

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA



FACULTEDESSCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Réf:/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/20

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine: SNV Filière: Sciences biologiques

Spécialité: Biochimie appliquée

Présenté par :

Boukerrou Nassima & Banoun Louiza

Thème

Valorisation et optimisation de l'utilisation des extraits de Foeniculum vulgare pour la fabrication d'un fromage (Effet sur les paramètres organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques)

Soutenu le : 29/09 / 2020 Devant le jury composé de :

Nom et Prénom Grade MCAM.DAHMOUNE FARIDE Univ. de Bouira Président M.CHERGUI ACHOUR MCBUniv. de Bouira Examinateur M.IMESSAOUDENE Ali MAA Univ. de Bouira Promoteur M.BOUDRAA Hayet **Doctorante** Univ. de Bejaia Co-promotrice

Année universitaire: 2019/2020

Résumé

Les conservateurs alimentaires synthétiques ont été limités dans plusieurs pays en raison de leurs effets indésirables sur la santé. D'une autre part, la tendance actuelle des consommateurs qui cherchent une alimentation plus naturels a augmenté ces dernières années. Donc plusieurs travaux de recherches ont été concentrés sur le remplacement de ces produits synthétiques par d'autres naturels et sains. Les composés phytochimiqes extraits de la plante de *Foeniculum vulgaire* semblent à être le meilleur alternatif.

La présente étude vise à valoriser la plante de *Foeniculum vulgare* locale, récoltée dans la région d'El ASNAM à Bouira en mars 2020 afin d'utiliser la partie aérienne non comestible « sous produit agricole » dans la production d'un fromage de type « fromage aux herbes » tout en utilisant les extraits de cette plante (les composés phénoliques et les huiles essentielles) comme agent conservateur et/ou aromatisant naturels.

Divers travaux scientifiques montrentde nombreuses activités biologiques de *Foeniculum vulgare*. L'ensemble des résultats obtenus révèlent egalement sa forte teneur en composés phénoliqueset l'incorporation de ses huiles essentielles dans des produits alimentaires a montré un effet conservateur plus élevé que celui observé avec les produits synthétiques, ce qui comfirme son aptidude à être utilisée dans l'élaboration d'un nouveau produit à base de feuilles et d'extraits de fenouil en améliorant ainsi la qualité nutritionnelle et organoleptique de ce produit, répondant de ce fait aux appréciations du consommateur.

Mots clés: Foenuculum vulgare, polyphénols, huiles essentielles, fromage, activités biologiques, incorporation, enrichissement.

Abstract

Synthetic food preservatives have been limited in several countries due to their adverse health effects. On the other hand, the current trend of consumers seeking a more natural diet has increased in recent years. So a lot of research has been focused on replacing these synthetic products with natural and healthy ones. Phytochemical compounds extracted from the common *Foeniculum* plant appear to be the best alternative.

This study aims to enhance the local *Foeniculum vulgare* plant, harvested in the El ASNAM region in Bouira in March 2020in order to use the inedible "by-product" aerial portion in the production of an "herb cheese" type cheese while using the plant extracts (phenolic compounds and essential oils) as a natural preservative and/or flavoring agent.

Various scientific studies show many biological activities of *Foeniculum vulgare*. All the results obtained also reveal its high content of phenolic compounds and the incorporation of its essential oils in food products showed a higher conservative effect than that observed with synthetic products; This makes it suitable for use in the development of a new product based on leaves and fennel extracts, thus improving the nutritional and organoleptic quality of this product, which is thus in line with consumer assessments.

Keys words: Foenuculum vulgare, polyphenol, essential oil, cheese, biological activity, incorporation, enrichment.

الملخص

قامت عدة دول من العالم بحظر استعمال المواد الحافظة بشكل قطعي لما لها من اثار سلبية على صحة المستهلك على العموم اضافة الى اتجاه هذا الاخير نحو ما يعرف بالنظام الغذائي الصحي.

ففي الاونة الاخيرة اصبحت المستخلصات الطبيعبة المستخرجة من نبتة البسباسFoenuculum vulgare محط الدراسة في العديد من البحوث و التي ركزت و بشكل كبير على مقارنة هذه الاخيرة بالمصنعة منها و المضافة الى الاغذية.

تهدف هذه الدراسة الى استخدام المستخلصات الطبيعية لنبتةالبسباس Foenuculum vulgare من زيوت اساسية huiles essentielles و مواد تعرف بتسمية المواد الدابغة polyphénols في صناعة ما يعرف بجبن الاعشاب بحيث تلعب دور الحافظ و المنكه نظرا لاحتوائها على مضادات الاكسدة و ايضا تمنع نمو البكتيريا و الفطريات على حد سواء.

النتائج المحصل عليها اثبت وجود كميات كبيرة من مواد تعرف بالمواد الدابغةpolyphénols ذلك ما يفسر النشاط البيولوجي لهذه النبتة, اضافة الى ان الزيوت المضافة ساهمت في الحفاظ على هذا الجبن في صورته الطازجة بالتالي تضمن سلامة المستهلك و تلبي حاجيته من جهة و تحسن المستوى الغذائي للمنتوج من جهة اخرى بالمقارنة مع الاصطناعة منها

الكلمات الدالة: نبتة البسباس, المواد الدابغة زيوت اساسية الجبن, النشاط البيولوجي وادماج و تعزيز

Remerciements Gariet van avenue van Satur Strien Savina van Sasitu Sava avenue van Satur Savina van Sasitu Sava avenue van Satur Savina van Sasitu Savina van Savi

Ce n'est pas parce que la tradition l'exige par habitude que cette page est présentée dans notre mémoire de fin d'étude, mais parce que les personnes à qui s'adressent nos remerciements les méritent vraiment.

Au début on adresse par nos remerciements à **Allah** de nous avoir aidé à accomplir ce modeste travail.

Nos síncères remerciements vont à notre encadreur M. Ali Imessaoudene et notre co_promotrice MmeBoudraaHayetpour l'honneur d'avoir proposé ce thème et de nous avoir dirigés tout au long de la réalisation de ce travail. Leurs orientations, Leurs encouragements, leurs compréhension et conseils, nous tenant à présenter toute nos gratitudes, nos respects et grande estime à vous.

Nous tenons aussi à adresser nos remerciements aux members de jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Nos remerciements vont également à **Mlle Ben Zitoun IMENE et Mme BouchalqiaNasma**, doctorantes travaillant au niveau de la facuté, de nous avoir aidé à réaliser l'extraction des polyphénols et pour le partage de leurs experiences, de leur patience et gentillesse.

Nous tenons particulièrement à remercier **nos parents** qui n'ont pas hésité de nous offrir tous les moyens et de nous avoir encouragée et conseillée.

Un grand merci à tous nos amis de la promotion du Master biochimie appliqué et mèmes les autres spécialités. On vous remercie pour les moments inoubliables que nous avons partagés ensemble, Merci infiniment. Nous exprimons nos vifs et sincères remerciements, à tout ceux qui ont participé de prêt ou de loin, et qui n'ont pas hésité à nous soutenir tout au long de nos études.



Dédicace

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que de dédie mon travail a mes cher, respectueux et magnifiques parents pour leurs soutient, leurs patience et leurs encouragements durant mon parcours scholaire

A mes sœurs et frère: Nabíla de toujours être la pour me faire avancer et de pouvoir tout partager avec moi, Nassira qui me soutient a n'import quelle moments et quoi que je fasse, a mon petit et cher frère qui sait m'écouter et toujours m'encourager, a mes deux anges saoud et mérale.

A ma copine boukerrou nassima de tous les moments qu'on a passés ensemble à la fac en tant que binôme et ailleurs, de savoir m'écouter et d'être ma meilleure copine ; a tous mes amis, ferial qui éssaye toujours me comprendre et a toutes nos longues discussion et moment fantastiques, a Lilia d'avoir accepté le petit dragon que je suis et de nos longues heures passée a rigoler, a chahira ma petite amis de votre spontanéité, votre honnêteté et de votre bon humeur pendants nos grandes soirée ; a Asma ,Hakima, Sara, Hanane, Naima,Raouya de vous gentillesse et de vous ouverture d'esprit, a kaissa d'être simplement ma sœur plus qu' une amie

Louiza

et si intensément.

A tous ma promotion qui ont fait que toutes ces années d'études sont passées si vite

Liste des abréviations

```
Ag
  Argent
  Aluminum
As
  Arsenic
B
  Bore
Ba
  Baryum
BHT
  l'hydroxyanisole butyle
  l'hydroxytoluène butylé
Ca
  Calcium
Cd
  Cadmium
  la concentration minimale inhibrice.
Co
  Cobalt
\mathbf{Cr}
  Chrome
Cu
  Cuivre
F
  Foenuculum
Fe
  Fer
CG-SM
  Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectrophotomèter de masse
  gluconodeltalactone
HE
  Huille essentielle
HPLC/IR
  . Chromatographie en phase lique à haute performance couplée à infra-rouge
IC50
  Indice cytotoxyque qui tue 50% pourcents de la population
In
  Indium
IZD
  diamètre de la zone d'inhibition
```

```
K
  Potassium
Li
  Lithium
MAP
  matières azotées protéiques
MFC
  la concentration fongicide
  Magnésium
MGES
  pourcentage de la matière grasse dans l'extrait sec
  Manganèse
Na
  Sodium
Ni
  Nickel
  Phosphore
  Plomb
Se
  Sélénium
Sr
  Strontium
Subsp
  sous espèce
TEFD
  pourcentage de la teneur en eau dans le fromage dégraissé
Tl
  Thallium
  Vanadium
var
  variété
ZI
  zone d'inhibition
Zn
  Zinc
```

Liste des figures

Figure 1:un schéma représentant l'inflorescence caractéristique des Apiacées4
Figure 2 : schémas montrant les formes de graines de différentes espèces de la famille des
ombellifères. 5
Figure 3: Représentation photographique de différentes parties de fenouil Plante entière
(a), fleures (b), bulbe (c), graines (d)
Figure 4 : classification didactique des fromages de (Lenoir <i>et al</i> , 1983)
Figure 5: Situation géographique de la région d'ASNAM
Figure 6 : photo réelle représentant l'échantillon analysé de fenouil
Figure 7 : représente l'échantillon de grain analysé de fenouil
Figure 8 : Les échantillons avant et après broyage
Figure 9: représentation de la partie aérienne avant et après broyage et tamissage 32
Figure 10 : représente l'équipement d'une extraction des huilles essentielles par
microondes
Figure 11 : les échantillons de fromage cottage le long de la durée de conservation 39
Figure 12 : Un échantillon de contrôle de fromage cottage après 14 jours d'entreposage,
montrant des signes de dégradation. 39
Figure 13 : L'apparence externe des 4 échantillons témoins (A), yaourt avec le
conservateur synthétique (B), yaourt enrichit avec la décoction de fenouil (C), yaourt enrichit
avec la décoction de camomille (D)

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des différentes parties de fenouil.	7
Tableau 2: Classification taxonomique de Foeniculum vulgare.	8
Tableau 3 : Tableau montrant certains noms vernaculaires de Foeniculum vulgare	9
Tableau 4: Tableau présentant la majorité des acides phénoliques et de flavon	noides
contenus dans la plante de fenouil	14
Tableau 5: classification du fromage en fonction de la consistance, la teneur en matie	ère
grasse et des principales caractéristiques d'affinage A-6	23
Tableau 6 : représentation des pertes en masses des graines à 105°C	43
Tableau 7: représentation des pertes en masses des feuilles à 105°C	44

Table des matière

Introduction	1
Partie 1: Synthèse bibliographique	
Chapitre 1: Etat de l'art sur la plante de fenouil	
I.1. Aspect botanique	3
I.1.1. Famille des apiacées	3
I.1.2. Espèce Foeniculum vulgare	6
I.1.2. 1. Historique	6
I.1.2. 2. Description botanique	6
I.1.2. 3. Classification	8
I.1.2. 4. Noms vernaculaires	9
I.1.2. 5. Distribution géographique	9
I.2. Phytochimie	10
I.2.1. Composition en métabolites primaires	10
I.2.2. Composition en métabolites secondaires	12
I.2.2.1. Les polyphénols	12
I.2.2.2. les huiles essentielles	15
I.3. Extraction de métabolites secondaires à partir de <i>Foeniculum vulgare</i>	17
I.4. Analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles et polyphénols	18
I.5. Activités biologiques des métabolites secondaires du fenouil	18
I.5.1. Activité antimicrobienne	18
I 5.2 Activité antifongique	19

I.5.3. Activtéantioxydante	20
Chapitre 2: Etat de l'art sur le fromage	
II.1. Historique et origine des fromages	22
II.2. Définition du fromage	22
II.3. CLASSIFICATION DES FROMAGES	22
II.3.1. Classification officielle ou modèle « anglo-saxon »	22
II.3.2. Classification didactique ou approche « européenne »	24
II.4. Méthode générale de fabrication du fromage	25
II.4.1. Préparation des laits de fromagerie	25
II.4.2. Coagulation	26
II.4.3. Egouttage	26
II.4.4. Salage	27
II.4.5. Affinage	27
Partie 2: Partie expérimentale	
III.1. Présentation de la situation	28
III.2.Présentation du matériel végétal	28
III.1.1. Critères de choix de la plante	28
III.1.2. Récolte, situation géographique et conservation	29
III.1.3. Préparation de l'échantillon pour l'extraction	30
III.1.4. Détermination de taux d'humidité	32
III.1.5. Extraction des composés chimiques de fenouil	33
III.1.5.1. Préparation d'échantillon végétale de fenouil pour l'extraction	33

Conclusion	46
IV.2. Discussion.	44
IV.1.2. Evaluation de la température d'extraction	44
IV.1.1. Détermination de taux d'humidité	43
IV.1. Résultats	43
III.1.9. Incorporation des extraits de fenouil ou sa poudre dans le fromage	38
III.1.8. Evaluation des taux decomposée phénoliques	36
III.1.7. Calcul du rendement d'extraction	36
III.1.6. Evaluation de la température d'extraction	36
III.1.5.3. Procedure d'extraction	33
II.1.5.2. Préparation de solvant d'extraction	33

Introduction

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales et aromatiques sont une sourceimportante de matières premières utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et parfumeries(Sayed-Ahmad, Talou et al. 2017). En raison de leurs propriétés biologiques qui sont due à la présence de nombreux produits phytochimiques actifs notamment les polyphénols et les huiles essentielles (Singh, Maurya et al. 2006).

