



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2017

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Eau, Santé et Environnement

Présenté par :

- *M^{elle} MENASRIA Wissam*
- *M^{elle} MELLIKECHE Tassadit*

Thème

**Evaluation des activités : antioxydante et antibactérienne
des huiles essentielles des graines de *Foeniculum Vulgare***

Soutenu le : 04/ 07 / 2017

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

M^{me} BENBARA Tassadit

MAA

Univ. de Bouira

Présidente

Mr MOUNI Lotfi

MCA

Univ. de Bouira

Promoteur

M^{me} TAFIFET Lamia

MAA

Univ. de Bouira

Examinatrice

M^{me} BOUDRAA Hayat

Doctorante

Univ. de Bejaia

Invitée

Année Universitaire : 2016/2017

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Dieu de nous avoir donné la force, le courage et la persistance pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercier les membres de jury M^{me} BENBARA Tassadit et M^{me} TAFIFET Lamia., pour L'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'examiner ce travail.

On remercie, Monsieur MOUNI Lotfi.; Doyen de notre faculté des sciences de la nature et de la vie et Science de la terre de pôle universitaire- Bouira, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'encadrer et dirigées ce travail avec une grande rigueur scientifique.

Nos vifs remerciements vont à Madame BOUDRAA Hayet., Enseignante à la faculté des sciences de la nature et de la vie de pôle universitaire- Bouira, pour avoir co-dirigé ce travail, pour son accueil au laboratoire de recherche. Ainsi que pour ses conseils, ses encouragements. Merci pour votre gentillesse, votre disponibilité et pour votre exigence en termes de rédaction notamment et qui ont permis indéniablement d'améliorer la qualité de ce travail.

Nous aimerons également citer ici les personnes dont la collaboration a été précieuse pour plusieurs aspects de ce travail. On remercie en Dr MELLIKCHE Hakim à l'hôpital de Aïn Naadja-Alger ; Dr DAHMOUNE Amina responsable du laboratoire de Botanique-Pharmacie à la faculté de médecine de Tizi ouzou, pour leurs aides précieuses concernant l'extraction et les analyses de nos extraits.

Wissam et Tassadit

Dédicaces

Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve...

*À celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, **ma mère***

*À l'école de mon enfance, qui a été mon ombre durant Toutes les années de mes études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner de l'aide et à me protéger, **mon père***

Aucune dédicace, ne saurait exprimer à sa juste valeur le profond amour que je vous porte, Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir, Puisse Dieu, vous procure santé, bonheur et longue vie

À la personne qui m'as toujours accompagné dans ce travail, Ta présence à mes côtés m'a permis de réussir et de donner toujours le meilleur de moi, Merci Hicham

*À mes adorables sœurs Mima et Meriem, À mon seul et unique frère
Med Wassim*

À ma grand-mère maternelle et ma grand-mère paternelle

À mes oncles et mes tantes

À ma deuxième famille, ma belle-mère et mon beau-père, mes belles sœurs et frères

À tout(es) mes amis(es)

À tous ceux qui m'aiment

À tous ceux que j'aime, Je dédie ce modeste travail.

missa

Dédicace

Aux personnes les plus chères au monde mes chers

Parents

A ma très chère mère :

*Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de
prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver
t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

A mon père :

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon
éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices.*

*Spécialement pour Mon mari **Toufik***

*Mon âme sœur source d'amour et de tendresse sans toi ce mémoire
n'aurait jamais vu le jour.*

*Que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour
sincère et fidèle*

A ma sœur unique et adorable lahna

A mes frères : Massinissa, Aziz, Abdou, Fahim et Azeldinne

Au femmes de mais frères : Fazia et Asma

*À ma deuxième famille, ma belle-mère et mon beau-père, mes belles
sœurs et frères*

A mes oncles et tantes et leurs familles

Sans oublier mes amies et a Tous ceux qui j'ai connus.

Dazdi

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation - Norme Française.

CI₅₀ : Concentration inhibitrice 50.

CMI: Concentration minimum d'inhibition.

DPPH : 2,2 -diphényl -1- picrylhydrazyl

F. vulgare : *Foeniculum vulgare*

GN : Gélose nutritive.

H.Es : Huiles essentielles.

I_a : Indice d'acide.

I_e : Indice d'ester.

I_s: Indice de saponification.

UFC/g : Unité Fermante Colonie par gramme.

Liste des figures

Figure	Titre	page
Figure 01	Représentation photographique de différentes parties de plante de <i>F. vulgare</i>	04
Figure 02	Exemples des dérivés terpéniques	08
Figure 03	Schéma d'un Montage d'extraction par hydrodistillation de type <i>CLEVINGER</i>	10
Figure 04	Schéma d'un montage d'extraction aux ultrasons : bac et sonde	11
Figure 05	Schéma d'un montage d'extraction par micro-onde	12
Figure 06	Schéma d'un montage d'extraction par entrainement a la vapeur d'eau	12
Figure 07	Schéma d'un montage d'extraction par d'hydrodiffusion	13
Figure 08	Schéma d'un montage d'extraction par CO2 supercritique	15
Figure 09	Photographie des graines de <i>F. vulgare</i>	18
Figure 10	Etapas de traitement des graines de <i>F. vulgare</i>	19
Figure 11	Appareillage type « Clevenger »	20
Figure 12	Principe de la méthode de diffusion sur disque	27
Figure 13	L'Aromatogramme	28
Figure 14	Teneur en humidité et en matière sèche de <i>F. vulgare</i>	29
Figure 15	pourcentage d'inhibition d'huile essentielle des grains de fenouil a différentes concentrations	32
Figure 16	Effet de l'huile essentielle des graines de <i>F. vulgare</i> sur la croissance d' <i>Escherichia coli</i>	34
Figure 17	Effet de l'huile essentielle des graines de <i>F. vulgare</i> sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	34

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Rendement des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation	30
Tableau II	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle étudiée	30
Tableau III	Caractéristiques physico-chimiques des H.Es extraites	31
Tableau IV	Valeur d'IC ₅₀ de l'huile essentielle des grains de <i>F. vulgare</i>	33
Tableau V	Diamètre d'inhibition en mm provoqués par l'huile essentielle des graines de <i>F. vulgare</i>	34

Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Première partie : Partie bibliographique

Chapitre I : Présentation de fenouil

I.1. Historique.....	2
I.2. Dénominations.....	2
I.3. Systématique.....	2
I.4. Description botanique.....	3
I.5. Usages.....	4
I.6. Culture.....	5

Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles

II.1. Historique.....	6
II.2. Définition.....	6
II.3. Répartition botanique des huiles essentielles.....	7
II.4. Composition chimique des huiles essentielles.....	7
II.4. 1. Composés terpéniques.....	7
II.4.2. Composés aromatiques.....	8
II.5. Propriétés physiques d'une huile essentielle.....	8
II.6. Critères qualitatifs d'une huile essentielle.....	9
II.7. Facteurs influençant la composition des HE.....	9
II.8. Méthodes d'extractions des huiles essentielles.....	9
II.9. Toxicité des huiles essentielles.....	16
II.10. Rôle des huiles essentielles au niveau de la plante.....	17
II.11. Domaines d'application des huiles essentielles.....	17
II.11.1. Domaine pharmaceutique.....	17
II.11. 2. Cosmétique.....	17
II.11.3. Industries agroalimentaires.....	17

Deuxième partie : partie expérimentale

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Matériel végétal.....	18
III.1. 2. Traitement du matériel végétal.....	18
III.1. 3. Détermination du taux d'humidité.....	19
III.1. 4. Détermination du taux de la matière sèche.....	19
III.2. L'extraction d'huile essentielle.....	20
III.2. 1. Conditions opératoire d'hydrodistillation	20
III.2. 2. Calcule du rendement de l'hydrodistillation.....	20
III.1. 5. Détermination des indices physico-chimiques des HE extraites.....	21
III.1. 5.1. Propriétés physiques.....	21
III.1. 5. 1.1. Détermination de pH.....	21
III.1. 5. 1.2. Indice de réfraction.....	22
III.1. 5. 1.3. Miscibilité à l'éthanol.....	22
III.1. 5.2. Propriétés chimiques.....	22
III.1. 5.2. 1. Indice d'acide	22
III.1. 5.2. 2. Indice d'ester	23
III.1. 5.2. 3. Indice de saponification.....	24
III.1. 6. Evaluation de l'activité antioxydante	24
III.1. 6. 1. Détermination de la concentration inhibitrice de 50%.....	25
III.1. 7. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	25
III.1. 7. 1. Préparation de l'inoculum.....	26
III.1. 7. 1. 1.Préparation de pré-culture.....	26
III.1. 7. 1. 2. Préparation de la suspension bactérienne.....	26
III.1. 7. 2. Test de l'activité antibactérienne.....	26
III.1. 7. 2.1. Diffusion en milieu solide.....	26
III.1. 7. 2.2. Ensemencement.....	27
III.1. 7. 2.3. Dépôt des disques.....	27
III.1. 7. 2.4. Lecture.....	28

Chapitre IV: Résultats et discussion

IV.1. Taux d'humidité.....	29
IV.2. Rendement de l'hydrodistillation.....	29
IV.3. Caractérisation des huiles essentielles.....	30
IV.3.1. Caractéristiques organoleptiques.....	30
IV.3.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	31
IV.4. L'activité antioxydante.....	32
IV.4. 1. Détermination de la IC ₅₀	33
IV.5. Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	33
Conclusion.....	36

Référence bibliographiques

Annexe

Glossaire

Résumé

Introduction

Introduction

Introduction :

La région méditerranéenne, avec son climat doux et ensoleillé, est riche en plantes aromatiques médicinales qui sont des remèdes naturels, ont été pendant longtemps le principal, voir l'unique recours traditionnel pour soigner diverses pathologies, et comme matière première pour la médecine moderne (**Ould El Hadj et al., 2003**). Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits chimiques. Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence et une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires. Ces derniers ont pour fonction notamment la protection contre les microorganismes, les animaux et même d'autres plantes. (**Cox et Balick, 1994**)

Parmi ces métabolites secondaires « Les huiles essentielles », qui se trouvent dans de nombreuses parties de la plante : le bois, les feuilles, les fruits, les écorces, les graines et les racines. Obtenues lors de l'extraction de divers types de matières végétales par divers techniques d'extractions. (**Faucon, 2009**)

L'aromathérapie est en quelque sorte désigne l'utilisation de ces huiles essentielles pour les soins. Premièrement, en raison de ces multiples avantages. Ainsi, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. Toutefois, l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît à cause de la résistance et l'adaptation des microorganismes aux médicaments (**Iserin, 2001 ; Svetaz et al., 2010**). De plus la production des huiles essentielles à partir des plantes peut constituer une source économique pour notre pays.

Dans le but de contribuer à la sauvegarde du patrimoine lié à l'utilisation des plantes spontanées, nous nous sommes fixés comme objectif dans ce travail, de valoriser une de ces plantes. Nos travaux visent à vérifier l'activité antioxydante des huiles essentielles extraits des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare*), et tester leurs efficacité antibactériennes vis-à-vis de deux souches bactériennes dont « *Escherichia coli* » et « *Staphylococcus aureus* ».

Le développement de cette étude à travers nos travaux s'échelonna sur quatre chapitres: le premier englobe des généralités sur la plante médicinale sélectionnée dans notre travail. Le deuxième chapitre englobe des généralités sur les huiles essentielles. Le troisième chapitre illustre les matériels et méthodes utilisés dans les différentes manipulations. Le quatrième chapitre est consacré à la présentation, l'analyse et l'interprétation des résultats. Obtenus. Enfin, notre manuscrit est ponctué d'une conclusion générale.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I :
Généralité sur le
fenouil

I.1. Historique

Le fenouil était déjà employé à Babylone vers 3000 ans avant J.-C. Connu également des Égyptiens, il était souvent cité par les Grecs qui le considéraient comme une panacée censée assurer jeunesse, force et santé. Les Arabes et les Chinois l'employaient également. Le fenouil est cité dans des livres d'herbes aromatiques du moyen Âge. Au XVI^e siècle, les Anglais en confectionnaient une boisson très populaire, le « sack », qui était recommandé comme un antidote aux piqûres de scorpions et aux morsures de serpents (**Teusher, 2005**).

Actuellement, le fenouil est très cultivé en Italie et en France, la variété douce est plutôt cultivée à l'Est de la Méditerranée. Il est également cultivé dans beaucoup de régions, tels que la Russie, l'Allemagne, le Japon et les Etats-Unis (**Reduron, 2007**).

