

République Algérienne Démocratique Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة ابن خلدون - تيارت  
Université Ibn Khaldoun – Tiaret



Faculté des Sciences de la Matière  
كلية علوم المادة  
Département de Chimie  
قسم الكيمياء

**Mémoire**  
**Présenté par :**  
M<sup>elle</sup>. MOSTFAI SOUAD

Pour obtenir le diplôme de  
**Master**  
Filière : Chimie  
Spécialité: Chimie Organique  
Diplôme de Projet Startup  
Sujet :

**Etude phytochimiques, activités biologiques  
et formulation d'un film actif a base des extraits  
d'une gomme naturelle**

Soutenu le : 30/06/2024

Devant le jury:

M <sup>me</sup> ABDELMALEK Ilham	Présidente	MCA à	Univ Tiaret
M <sup>me</sup> . H. MABREK	Examinatrice	MAA à	Univ Tiaret
M <sup>lle</sup> . L.BENNABI	Examinatrice	MCA à	Univ Ain Timouchent
M <sup>lle</sup> . M.HENNI	Promotrice	MCA à	Univ Tiaret
M <sup>f</sup> T.Moumene	Représentant de l'incubateur	MCA à	Univ Tiaret
M <sup>me</sup> H.Sofiane	Ingénieur	Chef de station	de surveillance de Tiaret

Année universitaire : 2023/2024

# اهداء

بِسْمِ اللَّهِ  
الرَّحْمَنِ  
الرَّحِيمِ

" يرفع الله الذين امنوا منكم والذين اوتوا العلم درجات "

" صدق الله العظيم "

الحمد لله الذي أنشئ وبرى وخلق الماء والثرى وأبدع كل شيء وذرى الحمد لله الذي وفقنا الى هذا وما كنا بفضلله لمن الواصلين

اهدي هذا النجاح لنفسي أولاً ثم الى كل من سعى معي لإتمام هذه المسيرة دتمم لي سندا الى من كلله الله بالهيبة والوقار الى من ساندني بكل حب الى من احمل اسمه بكل افتخار والدي العزيز اطال الله في عمره

الى من جعل الله الجنة تحت اقدامها الى من كان دعاؤها سر نجاحي امي الغالية اطال الله في عمرها

الى رمز الطيبة والحنان وبركة الحياة كانت في وجودك جدتي فقيدتي رحمك الله في قلب حفيدتك لم تموتي

الى من ساندوني عند ضعفي وساقوني بالحب الى من رسموا لي مستقبل بخطوط من الثقة (عماتي فاطمة وعدلة واعمامي عبد القادر ومجد)

الى من شد الله بهم عضدي فكانوا خير معين (ايمان عماد رشل)

الى من يحسنون الصحبة ويكرمون الرفقة فلا يشقى في صحبتهم أحد صديقات الطفولة (أحلام سميرة)

الى رفيقات القلب التي جمعتني بهن الجامعة اولهن (هيام ايمان فاطمة اكرام زينب)

ولله الشكر انه وفقني لهذه اللحظة، لم تكن الأمور يسره ولكن بحول الله قد وصلت لهذا فالحمد لله ربي العالمين.

الخريجة سعاد



## *Remerciements*

*Le grande merci s'adresse au bon DIEU, le tout Puissant, qui ma donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*J'exprime mes profondes gratitudees et reconnaissances à mon encadreur **M<sup>elle</sup> Henni Meriem** maitre de conférences A, à l'université de Tiaret, pour avoir proposé et accepter de diriger, avec beaucoup de patience, ce sujet de mémoire de Master et je ne peux pas jamais oublier ses encouragements et ses conseils.*

*J'exprime mes remerciements à **M<sup>me</sup> Abdel Malek Ilhem** maitre de conférences A à l'université de Tiaret, pour avoir accepté de présider ce jury.*

*J'exprime mes remerciements à **M<sup>me</sup> Mebrak horia** maitre assistant A à l'université de Tiaret, D'avoir accepter d'examiner ce travail.*

*Mes vifs remerciements vont à **M<sup>elle</sup> Bennabi Lamia** maitre de conférences A à l'université d'Ain Timouchent d'avoir accepter de juger ce travail*

*Mes remerciements sont destinés aussi envers  
**Mr Moumene Taqiyeddine***

***M<sup>me</sup> sofiane hamida***

*Qui nous fais l'honneur de présider ce jury afin d'évaluer ce projet d' étude qui rentre dans le décret 1275 des Startup*

*Je tiens aussi à remercier **Mr Yesref Djamel**, chef du département de chimie pour son aide précieuse*

*J'exprime mes remerciements à toute l'équipe de laboratoire de synthèse et catalyse et plus notamment: **Mr Belarbi El Habib** et **M<sup>me</sup> Nadia***

*Je tiens à exprime mes profondes reconnaissances a toute l'équipe de laboratoire de graduation de chimie et plus notamment Monsieur **Larbi** ainsi que **M<sup>me</sup> Somia** et **M<sup>me</sup> Fatifa**.*

*J'adresse mes remerciements à tous les ingénieurs de laboratoires de biochimie de Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie notamment **M<sup>me</sup> Fatima** et **M<sup>elle</sup> Mebarqa**, pour leurs aides à réaliser ce travail*



## Liste d'Abréviations

<b><i>B. Cereus</i></b>	<i>Bacillus Cereus</i>
<b><i>BS</i></b>	<i>Bacillus subtilisé</i>
<b><i>ECT</i></b>	<i>Equivalente de catéchine</i>
<b><i>CPT<sub>s</sub></i></b>	<i>Teneur des polyphénols totaux</i>
<b><i>DMSO</i></b>	<i>Dimethylsulfoxyde</i>
<b><i>DPPH</i></b>	<i>2, 2-diphényle-1-picrylhydrazyl</i>
<b><i>EAG</i></b>	<i>Equivalente acide gallique</i>
<b><i>EAT</i></b>	<i>Equivalent acide tannique</i>
<b><i>EC</i></b>	<i>Extraction chloroforme</i>
<b><i>E. coli</i></b>	<i>Escherichia Coli</i>
<b><i>EEt</i></b>	<i>Extraction éthanol</i>
<b><i>EM</i></b>	<i>Extraction méthanol</i>
<b><i>ECT</i></b>	<i>Equivalente de catéchine</i>
<b><i>EQ</i></b>	<i>Equivalents de quercétine</i>
<b><i>FC</i></b>	<i>Film chloroforme</i>
<b><i>FE</i></b>	<i>Films éthanol</i>
<b><i>FM</i></b>	<i>Film méthanol</i>
<b><i>FP</i></b>	<i>Film propanol</i>
<b><i>GN</i></b>	<i>Gélose nutritive</i>
<b><i>IR</i></b>	<i>Infra rouge</i>
<b><i>MH</i></b>	<i>Mueller Hinton</i>
<b><i>S. aureus</i></b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b><i>UFC</i></b>	<i>Unité Faisant colonie</i>
<b><i>UV</i></b>	<i>Ultraviolet</i>

## Liste des figures

### Partie théorique

#### Chapitre I Généralité sur le polyphénol

<i>Figure I.1 : Les différentes classes des composés phénoliques</i> .....	3
<i>Figure I.2 : Structure de base des flavonoïdes</i> .....	4
<i>Figure I.3 : Structures des squelettes de base des flavonoïdes</i> .....	5
<i>Figure I.4 : Structure de base des coumarines</i> .....	6
<i>Figure I.5 : Structures de base des Tanins condensés</i> .....	7

#### Chapitre II Généralité sur le Pin d'Alep

<i>Figure II.1 : Description morphologique du pin d'Alep</i> .....	12
<i>Figure II.2 : Aire de répartition du Pinus halepensis dans le monde</i> .....	13
<i>Figure II.3 : Méthode de gemmage traditionnelle</i> .....	15
<i>Figure II.4 : Méthode de gemmage en vase clos</i> .....	15
<i>Figure II.5 : Libération progressive de biocide par l'emballage bioactif</i> .....	17

### Partie expérimentale

#### Chapitre I Matériels et Méthodes

<i>Figure I.1 : Préparation des échantillons de la gomme</i> .....	18
<i>Figure I.2: Protocole d'extraction de la gomme</i> .....	19
<i>Figure I.3 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH</i> .....	26
<i>Figure I.4: Repiquage des souches bactériennes</i> .....	29
<i>Figure I.5 : Préparation de l'inoculum</i> .....	29
<i>Figure I.6: Protocol de Synthèse des films actif</i> .....	34
<i>Figure I.7 : Protocole de l'activité antibactérienne des films</i> .....	36

#### Chapitre II Résultat et discussion

<i>Figure II.1: Rendements des extraits</i> .....	37
<i>Figure II.2 : Spectre IR de l'extrait éthanoïque</i> .....	38
<i>Figure II.3 : Spectre IR de l'extrait chloroforme</i> .....	38
<i>Figure II.4 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique</i> .....	41
<i>Figure II.5: Teneurs en polyphénols totaux des extraits</i> .....	41
<i>Figure II.6 : Courbe d'étalonnage de quercitrine</i> .....	42
<i>Figure II.7: Teneur en flavonoïdes des différents extraits</i> .....	42
<i>Figure II.8: Courbe d'étalonnage de catéchine</i> .....	43
<i>Figure II.9: Teneur en tanins condense des différents extraits</i> .....	44

<b>Figure II.10:</b> Activité de piégeage du radical libre DPPH des extraits .....	45
<b>Figure II.11 :</b> Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis <i>Bacillus Cereus</i> .....	46
<b>Figure II.12 :</b> Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis <i>B. Cereus</i> .....	47
<b>Figure II.13 :</b> Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis vis <i>Escherichia coli</i> .....	48
<b>Figure II.14 :</b> Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis vis <i>S. aureus</i> .....	48
<b>Figure II.15 :</b> Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis vis <i>Bacillus Cereus</i> .....	48
<b>Figure II.16:</b> Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des extraits .....	49
<b>Figure II.17 :</b> Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> ...	49
<b>Figure II.18 :</b> Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> .....	50
<b>Figure II.19 :</b> Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis <i>Bacillus Cereus</i> .....	50
<b>Figure II.20:</b> L'activité antibactérienne des extraits par méthodes des puits.....	51
<b>Figure II.21:</b> Spectre infrarouge de film FE .....	52
<b>Figure II.22:</b> Spectre infrarouge de film FC .....	53
<b>Figure II.23 :</b> Spectre infrarouge de film FM.....	53
<b>Figure II.24:</b> Spectre infrarouge de film FP .....	54
<b>Figure II.25:</b> Teneur en humidité des films.....	55
<b>Figure II.26:</b> Pourcentage de Solubilité des films.....	56
<b>Figure II.27:</b> Activité antioxydant des films.....	57
<b>Figure II.28:</b> Activité antibactérienne des films vis-à-vis <i>Bacillus subtilis</i> .....	57
<b>Figure II.29:</b> Histogramme de comparaison des zones d'inhibition des films.....	58
<b>Figure II.30:</b> Images des fruits d'abricot emballé dans des films prises sur 10 jours	59

## Liste des tableaux

### Partie théorique

#### Chapitre II Généralité sur le Pin d'Alep

<i>Tableau II.1: Position taxonomique de Pinus halepensis</i> .....	12
---	----

### Partie expérimentale

#### Chapitre I Matériels et Méthodes

<i>Tableau I.1 : Préparation des dilutions d'acide gallique</i> .....	22
<i>Tableau I.2: Préparation des dilutions de la quercitrine</i> .....	24
<i>Tableau I.3 : Préparation des dilutions de la catéchine</i> .....	24
<i>Tableau I.4: Préparation de la gamme des dilutions d'extraits</i> .....	27
<i>Tableau I.5 : Les souches bactériennes utilisées</i> .....	28
<i>Tableau I.6: Préparation des dilutions des extraits</i> .....	30
<i>Tableau I.7: Préparation de la gamme de dilution des extraits</i> .....	31
<i>Tableau I.8 : Composition des différents films préparés</i> .....	33

#### Chapitre II Résultat et discussion

<i>Tableau II.1: Les caractéristique des différents extraits de gomme pin d'Alep</i> .....	37
<i>Tableau II.2 : Principales bandes caractéristiques des extraits</i> .....	39
<i>Tableau II.3: Résultats du criblage phytochimique des extraits de la résine de pin d'Alep</i> .	40
<i>Tableau II.4 : Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tannins des différents extraits</i> .....	43
<i>Tableau II.5: Principales bandes d'absorption infrarouge des films</i> .....	54
<i>Tableau II.6: Diamètre de la zone d'inhibition des films</i> .....	58

# Sommaire

<i>Introduction générale</i> .....	1
<b>Partie théorique</b>	
<b>Chapitre I Généralités sur les polyphénols</b>	
<i>I. Généralités sur les polyphénols</i> .....	2
<i>I.2 Définition</i> .....	2
<i>I.3 Classification des polyphénols</i> .....	2
<i>I.3.1 Acides phénoliques</i> .....	3
<i>I.3.2 Les Flavonoïdes</i> .....	4
<i>I.3.3 Les coumarines</i> .....	6
<i>I.3.4 Les alcaloïdes</i> .....	6
<i>I.3.5 Tanins</i> .....	6
<i>I.4 Biosynthèse des composés phénoliques</i> .....	7
<i>I.4.1. La voie de l'acide shikimique</i> .....	8
<i>I.4.2 La voie d'acétate / malonate</i> .....	8
<i>I.4.5 . Activité biologique des polyphénols</i> .....	8
<i>I.5.1 Activité antioxydant</i> .....	8
<i>I.5.2 Activité antimicrobienne</i> .....	8
<i>I.5.3 Activité anti-inflammatoire</i> .....	9
<i>I.6 Méthodes d'extraction des polyphénols</i> .....	9
<i>I.6.1 Méthodes classiques d'extraction</i> .....	9
<i>I.6.2 Méthodes moderne d'extraction</i> .....	10
<i>I.6.2.1 Extraction par ultrasons (EAU)</i> .....	10
<i>I.6.2.2Extraction assistée par micro-ondes (EAM )</i> .....	10
<i>I.6.2.3 Extraction par fluides supercritiques (EFS)</i> .....	10
<b>Chapitre II Généralité sur le Pin d'Alep</b>	
<i>I.1 Généralité</i> .....	11
<i>I.2 Description botanique</i> .....	11
<i>I. 3 Classification</i> .....	12
<i>I.4 Répartition géographique de pin d'Alep</i> .....	13
<i>I.4.1 Dans le monde</i> .....	13
<i>I.4.2 En Algérie</i> .....	13



<i>I.5 Résine de Pinus halepensis</i> .....	14
<i>I.5.1 Définition</i> .....	14
<i>I.5.2 Composition chimique</i> .....	14
<i>I.5.3 Caractéristiques</i> .....	14
<i>I.5.4 Récolte de la résine</i> .....	14
<i>I.5.4.1 Méthode traditionnelle</i> .....	15
<i>I.5.4.2 Méthode moderne</i> .....	15
<i>I.5.5 Utilisation de la résine</i> .....	15
<i>I.6 Emballage bioactif</i> .....	16
<i>I.6.1 Agents bioactifs</i> .....	16
<i>I.6.2 Rôle d'emballage bioactif</i> .....	16
<i>I.6.3 Utilisation des films bioactifs dans l'industrie alimentaire</i> .....	17

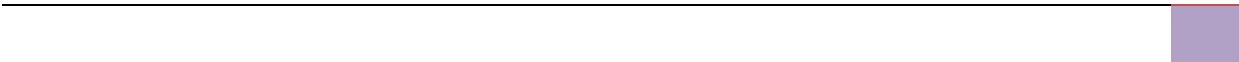
### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre I Matériels et méthodes**

<i>I.1 Introduction</i> .....	18
<i>I.2 Préparation de matériel végétal</i> .....	18
<i>I.2.1. Séchage de la résine</i> .....	18
<i>I.2.2. Broyage</i> .....	18
<i>I.2.3. Tamisage</i> .....	18
<i>I.3Extraction des polyphénols par reflux</i> .....	18
<i>I.3.1 Mode opératoire</i> .....	18
<i>I.3.2 Conservation de l'extrait</i> .....	20
<i>I.3.3 Rendements des extractions</i> .....	20
<i>I.4 Analyse qualitatif</i> .....	20
<i>I.4.1 Analyse des extraits par infrarouge IR</i> .....	20
<i>I.5 Analyse chimique</i> .....	20
<i>I.5.1 Criblage phytochimique</i> .....	20
<i>I.6 Analyses quantitatives des extraits</i> .....	22
<i>.6.1 Dosage des phénols totaux</i> .....	22
<i>I.6.2 Dosage des flavonoïdes totaux</i> .....	23
<i>I.6.3 Dosage de tanins condensés</i> .....	25
<i>I.7 Détermination de l'activité antioxydant</i> .....	26
<i>I.7.1 Principe</i> .....	26

<i>I.7.2 Préparation de la solution mère de DPPH</i> .....	27
<i>I.7.3 Préparation des dilutions d'extraits</i> .....	27
<i>I.7.4 Mode opératoire</i> .....	27
<i>I.8 Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits</i> .....	28
<i>I.8.1 Matériel Biologique</i> .....	28
<i>I.8.2 Repiquage des souches bactériennes</i> .....	28
<i>I.8.3 Préparation de suspension bactérienne</i> .....	38
<i>I.8.4 Ensemencement</i> .....	30
<i>I.8.5 Méthode de diffusion des puits</i> .....	30
<i>I.8.5.1 Premier protocole</i> .....	30
<i>I.8.5.1 Deuxième protocole</i> .....	31
<i>I.8.5.1 Troisième protocole</i> .....	31
<i>I.8.6 Méthode de diffusion sur disque</i> .....	32
<i>II.1 Préparation des films</i> .....	32
<i>II.2 Caractérisation des films</i> .....	34
<i>II.2.1 Humidité</i> .....	34
<i>II.2.2 La solubilité dans l'eau</i> .....	35
<i>II.2.2.1 Mode opératoire</i> .....	35
<i>II.3 Activité antioxydant d'un les films</i> .....	35
<i>II.4 Activité antibactérienne</i> .....	36
<i>II.5 Application des films actifs</i> .....	36
<i>II.5.1 Emballage des fruits</i> .....	36
<b>Chapitre II Résultats et discussion</b>	
<i>I.1 Rendement des extraits</i> .....	37
<i>I.2. Caractérisation des extraits par spectroscopie infrarouge</i> .....	38
<i>I.3 Résultats de criblage phytochimiques</i> .....	39
<i>I.4 Analyse quantitative</i> .....	40
<i>I.4.1 Dosage des polyphénols totaux</i> .....	40
<i>I.4.2 Dosage des flavonoïdes</i> .....	42
<i>I.4.3 Teneur en tannins condensés</i> .....	43
<i>I.5 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits</i> .....	44
<i>I.6 Pouvoir antibactérien des extraits</i> .....	46
<i>II.6.1 Test de diffusion sur disque</i> .....	46

<i>I.7 Méthode de diffusion des puits</i> .....	47
<i>I.7.1. Première protocole</i> .....	47
<i>I.7.2 Deuxième protocole</i> .....	47
<i>I.7.3 Troisième protocole</i> .....	49
<i>II.1 Caractérisation des films</i> .....	52
<i>II.1.1 Caractérisation par spectroscopie d'absorption infrarouge</i> .....	52
<i>II.1.2 Humidité</i> .....	55
<i>II.1.3 La solubilité</i> .....	55
<i>II.2 Activité antioxydant</i> .....	56
<i>II.3 Activité antibactérienne des films</i> .....	57
<i>II.4 Application des films actifs</i> .....	59
<i>Conclusion générale</i> .....	61
<i>BMC</i> .....	63



# **Introduction générale**

## Introduction générale

Actuellement, dans le domaine de l'emballage alimentaire, il existe un grand intérêt pour le développement de matériaux actifs biodégradables, qui contribuent à la fois à une réduction de l'utilisation de déchets plastiques synthétiques et à une durée de conservation plus longue des produits alimentaires grâce à l'incorporation de substances actives, telles que des antioxydants et des antimicrobiens. Parmi les polymères biodégradables, les polysaccharides comme l'amidon ou le chitosane ont une bonne capacité filmogène [1]. Les films d'amidon (S) sont peu coûteux, flexibles, transparents et hautement imperméables à l'oxygène, mais présentent un degré élevé de sensibilité à l'eau qui affecte négativement les propriétés barrières et mécaniques[2]. Les polysaccharides sont des matériaux biodégradables que l'on trouve en abondance dans la nature. Il existe différents types de polysaccharides provenant de différentes sources naturelles. Les polysaccharides typiques utilisés dans l'alimentation et d'autres industries comprennent la cellulose, l'amidon, le chitosane et la chitine, les gommes de caroube et de tara, le xanthane, l'agar, les pectines, les algines/alginate, les gellanes [3-5]. Ces polysaccharides ont été développés en films et revêtements pour l'emballage de différents produits alimentaires. Une stratégie consiste à ajouter des composés bioactifs tels que des polyphénols ou des extraits riches en polyphénols pour formuler des films et des revêtements multi-fonctionnels[6,7]. Récemment, les films comestibles fabriqués par les gommes naturelles pourraient être une alternative prometteuse, car elles sont biocompatibles, peu coûteuses, non toxiques et facilement disponibles [8,9]. Notre travail visant à développer un film actif à base des biopolymères (amidon/gomme de pin d'alpe) suivi d'une caractérisation.

Le présent manuscrit comprend deux parties :

- Partie bibliographique de ce mémoire est consacrée à une synthèse bibliographique sur les composés phénoliques, leur classification leur Biosynthèse, leur activité biologique, les Méthodes d'extraction des polyphénols, une généralité sur le Pin d'Alpe, la répartition géographique, la gomme et sa composition chimique
- La partie expérimentale dans laquelle nous abordons les méthodes utilisées pour l'extraction des composés phénoliques, les tests photochimiques et le dosage des polyphénols, suivie par la formulation des films actifs à base d'amidon/ polyphénols ensuite des essais de solubilité, humidité ont été réalisés. Cette partie a été complétée Par une évaluation, de l'activité antioxydante et activité antibactérienne des films élaborés vis-à-vis des souches sélectionnées, à la fin une conclusion générale.

# Partie théorique

# Chapitre I Généralité sur les polyphénols

### ***1.1 Généralités sur les polyphénols***

Les polyphénols sont des composés naturels que l'on trouve en grande partie dans les fruits, les légumes, les céréales et les boissons. Les fruits comme les raisins, les pommes, les poires, les cerises et les baies contiennent jusqu'à 200 à 300 mg de polyphénols pour 100 grammes de poids frais. Les produits fabriqués à partir de ces fruits contiennent également des polyphénols en quantités importantes. Les céréales, les légumineuses sèches et le chocolat contribuent également à l'apport polyphénolique[10,11]. Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes et sont généralement impliqués dans la défense contre les rayons ultraviolets ou contre l'agression d'agents pathogènes.<sup>3</sup> Dans les aliments, les polyphénols peuvent contribuer à l'amertume, à l'astringence, à la couleur, à la saveur, à l'odeur et à la stabilité oxydative. Vers la fin du 20<sup>ème</sup> siècle, des études épidémiologiques et des méta-analyses associées suggéraient fortement que la consommation à long terme d'alimentations riches en polyphénols végétaux offrait une certaine protection contre le développement de cancers, de maladies cardiovasculaires, de diabète, d'ostéoporose et de maladies neurodégénératives [12,13].

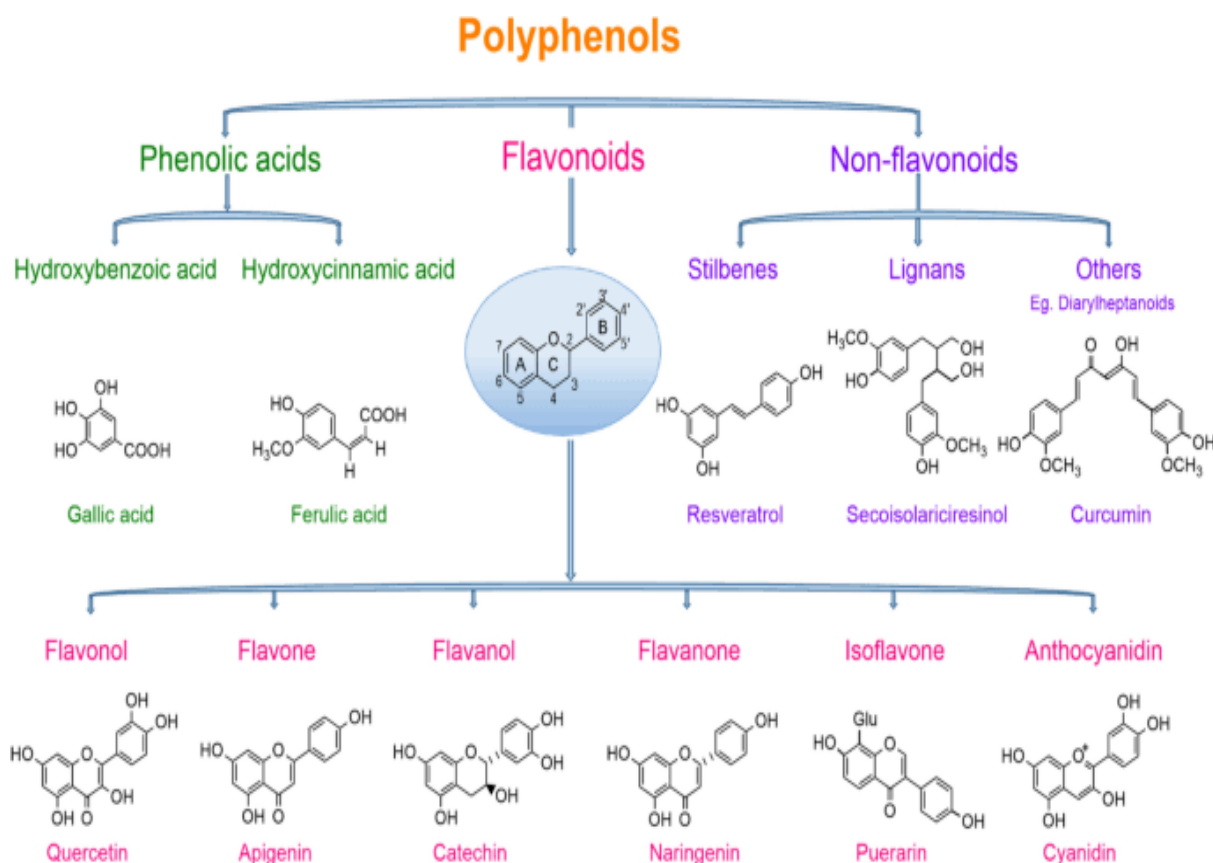
### ***1.2 Définition***

Les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par l'ensemble des végétaux. Ils sont présents dans les vacuoles des tissus, participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques ou abiotiques (pathogènes, rayonnements UV...) et contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume). Leur répartition tant qualitative que quantitative dans la plante varie selon les espèces, les organes, les tissus ou encore les différents stades de développement. Ils se caractérisent par la présence de groupements phénoliques (présence d'une ou plusieurs fonctions hydroxyles sur un cycle benzénique) dans leur structure [14].

### ***1.3 Classification des polyphénols***

Les composés phénoliques peuvent-être répartis selon, la complexité de leur squelette de base, le degré de modification de ce squelette et les liaisons possibles de ces composés avec d'autres molécules, en une dizaine de classes différentes [15,16]. Ils ont pour structure de base, plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Ils vont de la simple structure avec un anneau aromatique à des substances polymériques hautement complexes tels que les tanins et les lignines. Les phénols sont des constituants importants de certaines plantes médicinales et sont utilisés dans l'industrie alimentaire.





**Figure I.1 :** Les différentes classes des composés phénoliques.

### I.3.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature [17]. Ils se divisent en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxycinnamiques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxybenzoïques) [18].

#### a) Acides hydrox benzoïques

Les acides hydroxybenzoïques sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type  $C_6-C_1$ . Ils sont particulièrement représentés chez les Gymnospermes et les Angiospermes d'où ils sont souvent libérés après hydrolyse alcaline du matériel végétal. Les acides hydroxybenzoïques existent fréquemment sous formes d'esters ou de glycosides, [19]. Les principaux acides hydroxybenzoïques retrouvés dans les végétaux sont les acides hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, gallique et syringique [20].

#### b) Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base  $C_6-C_3$  dérive de celle de l'acide cinnamique). Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires sont un des

éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules. De plus, l'existence d'une double liaison dans la chaîne latérale conduit à deux séries isomères (*cis* ou *Z* et *trans* ou *E*) dont les propriétés biologiques peuvent être différentes [21].

