats. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*, 2(2), 94–101.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brendler, T., Chua, L. S., Abdullah, L. C., & Yam, M. F. (2023). Developing medicinal plant extracts commercially: The importance of extraction and fractionation. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1174841.
- Brix Gormat, N., Bekhiche, K., Hadj Ali, N. E. H., Azza, H., & Hennache, F. Z. (2022). Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of the crude extracts of *Bunium pachypodium* P.W. Ball (Apiaceae) tubers from Algeria. *Biodiversity Journal*, 13(4), 969–980. <https://doi.org/10.31396/Biodiv.Jour.2022.13.4.969.980>
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3e éd.)*. Tec & Doc.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier Tec & Doc.
- Byrne, F. P., Jin, S., Paggiola, G., Petchey, T. H. M., Clark, J. H., Farmer, T. J., Hunt, A. J., McElroy, C. R., & Sherwood, J. (2016). Tools and techniques for solvent selection: Green solvent selection guides. *Sustainable Chemical Processes*, 4, 7.
- Cavalcanti, R. N., Koshima, C. C., Forster-Carneiro, T., Gomes, M. T. M. S., Rostagno, M. A., Prado, J. M., & Meireles, M. A. A. (2022). Uses and applications of extracts from natural sources. In M. A. Rostagno & J. M. Prado (Eds.), *Natural product extraction: Principles and applications* (2e éd., pp. 1–66). Royal Society of Chemistry.

- Chentouh, S., Boulahbel, S., Adjal, F., Tolba, M., Alloua, N., Moumen, Y., & Bentayeb, Y. (2018). Effets des extraits organiques de *Bunium incrassatum* sur quelques paramètres hématologiques chez les lapines de population la race locale. *Revue des BioRessources*, 8(2), 34–42. <http://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/handle/123456789/20106>
- Chigayo, K., Mojapelo, P. E. L., Mnyakeni-Moleele, S., & Misihairabgwi, J. M. (2016). Phytochemical and antioxidant properties of different solvent extracts of *Kirkia wilmsii* tubers. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6, 1037–1043.
- Claridge, T. D. W. (2016). *High-resolution NMR techniques in organic chemistry (3rd ed.)*. Elsevier.
- Coates, J. (2000). Interpretation of infrared spectra, a practical approach. In R. A. Meyers (Ed.), *Encyclopedia of analytical chemistry*. Wiley. <https://www.researchgate.net/publication/228050808>
- Couplan, F. (1994). *Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques*. Delachaux et Niestlé.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
- Dehimi, K., Djoudi, Z., Boulaouad, A., Maadadi, A. R., Dahamna, S., & Khenouf, S. (2020). A contribution to the valorization of two medicinal plants: *Atriplex halimus* subsp. *Schweinfurthii* and *Bunium incrassatum*, growing in the region of M'sila (North-East Algeria). *Indian Journal of Novel Drug Delivery*, 12(4), 208–216.
- Dekebo, A. (2018). Introductory chapter: Plant extracts. In A. Dekebo (Ed.), *Plant extracts*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81932>
- Dewick, P. M. (2009). *Medicinal natural products: A biosynthetic approach (3rd ed.)*. John Wiley & Sons.
- Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, 26(17), Article 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>

- Diemer, E. (2024). Intensification du procédé d'extraction, de purification et de fonctionnalisation des acides caféoylquiniques à partir de coproduits de la culture de l'endive [Thèse de doctorat, Université de Technologie de Compiègne]. HAL Open Science. <https://theses.hal.science/tel-04864410>
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302.
- El Kolli, H., Laouer, H., & El Kolli, M. (2017). Chemical composition and biological activities of the essential oils and the methanolic extracts of *Bunium incrassatum* and *Bunium alpinum* from Algeria. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 62(1), 3334–3338.
- Elshafie, H. S., Camele, I., & Mohamed, A. A. (2023). A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), Article 3266. <https://doi.org/10.3390/ijms24043266>
- Fabricant, D. S., & Farnsworth, N. R. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives*, 109(Suppl 1), 69–75. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s169>
- Fierascu, R. C., Fierascu, I., Ortan, A., Georgiev, M. I., & Sieniawska, E. (2020). Innovative approaches for recovery of phytoconstituents from medicinal plants. *Molecules*, 25(2), 309.
- Flórez-Fernández, N., Casas, M. P., González-Muñoz, M. J., & Domínguez, H. (2017). Combination of water-based extraction technologies. In H. Domínguez & M. J. González-Muñoz (Eds.), *Water extraction of bioactive compounds* (Chap. 17). Elsevier.
- Gagi, S., & Toubal, S. (2018). Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une plante médicinale endémique Talghouda : *Bunium incrassatum* [Mémoire de master, Université de Ghardaïa].