I.2. Dénominations

Français : fenouil doux, fenouil commun, aneth doux, fenouil des vignes ;

Anglais: fennel « long sweet fennel » ;

Allmand: brotsamen, brotanis, Fravenfenchel ;

Italy: finocchio dolce, carosella ;

Kabyle: avesves ;

Arabe: بسباس .

I.3. Systématique

Selon (**Dupont et Guignard, 2007**)

Règne : végétal

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiosperme

Classe : Astérideés

Sous classe : Euastérideés

Ordre : Apiale

Famille : Apiacées (ex ombellifères)

Genre : Foeniculum

Espèce : Foeniculum vulgare Mill

I.4. Description botanique

Plante herbacée annuelle ou pérenne pouvant atteindre plus de 2.5 m de hauteur et à longue racine fuselée. Les tiges cylindriques portent des feuilles alternes et pétiolées à la base, le pétiole étant alors pourvu d'une gaine très développée, charnue et sucrée ; les feuilles supérieures sont sessiles, glabres, découpées en lanières filiformes et très allongées, d'où un aspect aérien et plumeux (Teusher, 2005).

Les fleurs sont régulières, radiales, à 5 sépales formant un bourrelet, 5 pétales jaune verdâtre tronqués et roulés vers l'intérieur, 5 étamines, un ovaire infère et divisé en 2 logs.

Les graines sont oblongs, cylindriques, en général arqués, leur surface est glabre, fortement cannelée, de couleur vert jaunâtre à brun-jaune ; leurs dimensions sont assez variables, de 3 à 12 mm de long et jusqu'à 4 mm de large (Teusher, 2005).

Foeniculum vulgare à deux variétés, l'un est le fenouil doux (*foeniculum vulgare var-dulce*) est annuel ou biennuel avec petit gout sucré dans les fruits, l'autre est le fenouil amer (*Foeniculum vulgare. var vulgare*) qui est une plante vivace dont les fruits ont un gout amer (Weiping et Baokang, 2011).

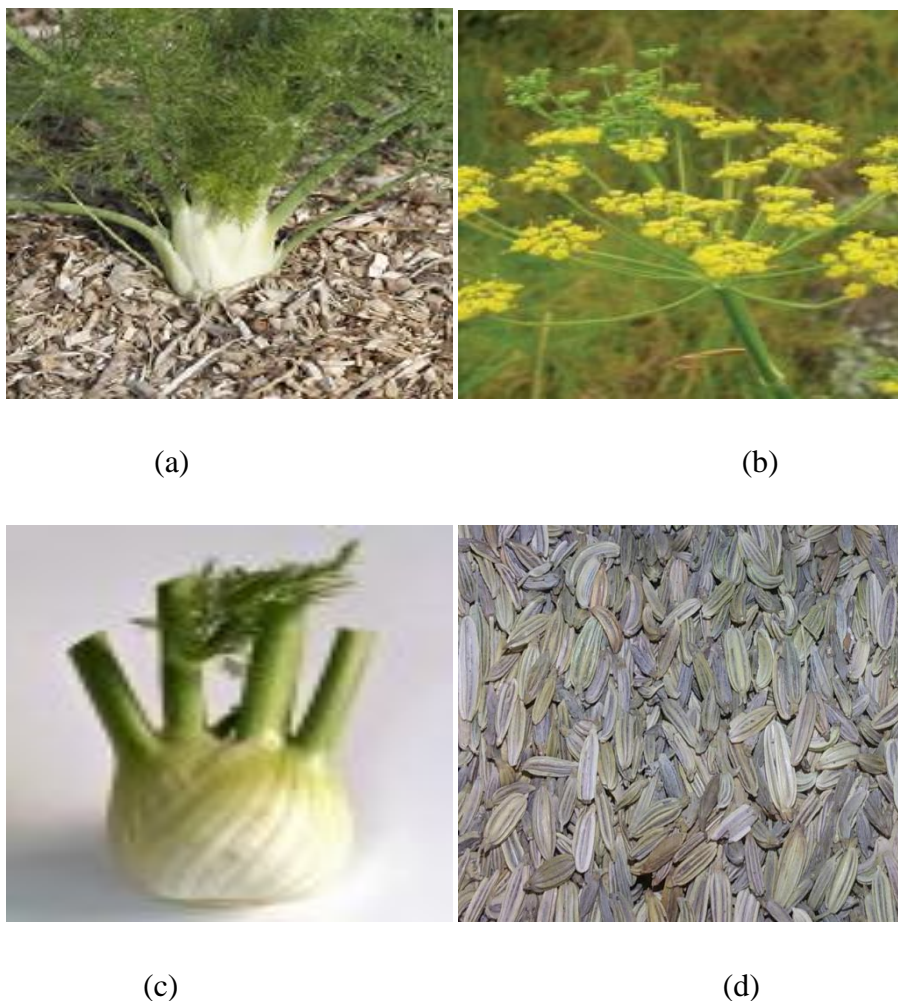


Figure 01 : Représentation photographique de différentes parties de plante de fenouil

(a) plante entière, (b) fleurs, (c) bulbe, (d) graines

a : (Badgujar et al., 2014). b, c : (Gurinder et daljit, 2010)

I.5. Usages

L'herbe a beaucoup d'usages de médecine culinaires et traditionnels. Les jeunes pousses, les feuilles et les fruits entièrement muris et séchés, sont couramment utilisés pour les remèdes maison. Ses fruits aromatiques ont été utilisés comme épices culinaires dans de nombreux pays. L'herbe de fenouil utilisé traditionnellement pour le traitement d'une variété de symptômes de la gastro-intestinale et des voies respiratoires. Les graines de fenouil ont été utilisées pour le traitement des nourrissons souffrant des troubles dyspeptiques en Chine depuis des siècles. Il était recommandé pour la bronchite et la toux chronique, les calculs

rénaux, la dysménorrhée, les vomissements et la diarrhée, et la défécation du sperme. De plus, elle possédait des activités analgésiques, anti-inflammatoires et antioxydantes, présentait aussi des activités antibactériennes et antivirales (**Weiping et Baokang, 2011**).

I.6. Culture

Les graines sont semées en place d'avril à juillet à une profondeur de 2 cm dans un sol bien préparé, aéré et enrichi en compost, les semis sont réalisés en godets à l'intérieur d'abris. Respectant des interlignes de 30 cm et des espaces de 20 cm entre chaque plante dans la ligne. La floraison à lieu de juillet à septembre et le fenouil est récolté de fin octobre à début novembre lorsque les fruits de l'ombelle supérieure prennent une couleur gris-vert (**Teusher, 2005**).

Chapitre II :
Généralités sur les
huiles essentielles

II.1. Historique

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'Homme qui les utilisait autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'Homme préhistorique pratiquait déjà. Au fil des siècles, l'extraction et l'usage des principes odorants des plantes sont développés, notamment par les civilisations arabes et égyptiennes **(Sell, 2006)**.

Progressivement, Ses huiles essentielles se font connaître pour leurs vertus thérapeutiques et deviennent alors des remèdes courants des médecines traditionnelles. Les principes odorants de certaines plantes aromatiques étaient répandus par fumigation dans les rues des villes pour combattre la propagation des maladies infectieuses. La fumigation des personnes malades est en effet l'une des plus anciennes techniques thérapeutiques **(Buchbauer et al., 1993)**.

De nos jours, la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des huiles essentielles et de leurs constituants. En effet, de nombreux composés volatils sont aujourd'hui des ingrédients courants des préparations pharmaceutiques **(Pauli, 2001)**.

II.2. Définition

Une huile essentielle est un liquide odoriférant d'aspect fluide à épais et de couleur variable selon les plantes dont elle est extraite. Sont des substances aromatiques, parfumées, à la consistance huileuse, produites par le métabolisme des plantes, Elle se forme avec l'aide de l'énergie solaire qui agit sur les cellules sécrétoires des plantes. La plante retient l'huile essentielle dans une minuscule cavité glandulaire qui s'ouvre, par exemple lorsque la plante est soumise à la chaleur ou à la lumière intense.

Selon les standards ISO et AFNOR, d'octobre 1987, une huile essentielle est : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, après séparation de la phase aqueuse par procédés physiques ; soit par entrainement de la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche » **(Toninoli et Meglioli, 2013)**.

II.3. Répartition botanique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont très largement répandues chez les végétaux supérieurs, certaines familles en sont particulièrement riches : les Conifères, les Rutaceae, les Apiaceae...etc. Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes, dans les sommités, fleurs, les feuilles, les écorces et les graines (**Ghestem et al., 2001**).

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors soit stocké dans une cellule transformée en cellule à essence, ou dans des poils glandulaires, des poches sécrétrices, des canaux sécréteurs voire des papilles, elles peuvent être transportées dans l'espace intercellulaire lorsque les poches à essence ont localisé dans les tissus internes (**Teusher, 2005**).

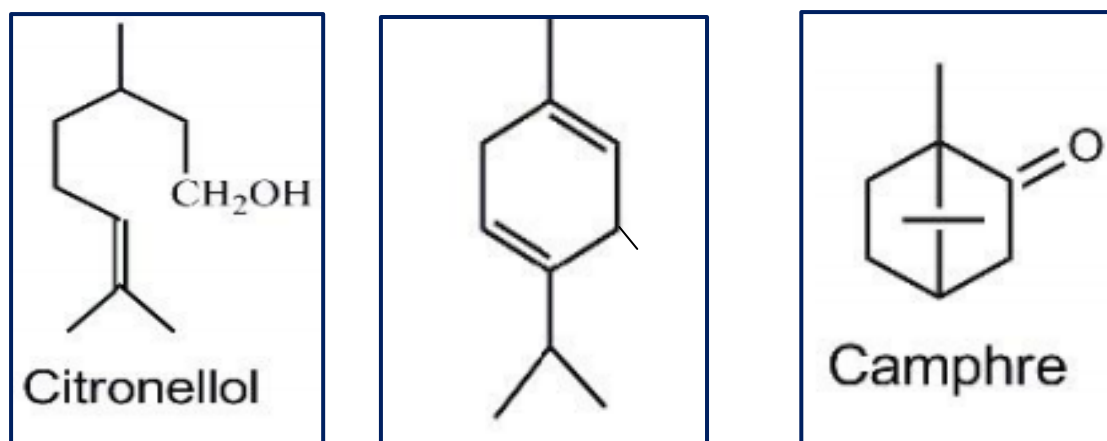
II.4. La composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes dont les constituants sont presque exclusivement de deux types : des composés terpéniques d'une part et des composés aromatiques, d'autre part (**Ghestem et al., 2001**).

II.4.1 Composés terpéniques :

Sont rencontrés principalement les terpènes les plus volatils : des monoterpènes et des sesquiterpènes. Plusieurs milliers de composés ont été décrits et sont classés selon leur nombre de cycles (**Figure 02**) et selon la nature des fonctions qu'ils portent (alcool, aldéhyde, cétone, ester, éther-oxyde...) (**Ghestem et al., 2001**).

Exemples des dérivés terpéniques :



(a)

(b)

(c)

Figure 02 : Exemples des dérivés terpéniques (Ghestem et al., 2001)

(a) : Acyclique ; (b et c) : Bicyclique

II.4.2. Composés aromatiques

Ces composés sont beaucoup moins fréquents. Ils sont classés selon la nature des fonctions qu'ils portent : acide, ester, aldéhyde, phénol, éther phénolique...) (Ghestem et al., 2001).

II.5. Les propriétés physiques d'une huile essentielle

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques : Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leurs odeurs. Leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C.

Leurs densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0.75 à 0.99 (les huiles essentielles de sassafras, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions possédant un indice de réfraction élevé. Cependant les huiles essentielles sont très altérables et sensibles à l'oxydation (Bekhchi et Abdelouahid, 2014).

II.6. Critères qualitatifs d'une huile essentielle

De nombreux paramètres entrent en jeu dans la qualité des huiles essentielles. Tout d'abord la sélection de la plante et le moment de la récolte sont primordiaux. L'extraction doit être faite dans des conditions de rigueur de laboratoire en maîtrisant les paramètres de température et de pression. Le stockage doit se faire dans des récipients adaptés aux huiles essentielles et à l'abri de la lumière et à des températures ne dépassant pas 25 degrés (Toninoli et Meglioli, 2013).

Ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté, à l'abri de la lumière et de la chaleur (Bekhchi et Abdelouahid, 2014).

II.7. Les facteurs influençant la composition des huiles essentielles

La composition des H.Es d'une espèce donnée dépend de plusieurs facteurs d'origine intrinsèque (spécifiques de l'équipement génétique de la plante) et extrinsèque (liées aux conditions environnementales de la plante). Ces facteurs peuvent influencer à la fois la qualité et la quantité des huiles produites. Le temps de récolte, l'humidité relative, la photopériode, la méthode d'extraction, l'organe de la plante et les techniques de culture, la structure du sol et le climat font partie de ces facteurs (Panizzi et al., 1993).