### I.3.2 Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils interviennent aussi dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes [22]. Ils ont un squelette de base de quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration  $C_6-C_3-C_6$ , constitués de 2 cycles aromatiques A et B reliés par une chaîne en  $C_3$  qui forme un hétérocycle oxygéné C [23]. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils ont des rôles variés dans les plantes en tant que métabolites secondaires, étant impliqués dans les processus de défense contre les UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote et la résistance aux maladies [24]

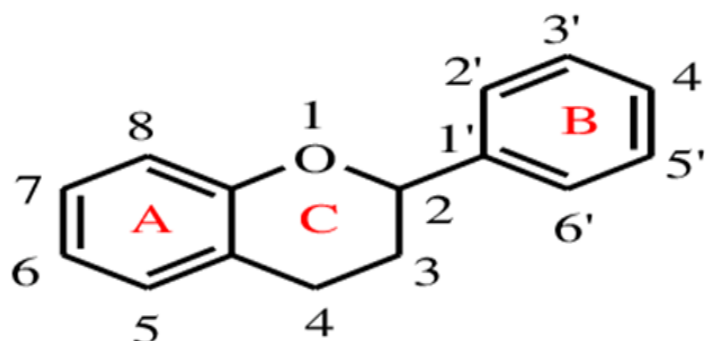


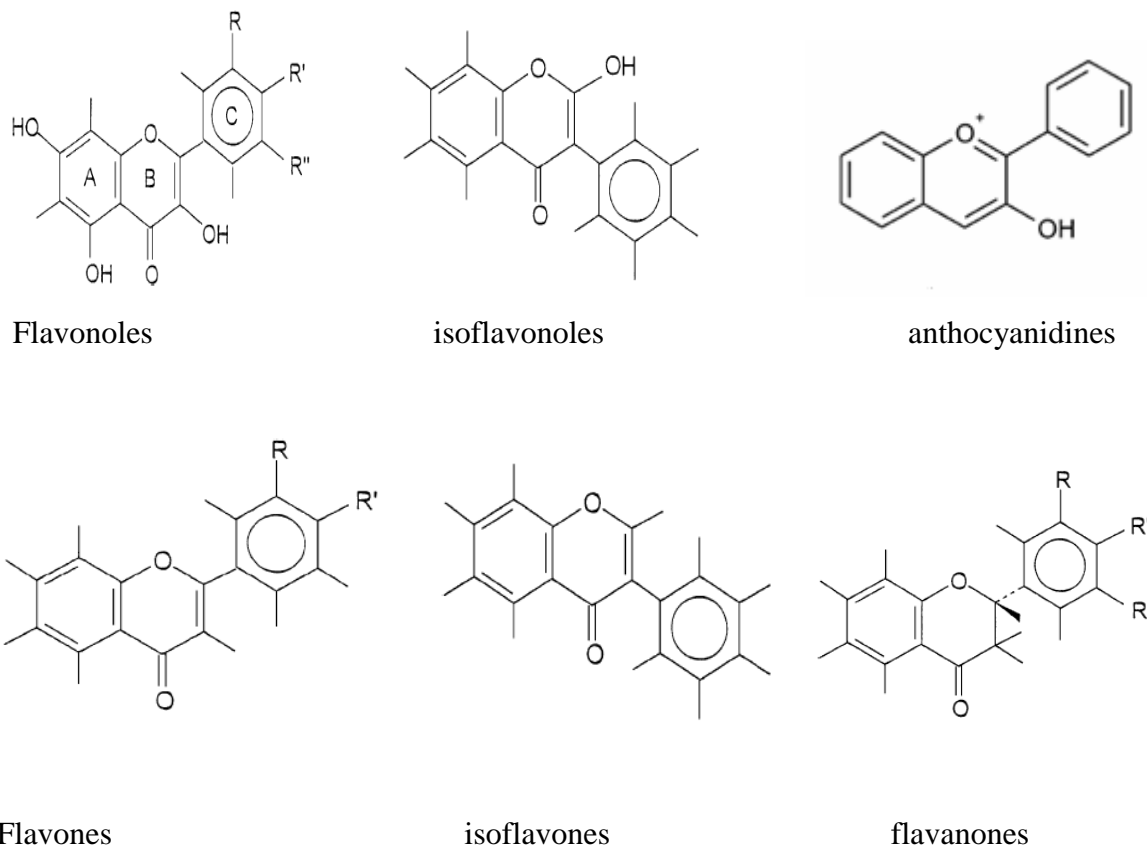
Figure I.2 : Structure de base des flavonoïdes

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones, les anthocyanidines, les chalcones et les aurones.

- **Les flavonols**

Les flavonols se caractérisent par un hétérocycle oxygéné relativement oxydé. Ils existent sous des formes glycosylées (glucose, xylose, arabinose, galactose, rhamnose) [25].

Ce sont des flavonoïdes les plus abondants dans l'alimentation. Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le Kaempférol et la quercétine [26].



**Figure I.3 :** Structures des squelettes de base des flavonoïdes

- **Les flavones**

De tous les flavonoïdes, cette sous-classe est la moins abondante dans les fruits et légumes. Ils sont essentiellement constitués de lutéoline et apigénine glycosylés. Les seules denrées comestibles connues à ce jour qui en possèdent sont le persil et le céleri[26].

- **Les flavanones**

Dans l'alimentation, les flavanones se retrouvent dans les tomates, certaines plantes comme la menthe, et sont présents des quantités importantes dans le citron. Les principaux aglycones sont la naringénine dans le pamplemousse, l'hespéridine dans l'orange et l'ériodictyol dans le citron. La position 7 est le siège de la glycosylation [26].

- **Les isoflavones**

Les produits dérivés du soja sont la principale source d'isoflavones dans l'alimentation, qui peuvent être glycosylés ou non. On les rencontre aussi dans les légumineuses[26].

- **Les flavanols**

Les flavanols existent sous forme de monomères, dont l'unité la plus simple est la catéchine, et sous forme polymérique appelés les proanthocyanidines. La catéchine est présente dans de

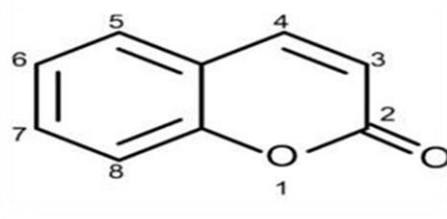
nombreux fruits comme la pomme, mais le chocolat et le thé sont les principales sources de ce composé [26].

- **Les anthocyanes**

Les anthocyanes sont des pigments naturels colorés que l'on retrouve dans les plantes vasculaires. Leur aptitude à se solubiliser facilement dans les milieux aqueux offre des possibilités très larges dans le domaine industriel. Ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge, violet et bleue) de certaines fleurs (tulipe, rose, orchidée) et fruits (pomme, baies, raisin). Une caractéristique importante de ces composés réside dans leur aptitude antioxydante, et de nombreuses études sur leurs activités biologiques peuvent en témoigner[26].

### ***1.3.3 Les coumarines***

La famille des coumarines est formée des composés phénoliques dérivés de la coumarine simple, la 2H-1-benzopyrane-2-one, molécule elle-même dénuée de groupe hydroxyle phénolique OH. Toutes les coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle phénolique [27] Elles se trouvent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau[28].



**Figure I.4 :** Structure de base des coumarines

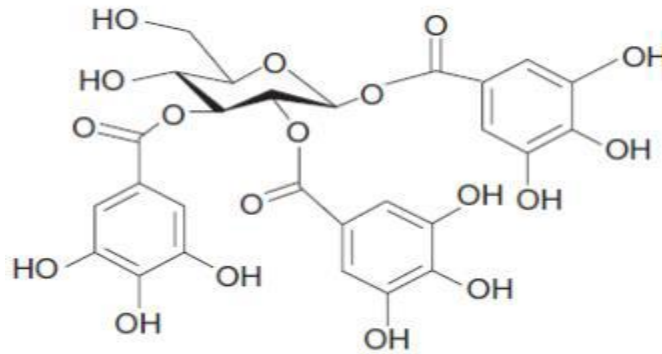
### ***1.3.4 Les alcaloïdes***

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées, le plus souvent, d'origine végétale, pour la plupart de série cyclique, basique, donnant des réactions de précipitation avec certains réactifs appelés "réactifs généraux des alcaloïdes" et données à faibles doses, des propriétés physiologiques et pharmacodynamiques marquées [29,30]

### ***1.3.5 Tanins***

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant.

Très répandu dans le règne végétal ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelques fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes. On distingue: les tanins hydrolysables et les tanins condensés [31].



**Figure I.5 :** Structures de base des Tanins condensés

#### **a) Tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables ou acides tanniques sont des polymères de l'acide gallique ou de son produit de condensation ; l'acide gallique. Ils ont un poids moléculaire plus faible et précipitent beaucoup moins les protéines que les tanins condensés. Ils peuvent diminuer la dégradation des parois dans le rumen et être hydrolysés dans l'intestin en libérant des produits toxiques pour le foie et le rein [32]. Ils sont divisés en ellagitannins et gallotannins, Les gallotannins libèrent par hydrolyse acide, hydrolyse basique, à l'eau chaude ou par action enzymatique de l'acide gallique [33].

#### **b) Tanins condensés**

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines. Les tanins condensés sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation auto-oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C<sub>2</sub> et C<sub>7</sub>, les proanthocyanidines sont dits de types A [34].

### **I.4 Biosynthèse des composés phénoliques**

Les deux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) sont à l'origine de la formation de la plupart des composés phénoliques chez les végétaux [35]. Ces composés sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate/malonate [36].

### ***1.4.1. La voie de l'acide shikimique***

La voie de shikimate fournit un itinéraire alternatif aux composés aromatiques, en particulier les acides aminés aromatiques qui sont : phénylalanine, tyrosine et tryptophane. Le phosphoénolpyruvate avec l'érythrose-4-phosphate, forment le shikimate [37]. Les phénylpropanes, sont des métabolites du shikimate susceptibles de se cycliser et d'aboutir à la formation des coumarines, de se dimériser comme dans le cas des lignanes, ou de se polymériser formant alors des lignines. Les flavonoïdes et les stilbènes résultent d'un allongement de la chaîne latérale [38].

### ***1.4.2 La voie d'acétate / malonate***

La glycolyse et la  $\beta$ -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl CoA [36].

## ***1.5 . Activité biologique des polyphénols***

Les polyphénols naturels ont montré de nombreuses activités biologiques et des bienfaits pour la santé pour la prévention et le traitement des maladies liées à l'âge, des cancers, des maladies cardiaques, etc. [39].

### ***1.5.1 Activité antioxydant***

Les flavonoïdes sont des composés avec une activité anti-oxydante prononcée [40], qui sont considérés comme des agents antioxydants très puissants en raison de leur structure, se rapportant en particulier à la position des groupements hydroxyles sur les noyaux aromatiques et la capacité des composés aromatiques à supporter une délocalisation électronique importante [41-43].

### ***1.5.2 Activité antimicrobienne***

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement du à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité [44]. L'activité antimicrobienne est donc anti-infectieuse des flavonoïdes a été démontrée par de nombreuse études, cette activité est due principalement à la capacité des ces

molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes [45].

### ***1.5.3 Activité anti-inflammatoire***

Les flavonoïdes possèdent entre autre une capacité anti-inflammatoire [46].ils sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes. La quercitrine a un effet anti-inflammatoire en inhibant quelques enzymes de synthèse tel que la cyclooxygénase [47]. A doses élevées, les flavonoïdes inhibent les fonctions lymphocytaires mais à concentrations plus faibles, ils pourraient agir comme immunostimulant chez les sujets immunodéprimés, et la capacité des flavonoïdes pour inhiber la formation des eicosanoides et de l'histamine et de leur pouvoir piègeur des radicaux libre d'autre part[48] .

## ***1.6 Méthodes d'extraction des polyphénols***

### ***1.6.1 Méthodes classiques d'extraction***

#### ***a)Macération***

La macération consiste à tremper une poudre grossière de matières naturelles dans un solvant approprié à température ambiante ou sous chauffage doux. Cela permet aux ingrédients actifs de se diffuser dans le solvant, atteignant ainsi l'objectif d'extraction. Cette méthode convient à l'extraction de produits naturels qui sont sujets aux dommages causés par la chaleur et contiennent de grandes quantités d'amidon, de mucilage, de gomme et de pectine [49-52].

#### ***b)Décoction***

La décoction consiste à chauffer et à faire bouillir la poudre brute de matières naturelles dans l'eau et à la conserver pendant une certaine durée, afin que les ingrédients naturels puissent être lessivés. L'eau doit être utilisée comme solvant lors de l'extraction de matières naturelles par la méthode de décoction. Bien que la méthode d'extraction par décoction soit assez efficace, elle n'est pas recommandée pour les matériaux riches en amidon, en composés mucilagineux, en composants volatils ou en produits chimiques qui se dégradent rapidement en présence de chaleur [53].

#### ***d) Extraction a reflux***

L'extraction par reflux est une méthode qui utilise des solvants organiques volatils, tels que l'éthanol, pour extraire les composants des matières premières. Le liquide extrait est chauffé et distillé, le solvant volatil se condensant et retournant au récipient d'extraction pour un trempage répété de la matière première. Ce cycle est répété jusqu'à l'extraction complète à

reflux des composants actifs. L'extraction par reflux améliore le taux d'extraction et réduit l'utilisation de solvants. Les principaux facteurs affectant la méthode d'extraction par reflux sont le rapport matériau/liquide, le temps d'extraction et la concentration des réactifs organiques [54,55].

## ***1.6.2 Méthodes moderne d'extraction***

### ***1.6.2.1 Extraction par ultrasons (EAU)***

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons est une technique simple, efficace et peu coûteuse [56] qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant. Elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie. En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps soumise à l'action des ultrasons. Elle a été reconnue pour son application potentielle dans l'extraction des huiles essentielles (carvone, gingerols, huile d'amande), des protéines (soja), des polyphénols, des anthocyanines, des saponines, des polysaccharides ainsi que dans la pasteurisation et la production de produits laitiers. [56]

### ***1.6.2.2 Extraction assistée par micro-ondes (EAM)***

L'utilisation du EAM dans l'extraction de produits naturels a commencé à la fin des années 1980 et, grâce aux développements technologiques, il est devenu l'une des méthodes d'extraction les plus populaires et les plus rentables disponibles. Cette méthode permet d'effectuer plusieurs extractions quantitatives d'échantillons en quelques minutes, avec une reproductibilité améliorée et une consommation de solvant réduite. Une température élevée et un contrôle de la température peuvent également être obtenus en utilisant ce processus. [57].

### ***1.6.2.3 Extraction par fluides supercritiques (EFS)***

L'extraction par fluide supercritique est une technique relativement récente qui présente divers avantages par rapport aux méthodes conventionnelles. Elle se fait à de basses températures favorables à l'extraction des composés thermosensibles. Elle permet aussi d'augmenter le rendement d'extraction de ces composés [58]. Le point critique d'une substance pure est le plus haut point de température et de pression auquel la substance est à l'état d'équilibre liquide-vapeur. Au-dessus de ce point, un fluide se forme et cet état est appelé état supercritique. Le fluide supercritique possède fois les caractéristiques du gaz et du liquide. Ce fluide de faible viscosité, de faible tension de surface et de fort coefficient de diffusion peut pénétrer les micropores des cellules végétales afin d'extraire au mieux les biomolécules [59]. Il peut ainsi permettre l'extraction d'une large variété de composés organiques.



# Chapitre II Généralité sur sur le Pin d'Alep

## ***1.1 Généralité***

Le genre *Pinus*, appartenant à la famille des Pinacées (Abiétacées), est divisé en trois sous-genres qui sont *Pinus*, *Ducampopinus* et *Cembrapinus*. Ces sous-genres sont divisés en sections. L'espèce *Pinus halepensis* Mill. fait partie de la section Halepensoïdes qui est divisée en trois groupes parmi lesquels le groupe halepensis qui se caractérise par des feuilles à deux aiguilles et à cônes caducs [60, 61]. Le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) appartient à un groupe de pins dans lequel plusieurs espèces ont été décrites, mais dont deux seulement sont actuellement considérées comme de véritables espèces par la majorité des systématiciens. Il s'agit de *Pinus halepensis* Mill. et de *Pinus brutia* Ten. [62].

## ***1.2 Description botanique***

Le Pin d'Alep est un arbre de taille moyenne de hauteur totale allant de 25 à 27 m. Sa longévité ne dépasse généralement pas 150 ans, il se rencontre dans les étages bioclimatiques méditerranéens ; arides supérieurs, semi-arides, sub-arides et humide. C'est une espèce héliophile et xérophile. Le Pin d'Alep a généralement un tronc tortueux, irrégulier et branchu [60].

- **L'écorce** : Riche en tannin, est d'abord lisse de couleur argentée, puis devient crevassée avec des écailles de couleur gris-brunâtre [63].
- **Les aiguilles** Sont fasciculées par 2 dans le brachyblaste (rarement 3 à 5), filiformes, molles, vert jaunâtre, de moins de 1 mm d'épaisseur, 6 à 10 cm de long [64].
- **Les bourgeons** Non résineux, sont cylindriques, allongés, à écailles brunes libres frangées de blanc [64].
- **Les fleurs** sont monoïques : les fleurs males, en chatons rosâtres, se localisent à la base des rameaux et les fleurs femelles se trouvent au sommet en petits cônes violacés [65].
- **Les Cônes** : sont gros d'une taille de 6 à 12 cm avec un pédoncule épais de 1 à 2 cm, ils sont souvent isolés et réfléchis. Ils sont pourpres puis brun lustré avec des écussons aplatis, persistant plusieurs années sur l'arbre [66].
- **La résine** : L'arbre de pin d'Alep peu produire également de la résine grâce à une opération appelée Gemmage. Cette opération consiste à « blesser » le tronc de l'arbre de pin d'Alep pour que ce dernier envoie de la résine afin de cicatriser cette blessure [66].



Figure II.1 : Description morphologique du pin d'Alep

### I. 3 Classification

Le genre *Pinus*, appartenant à la famille des Pinacées (Abiétacées), est divisé en trois sous-genres qui sont *Pinus*, *Ducampopinus* et *Cembrapinus*. L'espèce *Pinus halepensis* Mill. Fait partie de la section Halepensoïdes qui est divisée en trois groupes parmi lesquels le groupe *halepensis*.

La systématique du pin d'Alep établie par Farjon [67] se résume comme suit :

Tableau I.1 : Position taxonomique de *Pinus halepensis*

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous règne</b>	Tracheobionta
<b>Embranchement :</b>	Spermaphyte
<b>Sous embranchement</b>	Gymnosperme
<b>Classe</b>	Coniférophyte
<b>Ordre</b>	Coniférale, Pinoïdine, Pinale
<b>Famille</b>	Pinaceae (Abietaceae)
<b>Sous famille</b>	Pinoideae
<b>Genre</b>	<i>Pinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Pinus Halepensis</i>

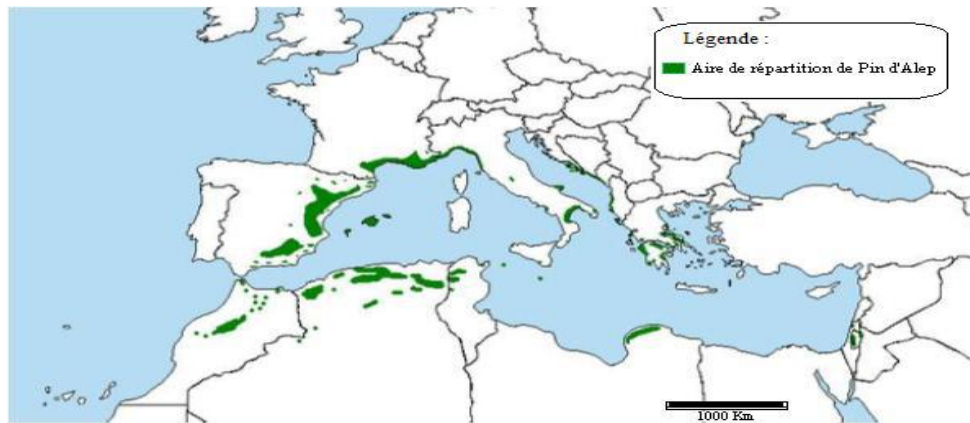
#### a) Noms vernaculaires

- **Français** : Pin d'Alep, Pin blanc, Pin de Jérusalem [60].
- **Arabe** : Sanawbar halabi
- **Berbère** : Azoumbei, tayada

## I.4 Répartition géographique de pin d'Alep

### I.4.1 Dans le monde

*Pinus halepensis* est disponible dans le bassin occidental de la Méditerranée à l'exception de l'Égypte, l'Europe, et l'Afrique du Nord. Cet arbre est abondant en Algérie, en Tunisie et au Maroc [68]. Il occupe une superficie estimée de 2.5 millions d'hectares dans la Région méditerranéenne [69]. En Tunisie par exemple, il couvre environ 370.000 ha de la surface arboricole, alors qu'au Maroc il occupe une superficie de 65.000 ha répartit dans le Rif, le moyen et le haut de l'Atlas [70]. En France, cet arbre couvre des surfaces qui dépassent 36.000 ha et qui peuvent atteindre jusqu'à 232.000 ha [71], alors qu'en Italie la surface totale qu'il occupe est estimée de 20.000 ha [72,73].



**Figure 1.2 :** Aire de répartition du *Pinus halepensis* dans le monde [74]

### I.4.2 En Algérie

En Algérie, la superficie du sol occupée par le pin d'Alep est estimée de 1 1585 333 ha, c'est à dire environ 35 % de la surface arboricole. Cet arbre est assez répandu en Est et en Ouest, tout en passant par le centre. Dans la région de l'Est, il s'est développé dans les forêts des monts de Tébéssa et des Aurès. Dans la région du centre, il se localise au niveau des forêts d'Ouarsenis. En Ouest, il est très bien représenté dans les zones suivantes : Mascara, Sidi Bel Abbes, les montagnes boisées de Saïda, et l'Atlas saharien, dans les forêts des monts Ouled Nail, près de Djelfa et Djebel Amour, près d'Aflou [75].

## ***1.5 Résine de Pinus halepensis***

### ***1.5.1 Définition***

La résine est le principal produit de cette espèce. Elle s'écoule d'abord fluide, puis se concrète en s'oxydant en masses solides cassantes jaunâtres et translucides insolubles dans l'eau mais solubles dans l'alcool, fusibles mais non volatiles [76].

### ***1.5.2 Composition chimique***

Elles correspondent à des mélanges liposolubles de composés terpénoïdes volatils et/ou non volatils et de composés phénoliques qui sont sécrétés dans les structures spécialisées localisées à l'intérieur ou à la surface des organes de la plante [77].

#### ***a) Résines terpéniques***

De la résine du *Pinus halepensis* on tire les monoterpènes, ainsi que la térébenthine qui se caractérise par un pourcentage élevé en  $\alpha$ -pinène. L'essence de térébenthine qui a pourvu de 89% de  $\alpha$ -pinène (figure 04), a montré une bonne activité antibactérienne et antifongique [78].

#### ***b) Résines phénoliques***

Les résines phénoliques constituent une source importante de biomasse pour des fuels et entrent souvent dans la composition de remèdes employés en médecine traditionnelle. Leurs constituants dérivent d'hydrates de carbone produits au cours de la photosynthèse et les diverses voies métaboliques[77].

### ***1.5.3 Caractéristiques***

La résine de pin d'Alep est une substance riche en cannabinoïdes et terpènes. Elle s'écoule d'abord fluide, puis se solidifie en contact avec l'air sous forme d'une masse solide, cassante, jaunâtre et translucide. Elle est insoluble dans l'éther de pétrole, mais soluble dans l'alcool [76].

### ***1.5.4 Récolte de la résine***

La récolte est principalement au printemps se fait manuellement à l'aide d'un coteau et ensuite mise dans des sachets en plastique ou bien dans des sachets en papier ou dans des boîtes à matière variable (métal, porcelaine, verre, plastique). La résine pure sans brin de bois du tronc ou des branches se conserve seule pour usage interne, tandis que la résine prélevée avec des morceaux de bois est destinée à l'usage externe. Elle se conserve facilement et pour de longue durée [78].

### ***1.5.4.1 Méthode traditionnelle***

Le gemmage est une technique d'extraction de la résine à partir des arbres de pin d'Alep âgés de 30 ans [79]. Selon le « Système de Hugos", breveté en 1844, le gemmage consiste à réaliser une blessure à l'aide d'un outil (hâpshot) au niveau de l'écorce de l'arbre. La gemme s'écoule vers un pot placé en bas de la care, et coincé par un clou et une lamelle en Zinc .A la fin de l'extraction, l'acide sulfurique est appliqué sur la surface de la blessure, ce qui empêche sa cicatrisation, et renforce sa biosynthèse [81,81].



**Figure II.3 :** Méthode de gemmage traditionnelle [82]

### ***1.5.4.2 Méthode moderne***

Il s'agit d'une récolte dans un récipient en plastique clos fixé à l'entaille afin d'éviter l'oxydation de la résine avec l'air [83]. Un pique sera réalisé à l'aide d'une perceuse équipée avec une scie à cloche. A la fin un acide organique naturel est appliqué au lieu de l'acide sulfurique, afin de protéger l'arbre [84].



**Figure II.4 :** Méthode de gemmage en vase clos [82].

### ***1.5.5 Utilisation de la résine***

- La poudre de la résine, est utilisée pour le traitement de maladies respiratoires comme l'asthme, la bronchite, et la toux [85].
- En médecine traditionnelle algérienne, la résine de pin d'Alep est considérée comme antiseptique puissant. Elle a des formes d'usages externes et internes.

- Pour les usages externes, elle est utilisée afin de prévenir et de traiter les maladies infectieuses respiratoires, pulmonaires, grippe, rhumatisme, maladies infectieuses fongiques, et la sinusite, en la mélangeant soit avec le miel ou l'huile d'olive, puis l'appliquer sur le dos, la poitrine ou sur les parties infectées.
- Pour les usages internes, elle est incorporée à l'état liquide dans l'huile d'olive, ou bien à l'état solide dans le miel. L'administration de ces mélanges se fait une fois par jour [86].

### ***1.6 Emballage bioactif***

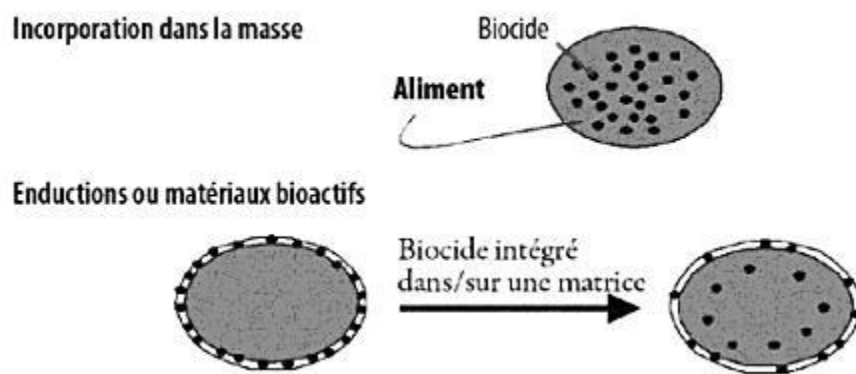
L'emballage bioactif peut être défini comme une stratégie d'emballage innovante [87], pour rôle unique d'améliorer l'impact des aliments sur la santé des consommateurs, la formation de ce système implique également l'ajout de composés bioactifs ou fonctionnels dans le matériau d'emballage qui peuvent ensuite interagir avec le produit alimentaire en le libérant de manière contrôlée ou en capturant les substances générées par les aliments ou présentes dans ces derniers [88]. Toutefois, un tel emballage doit être conçu en tenant compte de la stabilité des agents bioactifs pendant le traitement et le stockage des aliments emballés [89]. L'emballage actif est appelé emballage bioactif lorsque son rôle unique est d'améliorer l'impact des aliments sur la santé du consommateur [89].

#### ***1.6.1 Agents bioactifs***

Les substances bioactives qui conviennent à l'incorporation dans l'emballage comprennent les composés organo-sulfurés, les stérols végétaux, les mono-terpènes, les fibres alimentaires solubles, les extraits de plantes, les huiles essentielles, les prébiotiques et probiotiques, les vitamines encapsulées, les composés phénoliques et les huiles marines...etc. [90]. Les matériaux d'emballage bioactifs doivent conserver ces composés dans des conditions favorables jusqu'à ce qu'ils soient libérés de manières contrôlables dans le produit alimentaire [91].

#### ***1.6.2 Rôle d'emballage bioactif***

Les emballages bioactifs peuvent contribuer à contrôler l'oxydation des produits alimentaires et empêcher la formation de mauvais goûts et de textures indésirables [91]. Mis à part leur intérêt pour des raisons environnementales, les enrobages et films bioactifs peuvent également être utilisés en tant que support d'agents antimicrobiens [92] (Figure II.4).



**Figure II.4:** Libération progressive de biocide par l’emballage bioactif [92]

### *1.6.3 Utilisation des films bioactifs dans l’industrie alimentaire*

L’utilisation de films bioactifs (biodégradables) dans l’industrie alimentaire présente plusieurs avantages par exemple :

- ✓ les films bioactifs peuvent emballer de petites portions de produits dans des dosettes individuelles (café, thé, cacao, soupe déshydratée....etc.) ou même des additifs alimentaires ;
- ✓ Ils peuvent réduire les emballages secondaires multicouches complexes à une seule couche parfaitement recyclable ;
- ✓ Ils peuvent prolonger la durée de conservation des aliments en garantissant leur sécurité, qualité nutritionnelle et sensorielle [93].