- Gharboudje, F., & Hellous, K. (2023). Évaluation de quelques activités biologiques de deux plantes médicinales (*Bunium mauritanicum* L. et *Malva sylvestris* L.) [Mémoire de master, Centre universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, Algérie].
- Gross, J. H. (2017). *Mass spectrometry: A textbook (3rd ed.)*. Springer.
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(1), 1–93. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.008>
- Hammoudi, N., Hafid, H., Moumen, Y., Chentouh, S., Djebaili, H., & Boulahbel, S. (2021). Effect of organic materials extract from *Bunium incrassatum* (Talghouda) roots on hematological and histological parameters of the adrenal glands in pregnant rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of New Technology and Materials*, 10, 38–43. <https://doi.org/10.12816/0058149>
- Harborne, J. B. (1973). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman and Hall.
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis (3rd ed.)*. Chapman & Hall.
- Hidayat, R., & Wulandari, P. (2021). Methods of extraction: Maceration, percolation and decoction. *Eureka Herba Indonesica*, 2, 68–74. <https://doi.org/10.37275/ehi.v2i1.15>
- Hossain, T. J. (2024). Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 71(2), 97–115. <https://doi.org/10.1556/1886.2024.00035>
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Hussein, R. A., & El-Anssary, A. A. (2018). Plants secondary metabolites: The key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. In H. El-Shemy (Ed.), *Plants life* (Chap. 2). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76139>

- Kant, R., & Kumar, A. (2022). Review on essential oil extraction techniques. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 30, 100829.
- Karouche, S., Benmehdi, H., Benine, M., & Amrouche, A. (2020). Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of *Bunium mauritanicum* Batt. tubers growing in Algeria. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(1-s), 41–47. <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i1-s.3833>
- Kıran, T. R., Otlı, O., & Bay Karabulut, A. (2023). Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *Journal of Laboratory Medicine*. <https://doi.org/10.1515/labmed-2022-0108>
- Kiteto, M. K., & Mecha, C. A. (2024). Insight into the Bouguer-Beer-Lambert Law: A review. *Sustainable Chemical Engineering*, 5(2), 567–581. <https://doi.org/10.37256/sce.5220245325>
- Lajoie, L., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2022). Water as green solvent. *Pharmaceuticals*, 15(12), 1507.
- Lee, J. E., Jayakody, J. T. M., Kim, J. I., Nikapitiya, C., Kim, H. J., & Jeon, Y. J. (2024). Influence of solvent choice on extraction of bioactive compounds. *Foods*, 13, 3151.
- Lemes, A. C., Egea, M. B., Oliveira Filho, J. G. D., Gautério, G. V., Ribeiro, B. D., & Coelho, M. A. Z. (2022). Biological approaches for extraction of bioactive compounds from agroindustrial by-products: A review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, Article 806640. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.806640>
- Li, S. L., Lai, S. F., Song, J. Z., Qiao, C. F., Liu, X., Zhou, Y., Cai, H., Cai, B. C., & Xu, H. X. (2010). Decocting-induced chemical transformations and global quality of Du–Shen–Tang, the decoction of ginseng evaluated by UPLC–Q-TOF-MS/MS based chemical profiling approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53(4), 946–957. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.06.013>