II.8. Méthodes d'extractions des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles de la matière végétale peut être réalisée au moyen de nombreux et divers procédés : L'hydrodistillation, Expression par solvant volatil, Extraction par micro-ondes, Ultra-sons, CO2 supercritique, Entraînement à la vapeur... etc.

II.8.1. L'Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition.

La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotrope. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger (**Figure 03**). (**El Haib, 2011**)

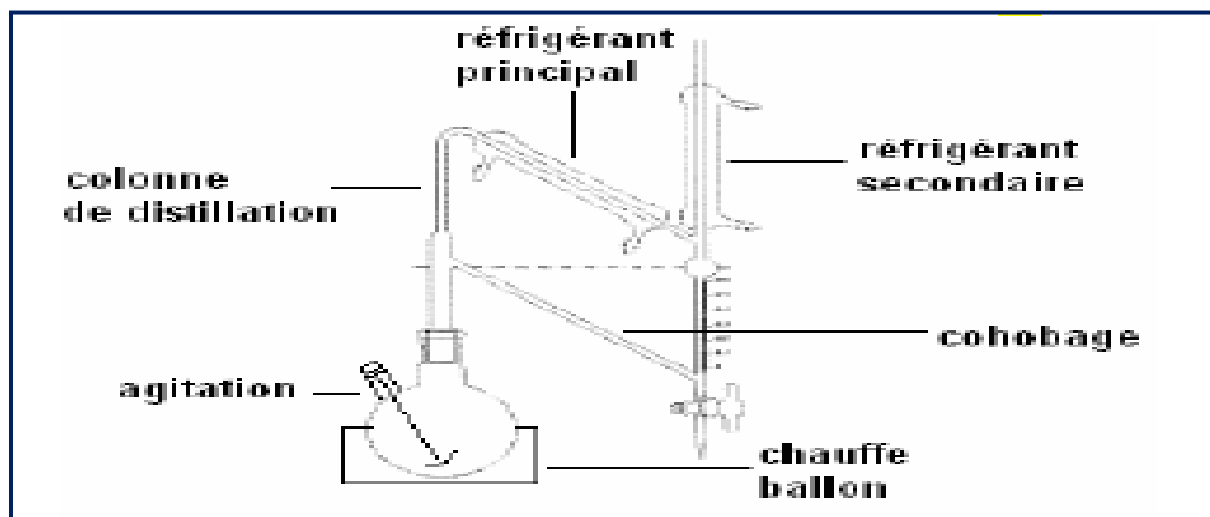


Figure 03 : Schéma d'un Montage d'extraction par hydrodistillation de type *CLEVENGER* (**Nait Achour, 2012**)

II.8.2 Extraction aux ultrasons

Les ultrasons sont des ondes mécaniques capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz). Les ultrasons de puissance fonctionnant à une intensité entre 20 et 100 kHz sont utilisés pour l'extraction des arômes et bien d'autres molécules des plantes. Le bac et la sonde à ultrasons sont les deux types d'équipement couramment utilisés dans les laboratoires (**Figure 04**). Lorsque les ultrasons se propagent à travers un liquide, les oscillations des molécules provoquent la formation des zones de compression et de dépression (raréfaction). Quand les cycles de raréfaction augmentent, les forces maintenant la cohésion du liquide sont vaincues et des bulles de cavitation apparaissent. Ce phénomène est appelé cavitation. Les bulles vont imploser à côté de la surface solide (le matériel végétal) et provoquer la rupture des membranes des cellules qui libèrent leurs contenus à l'extérieur (**Zbigniew et al., 2007**).

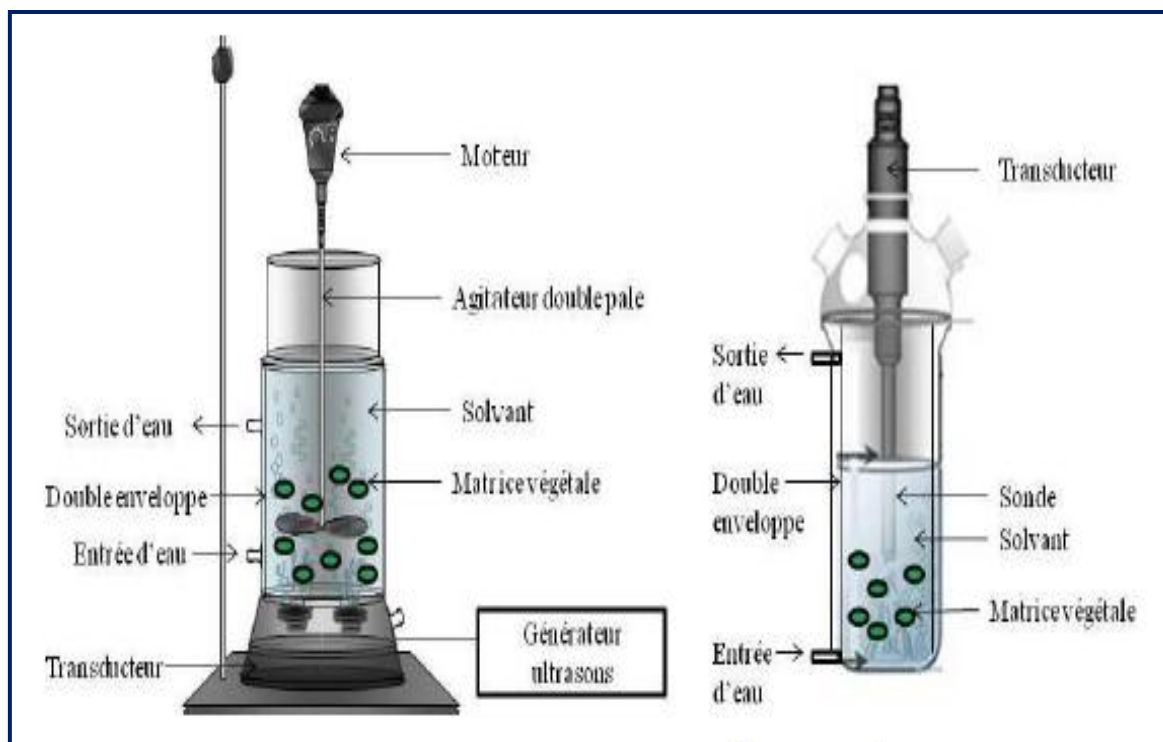


Figure 04: Schéma d'un montage d'extraction aux ultrasons : bac et sonde (Zbignew et al., 2007).

II.8.3 L'hydrodistillation assistée par micro-ondes

Le matériel végétal est placé en présence d'une quantité d'eau suffisante ou de solvant dans un ballon disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. L'ensemble était chauffé durant de courtes périodes (**Figure 05**). Ce procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale et d'atteindre directement les systèmes glandulaires et vasculaires du végétal. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four (**Abert, 2008**).

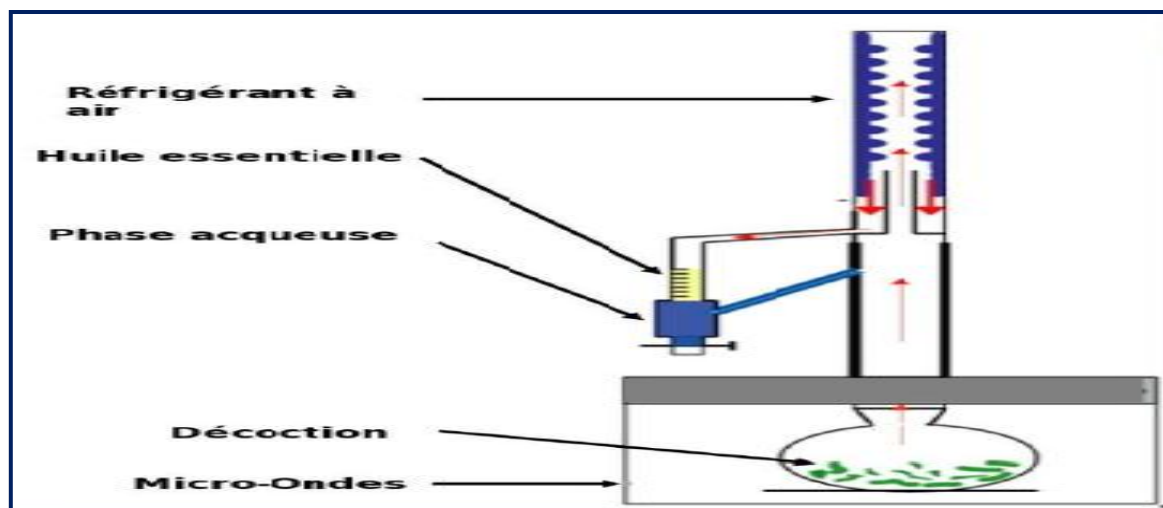


Figure 05: Schéma d'un montage d'extraction par micro-onde
(Nait Achour, 2012)

II.8.4. Entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (**Figure 06**). Le principe de la distillation à la vapeur d'eau consiste à faire passer la vapeur d'eau à travers la plante à une température adéquate pour détruire les cellules végétales, libérer les molécules aromatiques et les entraîner dans un serpentin de refroidissement. Là, les vapeurs refroidies retournent à l'état liquide formant un mélange «eau + huile essentielle» (**Bouderdara, 2013**).

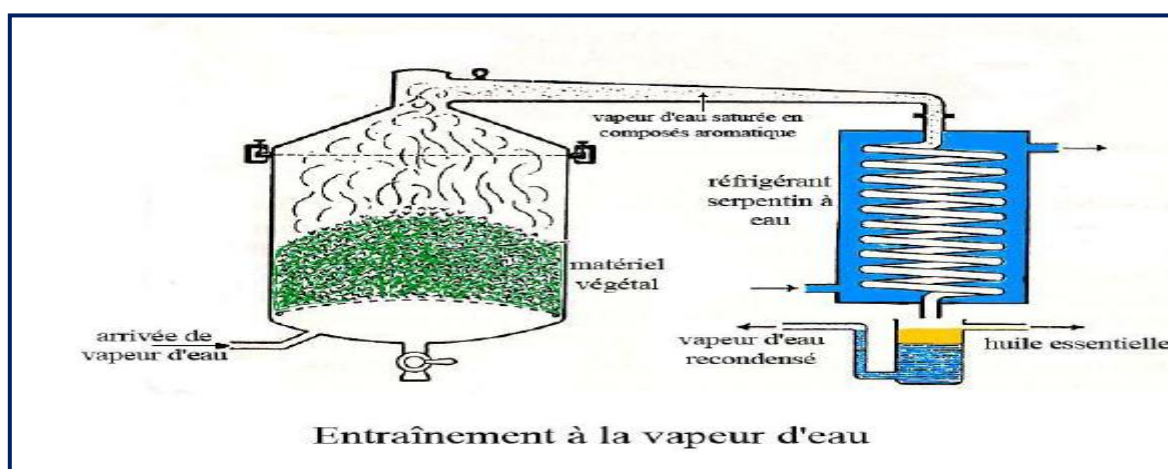


Figure 06 : Schéma d'un montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau
(Nait Achour, 2012).

II.8.5. Hydro-diffusion

L'hydro-diffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Où, le flux de vapeur n'est pas ascendant. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange «vapeur d'eau-huile essentielle» dispersé dans la matière végétale(**Figure07**). Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydro-diffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau (**Meyer-Warnod, 1984 ; Neffati, 2010**).

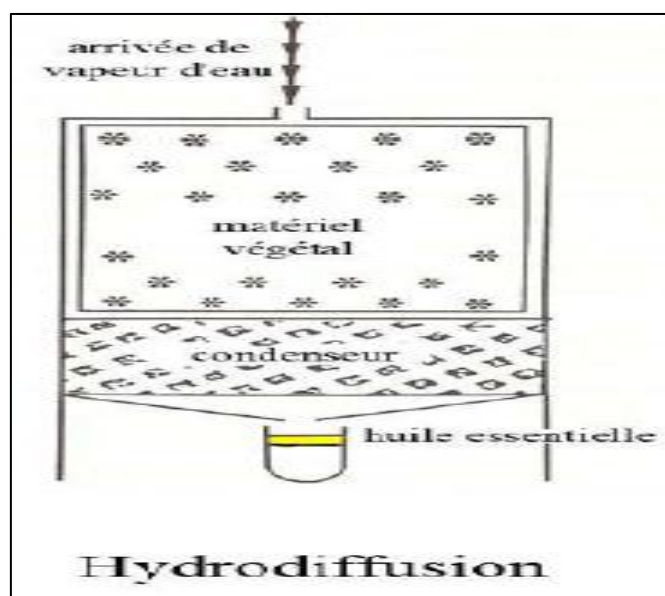


Figure 07 : Schéma d'un montage d'extraction par d'hydrodiffusion
(Nait Achour, 2012).