# Partie expérimentale

# Chapitre I

## Matériels et méthodes

## ***1.1 Introduction***

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une ressource végétale de point de vue activités biologiques et composition chimique de leur principe actif. Dans ce contexte notre étude est basée sur l'extraction, l'identification et la quantification des composés phénoliques, suivi par l'évaluation des activités biologiques à savoir la capacité antioxydant et l'activité antibactérienne de ces extraits. Ce travail est enrichi par une application de ces composés bioactifs dans une formulation des films plastiques actifs.

## ***1.2 Préparation de matériel végétal***

La gomme du pin d'Alep a été achetée chez un herboriste au niveau de la ville de Tiaret. L'identification botanique de l'espèce a été réalisée au niveau du département de biologie végétale de la faculté sciences de la nature et vie université Tiaret.

### ***1.2.1. Séchage de la résine***

Une masse de La gomme (40g) est d'abord lavée avec l'eau distillée, puis séchée à 45°C dans l'étuve pendant 24h, pour assurer l'élimination complète d'eau dans l'échantillon.

### ***1.2.2. Broyage***

Les petites pierres de la gomme ont été broyées manuellement à l'aide d'un mortier pour obtenir une poudre fine.

### ***1.2.3. Tamisage***

Le broyat de la résine a été tamisé à travers un tamis de 0,230 mm de diamètre afin de récupérer une poudre très fine, puis conservée soigneusement dans des flacons fermés, à température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'au jour de leur utilisation.



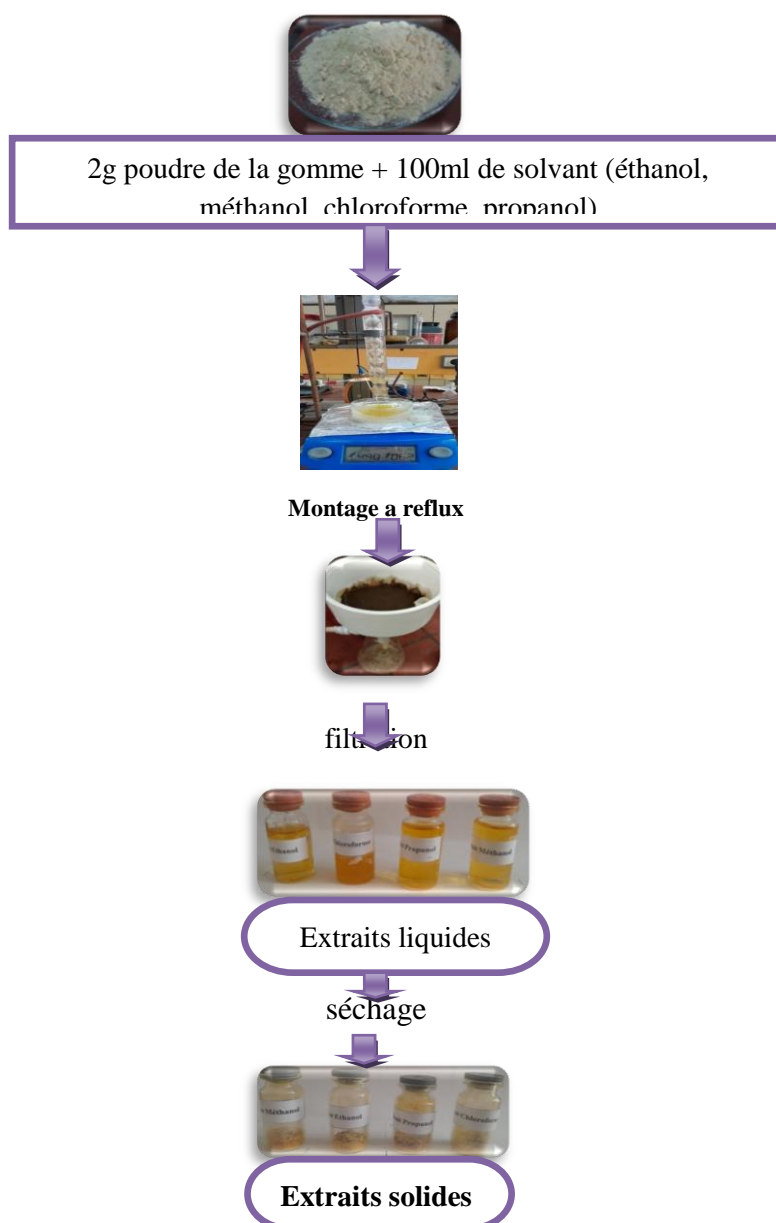
**Figure I.1:** Préparation des échantillons de la gomme

## ***1.3 Extraction des polyphénols par reflux***

### ***1.3.1 Mode opératoire***

L'extraction des composés bioactifs de la gomme *Pinus pinaster* a été effectuée selon la méthode Nancy et al [94] avec une légère modification. Une masse de 2g de poudre de la

gomme avec 100ml de solvant d'extraction approprié ont été ajoutés dans un ballon à fond rond, jusqu'à ce que les solvants (méthanol, éthanol, propanol, et chloroforme) ont atteint leur point d'ébullition le mélange est laisser chauffé sous reflux pendant 60 min. Ensuite, les solutions ont été filtrées sous vide à l'aide de papier filtre et concentré par une évaporation dans l'étuve. Ensuite, les extraits obtenus ont été pesés. Chaque expérience a été réalisée en triple. Cette extraction a permis d'obtenir quatre extraits bruts: extrait éthanol (EE), extrait méthanol (EM), extrait propanol (EP) et extrait chloroforme (EC).



**Figure I.2 :** Protocole d'extraction de la gomme

### ***I.3.2 Conservation de l'extrait***

Les extraits obtenus sont conservés dans des flacons à une température de 4°C et à l'abri de la lumière en utilisant un papier d'aluminium qui empêche le contact de l'extrait avec la lumière.

### ***I.3.3 Rendements des extractions***

Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir d'une matière végétale [95,96]. Il est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche (poudre végétale) et a été calculé selon la formule donnée par Falleh *et al*[97].

$$R \% = \left( \frac{M_{ext}}{M_{éch}} \right) \times 100$$

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

**M<sub>ext</sub>** : la masse de l'extrait après évaporation du solvant (g).

**M<sub>éch</sub>** : la masse sèche de l'échantillon végétal (g)

## ***I.4 Analyse qualitatif***

### ***I.4.1 Analyse des extraits par infrarouge IR***

L'infrarouge est une méthode très utilisée pour la caractérisation et l'identification des composés ou de leurs groupements fonctionnels (liaisons chimiques) dans un mélange d'extraits. L'identification des liaisons se fait à l'aide du nombre d'onde correspondant et la détermination de groupe caractéristique par un spectre d'un composé inconnu qui sera identifié par comparaison à la bibliothèque des composés connus [98]. La composition chimique des quatre extraits de la gomme ont été scannés dans la gamme entre 400 et 4000 cm<sup>-1</sup>, avec un spectromètre de type ALPHA-P BRUKER. Les analyses ont été réalisées dans le laboratoire de chimie des matériaux de l'Université d'Oran1.

## ***I.5 Analyse chimique***

### ***I.5.1 Criblage phytochimique***

Les extraits obtenus ont été évalués phytochimiquement pour déterminer la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de phénols, de saponines, de terpénoïdes, de stéroïdes, de tanins, selon les méthodes standards. Tout changement de couleurs ou la formation de précipité a été utilisée comme indicateur d'une réponse positive à ces tests.

#### ***a)Test Flavonoïdes***

**Test(a)**-À 1 ml d'extrait aqueux, 1 ml d'hydroxyde de sodium à 10% était ajouté. La présence de flavonoïdes est indiquée par la formation de couleur jaune à orange [99,100].

**Test (b)** -À 1 ml d'extrait alcoolique, 1 ml de concentré de l'acide sulfurique a été ajouté. La présence de flavonoïdes est confirmée par la formation de l'orange au rouge cramoisi [99].

#### ***b) Test Tannins***

Deux ml de chacun des extraits ont été dilués avec eau distillée dans des tubes à essai séparés et 2-3 gouttes de chlorure ferrique à 5% ( $\text{FeCl}_3$ ) a été ajouté. Un vert-noir ou une coloration bleue indiquerait la présence de tanin [101].

#### ***c) Test Phénols***

**Test du chlorure fer** : 1ml de chaque extrait liquide avec quelques gouttes d'une solution de Chlorure de fer  $\text{FeCl}_3$  à 10% sont rajoutées. La réaction donne une coloration bleu-noir en présence des phénols [102 ,103].

#### ***d) Test Quinones***

A 1 ml d'extrait alcoolique, 1 ml. De l'acide sulfurique concentré a été ajouté. La présence de quinones est indiquée par la formation de la couleur rouge [99].

#### ***e) Test Stéroïdes***

1 ml d'extrait, 2 ml d'extrait de chloroforme ,2 ml l'acide sulfurique concentré a été ajouté lentement sur la paroi du tube. La présence de stéroïdes est indiquée par la formation de deux couches, une couche rouge et une couche inférieure vert jaunâtre [104].

#### ***f) Test Alcaloïdes***

**Test de Mayer** : 1ml de chaque extrait liquide avec quelques gouttes d'un réactif de Mayer (1.35g Chlorure de mercure  $\text{HgCl}_2$  + 3.95g Iodure de Potassium KI dans 100ml) avec 2ml de Chlorure d'hydrogène HCl concentrée. L'apparition d'une précipitation blanche ou d'une coloration verte indique la présence des alcaloïdes [105]

#### ***g) Test Saponines***

A 1 ml d'extrait aqueux, 5 ml de l'eau a été ajoutée, le tube a été agité pendant 2 minutes. La présence des saponines sont indiquées par la formation de mousse [99,100].La formation de mousse stable après 15 min confirme le test

#### ***h) Test Terpénoïdes***

A 2 ml d'extrait, 1 ml d'acétique l'anhydride a été ajouté, suivi par l'addition lente de 1 ml d'acide sulfurique concentré. La présence de triterpénoïdes est indiquée par formation de couleur blanc rougeâtre [104].

*i) Test Coumarines*

A 1 ml d'extrait alcoolique, 1 ml de 10% de l'hydroxyde de sodium a été ajouté. La présence de coumarines est indiquée par la formation de couleur jaune dont la fluorescence sous ultraviolets léger [99,100].

*I.6 Analyses quantitatives des extraits**I.6.1 Dosage des phénols totaux**a) Principe de la méthode*

La réaction est basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdène-phosphotungstène du réactif de Folin Ciocalteu par les phénols donnant un complexe de couleur bleue dont la concentration peut être suivie par mesure de l'absorbance [106].

*b) Préparation de la gamme détalonnage*

La gamme étalon est obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. On prend 5mg de l'acide gallique et on le dissout dans 25 ml de Méthanol pour obtenir la solution mère  $S_m$  (200 $\mu$ g/ml). On prépare des dilutions dans des tubes à essai allant de 80 à 200 $\mu$ g/ml selon le tableau suivant :

**Tableau I.1:** Préparation des dilutions d'acide gallique

N° tube	1	2	3	4	5	6
C ( $\mu$ g/ml)	80	100	120	140	160	180
V d'acide gallique ( $\mu$ l)	400	500	600	700	800	900
V méthanol ( $\mu$ l)	600	500	400	300	200	100

On introduit dans des tubes à essai un volume de 50 $\mu$ l de dilutions d'acide gallique avec 250 $\mu$ l de réactif de Folin Ciocalteu et 3ml de l'eau distillée après 750  $\mu$ l de carbonate de sodium  $\text{NaCO}_3$  (7%) sont additionnés. Le mélange a été bien agité puis incubé pendant 8 min à température ambiante. Ensuite, une dose de 950  $\mu$ L d'eau distillée a été ajoutés. Le mélange a été laissé à reposer 2 h à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 765 nm contre de l'eau distillée comme blanc.

*c) Mode opératoire*

La teneur totale en polyphénols a été mesurée selon la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu telle que décrite par Dif et Aiyegoro [107,108]. Un volume de 50 $\mu$ l des extraits a été mélangé avec 250  $\mu$ l de réactif de Folin-Ciocalteu et 3ml de l'eau distillée. on suite on

ajoute 750 µl de carbonate de sodium à 7 %, Le mélange à été bien agité puis incubé pendant 8 min à température ambiante. Ensuite, une dose de 950 µL d'eau distillée à été ajoutés. Le mélange a été laissé laisser reposer 2h à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type Shimadzu UV-1650 à 765 nm . La quantification a été faite par rapport à la courbe standard de l'acide gallique. Toutes les manipulations sont réalisées en triple. Le blanc est aussi préparé dans les mêmes conditions en remplaçant la quantité de l'extrait par le l'eau distillé.

#### ***d) Expression des résultats***

Les concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (80-200µg/ml). La teneur en composés phénoliques est exprimée en milligramme (mg) d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg d'EAG/g d'extrait) .cette teneur en polyphénols totaux (CPT<sub>S</sub>) sont calculés selon la formule suivante[109]

Dont:  $T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$

T: Teneur en polyphénols totaux (mg GAE /g d'extrait);

C: Concentration des polyphénols en équivalent d'acide gallique déduite de la courbe;

D: Facteur de dilution;

P: Poids de l'échantillon (g);

V: volume de la solution analysée (ml).

### ***1.6.2 Dosage des flavonoïdes totaux***

#### **a)Principe de la méthode**

La quantification des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub> .Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre en position 5 susceptible de donner en présence de trichlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al<sup>+3</sup>. La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité du flavonoïde présent dans l'extrait [110,111].

#### ***b) Préparation de la gamme d'étalonnage***

La gamme étalon est obtenue en utilisant la quercétine comme standard de calibration. On prend 5 mg de la quercétine et on le dissout dans 25ml de méthanol pour obtenir la solution mère (S<sub>m</sub>) de concentration 200µg/ml, on prépare des dilutions dans des tubes à essai



allant de 80 à 200 $\mu\text{g/ml}$  selon le tableau suivant :

**Tableau I.2:** Préparation des dilutions de la quercétine

N° tube	1	2	3	4	5	6	8
C ( $\mu\text{g/ml}$ )	20	30	40	60	70	80	100
V <sub>quercetin</sub> ( $\mu\text{l}$ )	100	150	200	300	350	400	500
V <sub>méthanol</sub> ( $\mu\text{l}$ )	900	850	800	700	650	600	500

Dans des tubes à essai on met 250 $\mu\text{l}$  de chaque dilution de la Quercétine, avec 1 ml d'eau distillée et 75 $\mu\text{l}$  de solution de nitrite de sodium  $\text{NaNO}_2$  à 0.5% . Après 6 minutes, on ajoute 150 $\mu\text{l}$  d' $\text{AlCl}_3$  à 10% et laissés pendant 5 minutes. Ensuite 500 $\mu\text{l}$  de d'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  à 4% sont ajoutés avec 2.5 ml d'eau distillé. Le mélange est bien agiter jusqu'à l'apparition d'une couleur jaunâtre. L'absorbance est mesurée après 15 minutes 'incubation à 510 nm contre un blanc (eau distillé).

### c) Mode Opératoire

Le dosage des flavonoïdes a été effectué selon la méthode de Zhishen , Ardestani et Socha [112-114] .un volume de 250  $\mu\text{l}$  de chaque extrait (100 $\mu\text{g/ml}$ ) ; sont mélangés avec 1 ml d'eau distillée et 75 $\mu\text{l}$  de solution de nitrite de sodium à 0.5% dans des tubes à essai . Après 6 minutes, 150 $\mu\text{l}$  de chlorure d'aluminium ' $\text{AlCl}_3$  à 10% sont ajoutés et laissés pendant 5 minutes puis 0.5 ml de d'hydroxyde de sodium à 4% sont ajoutés avec 2.5 ml d'eau distillé. L'absorbance est mesurée après 15 minutes à 510 nm. L'eau distillée a été utilisée comme blanc pour l'expérience de contrôle. Les testes ont été réalisées en triple.

### d) Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été établie à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec la Quercétine. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents de Quercétine par gramme de l'extrait (mg EQ/g d'extrait). La teneur en flavonoïdes totaux (TFC) est calculée selon la formule suivante [115]:

$$TFC = \frac{(C \times V)}{m}$$

où ;

C : Concentration obtenue à partir de la courbe standard ( $\mu\text{g/ml}$ );

V : Volume de solution mère (ml);

m : Poids d'extrait sec (g).

### ***1.6.3 Dosage de tanins condensés***

#### **a) Principe**

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide. Le principe de ce dosage est basé sur la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des catéchine et la formation de complexes rouges, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge qui absorbe la lumière à 500 nm [116].

#### **b) Préparation de la gamme d'étalonnage**

La gamme étalon est obtenue en utilisant la catéchine comme standard de calibration. On prend 25mg de la catéchine et on le dissout dans 25ml de méthanol pour obtenir la solution mère ( $S_m$ ) de concentration 1000 $\mu$ g/ml, on prépare des dilutions dans des tubes à essai allant de 400 à 900 $\mu$ g/ml selon le tableau suivant :

**Tableau I.3:** Préparation des dilutions de la catéchine

N° tube	1	2	3	4	5	6	8
C ( $\mu$ g/ml)	400	500	600	700	750	800	900
V <sub>quercetin</sub> ( $\mu$ l)	400	500	600	700	750	800	900
V <sub>méthanol</sub> ( $\mu$ l)	600	500	600	700	750	800	900

Un volume de 50  $\mu$ l de chaque dilution de la catéchine a été mélangé avec 3 ml de solution de vanilline-méthanol à 4% et 1.5 ml d'acide chlorhydrique concentré, et le mélange a été laissé reposer pendant 15 minutes. L'absorbance a été lue à 510 nm contre le blanc (eau).

#### **c) Mode opératoire**

La teneur en Tanins condensés totaux a été déterminée par la procédure de Sun et al [117]. Cinquante microlitres de différents extraits méthanoïques ont été mélangés avec 3ml d'une solution de vanilline (méthanol) à 4% et 1,5ml d'acide chlorhydrique (1M). Le mélange a été laissé au repos pendant 15 minutes et l'absorbance a été mesurée à 500 nm. La quantité de tanins condensés totaux est exprimée en mg de catéchine par gramme de poids sec (mg ECT/g d'extrait). L'eau distillée a été utilisée comme blanc pour l'expérience de contrôle. Les testes ont été réalisées en triple.

**d) Expression des résultats**

Les concentrations des tannins condensés sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage de la catéchine. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents catéchine par milligramme d'extrait (mg ECT/g d'extrait). La teneur en tannins (TC) sont calculés selon la formule établie par Madhav, et al [118]:

$$Tc = \frac{C \times V}{m}$$

Avec

**Tc:** Teneur en tanins (mg ECT/g d'extrait sec de la plante) ;

**C :** Concentration en tannins en mg/ml déterminé à partir de la courbe d'étalonnage (µg/ml.

**V :** Volume de l'extrait (ml)

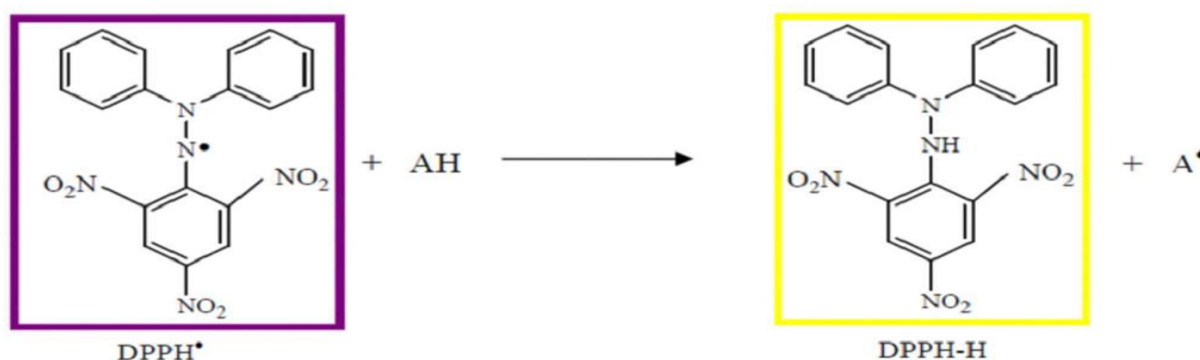
**m :** Poids de l'extrait sec (g) [118].

**I.7 Détermination de l'activité antioxydant**

L'évaluation de la capacité antioxydant a été réalisée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH.

**I.7.1 Principe**

Le test DPPH a été largement utilisé pour évaluer l'efficacité de piégeage des radicaux libres de diverses substances antioxydantes [119]. Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le radical libre 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl, soit par un mécanisme de libération d'un atome d'hydrogène du groupement hydroxyle, soit par libération d'un électron. Le radical a un maximum d'absorption mesurable par spectrophotométrie à 515 nm et sa neutralisation par un antioxydant peut-être facilement suivie par spectrophotométrie UV/vis[120].



**Figure I.3 :** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH [121].

### ***1.7.2 Préparation de la solution mère de DPPH***

Le DPPH est solubilisé dans Méthanol à raison de 2,598mg / 100ml, dans un bain d'ultrasons pendant une demi-heure et à l'abri de la lumière.

### ***1.7.3 Préparation des dilutions d'extraits***

On pèse 250 mg d'extraits et on le dissout dans 5ml de méthanol pour obtenir une solution mère de concentration 50mg/ml. Les dilutions sont préparées dans des tubes à essai comme suite.

**Tableau I.4:** Préparation de la gamme des dilutions d'extraits

N° tube	1	2	3	4	5	6	7
C (mg/ml)	15	20	25	30	35	40	45
V d'extrait (µl)	300	400	500	600	700	800	900
V méthanol (µl)	700	600	500	400	300	200	100

### ***1.7.4 Mode opératoire***

L'activité de piégeage des radicaux DPPH des extraits a été réalisée en utilisant la méthode décrite par Mansouri et al [122] avec une petite modification. Des solutions mères des extraits (50mg/ml) ont été diluées à des concentrations finales comprises entre (10-45mg/ml) dans le méthanol. Un volume de 1500 µl d'une solution de méthanol DPPH ( $6,59 \times 10^{-5}$  M) a été ajouté à 60µl de solution d'extrait de différentes concentrations, et laissé réagir à température ambiante à l'abri de la lumière. Après 30 minutes, la lecture des absorbance a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible à 515nm. Les tests ont été réalisés en triple. L'inhibition radicalaire DPPH I% a été calculée par la formule suivante :

$$I (\%) = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

**I %:** Taux du DPPH piégé ou taux d'inhibitions.

**A<sub>0</sub> :** Absorbance du contrôle (solution de DPPH –blanc) .

**A<sub>1</sub> :** Absorbance des extraits d'échantillon.

Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures.

## ***1.8 Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits***

### ***1.8.1 Matériel Biologique***

#### ***a) Origine et choix des souches bactériennes***

Un ensemble de souches bactériennes pathogènes de référence ATCC sont utilisées pour évaluer l'activité antibactériennes des extraits. Ces souches sont fournies par le laboratoire d'Hygiène et pathologie animale, université de Tiaret. Les microorganismes testés et leurs références sont rapportés dans le tableau suivant :

**Tableau I.5 :** Les souches bactériennes utilisées

<b>Nom de la souche</b>	<b>Gram</b>	<b>Famille</b>	<b>Référence</b>
<i>Escherchia Coli</i>	-	Enterobacteriaceae	ATCC 25922
<i>Bacillus Cereus</i>	+	Bacillaceae	ATCC 10876
<i>Bacillus Cereus</i>	+	Bacillaceae	ATCC 11778
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Micrococcaceae	ATCC25925
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Micrococcaceae	ATCC 25923
<i>Bacillus subtilis</i>	+	Bacillaceae	ATTC 6633

#### ***b) Milieux de cultures***

Les milieux d'identifications tels que les géloses nutritives, ont été utilisées pour confirmer la nature des souches bactériennes. La gélose Mueller Hinton (MH) et le bouillon Mueller Hinton préparés à partir de milieux déshydratés, ont été utilisées respectivement pour les tests de sensibilités et la vivification les souches

#### ***c) Stérilisation du matériel***

Les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes ont été stérilisés en premier à sec dans un four pasteur, les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) les flacons, les milieux de culture (GN, MH), l'eau distillé, l'eau physiologique, les embouts pour micro pipette, ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### ***1.8.2 Repiquage des souches bactériennes***

Dans des conditions stériles, Les souches bactériennes teste ont étéensemencées par la méthode des stries serrés sur des boites de pétri contenant le milieu gélose nutritive GN puis

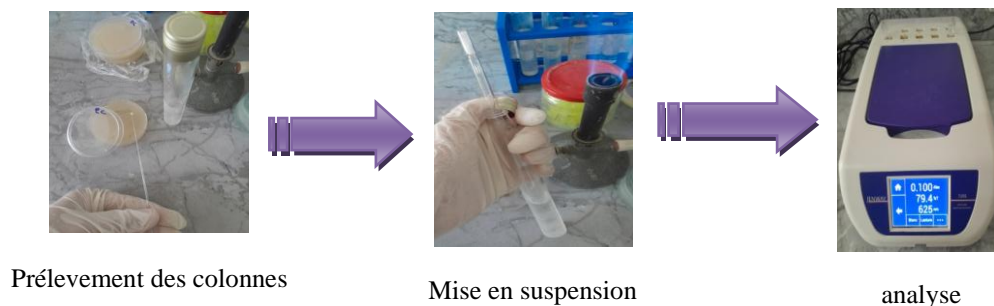
incubés à 37°C pendant 24 heures, afin d’obtenir des colonies jeunes. Ces derniers ont servi à préparer l’inoculum.



**Figure I.4 :** Repiquage des souches bactériennes

### ***1.8.3 Préparation de suspension bactérienne***

Les différentes bactéries ont été cultivées dans gélose nutritive pendant 18 à 24 h à 37 °C. Outre la culture fraîche, la suspension bactérienne a été préparée à l'aide d'une anse stérile en platine où une ou deux colonies ont été collectées et placées dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile (0,9 % NaCl) puis la suspension bactérienne a été homogénéisée à l'aide d'un vortex. La densité optique a été calibrée à 0,5 Mc Farland à 625 nm, correspondant à une densité optique OD, comprise entre 0,08 et 0,1. La densité spectroscopique de l'inoculum a été mise à jour à une concentration de  $10^7$  à  $10^8$  UFC/ml[123].



**Figure I.5 :** Préparation de l’inoculum

### ***1.8.4 Ensemencement***

Le milieu Mueller-Hinton en surfusion est coulé dans des boîtes de Pétri en raison de 15ml dans chaque boîte. Après solidification du milieu de culture, un écouvillon stérile imbibé par la suspension bactérienne est étalé sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas en stries serrées à trois reprises, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de pivoter l'écouvillon sur lui-même, et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

### ***1.8.5 Méthode de diffusion des puits***

L'activité antibactérienne des différents extraits étudiés a été réalisée suivant la méthode des puits sur gélose, cette technique permet de déterminer la sensibilité des germes vis-à-vis des extraits végétaux étudiés.

#### ***1.8.5.1 Premier protocole***

##### ***a) Préparation des dilutions :***

On prend 0,4mg des extraits et on le dissout dans 4ml de DMSO pour obtenir la solution mère  $S_m$  de concentration 1000 $\mu$ g/ml, puis on prépare des dilutions dans des flacons allant de 200 à 800mg/ml selon le tableau suivant :

**Tableau I.6 :** Préparation des dilutions des extraits

N° flacon	1	2	3
C ( $\mu$ g/ml)	200	600	800
V <sub>extrait</sub> ( $\mu$ l)	200	600	800
V <sub>DMSO</sub> ( $\mu$ l)	800	400	200

##### ***b) Mode opératoire***

L'activité antibactérienne des extraits a été évaluée par la méthode de diffusion des puits selon le protocole de Magaldi et Valgas [124,125]. 100 $\mu$ l d'inoculum bactérien ajusté à la norme 0,5McFarland a été inoculé dans des plaques de Mueller Hinton. Quatre puits (6 à 8 mm de diamètre) ont été réalisés dans chaque boîte avec des pipettes Pasteur stériles. un volume de 100  $\mu$ l de différentes concentrations d'extrait (200, 600, 800 et 1000 $\mu$ g/ml) est introduite dans chaque puits. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 h. Chaque teste a été répétée deux fois.