- Machado, C. A., Oliveira, F. O., de Andrade, M. A., Hodel, K. V. S., Lepikson, H., & Machado, B. A. S. (2022). Steam distillation for essential oil extraction: An evaluation of technological advances based on an analysis of patent documents. *Sustainability*, 14(12), Article 7119. <https://doi.org/10.3390/su14127119>
- Malini, G., Saranya, B., & Parameswari, A. (2023). Review on extraction techniques for medicinal and aromatic plants. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry and Analysis*, 10(4), 253–256.
- Mecheri, I., & Rahali, A. (2025). Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques des extraits de feuilles de *Zizyphus lotus* [Mémoire de master, Université Constantine 1 Frères Mentouri, Algérie].
- Mekraf, S., Boufadi, M. Y., Keddari, S., Abbassene, F., & Farah, R. (2025). Phenolic profile, antioxidant activity, and litholytic cholesterol properties of Algerian *Bunium incrassatum* L. extracts. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 9(3), 1211–1219. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v9i3.42>
- Mencin, M., Mikulic-Petkovsek, M., Veberič, R., & Terpinč, P. (2021). Solid-phase extraction of phenolic acids. *Antioxidants*, 10(7), 1085.
- Mezzou, S. R., & Meghouache, B. (2024). Étude phytochimique et évaluation in vitro des activités biologiques de deux plantes médicinales : *Bunium incrassatum* et *Dolomiaea costus* [Mémoire de master, Université Constantine 1 Frères Mentouri].
- Mohammad Hosseini, M., Frezza, C., Venditti, A., & Sarker, S. D. (2021). A systematic review on phytochemistry, ethnobotany and biological activities of the genus *Bunium* L. *Chemistry & Biodiversity*, 18(11), e2100317. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100317>
- Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C. (2017). Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.). *Revue Agrobiologia*, 7(2), 616–624. <https://www.agrobiologia.net>
- Muanda, F. N. (2010). Étude de la composition chimique et des activités biologiques des extraits de quelques plantes médicinales [Thèse de doctorat, Université de Metz]. HAL Thèses. <https://hal.science/tel-00595350>

- Nawaz, H., Shad, M. A., Rehman, N., Andaleeb, R., & Ullah, N. (2020). Effect of solvent polarity on phytochemical extraction. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56, e17129.
- Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 593–656. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.593-656.2003>
- Norazlina, M., Tan, Y. S., Hasmadi, M., & Jahurul, M. (2021). Effect of solvent pre-treatment. *Heliyon*, 7, e08073.
- Nortjie, E., Basitere, M., Moyo, D., & Nyamukamba, P. (2022). Extraction methods, quantitative and qualitative phytochemical screening of medicinal plants for antimicrobial textiles: A review. *Plants*, 11(15), Article 2011. <https://doi.org/10.3390/plants11152011>
- Nouairia, G., Belarbi, M., & Hadded, B. (2010). *Comparaison de méthodes d'extraction de l'ADN de lapin à partir du sang : Fiabilité et coût* [Licentiate thesis, University of Carthage].
- Nurtamin, T., Rahim, A. H., & Yusuf, M. (2018). Evaluation of anti-inflammatory activity by human red blood cell membrane stabilization method. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(5), 176–179.
- Organisation mondiale de la santé. (2002). Traditional medicine strategy 2002–2005. OMS.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307–315.
- Ozdemir, M., & Karagoz, S. (2024). Effects of microwave drying. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104, 2189–2197.
- Pang, Z., Chen, J., Wang, T., Gao, C., Li, Z., Guo, L., Xu, J., & Cheng, Y. (2021). Linking plant secondary metabolites and plant microbiomes: A review. *Frontiers in Plant Science*, 12, Article 621276. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.621276>