II.8.6. L'expression par solvant volatil

Le matériel végétal dont on veut extraire une huile est placé sur des grilles puis dans des cuves appelées extracteurs. On les remplit de solvant et on effectue ainsi plusieurs extractions successives. Le mélange est ensuite envoyé dans un décanteur où on le laisse reposer. Cette phase de repos va permettre d'obtenir deux phases: celle au fond contiendra l'eau contenue dans les plantes, l'eau étant plus lourde que le solvant celui-ci sera à la surface. Les huiles essentielles étant très solubles dans le solvant se retrouvent dans la même phase, il suffit donc d'éliminer l'eau. Ensuite on évapore le solvant afin d'obtenir l'huile essentielle. On obtient ainsi une «concrète» si le matériel végétal de départ consiste en fleurs fraîchement

cueillies, ou un «résinoïde» s'il est composé de racines, graines ou mousses. Après obtention des extraits, on effectue dans le cas des «concrètes» un lavage à l'alcool dans des batteuses pour séparer les cires végétales. Ces cires sont ensuite éliminées grâce à un glaçage (action du froid) ainsi qu'une filtration. Par évaporation de l'alcool on obtient «l'absolu de concrète». Le «résinoïde» peut être lui utilisé tel quel (El Hattab et al., 2008).

II.8.7. L'expression mécanique

Cette technique est utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes de la famille des Rutacées (citron, orange, mandarine). C'est une méthode assez simple qui consiste à briser mécaniquement les poches à essence (souvent au niveau de l'écorce ou péricarpe du fruit) pour recueillir un mélange d'essences odorantes et d'eau. Dans le cas des agrumes, on parle d' "essence" et non d'huile essentielle car aucune modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur n'a lieu (Bouderdara, 2013).

II.8.8. L'enfleurage

On distingue deux types d'enfleurage: à froid ou chaud :

L'enfleurage à froid consiste à piquer des fleurs fraîches dans de la graisse, cette dernière absorbant ainsi les molécules odorantes. On remplace régulièrement des fleurs pour gorger au maximum les graisses (on estime qu'un kilo de graisse absorbe trois kilos de fleurs). C'est ce qu'on appelle le défleurage. La graisse est ensuite lavée à l'alcool dans des batteuses, on évapore l'alcool et on obtient ainsi une absolue de pommade.

L'enfleurage à chaud (ou digestion) consiste à faire fondre dans de grandes marmites au bain-marie de la graisse à laquelle on ajoute les fleurs. On renouvelle les fleurs tous les deux jours environ. Puis on filtre le tout à travers plusieurs couches de tissu (lin et coton) afin de séparer la graisse inutile de la pommade. On peut utiliser cette pommade telle quelle ou la traiter par la même méthode que pour l'enfleurage à froid afin d'obtenir une absolue (Sonwa, 2000).

II.8.9. L'extraction au CO₂ supercritique

Le terme supercritique signifie que le CO₂, sous pression et à une température de 31°C, se trouve entre l'état liquide et l'état gazeux. Lorsqu'il est dans cet état, le CO₂ est capable de

dissoudre de nombreux composés organiques et c'est cette même propriété dont les fabricants se servent pour extraire les huiles essentielles. La matière végétale est chargée dans l'extracteur où est ensuite introduit le CO₂ supercritique (sous pression et réfrigéré). Le mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion où la pression est considérablement réduite. Le CO₂ s'évapore et il ne reste plus que l'huile essentielle (Safaralie et al., 2008 ; Grosso et al., 2008). (Figure 08)

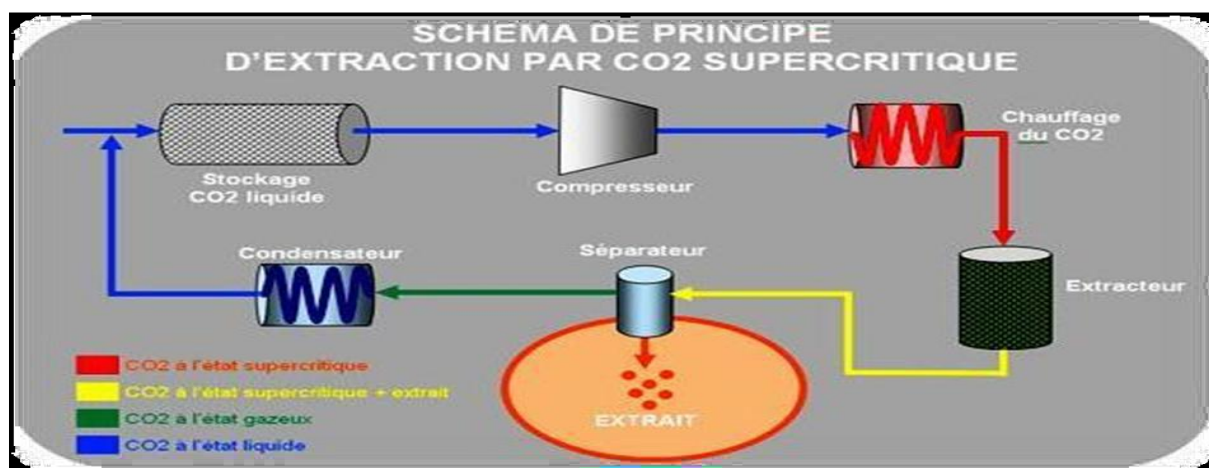


Figure 08: Schéma d'un montage d'extraction par CO₂ supercritique.

(Nait Achour, 2012)

II.8.10. Turbodistillation

C'est une hydrodistillation accélérée en discontinu. Son objectif est de limiter les inconvénients dus soit à une longue durée d'extraction, soit à une super pression. Pour activer la distillation à la pression atmosphérique, l'alambic est équipé d'une turbine qui permet, d'une part la dilacération des matières végétales et, d'autre part un meilleur coefficient de transfert thermique grâce à l'agitation turbulente et l'augmentation de la surface de vaporisation. Le procédé permet en outre la récupération des fractions les plus volatiles grâce à un système décondensation secondaire. La présence d'une colonne à plateaux contribue à l'enrichissement des vapeurs en huile essentielle, d'où une amélioration du rapport d'entraînement. Un système de cohobage recycle les eaux aromatiques en tête de colonne afin de favoriser l'entraînement des composés non décantés (Willem, 2004).

II.9. Toxicité des huiles essentielles

Il convient de ne pas confondre « plantes à huiles essentielles » et « huiles essentielles ». Les posologies devront être respectées quelle que soit la voie d'administration. D'une manière générale, 1 à 2 gouttes d'huile essentielle sont déjà actives. Il ne faut pas pour un adulte dépasser 6 gouttes par jour réparties en trois prises (trois fois 2 gouttes). Il ne faut pas prescrire d'huiles essentielles chez des enfants de moins de trois ans. Le flacon d'huile essentielle doit être mis dans l'armoire à pharmacie ; si un enfant en absorbait il faut contacter aussitôt le centre antipoison le plus proche (**Jean, 2006**).

II.9.1. La toxicité aiguë

C'est la toxicité la mieux connue. Certaines huiles essentielles agissent sur le système nerveux central en ayant des actions diverses :

- Crises épileptiformes et tétaniques pour les huiles essentielles renfermant de la thuyone ;
- Excitation puis dépression et effet hypnotique pour les huiles essentielles contenant du menthol ;
- Dépression centrale pour les huiles essentielles contenant de la pinocamphone, du citral, du limonène ;
- Spasmes au niveau de la glotte pour l'huile essentielle de menthe poivrée qu'il ne faut pas utiliser chez l'enfant ;
- Neurosédative, pour les huiles essentielles contenant de l'eugénol comme l'huile essentielle de clou de girofle (anesthésiant, anticonvulsivant, relaxant) (**Jean, 2006**).

II.9.2. La toxicité chronique

Elle est moins bien connue. Certaines huiles essentielles peuvent contenir des molécules à :

- Effet mutagène (carvacrol dans l'huile essentielle d'*Artemisia dracunculoides* ou huile essentielle d'estragon)
- Effet cancérigène (**Jean, 2006**).

II.10. Rôle des huiles essentielles au niveau de la plante

Les huiles essentielles sont des messagers chimiques utilisés par les plantes aromatiques pour interagir avec leur environnement. Les huiles essentielles permettent d'éloigner les maladies, les parasites, mais aussi jouent un rôle protecteur face aux rayonnements du soleil. Elles jouent un rôle important dans la reproduction et la dispersion des espèces végétales puisqu'elles permettent d'attirer les insectes pollinisateurs (**Toninoli et Meglioli, 2013**).

II.11. Domaines d'applications des huiles essentielles

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles, peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs :

II.11.1. En pharmacie

Les huiles essentielles de ces plantes peuvent avoir un intérêt médicamenteux, elles ont aussi un champ d'action très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques; ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques de désinfections. Elles sont utilisées comme anti-infectieux, analgésiques (**Bekhchi et Abdelouahid, 2014**).

II.11.2. En cosmétologie

Les huiles essentielles sont des éléments parfumant, il serait probable que ces essences servent aussi à préserver ces cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable (**Bekhchi et Abdelouahid, 2014**).

II.11.3. Dans les industries agroalimentaires

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes utilisées dans l'assaisonnement des aliments a été reconnue depuis longtemps. C'est pour cela, que l'on pense de plus en plus à les utiliser dans la conservation des denrées alimentaires, sans pour autant en dénaturer le goût puisque ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires (**Bekhchi et Abdelouahid, 2014**).

Partie
expérimentale

Chapitre III :
Matériels et méthodes

III.1. Matériel végétal

Cette étude porte sur les graines de fenouil, fournis par un herboriste à Tizi-Ouzou. D'après le fournisseur, ces graines ont été récoltées à Chelghoum Laid (Mila), Algérie. A la fin d'été de l'année 2016 (Figure 09)



Figure 09: Photographie des Graines de *F. vulgare dulce*

Note : les protocoles suivis sont selon la pharmacopée européenne et la commission française de normalisation AFNOR.

III.1.1. Traitement du matériel végétal

Les graines de fenouil ont été triés manuellement afin d'éliminer tout autres matrices étrangères. Puis sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue après broyage a été tamisée avec un tamis afin d'obtenir une poudre fine et homogène de granulométrie inférieure à 0.85 mm (Figure 10). Enfin, cette dernière est conservée dans des bocaux en verres hermétiquement fermés et stockés à l'abri de la lumière pour servir ultérieurement à l'extraction.



(1)

(2)

(3)

Figure 10 : étapes de traitement des graines de *F. vulgare* :

(1) Trie ; (2) Broyage ; (3) Tamisage.

III.1.2. Détermination du taux d'humidité

Le principe de la détermination de l'humidité des graines consiste à prendre une masse M_1 de (5g en triple) de l'échantillon et l'apporter à une température de 105°C à l'étuve jusqu'à ce que la masse devienne constante M_2 (4.75 g).

L'humidité est calculée selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100 \dots \dots \dots (1.1)$$

D'où:

$H\%$: Taux d'humidité en pourcentage.

M_1 : Masse de l'échantillon avant séchage.

M_2 : Masse de l'échantillon après séchage.