***I.8.5.1 Deuxième protocole***

**b) Mode opératoire :** L'activité antibactérienne des extraits a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur puits, selon le protocole standard de Wiegand et Moussa [126,127]. Un coton-tige stérile a été plongé dans la suspension bactérienne standardisée (0,5 McFarland ( $10^8$  ufc/ml) puis l'écouvillon a ensuite été étalé uniformément dans trois directions sur toute la surface des plaques Muller Hinton pour obtenir des inocula uniformes. Quatre puits (8 mm) ont été percés dans chaque boîte de pétries, après 100  $\mu$ l des extraits de concentration 100 mg/ml ont été distribués dans chaque puits. Les antibiotiques Tobramycine (TOB) et nitrofurantoïne (F 300) (5  $\mu$ g/disque) ont été utilisées comme contrôle positif. Les plaques de gélose Mueller-Hinton inoculées ont été conservées au réfrigérateur pendant 30 minutes pour permettre aux extraits de diffuser dans la gélose, puis ont été incubées à 37 ° C pendant 24 h. Les zones d'inhibition de souches bactériennes testées ont été enregistrées. Les boîtes pétries ont été laissées diffuser pendant 40 min à température 4°C, puis incubées à 37°C pendant 24 h. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et enregistrés.

***I.8.5.1 Troisième protocole***

**a) Préparation des dilutions :** Les extraits ont été dilués dans un volume de DMSO (diméthylsulfoxyde). On prend 0,3 g des extraits et on le dissout dans 3 ml de DMSO pour obtenir la solution mère  $S_m$  de concentration 100 mg/ml, puis on fait des dilutions dans des flacons allant de 20 à 80 mg/ml selon le tableau suivant :

**Tableau I.7 :** Préparation de la gamme de dilution des extraits

N° flacon	1	2	3
C (mg/ml)	20	50	80
$V_{\text{extrait}}(\mu\text{l})$	200	500	800
$V_{\text{DMSO}}(\mu\text{l})$	800	500	200

**b) Mode opératoire :** La méthode de diffusion dans les puits d'agar a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de diverses matières végétales [128]. 100  $\mu$ l de la culture bactérienne fraîche a été étalé avec un écouvillon stérile sur une plaque de milieu Mueller. Quatre puits de 8,0 mm de diamètre ont été réalisés à l'aide d'une pipette pasteur. Également 100  $\mu$ l des concentrations croissantes des extraits (20, 50 et 80 mg/ml) ont été placés dans chaque puits.



Les boîtes pétries ont été laissées diffuser pendant 40min à température 4°C, puis incubées à 37°C pendant 24 h. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et enregistrés.

### ***1.8.6 Méthode de diffusion sur disque***

Le test de l'activité antibactérienne des quatre extraits est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme), encore appelée méthode des disques. Son principe est inspiré de l'antibiogramme, il consiste à tester la sensibilité des souches bactériennes par diffusion de l'extrait sur le milieu solide et avec la création d'un gradient de concentrations entre le composé et le micro-organisme ciblé.

**a) Préparation des dilutions :** Les extraits ont été dilués dans le DMSO stérile. On prend 5mg des extraits et on le dissout dans 5ml de DMSO pour obtenir la solution mère  $S_m$  de concentration 1000 $\mu$ g/ml, puis on fait des dilutions dans des flacons allant de 200 à 800 $\mu$ g/ml

#### ***b) Mode opératoire***

Les tests de diffusion sur disque ont été effectués sur la base de la méthode décrite par Gupta et Biyiti [129,130], avec une petite modification. Un volume de 100  $\mu$ L, des inoculum de turbidité 0,5 Mc Farland, ont été étalées de manière uniforme sur la surface de gélose Mueller Hinton. Les disques de papier filtre (6 mm de diamètre) ont été chargés avec un volume de 5 $\mu$ l des concentrations croissantes (200, 600, 800 et 1000 $\mu$ g/ml) d'extrait et disposés à la surface du milieu solidifié. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 37°C pendant 24.

#### **➤ Lecture**

Les résultats obtenus ont été évalués selon le diamètre de la zone d'inhibition (dans laquelle la croissance bactérienne est inhibée) et selon ce diamètre on peut déterminer si une substance est inhibitrice ou pas selon les indications de Jules *et al*[131].

- Bactéries résistantes → Diamètre d'inhibition  $\leq$  8 mm,
- Bactéries sensibles → 9 mm < Diamètre > 14 mm,
- Bactéries très sensibles → 15 mm < Diamètre > 19 mm,
- Bactéries extrêmement sensibles → Diamètre  $\geq$  20 mm

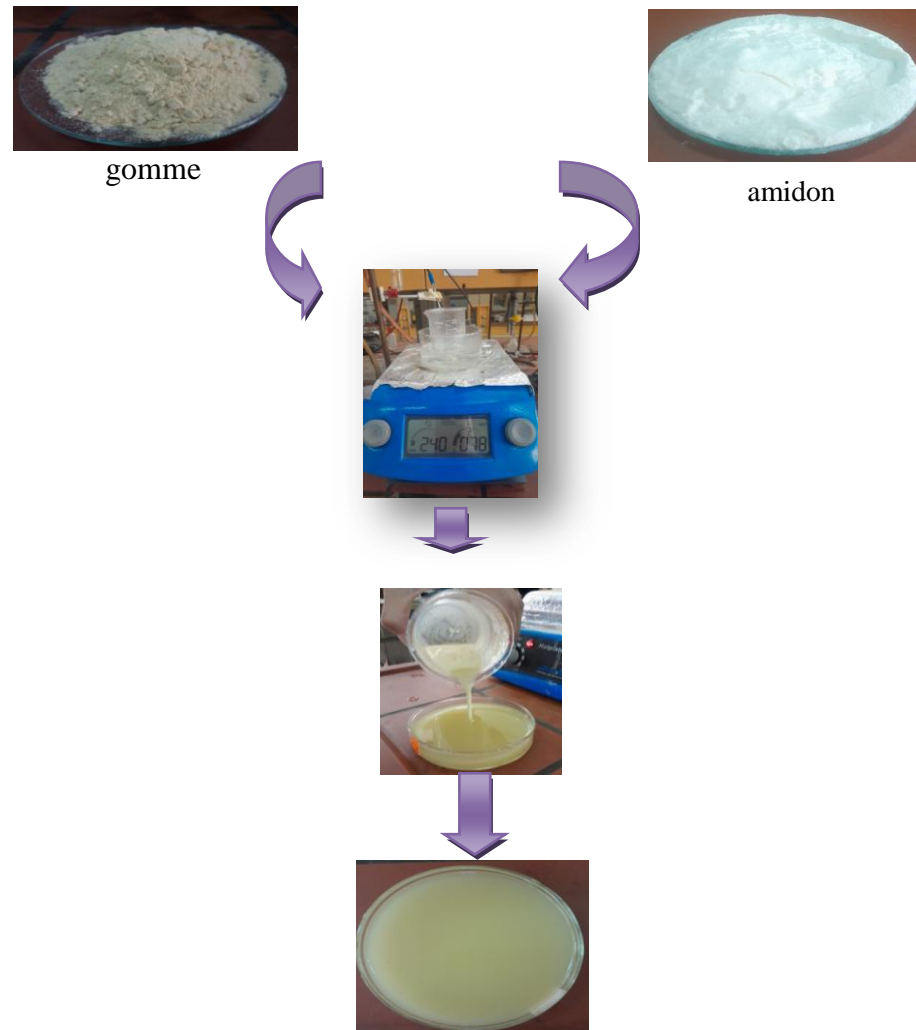
### ***II.1 Préparation des films***

Les films ont été réalisés par la méthode de coulée. Une masse d'amidon de 2.5g et 3ml de glycérol sont dispersés dans 95 ml de l'eau distillée, le mélange est mis sous agitation à température 90°C dans un bain marie, ensuite on ajoute 5ml des différents extraits (0, 4g/ml). Les solutions filmogènes sont laissées agitées pendant 30 à 25min jusqu'à ce que les

mélanges deviennent translucide. Vers la fin du chauffage, Ces mélange sont ensuite refroidit, coulé dans des boites pétrie puis sécher dans une étuve à 34°C pendant 24h. Les films ont été démoulés après leur refroidissement à température ambiante. La composition des différents films élaborés (FE,FM ,FC et FP) a été reportée sur le tableau I.8

**Tableau I.8:** Composition des différents films préparés

<b>Film</b>	<b>Amidon(g)</b>	<b>Glycerol (ml)</b>	<b>Extrat(g)</b>
FM	3	3	0,2
FE	3	3	0,2
FC	3	3	0,2
FP	3	3	0,2



**Figure I.6 :** Protocol de Synthèse des films actif

## *II.2 Caractérisation des films*

### *II.2.1 Humidité*

La teneur de l'humidité des différents films a été déterminé selon la méthode de Pirouzifard et al [132]. Des morceaux de 0,2g de chaque film ont d'abord été conditionnés dans un dessiccateur contenant du nitrate de magnésium (25°C) pendant 48h et ( $m_1$ ). Le film a ensuite été séché à 105°C dans une étuve pendant 6h et son poids a été à nouveau mesuré ( $m_2$ ). La teneur en humidité a été calculée comme suit.

$$MC = \left( \frac{m_1 - m_2}{m_1} \right) \times 100$$

**MC** : la teneur d'humidité(%)

**$m_1$**  : poids de l'échantillon avant séchage (g)

**$m_2$**  : poids de l'échantillon après séchage (g)

## II.2.2 La solubilité dans l'eau

La solubilité dans l'eau est une propriété importante des films à base l'amidon. Les applications potentielles peuvent nécessiter une insolubilité dans l'eau pour améliorer l'intégrité du produit et sa résistance à l'eau. La solubilité des films ( $W_s$ ) élaboré a été déterminée en utilisant la méthodologie décrit par Shojaee et al [133] avec une petite modification.

### II.2.2.1 Mode opératoire

En premier lieu les films ont été découpés en morceaux carrées (1 x 3cm), séchés pendant 24h à une température 90°C, puis pesé pour obtenir la matière sèche initiale ( $W_i$ ). Les films séchés ont été immergé dans 50 ml d'eau distillée, sous agitation constante pendant 6 h à 25°C, ensuite, Après cela, les films ont été filtrés et séchés à 90°C jusqu'à poids constant ( $W_f$ ).

La solubilité dans l'eau (%) du film a été calculée selon l'équation suivante :

$$W_s(\%) = \left( \frac{W_i - W_f}{W_i} \right) \times 100$$

$W_s$  (%) : Solubilité dans l'eau

$W_i$  : poids sec initial

$W_f$  : poids sec final.

## II.3 Acticité antioxydant d'un les films

La capacité antioxydant des films a été mesure par méthodes de piégeage des radicaux DPPH selon le protocole décrit par Brand et al [134] . Des échantillons de films (25mg) ont été solubilisés dans 3ml de méthanol, puis une aliquote de le film solubilisé (0,5ml) a été ajouté à 2,5ml de solution de radical DPPH ( $6 \cdot 10^{-5}$  mol /L) , le mélange a été maintenue dans l'obscurité jusqu'à ce que la l'absorbance de la solution s'est stabilisée (3h) ensuite , le l'absorbance a été mesurée à 517nm (spectrophotomètre UV-visible de type Shimadzu UV-1650). La capacité antioxydant était calculée à l'aide de l'équation suivant :

$$I\% = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

$I$  %: Taux du DPPH piégé ou taux d'inhibitions.

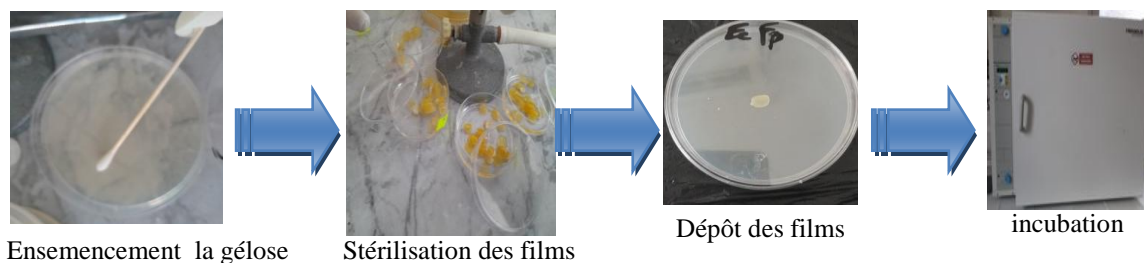
$A_0$  : Absorbance du contrôle (solution de DPPH –blanc).

$A_1$  : Absorbance des extraits d'échantillon.

Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois.

### ***II.4 Activité antibactérienne***

L'activité antibactérienne des films a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque. Selon le protocole décrit par Gopi et Derya [135,136]. Les cultures bactériennes ont été standardisées à 0,5 McFarland (soit environ  $10^8$  UFC/mL). Puis diluées au 1:1000 pour obtenir  $10^6$  UFC/ml. Les suspensions bactérienne ont été étalées de manière uniforme sur les surface de la plaque de gélose à l'aide d'un 'écouvillon stérile. Les films stérilisés ont été coupés en disques circulaires de 8 mm de diamètre et ont été placés au centre sur les plaques de gélose solide. Les boîtes de pétri ont été incubée à 37 ° C pendant 24 h à 48h avant l'examen des zones claires autour des films.



**Figure I.7** : Protocole de l'activité antibactérienne des films

### ***II.5 Application des films actifs***

#### ***II.5.1 Emballage des fruits***

Afin de tester l'efficacité des films sur le prolongement de la durée de conservation des fruits nous avons procédé à enveloppé des fruits d'abricot ramenées fraîchement du marché local. Les fruits frais d'abricot sans détérioration ou blessure, ont été emballé dans des films (FM, FE, FP) et le témoin est emballé dans un film alimentaire commerciale. Les fruits ont été par la suite conservés dans un réfrigérateur à  $4 \pm 1$  °C pendant 10 jours. Les propriétés physico-chimiques d'abricot telles que le poids des fruits, la couleur, ont été étudiées à  $(4 \pm 1)$  °C

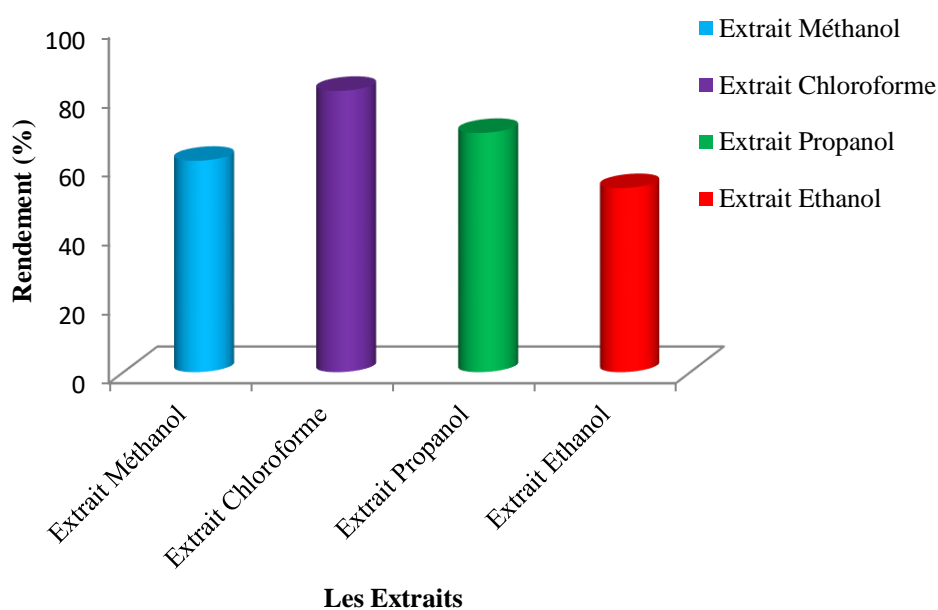
# Chapitre II Résultats et discussion

### I.1 Rendement des extraits

L'extraction des composés bioactifs de la gomme par la méthode à reflux permis d'obtenir des poudres, dont l'aspect physique, la couleur et le rendement de chacun des extraits sont déterminés et représentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau II.1** : Les caractéristiques des différents extraits de gomme pin d'Alep

Les extraits	Aspect	Couleur	masse (g)	Rendement(%)
Extrait Méthanol EM	poudre	Maron claire	1,2248	61,24
Extrait Chloroforme EC	poudre	Maron claire	1,6300	81,50
Extrait Propanol EP	poudre	Maron claire	1,3862	69,31
Extrait Ethanol EE	poudre	Maron claire	1,0668	53,34



**Figure II.1** : Rendement des extraits

D'après l'analyse de ce tableau, il ressort que l'extrait chloroforme présente le meilleur rendement d'extraction avec 81,5% suivi de l'extrait propanol, avec 69,3%. Tandis que le plus faible rendement est celui de l'extrait éthanol 53,3%. Ces résultats sont importants pour les analyses de dosage afin de quantifier les polyphénols totaux et d'évaluer les différentes analyses biologiques.

Beaucoup d'auteurs ont établi que le rendement d'extraction des composés phénoliques varie considérablement selon la polarité du solvant utilisé [137,138]. Ces variations peuvent

également être attribuées à la différence d'affinité des composés phénoliques vis-à-vis du solvant d'extraction, à leur degrés de polymérisation ou à leur engagement dans d'autres structures moléculaires formants ainsi des complexes insolubles [139].

### I.2. Caractérisation des extraits par spectroscopie infrarouge

Les spectres IR des extraits obtenus confirment la présence des bandes caractéristiques dont chacun correspond à un groupement fonctionnel donnée, les résultats sont rassembler dans les figures ci-dessous et dans l'annexe II.1.

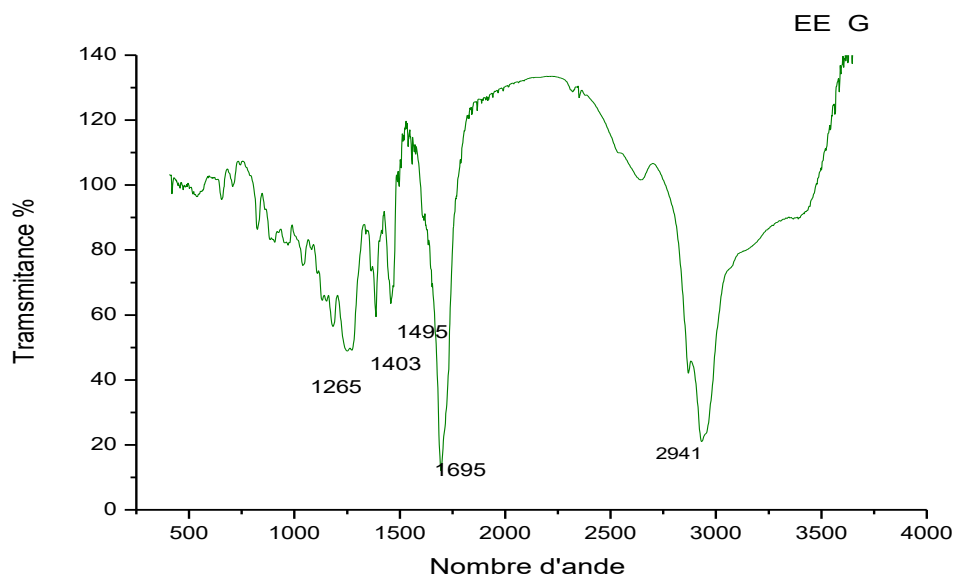


Figure II.2 : Spectre IR de l'extrait éthanoïque

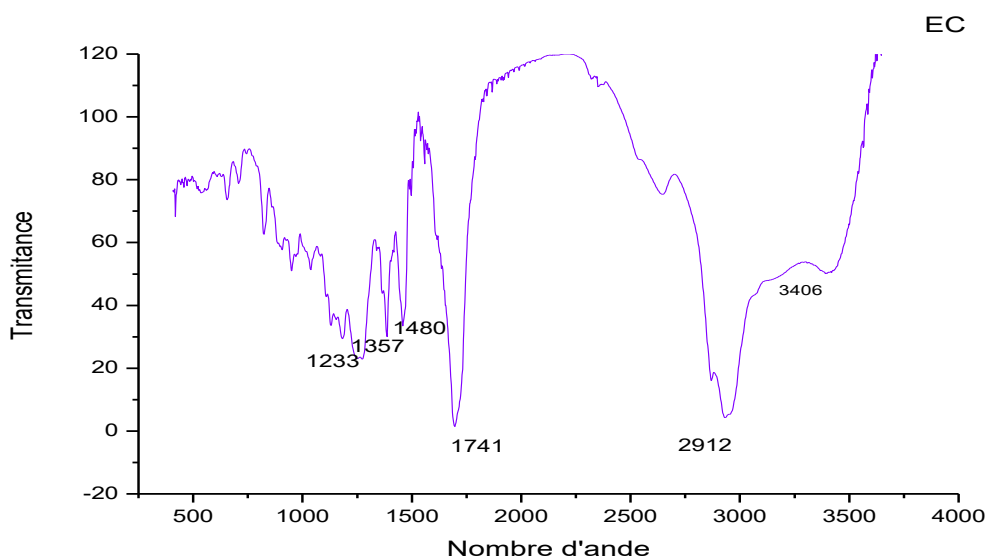


Figure II.3 : Spectre IR de l'extrait chloroforme



Les spectres présentent une large bande vers (3406–3433  $\text{cm}^{-1}$ ) est due aux vibrations d'élongation OH caractéristique des acides organiques, et une bande moyenne d'intensité 2941  $\text{cm}^{-1}$ , caractéristique de la vibration d'élongation symétriques C-H des groupes aliphatiques  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$ , on observe aussi une bande au voisinage de 1695 à 1710  $\text{cm}^{-1}$  de groupe carbonyle (C=O) caractéristiques d'acides phénoliques. La bande au voisinage 1495  $\text{cm}^{-1}$  est attribuée à la vibration de déformation CH. Les pics au voisinage 1265 à 1160  $\text{cm}^{-1}$ , sont attribués à l'étirement des liaisons éther C – O – C dans les cycles. Les pics vers 1018 à 1034  $\text{cm}^{-1}$  sont attribués au groupe C-OH des phénols.

**Tableau II.2 :** Principales bandes caractéristiques des extraits

Nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )	Vibration des groupes fonctionnels
3400	OH des acides organiques
2912- 2942	C-H des groupes aliphatiques
1695-1711	C=O d'acides phénoliques
1480-1495	vibration de déformation de groupe CH
1265 et 1160	Vibration de la liaison C – O – C du cycle
1034-1018	groupe –COH des phénols

### ***1.3 Résultats de criblage phytochimiques***

Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits de la gomme de pin d'Alpe ont permis de détecter les différentes classes de composés existant dans les quatre extraits) par des réactions de colorations ou de précipitations. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau II.3** : Résultats du criblage phytochimique des extraits de la résine de pin d'Alep

	<b>Extrait Méthanoïque</b>	<b>Extrait Ethanoïque</b>	<b>Extrait Propanoïque</b>	<b>Extrait Chloroforme</b>
<b>Tanins</b>	+++	+++	+++	+++
<b>Flavonoïdes</b>	+++	++	++	+++
<b>Saponines</b>	+++	+++	++	+++
<b>Alcaloïdes</b>	+++	+++	++	-
<b>Stéroïdes</b>	+++	+++	++	+++
<b>Terpénoïdes</b>	++	++	+++	++
<b>Phénols</b>	+++	+++	++	+++
<b>Quinones</b>	+++	++	++	++
<b>Coumarines</b>	+++	+++	+++	++

+++ : Réaction très positive.

++ : Réaction moyennement positive.

+ : Réaction faiblement positive.

- : Réaction négative.

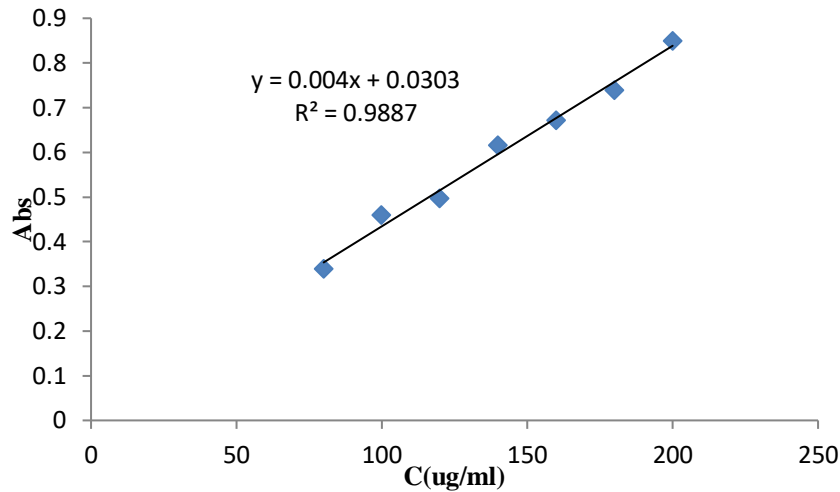
Cet analyse a permis de révéler la présence de composés de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les polyphénols les Tannins et les coumarines, dans les quatre extraits, ce qui indique la richesse de la gomme du *Pinus halpensis* en polyphénols. Ces composés phénoliques, semblent avoir des rôles importants dans les différentes activités biologiques.

#### ***1.4 Analyse quantitative***

L'étude quantitative des extraits phénoliques au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif de déterminer la teneur totale des polyphénols, des flavonoïdes et des tannins.

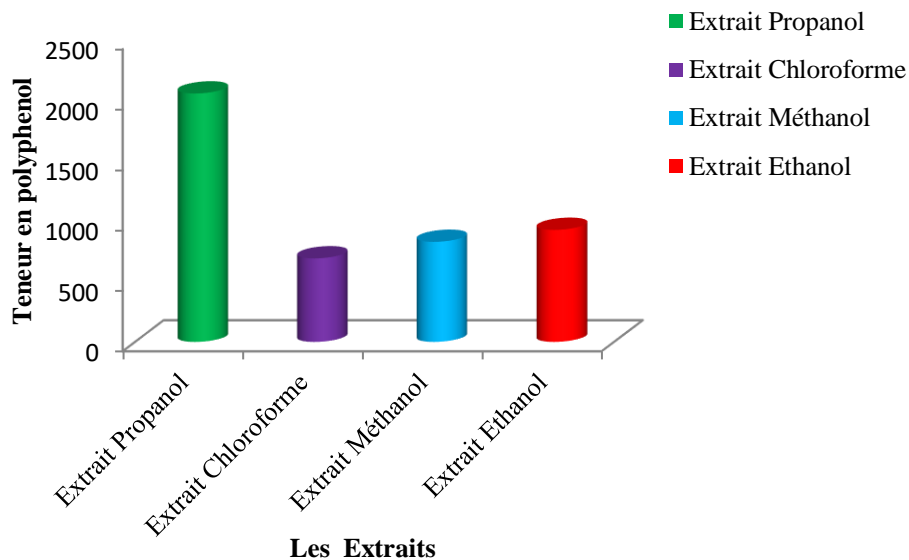
##### ***1.4.1 Dosage des polyphénols totaux***

L'analyse quantitative des phénols totaux est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage ( $y = 0,004x + 0,0302$ ) exprimé en mg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait.



**Figure II.4 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats du dosage des PPT obtenus sont illustrés dans la figure suivante et (annexes II.2)

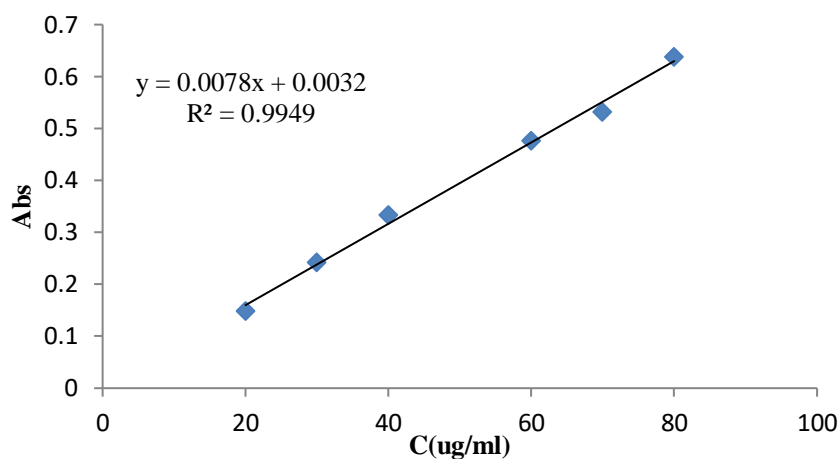


**Figure II.5 :** Teneurs en polyphénols totaux des extraits

- ✓ Les analyses quantitatives des extraits préparés confirment la richesse de notre gomme par les composés bioactifs (polyphénols)
- ✓ Les résultats en terme de teneurs en polyphénols totaux montrent que l'extrait propanol, était le plus riche en polyphénols avec des teneurs de 2055,9mg EAG /g, alors que l'extrait chloroforme ne contient que 690,17mg EAG /g).