Ces dernières années, l'utilisation des composés chimiques synthétiquesdans les produits alimentaires provoquent un problème majeur pour le consommateur et les industriels. La détérioration des aliments par les agents pathogènes peut diminuer la qualité nutritionnelle de l'aliment ce qui entraîne par la suite une décoloration decet aliment, apparition des moisissures, des changements biochimiques, la perte du poids de cet aliment et amène même à la toxicité. Cela peut également nuire à la santé humaine. D'une autre part, les additives synthétiquesindispensables pour la lutte contre ces phénomènes de résistance bactérienne et d'oxydation des aliments sonteux-mêmes un problemepour la santé des consommateurs. (Alenisan, Alqattan et al. 2017).

Il semble donc important de trouver une alternative pour ces additifs et qui devrait être naturelle et saine pour la santé de consommateur. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à étudier une plantequi pousse dans notre region ; qui est le fenouil dont le nom scientifique est *Foeniculum vulgare*.

Lefenouilest riche en antioxydants naturels phénoliques qui ont été progressivement appliquées dans la fabrication des aliments laitiers afin d'améliorer leurs propriétés nutritionnelles et contrôler la formations des radicaux libres pour remplacer les antioxydants synthétiques présentant des effets secondaires (Alenisan, Alqattan et al. 2017).

Les huiles essentiels extraites de *Foeniculum vulgaire*ont fait l'objet de plusieurs recherches scientifiques(**Ahmed**, **Shi** *et al.* **2019**; **Chen**, **Guo** *et al.* **2020**) ;qui portent aussi bien sur la composition chimique et l'activité biologique. Une attention croissante a été accordé à l'utilisation de cette huile comme aromatisant dans les produits alimentaires notamment les boissons,le pain et les produits laitiers (**Chen**, **Guo** *et al.* **2020**).

Introduction

Le choix de cette plante a été basé sur son utilisation fréquente dans nos traditions locales, culinaires et médicinales assurant qu'elle est saine donc adéquate et utile dans le domaine agroalimentaire en plus de son abondance dans notre région.

L'objectif de cette étude est de valoriser un produit naturel pour l'élaboration d'un ''fromage aux herbes'' à base des feuilles de fenouil tout en utilisant les extraits de cette plante (les composés phénoliques et les huiles essentielles) comme agent conservateur et/ou aromatisant naturels.

Lemanuscrit est composé de deux parties ; la première est consacrée à la synthèse bibliographique comprenant deux chapitres : un état d'art sur l'espèce étudiée (Foeniculum vulgaire) parlant principalement de sa description botanique, usages et applications en citant les travaux antérieurs réalisés sur sa composition phytochimique et ses différentes activités biologiques. Le deuxième chapitre donne un aperçu général sur les fromages et les procédés de fabrication de ses derniers. La partie expérimentale porte sur l'optimisation par les plans d'expériences de l'incorporation de fenouil (partie aérienne) et ses extraits (composés phénoliques et huiles essentielles) dans la fabrication d'un fromage au niveau de la laiterie « SENDOU » à Draa Ben Kheda de Tizi Ouzou. Une conclusion généraleetet des perspectives sont envisagées à la fin de ce document.

Partie 1 : Synthèse bibliographique.

I.1. Aspect botanique

I.1.1. Famille des Apiacées

Les plantes de la famille des Apiacées se composent de 3780 espèces dans 434 genres, elles presentl'un des plus grands taxonset les plus répondus dans le monde entier en raison de leur utilisation dans les productions alimentaires, pharmaceutiques, parfums et cosmétiques (Sayed-Ahmad, Talou et al. 2017).

Ce sont des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces, qui appartiennent à l'embranchement des Spermatophytes ou Phanérogames car ce sont des plantes à grains et se répartissant dans toutes les régions tempérées mais surtout dans l'hémisphère Nord (Zaharaddeen M Anka 2020).

C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées, Mais les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres parce qu'elles présentent plusieurs caractéristiques communes entres elles, telle que : la nature herbacée aromatique, les feuilles alternées avec une base de gainage, tiges creuses, de petites fleurs, inflorescences déterminées en ombelles simples ou composes et des graines conduites d'huiles essentielles (Sayed-Ahmad, Talou et al. 2017).

Les fleurs sont généralement blanches et plus rarement jaunâtres, verdâtres ou rosées, sont groupées en ombelles simples et le plus souvent, en ombelles composées (Filliat 2012).

Inflorescence simple : ombelle inflorescence composée : ombelle composée

Pédicelle = rayon

Involucre= ensembles des bractées

Figure 1:un schéma représentant l'inflorescence caractéristique des Apiacées (Filliat 2012).

Tandis que les fruits ou graines apparaissent après fécondation, lorsque l'ovaire infère devient un diakène ou double méricarpe en passant de plusieurs variations.

Chaque méricarpe possède une face plane et une face dorsale plus ou moins arrondie qui porte cinq côtes longitudinales gonflées: une dorsale, deux latérales et deux marginales; ce sont les côtes primaires. Entre deux côtes primaires, se trouve une dépression appelée vallécule où on observe habituellement une ou plusieurs poches sécrétrices allongées. Ces poches sont nommées bandelettes (Filliat 2012).

Les différentes formes de fruit ainsi que la présence ou l'absence de bandelettes, leur nombre, leur évolution sont des critères permettant la classification des différentes espèces au sein de cette famille (Filliat 2012).

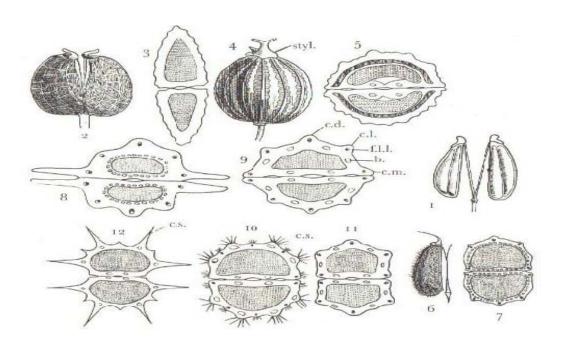


Figure 2 : photo montrant les formes de graines de différentes espèces de la famille des ombellifères (Filliat 2012).

1: Fruit montrant la séparation à maturité des deux méricarpes; 2-3. *Hydrocotyle vulgaris*: fruit comprimé latéralement; 4-5. *Coriandrumsativum*: fruit cylindrique avec arc scléreux dans le mésocarpe, sans canaux sécréteurs à maturité; 6-7. *Pimpinellaanisum*: fruit arrondi, à nombreuses bandelettes; 8. *Angelica sylvestris*: fruit comprimé sur le dos, côtes marginales ailées, nombreuses bandelettes; 9. *Foeniculumdulce*; 10. *Cuminumcyminum*: côtes secondaires garnies de poils; 11. *Carumcarvi*: 12. *Daucus carota*: côtes secondaires très saillantes:*styl*. Stylopode ; *c.d.*, côte dorsale ; *c.l.*, côte latérale ; *c.m.*, côte marginale *f.l.l.*, faisceau cribrovasculaire ; *b.*, bandelette ; *c.s.*, côte secondaire.

Parmi les plantes les plus importantes de cette famille, on cite: *FoeniculumvulgareMill*. Qui se caractérisent par d'innombrables avantages et activités biologiques en termes de contenu en métabolites primaires et métabolites secondaires.

I.1.2. Espèce Foeniculum vulgare

I.1.2. 1. Historique

Foeniculum vulgar eappartenant à la famille des Apiacées avec le nom commun de fenouil, mot latin pour le foin parfumé, est une ancienne herbe connue et utilisé depuis l'antiquitédans tous les paysen raison de sa saveur (Sayed-Ahmad, Talou et al. 2017); Et une épice très populaire utilisée depuis longtemps en Egypte et intensivement cultivé en Chine, et qui est aujourd'hui très connue dans la région méditerranéenne et en Europe centrale pour ses vertus médicinales et usages industriels (Akgül and Bayrak 1988; Lahsissene and Kahouadji 2010; El-Soud, El-Laithy et al. 2011; Sengupta, Verma et al. 2014).

I.1.2. 2. Description botanique

Cette unique espèce de 1,25 à 2,5 m de hauteur etdont toutes les parties : (bulbes, feuilles, tiges et graines.) sont comestibles, peut être divisé en différentes sous-espèces ouvariétés par ses produits chimiques ou son utilisation :Vulgare etpipéritum sont les principales sous-espèces (Zaharaddeen M Anka 2020).

Vulgare, regroupant tous les fenouils cultivés et naturalisésavec des graines sucrées à un goût plus ou moins anisé, variées selon les composés qu'ils la composent soit : Transanéthol, Limonène, éstragole...En fonction de la phénologie, l'état et l'origine des semences (Díaz-Maroto, Díaz-Maroto Hidalgo et al. 2005) :

- 1. Fenouil amer (Foeniculum vulgare Mill. Subsp. Vulgare var. Vulgare),
- 2. Fenouil doux (*Foeniculum vulgare* subsp. *Vulgare var.* Dulce) qui est un fenouil annuel ou biannuel avec des fruits au goût sucré utilisés comme condiments.
- 3. Bulbe de fenouil (*Foeniculum vulgare* subsp. *Vulgare var. Azoricum*), sous-espèce cultivée, qui est un fenouil annuel dans lequel la gaine hypertrophiée des feuilles basales constitue un bulbe utilisé comme légume.
- 4. *Cultivar 'Bronze'* Miller (fenouil doux bronze) qui est une variété horticole de fenouil.

Par contre, Piperitum, avec des graines amères, se caractérise par la présence de rotundifolone. C'est une plante vivace non cultivée avec des feuillescourtes, rigides, lobées et ombelles étroites qui produisent de petits fruits. Cette sous-espèce est dépourvue

deparfum d'anis, souvent confondu avec un chimiotype de *F. vulgare var. vulgare*, mais elle ne contient pas d'anéthol contrairement à ce dernier.

Cependant, selon d'autres botanistes, *F. Vulgare* juste deux variétés ; L'une est le fenouil doux (*F. vulgare var. Dulce*), qui est annuelle ou bisannuelle avec un petit goût sucré des fruits. L'autre est le fenouil amer (*F. vulgare var. Vulgare*), qui est une plante vivace avec des fruits à un goût amer.

Communément appelé "BESBES" par les populations locales, cette plante à tige dressée de 80 à 200 cm de longueur, ramifiée et à forte odeur d'anis s'adapatant bien aux sols argileux. Et dont les huiles essentielles (HEs) sont très utilisées par les industries pharmaceutiques, cosmétiques et également alimentaires (Akgül and Bayrak 1988).

Le fenouil représente des caractéristiques morphologiques presque identiques entres les cultivars doux et amers, la seule différenciation réside dans le gout des graines (Zaharaddeen M Anka 2020).

Les principales de ces caractéristiques morphologiques sont résumées dans le tableau 3

Tableau 1 : Caractéristiques des différentes parties de fenouil (Filliat 2012;Rather, Dar et al. 2016;Zaharaddeen M Anka 2020).