III.1.3. Détermination du taux de matière sèche

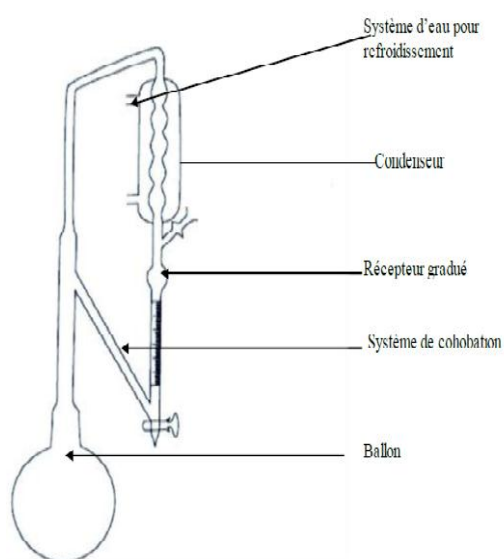
La matière sèche est ce que l'on obtient lorsqu'on retire l'eau d'un produit, après le séchage des graines de fenouil, le taux de la matière sèche est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Matière sèche \%} = 100 - H\% \dots \dots \dots (1.2)$$

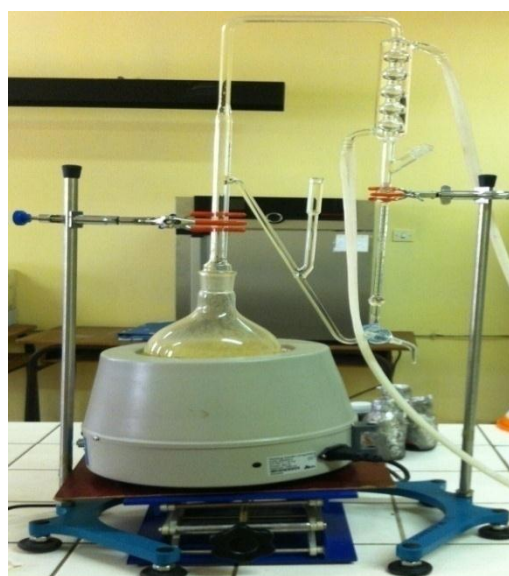
III.2. L'extraction d'huile essentielle

III.2.1. Conditions opératoire d'hydrodistillation

L'étude est réalisée dans sa totalité à l'échelle du laboratoire sur un montage de type « Clevenger » (Figure 11). 30g de matière végétale ont été introduite dans un ballon contenant de l'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition grâce à un chauffe-ballon électrique pendant 03 heures. Les vapeurs chargées d'huile essentielles se condensent à leur arrivée au niveau du réfrigérant, elles retombent sous forme de gouttelettes dans l'essencier et forment avec l'eau un mélange hétérogène qu'on récupère dans une ampoule à décanter, afin de séparer l'eau de l'huile essentielle qui le surnageant. Les huiles essentielles obtenues sont conservées dans des flacons opaques en verre à une température $\leq 4^{\circ}\text{C}$.



(a)



(b)

(a) Schéma d'un montage « Clevenger » ; (b) photo d'un montage « Clevenger »

Figure 11 : Appareillage type Clevenger.

III.2.2. Calcul du rendement de l'hydrodistillation

Le rendement d'une extraction se calcule par le rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite et la masse de la matière première végétale traitée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = \left[\frac{MHE}{MMV} \right] \times 100 \dots \dots \dots (I.3)$$

R : Rendement de l'extraction en %

MHE : Masse de l'huile essentielle extraite en (g)

MMV : Masse de la matière végétale séchée et laminé en (g)

III.1.5. Détermination des indices physico-chimiques des huiles essentielles extraites

Les huiles essentielles sont caractérisées par leurs propriétés physiques (densité, pouvoir rotatoire, indice de réfraction, miscibilité dans l'alcool, etc) ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d'acide, d'ester, d'iode, et de carbonyle) permettant d'évaluer la nature des composés organiques (acide, ester...) présents dans l'huile essentielle.

III.1.5.1. Propriétés physiques

III.1.5.1.1. Détermination de pH

Le pH ou « potentiel d'hydrogène » mesure l'activité chimique des ions hydrogènes H^+ en solution. Le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Cette méthode décrit l'acidité ionique du produit à analyser, son principe consiste à introduire l'électrode du pH-mètre dans le produit après le réglage de la température d'étalonnage. La lecture se fait directement sur le pH-mètre. Ainsi, l'huile essentielle extraite a été caractérisée par son pH.

III.1.5.1.2. Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une substance est une de ses constantes physiques susceptible de la caractériser au même titre que sa densité ou son point de fusion ou d'ébullition. Sa détermination présente donc un grand intérêt.

I_R se définit comme étant le rapport entre le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré. Cet indice est mesuré à 20°C.

La mesure de l'indice de réfraction de nos huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre de marque « Zuzi », en suivant ces démarches :

- Etalonner l'appareil à l'aide d'une substance d'indice de réfraction connu à la température fixée à 20°C ;
- Nettoyer les prismes et déposer quelques gouttes d'huile essentielle entre les deux faces des prismes ;
- Regarder dans l'oculaire et tourner le bouton de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre de réticule.

$$I_{20} = I_t + 0,00045 (t - 20^\circ\text{C}) \dots \dots \dots \text{(I.4)}$$

I_{20} : indice à 20°C.

I_t : indice à la température de chambre.

t: température de mesure.

III.1.5.1.3. Miscibilité à l'éthanol

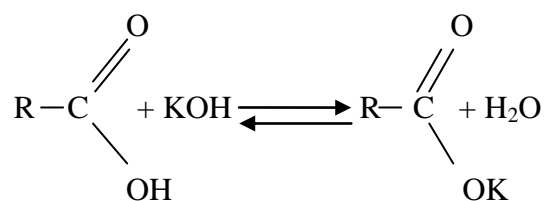
La miscibilité à l'éthanol est déterminée par le volume (V) d'alcool nécessaire pour former avec 0,5 ml d'huile essentielle un mélange homogène. V/ml d'éthanol par fraction de 0.5 mL on été ajoutés, à l'aide d'une burette, à 0,5 ml d'huile essentielle. Après chaque ajout, le mélange est agité. Quand la solution devient limpide, on note le volume d'éthanol additionné.

III.1.5.2. Propriétés chimiques

III.1.5.2.1. Indice d'acide (I_a)

L'indice d'acide exprime le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1g d'huile essentielle.

L'hydroxyde de potassium réagit avec l'acide selon la réaction suivante :



01g d'huile essentielle, un volume d'éthanol à 96% et quelques gouttes d'indicateur coloré (phénolphtaléine) sont mis dans un erlenmeyer. Ensuite, on titre par une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,1N jusqu'à ce que la solution vire au rose.

L'indice d'acide I_a est déterminé par la formule suivante :

$$I_a = V.C. \frac{56,11}{m} \dots \dots \dots \text{(I.5)}$$

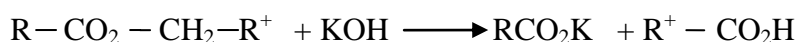
V : Volume en mL de la solution de KOH utilisé pour le titrage.

C : Concentration en mol/L de la solution KOH.

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

III.1.5.2.2. Indice d'ester (I_e)

L'indice d'ester est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libérés par hydrolyse en milieu basique des esters contenus dans 1g d'huile essentielle.



On introduit dans un ballon de 100 ml, 1g d'huile essentielle et 25 ml d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,5 M à l'aide d'une burette, ainsi que quelques pierres ponce. L'ensemble est porté au reflux pendant 1h. Après refroidissement de la solution, on ajoute 20ml d'eau distillée et 5 gouttes de phénolphtaléine. L'excès de KOH est titré avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) 0,5 N jusqu'à la disparition de la couleur rose. Une opération à blanc est réalisée dans les mêmes conditions que précédemment.

L'indice d'ester (I_e) est calculé à l'aide de la relation suivante :

$$I_e = \frac{28,05}{m} (V_0 - V_1) - I_a \dots \dots \dots \text{(I.6)}$$

V_0 : Volume en mL de la solution d'HCl (0.1N) mesuré pour l'essai à blanc.

V_1 : Volume en mL de la solution d'HCl (0.1N) mesuré pour le calcul de I_e .

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

I_a : Valeur d'indice d'acide.

III.1.5.2.2 : L'indice de saponification

L'indice de saponification (I_s) est déterminé à partir de l'indice d'acide (I_a) et l'indice d'ester (I_e), selon la formule suivante :

$$I_s = I_a + I_e \dots \dots \dots (I.7)$$

III.1.6. Evaluation de l'activité antioxydante

Une solution de DPPH (1,1-Diphényle -2- picrylhydrazyle) a été préparé dans le méthanol. Ainsi, à partir d'une solution mère d'huile essentielle, des solutions filles (05 solutions diluées) de différente concentrations ont été préparées par double dilution successive dans du méthanol. Puis à chaque concentration, un volume de solution de DPPH a été ajouté.

La réduction du DPPH \cdot est contrôlée en mesurant l'absorbance de la solution à une longueur d'onde caractéristique (515 nm). A cette longueur d'onde le radical absorbe, mais après sa réduction par l'antioxydant (AH) ou un autre radical, l'absorption diminue (**Dvaranauskaite et al., 2008**).

Les dosages sont effectués dans une cuve en quartz, où on mélange 1 ml de la solution de DPPH avec la solution à doser. L'absorbance est ensuite mesurée après 30 minutes d'incubation à l'obscurité. Les mesures ont été faites en triplicata (**Dvaranauskaite et al., 2008**).

Les absorbances mesurées à 515 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en utilisant la formule suivante :

$$I(\%) = \left(\frac{A_0 - A_i}{A_0} \right) \times 100 \dots \dots \dots (I.8)$$

I : pourcentage d'inhibition des radicaux libres ;

A_0 : absorbance de la solution DPPH sans huile essentielle ;

Ai : absorbance de la solution DPPH après réaction avec huile essentielle.

III.1.6.1. Détermination de la concentration inhibitrice de 50%

Le paramètre IC₅₀ (concentration équivalente à 50% de DPPH piégé) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH, elle a été calculée par régression linéaire à partir des graphes des taux d'inhibition.

III.1.7. Evaluation de l'activité antibactérienne (In vitro)

Dans le cadre de vérifier l'activité antibactérienne des huiles essentielles des graines de fenouil, nous avons sélectionné deux souches bactériennes pathogènes dont *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Le choix des bactéries a été porté sur deux souches fréquentes en pathologie humaine. Ces espèces sont souvent responsables de Toxi-infections alimentaires, constituant ainsi un problème majeur de santé publique par leur résistance naturelle à divers agents antimicrobiens. Les souches bactériennes utilisées proviennent de l'Institut Pasteur d'Alger.

Nous avons sélectionnés deux (02) groupes de bactéries :

- **Une bactérie à Gram négatif « *Escherichia coli* »**

Ce genre appartient à la famille des Entérobacteriaceae, qui sont des hôtes du tube digestif de l'homme et des animaux (nombreuses souches de cette famille ont été isolées de l'environnement aquatique ou terrestre). Ces bactéries cultivent facilement sur milieux ordinaires et utilisent des composés organiques simples comme source d'énergie (sucres, acides aminés, acides organiques).

La plupart des entérobactéries pathogènes se multiplient à la température optimale de 37°C. L'espèce *E. coli* est responsable d'infections intestinales (gastro-entérites et diarrhées) leurs pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou par la production d'entérotoxines (Leclerc et al., 1995).

- **Une bactérie à Gram positif « *Staphylococcus aureus* »**

Les staphylocoques sont une composante essentielle de la flore humaine normale, mais comprennent aussi des espèces qui sont d'importants pathogènes. Sont des bactéries à Gram positif. De forme sphérique et se divise sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou

irréguliers à la façon d'une grappe de raisin, ce sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme. L'espèce *S. aureus* est responsable de plusieurs infections (osseuses, digestives, pyogène de la peau et des muqueuses...) (**Tony et Paul, 1997**).

III.1.7.1. Préparation de l'inoculum

Les tests antibactériens ont été réalisés à partir des cultures jeunes (en phase de croissance exponentielle), d'où la nécessité de réactiver chaque souche bactérienne testée (**Bassole et al., 2001**).

La préparation de l'inoculum a été effectuée en deux étapes, la préparation de la pré-culture et la préparation de la suspension bactérienne.

III.1.7.1.1. Préparation de pré-culture

Chaque souche estensemencée dans un bouillon nutritif (BN). Puis elle est incubée à une température de 37°C pendant 24 h. Ensuite ces souches bactériennes (souches de 24 h) ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive, pendant 18 h à 37°C (**Bassole et al., 2001**)

III.1.7.1.2. Préparation de la suspension bactérienne

A partir des cultures jeunes sur GN, on prélève 3 à 5 colonies identiques et bien isolées dans 5 ml d'eau physiologique et stérile, et on agite pendant quelques secondes au vortex.

L'ajustement de la suspension à une concentration de 10^5 à 10^6 UFC/ml (une densité optique entre 0.7 et 0.9) est réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 650 nm (**Bassole et al., 2001**).

III.1.7.2. Test de l'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne des souches, nous avons adopté la méthode de diffusion en milieu solide ou méthode des disques.

III.1.7.2.1. Diffusion en milieu solide

La méthode de diffusion en milieu solide appelée aussi antibioaromatogramme a pour objectif la mise en évidence de l'activité antibactérienne.