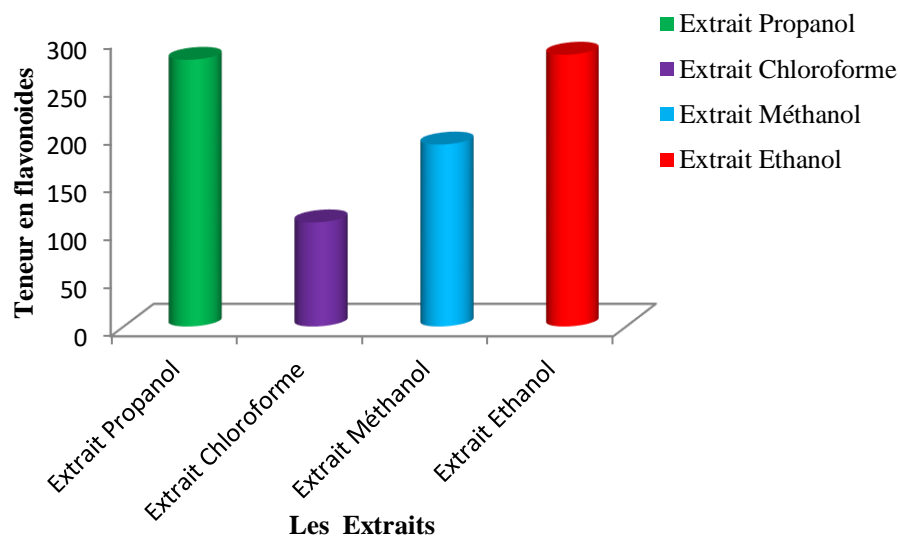
### I.4.2 Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des différents extraits a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercétine ( $y=0.0018x + 0.1347$ ) et exprimé en mg équivalent de Quercétine par gramme d'extrait sec. (mg EQ/g)



**Figure II.6:** Courbe d'étalonnage de quercétine

Les résultats du dosage des flavonoïdes sont représentés dans la figure suivante et (annexes II.2)

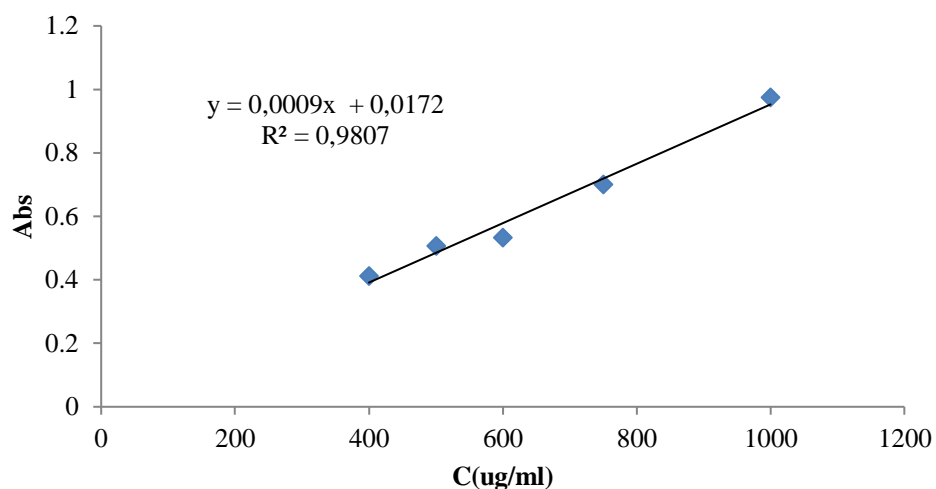


**Figure II.7 :** Teneur en flavonoïdes des différents extraits

- ✓ On constate que l'extrait éthanolique présente la plus grande teneur en flavonoïdes dont la valeur est égale à 283,6mgEQ/g. Alors que la plus faible teneur 108,6 mgEQ/g est trouvée dans l'extrait chloroforme, ce qui confirme que les extraits éthanoliques sont très riches en flavonoïdes.

### I.4.3 Teneur en tannins condensés

Les teneurs des tannins sont calculées à partir de la courbe d'étalonnage de catéchine ( $y=0.00076x-0.0076$ ) et exprimés en mg équivalent de Catéchine par gramme g d'extrait sec.



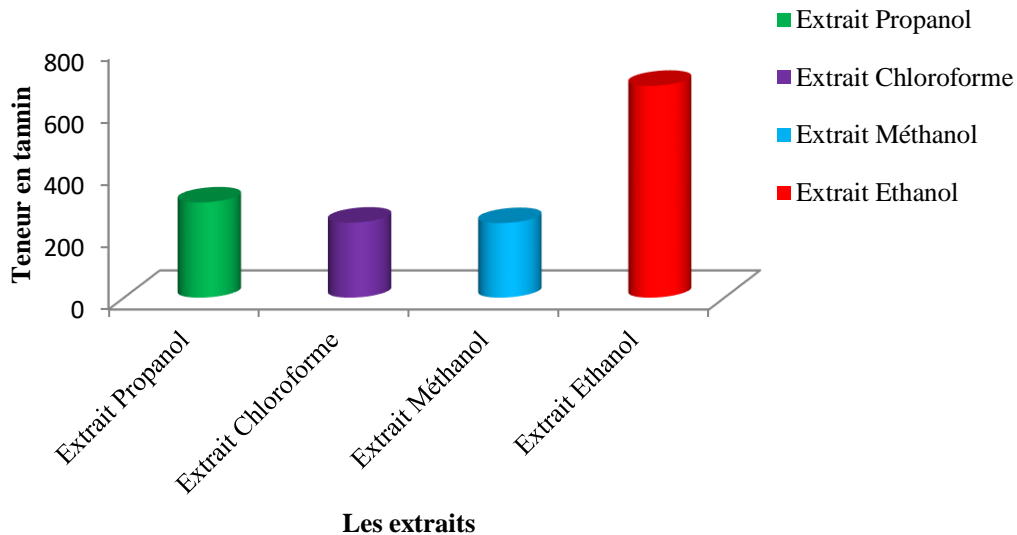
**Figure II.8:** Courbe d'étalonnage de catéchine

Les résultats des teneurs en tanins condensés sont répertoriés dans le tableau suivant et la figure ci-dessous (annexes II.2)

**Tableau II.4:** Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tannins des différents extraits

Extraits	Polyphénols (mg/g)	Flavonoïdes (mg/g)	Tanins (mg/g)
Propanoïque EP	2055,9	278,2	304,8
Chloroforme EC	690,2	108,6	240,1
Méthanoïque EM	826,7	189,8	238,7
Ethanoïque EE	925,7	283,6	679,4

- ✓ La figure ci-dessous regroupe les résultats de la composition en tanins condensés totaux des extraits.



**Figure II.9** : Teneur en tannins condensés des différents extraits

- ✓ A partir des histogrammes illustrés ci-dessus on observe que les teneurs en tannins varient considérablement entre les différents extraits.
- ✓ Ces dosages révèlent que l'extrait éthanoïque renferme le plus grand teneur en tannins condensés, avec une valeur de 679,4 mg EC/g, tandis que l'extrait méthanol renferme un teneur largement faible de 238,75 mg EC/g d'extrait sec.
- ✓ L'ensemble des résultats obtenus montrent la présence des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les quatre extraits avec une variabilité des teneurs constatées entre eux.

### ***1.5 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits***

La méthode de piégeage du radical libre (DPPH) a été retenue pour évaluer l'activité antioxydant de notre extrait, car elle est reconnue comme étant simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical [140]. Les résultats de pouvoir anti radicalaire des extraits phénoliques de la résine de *P.halepensis* exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont illustrés dans les figures ci-dessous et (annexes II.3)

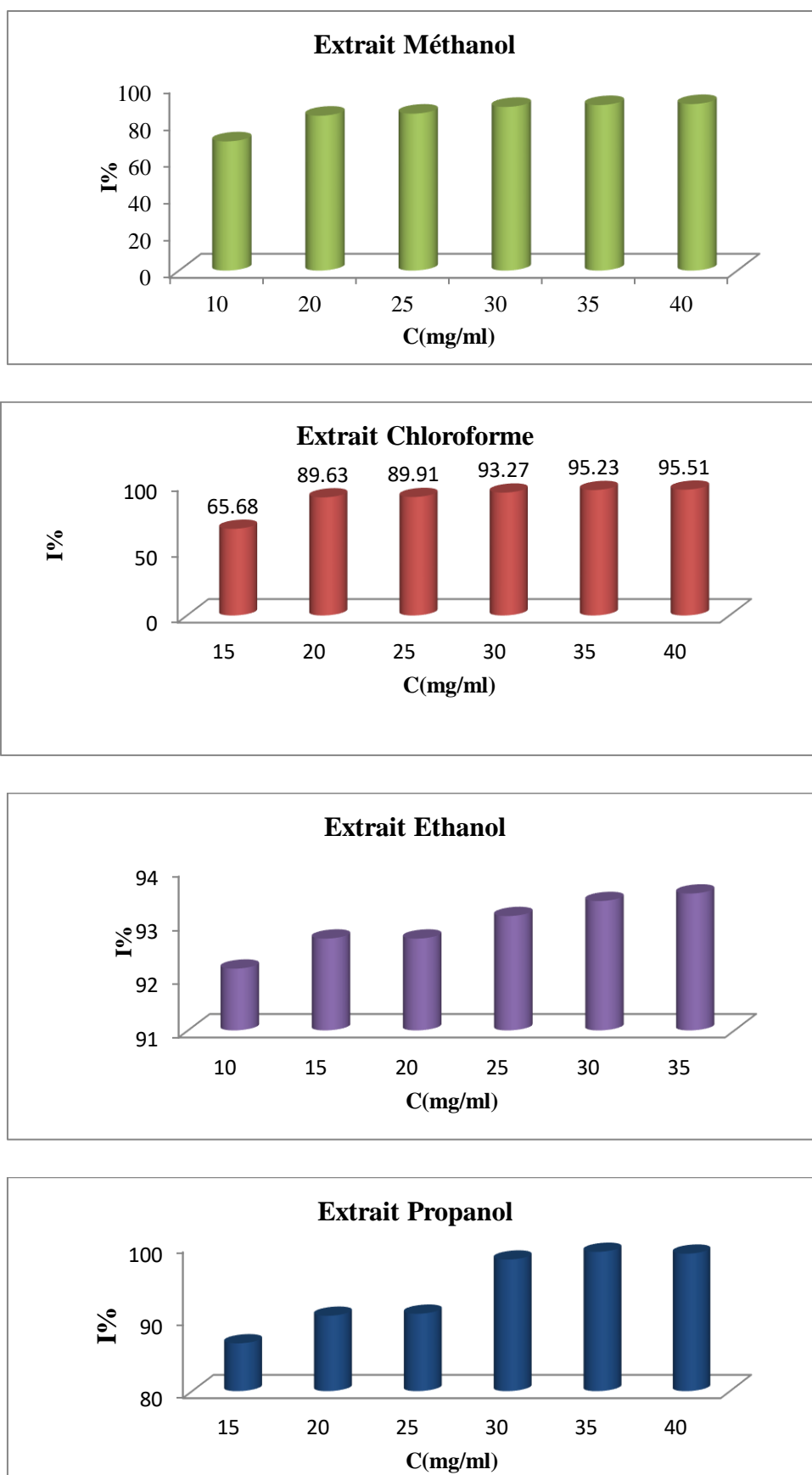


Figure II.10 : Activité de piégeage du radical libre DPPH des extraits

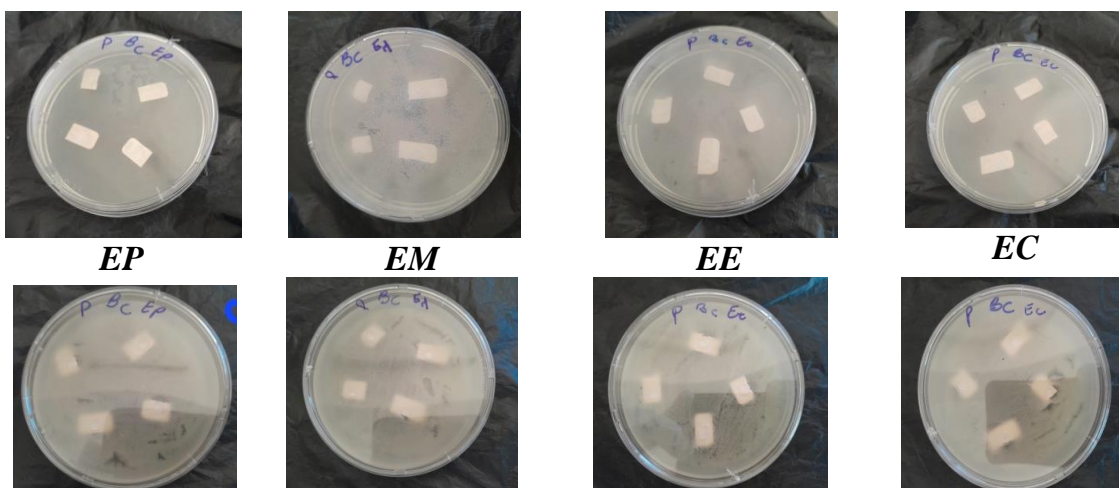
- ✓ D'après les données expérimentales on constate que l'activité antioxydant varie considérablement entre les différents extraits de la gomme.
- ✓ On remarque que l'augmentation de la concentration du extraits s'accompagne avec l'augmentation du pourcentage d'inhibition du radical libre.
- ✓ On note une activité antioxydant, puissante des quatre 'extraits de la gomme de pin d'Alpe.
- ✓ D'après ces résultats, on peut constater que l'activité anti-radicalaire de l'extrait de la résine pourrait être attribuée à leurs teneurs très fortes en composés Phénoliques. Aussi, il a été rapporté dans les études de Jayaprakasha et *al* que l'activité anti-radicalaire dépend de la structure chimique des composés phénoliques et de la disponibilité en groupements hydroxyles (OH) qui leur attribue la capacité de transférer des électrons ou de donner des hydrogènes [141]

## ***1.6 Pouvoir antibactérien des extraits***

### ***1.6.1 Test de diffusion sur disque***

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antibactérien des extraits de la gomme par la méthode de diffusion des disques. Les résultats des différentes concentrations appliqués contre les souches pathogènes sélectionnées sont présentés sur la figure suivante et dans l'annexes II.4

- On note que les souches testées révèlent une résistance pour les différentes concentrations appliquée après 24h d'incubations.



**Figure II.11 :** Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis *Bacillus Cereus*

Ce phénomène peut s'expliquer par l'influence de nombreux facteurs tel que :

- ✓ La faible teneur en substance actif dans cet intervalle de concentration.
- ✓ La charge supplémentaire des bactéries dans l'inoculum appliqué.



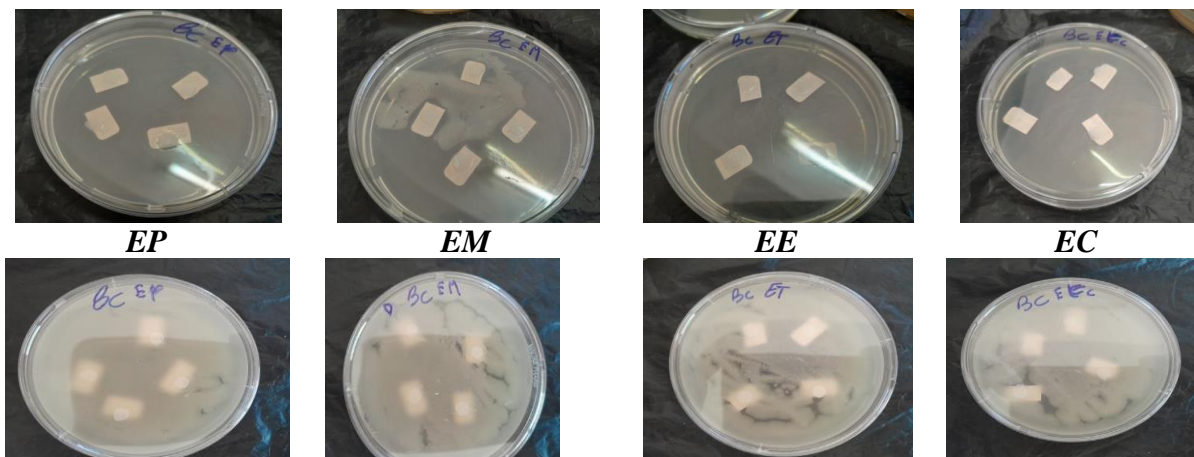
L'activité antimicrobienne ne dépend pas seulement de la présence des composés phénoliques, mais également de la présence de divers métabolites secondaires [142].

### ***1.6.2 Méthode de diffusion des puits***

#### ***1.6.2.1 Première protocole***

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits sont représentés dans les figures ci-dessous et dans l'annexes II.4:

- On remarque une absence totale de l'effet inhibitrice des extraits sur la croissance des souches sélectionné dans cette gamme de concentration.
- Absence totale des zones d'inhibition chez les trois souches, donc, elles se révèle la plus résistante pour tous les extraits.



**Figure II.12 :** Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis *Bacillus Cereus*

L'absence des zones d'inhibition des souches testées peut être expliquée par la variation de la composition chimique de chaque extrait ainsi que la nature des bactéries et leur sensibilité vis-à-vis des extraits.

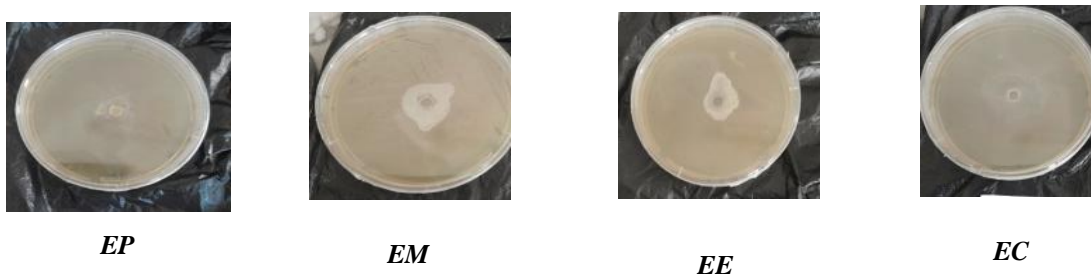
#### ***1.6.2.2 Deuxième protocole***

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour des puits ont été mesurées. Les résultats du test de sensibilité microbienne sont présentés sur les figures suivantes et dans les tableaux (annexes II.4) :

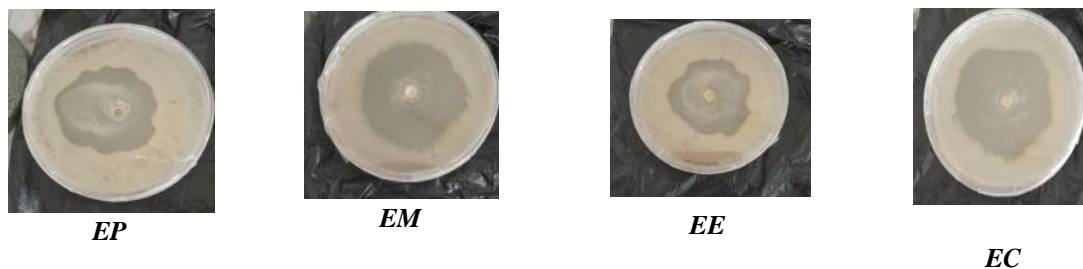
- ✓ On remarque que les souches *S. aureus* et *Bacillus Cereus* ont présenté une sensibilité remarquable vis-à-vis des antibiotiques testés,



**Figure II.13 :** Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis vis *Escherichia coli*



**Figure II.14 :** Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis vis *Staphylococcus aureus*



**Figure II.15 :** Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis vis *Bacillus . Cereus*

- ✓ L'observation des ces figure confirme le pouvoir antibactérien des extraits traduite par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du puits.
- ✓ On note une action bacteriostatique, des extraits vis-à-vis des souches sélectionnées
- ✓ aussi selon les recherches de Marjorie il rapporte que l'activité inhibitrice des extraits est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, une perte de ces agents influe sur l'activité qui peut être due aux conditions de séchage ou d'extraction [143]
- ✓ . Les résultats obtenus montrent que l'extrait chloroforme présente une bonne activité contre *Bacillus Cereus*.

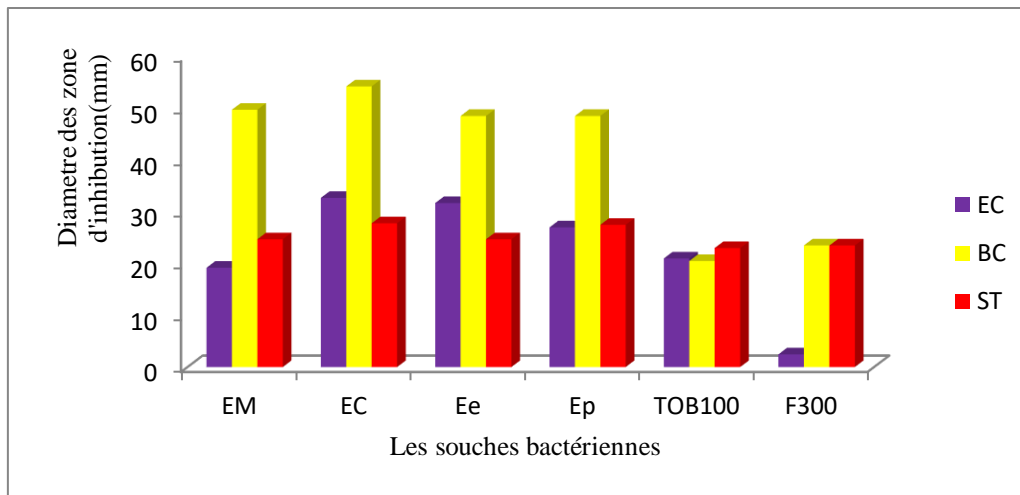


Figure II.16 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des extraits

- ✓ On note que les extraits ont présenté une forte zone d'inhibition vis-à-vis *Bacillus Cereus* avec un diamètre varie entre 48 à 54mm.
- ✓ Les résultats mentionnés montrent un effet antibactérien important pour les quatre extraits sur les deux souches avec des zones d'inhibition allant de 19 mm à 32 mm pour *E. coli* et 24,7 mm à 27,5 mm pour *S. aureus*,
- ✓ On note une zones d'inhibition très forte pour les extraits tandis que des zone plus faible pour antibiotiques Tobramycine (TOB) et nitrofurantoine (F 300)

### I.6.2.3 Troisième protocole

Les observations des effets des différentes concentrations des extraits sur la croissance des souches microbiennes sélectionnées sont représentées dans les figures ci-dessous et dans l'annexes II.4:

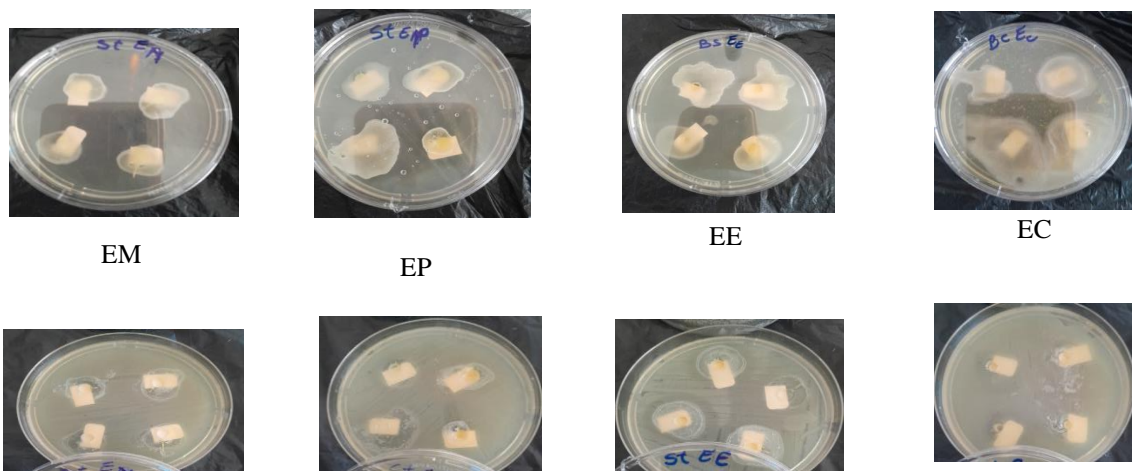
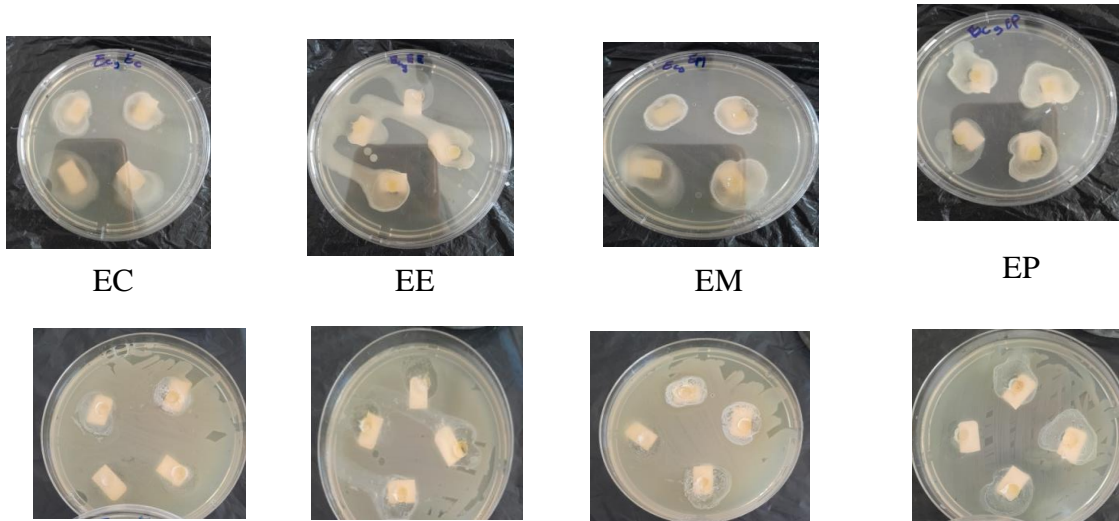
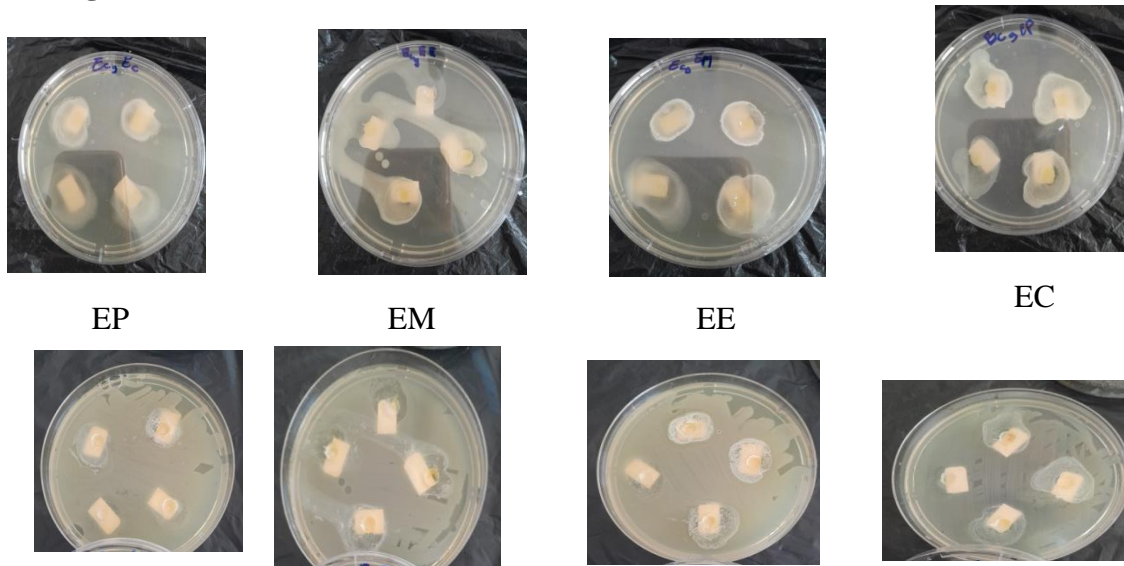


Figure II.17 : Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis *Staphylococcus aureus*

- ✓ On constate que toutes les souches étudiées sont sensibles à ces quatre extraits



**Figure II.18 :** Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis Escherichia coli



**Figure II.19 :** Activité antibactérienne des extraits vis-à-vis Bacillus . Cereus

- ✓ On constate que toutes les souches étudiées sont sensibles à ces quatre extraits.
- ✓ Les quatre extraits se révèlent actifs avec un degré différent, et cela est lié à la présence de substances actives (polyphénols).
- ✓ On constate que l'augmentation de la concentration des extraits s'accompagne d'une augmentation du diamètre des zones d'inhibition.
- ✓ Les tests d'activité antibactérienne ont permis de mettre en évidence la présence d'une activité modérée sur les différentes souches testées. Les zones d'inhibition et leurs diamètres sont représentés dans la figure ci-dessous