Organe	Caractéristique				
La tige	Cylindrique et rameuse, creuses, à la fois				
	souple et tubuleuse.				
Les feuilles	Pulmeuses, alternes et pétiolées peuvant				
	atteindre 40 cm de long; finement				
	disséqué avec des segments filiformes ultimes				
	d'environ 0,5 mm de largeur.				
	Le pétiole est pourvu d'une gaine très				
	développée, charnue et sucrée.				
	Les feuilles supérieures sont immobiles,				
	glabres ou dépourvus de poils, découpées en				
	lanières filiformes et très allongées.				
	Par contre, les feuilles de fenouil amer, sont				

	finement divisées et à pétioles moins engainants.			
Les fruits (graines)	Diakènes sèches de 4 à 10 mm de long			
	formés de 2 méricarpes.			
	De grandes tailles, couleurs presque toujours			
	claire, de saveur sucrée, dépourvues d'arrière-			
	gout amer et leurs méricarpes sont souvent			
	jumelés contrairement au fenouil amer.			
Les fleurs	Fleurs sous forme d'ombelles jaunes,			
	régulières, radiales, à 5 sépales formant une			
	crête, 5 pétales jaunes verdâtres tronqués et			
	enroulés vers l'intérieur, 5 étamines, 2 styles, un			
	ovaire faible et divisé en 2 loges,			
Les racines	Fuselées			

I.1.2. 3. Classification

Le fenouil est une plante très populaire qui a attiré une grande attention des chercheurs et nutritionnistes. Sa classification systématique est résumée dans le tableau 1 suivant :

Tableau 2 : Classification taxonomique de *Foeniculum vulgare* (El-Soud, El-Laithy *et al.* 2011).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae (Umbelliferae)
Genre	Foeniculum
Espèce	Foeniculum vulgare

I.1.2. 4. Noms vernaculaires

Cette plante est universellement connue sous le nom fenouil mais connue aussi sous plus de cent (100) noms (Akbar 2020). Certains de ces noms sont représentés dans le tableau ci-après.

Tableau 3 : Tableau montrant certains noms vernaculaires de *Foeniculum vulgare* (El-Soud, El-Laithy *et al.* 2011; Badgujar, Patel *et al.* 2014).

Nom binominal	Foeniculum vulgare Miller	
Latin	Foeniculum, maratrum	
Korea	Sohoehyang	
Italy	finochietto,finocchiella,	
	Finucchio, finucchiello	
Japanese	Fenneru, uikyou, uikyou,	
	Shouikya	
αηαζίγ	Avesvas	
Hindi (Indian	Badi, badishep, barisaunf	
language)		
Germany	Fenchel, fenchle, bitterfenchel	
French	Fenouil, Fenouil commun,	
	fenouil des vignes, aneth	
	doux, fenouil de Florence	
English	Bitter fennel, common fennel	
Arabic	الشمر والبسباس	

I.1.2. 5. Distribution géographique

L'origine de cette plante est le sud de la région méditerranée (ou elle est considérée comme indigènes sur les riviéres). Par la naturalisation et la culture, elle se développait et continue de façon sauvage à nos jours dans les hémisphères nord et ouest, en particulier en Asie, en Amérique du nord et en Europe ainsi qu'en Afrique du Nord (sur les sols secs près de la côte de la mer et sur les fleuves) (FENNEL; Filliat 2012; Rather, Dar et al. 2016).

Elle était connue aussi des anciens chinois, de la civilisation indienne et grecque et dont les romains l'ont cultivé pour ses graines aromatiques et les pousses charnues comestibles qui sont encore un légume très commun en sud d'Italie (El-Soud, El-Laithy et al. 2011; He and Huang 2011; Badgujar, Patel et al. 2014; Sengupta, Verma et al. 2014).

La Figure 3 représente des photos réelles des différentes parties de la plante de fenouil.



Figure 3: Représentation photographique de différentes parties de fenouil : Plante entière (a), fleures (b), bulbe (c), graines (d) (Kaur and Arora 2010).

I.2. Phytochimie

Des études ont été menées sur la composition chimique et la valeur nutritive de cette plante et elles ont montré la présence de nombreux composés; Principalement, des métabolites primaires comme les acides gras, les acides aminés, les glucides...Et des métabolites secondaires comme les composés phénoliques, leshuiles essentielles (composés volatils) (FENNEL; He and Huang 2011; Rahimi and Ardekani 2013; Miraj and Kiani 2016).

I.2.1. Composition en métabolites primaires

Lazouni, Benmansour, (2006) et al ont fait une étude sur les valeurs nutritives de différentes partiesdela plante de Foenicululm vulgare miller provenant de l'ouest algérienet, ils ont trouvé par la méthode de Kjeldehal que la teneur en protéines était de 17.5 % (teneurs moyennes exprimées en pourcentage par rapport à la matière sèche). Parrapport aux lipides estimés par l'extraction à l'appareil de Soxhlet utilisant l'hexane comme solvant et aux sucres obtenus par la méthode phénol / acide sulfurique,

étaient de 12 et 13 % respectivement. En utilisant la méthode de Henenberg et Stoma, le taux de cellulose brute est trouvé 40 %mg/g.

D'après **Lazouni, Benmansour**, (2006) *et al* aussi, les teneurs en eau et en cendres sont respectivement de 76,5 % et 6 %.

Barros, Heleno, (2009) et al ont fait une séries d'études sur le fenouil et c'est pour la première fois qu'ils ont realize en 2009 une étude systématique sur différentes parties de F.vulgare, afin de comprendre les différences dans le potentiel antioxydant des pousses, des feuilles, des tiges et des inflorescences ;liées à leur composition en composés antioxydants tels que les vitamines et les phénols. Il a été montré des niveaux plus élevés des deux vitamines E et C au niveau des pousses et des feuilles, tandis que les tiges ont révélé la plus faible teneur. Les quatre tocophérols (α , β , γ et δ -tocophérols) ont été quantifiés dans les inflorescences et les pousses et le γ -tocophérol n'a pas été détecté dans les feuilles et les tiges. La α -tocophérol était la principale vitamine E dans tous les échantillons.

L'acide ascorbique est majoritaire au niveau des pousses et les tocophérols totaux prédominent dans les feuilles.

Barros, Carvalho, (2010) et al qui utilisaient la méthode macro-kjeldahl pour l'estimation de la teneur en protéines brutes, l'extraction d'un échantillon en poudre de poids connu à l'éther de pétrole, à l'aide d'un appareil de Soxhlet pour détermination de la graisse brute, l'incinération à (600 ± 15) C° pour détermination des cendres ; ont trouvé la teneur en cendres la plus élevée dans les feuilles, tandis que la plus faible valeur a été trouvée dans les tiges. Ceci est dansaccord avec d'autres auteurs qui ont déclaré des niveaux plus élevés enminéraux dans les feuilles de fenouil que dans les fruits.

Les minéraux détectés sont : Ag, Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb,Se, Sr, Tl, V et Zn ont déjà été décrits dans le fenouil et les plus marqués d'entre eux sont K, Ca, Mg, P et Na.

En plus des teneurs totales, la chromatographie en phase gazeuse avec flamedétection d'ionisation a déterminé vingt acides gras dont les acides gras polyinsaturés étaient le groupe principal dans toutes les parties de fenouil; l'acide linoléique prédomine dans les petites pousses, les inflorescences, les tiges et les feuilles, de l'ordre de $39,99 \pm 0,68,38,94$

 \pm 0,23, 38,22 \pm 0,68et 23,25 \pm 0,07 %respectivement. Tandis que l'acide linolénique est prédominant dans les feuilles, les pousses, les tiges et les inflorescences de 43,55 \pm 0,40, 36,84 \pm 0,52, 22,86 \pm 1,31, 17,55 \pm 0,00 % respectivement.

Les niveaux les plus élevésdes acides gras ω -3 trouvés dans les feuilles ont contribué à son plus faible rapport d' ω -6 à ω -3 acides gras inférieur à 1 (0, 53); selon les hauteurs, ce faible ratio pourraient réduire le potentiel de cancer du poumon, l'asthme et peut prévenir la thrombose et l'athérosclérose. Et les niveaux les plus faibles d'acides gras ω -3 trouvés dans les fleurs ont contribué à son ratio le plus élevé d' ω -6 à ω -3.

En ce qui concerne la composition en sucres séparés parla HPLC/IR; Le fructose, le glucoseet le saccharose ont été présents dans toutes les parties du fenouil, à l'exceptionde saccharose dans les tiges.

Il a été rapporté aussi par **Zaharaddeen M Anka, (2020)** *et al* que les grais de *F.vulgare* contient 6,3% d'humidité, 9,5% de protéines, 10% de matière grasse, 13,4% de minéraux (calcium, potassium, sodium, fer, phosphore), 18,5% de fibres et 42,3% de glucides et les vitamines présents sont : la thiamine, la riboflavine, la niacine et la vitamine C.

I.2.2. Composition en métabolites secondaires

I.2.2.1. Les polyphénols

Ce sont des molécules appartenant au métabolisme secondaire de plantes et responsables de leur activité pharmacologique. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits (de plus grandes quantités dans les tissus externes). Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, mais ils jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème en se protégeant contre les rayons UV et l'activitépathogènes.

Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturelsdontenviron 8000 composés polyphénols ont été identifiés à ce jour, alors que seulement une centaine se produit dans les plantes comestibles. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6

carbones, auquel est directement lié au moins un groupehydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction éther, ester ou hétéroside (Drużyńska, Stępniewska et al. 2007; Achat 2013).

a. Classification des composes phénoliques

Selon Harborne, (1964) et al, les polyphénols peuvent être divisés en au moins 10 classes différentes selon leurs structures chimiques de base. Ils peuvent s'étendre de molécules simples telles que les acides phénols, aux composés fortement polymérisés tels que les tannins (Balasundram, Sundram et al. 2006). Plusieurs classifications des composés phénoliques basées sur de différents critères ont été proposées. Selon leur structure chimique, les polyphénols sont divisés en 4 classes majeures: phénols, acides phénoliques, flavonoïdes, tannins (Bennick 2002).

Une autre classification est basée essentiellement sur la structure, le nombre denoyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (D Archivio, Filesi et al. 2007; Stalikas 2007; Achat 2013) ; Dont les acides phénoliques, les flavonoides et les tanins sont considérés comme étant les principaux composés phénoliques (Balasundram, Sundram et al. 2006).

b. Les polyphénols isolés de F. vulgare.

Ahmed, Shi, (2019) *et al* ont montré par la méthode spectrophotométrique de Folinciocalteuque que les teneurs en composés phénoliques de deux échantillons de graines de fenouil d'Egypte et de Chine sont relativement importantes.

Les tests qualitatifs de Lazouni, Benmansour, (2006) et al ont montré une présence intéressante des Saponosides dans l'extrait aqueux des graines et racines, qui sont aussi moins importants au niveau des tiges. Une présence d'une quantité équivalente en Stérol et stéroïdes dans l'extrait éther des trois parties de la plante. Une quantité considérable de Flavonoïdes dans l'extrait éthanolique des graines, faibles au niveau des tiges et absente dans les racines. Les Tanins sont fortement présents dans l'extrait aqueux des tiges puis moyennement dans celui des graines et d'extrais éthanoliquede ceux derniers, et faiblement présents dans l'extrait ethanolique des tiges, et absents dans tout extrait de racines. Les

Coumarines sont fortement présents dans l'extrait éthanolique des graines, moyens dans les tiges et absents dans les racines.

On note également l'absence totale d'Alcaloïdes, Anthracénosides, Anthocyanosides et d'Emodol dans tous les extraits testés, qui peut selon les hauteurs avoir un rapport avec la méthode d'extraction parcequ' ils étaient détéctés dans d'autres recherches.

Tandis que l'analyse phytochimique qualitative et quantitative de **Kaur**, (2009) et al a montré la présence de 2.8 ± 0.17 % d'alcaloïdes, 15.06 ± 0.12 % de flavonoïdes, 27.77 ± 0.10 % de tanins, 0.55 ± 0.03 % de saponines et un taux de glycosides indéterminé.

Barros, Heleno, (2009) et al ont montré que le dosage des polyphénols au moyen d'un essai colorimétrique avec le réactif Folin-Ciocalteu et de flavonoïdes totaux déterminée par spectrophotométrie avec une méthode basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium des échantillons de différentes partie de la plante et avec utilisation de méthanol comme solvant d'extraction, ont donné les résultats suivants :

Les pousses et les feuilles ont révélé les rendements d'extraction en composés phénoliques totaux, y compris les flavonoïdes les plus élevés, qui sont d'après les hauteurs plus élevés au extrais aqueux et éthanoliques de d'autres études précédentes. Et les flavonoïdes, en particulier, n'ont été détectés que dans les pousses d'un rendement non néglegeable.

D'après la recherche bibliographique de **Zaharaddeen M Anka**, **(2020)** *et al*, *F. vulgare* contient plusieurs types d'acides phénoliques et de flavonoides (**Tableau 4**).

Tableau 4: Tableau présentant la majorité des acides phénoliques et de flavonoides contenus dans la plante de fenouil.