Le principe de la méthode repose sur la diffusion de produit antibactérien, en milieu solide, à partir d'une zone source d'huile essentielle déposée à la surface de la gélose sur une boîte de Pétri.

Elle consiste à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour de disque, ce qui traduit l'effet du produit antibactérien sur la cible. La mesure de la zone d'inhibition a lieu après 24 h d'incubation à 37°C (Bassole et al., 2001). (Figure 12)

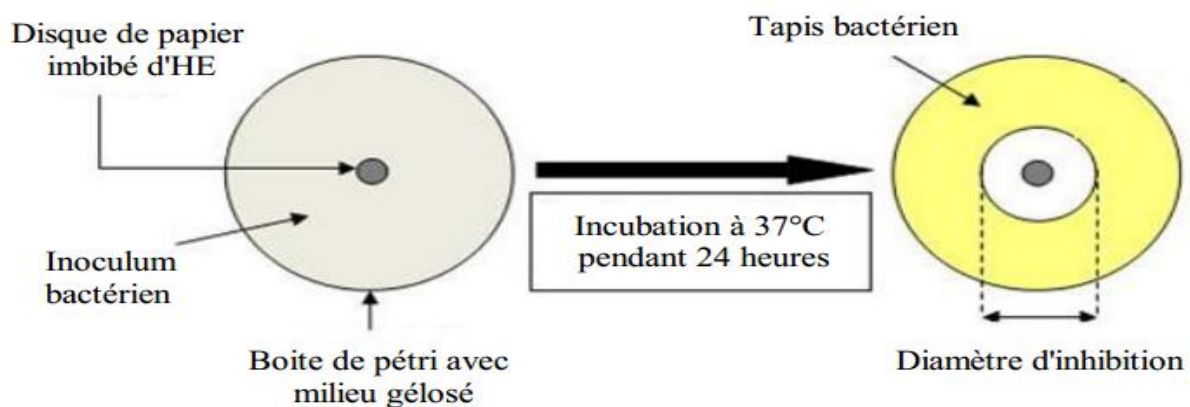


Figure 12 : Principe de la méthode de diffusion sur disque.

III.1.7.2.2. L'ensemencement

Dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre, les milieux de culture gélose Mac conkey (pour *S. aureus*) et gélose Chapman (pour *E. coli*) sont coulés aseptiquement sur une épaisseur de 4 mm et laissé refroidir et solidifier sur la paillasse. Par la suite, Chaque boîte de Pétri est inoculé avec 1 ml de la suspension bactérienne fraîchement préparée (L'ensemencement est effectué dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum) à l'aide d'un râteau.

III.1.7.2.3. Dépôt des disques

Les disques préalablement stérilisés ont été imbibés de l'huile essentielle selon la méthode décrite par (Anderson et al., 1989) en mettant seulement en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement l'extrait jusqu'à son imprégnation totale. Par la

suite, le disque est déposé à la surface du milieu ensemencé à l'aide d'une pince stérilisée au bec Bunsen (Figure 13).

L'expérience est répétée deux fois pour chaque extrait et pour chaque bactérie.

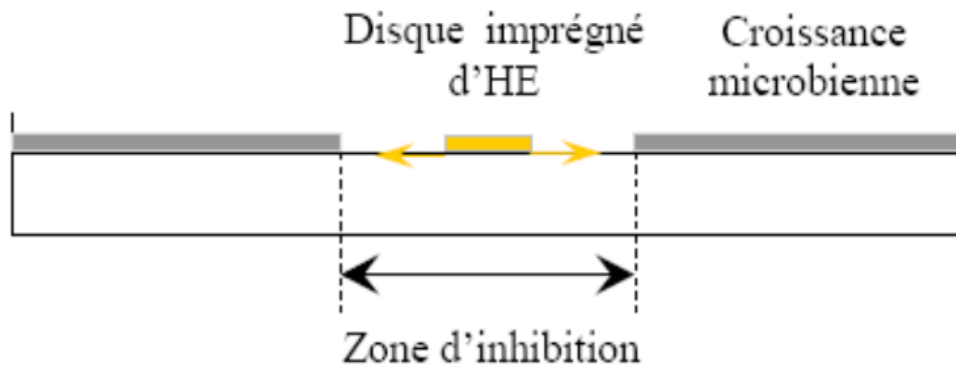


Figure 13 : L'Aromatoگرامme

III.1.7.2.4. La lecture :

Après 24 h d'incubation à 35°C, la lecture a été effectuée par la mesure de la zone d'inhibition autour de chaque disque, à l'aide d'une règle graduée, à l'extérieur de la boîte fermée.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition qui peut être symbolisés, par des signes, d'après la sensibilité des souches (Ponce *et al.*, 2003) :

- Non sensible ou résistance (-) : diamètre < 8 mm ;
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 20 mm ;
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

Chapitre IV :
Résultats et
discussions

IV.1. Le taux d'humidité

Les résultats de taux d'humidité et de la teneur en matière sèche des graines de *F. vulgare*, sont représentés dans la **Figure 14** ci-dessous :

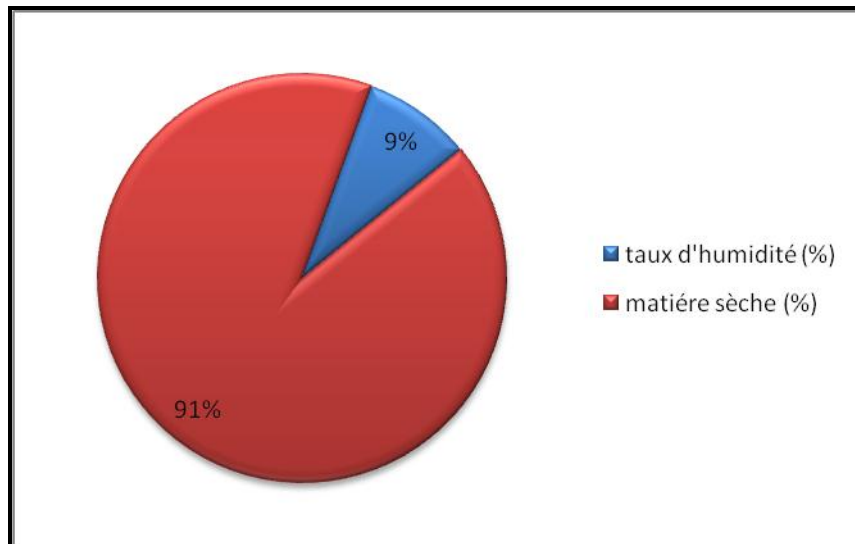


Figure 14 : Teneur en humidité et en matière sèche de *F. vulgare*

Les résultats obtenus ont révélé un taux d'humidité de l'ordre de 9%, et un rendement en matière sèche de 91%. Par contre la teneur en matière sèche des graines de *Foeniculum vulgare* obtenue par (**Lazouni et al., 2007**) est légèrement faible par rapport à celle de nos graines (76.5%) .

La différence dans les teneurs en eau pourrait être expliquée par la saison et la région de récolte, les plantes cultivées dans les régions tempérées comme le sud Algérien, ont un taux d'humidité plus faible par rapport aux plantes cultivées dans le nord (**Hamoudi, 2012**).

IV.2. Rendement de l'hydrodistillation

Les résultats de calcul de rendement obtenu lors de nos extractions par hydrodistillation, pendant trois heures sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau I : Rendement des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation.

H.E	Graines de fenouil
Rdt%	1.53± 0.11

Les résultats obtenus, montrent que les graines de fenouil étudiées sont riches en huiles essentielles. En effet le rendement moyen est de 1.53± 0.11.

En comparant nos résultats avec les travaux antérieurs, nous avons trouvé qu'une extraction des huiles essentielles des graines de fenouil par hydrodistillation, réalisée en Algérie, a permis d'obtenir un rendement de 1.00 %. (Ouis, 2015), et une autre étude en France effectuée dans les mêmes conditions d'extraction à un rendement de 2.1% (Lazouni et al., 2006).

Cette différence pourrait être expliquée par la période de récolte le climat, la zone géographique, l'origine de la plante, l'organe de la plante utilisé, la méthode d'extraction, qui sont des facteurs qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements d'extraction en huiles essentielles (Kelen et Tepe, 2008).

IV.3. Caractérisation des huiles essentielles

IV.3.1. Caractéristiques organoleptiques

Les propriétés organoleptiques (l'aspect, la couleur et l'odeur) de l'essence de fenouil. Sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau II : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle étudiée

H.Es des graines de fenouil	Caractéristiques organoleptiques		
	Aspect	Odeur	Couleur
	Liquide huileux	Anisée	Limpide

En comparant nos résultats avec des études antérieures, on a trouvé que l'aspect physique, la couleur et l'odeur de l'huile essentielle des graines de fenouil, sont en accord avec ceux rapportées par les travaux de (Ouis, 2015).

Chaque huile essentielle est caractérisée par ses caractères organoleptiques tels que: l'aspect physique (liquide, solide et semi-solide), la couleur (change d'une huile essentielle à une autre) et l'odeur, qui dépend de ses composants (Hameurlaine, 2009).

IV.3.2. Caractéristiques physico-chimiques

Les résultats de la détermination des propriétés physiques des essences obtenues par hydrodistillation sont consignés dans le tableau suivant.

Tableau III : Caractéristiques physico-chimiques des H.Es extraites

	pH	Miscibilité à l'éthanol	I_R	I_a	I_e	I_s
Nos résultats	6.30	13.5 V	1.601	0.075	13.95	14.025
(Lazouni et al., 2007)	6	1V : 3V	1.6896	0.90	77.95	78.85

La valeur du pH obtenu indique que notre huile essentielle est légèrement acide.

En comparant nos résultats avec des études antérieures, nous avons trouvé que l'indice de réfraction (I_R) est une grandeur qui nous permet d'identifier l'huile essentielle, aussi de contrôler sa pureté, en effet un indice de réfraction varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé (Boukhatem et al., 2010)

L'indice d'acide (I_a), donne une idée sur le taux d'acide gras libre, ce paramètre peut nous aider à savoir la qualité de notre produit. L' I_a de l'huile essentielle des graines de *F. vulgare* est de 0.075, un produit avec un indice d'acidité faible est un produit de bonne qualité. En effet, une huile fraîche ne contient que très peu d'acides libres. C'est pendant la période de stockage que l'huile peut subir des dégradations telle l'hydrolyse des esters. Ces

valeurs dues au comportement des acides libres présents dans notre huile, cela explique la valeur obtenue de l'indice d'ester. (Lazouni et al., 2007)

Les paramètres physico-chimiques différents suivant l'origine de l'huile essentielle, l'organe de la plante (feuille, tige, fleurs ou graine), la pratique culturale, la méthode et les conditions d'extraction, et sont influencés par les conditions édaphiques, climatique ainsi que les conditions de cultures des plantes. Tous ces facteurs affectent la composition chimique et les critères physiques d'une huile essentielle, il est logique que leurs valeurs diffèrent d'un endroit à l'autre du globe. (Rajeswara et al., 1993 ; Kulkarni et al., 1996 ; Juliani et al., 2006)

IV.4. L'activité antioxydante

Les résultats de l'activité antioxydante de l'huile essentielle des graines de *F. vulgare*, obtenus par la méthode de DPPH, sont représentés dans la figure ci-dessous.

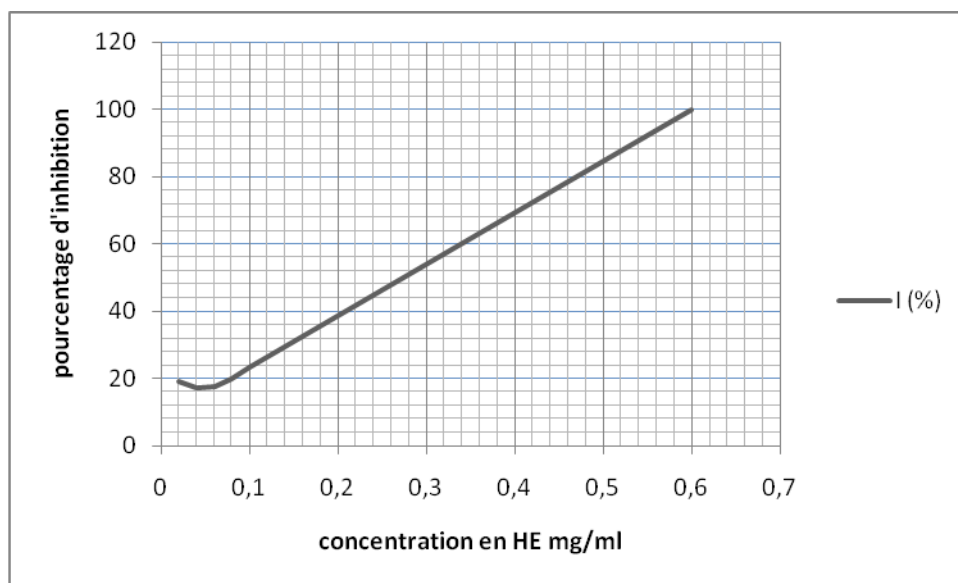


Figure 15 : pourcentage d'inhibition d'huile essentielle des grains de *F. vulgare* à différentes concentrations

Le pourcentage d'inhibition d'huile essentielle des grains de fenouil augmente avec l'augmentation des concentrations de ce dernier.