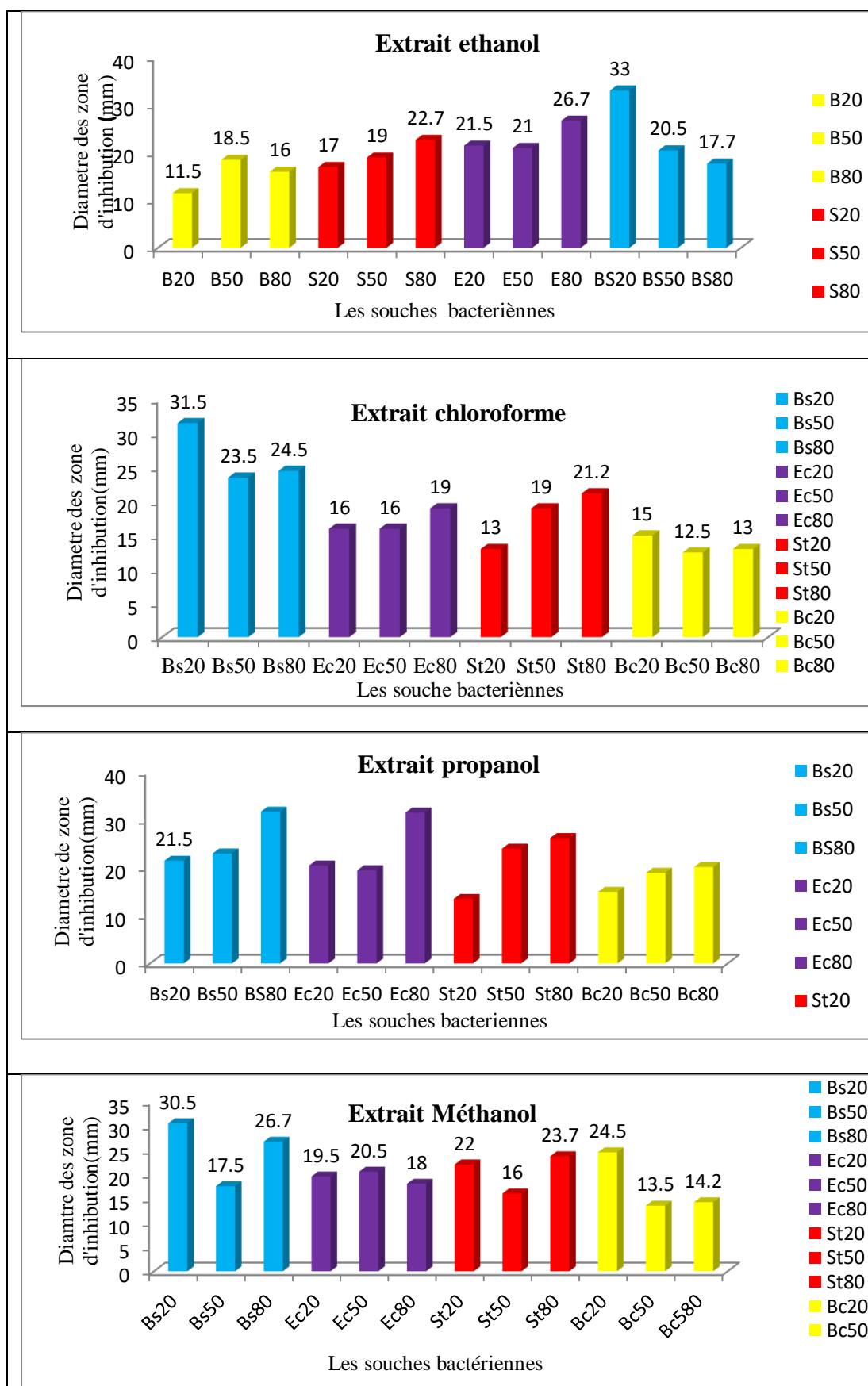


Figure II.20 : L'activité antibactérienne des extraits par méthodes des puits

- ✓ On note que les extraits ont approuvé une forte activité inhibitrice vis-à-vis la souche *Bacillus subtilis* avec un diamètre d'inhibition allant jusqu' 33mm
- ✓ Les résultats de nos extraits montrent que toutes les souches bactériennes apparaissent presque sensibles pour les C=20 mg/ml dont les diamètres des zones d'inhibition croissance sont variés entre 11,5 et 24mm pour *B.Cerus*, varie entre 13,5mm et 26mm et 15,5mm pour *S. aureus*, 16mm et 31 mm pour *E. coli* tandis que le diamètre d'inhibition de *B. subtilis* varie entre 21,5mm et 33 mm

## II.1 Caractérisation des films

### II.1.1 Caractérisation par spectroscopie d'absorption infrarouge

Les spectres Infrarouge des films élaborés sont présentés dans les figures suivantes :

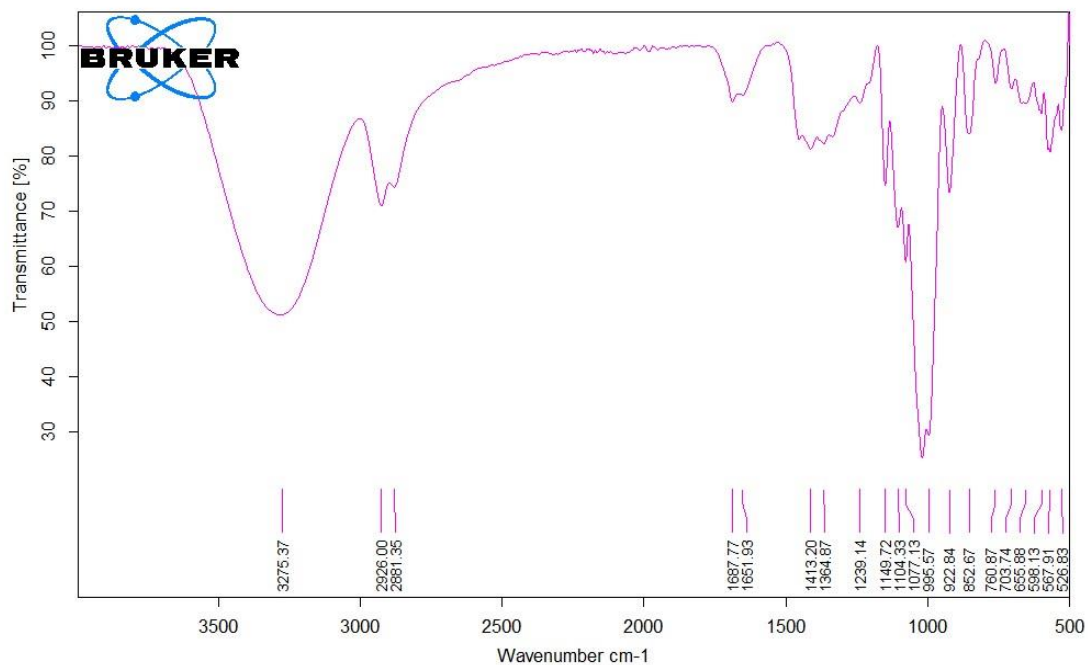


Figure II.21 : Spectre infrarouge de film FE

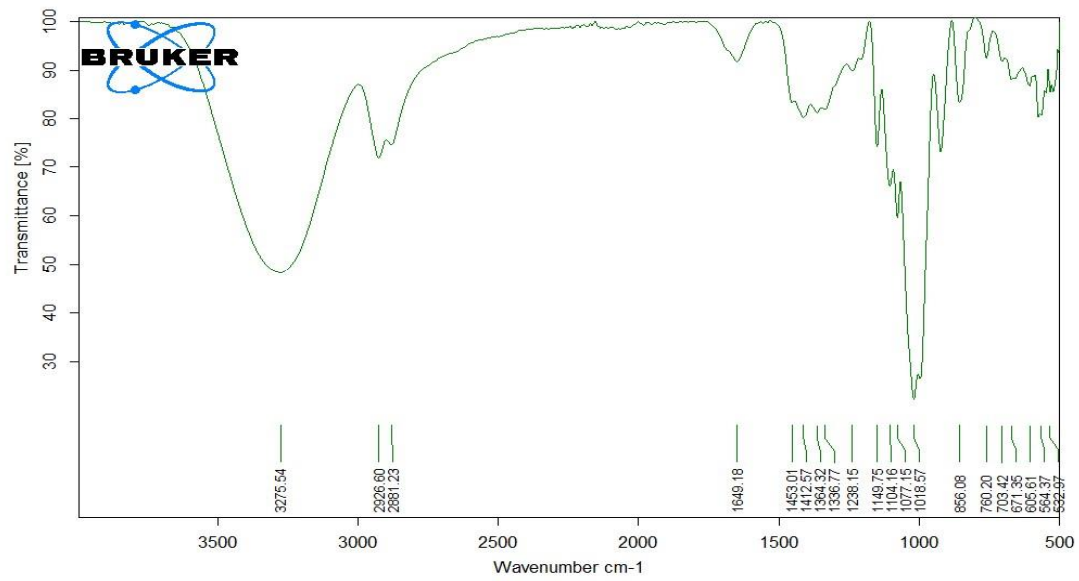


Figure II.22 : Spectre infrarouge de film FC

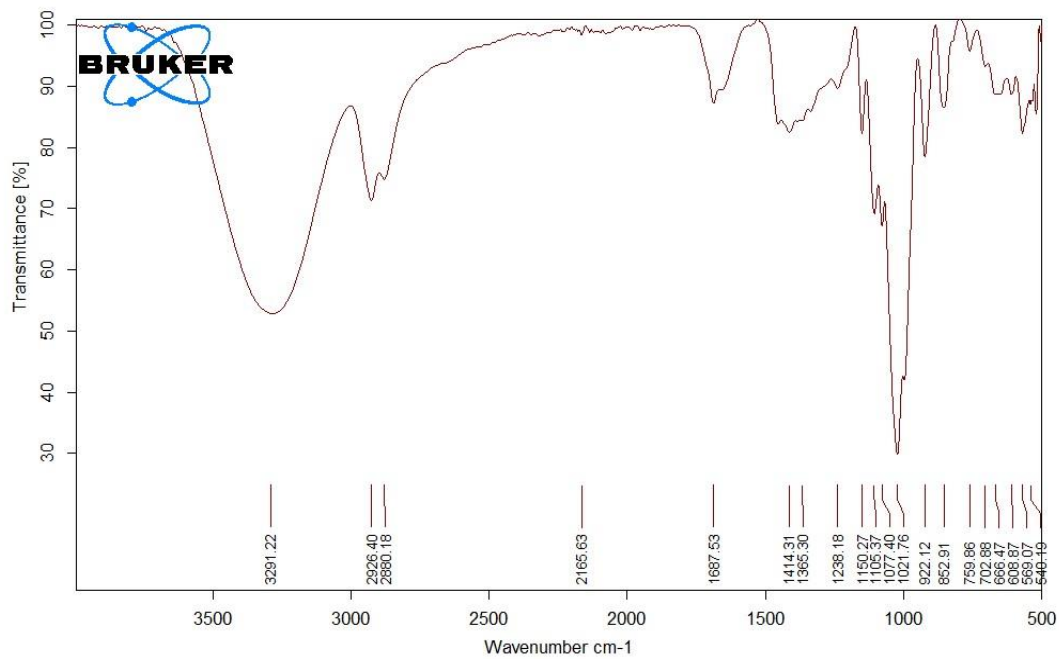
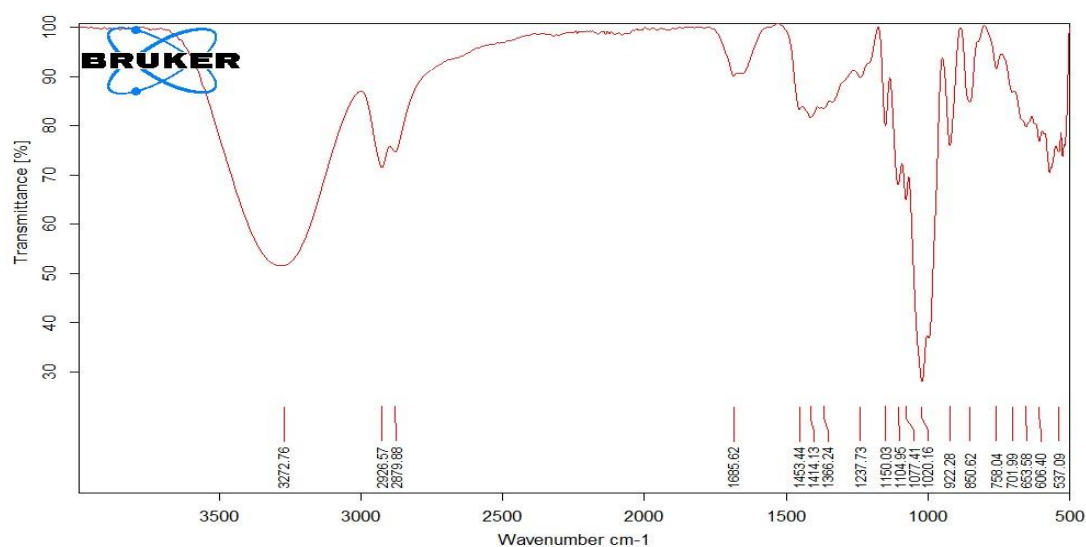


Figure II.23 : Spectre infrarouge de film FM



**Figure II.24 :** Spectre infrarouge de film FP

On remarque que les spectres IR obtenus sont presque identiques pour tous les échantillons étudiés. Les principales bandes d'absorption infrarouge des quatre films sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau II.5 :** Principales bandes d'absorption infrarouge des films

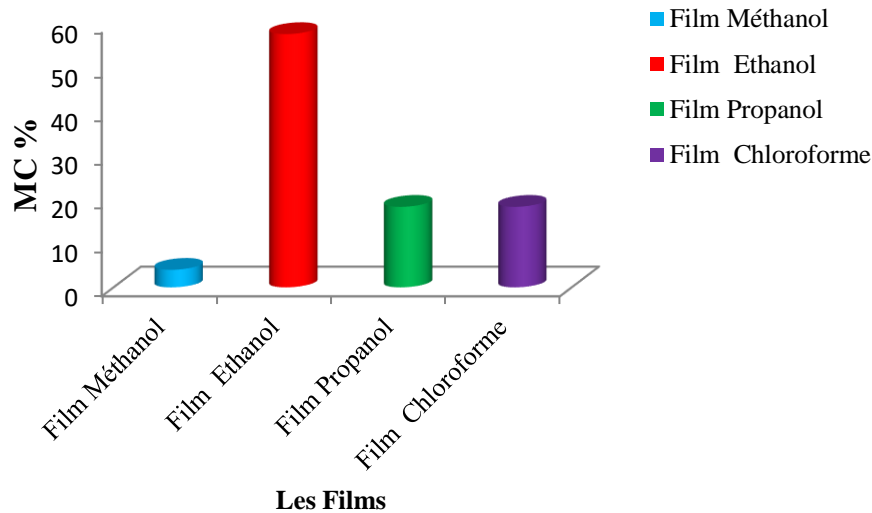
Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Structure associée
3287	Vibration de la liaison OH présente dans l'amidon, glycérol et l'extrait.
2926	Vibration élongation $\nu_{\text{CH}_2}$ présent dans l'amidon et l'extrait
1685	Vibration élongation C=O présent dans l'extrait
1364	Vibration de déformation de la liaison C-H de l'amidon
1414 à 1334	Vibrations de déformation dans le plan des groupements -CH <sub>2</sub> et -CH <sub>3</sub> , contenus dans l'extrait
1150-1076	Vibration élongation des liaisons C-O-H présente dans l'amidon et l'extrait
856 à 922	Vibration de déformation $\nu_{\text{C-H}}$ aromatique présente dans l'extrait.



### II.1.2 Humidité

La capacité de rétention d'humidité du film peut être représentée par termes de teneur en humidité, Les résultat obtenus sont présentés dans la figure ci-dessous et (annexes II.5)

:



**Figure II.25** : Teneur en humidité des films

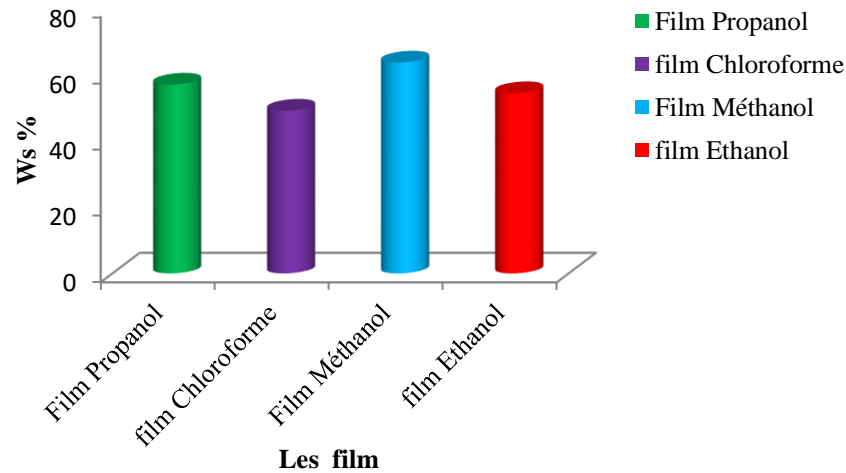
D'après les données expérimentales, on constate que la capacité de rétention d'humidité du film varie considérablement avec la nature des extraits avec des valeurs varient entre 4% à 57%.

En fait, l'incorporation de l'extrait dans un film provoque la formation des liaisons covalentes entre les groupes fonctionnels des chaînes d'amidon et l'extrait, entraînant une diminution de la disponibilité des groupes hydroxyle et limiter les interactions polysaccharide-eau par liaison hydrogène et entraînant une diminution de l'humidité

### II.1.3 La solubilité

La solubilité des films comestibles dans l'eau est l'un des paramètres les plus importants affectant leur application finale. En effet, certaines applications nécessitent des propriétés hydrosolubles élevées pour être facilement dissous avant consommation, tandis que d'autres applications nécessitent une faible solubilité dans l'eau pour garantir la résistance à l'eau pendant le traitement et le stockage.

Dans cette étude, les films à base d'amidon / polyphénols ont présentés un effet positif dans la teneur en solubilité dans l'eau. Les résultats obtenus sont regroupés dans (annexes II.5) et la figure ci-dessous :



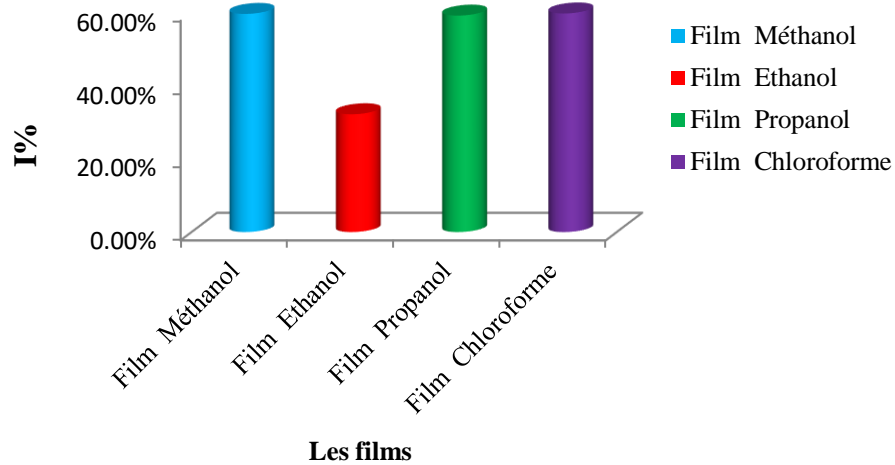
**Figure I.26 :** Pourcentage de Solubilité des films

- ✓ On constate que le film FM a démontré une solubilité plus élevée,
- ✓ On note que la solubilité des trois films variait de 49,15 à 63,61%, ce phénomène est influencée positivement par la teneur en amidon de maïs et en glycérol.
- ✓ L'amidon est un matériau hydrophile, ainsi lorsqu'un film d'amidon est exposé à l'eau, ses molécules polymériques forment des liaisons hydrogène avec l'eau et conduisent à la dissolution du film [144].
- ✓ Dans les études de Mathew et al ont confirment que les valeurs élevées de degré de solubilité des films peuvent être attribuées au groupes hydrophiles de polyphénols qui peuvent facilement interagir avec les molécules d'eau [145].
- ✓ Selon l'étude de de Menezes Filho et al ont rapporté que plus le pourcentage de solubilité est faible, plus la qualité et la durabilité de l'emballage sera mieux ce qui permet leur utilisation et conservation dans un environnement avec un certain niveau d'humidité relative [146].

## II.2 Activité antioxydant

Le test au DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle) choisi dans cette étude est basé sur le piégeage du radical libre stable DPPH par une molécule antiradicalaire, ce qui entraîne la décoloration de ce dernier. Ce test consiste à mettre le radical DPPH en présence d'une

molécule dite <antioxydant > afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical. Le résultat du test au DPPH des films est présenté dans le graphe suivant :



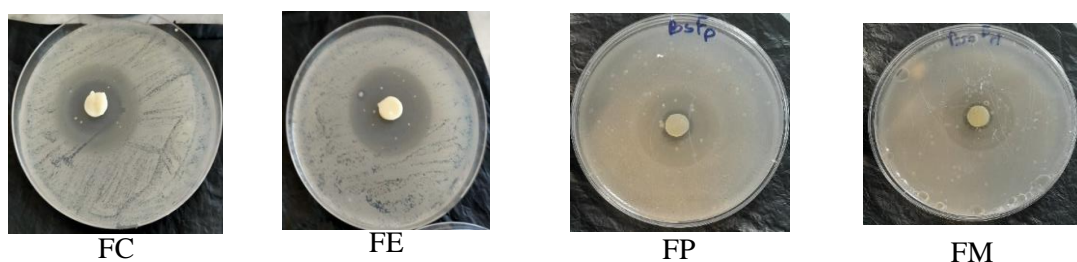
**Figure II.27 :** Activité antioxydant des films

Les résultats du test ont révélé que le film FC présente un niveau plus élevé d'activité de piégeage des radicaux, avec une valeur 59,7% suivi par les films FM et FP avec une valeur de 59,7% et 59,1% respectivement. Tandis que film FE à enregistrer un pourcentage de réduction de 32,2%. Cela rend les films chargés des extraits adaptés au développement de matériaux d'emballage antioxydants efficaces.

De plus, L'activité antioxydant varie en fonction de la nature chimique des composés phénoliques présents dans l'extrait. Par exemple, les groupes hydroxyle donnent potentiellement de l'hydrogène le long du cycle aromatique ou des électrons aux radicaux libres, tandis que les cycles aromatiques peuvent stabiliser et délocaliser les électrons non appariés [147].

### II.3 Activité antibactérienne des films

Les résultats des testes d'activité biologique des films sont illustrés sur la figure ci dessous :

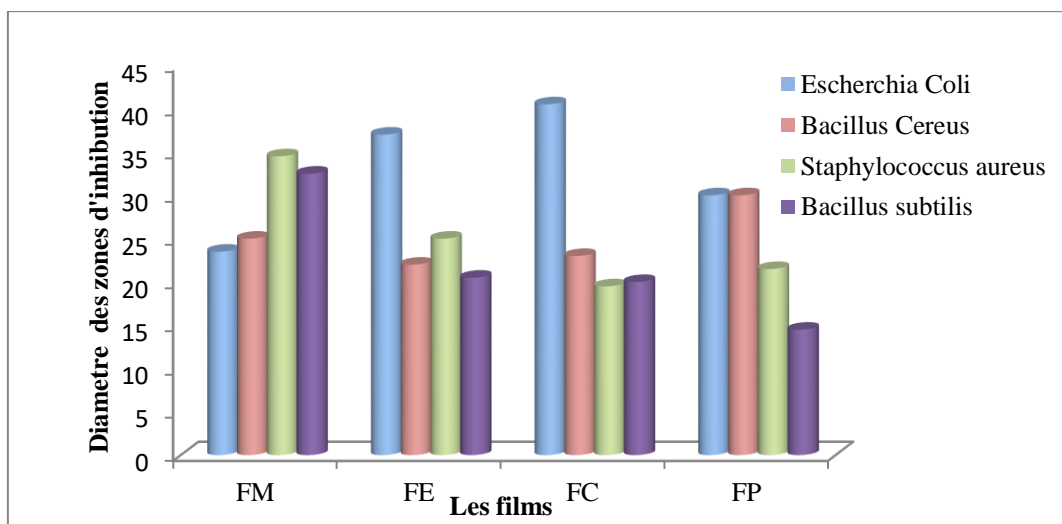


**Figure II.28 :** Activité antibactérienne des films vis-à-vis *Bacillus subtilis*

- ✓ D'après les tests de diffusion sur gélose, l'inhibition des trois souches a été clairement montrée par l'absence des colonies dans la région circulaire directement au-dessus des films.
- ✓ On constate que les films élaboré présente un grand pouvoir d'activité antibactérienne vis-à-vis Staphylococcus aureus, Bacillus Cereus, Staphylococcus aureus et Bacillus subtiliss
- ✓ Les tests d'activité antibactérienne ont permis de mettre en évidence la présence d'une importante activité sur les différentes souches testées. Les zones d'inhibition et leurs diamètres sont présentés dans le tableau et la figure ci-dessous.

**Tableau II.6:** Diamètre de la zone d'inhibition des films

Films	Bactéries cibles en fonction du diamètre d'inhibition (mm)			
	Escherchia Coli	Bacillus Cereus	Staphylococcus aureus	<i>Bacillus subtilis</i>
FM	23,5	25	34,5	32,5
FE	37	22	25	20,5
FC	40,5	23	19,5	20
FP	30	30	21,5	14,5



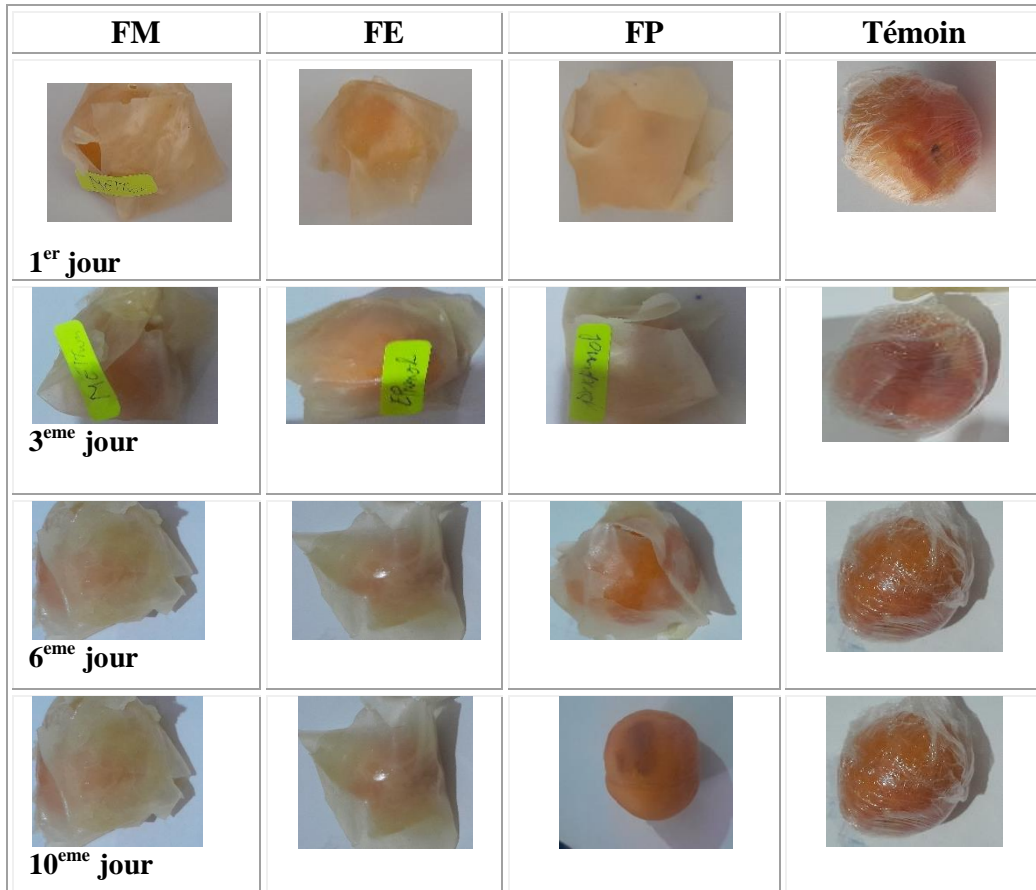
**Figure II.29 :** Histogramme de comparaison des zones d'inhibition des films

- ✓ Les films actifs présentent des bonnes valeurs des zones d'inhibition, ce qui confirme l'existence d'une activité antibactérienne contre les souches testés.

- ✓ D'après ces résultats nous constatons que le film FC présente un forte l'activité antibactérienne contre Escherichia Coli avec un diamètre de 40,5 mm
- ✓ On constate que les variations du diamètre de la zone d'inhibition observées pour les souches sont dues à la composition de la paroi cellulaire bactérienne.