Classe de polyphénols	Les types existant
Acides phénoliques	l'acide 3-O-Caffeoylquinique,
	l'acide 4-O-caffeoylquinique, l'acide 5-O-
	caffeoylquinique, l'acide 1,3-O-di
	caffeoylquinique, l'acide 1,4-O-di-
	caffeoylquinique et l'acide 1,5-O-di
	caffeoylquinique.
Flavonoides	Les flavonoïdes comme l'éridictyol-
	7-rutinoside, la quercétine-3-rutinoside et
	l'acide rosmarinique). La quercétine-3-O-

galactoside, le kaempferol-3-O-rutinoside et le kaempferol-3-O-glucoside. Des trimers de Stilbènediglucoside, des dérivés benzoisofuranones, cis-miyabenol C, le transmyabenol C, le trans-resvératrol-3-b-D-glucopyranoside, le glycoside sinapyle, syringin-4-O-b-glucoside, l'acide oléanolique, le 7a-hydroxycampestérol, 5,8-épidioxy-ergosta-6,22-dien-3-ol, le 2,3-hydropropylheptadec-5-onoate et un glycoside de kaemferol acylé isolé de fleurs de F.vulgare.

Il y a aussi la quercitine-3-O-glucuronide, le kampférol-3-O-glucuronide, l'isoquercitine et l'isorhamnetin-3-O-glucoside qui été isolés de *F. vulgare* (Parejo, Viladomat *et al.* 2004).

Lazouni, Benmansour, (2006) et al ont montré que Les extraits aqueux et les extraits éthanolique des graines et des tiges de fenouil contiennent des tanins.

Zaharaddeen M Anka, (2020) et al ont également indiqué que les composés phénoliques présents dans *F. vulgare*ont reçu une forte attention chez les nutritionnistes, les scientifiques de l'alimentation et les consommateurs en raison de leur rôle dans la santé humaine parce qu'ils sont considérés comme étant associés à la prévention de maladies causées par le stress oxydatif comme les maladies cardiovasculaires, le cancer et l'inflammation.

I.2.2.2. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des liquides huileux aromatiques et volatils formés dans des cellules spéciales ou dans des groupes de cellules végétales; plus précisément dans le cytoplasme sous forme de minuscules gouttelettes entre les cellules, généralement concentrée dans une région particulière comme les feuilles, les écorce ou les fruits, (Mariod 2016). On peut les extraire a partir des parties aériennes mais aussi des rads et des

rhizome et sont trouvées stocker dans les organes sécrétoires et les cellules non différencier (Moghaddam and Mehdizadeh 2017). Mais parfois ne se forment pas dans la plante ellemême mais produites par hydrolyse de certains composés présents dans cette plante(Rios 2016).

La composition chimique des HEs qui a été définit comme pures et volatiles dans les conditions normales, sont caractérisés par un mélange lipophile, odorant ou /et inodorant, offrant ainsi aux plantes et aux épices leurs essences et leurs couleurs (Rios 2016; Adelakun, Oyelade *et al.* 2016).

Ils existent plusieurs théories qui s'intéressent au rôle des huiles essentiels chez les plantes et ils sont résumées par : leur potentiel de pollinisation, mécanisme de défense souvent en tant que répulsifs ou irritants. Mais aussi leur aptitude à protéger la plante d'éventuelles attaques pathogènes fongiques, bactériennes et oxydatives (Moghaddam and Mehdizadeh 2017).

• Identification chimique des huiles essentielles de Foeniculum vulgare

De nombreuses études ont été portées sur la composition chimique de l'huile essentielle de fenouil de fait qu'elle a été utilisé à diverses fins, notamment dans les produits alimentaires, comme aromatisant dans les produits prêts à l'emploi comme les bonbons, la crème glacée, le dentifrice et les boissons non alcoolisées ainsi dans le domaine cosmétique et pharmaceutique (Akhtar, Javad et al. 2020).

Une analyse de la composition des huiles essentielles de fenouil par une chromatographie en phase gazeuse couplée avec spectroscopie de masse a été réalisée par un groupe de chercheurs (Akhtar, Javad et al. 2020; Chen, Guo et al. 2020) qui a permet d'identifier les composants les plus importants chez cette plante; qui ont été représente par le trans anéthol, limonene, l'estragole et le fenchone ,dont le composant majoritaire a été le trans anéthol ce qui a poussé les hauteures à conclure que les activités biologiques qui ont été déterminée chez le fenouil peuvent être à l'origine de la présence de trans anéthol.

Une autre étude qui a été menée à examiner de façon comparative les produits chimiques des grains de fenouils de deux géographies déférentes la Chine et l'Egypte; et qui a été réalisée par (Ahmed, Shi,(2019) et al). Dont les graines séchées de F. vulgare ont

été écrasées en poudre et ont été soumis à l'hydro distillation avec de l'eau stérile pour l'extraction des huiles essentiels puis une analyse de GC-MS a été effectuée pour déterminer le profile chimique des composant volatiles. les résultats ont été listé comme suite : 27 constituants qui représentent 89,24 % de l'huile totale sont évalués chez le fenouil égyptien òu les principaux constituant testée ont été : Estragole (51,04 %), limonene (11,45 %), l-fenchone (8,19 %) et trans-anethole (3,62 %). Alors que 30 constituants, représentant 91,58 % de l'huile totale, ont été représenté Pour le fenouil chinoisdont les principaux constituants ont été les suivants : trans-anéthole (54,26 %), estragole (20,25 %), clôture en L(7,36%) et limonéne avec (2.41%) (Ahmed, Shi et al. 2019).

I.3. Extractions des métabolites secondaires à partir de Foeniculum vulgare

Les travaux antérieurs sur le fenouil font toujours appel à une étape primordiale qui est l'extraction qui peut être réalisée au moyen de nombreux et divers procédés, basée sur des techniques dites classiques ou conventionnelles ou bien par des techniques novatrices non traditionnelles.

Néomoins, il existe une relation de complémentarité entre le choix d'une technique d'exploitation des plantes aromatiques qui doit être adapté aux composés spécifiquement; Et à l'efficacité des produits d'extraction finaux qui dépendent de la sélection d'une bonne méthode d'extraction (Akhtar, Javad et al. 2020).

L'optimisation des paramètres d'extraction est une étape critique dans la recherche de composés naturels. Cela peut être une tâche difficile en raison de la grande complexité des tissus végétaux et les propriétés physicochimiques des composés bioactifs (Gavahian, Sastry et al. 2020).

D'après Akhtar, Javad, (2020) et al qui ont fait une étude comparative entre la méthode d'extraction innovante, assistée par micro-ondes, et les méthodes anciennes, soxhlet et macération à froid en utilisant l'eau comme solvant; En vu de prouver l'efficacité de micro-onde par rapport à ces dernières et d'avoir les conditions optimums d'extraction de composés phénoliques de la plante de *Foenuculum vulgare Mill* de Pakistan et leur potentiel antioxydant. La méthode de micro-ondes a donné des extraits plus élevés è un temps très réduit (4 min contre 20 et 24 min pour soxhlet et macération respectivement) dont les conditions d'extraction optimums se sont avérés : 600 W, 3min et

80 µm de taille de particules. Et le potentiel antioxydant était plus élevé (75%) en le comparant à celui des standards et celui des deux autres techniques.

I.4. Analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles et poly phénols

Lorsque la procédure d'extraction complète prend fin et que l'extrait végétal requis est obtenu, des analyses quantitatives et qualitatives sont nécessaires pour compléter ses recherches. Ils font appel à plusieurs techniques comme les méthodes micro analytiques qui permettent l'analyse des produits, l'identification, le dosage et séparation de structures chimiquesmême à l'état de traces (Manousi, Sarakatsianos et al. 2019). Parmi ces téchniques on cite :

❖ Analyse par couplage GC/MS

La méthode la plus utilisée dans le domaine des huiles et des arômes, est le couplage de la chromatographie gazeuse avec la spectrométrie de masse (GC-MS)

La GC-MS permet d'obtenir des niveaux de sensibilité très grands et de plus le couplage de ce détecteur à une colonne capillaire n'affecte pas la résolution de la séparation Le spectre de masse obtenu est comparé avec celui d'une bibliothèque informatisée (F. Lucaccioni, R. Denayer *et al.* (1993).

I.5. Activités biologiques des métabolites secondaires du fenouil

Foenuculum vulgare présente plusieurs activités biologiques comme l'activité antioxydante, antifongique, antimbactériène, anti-thrombotique, anti inflammatoire, activité oestrogétiques, hépatoprotective, anti-diabétique, acaricide, larvicide, insecticide, nématicide, effet sur les contraction utérines, activité inhibitrice du cytochrome P450 hépatique humain (Zaharaddeen M Anka 2020).

Les activités les plus étudiées sont l'activité antioxydante et antimicrobiènes.

I.5.1. Activité antimicrobienne

Des études sur l'activité antimicrobienne de HE de fenouil sont faites pour divers fins:pharmaceutiques et plus récemment pour assurer la sécurité microbienne des produits alimentaire (Mohamed Hussein Hamdy Robya and a 2013; Moghaddam and Mehdizadeh 2017).

Une étude a été réalisée sur six (6) type de bactéries pathogènes organisée comme suit : *Staphylococcus aureus*, *Klebciellapneumonia* (*K*92), *EsherciaColi* (*E*909), *Pseudomonas aeruginosa* (*P23*), *Bacillus cereus*(*B33*), *Brucella melitensis* (*Bm42*) dont cette activité a été mesurée par une zone d'inhibition on millimètre (ZI).

En terme de résultat toutes les bactéries étudiées ont été observé avec une ZI claire, cela veux dire que l'huile essentielle de fenouil possède une activité contre ces bactéries étudiées.

Il a également été trouvé que l'huile essentielle de graines de *F. vulgare* possède une activité antibactérienne contre certaines bactéries pathogènes humaines et des extraits à l'éthanol et à l'eau de *F. vulgare* utilisés anciennement pour le traitement des troubles gastro-intestinaux, ont montré une activité contre *Campylobacterjejuni* et *Helicobacterpylori* (Mahady, Pendland *et al.* 2005).

Kwon, **Choi** , **(2002)** *et al* ont identifié un dérivé phénylpropanoide comme principaux antimicrobien actif de la tige de *F.vulgare*, avec une autre molécule, lascopolétie, qui est un dérivé de la coumarine comme antimicrobien marginal.

I.5.2. Activité antifongique

Quatre type de souche de champignon ont été sélectionné afin d'être la base d'une étude d'activité antifongique d'une HE de fenouil qui a été réalisé par un groupe de chercheures Chen, Guo, (2020) et al Représenté comme suit : C. gloeosporioides,P. capsici,S. sclerotiorum et F. fujikuroi,dont l'interprétation des résultats a été basée sur la mesure de trois paramètres : de la concentration inhibitrice minimale CMI et la concentration fongicide MFC de huile de fenouil ainsi que IZD (diamètre de la zone d'inhibition) (mm).

Une divergence d'activité antifongique a été observée dont la plus forte a été contre la souche de *C. Gloeosporioides*, cette activité a été expliquée par le caractère lipophile des molécules d'HEavec un faible poids c'est-à-dire qu'elle a la capacité de pénétrer a travers la membrane des souches fongiques et d'affecter son intégrité (Chen, Guo et al. 2020).

Il a également été rapporté que cette huile essentielle réduisait la croissance mycélienne et la germination de *Sclerotiniasclerotiorum*; d'après les auteurs elle pourrait être utilisée comme alternative bio-fongicide aux fongicides synthétiques contre les champignons phytopthogènes (Soylu, Yigitbas et al. 2007).

D'apres **Singh, Maurya, (2006)** *et al* L'huile essentielle de fenouil présente ZIcomplètecontre *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium gramine arumet Fusarium mo niliforme* à une dose de 6 µl.

En plus **Abed**, **(2007)** ont concluent que l'huile essentielle de fenouil et ses extraits de graines auraient une activité antimycobactérienne et anticandidique. Ce résultat est suivi de celui de **Pai**, **Prashant**, **(2010)** *et al* qui disent que divers extraits d'écorce de *F. vulgare* possédent une activité antifongique contre *Candida albicans*.

I.5.3. Activté antioxydante

Plusieurs études comme l'étude de **Sun, Chu, (2002)** et al ont montré que les composés phénoliques peuvent être le principal contributeur aux activités antioxydantes totales des fruits.

Ruberto, Baratta, (2000) *et al* ont rapporté que les extraits d'huile essentielle et d'acétone de *F.vulgare*ont une forte activité antioxydante en comparaison avec l'hydroxyanisole butyle (BHT) et l'hydroxytoluènebutylé (BHT).

L'étude de **Faudale**, **Viladomat**, **(2008)** *et al* a montré que l'activité antioxydante qui réside dans le piégeage des radicaux de fenouil sauvage supérieure à celle des fenouils médicinaux et comestibles.

Il a été rapporté aussi en **2004** par **Parejo** *et al* que les composés phénoliques isolés des résidus des parties aériennes fleuries du fenouil amer possèdent une forte activité antiradicalaire pouvant contribuer à l'interprétation de l'effet pharmacologique de fenouil.