- Plaskova, A., & Mlcek, J. (2023). Application of plant extracts in food. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1095426.
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT – Food Science and Technology*, 36(7), 679–684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)
- Pramanik, J., Kumar, A., Rustagi, S., Katyal, M., Thakur, S., Bora, J., Malik, S., Trehan, A., Talukdar, N., & Slama, P. (2024). A perspective review on the biosynthesis of plant-based secondary metabolites and their application as potent drugs. *BIOCELL*, 48(4), 541–557. <https://doi.org/10.32604/biocell.2023.029031>
- Prasedya, E. S., Frediansyah, A., Martyasari, N. W. R., Bawa Istri, N. A. K., Kurniawan, N. R., Nurkholis, A. D., & Widyastuti, S. K. (2021). Effect of particle size. *Scientific Reports*, 11, 17876.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols by FRAP assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3396–3402.
- Quézel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- Ranebaye, D., Nguinambaye, M. M., Ndjewbo, O. M., & Brahim, B. O. (2023). Étude ethnobotanique et screening phytochimique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des hémorroïdaires dans les provinces du Sud Tchad. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, 22(1), 46–66.
- Rasul, M. G. (2018). Conventional extraction methods. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing*, 2, 10–14.

- Rates, S. M. K. (2001). Plants as source of drugs. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1–2), 112. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00291-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00291-7)
- Reichenbach, H. G. (1863). *Bunium bulbocastanum* [Illustration]. In S. Castroviejo et al. (Eds.), *Flora iberica* (Vol. X, pp. 162–163). Real Jardín Botánico, C.S.I.C. (Original work published 1863). <http://floramoroccana.fr/bunium-bulbocastanum.html>
- Sahne, F., Mohammadi, M., Najafpour, G., & Moghadamnia, A. (2016). Extraction of curcumin. *Pakistan Journal of Biotechnology*, 13, 173–180.
- Salomé-Abarca, L. F., Soto-Hernández, R. M., Cruz-Huerta, N., & González-Hernández, V. A. (2015). Chemical composition of extracts. *Botanical Sciences*, 93, 633–638.
- Salunke, J. D., Rathod, G. M., & Kale, S. S. (2025). Qualitative phytochemical screening and FTIR spectroscopic analysis of *Sesamum indicum* L. *Plants*, 13(4B). <https://doi.org/10.22271/plants.2025.v13.i4b.1896>
- Senol, A., & Aydin, A. (2006). Solid–liquid extraction of caffeine. *Journal of Food Engineering*, 75, 565–573.
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., Kiemle, D. J., & Bryce, D. L. (2015). *Spectrometric identification of organic compounds (8th ed.)*. Wiley.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2014). *Principles of instrumental analysis (6th ed.)*. Cengage Learning.
- Smith, B. C. (2011). *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy (2nd ed.)*. CRC Press. <https://www.routledge.com/Fundamentals-of-Fourier-Transform-Infrared-Spectroscopy-Second-Edition/Smith/9781420069297>
- Sonti, S. S. M. S. (2024). A review on high performance liquid chromatography. Sri Vasavi Institute of Pharmaceutical Sciences. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10232637>
- Stuart, B. (2004). *Infrared spectroscopy: Fundamentals and applications*. Wiley. <https://books.google.com/books?id=xQVog8RrJKcC>

- Taïbi, K., Ait Abderrahim, L., Helal, F., & Hadji, K. (2021). Ethnopharmacological study of herbal remedies used for the management of thyroid disorders in Algeria. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29(1), 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2020.12.004>
- Toul, F., Djendar, A., Seladji, M., & Berroukeche, F. (2022). Algerian Bunium incrassatum seeds: Effects of extraction solvent polarity on phenolic profile and antioxidant activity. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 9(2), 415–422. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.1058060>
- Tourabi, M., Metouekel, A., Ghouizi, A. E. L., Zahri, S., & Moussaoui, F. (2023). Solvent effects on phytochemical composition. *Scientific Reports*, 13, 18028.
- Trease, G. E., & Evans, W. C. (2009). *Trease and Evans pharmacognosy (16th ed.)*. Saunders Elsevier.
- Truche, C. (2010). Caractérisation et quantification des minéraux argileux dans les sols expansifs par spectroscopie infrarouge aux échelles du laboratoire et du terrain [Thèse de doctorat, Université Toulouse 3 Paul Sabatier]. Theses.fr. <https://theses.fr/2010TOU30164>
- Tutin, T. G. (1980). Umbellifers of the British Isles. Botanical Society of the British Isles.
- Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300–312. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>
- Wiercigroch, E., Szafraniec, E., Czamara, K., Pacia, M. Z., Majzner, K., Kochan, K., Kaczor, A. A., Baranska, M., & Malek, K. (2017). Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 185, 317–335. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.045>
- Xiao, F., Xu, T., Lu, B., & Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(3), 226–240. <https://doi.org/10.1002/fft2.10>