### II.4 Application des films actifs

Les résultats d'emballage des fruits d'abricot sont ressemblé dans la figure suivante



**Figure II.20 :** Images des fruits d'abricot emballé dans des films prises sur 10 jours

**a) l'aspect et couleur**

On constate que les films préservait mieux leur qualité initiale, comme en témoigne un moindre retrait dû à la perte d'eau et une absence de croissance de moisissures. Jusqu'au jour 6, les films ne présentaient aucun signe visible de formation de moisissures, Dans les 3 jours suivant l'observation, aucune croissance de moisissure n'a été observée sur les fruits sur FM,FE,FP, mais au jour 10, une croissance de moisissure a été observée sur l'une d'abricot déposées sur le film FP.

**b) Perte de poids**

Les résultats de la Figure II.20 confirment que l'abricot emballé dans les films a perdu moins de poids plus que les fruits témoins.

Ce résultat expérimental nous donne une indication du potentiel des films contenant des principes actifs pour prolonger la durée de conservation des aliments.

# Conclusion générale

## **Conclusion générale**

Les extraits de plantes riches en polyphénols sont formulés dans des produits alimentaires pour des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles améliorées. L'incorporation d'extraits de plantes enrichis en composés phénoliques dans des matériaux d'emballage alimentaire constitue une approche verte prometteuse pour développer des films actifs dotés d'activités antioxydants et antimicrobiennes. Dans ce contexte, l'objectif de ce travail vise le développement des films actifs à base d'amidon/ extraits de la gomme de *Pinus halepensis* et de examiner certain comportement.

A la lumière des résultats expérimentaux obtenus, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

- ✓ La méthode de l'extraction par reflux est efficace qui permet d'avoir un rendement important en composé phénolique.
- ✓ Les tests phytochimiques ont confirmé la présence des métabolites secondaires à savoir les flavonoïdes, les quinones, les coumarines les Stéroïdes et les Saponines.
- ✓ Le dosage quantitatif a révélé la richesse des extraits en polyphénols totaux, flavonoïde et les Tannins.
- ✓ Les résultats de teste diffusion des puits a confirmé l'existence d'un pouvoir antibactérien puissant des extraits vis-à-vis les souches testées
- ✓ Les testes de piégeage du radical libre par la méthode DPPH affirme que les extraits obtenus sont doté d'une forte activité antiradicalaire
- ✓ L'analyse des spectres IR ont montré que les films ont des spectres similaires à celui des extraits, ce la confirme que les composés bioactif sont incorporés avec succès dans la matrice du film.
- ✓ Les résultats du teneur d'humidité et de solubilité des films ont présentent des valeurs acceptables.
- ✓ L'essai de l'activité antioxydant des films ont présentent un bon pouvoir antioxydant.
- ✓ Les testes de l'activité antibactérienne, révèlent une forte inhibition des films vis-à-vis les souches testées.
- ✓ Après le teste de conservation des fruits d'abricot sont resté en bon état pendant 9 jours de conservation.



### **Perspectives**

Les résultats expérimentaux obtenus sont encourageants pour la poursuite de ce présent travail. Comme perspectives à réaliser dans le futur, on peut citer

- ✓ Enrichir la matrice de film bioactif par d'autre biopolymères à savoir pectine, cellulose, gélatine et du chitosane.
- ✓ Réaliser des caractérisation approfondie du film tell que DRX, MEB et RMN.
- ✓ Faire des études élargies sur les propriétés physico-chimiques et la microstructure des films.
- ✓ Effectuer des tests microbiens sur d'autres souches bactériennes.
- ✓ Améliorer cette formulation pour application dans l'emballage pharmaceutique.



البطاقة التقنية للمشروع

Mostefai Souad	الاسم و اللقب Votre prénom et nom Your first and last Name
Biofilms Healthy	الاسم التجاري للمشروع Intitulé de votre projet Title of your Project
SARL la société à responsabilité limitée الشركة ذات المسؤولية المحدودة	الصفة القانونية للمشروع Votre statut juridique Your legal status
0698572400	رقم الهاتف Votre numéro de téléphone Your phone number
mostefais123@gmail.com	البريد الإلكتروني Votre adresse e-mail Your email address
ولاية تيارت بلدية تيارت	مقر مزاولة النشاط ( الولاية- البلدية) Votre ville ou commune d'activité Your city or municipality of activity

طبيعة المشروع



	<p>مؤسسة تجارية</p>
---	---------------------

**Value Proposition** القيمة المقترحة أو العرض المقدم تحديد

المشكل الذي يواجهه الزبون

<p>Élimination des déchets de films plastiques non biodégradables</p>	<p>ما هي المشكلة التي تريد حلها؟</p>
<p>Pollution de l'environnement avec les matières plastiques</p>	<p>ما هي البيانات المتوفرة لديك التي تدل على وجود المشكلة المحددة؟</p>
<p>Fabriquer des sacs en papier pour les boulangeries</p>	<p>ما هي المشاريع الأخرى التي استهدفت نفس المشكلة والتي جرى تنفيذها؟</p>
<p>Développement de matériaux d'emballage biodégradables</p>	<p>ماهي أهداف مشروعك و/أو نتائجه المتوقعة؟</p>



القيمة المقترحة وفق المعايير التالية

Films naturelle et biodégradable	القيمة المبتكرة أو الجديدة
	القيمة بالتخصيص
نعرض منتوجنا الى السوق بسعر 55	القيمة بالسعر
	القيمة بالتصميم
	القيمة بالأداء العالي
	القيمة بالخدمة الشاملة
	القيمة المبتكرة أو الجديدة
	قيم أخرى

شرائح العملاء أو الزبائن Customer Segments

Géographiq ue الجغرافية	Démographiq ue (B2C)	Démographiq ue (B2B)	Psychographi que العوامل النفسية و الشخصية	Comportementa l السلوكيات
-------------------------------	-------------------------	-------------------------	---	---------------------------------

Continent القارة -أفريقيا	Age -العمر ما بين 23 الى 55	Sector القطاع الصناعي	social Classe الطبقة الاجتماعية -كل الطبقات	Usage استخدام تغليف مواد الغذائية
Pays الدولة الجزائر	Sexe الجنس الانثيين	Nombre d'employés عدد العمال في	Niveau de vie المستوى المعيشي	Loyauté الوفاء



		القطاع 7 عمال		
Région الجهة - الغرب	Revenus annuel متوسط الدخل 30000DA-	Maturité de l'entreprise نضج المؤسسة	Valeurs القيم الجودة العالية	Intérêt اهتمام بصحة المستهلك
Département الولاية tous les wilaya -	Etat matrimonial الحالة الاجتماعية	Situation financière الحالة المالية للمؤسسة مؤسسة ناشئة	Personnalité الشخصية	Passion الهواية وشغف
Ville الدائرة او البلدية	Niveau d'étude المستوى الدراسي -2eme master	Détention/ actionariat الملكية/المساهمة الملكية	Convictions المعتقدات منتوج حلال	Sensibilité حساسيات
Quartier الحي	Profession المهنة -Entreprise productive	Valorisation/ capitalisation التقييم boursière / القيمة السوقية	sur Présence digitale et les réseaux sociaux استعمال التكنولوجيا في التواصل sites d réseau - email - sociaux	Habitude de consommation Tous عادة المستهلك les - jours

Climat	Culture	Business model	Centres d'intérêts	Mode de paiement
المناخ	الثقافة	نموذج الأعمال	مراكز الاهتمام -	طرق الدفع - Au détail et en gros
	Religion الدين -- الاسلام	Secteur servi et القطاع الذي يخدمه Production -fabrication		Connaissance المعرفة
	Langue اللغة الفرنسية العربية الانجليزية	Technologie التكنولوجيا المستخدمة المستعملة Traductionnel		Nature de la demande طبيعة الطلب يومية
		Format du produit ou packaging شكل المنتج أو التعبئة والتغليف - cylindrique - papier boites en		Fréquence d'achat عدد مرات الطلب على السلعة <b>Touts lesjours</b>

## قنوات التوزيع Channels

المؤسسة الخاص بالصناعات الغذائية, المحلات الكبرى, المحلات التجارية	المبيعات المباشرة
أسواق الجملة الخاص بيع و الفواكه	تجار الجملة
المحلات التجارية	الموزعون

الدكاكين	توزيع التجزئة
----------	---------------

## العلاقة مع العملاء Customer Relationship





التواصل بعد المبيعات	كيف تدبر عالقاتك مع العمالء؟
استخدام التكنولوجيا الاتصال الفعال عبر وسائل الاتصال	ماهية أهم البرامج التي ستعتمد عليها في ادارة العالقة مع الزبون  Microsoft  Dynamics  Monday CRM  Zoho CRM  الخ

### الشركاء الأساسيون Key Partners

طبيعة الشراكة	معلومات حول الشركاء	الشركاء
لشراكة بين شركات بيع مواد الخام والشركات الناشئة يمكن أن تكون مفيدة بشكل كبير من خلال تعزيز الوصول إلى الموارد، ودعم الابتكار والتكنولوجيا، وتسريع النمو والتوسع في الأسواق المختلفة، مقابل مشاركة المخاطر والمكافآت بطريقة متوازنة ومستدامة.	شركات بيع المواد الخام	الشريك الأول
هدف هذه الشراكات إلى تحقيق فوائد متبادلة بين الطرفين، حيث تعزز الابتكار، وتعزز الكفاءة، وتسهل الوصول إلى الموارد اللازمة لتحقيق النمو والاستدامة في الأعمال التجارية	الشركات المصنعة المتعاونة -	الشريك الثاني
تسعى الشراكة بين المؤسسة الناشئة وشركاء التسويق والتوزيع إلى دعم نمو الأعمال التجارية من خلال تعزيز التواجد في الأسواق، وتحسين الكفاءة التسويقية	شركاء التسويق والتوزيع -	الشريك الثالث

الهاتف، العنوان... إلخ

**structure Costs هيكل التكاليف**

50000DA	تكاليف التعرف بالمنج أو المؤسسة Frais d'établissement
GAZ 21910DA Électricité 8000DA EAUX 8000DA	تكاليف الحصول على العدادات ( الماء- الكهرباء )..... Frais d'ouverture de compteurs (eaux- gaz-....)
30000DA	تكاليف (التكوين- برامج العالم اللي المختصة) Logiciels, formations
30000DA	Dépôt marque, brevet, modèle تكاليف براءة الاختراع و الحماية الصناعية و التجارية
10000DA	Droits d'entrée تكاليف الحصول على تكنولوجيا او ترخيص استعمالها
10000DA	Achat fonds de commerce ou parts شراء الأصول التجارية أو الأسهم
400000DA	Droit au bail في الإيجار
200000DA	Caution ou dépôt de garantie وديعة أو وديعة تأمين
15000DA	Frais de dossier رسوم إيداع الملفات
80000DA AVOCAT 20000DA NOTAIRE	Frais de notaire ou d'avocat تكاليف الموثق-المحامي-..
35000DA	Enseigne et éléments de communication تكاليف التعرف بالعالمية و تكاليف قنوات الاتصال
	Achat immobilier شراء العقارات
	Travaux et aménagements العمال والتحسينات الماكن
671026444DA	Matériel



	آلات- المركبات- الأجهزة
200000DA	Matériel de bureau تجهيزات المكتب
200000DA	Stock de matières et produits تكاليف التخزين
	Trésorerie de départ التدفق النقدي (الصندوق) الذي تحتاجه في بداية المشروع.

المجموع = 672659354

نفقاتك أو التكاليف الثابتة الخاصة بمشروعك

10000DA	Assurances التأمينات
15000DA	Téléphone, internet الهاتف و الانترنت
	Autres abonnements اشتراكات أخرى
20000DA	Carburant, transports الوقود و تكاليف النقل
	Frais de déplacement et hébergement تكاليف التنقل و المبيت
400000DA PAR 1ANS	Eau, électricité, gaz فواتير الماء - الكهرباء- الغاز
	Mutuelle التعاضدية الاجتماعية
20000DA	Fournitures diverses لوازم متنوعة
30000DA	Entretien matériel et vêtements صيانة المعدات والملابس
	Nettoyage des locaux تنظيف المباني
	Budget publicité et communication ميزانية الإعلانات والتواصلات

المجموع = 495000



**Revenue Stream مصادر الإيرادات**

	Apport personnel ou familial المساهمة الشخصية أو العائلية
	Apports en nature (en valeur) التبرعات العينية
	Prêt n°1 (nom de la banque) رقم 1 اسم البنك
	Prêt n°2 (nom de la banque) رقم 2 اسم البنك
	Prêt n°3 (nom de la banque) رقم 3 اسم البنك
	Subvention n°1 (libellé) منحة 1
	Subvention n°2 (libellé) منحة 2
صندوق مخاطرة صندوق تمويل المؤسسات المصغرة	Autre financement (libellé) تمويل آخر

المجموع = 1 0 0 0 0 0 0 D A

**رقم الأعمال 7**

**بيع المنتج في السنة الأولى Votre chiffre d'affaires de la première année**

متوسط أيام العمل في الشهر	بيع المنتج في السنة الأولى
20	1Mois الشهر
20	2Mois الشهر
20	3Mois الشهر
20	4Mois الشهر
20	5Mois الشهر
20	6Mois الشهر
20	7Mois الشهر
20	8Mois الشهر
20	9Mois الشهر
20	10Mois الشهر
20	11Mois الشهر



20

12Mois الشهر

المجموع = 240000

النسبة المئوية للزيادة في حجم الأعمال بين كل شهر لسنة الأولى؟

**Votre chiffre d'affaires de la deuxième année بيع المنتج في السنة الثانية**

متوسط أيام العمل في الشهر	بيع المنتج في السنة الثانية
20	1Mois الشهر
20	2Mois الشهر
20	3Mois الشهر
20	4Mois الشهر
20	5Mois الشهر
20	6Mois الشهر
20	7Mois الشهر
20	8Mois الشهر
20	9Mois الشهر
20	10Mois الشهر
20	11Mois الشهر
20	12Mois الشهر

المجموع = 48000

النسبة المئوية للزيادة في حجم الأعمال بين كل شهر لسنة الثانية؟

**Votre chiffre d'affaires de la troisième année بيع المنتج في السنة الثالثة**

متوسط أيام العمل في الشهر	بيع المنتج في السنة الثالثة
20	1Mois الشهر
20	2Mois الشهر
20	3Mois الشهر
20	4Mois الشهر
20	5Mois الشهر
20	6Mois الشهر
20	7Mois الشهر
20	8Mois الشهر
20	9Mois الشهر
20	10Mois الشهر



20	11 Mois الشهر
20	12 Mois الشهر

المجموع = 96000  
النسبة المئوية للزيادة في حجم الأعمال بين كل شهر لسنة الثالثة ؟

تطور حجم رقم الأعمال في السنة

النسبة المئوية للزيادة في حجم الأعمال بين السنة 1 والسنة 2؟

النسبة المئوية للزيادة في حجم الأعمال بين السنة 2 والسنة 3 ؟

حاجتك لرأس المال العامل

30 يوم	متوسط مدة الاعتمادات الممنوحة للعملاء بالأيام Durée moyenne des crédits accordés clients en jours
30 يوم	متوسط مدة ديون الموردين بالأيام Durée moyenne des dettes fournisseurs en jours

رواتب الموظفين و مسؤولين الشركة

30000DA	رواتب الموظفين Salaires employés
40000DA	صافي أجور المسؤولين nette dirigeant Rémunération

# Business Model Canvas

Designed for:

Designed by:

Date:

Version:

## Key Partners

- Fournisseurs de matières premières
- Fabricants collaborateurs
- Distributeurs et revendeurs
- Partenaires techniques
- Partenaires en marketing et distribution

## Key Activities

- Commercialisation et distribution
- Développement de matières premières
- Le processus de production
- assurance qualité
- Recherche et développement
- La conception des produits

## Key Resources

## Value Propositions

- développement de matériaux d'emballage biodégradables
- élimination des déchets de films plastiques non biodégradables
- nouveaux travaux Fournir des soins de santé intégrés et contribuer à l'amélioration de la santé des individus
- Fournir des emballages alimentaires caractérisés par des spécifications élevées en termes de matériaux utilisés et de procédés de fabrication avancés

## Customer Relationships

- avis clients
- relation après-ventes
- analyse de l'interaction directe
- assistance personnelle
- services automatisés
- en libre-service

## Channels

## Customer Segments

- Restaurants, hôtels établissements alimentaires
- Entreprises et institutions industrielles

- études et recherches
- ressources botaniques
- ressources humaines
- Ressources intellectuelles
- Ressources matérielles
- Ressources financières

- Réseaux de distributeurs
- Sites de commerce électronique
- Les Grande surface
- Livraison
- Conscience
- Relation après-vents
- Marketing interne

#### **Cost Structure**

Coûts constants: loyer du magasin/ eau et électricité / matériel d'entretien et de nettoyage / frais administratifs  
 Coûts variables : matières premières / réparation/ matériel  
 Les coûts de main-d'œuvre  
 Coûts d'exploitation et de maintenance  
 Coûts de production et d'emballage  
 Frais de marketing et de vente  
 Frais de recherche et développement

#### **Revenue Streams**

- Banques
- Apport personnel au familial
- Apports en nature
- Subvention



--	--

## Références bibliographiques

- [1] Bergo, P. V. A., Carvalho, R. A., Sobral, P. J. A., Dos Santos, R. M. C., Da Silva, F. B. R., Prizon, J. M., Solorza-Feria J. & Habitante, A. M. Q. B. (2008). Physical properties of edible films based on cassava starch as affected by the plasticizer concentration. *Packaging Technology and Science*, 21(2), 85-89.
- [2] Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: a review. *Materials Science and Engineering: C*, 33(4), 1819-1841.
- [3] BeMiller, J. (2018). *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists* (3rd Edition). Woodhead Publishing and AACCI.
- [4] Gao, H.-X., He, Z., Sun, Q., He, Q., & Zeng, W.-C. (2019). A functional polysaccharide film forming by pectin, chitosan, and tea polyphenols. *Carbohydrate Polymers*, 215, 1–7.
- [5] Zhu, F. (2020). Dietary fiber polysaccharides of amaranth, buckwheat and quinoa grains: A review of chemical structure, biological functions and food uses. *Carbohydrate Polymers*, 248, 116819.
- [6] Albuquerque, P. B. S., Cerqueira, M. A., Vicente, A. A., Teixeira, J. A., & Carneiro-da-Cunha, M. G. (2017). Immobilization of bioactive compounds in Cassia grandis galactomannan-based films: Influence on physicochemical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 96, 727–735
- [7] Ali, A., Chen, Y., Liu, H., Yu, L., Baloch, Z., Khalid, S., et al. (2019). Starch-based antimicrobial films functionalized by pomegranate peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 1120–1126.
- [8] Salehi F. Edible Coating of Fruits and Vegetables Using Natural Gums: A Review. *Int. J. Fruit Sci.* 2020;20:S570–S589. doi: 10.1080/15538362.2020.1746730.
- [9] Yun D., He Y., Zhu H., Hui Y., Li C., Chen D., Liu J. Smart Packaging Films Based on Locust Bean Gum, Polyvinyl Alcohol, the Crude Extract of *Loropetalum Chinense* Var. *Rubrum* Petals and Its Purified Fractions. *Int. J. Biol. Macromol.* 2022;205:141–153. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.02.068
- [10] Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2005;45:287–306.
- [11] Spencer JP, Abd El Mohsen MM, Miniñane AM, Mathers JC. Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *Br J Nutr.* 2008;99:12–22.
- [12] Graf BA, Milbury PE, Blumberg JB. Flavonols, flavonones, flavanones and human health: Epidemiological evidence. *J Med Food.* 2005;8:281–290.
- [13] Arts ICW, Hollman PCH. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr.* 2005;81:317–325.
- [14] Kühnau, J. (1976). "The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition." *World Rev Nutr Diet* 24: 117-191.
- [15] Macheix, J.J., Fleuriet, A & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. Lausanne, Suisse. Presses polytechniques et universitaires romandes
- [16] Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*. 63(7), 1035-1042.
- [17] Haslam, E. (1994). Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* p11, 41-66.
- [18] Pandey, K. B et Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol. 2(5): 270 – 278.

- [19] Lacy, A. & O’Kennedy, R. (2004). Studies on Coumarins and Coumarin-Related Compounds to Determine their Therapeutic Role in the Treatment of Cancer. *Current Pharmaceutical Design* **10**, 3797-3811.
- [20] Osbourn A., Lanzotti V. (2009). Plant-derived Naturels Products synthesis, function and application. Ed Springer, New York, 597.
- [21] Bruneton J. (1999).Pharmacognosie - Phytochimie – Plantes médicinales, 3ème Ed., Technique et Documentation, Paris. 1999, p. 227-310-312-313-314, 494 .
- [22] Bruneton J (2015) Pharmacognosie (5° Éd.) Phytochimie - Plantes médicinales, Tec and Doc, Lavoisier, Paris. 1504pp
- [23] Guignard J. (1996). Biochimie végétale. Ed. Lavoisier, Paris. P 175-192.
- [24] Chira K., Suh J. H., Saucier C. et Teissède P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6 : 75-82.
- [25] Collin, S., Crouzet J. Polyphénols et procédés : transformation des polyphénols au travers procédés appliqué à l’agroalimentaire. Edition TEC et doc. 2011.
- [26] Rezaire, A. Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse doctorat. Université des Antilles et de la Guyane. 2012.
- [27] Benayache, F. (2005). Recherch
- [60] Nahal I., 1962. Le Pin d'Alep. Étude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. *Annales de l'école nationale des eaux et forêts*, 19, (4) : 533- 627.
- [61] Kadik-Achoubi L., (2005). Étude phytosociologique et phytoécologique des formations à pin d’Alep (*Pinus halepensis* Mill.) de l’étage bioclimatique semi-aride algérien. Thèse de Doctorat. USTHB, Alger. 341p
- [62] Quézel P. & Barbéro M., 1992. Le pin d’Alep et les espèces voisines : répartition et caractères écologiques généraux, sa dynamique récente en France méditerranéenne. *Forêt méditerranéenne XIII* (3) : 158-170.
- [63] Kadik B, (1987). Contribution à l’étude du pin d’Alep (*Pinus halepensis* Mill) en Algérie. *Ecologie, dendrométrie, morphologie*. Office des publications universitaires (Alger). 585p.
- [64] Bernard Prévosto,2013,Le pin d’Alep en France:17 fiches pour connaître et gérer, Éditions Quæ,160 pp.
- [65] Becker M., picad J.F., Timbel., avec la collaboration de Germain G et Navarin J., 1981. *La forêt : maison et réalisation éditoriales pédagogiques*, paris. 182 p.
- [66] Boutchiche F., et Boutrigue S ,2016. Caractérisation morphométrique de la chenille processionnaire (*Thaumetopoea pityocampa*) et de son hôte au niveau de la wilaya de Tlemcen. Mémoire master en génétique. Univ Abou Bekr Belkaid Tlemcen., p (12-15).
- [67] FARJON, A. (1996). Biodiversity of *Pinus* (Pinaceae) in Mexico: speciation and palaeo-endemism. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 121(4), 365-384
- [68] Nahal, I. (1986). Taxonomie et aire géographique des pins du groupe *halepensis*. In : options méditerranéennes, Série Etude Ciheam 86/1. Le pin d’Alep et le pin brutia dans la sylviculture méditerranéenne ,1-9 p.
- [69] Quézel, P. (2000). Taxonomy and biogeography of Mediterranean pines (*Pinus halepensis* and *Pinus brutia*). In: *Ecology, Biogeography and Management of Pinus halepensis and P. Brutia Forest Ecosystems in the Mediterranean Basin*. Eds., Néeman G., Trabauds L., Backhuys Publishers, Leiden,pp. 1-12.
- [70] Ammari, Y., Sghaier, T., Khaldi, A., Garchi, S. (2001). Productivité du pin d’Alep en Tunisie: Table de Production. *Annales de l’Ingref N° Special*, 239-246

- [71] Brochiero, F., Chandiooux, O., Ripert, C., Vennetier, M. (1999). Autécologie et croissance du pin d'Alep en Provence calcaire. *Forêt Méditerranéenne*, 20(2): 215-224.
- [72] Parde, J. (1957). La productivité des forêts de pin d'Alep en France. *Ann., E.N.E.F etb S.R.E.*, 15 (2): 367-414.
- [73] Haffane, M. (1982). Contribution à l'étude du comportement de *Pinus halepensis* dans les reboisements de Zoumi Mokrissat. Mémoire 3 cycle, I.A.V. Hassan II, Rabat.
- [74] Lazrec, F., 2015. Importance de la fonte de semis du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) dans le Nord-Ouest Algérien: Identification morphologique et moléculaire des espèces du genre *Fusarium* et *Glob Sporangium*, pouvoir pathogène et moyens de lutte, *Agroforesterie*. Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen, p. 187.
- [75] Lakreb, N., Sen, U., Bezzazi, B., & Pereira, H. (2022). The physicomechanical and thermal properties of Algerian Aleppo pine (*Pinus halepensis*) wood as a component of sandwich panels. *iForest – Biogeosciences and Forestry*, 15(2), 106-111.
- [76] Modugno, F., Ribechini, E., & Colombini, M.P. (2006). Aromatic resin characterization by gas chromatography-mass spectrometry: Raw and archaeological materials. *Journal of Chromatography*. 85 : 164-173.
- [77] Langenheim, J.H. (2003). *Plant Resins – Chemistry, Evolution, Ecology and Ethnobotany*. Edition p. 24-24.
- [78] Ghanmi, M., Satrani, B., Chaouch, A., Aafi, A., Abid, A.E., Ismaili, M.R., Farah, A., (2007). Composition chimique et activité antimicrobienne de l'essence de térébenthine du pin maritime (*Pinus pinaster*) et du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) du Maroc. *Acta Botanica Gallica* 154, 293–300. <https://doi.org/10.1080/12538078.2007.10516058>
- [79] Rodríguez-García, A., López, R., Martín, J.A., Pinillos, F., Gil, L. (2014). Resin yield in *Pinus pinaster* is related to tree dendrometry, stand density and tapping-induced systemic changes in xylem anatomy. *Forest Ecology and Management* 313, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.10.038>.
- [80] Verma, V.P.S., Pant, S.P. (1978). Performance of slash pine (*Pinus elliottii* Engelm.) vis-avis chirpine (*Pinus roxburghii* Sargent) in respect of oleoresin yield at Dehra Dun. *Indian forester*.
- [81] Rodrigues, K.C.S., Fett-Neto, A.G. (2009). Oleoresin yield of *Pinus elliottii* in a subtropical climate: Seasonal variation and effect of auxin and salicylic acid-based stimulant paste. *Industrial Crops and Products* 30, 316–320. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.06.004>
- [82] Fancès, M. (2019). Eude de la mise au point d'un vernis industriel à base de colophane et d'huile végétale. Thèse doctorat : Polymères. Université de Pau et des Pays de l'Adour, 21-25 p.
- [83] Holiste. (2017). Biogemme is innovating the way pine resin is collected. *Holiste Laboratoire et Développement*.
- [84] Bernard-Dagan, C. (1988). Les substances de réserve du Pin maritime: Rôle éventuel des métabolites secondaires. *Bulletin de la Société Botanique de France .Actualités Botaniques* 135, 2540. <https://doi.org/10.1080/01811789.1988.10826883>.
- [85] Kızıllarslan, C., Sevgi, E. (2013). Ethnobotanical uses of genus *Pinus* L. (Pinaceae) in Turkey. *Indian J Tradit Knowle*.12, p. 209 -220.
- [86] Boulâacheb, N. (2010). La résine de *pinus halepensis* Mill. Usage traditionnel par la Population de la petite kabylie (algerie, nord afrique). *Acta Horticulturae. International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants*.853: 435-438.
- [87] Prasad.A.,Kumar, A ,& Gajrani, K.K.( Eds.). (2022). *Biodegradable Composites for Packaging Applications*. CRC Press.