L'étude de **Shahat, Ibrahim, (2011)** *et al* sur les huiles essentielles des fruits de trois cultivars égyptiennes :Foenouilvar*azoritum, dulce* et *Vulgare* a montré qu'ils présentent une activité antioxydante dont les cultivars azoritum et dulce ont des antioxydants les plus efficaces que celles de vulgare.

En plus de ces dernière, il existe aussi l'activité cytotoxique qui est bien confirmée par un groupe de chercheurs Chen, Guo, (2020) et al qui ont faisaient leur étude sur des lignées cellulaires cancéreuses dans le but est d'évaluer l'effet de l'huile essentielle extraite à partir de fenouil, Et les résultats ont été obtenues par la suite se basant sur les calcules de taux d'inhibition et la valeur IC50 indiquant que l'huiles analysée a une forte activité sur la lignée cellulaire MGC-803 de cancer gastrique que d'autre (Chen, Guo et al. 2020).

II.1. Historique et origine des fromages

La découverte du fromage, aurait été un heureux accident tout en remarquant que tout le lait laissé au chaud, ou stocké dans un sac fabriqué à partir de l'estomac d'un animal aurait fait en sorte que les matières solides du lait (le caillé) et le liquide (le petit-lait ou le lactosérum) se coagulent. Cela permettait aux gens d'apprendre que leur produit le plus précieux, le lait, pourrait être conservé sous la forme du fromage. Maintenant, le fromage est fabriqué par tout le monde avec toutes sortes de laits. Bien que le lait soit pratiquement le même partout dans le monde, la diversité des textures, des goûts et des arômes de fromage est presque infinis, et pratiquement n'importe quel fromage peut être fabriqué partout dans le monde. C'est une question de matière première : type et de la race de l'animal, le sol, le pâturage, le climat, le microclimat et le savoir-faire du fromager(Fox, McSweeney et al. 2004; Harbutt 2009).

II.2. Définition du fromage

Selon le CODEX ALIMENTARIUS / CODEX STAN 283-1978, le fromage est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi dure, dure ou extra-dure qui peut être enrobé, et dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine ne dépasse pas celui du lait. Le fromage est le produit obtenu par coagulation du lait suivie d'un égouttage du coagulum. Les fromages sont obtenus à partir des matières d'origines exclusivement laitières (lait, lait partiellement ou totalement écrémé, babeurre) utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage (FONTENEAU; Lapointe-Vignola 2002; Jeantet 2006).

Le marché du fromage en Algérie est estimé par 85 000 tonnes par an (La-Production-Algerienne juin 2017).

II.3. Classification des fromages

La grande diversité du fromage rend leur classification et leur caractérisation difficiles **(FONTENEAU)**. Une évaluation des systèmes se classification par famille indique deux approches majeures et différentes :

II.3.1. Classification officielle ou modèle « anglo-saxon »

Selon la norme internationale FAO/OMS n° A-6 ou du codex alimentaireCODEX STAN A-6-197,le fromage peut être classé selon des formules descriptives appropriées.

Chapitre II : Généralités sur le fromage : Etat d'art

- Selon la fermeté (Formule I) qui appartient à l'intervalle de 69 à 51 % d'où la pâte molle évolue jusqu'à la pâte extra dure, cette classification est portée selon la teneuren eau dans le fromage dégraissé (TEFD).
- La deuxième classification (Formule II) est classée selon la teneur en matièregrasse par rapport à l'extrait sec total.
- La troisième classification (Formule III) : les fromages sont classés en troiscatégories différentes selon le type d'affinage du fromage. Ces classifications sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 6: Classification du fromage en fonction de la consistance, la teneur en matière grasse et des principales caractéristiques d'affinage A-6(FAO/OMS, 1994).

Form	Formule I		ule II	Formule III
TEFD %	la dénomination	MGES %	la dénomination	Dénomination d'après les principales caractéristiques d'affinage
< 51 49-56	Pâte extra dure Pâtedure	> 60 45-60	Extra gras Tousgras	1. Affinage *principalement en surface; *principalement dans la masse. 2. affine aux
61-69	Pâte demi dure Pâte demi molle	25-45	Migras Quart gras	moisissures a- Principalement en surface; b- Principalement dans la masse.

Chapitre II : Généralités sur le fromage : Etat d'art

> 67	Pâtemolle	< 10	Maigre	3. Frais	

TEFD: pourcentage de la teneur en eau dans le fromage dégraisséc'est-à-dire : poids de l'eau du fromage x100/ (poids total du fromage - matière graisse du fromage).

MGES: pourcentage de la matière grasse dans l'extrait sec c'est-à-dire: la teneur en matière grasse du fromage x100/ (poids total du fromage- eau dans le fromage) (FONTENEAU; Mietton 1995; Harbutt 2009).

II.3.2. Classification didactique ou approche « européenne »

Principalement utilisée en France et en Europe su Sud, elle utilise les processus technologiques comme critères pour la classification. Lenoir, (1983) et al donnent une vue synthétique et didactique de la diversité du fromage français selon les modalités de coagulation, d'égouttage et d'affinage du caillé d'où la grande diversité du fromage (Voir la figure 4) (FONTENEAU; Mietton 1995; Harbutt 2009).

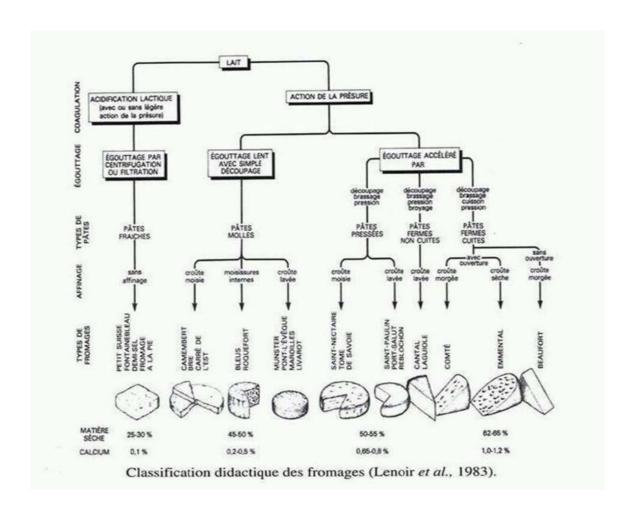


Figure 4 : Classification didactique des fromages de (Lenoir *et al*, 1983).

II.4. Méthode générale de fabrication du fromage

II.4.1. Préparation des laits de fromagerie

Le lait peut présenter une composition très variable selon l'espèce animale, la race, l'individu, le stade de lactation, le mode et le moment de la traite, la saison, le climat et l'alimentation. De ce fait tous les laits n'ont pas la même aptitude à la transformation fromagère (FONTENEAU). Il lui faut alors quelques transformationset d'ajustement.

II.4.1. 1. Standardisation physicochimique

Elle consiste à ajuster le taux des matières azotées protéiques (MAP), matière grasse (MG) et même ajustement du pH. Dans le but de rendre le lait plus apte à se coaguler.

II.4.1. 2. Standardisation biologique

• Les traitements thermiques

Des traitements thermiques moins intenses que la pasteurisation (**thermisation**) qui correspond à un chauffage à 62-65C° maintenu pendant 15 â 20 secondes sont assez souvent pratiqués tout en assurant une réduction des bactéries indésirables (les psychotropes et les coliformes) (**Harbutt 2009 ; FONTENEAU**).

• La maturation

C'est l'ajout de bactéries lactiques dans le lait qui vont consommer une partie du lactose et restituera de l'acide lactique, luipermettra l'acidification du milieu pour favoriser la baisse du pH; ce qui permet l'améliorationde notre coagulation et notre égouttage. Opération faite si l'on cherche un lait relativement acide (FONTENEAU).

II.4.2. Coagulation

Elle correspond à un changement d'état physique irréversible du lait au repos (FONTENEAU). Il en a deux, coagulation par la voie acide qui consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique (pHi=4.6) par acidification du lait, elle peu être faite soit par des ferments lactiques qui transforment le lactose en acide lactique (acidification biologique), soit par injection de CO2 ou addition de gluconodeltalactone (GDL) (acidification chimique) ou Par ajout de protéines sériques à pH acide. Coagulation par la voie enzymatique due à l'action de la présure: la chymosine et la pepsine (Mahaut, Jeantet et al. 2000). Ou encore coagulation par la voie mixterésultant de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification, avec des propriétés intermédiaires (Mahaut, Jeantet et al. 2000).

II.4.3. Egouttage

Cette phase consiste en l'élimination plus ou moins grande du lactosérum emprisonné dans les mailles de gel formé par la voie acide et/ou enzymatique (FONTENEAU; Mahaut, Jeantet et al. 2000).

II.4.4. Salage

La pâte obtenue est salée par addition de chlorure de sodium. Le sel inhibe certaines proliférations microbiennes, complète l'égoûttage du caillé et relève la saveur du fromage **(FONTENEAU ; Alais and Linden 1997).** Soit par saupoudrage à la main ou à la machine, par frottage ou par incorporation dans le caillé ou en saumure généralement saturée (318 g /litre à 20°C).

II.4.5. Affinage

Cette opération est la plus importante dans les fromages affinés. C'est une période de maturation pendant laquelle les propriétés sensorielles des fromages se développent grâce à une variété de réactions biochimiques comme l'utilisation des sucres, des acides organiques, des protéines et des lipides du caillé (Mietton 1995; Lapointe-Vignola 2002).

Il résulte de ces réactions le développement de la saveur et de l'arôme typique des fromages grâce à de nombreux composants appartenant à des classes chimiques variées (acides, alcools, esters, produits soufrés, etc (Mahaut, Jeantet et al. 2000).

L'affinage s'effectue à une température et une humidité qui varient selon le type de fromage.

La température a un effet direct sur l'activité microbienne et enzymatique.

Partie 2 : Partie expérimentale

III.1. Présentation de la situation

Dans le but de l'élaboration d'un fromage aux herbes à base des feuilles et des extraits de fenouil, le présent travail comporte deux parties principales. Une première partie est consacréeà la préparation du matérial végétal et l'extraction des huiles essentielles et composés phénoliques à partir des grains du fenouil et la plante lyophilisée. Cette partie est réalisée au niveau des laboratoires de la faculté de sciences de la vie et de la terre de l'université de Bouira.

La deuxième partie est l'optimisation par plan d'expérience de la formulation du fromage par incorporation des poudres et des extraits obtenus de fenouil, suiviéepar une étude de stabilité du produit (fromage élaboré) tout au long de son procédé de fabrication (matière première et produit fini) jusqu'à son affinage en suivant les différents paramètres à savoir paramètres physicochimiques, microbiologiques, et sensoriels. Cette partie est prévue etre réaliser au niveau de la laiterie « SENDOU » de Draa Ben Kheda de Tizi Ouzou.

Cependant, vu la situation sanitaire actuelle relative au Covid19, la dexième partie de cette étude n'a pas été achevé. A cet effet, les résultats des études simillares sur l'icorporation de fenouil dans les produits laitiers ont été aportés dans ce chapitre.

III.2. Présentation du matériel végétal

III.1.1. Critères de choix de la plante

Le fenouil parsasaveur caractéristique agréable est classé parmi les plantes les plus utilisées comme source d'épices et d'extraits. Cette planteest très abondante dans notre région d'un rendement approximatif de 20 à 25 t / ha, et c'est une plante non toxique vu qu'elleest utilisée dans les préparations culinaires et dans les tisanes pour nourrissons. D'après les études antérieures, elle est très riche en substances aromatiques et en composés phénoliques. Cependant, les travaux sur la valorisation et l'utilisation de la plante de cette région dans les produits alimentaires plus précisément les produits laitiers restent minimes.

III.1.2. Récolte, situation géographique et conservation

• Les parties aériennes (feuilles) du fenouil

Les parties aériennes de fenouil ont été récoltées tôt le matin au mois de février de l'année 2020, dans la région d' El ASNAM.

El ASNAM est une commune algérienne située dans la daïra de Bechloul de la wilaya de Bouira en Kabylie. D'une altitude par rapport au niveau de la mer égale 109 m, Cette région est caractérisée par un climat méditerranéen avec un été chaud et sec et un hiver froid et humide.



Figure 5: Situation géographique de la région d'ASNAM.



Figure 6 : photo réelle représentant l'échantillon analysé de fenouil.

• Les graines

Les graines ont été achetées, sous forme séchée, chez un herboriste de la wilaya de bouira. En surveillant l'odeur forte et la couleur éclatante caractéristique d'épice étudié. Ces graines ont été conservées dans des sacs propres pour servir ultérieurement à l'extraction des huiles essentielles et polyphénols.



Figure 7 : représente l'échantillon de grain analysé de fenouil.