Yannick Stephane, F. F., Jean Jules, B. K., Bruno, L. N., Kezetas, J. J. B., Njintang, N. Y., & Mbofung, C. M. F. (2021). Extraction of bioactive compounds. In H. El-Shemy (Ed.), *Natural medicinal plants*. IntechOpen.

Yusuf, A. (2018). Methods used for seed oil extraction. *International Journal of Scientific Research*, 7, 233–238.

Annexes

Annexe : Préparation des solutions et réactifs utilisés dans les activités biologiques

➤ Préparation de la solution de DPPH :

La solution de DPPH a été préparée en dissolvant 6 mg de DPPH dans 100 mL de méthanol. Le radical DPPH est conservé à l'abri de la lumière à une température de 20 °C. L'absorbance de la solution est ajustée à 0,5 à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

➤ Préparation de la solution de $K_3Fe(CN)_6$:

La solution de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) a été préparée en dissolvant 1 g du composé dans 100 mL d'eau distillée.

➤ Préparation de la solution d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % :

La solution de TCA à 10 % a été obtenue en dissolvant 1 g d'acide trichloroacétique dans 10 mL d'eau distillée.

➤ Préparation de la solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0,1 % :

La solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0,1 % a été préparée en dissolvant 0,1 g de $FeCl_3$ dans 100 mL d'eau distillée.

➤ Préparation de la solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0,2 % :

La solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0,2 % a été préparée en dissolvant 0,2 g de $FeCl_3$ dans 50 mL d'eau distillée.

➤ Préparation du tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) :

Pour un PBS 0,01 M à pH 6,4 :

Tableau 22 : Composition du PBS (1 Litre).

Composé	Masse
Na_2HPO_4 (phosphate disodique)	1,44 g
KH_2PO_4 (phosphate monopotassique)	0,24 g
NaCl	8,0 g
KCl	0,2 g
Eau distillée	1 L

➤ **Procédure :**

Dissoudre l'ensemble des sels dans environ 800 mL d'eau distillée sous agitation. Ajuster ensuite le pH à 6,4 à l'aide d'une solution de HCl 0,1 N lorsque le pH est trop élevé, ou avec une solution de NaOH 0,1 N lorsque le pH est trop faible. Compléter finalement le volume à 1 L avec de l'eau distillée. La solution peut être filtrée ou stérilisée si nécessaire.

➤ **Préparation de la solution d'Alsever :**

Tableau 23 : Composition de la solution d'Alsever (pour 1 Litre)

Composé	Masse
Dextrose	2 g (2 % m/v)
Citrate de sodium	0,8 g (0,8 % m/v)
Acide citrique	0,5 g (0,5 % m/v)
NaCl	0,42 g (0,42 % m/v)
Eau distillée	1 L

➤ **Procédure :**

Dissoudre successivement le dextrose, le citrate de sodium, l'acide citrique et le chlorure de sodium dans une quantité suffisante d'eau distillée sous agitation. Compléter ensuite le volume final à 1 L avec de l'eau distillée. La solution obtenue peut être stérilisée avant utilisation.