- [88] Salgado, P.R., Di Giorgio, L., Musso, Y.S., & Mauri, A.N. (2019). Bioactive packaging: Combining nanotechnologies with packaging for improved food functionality. In López Rubio, A., Fabra Rovira, M.J., Martínez Sanz, M., & Gómez-Mascaraque, L.G. (Eds.), *Nanomaterials for food applications* (pp.233-270). Amsterdam: Elsevier.
- [89] Yemenicioğlu, A. (2022). *Edible Food Packaging with Natural Hydrocolloids and Active Agents*. CRC Press.
- [90] Kontominas, M. (Ed.). (2015). *Bioactive Food Packaging: Strategies, Quality, and Safety*. DEStech Publications, Inc.
- [91] Hemavathi, A.B., & Siddaramaiah, H. (2018). Food packaging: polymers as packaging materials in food supply chains. In *Encyclopedia of polymer applications*, CRC Press, Boca Raton, pp. 1374-1397.
- [92] Crini, G., Badot, P.M., Roberts, G.A., & Guibal, E. (2009). Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application. Presses Universitaires Franche-Comté.
- [93] Gomaa, A.M.A., Abdel Salam, H.M. (2023). *Handbook of Biodegradable Materials*, Germany: Springer Nature.
- [94] Nancy Alonso-Carrilloa , Ma. de los Ángeles Aguilar-Santamaríab , E. Jaime Vernon-Carterc , Rubén Jiménez-Alvaradod , Francisco Cruz-Sosaa , Angélica Román-Guerrero ; Extraction of phenolic compounds from *Satureja macrostema* using microwave-ultrasound assisted and reflux methods and evaluation of their antioxidant activity and cytotoxicity, *Industrial Crops & Products* 103 (2017) 213–221.
- [95] Bssaibis F, Gmira N, Meziane M, 2009. Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale*, 3 : 44-55.
- [96] Dinzedi M R , 2015. Activités antibactériennes de extraits de *Terminalia catappa* et *Thonningia sanguinea* sur *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* multiresistantes d'origine humaine. Thèse de Doctorat de l'Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 133 p
- [97] Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compt. Rend. Biol.* Vol. 2008 ; 331 : 372-379.
- [98] Lin, P.-C., et al., Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. 2014. 32(4): p. 711-726 .
- [99] Firdouse S, Alam P (2011) Phytochemical investigation of extract of *Amorphophallus campanulatus* tubers. *International Journal of Phytomedicine* 3: 32-35.
- [100] Sangeetha R, Jayaprakash A (2015) Phytochemical Screening of *Punica granatum* Linn. Peel Extracts. *Journal of Academic and Industrial Research* 4: 160-162.
- [101] Ciulci, 1994, Methodology for the analysis of vegetable drugs. Chemical industries branch, division of industrial operations. UNIDO, Romania; 24, 26 and 67
- [102] Qnais E.Y., Elokda A.S., Abu Ghalyun Y.Y., Abdulla F.A., 2007. Antidiarrheal Activity of the Aqueous Extract of *Punica granatum* (Pomegranate) Peels. *Pharmaceutical Biology*, vol 45, no 9, p.715–720.
- [103] Hajoori M., Naik M., Naik K., Desai Bhagwan S., 2014. Evaluation of antimicrobial activity of *Punica granatum* peel extracts using different solvent system, *International journal of Pharmacological Screening Methods*, vol 4, no 1, p. 26-31.
- [104] Hossain MA, Al-Raqmi KAS, Al-Mijizy ZH, Weli AM, Al-Riyami Q (2013) Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3: 705-710.

- [105] Chonoko UG, Rufai AB: Phytochemical screening and antibacterial activity of Cucurbitapepo against Staphylococcus aureus and Salmonella typhi. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences* 2011; 4: 145-147.
- [106] Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry* 97, 654.
- [107] Dif MM, BenaliToumi F, Benyahia M, Mekhfi N (2015) Optimization of extraction in *Daphne gnidium* L. leaves. *Adv in Nat ApplSci* 3:5–7
- [108] Aiyegoro OA, Okoh AI (2010) Preliminary phytochemical screening and In vitro antioxidant activities of the aqueous extract of *Helichrysumlongifolium*. *DCBMC Complement Altern Med* 10:21–5
- [109] Singleton, V.L., Joseph, A., Rossi, J.R., 1965. Colorometry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-153
- [110] Djeridane A., Yousfi M., Boubekour N., et Boutassouna D. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing Phenolic compound. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660p.
- [111] Bajorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C., et Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal Article* .46(11):1086-1089p.
- [112] Zhishen J., Mengcheng T. et Jianming W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64: 555– 559.
- [113] Ardestani A. et Yazdanparast R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achilleasantolina* extracts. *Food Chemistry*, 104: 21–29
- [114] Socha R., Juszczak L., Pietrzyk S. et Fortuna T., (2009). Antioxidant activity and phenolic composition of herb honeys. *Food Chemistry*, 113: 568–574.
- [115] CB Singh, MC Devi, DS Thokchom, Sengupta M, AK Singh, Phytochemical screening, estimation of total phenols, total flavonoids and determination of antioxidant activity in the methanol extract of *Dendrobium denudans* D. Don stems ; *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2015; 4(4):06-11
- [116] Julkunen-Titto R., (1985) Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, (33), p:213.
- [117] Sun.B, Richardo-da-Silvia JM, Spranger I. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins [J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 4267-4274.
- [118] Madhav Poudel and Meena Rajbhandari , **Phytochemical Analysis of *Ampelopteris Prolifera* (Retzius) Copeland** ; *Nepal Journal of Science and Technology* ; (NJST) ( 2020), 19(1) : 78-88.
- [119] Knežević, S.V., Blažković, B., Štefan, M.B., Alegro, A., Kőszeg, T & Petrik, J. (2011). Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected *Micromeria* species from Croatia. *Molecules*, 16(2), 14454-1470
- [120] Afonso, C.A.M., Candeias, N.R., Simao, D.P., Trindade, A.F., Coelho, J.A.S., Tan, B & Franzen, R. (2016). *Comprehensive organic chemistry experiments for the laboratory classroom*. Cambridge, United Kingdom: Royal Society of Chemistry.
- [121] Endo, T., Fukunaga, T., Yoshimura, T., Esumi, K. (2006). Scavenging DPPH radicals catalyzed by binary noble metal–dendrimer nanocomposites. *Journal of Colloid and Interface Science*, 302(2): 516-521.

- [122] Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., & Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89, 411–420
- [123] El Moussaoui, A. *et al.* Antibacterial, antifungal and antioxidant activity of total polyphenols of *Withania frutescens* L. *Bioorg. Chem.* **93**, 1033 (2019).
- [124] S. Magaldi, S. Mata-Essayag, C. Hartung de Capriles, *et al.*, Well diffusion for antifungal susceptibility testing, *Int. J. Infect. Dis.* 8(2004)39–45.
- [125] C. Valgas, S. M. De Souza, E. F. A. Smânia, *et al.*, Screening method to determine antibacterial activity of natural products, *Braz. J. Microbiol.* 38 (2007)369–380.
- [126] Wiegand I, Hilpert K, Hancock REW. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc.* 2008;3(2):163–175. doi: 10.1038/nprot.2007.521.
- [127] Moussa A, Nouredine D, Abdelmelek M, *et al.* Antibacterial activity of various honey types of Algeria against pathogenic gram-negative bacilli: *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pac J Trop Dis.* 2012;2(3):211–214. doi: 10.1016/S2222-1808(12)60048-6
- [128] I. Ahmad, A. Z. Beg, Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens *J. Ethnopharmacol.*, 74 (2) (2001), pp. 113-123
- [129] Gupta, Shilpi Singh, Alka kurmi, Suaib Luqman, Dharmendra Saikia, Moni Thomas, Prasant Kumar Rout, Correlation of boswellic acids with antiproliferative, antioxidant and antimicrobial activities of topographically collected *Boswellia serrata* oleo-gum-resin, *Phytomedicine Plus* 2 (2022) 100289 :1-10
- [130] Biyiti LF, Meko'o DJL, Tamzouk *et al.* (2004) Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. *Trad pharmacol med Afr* 13: 11–20
- [131] Jules, K. N. G., Witabouna, K. M., Kouadio, G. N., *et al.* Fernique, K. K. (2017). Evaluation de l'activité antibactérienne des feuilles de *Spondias mombin* L. (*Anacardiaceae*) sur la croissance in-vitro de souches d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) et tri phytochimique [Evaluation of the antibacterial activity of leaves *Spondias mombin* L. (*Anacardiaceae*) on the in vitro growth of producing *Enterobacteriaceae* of bêta-lactamases at extended. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 20(2), 431-440.
- [132] Pirouzifard M, Yorghlanlu RA, Pirsas S (2019) Production of active film based on potato starch containing Zedo gum and essential oil of *Salvia officinalis* and study of physical, mechanical, and antioxidant properties. *J Therm Anal Calor.* <https://doi.org/10.1177/0892705718815541>
- [133] Shojaei-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S. M., *et al.* (2013). Characterization of antioxidant–antimicrobial–chitosan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 52(1), 116–124.
- [134] 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
- [135] S. Gopi, A. Amalraj, N. Kalarikkal, J. Zhang, S. Thomas, Q. Guo, Preparation and characterization of nanocomposite films based on gum arabic, maltodextrin and polyethylene glycol reinforced with turmeric nanofiber isolated from turmeric spent, *Mater. Sci. Eng. C* 97 (2019) 723–729.
- [136] Derya Alkan, PhD, Ahmet Yemenicioğlu, Potential application of natural phenolic antimicrobials and edible film technology against bacterial plant pathogens *Activité*
-

- antimicrobienne des films, *Food Hydrocolloids* (2015),1-26 doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.10.025.
- [137] Turkmen N, Sari F et Velioglu YS. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food Chemistry*. 99 (4), 835-841.
- [138] Lapornik B, Prošek M et Wondra AG. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*. 71, 214-222.
- [139] Cacace JE et Mazza G. (2002). Extraction à l'eau sulfurée des anthocyanines et d'autres composés phénoliques du cassis. Institut national de Technologie agricole. Canada pp1-16.
- [140] Bozin B., Mimica-Dukic N. et Samojlik I. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry*., 111:925–929.
- [141] Jayaprakasha, G.K., Girenavar, B. and Patil, B.S. (2008). Antioxidant capacity of pummelo and navel oranges : Extraction efficiency of solvents in sequence. *Food Science and Technology*. 41 :376-384.
- [142] Kil, H.Y., Seong, E.S., Ghimire, B.K., Chung, I.M., Kwon, S.S., Goh,E.J., Heo, K., Kim,M.J.,Lim, J.D., Lee, D., Yu, C.Y. (2009) Antioxidant and antimicrobial activities of crudesorghum extract.*Food Chem*.115:1234-1239.
- [143] Marjorie Murphy Cowan. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*.,(1999), vol. 12, n°4, p.564- 582.
- [144] Santos, L.S., Fernandes, C.C., Santos, L.S., Deus, I.P.B.D., Sousa, T.L.D., & Miranda, M.L.D. (2021). Ethanolic extract from *Capsicum chinense* Jacq. Ripe fruits: phenolic compounds, antioxidant activity and development of biodegradable films. *Food Science and Technology*, vol. 41(2), pp. 497-504.
- [145] Mathew, S., Brahmakumar, M., & Abraham, T. (2006). Microstructural imaging and characterization of the mechanical, chemical, thermal, and swelling properties of starch-chitosan blend films. *Biopolymers*, 82, 176–187
- [146] De Menezes Filho, A.C.P., Taques, A.S., Alves, I., Ventura, M.V.A., Batista-Ventura, H.R.F., de Sousa, W.C., De Souza Castro, C.F., Teixeira, M.B., & Soares, F.A.L. (2022). Development and evaluation of biodegradable packaging from the aryl of the fruit of *Hymenaea stigonocarpa*. *Revista de Agricultura Neotropical*, vol.9 (1), pp. 1-8.
- [147] Ana Salević, Dušica Stojanović, Steva Lević, Milena Pantić, Verica Đorđević, Radojica Pešić, Branko Bugarski, Vladimir Pavlović. The structuring of sage (*Salvia officinalis* L.) extract-incorporating edible zein-based materials with antioxidant and antibacterial functionality by solvent casting versus electrospinning ; *Foods*, 11 (3) (2022), p. 390. <https://doi.org/10.3390/foods11030390>

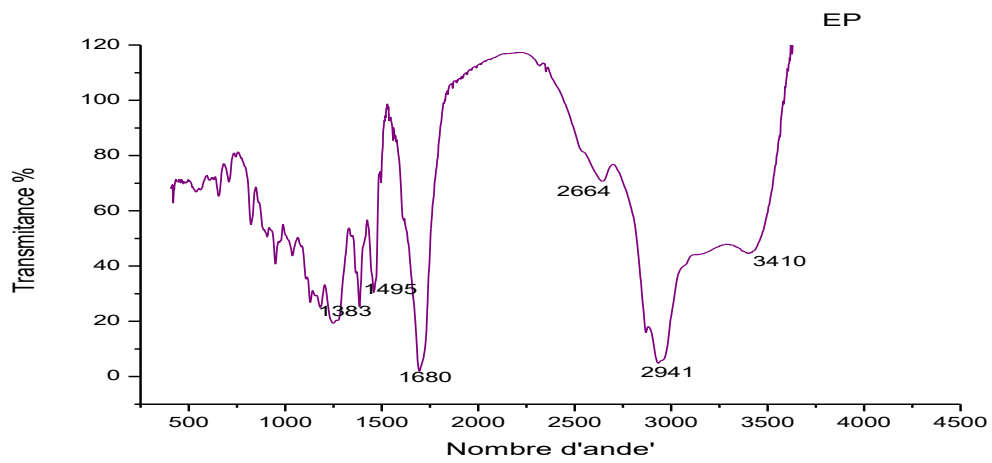


**Annexe I.1****1. Matériels et produits chimiques**

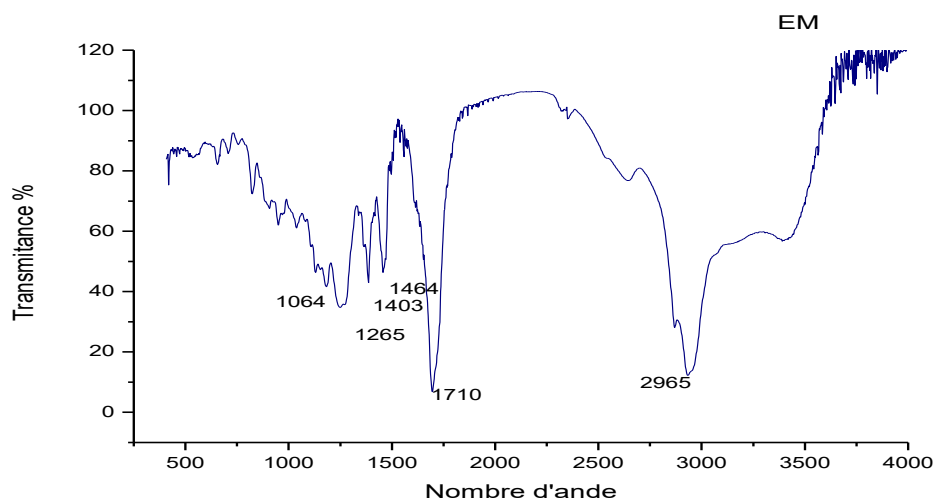
<b>Appareillages</b>	<b>Produits</b>	<b>Verreries</b>	<b>Autres matériels</b>
Autoclave.	Folin-Ciocalteu	Erlenmeyer	Papier filtre whatman
Moulin électrique	Chlorure ferrique	Entonnoir	Papier aluminium
Agitateur Magnétique	Trichlorure	Tube à essai	Papier absorbant
Plaque chauffante	d'aluminium	Bécher	Spatule
Balance de précision	Acide gallique	Eprouvette	eppendorf
Etuve	Quercitine	Flacon	Pinces
Centrifugeuse	DPPH	Boite pétri	Anses
Spectrophotomètre	Ethanol	Pipettes Pasteur	Cuve de
Vortex	acide sulfurique	Büchner	spectrophotomètre.
Ph mètre	hydroxyde de sodium	fiole jaugée	Micropipettes
Incubateur	carbonate de sodium	Verre de montre	
réfrigérateur	nitrite de sodium	Ballon	
ultrasons	methanol	Cristallisoir	
	d'acide chlorhydrique	réfrigérant	
	vanilline		
	chloroforme		
	propanol		

**Annexe II.1**

**Les résultats de la caractérisation infrarouge des extraits**



**Figure IV.3 : Spectre IR de l'extrait propanoïque**



**Figure IV.2 : Spectre IR de l'extrait méthanoïque**

**Annexe II.2****Résultats des dosages des polyphénols****1. Dosage des polyphénols totaux****Tableau 1** : La courbe d'étalonnage d'acide gallique

	80	100	120	140	160	180	200
Tube 1	0,281	0,460	0,448	0,532	0,470	0,796	0,381
Tube 2	0,383	0,505	0,546	0,417	0,672	0,736	0,868
Tube 3	0,355	0,508	0,276	0,701	0,333	0,686	0,830

**Tableau 2** : Les résultats de dosage des polyphénols

	E chloroforme	E méthanol	E éthanol	E propanol
Tube 1	0,112	0,113	0,110	0,107
Tube 2	0,113	0,108	0,110	0,111
Tube 3	0,135	0,112	0,114	0,110

**2. Dosage des flavonoïdes totaux****Tableau 3**: La courbe d'étalonnage de la quercétine

	20	30	40	60	70	80
Tube 1	1,852	0,352	0,341	0,538	0,248	0,271
Tube 2	1,140	0,404	0,360	0,218	0,240	0,293
Tube 3	0,148	0,242	0,224	0,415	0,532	0,638

**Tableau 4** : Les résultats de dosage des flavonoïdes

	E chloroforme	E méthanol	E éthanol	E propanol
Tube1	0,108	0,131	0,396	0,160
Tube2	0,123	0,214	0,114	0,148
Tube 3	0,151	0,504	0,139	0,337

**3 Dosage des tannins condensés**

	400	500	600	800	1000
Tube 1	0,443	0,565	0,533	0,534	1,352
Tube2	0,399	0,407	0,905	0,693	1,975
Tube3	0,391	0,549	0,952	0,637	1,148

**Annexe II.3**  
**Résultats de l'Activité antioxydant**

**Tableau 1:** Résultats d'absorbance de l'activité antioxydant de l'extrait éthanol

N°tube	1	2	3	4	5	6	7
C(µg /ml)	10	15	20	25	30	35	40
Tube 1	0.043	0.083	0.015	0.072	0.046	0.073	0.070
Tube 2	0.056	0.021	0.049	0.146	0.058	0.054	0.057
Tube 3	0.049	0.033	0.046	0.077	0.050	0.050	0.069

**Tableau 2 :** Résultats d'absorbance de l'activité antioxydant de l'extrait méthanol :

N° tube	1	2	3	4	5	6
C (µg/ml)	15	20	25	30	35	40
Tube 1	0.171	0.115	0.107	0.082	0.082	0.080
Tube 2	0.053	0.065	0.076	0.070	0.086	0.073
Tube 3	0.056	0.091	0.067	0.092	0.074	0.070

**Tableau 3 :** Résultats d'absorbance de l'activité antioxydant de l'extrait propanol :

N° tube	1	2	3	4	5	6	7
C (µg/ml)	10	15	20	25	30	35	40
Tube 1	0.037	0.057	0.069	0.085	0.082	0.076	0.106
Tube 2	0.037	0.057	0.068	0.080	0.081	0.066	0.081
Tube 3	0.033	0.096	0.061	0.077	0.085	0.100	0.071

**Tableau 4:** Résultats d'absorbance de l'activité antioxydant de l'extrait chloroforme

N° tube	1	2	3	4	5	6	7
C (µg/ml)	10	15	20	25	30	35	40
Tube 1	0.238	0.133	0.072	0.072	0.032	0.034	0.035
Tube 2	0.261	0.111	0.071	0.074	0.040	0.034	0.032
Tube 3	0.236	0.114	0.072	0.077	0.101	0.49	0.033

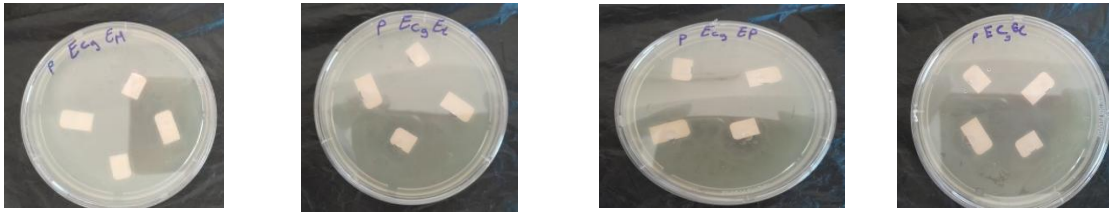
**Tableau 5 :** Résultats d'absorbance de l'activité antioxydant des films

	Méthanol	Éthanol	Chloroforme	Propanol
Tube1	0.578	0.559	0.270	0.272
Tube 2	0.728	0.587	0.258	0.281
Tube 3	0.697	0.640	0.298	0.285

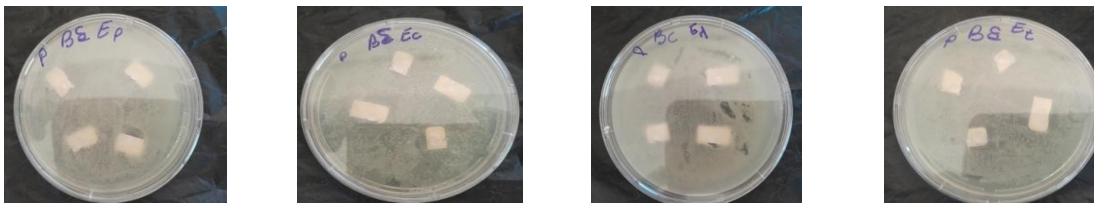
**Annexe II.4**

**Résultats de l'activité antibactérienne des extraits par la méthode diffusion des puits**

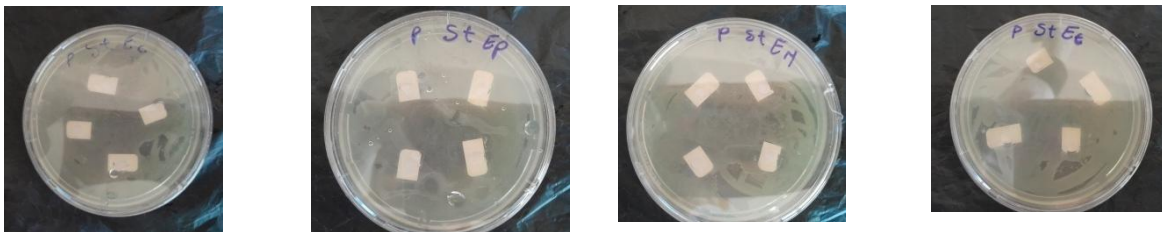
1. Résultats du premier protocole



**Activité antibactérienne vis -à- vis *Escherichia***



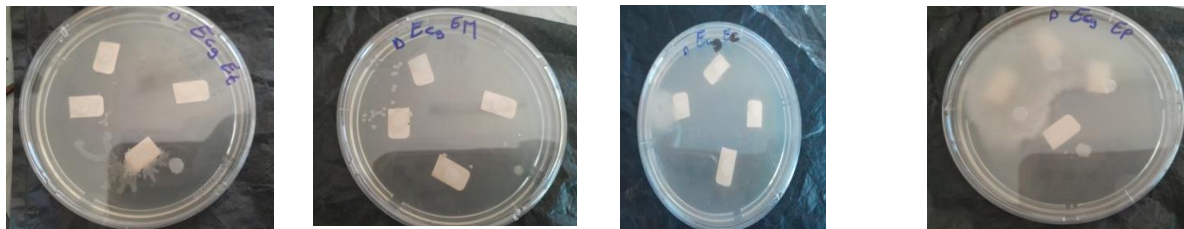
**Activité antibactérienne vis -à- vis *Bacillus cereus***



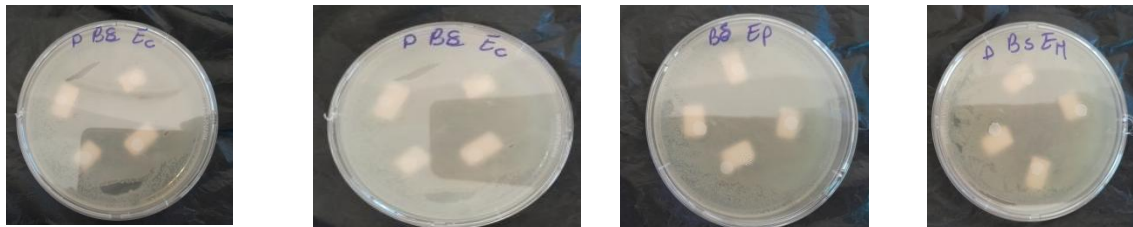
**Activité antibactérienne vis -à- vis *Staphylococcus aureus***

**Résultats de l'activité antibactérienne des extraits par la méthode diffusion des disques**

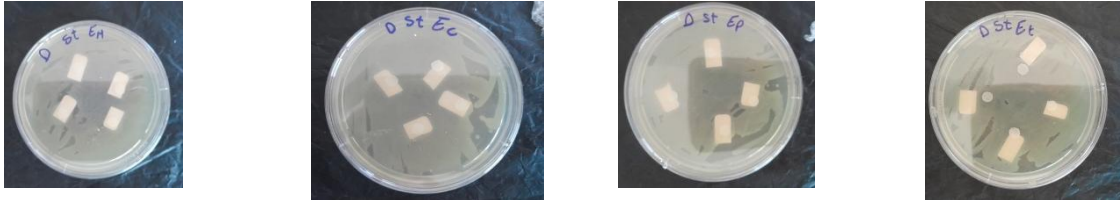
1. Résultats du premier protocole



**Activité antibactérienne vis -à- vis *Escherichia***



**Activité antibactérienne VIS -à- vis *Bacillus subtilis***



*Activité antibactérienne vis -à- vis Staphylococcus aureus*



**Figure 3 :** Activité antibactérienne de l'antibiotique Tobramycine TOB

**Tableau 1 :** Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanol et propanol

Les souches bactériennes	EE			EP		
	Dilution a différents concentration					
	20	50	80	20	50	80
Bacillus S	33	20.5	27.7	21.5	23	31.7
S. aureus	17	19	22.7	13.5	24	23.7
E. coli	21.5	21	26.7	20.5	19.5	31.5
Bacillus C	11.5	18.5	16	15	19	20.2

**Tableau 2 :** Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanol et chloroforme

Les souches bactériennes	EM			EC		
	Dilution a différents concentration					
	20	50	80	20	50	80
Bacillus s	30.5	17.5	20.7	31.5	23.5	24.5
S. aureus	22	16	23.7	13	19	21.2
E. coli	19.5	20.5	18	16	16	19
Bacillus c	24.5	13.5	14.2	15	12.5	13

**Tableau 3** : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits

Les souches bactériennes	Les différents extraits (C=100mg/l)			
	EM	EC	EE	EP
E.coli	19.2	32.7	31.7	27
Bacillus C	49.7	54.2	48.5	48.5
S. aureus	24.7	27.7	24.7	27.5

**Annexe II.5****Les caractéristiques des films élaborés****Tableau 1** : Teneur d'humidité des films

Film	$m_1$	$m_2$	MC (%)
F méthanol	0,2	0,192	4
F éthanol	0,2	0,085	57,5
F chloroforme	0,2	0,1633	18,35
F propanol	0,2	0,1633	18,35

**Tableau 2** : Pourcentage de solubilité des films dans l'eau distillée

Film	$W_i$	$W_f$	$W_s$
F M	0,2520	0,0917	63,611
FE	0,1601	0,0730	54,40
FC	0,2008	0,1021	49,15
FP	0,1427	0,0614	56,97

**Résumé :** L'objectif de ce travail vise le développement des films actifs à base de mélange amidon/ gomme de *Pinus halepensis*. La présente étude se concentre, dans un premier temps, à l'extraction des principes actifs de la gomme, suivi par des tests phytochimiques et dosage des polyphénols. Les résultats obtenus ont montré un rendement représentatif et l'analyse photochimique a révélé la richesse des espèces en métabolites secondaires. La deuxième partie a été consacrée à l'élaboration des films amidon/ polyphénols suivis par des essais de humidité, solubilité et l'évaluation de leur activité biologique. Les résultats ont révélé que les films présentent une activité antioxydant satisfaisante et un effet antimicrobien important contre les bactéries sélectionnées.

Mots-clés: amidon, bacteries ,extrait, gomme , *Pinus halepensis*

**Summary:** the objective of this work is the development of active films based on a mixture starch/gum of *Pinus halepensis*. The present study focuses, initially, on the extraction of the active ingredients from the gum, followed by phytochemical tests and dosage of polyphenols. The results obtained showed a representative yield and the photochemical analysis revealed the richness of the species in secondary metabolites. The second part was devoted to the development of starch/polyphenol films followed by humidity, solubility tests and the evaluation of their biological activity. The results revealed that the films exhibit satisfactory antioxidant activity and a significant antimicrobial effect against the selected bacteria.

**Key words:** starch, bacteria, extract, gum, *Pinus halepensis*

**ملخص:** لهدف من هذا العمل هو تطوير أفلام نشطة تعتمد على خليط النشا /الصمغ من نبات الصنوبر . تركز الدراسة الحالية، في البداية، على استخلاص المكونات النشطة من العلكة، تليها الاختبارات الكيميائية النباتية وجرعة البوليفينول . أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها عائدًا تمت يليًا وكشف التحليل الكيميائي الضوئي عن ثراء الأنواع في المستقبلات الثانوية. تم تخصيص الجزء الثاني لتطوير أغشية النشا /البوليفينول متبوعة باختبارات الرطوبة والذوبان وتقييم نشاطها البيولوجي. أظهرت النتائج أن الأفلام أظهرت نشاطًا مرضيًا مضادًا للأكسدة وتأثيرًا كبيرًا مضادًا للميكروبات ضد البكتيريا المختارة..

**الكلمات المفتاحية:** النشا، البكتيريا، المستخلص، الصمغ، الصنوبر الهالبيينسيس