III.1.3. Préparation de l'échantillon pour l'extraction

Les différentes étapes de préparation de l'échantillon aux expériences se présentent de la manière suivant :

***** Les graines

- **Tri**: Cette étape a été réalisée pour débarrasser la matière première des parties étrangères afin de garder seulement les graines pures.
- **Broyage** : Il a été effectué à l'aide d'un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre.
- Tamisage: La poudre a été tamissée dans un tamis de 200 μm de diamètre afin d'obtenir une poudre très finedont l'extraction des composés bioactifs est optimal.

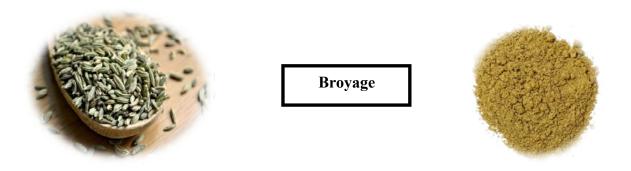


Figure 8 : Les échantillons avant et après broyage.

La partie végétale

Les parties aériennes (feuilles) de fenouil ont été lavées avec de l'eau de robinet puis avec de l'eau distillée, séchées avec du papier absorbant puis elles ont été découpées en petits morceaux de 5 mm on utilisant un couteau puis ont été conservé dans des sachets de 5 g dans le frigo à 4°C.

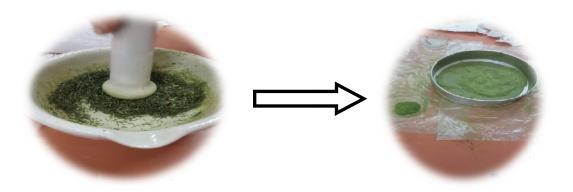


Figure 9: Représentation de la partie aérienne avant et après broyage et tamissage.

III.1.4. Détermination de taux d'humidité.

• Taux d'humidité pour la poudre des graines : Elle a été déterminée selon la norme NF B 51- 004.

3 gramme (3 échantillons) des grains de fenouil ont été prises séparément dans 3 boites de pétrie en verre, puis ont été séché dans une étuve à 105°C, et à chaque demi-heure le pois est enregistré jusqu'au poids constant. Après le taux d'humidité a été calculé selon la loi suivante :

tauxd'humidité =
$$\frac{mi - mf}{mi}$$
. 100

mi : masse initial des graines de fenouil

mf: masse finale des graines après séchage

• Taux d'humidité pour la plante (feuille) fraiche

Il a été déterminée aussi selon la norme NF B 51- 004, avec la même procédure que celle de la poudre des graines.

III.1.5. Extraction des composés chimiques de fenouil

III.1.5.1. Préparation d'échantillon végétale de fenouil pour l'extraction

> Lyophilisation

La matière végétale a subit une étape de lyophilisation pour être prête pour la

procédure d'extraction.

Principe

C'est un processus par lequel l'eau est extraite d'un produit par sublimation après

avoir été congelée ; elle est considérée comme une méthode de choix pour le séchage des

formulations de médicaments biopharmaceutiques, qui sont généralement instables dans les

milieux aqueux, et aussi souventthermolabiles (Maja Bjelošević, Alenka Zvonar Pobirk

et al .2020).

II.1.5.2. Préparation de solvant d'extraction

Un volume de 300 ml d'éthanol de 95% a été utilisé pour préparer le solvant

d'extraction à 50% en utilisant la loi suivante :

C1.V1 = C2.V2

C1: concentration d'éthanol à 95 %

V1 : le volume d'éthanol de 95% utilisé (300 ml)

C2: concentration d'éthanol à 50%

V2 : volume cherché d'éthanol qui doit être utilisée dans l'extraction

III.1.5.3. Procedure d'extraction

Il existe plusieurs procédès d'extractions des composés bioactifs des plantes;

parmis elles il y a celles qui sont traditionnelles comme l'hydro distillation et d'autre

novatrice comme l'extraction par gaz supercritique et l'extraction assisté par micro-

ondes qui a été utilisée dans notre travail.

33

Le choix decette méthode d'extraction a été basé sur l'efficacité de cette dernière de point de vue du rendement et d'avantages commedans la protection des composants bioactifs, qui en effet selon plusieurs littératures restent intactes tout au long de leur extraction. En plus de ça, on cite la facilité de l'optimisation des paramètres d'extraction comme la température, la pression et le temps nécessairepour assurerune récupération optimale des composés désirés. Dans notre cas, cette étape d'optimisation a été déjà faite par Mm Boudraa Hayet notre co-promotrice, avant même de tout commencer afin d'éviter la perte de temps et d'accélérer la procédure. La température a été mesurée à chaque extraction.

Vu les avantages énormes de la méthode d'extraction assistée par microonde qui ont été motionnées dans la littérature notre extraction des composants bioactifs de la plante de fenouil de la région d'El Alsnam a été réalisée à l'aide de cette technologie innovante afin de récupérer le maximum de composée phénolique et de l'huile essentiel qui la compose.

Principes de la technologie des micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes est basée sur la perturbation ou changements dans la structure des cellules lors de l'application d'ondes électromagnétiques non ionisantesavec des fréquences allant de 300 MHz à 300 GHz(Gomez, Tiwari et al. 2020).

Le transfère d'énergie se fait par des mécanismes de conduction qui se rapporte à lamigration des ions à travers une solution, provoquant unechaleur dans le milieu due à la résistance du solvant à la migration ionique lors de l'application d'ondes électromagnétiques et de rotation dipolaire qui fait référence à la réorientation des molécules dans la direction de champ électrique, provoquant une agitation thermique (Gomez, Tiwari et al. 2020).

Cette chaleurest directement transférée au solide sans absorption par le solvant dans le cas d'un solvant transparent au micro-ondes ou avec une absorption moindre en cas d'un solvant absorbant comme l'éthanol qui est un solvent polaire, ce qui entraîne une augmentation de température, et provoque l'évaporation de humidité chauffée qui est capable de créer une pression de vapeur élevée, ceci se traduit par la rupture de la cellule de

la plante et enfin dans la libération des composés emprisonnée dans les cellules (Manousi, Sarakatsianos et al. 2019).

Le chauffage se fait de manière ciblée et sélective avec pratiquement aucune perte de chaleur dans l'environnement, car le chauffage se produitdansun système fermé, ce qui est montré dans la figure ci-après.

Afin d'améliorer l'efficacité de l'extraction avec le rayonnement micro-ondes, de nombreux paramètres qui peuvent influencer la performance de la technique pouvant être contrôlés à savoir : a) la nature du solvant, b) le rapport solvant-plante,(c) le temps d'extraction, d) la puissance des micro-ondes, e) la température, f) l'effet de l'agitation, etc (Manousi, Sarakatsianos et al. 2019).

C'est une technique simple et rapide qui nécessite moins de solvant et moins d'énergie que l'extraction traditionnelle. De plus, la dégradation par la chaleur des composées extraites peut être réduite et la pureté des extraits peut être augmentée.

Préparation des extraits hydro-éthanoliques ou extraction des polyphénols totaux

Une masse de 1 gramme de la poudre des feuilles ou poudre des graines a été prise à l'aide d'une balance électrique, puis a été ajouté à un volume de 30 ml de solvant préparé, pris par une éprouvette ; le mélange a été introduit dans une fiole jaugée de 50 ml et a été mise en extraction dans la microonde.

Puis l'extrait a été filtré on utilisant un papier filtre et le filtrat est récupéré dans une éprouvette graduée de 50 ml. Par la suite le volume a été ajusté avec d'éthanol jusqu'à 50 ml, rapporté dans des flacons étiquetés et à la fin les 300 ml de cette extrait hydroéthanolique sont conservés à une température de 4°Cpour une utilisation ultérieure.

> Extraction de l'huile essentielle de fenouil

L'extraction des huiles essentielles a été programméed'être faite par microonde (hydrodistillation par appareil Clevenger assistée par microonde). La figure 11 représente l'équipement d'une extraction des huiles essentielles par microondes.

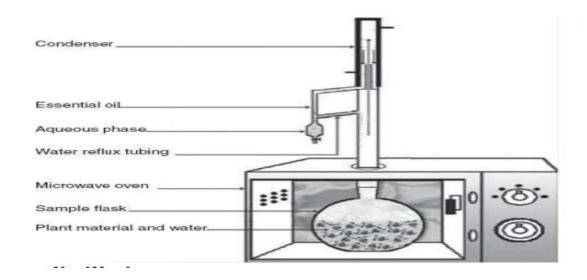


Figure 10 : représente l'équipement d'une extraction des huilles essentielles par microondes (**Hesham H. A. Rassem***et al.***2016**).

III.1.6. Evaluation de la température d'extraction

Une fois l'extraction a été terminée, la température à été prise à l'aide d'un thermomètre à l'intérieure du ballon.

III.1.7. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement en polyphénols est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse du matériel végétal traité (matière sèche). Ce rendement doit être calculé par la formule :

$$R(\%) = (M/M0) \times 100$$

R: Rendement en %, M: Masse en gramme de l'extrait sec résultant, M_0 : Masse en grammes du matériel végétal obtenu après dégraissage.

III.1.8. Evaluation des taux decomposée phénoliques

Dosage des phénols totaux

Selon Barros, Heleno, (2009) et al et plusieurs autres hauteurs la teneur en composants phénoliques des extraits de *Foeniculum vulgaire Mill*a été estimée on utilisant la méthode de folin-Ciocalteu, décrite par (Boizot and Charpentier 2006) Comme étant un

mélange d'acide phosphoriques (H3PW12O40) et d'acide phosphomolybdique (H3PM012O40) de couleur jaune dans lesquels le tungstène et le molybdène sont à l'état oxydé et dont une forte absorbance devant être détectée à une longueur d'onde de 765 nm.

Barros, Heleno, (2009) *et al* qui utilisaient les extraits méthanoliques de la poudre sèche des feuilles, des tiges, des inflorescences et des pousses ont mélangé une aliquote de chaque extrait avec du réactif Folin-Ciocalteu (5 ml, préalablement dilué aveceau 1:10 v/v) après un volume de 4ml d'une solution carbonate de sodium (75 g/l) a été additionnée au milieu réactionnel, par la suite les tubes ont été laissé reposer 30 min à 40°C à l'obscurité pour le développement des couleurs.

L'Absorbance ensuite a été mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre et la concentration des polyphénols totaux a été calculée a partir del'équation de régression de la gamme d'étalonnage qui a été établie avec de l'acide gallique (0,05 à 0,8 mM) et les résultats ont été exprimés en mg d'équivalents acide gallique (GAEs) par g d'extrait.

➤ La teneur totale en flavonoïdes

Selon **Barros**, **Heleno**, **(2009)** *et al* aussi, la détermination de la teneur en flavonoïdes de la plante de fenouil a été basée sur la méthode spectrophotométriede formation d'un complexe flavonoïde-aluminium, avec quelques modifications déterminée.

Une aliquote de 0,5 ml de la solution extraite a été mélangé avec de 2 ml l'eau distillée puis une solution de 0,15 ml de NaNO2 (5%) a été additionnée au milieu réactionnel, Après 6 minutes, un volume de 0,15 ml de la solution d'AlCl3 (10 %) a été ajoutée au mélange et le tout a été laissée reposer pendant 6 min; plus tard une solution de NaOH (4 %, 2 ml) a été ajoutée au mélange ensuite un volume d'eau distillée a été ajoutée pour porter le volume final à 5 ml. Ensuite il a été bien mélangé et laissé reposer pendant 15 min.

L'intensité de la couleur rose a été mesurée à une longueur d'onde de 510 nm. La concentration des flavonoïdes a été établie avec la catéchine qui a été utilisée pour calculer

la courbe standard (0,0156 à 1,0 mM) et les résultats ont été exprimés en mg d'équivalents (+) catéchines (EC) par g d'extrait.

III.1.9. Incorporation des extraits de fenouil ou sapoudredans le fromage

De fait que les additifs synthétiques sont devenus une source d'inquiétude suite à leur utilisation fréquente, plusieurs chercheurs ont donné une grande attention à la recherche d'autres alternatifs qui ne devant porter aucun risque à la santé humaine ou au contraire contribuer à son amélioration (notion d'aliment fonctionnel qui désigne tout aliment à haute valeur nutritive et bioactive avec une durée de conservation plus longue et qui présente un avantage dans la conservation de la santé humaine) (Caleja, Barros et al. (2015).