Le pourcentage d'inhibition est très élevé (80%) avec la concentration de 0.5mg/ml. Ceci confère aux huiles essentielles extraites à partir des grains de fenouil un fort effet oxydant vis-à-vis le radical DPPH.

IV.4.1 Détermination de l'IC₅₀ :

IC₅₀ ou concentration inhibitrice, est la concentration testée (H.E) nécessaire pour réduire l'activité du DPPH initiale de 50% après 30 minutes d'action. Le pourcentage d'inhibition permet de calculer le paramètre IC₅₀. La valeur de la IC₅₀ est calculée graphiquement par régressions linéaires de graphe tracé (pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles testées : Figure (02). Le tableau suivant représente la valeur de cet indice pour l'huile essentielle des grains de fenouil.

Tableau IV : Valeur d'IC₅₀ de l'huile essentielle des grains de *F. vulgare*

Huile essentielle	IC ₅₀
Nos résultats (mg/mL)	0.28
(Ouis, 2015) (µg/mL)	872

D'après les résultats de la détermination de la valeur d'IC₅₀, on peut déduire que l'huile essentielle des grains de fenouil détient une capacité antioxydante faible par rapport à celui du littérateur.

Cela est directement lié à sa teneur en agents piègeurs de radicaux libres agissant comme antioxydant.

La variabilité des résultats d'activité antiradicalaire est en fonction de différentes périodes de récolte de la plante dans l'année et aussi due aux impacts des facteurs environnementaux sur la composition chimique des huiles essentielles ainsi que sur leurs activités biologiques. (Ijaz et al., 2008)

IV.5. L'activité antibactérienne des huiles essentielles

La sensibilité des deux bactéries (*E. coli*, *S. aureus*) à été mise en évidence par la technique de diffusion des disques vis-à-vis de l'huile essentielle des graines de *F.vulgare*. (Figures 16 et 17)

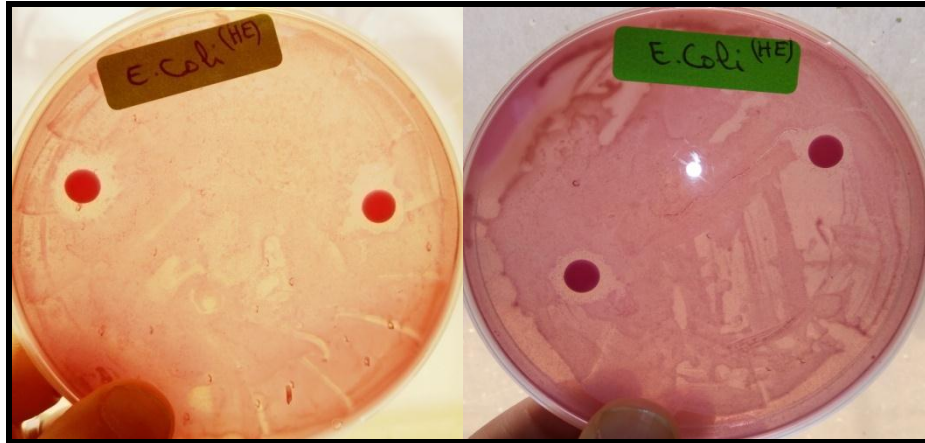


Figure 16 : Effet de l'huile essentielle des graines de *F.vulgare* sur la croissance de *Escherichia Coli*



Figure 17 : Effet de l'huile essentielle des graines de *F. vulgare* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*

Au vu des résultats obtenus, le classement de la sensibilité des bactéries est mentionné sur le tableau V.

Tableau V : Diamètre d'inhibition en mm provoqués par l'huile essentielle des graines de *F. vulgare*.

Bactéries	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Diamètre d'inhibition (mm)	15.3	11.14
Sensibilité	Très sensible (++)	Sensible (+)

Les résultats obtenus montrent que l'activité antibactérienne est fonction de la bactérie cible. Il s'est avéré que les deux bactéries testées ont été sensibles vis-à-vis de l'huile essentielle des graines de fenouil.

En revanche, *S. aureus* possède un potentielle de résistance un peu élevée par rapport à *E. coli*. Donc la sensibilité est plus marquée chez les Gram (-) par rapport aux Gram (+) vis-à-vis de l'huile essentielle des graines de fenouil.

Le degré de sensibilité des bactéries testées vis-à-vis d'une même huile essentielle est supposé varié selon le Gram. Une grande sensibilité est marquée chez des bactéries Gram (-) par rapport aux bactéries Gram (+) (**Chalestori et al., 2015**)

D'autres résultats sont confirmés par de nombreuses études (**Lopez et al., 2005 ; Bozin et al., 2006 ; Bouzouita et al., 2008**) ayant montré que les bactéries Gram (-) sont plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries Gram (+).

Ces affirmations n'ont cependant pas été confirmées par d'autres travaux, la susceptibilité des bactéries est en effet indépendante du Gram (**Inouye et al., 2001 ; Adeola et al., 2012 ; Usman et al., 2013**). Nos résultats corroborent bien avec cette dernière affirmation.

En effet, l'activité biologique d'une essence est à mettre en relation avec sa composition chimique et les effets synergiques possibles entre ses composants. Sa valeur tient à l'intégralité de ses constituants et non pas seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, 2004**).

En plus, les propriétés antibactériennes de ces composés sont en partie liées à leurs caractères lipophiles menant à l'accumulation au niveau des parois bactériennes, perturbant ainsi le fonctionnement et la perméabilité des membranes cellulaires, la dégradation des parois cellulaires, l'altération de la membrane cytoplasmique, et l'épuisement de la force motrice des protons (**Helander et al., 1998**).

Conclusion

Générale

Conclusion

Dans le cadre d'une contribution à la valorisation des ressources naturelles de notre pays et de trouver de nouvelles sources d'agents naturels antibactériens et antioxydant. Nous avons essayé d'évaluer l'efficacité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles extraites des graines de *Foeniculum Vulgare* Mill.

L'extraction de l'huile essentielle des graines de fenouil a été réalisée par hydrodistillation, le rendement d'extraction trouvé est de l'ordre de 1.53% qui est moyen .

L'activité antioxydante des huiles essentielles évaluée par le test du radical DPPH, qui a montré que l'huile essentielle des graines de fenouil a un effet antioxydant important, avec une IC_{50} de $(280 \pm 32,5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$.

Pour l'activité antibactérienne, la méthode d'antibiogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle des graines de fenouil vis-à-vis de deux souches bactériennes (*Escherichia Coli* et *Staphylococcus aureus*). Ce pouvoir nous a révèle une importante activité antibactérienne, dont les zones d'inhibitions varient entre (11.4-15.3 mm).

Les résultats obtenus fournissent des informations utiles pour les industriels qui seraient intéressés par l'extraction d'huile essentielle des graines de fenouil.

Dans le but de compléter cette étude, Il serait intéressant :

- D'évaluer les activités antifongiques des composés phénoliques des graines de fenouil ;
- De doser d'autres constituants tels que les protéines, les lipides et les fibres ;
- Etendre l'étude sur d'autres activités biologiques telles que l'activité anti-inflammatoire.

*Les références
bibliographiques*

Les références bibliographiques

- Abert Vian M, Fernandez X, Visinoni F, Chemat F (2008). Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *Journal of Chromatography*, **1190** : 14–17.
- Adeola S A, Folorunso O S, Amisu K O (2012). Antimicrobial activity of ocimum basilicum and its inhibition on the characterized and partially purified extracellular protease of Salmonella typhimurium. *Res j Biol*, **02**(5) : 138-144.
- Arpino P, Prévot A, Serpinet J, Tranchant J, Vergnol A, Witier P(1995). *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*. 4^{ème} Ed, Masson, Paris, 700 p.
- Badgujar S B, Patel V V, Bandivdekar A H (2014). Foeniculum vulgare Mill: a review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology. *BioMed research international*. 1-32.
- Bahroun T (1997). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research*, 83-94.
- Bekhchi Ch, Abdelouahid Dj (2014). *Les huiles essentielles*. L’office des publications univrsitaires, Alger, 55 p.
- Belouad A (1998). *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des publications Universitaires, Algérie, 273 p.
- Bouderdara N (2013). *Séparation de structures des métabolites secondaires de cactrys libanotis L*. Thèse de doctora en science, Université des frères Mentouri Constantine, 2013 p.
- Boukhatem M N, Hamaidi M S, Saidi F, Hakim Y (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l’huile essentielle du géranium Rosat (Pelargonium graveolens L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & technologie*, **03** : 37-54.
- Bouzouita N, Kachouri F, Ben Halima M, Chaabouni M (2008). Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l’huile essentielle de Juniperus phoenicea. *J Soc Chim Tunis*, **10**:119-25.

Les références bibliographiques

- Bozin B, Mimica-Dukic N, Simin N, Anackov G (2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, **54**(5) : 1822- 8.
- Buchbauer G, Jäger W, Jirovetz L, Ilmberger J, Dietrich H (1993). Therapeutic properties of essential oils and fragrances. *American Chemical Society*, 159-165.
- Chaleshtori S R, Rokni N, Drees F, Rafieian-Koaei M, Salhi E (2015). Antioxidant and antibacterial activity of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Essential oil in beef burger. *Journal of Agricultural Science and Technology*, **17**(04) : 817-827.
- Cox P A, Balick M J (1994). The ethnobotanical approach to drug discovery. *Scientific American*, **270**(6): 82-87.
- Didier D (2000). *Huiles essentielles, Monographie relative aux huiles essentielles (A à G)*, 6^{ème} Ed, AFNOR, Tome 2, Vol 1, 180-219.
- Dupont F, Guinard J L (2007). *Abrégés botanique systématique moléculaire*. 14^{ème} édition révisée, Masson.
- Dvaranauskaite A, Venskutonis P, Raynaud C, Talou T, Vilskeilis P, Dambrauskiene E (2008). Characterization of steam volatiles in the essential oil of black currant buds and the antioxidant properties of different bud extracts. *Agric and food chem*, **56** : 3279-3286.
- El Haib Abderrahim (2011). *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques*. Thèse de doctorat en chimie organique et catalyse, Université de Paul Sabatier Toulouse, 195 p.
- El Hattab M, Culioli G, Piovetti L, Chitour S, Valls R (2007). Comparison of various extraction methods for identification and determination of volatile metabolites from the brown alga *Dictyopteris membranacea*. *Journal of Chromatography*, **1143** : 1–7.
- Faucon M (2009). *Aromathérapie pratique et usuelle*. Sang de la Terre, Slovénie, 156 p.
- Ghestem A, Seguin E, Paris M, Orecchioni A (2001). *Le préparateur en Pharmacie : Botanique- Pharmacognosie- Phytothérapie- Hoéopathie*. 2^{ème} édition, Tec et doc, Paris. 273 p.

Les références bibliographiques

- Grosso C, Ferraro V, Figueiredo A C, Barroso J G, Coelho G A, Palavra A M (2008). Supercritical carbon dioxide extraction of volatile oil from Italian coriander seeds. *Food chemistry*, **111** : 197–203.
- Gurinder J K and Daljit S A. (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.
- Hameurlaine S (2009). *Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes Pituranthos scoparius et Rhantherium adpressum de la région de Ghardaia*. Mémoire de Magister, Université Kasdi Merbah-Ouargla.
- Hamoudi N (2012). *Caractéristiques des huiles essentielles et son application antimicrobienne de la plante « Ocimum basilicum »*. Mémoire DEUA, Université Khemis- Miliana.
- Hazzit M, Benchabane A, Baaliouamer A, Alloun K, Kaci M (2015). Composition chimique et activité antimicrobienne de l'extrait non volatil et des huiles essentielles. *INRAA*, 118-129.
- Helander I M, Alakomi H L, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol I, Smid E J, Von Wright A (1998). Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. **46**(9) : 3590-3595.
- Hussain A I, Anwar F, Chatha S A S, Jabbar A, Mahboob S, Nigam P S (2010). Rosmarinus officinalis essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, **41**(4) : 1070-1078.
- Inouye S, Takizawa T, Yamaguchi H (2001). Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, **47**(5) : 565-73.
- Iserin P (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*. 2^{ème} Ed, Larousse-Bordas, Paris. 335 p.
- Jean R (2006). *Prescription et conseil en aromathérapie*. 2^{ème} Ed, Tec & Doc, Paris, 247 p.
- Joel R (2002). *La flore du pharmacien*. 2^{ème} Ed. Techniques et documentations, Paris, 256 p.