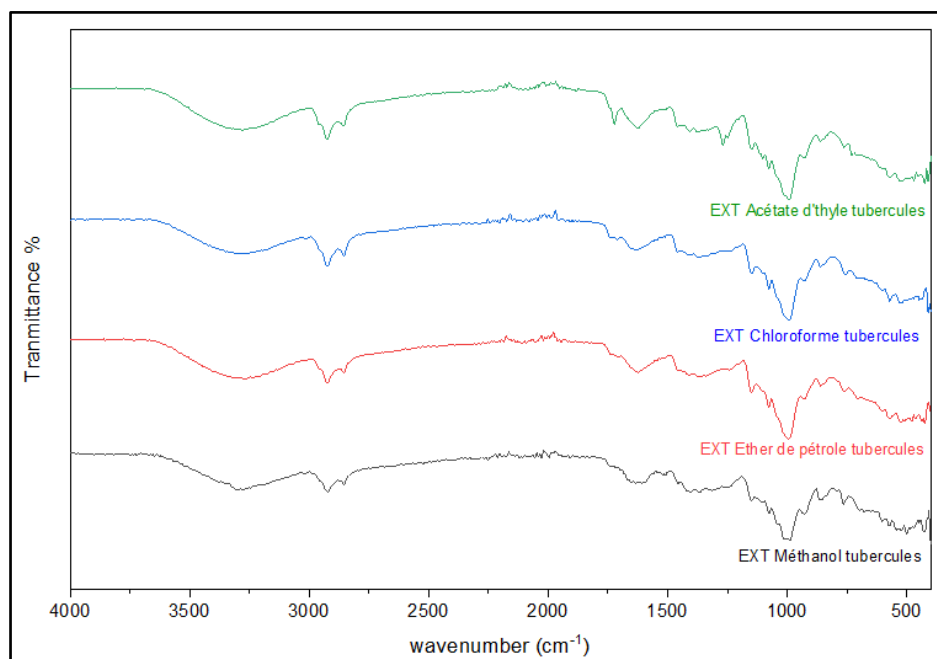


Figure 39 : Spectres de Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) des différents extraits de Tubercules.

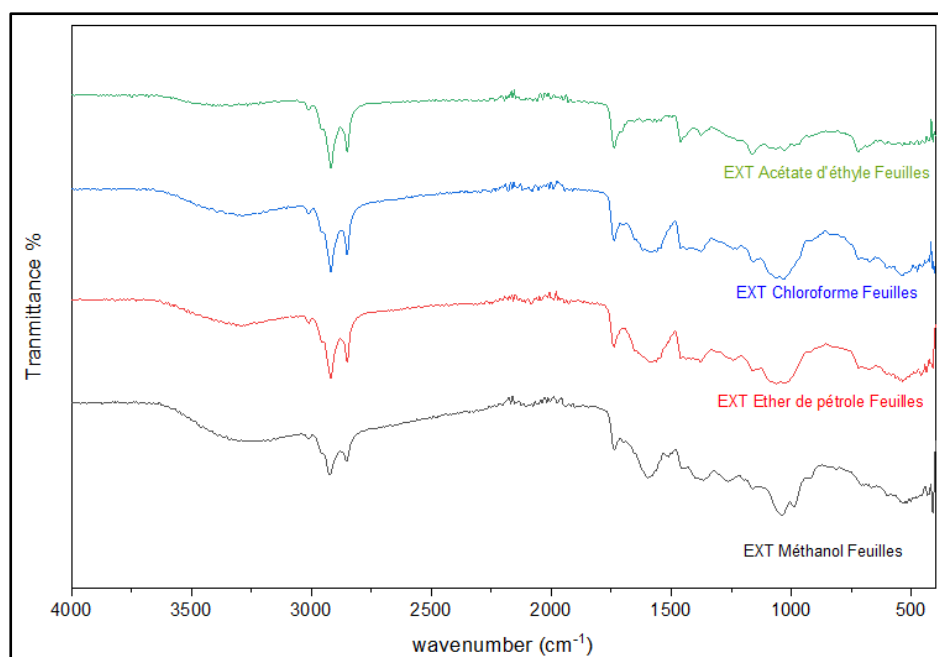


Figure 40 : Spectres de Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) des différents extraits de Feuilles.



Figure 41 : L'Évaporateur Rotatif utilisé pour la concentration des extraits.