Certains auteurs ont observé que les produits alimentaires laitiers ont une teneur limitée en composés bioactifs, ce qui peut diminuer certaine valeur à ces produits, donc ils suggéraient l'incorporation d'additifs à base de plantes ou de fruits pour enrichir ces produits et pour éviter l'utilisation massive d'additifs synthétiques. Et afin d'augmenté la durée de conservation et pour fournir des propriétés bioactifs à un produit laitier (fromage cottage), une étude intitulé *Foeniculum vulgare Mill. as natural conservation enhancerand healthpromoter by incorporation in cottage cheese* a été faite par un groupe de chercheures Caleja, Barros, (2015) *et al* qui ont étéintéressé à l'utilisation de l'extrait enrichit en polyphénol et la poudre de fenouil comme ingrédients naturelles dans ce fromage, vu leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes prouvées dans plusieurs autres études. De ce fait une extraction par décoction a été faite afin de les récupérer; par la suite des analyses se poursuivaient pour évaluer l'effet d'enrichissement de fromage cottage par l'extrait riche en poly phénol et la poudre de la plante:

- La couleur a été évaluée à l'aide d'un colorimètre.
- L'analyse des compositions nutritionnelles s'est basée sur la procédure AOAC décrite en 1995,

Le suivi de la couleur tout au long de la durée de conservation (une analyse immédiatement après la préparation, après sept jours et après quatorze jours) a été illustré dans la figure ci-dessous dont aucun changement indésirable n'a été signalé pour les deux échantillons enrichis avec l'extrait et la poudre on comparaison avec l'échantillon témoin

(sans ingrédient naturel) qui lui a montré un changement de couleur après 14 jours, ce qui signifie la présence d'une activité protéolytique due à une contamination microbienne.

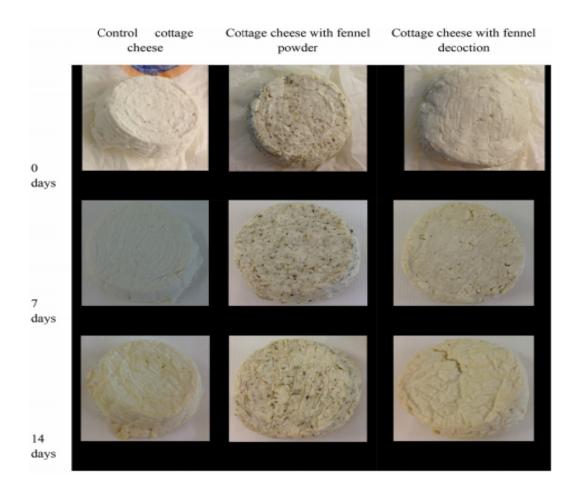


Figure 11 : Les échantillons de fromage cottage le long de la durée de conservation (Caleja, Barros et al. 2015).



Figure 12 : Un échantillon de contrôle de fromage cottage après 14 jours d'entreposage, montrant des signes de dégradation (Caleja, Barros *et al.* 2015).

En ce qui concerne la qualité nutritionnelle, l'analyse des composés (glucides, acide gras etc.), elle n'a monté aucune différence significative pour les deux échantillons enrichis soit d'extraits phénoliques ; soit par la poudre c.-à-d qu'il y avait un maintien de leur valeur tout au long de la période d'entreposage. L'exception a été faite pour les valeurs énergétiques qui ont été augmentée par apport au témoin, mais aussi le type d'acide gras le plus dominant (Acide stéarique).

L'activité antioxydante a également été évaluée dans cette étude et les résultats ont montré une déférence d'activité entre les échantillons enrichis par la poudre et celle par l'extrait dont la plus forte activité a été décrite pour l'extrait phénolique incorporé dans le fromage avec aucune activité n'a été présente chez le témoin. Donc l'incorporation du fenouil a amélioré l'activité antioxydante de ce fromage.

L'utilisation de fenouil en produits laitiers est reconfirmé par une autre étude de Caleja, Barros, (2016) et al qui utilisaient une masse de 40 mg d'extrait lyophilisé obtenu par la décoction d'un échantillon de la plante de fenouil et ils l'ont ajouté à 100 mg de yaourt, comparé avec un échantillon préparé par un conservateur synthétique (le sorbate de potassium), un échantillon préparé à base d'un extrait d'une autre plante (camomille) et évidemment l'échantillon témoin. Le suivi de ces échantillons en terme de composition nutritionnelle, de paramètres physicochimiques et de l'activité antioxydante tout au long de leur durée de conservation (une analyse immédiatement après préparation, après sept jours et après quatorze jours) a montré que le yaourt enrichit avec l'extrait aqueux de fenouil et de camomille sont améliorés de point de vu de l'activité antioxydante avec une capacité plus importante que celle trouvée dans le yaourt contenant le sorbate de potassium. En plus, l'incorporation de la décoction des deux plantes n'a pas modifié de façon significative le profil nutritionnel, l'apparence externe comme la couleur et le pH dans le yaourt pendant sa période normale d'entreposage. La figure ci après montre la ressemblance dans l'apparence des 4 échantillons testés.



Figure 13 : L'apparence externe des 4 échantillons témoins (A), yaourt avec le conservateur synthétique (B), yaourt enrichit avec la décoction de fenouil (C), yaourt enrichit avec la décoction de camomille (D) (Caleja, Barros *et al.* 2016).

Donc d'après cette étude le fenouil peut être utilisé comme conservateur puissant dans la fabrication du yaourt aussi bien que le fromage.

Et comme première fois, (Rajić, Đorđević, (2018) et al). Ont testé l'activité antioxidante de l'extrait hydroéthanolique (50%) de fruit de fenouil obtenu par la méthode ancienne de percolation, dans le but d'évaluer la possibilité d'utiliser cet extrait dans les produits alimentaires et ont prouvé que cette extrait peut sans doute être utilisé comme source d'additifs alimentaire non seulement comme arome spécifique mais aussi comme antioxydant avec un effet conservateur, en se basant premièrement sur la sécurité d'éthanol (les extraits peuvent être utilisés sans élimination de ce solvant) ; puis sur leurs résultats qui montraient des valeurs élevées en polyphénols notamment p-hydroxybenzoique et acide chlorogénique comme les plus dominants et aussi de flavonoïdes, et de degré efficace de la capacité antioxydante de l'extrait étudié qui montrait des valeurs importants par la méthode de FRAP et DPPH. En plus de ca ces auteurs ont remarqué qu'il y avait une corrélation positive très significative entre la teneur en composés polyphénoliques et la capacité antioxydante, ce qui indique que les composés polyphénoliques avaient la plus grande contribution à cette activité. Donc cet extrait de fenouil préparé par l'éthanol/eau est un meilleur alternatif pou les additifs synthétiques dans l'agroalimentaire.

En plus des analyses physicochimiques, les analyses de la composition nutritionnellede l'activité antioxydanteet microbiologique, il y a aussi l'analyse sensorielle pouvant être effectués pour le suivi des produits laitiers à base de fenouil. Dans ce contexte une étude intitulée *Textural Properties of HerbyCheese*a été réalisé par un groupe de

chercheure **Ozcan**, **Yilmaz-Ersan**, **(2017)** *et al* sur les propriétés de fromage aux herbes, basée sur l'analyse sensorielles afin d'évaluer l'acceptabilité de ces fromage par le consommateur de fait qu'il est habituer à la forme standard de fromage en terme de couleur, propriétés aromatiques et texturales .

Cette analyse a été effectuée dans des cabines individuelles éclairées par une lampe blanche et une température ambiante où touts les échantillons portaient des étiquettes montrant des poids et des codes pour l'identification. Après gustation un panneau sensoriels a été demandé afin de d'écrire des attributs de la texture, de la couleur, du gout et de l'intensité aromatique en attribuant un score d'appréciation sur une échelle de cinq point : a-fortement testé, b-modérément/légèrement n'aime pas, c-indifférent, d-modérément/légèrement aimé, e-fortement aimé. En fin un plan d'expériences est réalisé pour l'évaluation de leur produit et il s'est avéré que l'ajout de la plante a apporté une amélioration gustative (goût arômatisé).

Chapitre IV: Résultats et discussions

IV.1. Résultats

IV.1.1. Détermination de taux d'humidité

> Taux d'humidité des graines

Les poids obtenus après séchage sont illustrée dans le tableau suivant :

Tableau 7: représentation des pertesen masses des graines à 105°C.

Temps	1 heure	1 heure	2	2	3	3
Mas		et	heures	heureset	heures	heures30min
se		30min		30min		
M1	4,42	4,39	4,38	4,37	4,35	4.35
M2	4,56	4,53	4,51	4,51	4,51	4,51
М3	4,54	4,53	4,53	4,52	4,52	4,52

• Calcule de taux d'humidité (x)

$$X = \frac{mi - mf}{mi} \times 100$$

Le taux d'humidité des graines de fenouil est de $10,80\% \pm 0,09$.

> Taux d'humidité des feuilles

Les pertes en eau après chaque intervalle du temps sont enregistrées dans le tableau suivant :

Chapitre IV : Résultats et discussions

Tableau 8 : représentation des pertes en masses des feuilles à 105°C.

Temps	2heures	3heures	3heurse	4 heures	4	5 heures
Mas			et 30min		heureset	
se					30min	
M1	0,88	0,87	0,86	0,85	0,85	0,85
M2	0,87	0,87	0,85	0,83	0,83	0,83
М3	0,92	0,90	0,90	0,88	0,87	0,87

• Calcule de taux d'humidité (x)

Le taux d'humidité des feuilles de fenouil est de 83 %±0,02.

IV.1.2. Evaluation de la température d'extraction

La température accordée à l'extrait des graines de fenouil est représentée par la moyenne de trois prises. La température à la fin de l'extraction est de 64,96 °C±2,56.

La température accordée à l'extrait de lyophilisat des feuilles est de 71,36 °C±2,11.

IV.2. Discussion

IV.2.1. Détermination de taux d'humidité

• Pour les feuilles

Le taux d'humidité de cette partie du fenouil est de 83 ± 0.02 %. Le résultat obtenu par (Barros, Carvalho *et al.* 2010) a montré que le taux d'humidité des feuilles d'une variété du Nord Est du Portugal est de 76.36 %. Une autre étude sur une variété de fenouil sauvage (plante entière) provenant de l'ouest algérien, a montré un taux d'humidité de 76.5

Chapitre IV: Résultats et discussions

% (Lazouni, Benmansour et al. 2006). Ces variations sont probablement dues aux différences environnementales entre les régions.

• Pour les graines

Les graines de fenouil ont montré un taux d'humidité de 10,80 \pm 0,09%.

Cette faible teneur en eau permet demieux conserver les propriétés antioxydantes des composés phénoliques totaux présents dans la poudre.

IV.2.2. Evaluation de la température d'extraction

La température affecte directement la cinétique du transfert de masse du solide vers lesolvant donc l'efficacité de l'extraction. Elle dépend principalement du solvant, dela matrice végétale et de la puissance de micro-onde (Camel et al. 2000). Et l'élévation de la températureaugmente la solubilité et la diffusivité de la solution et réduit sa viscosité. Mais elle augmenteaussi la perméabilité des parois cellulaires et donc diminue la sélectivité et provoque malheureusement la dégradation des produits finis. Donc La températureopératoire est limitée par ce risque de dégradation.

Dans cette étude, les températures d'extraction des polyphénols des deux échantillons extraits des graines et des feuilles sont réspéctivement $64,96 \pm 2,56$ C° et $71,36 \pm 2,11$ C°.

Conclusion

Conclusion

Notre investigation s'est portée sur l'incorporation des huiles essentielles, de composés phénoliques de la poudre de feuilles et des graines de fenouil dans le fromage, dans le but d'améliorer l'appréciation du consommateur et d'assurer une bonne qualité hygiénique du produit.

Mais à cause du problème sanitaire dû au COVID-19 on n'a pas pu accomplir le travail et le peu qu'on a réalisé dans la pratique nous ne permet pas d'attirer de bonnes conclusions sur ce sujet. Néaumoin l'ensemble des résultats obtenues par des études antérieurs comfirment l'avantage de la plante de fenouil et ses extrais dans l'enrichissement de fromage et de produits laitiers en générale; surtout qu'ils ne modifient pas d'une manière significative le profil nutritionnel, et les proprités physico-chimiques. Au contraire, ils maintiennent la qualité nutritionnelle, hygièniques, l'apparence et améliorent la qualité organoléptique du produit.

Ces études ont révélé que l'introduction des extraits enrichis en polyphénols ou en huiles essentielles améliore l'activité antioxydante avec une capacité supérieure à celle des additifs synthétiques, et le potential antioxidant est plus élevé dans le cas des polyphénols car ce sont des antioxydants puissants. Celà rend les parties non comestibles de fenouil utiles dans la transformation des aliments pendant leur période de stockage.

Cette étude fournit de nouvelles perspectives intéressantes dans le secteur laitier qui est en constante évolution, et l'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche de la substance naturelle biologiquement active, donc il serait plus intéressant en perspective de procéder à :

L'élargissement de l'étude sur ces parties de plante de fenouil vue leurs caractéristiques intéressantes.

Conclusion

- Etablir des testes antioxydants et antibactériens et d'autre, plus détaillés et plus avancée sur ces parties de plante.
- ➤ Il est nécessaire d'approfondir l'étude phytochimique des extrais obtenues par ces parties de fenouil pour savoir les molécules qui sont à l'origine de toutes les activités trouvées.
- ➤ Il est aussi important de chercher à comprendre le mécanisme d'action des composés phytochimiques de cette plante sur la santé humaine tant qu'ils sont impliqués dans la preventions de plusieurs maladies.