Les références bibliographiques

- Juliani R H, Koroch A, Simon J E, HitimanaI N, Daka A, Ranavarivelo L, Langenhoven P (2006). Quality of geranium (*Pelargonium sp*) : Case studies in southern and eastern Africa. *Journal of Essential oil Research*, **18**: 116-121.
- Kelen M, Tepe B (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, **99** : 4096 – 4104.
- Kulkarni R N, Baskar K, Ramesh S, Kumar S (1996). Intra-clonal variation for essential oil content and composition in plants derived from leaf cutting of roses cented geranium. *Industrial crops and products*, **06**: 107-112.
- Lahlou M (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oil. *phytotherapy Research*, **18** : 435-448.
- Lazouni H A, Benmansour A, Chabane S, Smahi M (2006). Valeurs nutritives et toxicité du foeniculum vulgare miller. *Afrique Science*, **02**(1) : 94-101.
- Lazouni H A, Benmansour A, Taleb-Bendiab S A, Chabane S (2007). Composition des constituants des huiles essentielles et valeurs nutritives du foeniculum vulgare Mill. *Science et technologie*, 7-12.
- Leclerc H, Guillard JL, Simonet M (1995). «*Microbiologie général, la bactérie et le monde bactérien* ». Doin, Paris, 535 p.
- Lopez P, Sanchez C, Batlle R, Nerin C (2005). Solid-and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *Journal of agricultural and food chemistry*, **53**(17) : 6939-6946.
- Mahmoudi Y (1987). *La thérapeutique par les plantes les plus communes en Algérie*. Palis des livres, Blida, 105 p.
- Meyer-Warnod B (1984). Natural essential oils: extraction processes and applications to some major oils. *Perfumer and Flavorist*, **9**(2) : 93-104.
- Nait Achour KH (2012). *Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de Tizi Ouzou*. Mémoire de Magister en chimie organique, Université de Mouloud Mameri-Tizi Ouzou, 125 p.
- Neffati A (2010). *Etude de la composition chimique et évaluation d'activités biologiques de l'huile essentielle d'une Apiaceae de Tunisie : Pituranthos chloranthus*. Thèse de doctorat en Sciences, Université de Caen, 215 p.

Les références bibliographiques

- Ouis N (2015). *Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil*. Thèse de doctora en Sciences, Université d'Oran, 239 p.
- Ouled El Hadj M D, Hadj-mhammed M, Zabeirou H (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). *Courrier du Savoir*. **03** : 47-51.
- Panizzi J, Flamini G, Cioni P L, Morelli I (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *J Ethnopharmacol.* , **39** : 167-170.
- Pauli A (2011). Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International Journal of Aromatherapy*, **11** : 126-133.
- Pharmacopée Européenne. 1997, 3^{ème} édition, Tome 1, 57-62.
- Pharmacopée européenne. 2001, 4^{ème} édition, 22- 43.
- Rajewara Rao BR, Bhattachry A K, Kaul P N, Chand S, Ramesh S (1993). Changing in profiles of essential oil rose sented germanium (*Pelargonium sp*) during leaf ontogeny. *Journal of Essential oil Research*, **05**: 301-304.
- Reduron J P (2007). *Ombellifères de France* - Tome 3, Bulletin de la Société botanique du centre-ouest- Nouvel série- Numéro spécial – 28.
- Safaralie A, Fatemi Sh, Sefidkon F (2008). Essential oil composition of *Valeriana officinalis* L. roots cultivated in Iran Comparative analysis between supercritical CO₂ extraction and hydrodistillation. *Journal of Chromatography A*, **1180** (1) : 159–164.
- Sell C S (2006). *The Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer*. 2^{ème} édition. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 329 p.
- Sonwa M M (2000). *Isolation and structure elucidation of essential oil constituents: Cameroon*. Thèse doctorat en chimie, Université de Mbamougong, 172 p.
- Svetaz L, Zuljan F, Derita M., Petenatti E, Tamayo G, Caceres A, Cechinel Filho V, Giménez A, Pinzon R, Zacchino S A, Gupta M (2010). Value of the ethno medical information for the discovery of plants with antifungal properties. A survey among seven Latin American countries. *Journal of Ethnopharmacology*, **127**: 137–158.
- Teuscher E, Anton R, Lobstein (2005). *Plantes aromatiques : Epics, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & doc, Paris.
- Toninolli F, Meglioli V (2013). *Huiles essntielles : L'encyclopédie*. Djudena, France, 600 p.

Les références bibliographiques

- Tony H, Paul S (1997). *Atlas de poche de microbiologie*. Flammarion Médecine-Science, Paris, 317 p.
- Usman L, Ismaeel R, Zubair M, Saliu B, Olawore N, Elelu N (2013). Comparative studies of constituents and antibacterial activities of leaf and fruit essential oils of *Ocimum basilicum* grown in north central Nigeria. *Int J Chem Biochem Sci*, **3** :47-52.
- Weiping H, Baokang H (2011). A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5**(16) : 3595-3600.
- Willem J P (2004). *Les huiles essentielles, médecine d'avenir*. du Dauphin, Paris, 242 p.
- Zbigniew J, Dolatowski, Stadnik J, Stasiak D (2007). Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci. Pol*, **6**(3) : 89-99.



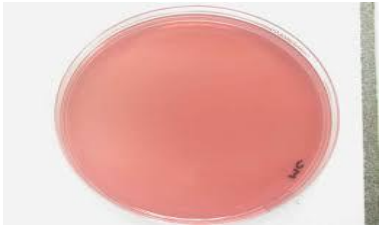
Annexes

Annexes


Annexe I : Evaluation de l'activité antioxydante

C (mg/mL)	0.1	0.08	0.06	0.04	0.02	0
Volume (HE/μL)	25	20	15	10	5	
Volume méthanol	0	5	10	15	20	
DPPH mL	1	1	1	1	1	1

Annexe II: compositions des milieux de cultures utilisés

Milieux	Composition	Utilisation
Gélose nutritive (GN)	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone 1g - Extrait de viande 3g - Extrait de levure 3g - Chlorure de Sodium 5g - Agar 18g 	 <p>Milieu standard non sélectif</p>
Bouillon nutritif (BN)	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone 10g - Extrait de viande 3g - Extrait de levure 3g - Chlorure de Sodium 5g 	 <p>Milieu liquide standard non sélectif utilisé pour l'activation des bactéries</p>
Gélose Mac -conkey	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone pancréatique de gélatine 10g - Phosphate de potassium 2g - Lactose 10g - Eosine jaune 0.4g - Bleu de méthylène 0.06g - Agar-agar 15g pH = 6.8 	 <p>Milieu sélectif pour l'isolement des entérobactéries ;laecture se fait après 24h d'incubation en aérobie.</p>

Annexes

Gélose Chapman	<ul style="list-style-type: none">- Peptone 10g- Extrait de viande de bœuf 1g- Chlorure de Sodium 75g- Mannitol 10g- Rouge de phénol 0.025g- Agar-agar 15g- Eau 1 litre pH= 7.4	 <p>Milieu sélectif des bactéries du genre Staphylococcus</p>
-----------------------	---	--

Glossaire

Glossaire

Akène : Fruit sec au péricarpe non soudé à la graine.

Anesthésique : Qui provoque une privation complète ou partielle de la faculté de sentir.

Anti-allergique : Protège contre les allergies.

Antibactérien : Détruit les microbes et empêche leur développement.

Angiospermes : Sous embranchement de phanérogame qui englobe les plantes à fleurs.

Antioxydant : Est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques.

Anti-inflammatoire : Qui combat les inflammations.

Antivirale : Toute substance active contre les virus.

Antismasmodiques : Lutte contre les spasmes.

Aseptiques : Stériles.

Apiacées : La famille des Apiacées (Apiaceae), appelée anciennement Ombellifère (Umbelliferae). Elle comprend près de 3000 espèces réparties en 420 genres qui sont surtout présentes dans les régions tempérées du monde. C'est une famille relativement homogène, caractérisée notamment par son inflorescence typique, l'ombelle.

Carminatif : Qui a la propriété d'expulser les gaz intestinaux.

Entérobactéries : Les entérobactéries sont une famille très hétérogène à Gram négatif pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie.

Carpelle : Chacune des parties dont l'ensemble constitue une fleur.

Entérobactéries : Les entérobactéries sont une famille très hétérogène à Gram négatif pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie.

Glossaire

Entérotoxines : Est une substance toxique (toxine) produite par un organisme(en particulier certaines bactéries).

Epice : Substance aromatique végétale qui augmente la saveur d'un met.

In vitro : Signifie un test en tube, ou, plus généralement, en dehors de l'organisme vivant ou de cellule

Invollucelle : Petit involucre.

Involucre : Ensemble de bractées, d'organe foliacés situés autour d'une fleur ou d'une inflorescence, d'ue ombelle ou d'un capituele.

Les radicaux libres : Sont des molécules chimiques instables produites en faible quantité par l'organisme. Ils sont principalement synthétisés dans la cellule lors de réactions avec l'oxygène.

Métabolites secondaires : Ces métabolites secondaires exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement. Ils participent ainsi, de manière très efficace, à la tolérance des végétaux à des stress variés (attaques de pathogènes, prédatons d'insectes, sécheresse, lumière UV...). D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on retrouve chez les plantes médicinales. La grande valeur thérapeutique de certains de ces métabolites. Ils ont un rôle défensif pour les plantes.

Pathogène : Un agent pathogène est tout facteur capable d'engendrer une lésion ou de cause une maladie.

Stomachique : Lutte contre les maux d'estomac.

Sédatif : Qui calme l'organisme

Résumé

Résumé

Dans cette étude, deux activités biologiques des huiles essentielles extraites des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare*), ont été évaluées à savoir l'activité antibactérienne et la capacité antioxydante. Le rendement d'extraction des huiles essentielles obtenus par hydrodistillation est de $1.53 \pm 0.11\%$. Les résultats de l'activité antibactérienne réalisée par la méthode de diffusion des disques et par la méthode de l'antibiogramme ont montré que l'huile essentielle des graines du fenouil possède une capacité inhibitrice de la croissance des deux souches testées *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. L'étude du pouvoir antioxydant de ces huiles a été réalisée par la méthode de DPPH, l'huile essentielle a révélé un pourcentage d'inhibition de $58 \pm 0.3\%$.

Mots clés : Huiles essentielles, Activité antibactérienne, activité antioxydante, *Foeniculum vulgare*.

Abstract

In this study, two biological activities of essential oils extracted from fennel seeds (*Foeniculum vulgare*) were evaluated, namely antibacterial activity and antioxidant capacity. The extraction yield of the essential oils obtained by hydrodistillation is $1.53 \pm 0.11\%$. The results of the antibacterial activity carried out by the disk diffusion method and by the antibiogram method showed that the essential oil of the fennel seeds possesses a growth inhibitory capacity of the two strains tested *Escherichia coli* and *staphylococcus aureus*. The study of the antioxidant power of these oils was carried out by the DPPH method, the essential oil revealed a percentage inhibition of $58 \pm 0.3\%$.

Keywords : Essential oils, Antibacterial activity, antioxidant activity, *Foeniculum vulgare*

الملخص

في هذه الدراسة، تم تقييم نشاطين من الأنشطة البيولوجية للزيوت الأساسية المستخلصة من بذور الشمر، و هما النشاط المضاد للبكتيريا و النشاط المضاد للأوكسدة. تم استخراج الزيوت الأساسية عن طريق تقنية التقطير البخار، حيث كان المردود $1.53 \pm 0.11\%$. كما أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا التي تمت بطريقة الإنتشار على الوسط الصلب و تقنية الأنتيبيوغرام أن الزيوت

لبذور الشمر لديها فعالية ضد البكتيريا المجرى عليها الإختبار (*Staphylococcus aureus* و *Escherichia.Coli*) الأساسية

كما أظهرت نتائج دراسة القدرة المضادة للأوكسدة من خلال طريقة DPPH أن الزيت الأساسي له قدره $58 \pm 0.3\%$.

الكلمات المفتاحية:

الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأوكسدة، الشمر.