En plus, la méthode de microonde utilisée pour la récupération decomposés phytochimques de la plante étudiée prend moins du temps, utilise moins d'énergie et une forte force de pénétration dans la matrice végétale pour obtenir plus d'extraits, cela peut egalement réduire la température d'extraction des composés ce qui les protège de la détérioration et réduire aussi lecoûtde production.

- ➤ Donc, cette technique peut étre suggérée aux industries laitieres pour l'extraction des extraits de fenouil ainsi que d'autres plantes medicinales et aromatiques.
- Mais il faut noter que la prise de la température d'extraction du composé souhaité doit étre réalisée au cours de la procédure d'extraction et non à la fin. c.à.d à l'intérieur du microonde à l'aide d'une sonde fibroptique ; un détail qu'on a échapé à cause du manque de matériel.

Références

A

Abed, K. F. (2007). "Antimicrobial activity of essential oils of some medicinal plants from Saudi Arabia." <u>Saudi Journal of Biological Sciences</u> 14(1): 53-60.

Achat, S. (2013). <u>Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques, Avignon.</u>

Adelakun, O. E., O. J. Oyelade, et al. (2016). Use of essential oils in food preservation. Essential oils in food preservation, flavor and safety, Elsevier: 71-84.

Ahmed, A. F., M. Shi, et al. (2019). "Comparative analysis of antioxidant activities of essential oils and extracts of fennel (Foeniculum vulgare Mill.) seeds from Egypt and China." Food Science and Human Wellness 8(1): 67-72.

Akbar, S. (2020). Handbook of 200 Medicinal Plants. <u>Foeniculum vulgare Mill.</u> (<u>Apiaceae/Umbelliferae</u>)pp 931-945.

Akgül, A. and A. Bayrak (1988). "Comparative volatile oil composition of various parts from Turkish bitter fennel (Foeniculum vulgare var. vulgare)." <u>Food Chemistry</u> 30(4): 319-323.

Akhtar, I., S. Javad, et al. (2020). "Process optimization for microwave assisted extraction of Foeniculum vulgare Mill using response surface methodology." <u>Journal of King Saud University-Science</u> 32(2): 1451-1458.

Alais, C. and G. Linden (1997). "Abrégé de biochimie alimentaire. 4éme Edition Masson." Paris,(119-123).

Alenisan, M. A., H. H. Alqattan, et al. (2017). "Antioxidant properties of dairy products fortified with natural additives: A review." <u>Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences</u> 24: 101-106.

B

Badgujar, S. B., V. V. Patel, et al. (2014). "Foeniculum vulgare Mill: a review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology." <u>BioMed research international 2014</u>.

Balasundram, N., K. Sundram, et al. (2006). "Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses." <u>Food Chemistry</u> 99(1): 191-203.

Barros, L., A. M. Carvalho, et al. (2010). "The nutritional composition of fennel (Foeniculum vulgare): Shoots, leaves, stems and inflorescences." <u>LWT-Food Science and Technology</u> 43(5): 814-818.

Barros, L., S. A. Heleno, et al. (2009). "Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of Foeniculum vulgare Mill. from Portugal." <u>Food and Chemical Toxicology</u> 47(10): 2458-2464.

Bennick, A. (2002). "Interaction of plant polyphenols with salivary proteins." <u>Critical Reviews in Oral Biology & Medicine</u> 13(2): 184-196.

Boizot, N. and J.-P. Charpentier (2006). "Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier." <u>Cahier des Techniques de l'INRA</u>: 79-82.

Bourrain, J.-L. (2013). "Allergies aux huiles essentielles: aspects pratiques." <u>Revue Française d'Allergologie</u> 53: 30-32.

C

Chen, F., Y. Guo, et al. (2020). "Insight into the essential oil isolation from Foeniculum vulgare Mill. fruits using double-condensed microwave-assisted hydrodistillation and evaluation of its antioxidant, antifungal and cytotoxic activity." <u>Industrial Crops and Products</u> 144: 112052.

Couic-Marinier, F. and A. Lobstein (2013). "Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine." <u>Actualités pharmaceutiques</u> 52(525): 18-21.

D

D Archivio, M., C. Filesi, et al. (2007). "Polyphenols, dietary sources and bioavailability." <u>Annali-Istituto Superiore di Sanita</u> 43(4): 348.

Díaz-Maroto, M. C., I. J. Díaz-Maroto Hidalgo, et al. (2005). "Volatile components and key odorants of Fennel (Foeniculum vulgare Mill.) and Thyme (Thymus vulgaris L.) oil extracts obtained by simultaneous distillation—extraction and supercritical fluid extraction." Journal of agricultural and food chemistry 53(13): 5385-5389.

Drużyńska, B., A. Stępniewska, et al. (2007). "The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts." ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria 6(1): 27-36.

E

El-Soud, N., N. El-Laithy, et al. (2011). "Antidiabetic activities of Foeniculum vulgare Mill. essential oil in streptozotocin-induced diabetic rats." <u>Macedonian Journal of Medical Sciences</u> 4(2): 139-146.

F

Faudale, M., F. Viladomat, et al. (2008). "Antioxidant activity and phenolic composition of wild, edible, and medicinal fennel from different Mediterranean countries." <u>Journal of agricultural and food chemistry</u> 56(6): 1912-1920.

FENNEL, V. I. D. "COMPARATIVE ANALYSIS OF MORPHOLOGICAL AND CHEMICAL VARIABILITY IN DIFFERENT FENNEL (FOENICULUM VULGARE MILL.) CULTIVARS."

Filliat, P. (2012). "Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs." Doctoral paper university Joseph Fourier Grenoble, 139p.

FONTENEAU, S. "comment faire les fromage frais, ferments, affinés...." 110.

Fox, P. F., P. L. McSweeney, et al. (2004). <u>Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Volume 1: General Aspects</u>, Elsevier.

F. Lucaccioni, R. Denayer,(1993)et al. Pour une analyse des huiles essentielles. Chimie Nouvelle. vol. 11, n' 43 -09/93.

Gavahian, M., S. Sastry, et al. (2020). Ohmic heating as a promising technique for extraction of herbal essential oils: Understanding mechanisms, recent findings, and associated challenges. Advances in food and nutrition research, Elsevier. 91: 227-273.

Gomez, L., B. Tiwari, et al. (2020). Emerging extraction techniques: Microwave-assisted extraction. <u>Sustainable Seaweed Technologies</u>, Elsevier: 207-224.

H

Harborne, J. and N. Simmonds (1964). "The natural distribution of the phenolic aglycones." <u>Biochemistry of phenolic compounds</u>: 77-127.

Hesham H. A. Rassem (2016)."Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants"Australian Journal of Basic and Applied Sciences10(16):117-127.

Harbutt, J. (2009). World cheese book, Penguin.

He, W. and B. Huang (2011). "A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: Foeniculum vulgare." <u>Journal of Medicinal Plants Research</u> 5(16): 3595-3600.

J

Jane Buckle, P., RN (2016). Clinical Aromatherapy: Essential Oils in HealthcareThird Edition. London, UK: 412.

Jeantet, R. (2006). "Science des aliments."

Kaur, G. J. and D. S. Arora (2009). "Antibacterial and phytochemical screening of Anethum graveolens, Foeniculum vulgare and Trachyspermum ammi." <u>BMC complementary and alternative medicine</u> 9(1): 30.

Kaur, G. J. and D. S. Arora (2010). "Bioactive potential of Anethum graveolens, Foeniculum vulgare and Trachyspermum ammi belonging to the family Umbelliferae-Current status." Journal of Medicinal Plants Research 4(2): 087-094.

Kwon, Y. S., W. G. Choi, et al. (2002). "Antimicrobial constituents of Foeniculum vulgare." <u>Archives of pharmacal research</u> 25(2): 154-157.

L

La-Production-Algerienne (juin 2017). "LA PRODUCTION ALGÉRIENNE." from https://www.djazagro.com/Le-salon/Actualites/La-Production-Algerienne.

Lahsissene, H. and A. Kahouadji (2010). "Ethnobotanical study of medicinal and aromatic plants in the Zaër region of Morocco." Phytothérapie 8(4): 202.

Lapointe-Vignola, C. (2002). <u>Science et technologie du lait: transformation du lait</u>, Presses inter Polytechnique.

Lazouni, H., A. Benmansour, et al. (2006). "Valeurs nutritives et toxicité du foenicululm vulgare miller." Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie 2(1).

M

Mahady, G. B., S. L. Pendland, et al. (2005). "In vitro susceptibility of Helicobacter pylori to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders."

Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives 19(11): 988-991.

Mahaut, M., R. Jeantet, et al. (2000). <u>Initiation à la technologie fromagère</u>, Editions Tec & Doc.

Manousi, N., I. Sarakatsianos, et al. (2019). Extraction techniques of phenolic compounds and other bioactive compounds from medicinal and aromatic plants. <u>Engineering tools in the beverage industry</u>, Elsevier: 283-314.

Mariod, A. A. (2016). Effect of essential oils on organoleptic (smell, taste, and texture) properties of food. Essential oils in food preservation, flavor and safety, Elsevier: 131-137.

Mietton, B. (1995). "Incidence de la composition des fromages au démoulage et des paramètres d'environnement sur l'activité des agents de l'affinage." <u>Revue des ENIL</u> 189: 19-27.

Miraj, S. and S. Kiani (2016). "Study of antibacterial, antimycobacterial, antifungal, and antioxidant activities of Foeniculum vulgare: A review." <u>Der Pharmacia Lettre</u> 8(9): 200-205.

Moghaddam, M. and L. Mehdizadeh (2017). Chemistry of essential oils and factors influencing their constituents. <u>Soft chemistry and food fermentation</u>, Elsevier: 379-419.

Mohamed Hussein Hamdy Robya, b., □, Mohamed Atef Sarhana, Khaled Abdel-Hamed Selima, and K. I. K. a (2013). "Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel(Foeniculum vulgare L.) and chamomile (Matricaria chamomilla L.)." Industrial Crops and Products.

Maja Bjelošević, Alenka Zvonar Pobirk et al (2020)."Excipients in freeze-dried biopharmaceuticals: Contributions towardformulation stability and lyophilisation cycle optimisation".International Journal of Pharmaceutics: 576.

P

Pai, M. B., G. Prashant, et al. (2010). "Antifungal efficacy of Punica granatum, Acacia nilotica, Cuminum cyminum and Foeniculum vulgare on Candida albicans: an in vitro study." Indian Journal of Dental Research 21(3): 334.

Parejo, I., F. Viladomat, et al. (2004). "Development and validation of a high-performance liquid chromatographic method for the analysis of antioxidative phenolic compounds in fennel using a narrow bore reversed phase C18 column." <u>Analytica Chimica Acta</u> 512(2): 271-280.

R

Rahimi, R. and M. R. S. Ardekani (2013). "Medicinal properties of Foeniculum vulgare Mill. in traditional Iranian medicine and modern phytotherapy." Chinese journal of integrative medicine 19(1): 73-79.

Rather, M. A., B. A. Dar, et al. (2016). "Foeniculum vulgare: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety." <u>Arabian Journal of Chemistry</u> 9: S1574-S1583.

Rios, J.-L. (2016). Essential oils: What they are and how the terms are used and defined. Essential oils in food preservation, flavor and Safety, Elsevier: 3-10.

Ruberto, G., M. T. Baratta, et al. (2000). "Antioxidant and antimicrobial activity of Foeniculum vulgare and Crithmum maritimum essential oils." <u>Planta medica</u> 66(08): 687-693.

S

Sandberg, S. L. and M. R. Berenbaum (1989). "Leaf-tying by tortricid larvae as an adaptation for feeding on phototoxicHypericum perforatum." <u>Journal of Chemical Ecology</u> 15(3): 875-885.

Sayed-Ahmad, B., T. Talou, et al. (2017). "The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses." <u>Industrial crops and products</u> 109: 661-671.

Sengupta, S., B. Verma, et al. (2014). "Genetic variability study in fennel (Foeniculum vulgare Mill.)." International Science Journal 1(1): 62-64.

Shahat, A. A., A. Y. Ibrahim, et al. (2011). "Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from organically cultivated fennel cultivars." <u>Molecules</u> 16(2): 1366-1377.

Singh, G., S. Maurya, et al. (2006). "Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of Foeniculum vulgare volatile oil and its acetone extract." <u>Food control</u> 17(9): 745-752.

Soylu, S., H. Yigitbas, et al. (2007). "Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on Sclerotinia sclerotiorum." <u>Journal of applied microbiology</u> 103(4): 1021-1030.

Stalikas, C. D. (2007). "Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids." Journal of separation science 30(18): 3268-3295.

Sun, J., Y.-F. Chu, et al. (2002). "Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits." <u>Journal of agricultural and food chemistry</u> 50(25): 7449-7454.

Z

Zaharaddeen M Anka, S. G., Anshu Nanda, Salisu Lawan (2020). "Phytochemistry and Pharmacological Activities of Foeniculum Vulgare." <u>IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences</u> 10(1): 1-10.